



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103649759 B

(45)授权公告日 2016.08.31

(21)申请号 201280024948.X

(22)申请日 2012.03.22

(30)优先权数据

61/465688 2011.03.22 US

61/608570 2012.03.08 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2013.11.22

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/030216 2012.03.22

(87)PCT国际申请的公布数据

W02012/129455 EN 2012.09.27

(73)专利权人 西维克公司

地址 美国康涅狄格州

(72)发明人 M.A.普特纳姆 J.T.布兰奇富特

C.O.斯坦伍德

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 李建新 谭祐祥

(51)Int.Cl.

G01N 35/08(2006.01)

G01N 21/64(2006.01)

G01N 21/47(2006.01) (续)

(56)对比文件

US 2002/0115225 A1,2002.08.22, (续)

审查员 夏丽

权利要求书2页 说明书23页 附图36页

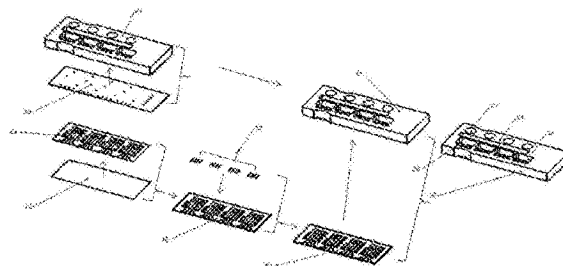
(54)发明名称

微流体装置以及制造方法和用途

(57)摘要

本发明涉及用于进行例如生物化验等流体化验的微流体装置,其具有以紧凑、有效和低成本的方式使流体移动穿过多通道和通路移动的能力。具有优选地小于700微米的长度、优选地小于500微米的长度并且优选地在大约50+/-25微米之间的内直径的优选地为极短的空心流元件的分离的流探测元件提供有捕获剂,并且通过钳或真空拾取和放置机构被插入在微流体通道中的固定位置处,在该位置处它们有效地暴露于流体来进行化验。近场的静电吸引被采用以限定元件的位置并且实现放置仪器的迅速抽回。微流体装置的特征为精确制作成本低的流元件、通道、阀和机载泵,其最小限度地侵害流路并且当为该目的而实施时,可在单个便携化验暗盒(芯片)上产生多元化验,具有低变差系数。本发明还涉及这些特征的构造、组装和使用的新颖方法,包括表面可激活可结合材料的面的所选区域的共价结合,例如PDMS至PDMS以及PDMS至玻璃,同时一片柔韧片的接触部分完成并密封流通道,固定插入的分析探测元件(尤其是样本和试剂流从其中

流过的短的空心流元件)在通道中的位置,而其它部分形成柔韧阀隔膜和泵隔膜。重复的使接触和打破接触制造步骤防止这种结合妨碍整体阀隔膜部分从它们的由接合柔韧片材料的相对的片构件限定的阀座移动。示出了两个子组件的准备,它们各自具有相对硬质材料的背衬,随后它们永久结合地面对面组装。空心探测流元件示出为被固定在通道中,其提供了旁通流路,其具有穿过元件的流量的至少50%;在优选的实现方式中,大约100%或更多。金属处理的聚合物膜被示出以具有非永久结合结构的很多构造和优点。一种准备用于化验的探测元件的方法,包括通过混合来批量涂覆探测元件或空心流元件,并且拾取并将元件放置到微流体装置的流通道中,通过结合两个相对层同时密封流通道来捕获流元件。



CN 103649759 B

[接上页]

(51) Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

(56) 对比文件

CN 1964789 A, 2007.05.16,

JP 特开2005-140681 A, 2005.06.02,

JP 特开2001-157855 A, 2001.06.12,

WO 2007/032316 A1, 2007.03.22,

CN 1173776 C, 2004.11.03,

US 2006/0053732 A1, 2009.02.26,

WO 2008/043041 A1, 2008.04.10,

1. 一种用于进行生物流体化验的微流体装置,其具有流通道,在所述流通道中插入有呈流接纳反应容器形式的至少一个分离的空心流元件,所述空心流元件被提供有捕获剂,所述元件被定位以暴露于在所述装置内的流体流来进行所述化验,并且其中所述元件被固定在给定流通道中,所述装置通过准备两个子组件形成,所述两个子组件各自具有相对硬质材料的背衬和相对定向面,所述相对定向面适合于结合至另一个子组件的匹配面,随后面对面地结合所述子组件;其中流通道封闭件由柔韧片的各自部分提供,在大部分区域的其它地方所述柔韧片通过结合至相对的表面而连接;并且其中所述柔韧片的其它各自部分形成用于气动促动阀的柔韧隔膜。

2. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述柔韧片的其它各自部分形成用于机载气动促动泵的柔韧隔膜。

3. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中所述空心流元件的长度小于500微米。

4. 根据权利要求1或3所述的微流体装置,其中所述空心流元件的内直径在75+/-50微米之间。

5. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中3至10个之间的所述元件被间隔开并且成系列地被固定在给定流通道中。

6. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中所述空心流元件在其内表面而非其外纵表面上载有化验捕获剂,在流体通道中所述元件以一种方式固定就位,使得提供相对于穿过所述元件的流量的沿所述元件外侧至少相等量的旁通流量。

7. 根据权利要求1或3所述的微流体装置,其中仅在所述空心流元件的内部设置有捕获剂,所述流通道的横截面为矩形,所述元件外部的横截面为圆柱形,并且沿所述元件的外部限定旁通流路。

8. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中所述元件具有大于其所插入的敞开通道深度的深度,关闭并且密封所述通道的柔韧片是捕获层,其通过其与所述元件的接触而弹性地变形因此向其施加力以固定所述通道中所述元件的位置。

9. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中所述装置的至少一些部分由可结合材料的激活表面的共价结合而连接,所述相同的片的接触部分形成柔韧阀隔膜,其接合初始由表面激活的可结合材料形成的阀座,所述表面激活的可结合材料已经受打断所述阀隔膜部分和其相对的座的共价结合的一系列使接触和打破接触。

10. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中所述空心流元件在其内表面而非其外纵表面上载有化验捕获剂,在流体通道中所述元件以一种方式固定就位,使得提供沿着所述元件的外部的旁通流和穿过所述元件的流。

11. 一种制造用于进行流体化验的微流体装置的方法,所述方法包括形成两个子组件,所述两个子组件各自具有相对硬质材料的背衬和相对定向面,所述相对定向面适合于结合至另一子组件的匹配面,包括将至少一个分离的空心流元件插到所述子组件的一个中的流体反应层的流通道内,所述元件被定位以暴露于在所述装置内的流体流来进行所述化验并且被固定在给定流通道中,随后面对面地结合所述子组件,其中流通道封闭件由柔韧片的各自部分提供,在大部分区域的其它地方所述柔韧片通过结合至相对的表面而连接,并且其中所述柔韧片的其它各自部分形成用于气动促动阀的柔韧隔膜。

12. 根据权利要求11所述的方法,其包括通过拾取和放置机构将所述元件插到其微流

体通道内。

13. 根据权利要求12所述的方法,其中所述拾取和放置机构通过接合所述元件的相对定向部分的自动钳指来起作用。

14. 根据权利要求12或13所述的方法,其中使用近场的静电吸引来限定所述元件在其通道内的位置并且实现所述放置仪器的抽回。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中所述流通道具有大于所述元件的相应尺寸的宽度,并且所使用的静电吸引在所述元件和所述通道的侧壁之间。

16. 根据权利要求15所述的方法,其中所述侧壁由PDMS构成。

17. 根据权利要求12所述的方法,其中所述元件在其内表面上设置有捕获剂,所述方法包括通过混入溶液并脱水以对其进行批量涂覆来准备所述元件,并且此后拾取并将所述元件放置到其流通道中。

18. 根据权利要求17所述的方法,其中在所述批量涂覆期间所述空心元件的外纵表面上未设置捕获剂。

19. 根据权利要求18所述的方法,其中在混合入溶液期间,所述流体被充分搅动以剪切掉已结合至所述元件的外表面的任何捕获剂。

20. 根据权利要求12、13或17所述的方法,其中所述空心元件具有小于500微米的长度。

21. 根据权利要求17所述的方法,其中所述空心元件具有小于500微米的长度以及50微米 \pm 25微米的内直径,并且所述批量涂覆的混合在所述空心元件的内表面上产生了基本均匀的捕获剂涂层。

22. 根据权利要求13或21所述的方法,其中所述空心元件具有250微米的长度。

23. 根据权利要求11所述的方法,其中封闭片通过可结合材料的激活表面的共价结合而连接到限定包含所述元件的通道的构件,相同片的接触部分形成柔韧阀隔膜,其接合阀座,其初始由表面激活的可结合材料形成,包括使接合所述阀座的部分经受打断所述阀隔膜部分和其相对的座的共价结合的一系列使接触和打破接触。

24. 根据权利要求11所述的方法,其中所述空心流元件在其内表面而非其外纵表面上载有化验捕获剂,在流体通道中所述元件以一种方式固定就位,使得提供沿着所述元件的外部的旁通流和穿过所述元件的流。

25. 根据权利要求11所述的方法,其中所述流通道具有大于所述元件的相应尺寸的宽度,并且其中所述空心流元件在其内表面而非其外纵表面上载有化验捕获剂,在流体通道中所述元件以一种方式固定就位,使得提供旁通流和穿过所述元件的流。

微流体装置以及制造方法和用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2011年3月22日提交的序列号为61/465,688以及2012年3月8日提交的序列号为61/608570的美国申请的优先权,这些申请中的每个均据此在适用法律所允许的程度上通过引用的方式全部并入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及例如生物化验(assays)等流体化验,并且涉及用于进行多元化验的微盒体(microcassette)或“芯片”(chips)。

背景技术

[0004] 尽管为了制作多元化验盒体(例如用于对体液样本的蛋白质化验)而进行了大量的创新尝试,制造成本仍然昂贵并且这些装置缺乏使它们具有成为实用资格装置的资格以替换普通血液测试的、基本小于10的期望的变差系数,但是由于更佳的成本效益,长久以来都被预见为研究活动和个人医疗的未来。存在许多其它化验,对于这些化验来说,低成本且实用的多元化验盒体的优点将是很有利的。

发明内容

[0005] 提供一种用于进行例如生物化验等流体化验的微流体装置(microfluidic device),其具有以紧凑、有效和低成本的方式使流体穿过多通道和通路移动的能力。具有优选地小于700微米、更优选地小于500微米的长度以及优选地在大约50+/-25微米之间的内直径的优选地为极短的空心流元件的分离的(discrete)流探测元件提供有捕获剂,并且通过钳或真空拾取和放置机构在固定的位置处被插入微流体通道中,在该位置它们有效地暴露于流体来进行化验。使用近场的静电吸引以限定元件的位置并且实现放置仪器的迅速抽回。微流体装置特征为流元件、通道、阀和机载(on-board)泵,其准确制造成本低,并且最小限度地侵害流路并且当为该目的而实施时,可在具有低变差系数的单个便携化验暗盒(cartridge)(芯片)上做多元化验。呈现了这些特征的新颖的构建、组装和使用方法,包括表面可激活可结合材料的面的所选区域的共价结合(co-valent bonding),例如PDMS至PDMS以及PDMS至玻璃;同时一片柔韧片的接触部分完成并密封流通道,固定特别是样本和试剂流从其中通过的短的空心流元件的插入的分析探测元件在通道中的位置,并且其它部分形成柔韧阀隔膜和泵隔膜。重复的使接触和打破接触制造步骤防止这种结合妨碍整个阀隔膜部分从由柔韧片材料接合的相对的片构件限定的它们的阀座移动。示出了准备两个子组件,各自具有相对硬质材料的背衬(backing),然后永久结合地面对面组装。空心探测流元件示出为被固定在通道中,这提供了旁通流路,其具有穿过元件的流量的至少50%;在优选实现方式中,大约100%或更多。金属处理的聚合物膜被示出以具有非永久结合结构的很多构造和优点。

[0006] 在一个方面中,特征为一种用于进行诸如生物化验等流体化验的微流体装置,其

具有流通道,在流通道中插入至少一个分离的流探测元件(优选地为在固定位置中的极短的空心流元件,其具有小于大约700微米的长度,优选地小于大约500微米并且其内直径在大约75+/-50微米之间,在许多例子中优选地为50+/-25微米),空心流元件提供有捕获剂,流元件被定位以暴露于在装置内流体流来进行化验。如权利要求所指示,该特征的附加方面包括一个或更多以下特征。

[0007] 该装置,其中探测元件通过拾取和放置机构插入其微流体通道中。

[0008] 该装置,其中探测元件包括短的空心流元件,其长度小于700微米,优选地小于大约500微米,具有相对定向的平坦端面和在那些端面之间延伸的圆柱形外表面,并且优选地定位在流通道中以允许流穿过元件并允许沿固定元件外侧的至少相等量的旁通流。

[0009] 该装置,其中拾取和放置机构通过与流元件的相对定向部分接合的自动钳指来起作用,优选地接合相对定向的平行平坦表面。

[0010] 该装置,其中拾取和放置机构通过自动真空拾取器来起作用。

[0011] 该装置,其中真空拾取装置接合流元件的外圆柱表面。

[0012] 该装置,其中流通道封闭件、用于流体促动阀的柔韧隔膜或机载泵隔膜(优选地三者全都)由柔韧片的各自部分提供,柔韧片在大部分区域的其它地方通过与相对的表面结合而连接。

[0013] 该装置,其中柔韧隔膜片由非弹性的非透气柔韧片构成,优选地为聚酯膜。

[0014] 该装置,其中柔韧片经过金属处理,优选地用铝处理以相对光探测器反射入射或荧光光线。

[0015] 该装置,其中探测器是落射荧光类型的,并且定位金属处理膜以反射与所期望的分析物的存在有关的入射激发光线和荧光光线。

[0016] 该装置,其中柔韧非透气片面对面地与暴露以用于与流体样本接触的弹性膜结合。

[0017] 该装置,其中柔韧片由弹性体构成,优选地为PDMS。

[0018] 该装置,其中装置构造成在单个便携化验暗盒(芯片)上进行多元化验。

[0019] 该装置,其中装置的至少一些部分由可结合材料的激活表面的共价结合而连接,相同的片的接触部分固定所述探测元件在其流通道中的位置。

[0020] 该装置,其中装置的至少一些部分由可结合材料的激活表面的共价结合而连接,相同的片的接触部分形成柔韧泵隔膜。

[0021] 该装置,其中装置的至少一些部分由可结合材料的激活表面的共价结合而连接,相同的片的接触部分形成柔韧阀隔膜。

[0022] 该装置,其中柔韧阀隔膜部分接合阀座,其初始由表面激活的可结合材料形成,表面激活的可结合材料已经受打断阀隔膜部分和其相对的阀座的共价结合的一系列使接触和打破接触。

[0023] 该装置,其中装置的至少一些部分由可结合材料的激活表面的共价结合而连接,并且相同片的各自的接触部分密封流通道的敞开侧,固定所述探测元件在其流通道中的位置,形成柔韧泵隔膜或形成柔韧阀隔膜,优选地片的各自部分执行所有的这些功能。

[0024] 该装置,其中的部分通过表面激活可结合材料的面的所选的区域的共价结合而被永久紧固。

- [0025] 该装置,其中激活的形式是氧化。
- [0026] 该装置,其中所述部分中的至少一个包括表面可激活弹性体。
- [0027] 该装置,其中弹性体是PDMS。
- [0028] 该装置,其中结合由表面激活的PDMS的相对表面形成。
- [0029] 该装置,其中结合由表面激活的PDMS的一个相对表面形成并且另一个表面是表面激活玻璃或除PDMS之外的聚合物。
- [0030] 该装置通过准备的两个子组件形成,两个子组件各自具有相对硬质材料的背衬和相对定向面,相对定向面适合于结合至另一子组件的匹配面,随后面对面地结合组件。
- [0031] 该装置,其中结合产生永久结合,优选地,在例如PDMS的相似表面的情况中,匹配表面的初始结构在表面激活表面的结合中基本通过分子扩散而消除。
- [0032] 该装置,其中结合是可分离的,例如用于使装置能再使用。
- [0033] 该装置,其中结合基本由静电吸引形成。
- [0034] 该装置,其中探测元件包括圆柱形、空心流元件,其长度不大于700微米,优选地小于大约500微米,最优选地大约200微米,并且其内直径大约 75 ± 50 微米,在许多例子中优选地 50 ± 25 微米,元件在其内表面上用捕获剂基本均匀地涂覆以用于所选的流体化验。
- [0035] 该装置,其中捕获剂是用于进行ELISA的抗体。
- [0036] 该装置,其中在元件的所有外表面上基本都不存在捕获剂,并且探测元件相对于其所插入的通道来定尺寸,以限定穿过元件的基本流路和沿元件外部的的基本旁通流路。
- [0037] 该装置,其中探测元件具有大于其所插入的敞开通道深度的深度,并且捕获层关闭并且密封通道,从而捕获层通过其与流元件的接触而弹性地变形并且向其施加力以固定通道中元件的位置。
- [0038] 该装置,其中捕获层是共价结合至限定敞开通道的基体。
- [0039] 该装置,其中捕获层和基体两者都包括PDMS。
- [0040] 该装置,其中捕获层的一部分形成阀隔膜,其适于接合由相对材料形成的阀座,该部分已经受重复的使接触和打破接触阀座的制造步骤,该制造步骤妨碍匹配阀表面的共价结合。
- [0041] 该装置构造成执行ELISA生物化验。
- [0042] 该装置,其中一系列的大约3到10个之间的间隔开的分离的流元件被固定在给定通道中,分离的流元件的长度小于700微米,优选地小于大约500微米。
- [0043] 该装置,其中荧光标签捕获分析物并且流元件暴露于透明以使荧光发射向外行进用于探测的窗口。
- [0044] 该装置窗口是对外部产生的刺激光线发射透明的以实现落射荧光探测。
- [0045] 在另一个方面中,提供一种用于进行例如生物化验等流体化验的微流体装置,其具有流通道,提供有捕获剂的至少一个分离的流探测元件插入其中,定位流元件以暴露于在装置内的流体流来进行化验,装置通过准备两个子组件形成,两个子组件各自具有相对硬质材料的背衬和相对定向的面,相对定向的面适用于结合至另一个子组件的匹配面,随后面对面地结合组件。
- [0046] 如权利要求所指示,优选实现方式具有进一步的特征。

- [0047] 在装置中,例如静电结合的结合是可破坏的,使得能够拆开两个子组件。
- [0048] 在装置中,结合是永久的,由将两个表面激活表面结合在一起而形成。
- [0049] 在装置中,限定表面之一的构件具有固定所述探测元件在其流通道中的位置的部分,形成柔韧泵隔膜或形成柔韧阀隔膜,优选地片的各自部分执行所有这些功能。
- [0050] 在装置中,柔韧阀隔膜部分接合阀座,其初始由表面激活的可结合材料形成,表面激活可结合材料已经受打断阀隔膜部分与其相对的座的共价结合的一系列使接触和打破接触。
- [0051] 在装置中,匹配表面两者都是PDMS。
- [0052] 在另一个方面中,提供一种用于进行例如生物化验等流体化验的微流体装置,其具有流通道,提供有捕获剂的至少一个分离的流探测元件被插入其中的固定位置中,该探测元件包括极短的空心流元件,其长度小于大约700微米,优选地小于大约500微米,并且其内直径在大约75+/-50微米之间,在许多例子中优选地为50+/-25微米,流元件被定位以暴露于装置内的流体流来进行化验,流元件通过材料的重叠层被紧固在固定位置中,材料的重叠层是表面激活的并且在邻近区域中通过分子结合与相对的构件结合。
- [0053] 在另一个方面中,提供一种进行例如生物化验等流体化验的微流体装置,其具有流通道,至少一个分离的流探测元件(优选地为在固定的位置中的极短的空心流元件,其长度小于大约700微米,优选地小于大约500微米,并且其内直径在大约75+/-50微米之间,在许多例子中优选地为在50+/-25微米之间)被插入其中,探测元件仅在其内部提供有捕获剂,定位流元件以暴露于装置内的流体流来进行化验,流通道的横截面为矩形,元件外部的横截面为圆柱形,并且沿元件的外部限定旁通流路。
- [0054] 在另一个方面中,提供采用极短的空心流元件形式的分离探测元件,极短的空心流元件的长度小于大约700微米,优选地小于大约500微米,并且其内直径在大约75+/-50微米之间,在许多例子中优选地为在50+/-25微米之间,流元件提供有捕获剂,流元件构造成固定就位以暴露于在装置内的流体流来进行化验。在一些实现方式中,捕获剂仅存在于元件的内表面上。
- [0055] 在另一个方面中,提供采用空心流元件形式的分离探测元件,空心流元件在其内表面而非其外表面上载有化验捕获剂,在流体通道中元件以一种方式固定就位,使得提供相对于穿过元件的流量的至少大约50%的流量的旁通流。在某些实现方式中,旁通流量是相对于穿过元件的流量的大约75%或更多,同时在其它实现方式中,旁通流量是相对于穿过元件的流量的大约100%或更多。
- [0056] 另一个特征是一种制造以上的各个装置或元件的方法。
- [0057] 另一个特征是以上任何装置或元件的使用方法。
- [0058] 另一个特征是一种准备用于化验的探测元件的方法,包括通过混合入溶液并脱水来批量涂覆优选地为空心流元件的探测元件,并且然后拾取并将元件放置到微流体装置的流通道中,并且优选地通过两个相对层的结合来捕获流元件,两个相对层捕获元件的同时密封流通道。
- [0059] 其它重要的特征包括所公开的制造各个前述装置的方法。
- [0060] 其它重要的特征包括所公开的任何各个前述装置的使用方法。
- [0061] 各个发明的一个或更多实施例的细节在附图和下文描述中阐述。本发明的其它特

征、目的和优点将由于描述和附图并由于权利要求而变得明显。

附图说明

- [0062] 图1-气动(pneumatic)/流体界面层(a);
- [0063] 图2-通道封闭层(b);
- [0064] 图3-流体/反应容器层(c);
- [0065] 图4-完全组装的微流体装置;
- [0066] 图5-具有反射涂层的迈拉(Mylar)膜;
- [0067] 图6-微流体阀;
- [0068] 图7A~7C-微流体活塞;
- [0069] 图8-微流体装置运行;
- [0070] 图9-用于另一种微流体化验装置的组装步骤的透视示意图;
- [0071] 图9A-图9的装置的分解透视图;
- [0072] 图10A-图9和10的流体通道的透视图;
- [0073] 图10B-图10A的一部分的放大视图,示出了流通道、空心流元件、阀座和泵室;
- [0074] 图10C-置于图10A和B的通道中的单个极小空心流元件的更大的放大视图;
- [0075] 图11-通道结构的一部分的放大平面图,示出了两个通道,并且每个通道中布置有四个空心流元件;
- [0076] 图12-具有有机载泵和阀的示意性图示的单个通道的平面图,并且示出了穿过和沿着空心流元件的流路;
- [0077] 图12A~12F-图12的阀的视图;
- [0078] 图13-概略的横截面图,其中装置的通道的部件断开,并且描绘了穿过流元件和在流元件外侧的流的路线;
- [0079] 图13A-与图13相似的视图,其中两个层已通过共价结合融合以关闭通道并且紧固空心流元件;
- [0080] 图14-图9的流体子组件的放大比例的平面图;
- [0081] 图15-图9的气动子组件的部件在一起时的透视图;
- [0082] 图16-透过气动子组件的透明隔膜在气动子组件的底侧向上看的平面图;
- [0083] 图17-气动子组件的底侧的另一平面图以及匹配的流体子组件的上表面的平面图;
- [0084] 图18-概略地图示出两个子组件的匹配动作的透视图;
- [0085] 图18A-图示出用微小压力压到一起的两个子组件的匹配表面的侧视图;
- [0086] 图18B-图18A的一部分的放大视图;
- [0087] 图18C-从上方观察的完成的组件的透视图;
- [0088] 图18D-从下方观察的完成的组件的透视图;
- [0089] 图19-完成的组件的俯视图;
- [0090] 图20-用于图9-19的装置的组装过程的步骤的图解;
- [0091] 图20A、B、C和D-图示了采用共价结合以形成液密通道并将极小的空心流元件在通道中紧固在位的步骤;

[0092] 图21-定位在X、Y平移工作台(translation table)上的拾取和放置仪器、用于分离的极小的空心流元件的传送板以及前述图中的多元微流体化验装置的接纳通道的图解;

[0093] 图22、23分别是钳型拾取和放置装置及其支撑塔(support tower)的概略前视图和侧视图;

[0094] 图24和25-分别是图22和23的装置的拾取和放置视图;

[0095] 图26、27和28-在流元件的放置期间的位置的顺序,正负符号(ns)概略图示了通道壁和被传送的元件之间的近空间静电吸引的使用;

[0096] 图29和30-分别是真空拾取装置的拾取和放置视图;

[0097] 图31、32和33-用真空装置放置流元件期间的位置的顺序,正负符号(NS)概略图示了通道壁和被传送的元件之间的近空间静电吸引的使用;

[0098] 图34和35-图示了在图9等装置的组装期间发生的元件紧固和通道密封动作。

[0099] 图36是示出了由PDMS层的叠置部分形成的隔膜阀的重复循环的概略视图,叠置部分在各侧结合至相对结构,该阀重复地以3 psi的正压力关闭并且以负8 psi的压力(真空)打开,被发现克服形成在隔膜和阀座之间的分子结合,从而随着时间的推移抵消在接触表面激活表面之间形成的永久共价结合的趋势,从而使这样形成的阀能够正常运行;

[0100] 图37概略地图示了泵送和阀的状态顺序,液体流通过该顺序可从左边吸入活塞并且排出至右边以产生期望的定向脉冲流。

[0101] 图1-气动/流体界面层(a);

[0102] 图1包括图1A和1B并且描绘了气动/流体层(a),其由例如显微镜载片(a2)等玻璃片构成,在玻璃片上附接有大约150 μ m厚的柔韧聚合物膜(a1),柔韧聚合物膜(a1)具有切透通道,使得它们形成在一侧上由玻璃片(a2)封闭而在另一侧敞开的敞开通道或槽道(a3)。

[0103] 图2-通道封闭层(b)

[0104] 图2包括图2A、2B和2C,并且描绘了通道封闭层(b),通道封闭层(b)通过将迈拉片(b4)附接至柔韧聚合物制成的片(b5)而形成,该迈拉片(b4)大约12 μ m厚并且具有预切通孔(through-hole vias)(b6)和诸如铝等反射涂层,该柔韧聚合物制成的片(b5)大约150 μ m厚并且具有相应的预切通孔(b6)。注意:在备选实施例中,例如如图2C中所示,可以想到通道封闭层(b)可仅由迈拉片(具有或不具有反射涂层)(b4)构成而没有柔韧聚合物片。通道封闭层(b)被永久地结合至气动/流体层(a),封闭气动/流体层(a)中的通道的顶部并据此形成封闭通道。除了充当用于气动/流体层(a)中的通道的顶部封闭件之外,通道封闭层(b)还提供以下功能:

[0105] • 通孔(b6)允许从气动/流体层(a)至流体/反应容器层(c)的流体和气动通过。

[0106] • 通道封闭层(b)由弯曲成阀和泵促动的部件的柔软材料构成。

[0107] • 迈拉膜(b4)提供不透层,其是在此文献中稍后描述的泵和活塞的必要部件。

[0108] • 在迈拉层(b4)上的反射涂层在激发能量到达迈拉前将其反射,从而防止自发光(见图5)

[0109] • 反射涂层将激发能量反射回到反应容器上,这导致二倍相乘的入射荧光以及发射荧光的二倍增加,从而使发射射线的捕获增强了近二倍。这导致未反射的荧光信号相对于反射的信号近四倍的总增加,从而产生探测信号的近四倍的增加。

[0110] 图3-流体/反应容器层(c)

[0111] 图3包括图3A和3B并且描绘了流体/反应容器层(c),其由例如200 μm 厚的盖玻片等薄玻璃片(c6)构成,薄玻璃片(c6)上附接有大约150 μm 厚的具有切透通道的柔韧聚合物膜(c7),使得它们形成在一侧上由玻璃片(c6)封闭而在另一侧敞开的敞开通道或槽道(c8)。这些通道提供用于流体的路线(c9)、用以容纳反应容器的(多个)通道(c10),并且提供用于机载阀和活塞的特征(c11)。反应容器插入到流体/反应容器层(c)内并且其随后附接到通道封闭层(b)(未被气动/流体层占据的侧),从而封闭流体/反应容器层(c)中的通道的顶部并且形成如图4中描绘的封闭通道。

[0112] 图4-完全组装的微流体装置

[0113] 图5-具有反射涂层的迈拉膜

[0114] 此微流体装置包含机载的、气动促动的活塞和阀,其用于驱动、控制和调整流体流的目的。这将包括引入和测量生物样本、试剂、稀释液和清洗缓冲剂的流,以及控制用于在反应容器中进行的化验的流率和培育时间。

[0115] 图6-微流体阀

[0116] 这些阀通过向包含在气动/流体层(c)中的气动通道(12)施加负压力而促动,从而使柔软的通道封闭层(b)弯曲并且将其提升离开聚合物壁(14),允许流体流过(见图b)。为了在释放负压力并且允许柔软层松弛时保持紧密密封,必需施加正压力(见图6A)。柔软的通道封闭层(b)包含不透气的迈拉片(b4),从而防止气体渗透进入流体通道(15)。

[0117] 图7-微流体活塞

[0118] 活塞通过向包含在气动/流体界面层(a)中的气动通道(12)施加负压力(图7A)和正压力(图7B)而促动,从而使柔软的通道封闭层(b)弯曲并且在流体通道(15)内产生正压力和负压力。由一个在任一侧上均具有微流体阀的微流体活塞组成的装置能够以将沿两个方向驱动流体的顺序被促动。柔软的通道封闭层包含不透气的迈拉片(b4),从而防止气体渗透进入流体通道(15)。

[0119] 图8-微流体装置运行

[0120] 通过示例的方式,以下是微流体装置的一种可能的构造的运行的描述。这通过示例的方式示出,并且本发明并非意在受限于以下列出的此具体构造,而意在包括其它构造,既包括目前已知的也包括在将来以后研发的构造。可以想到具有多个样本入口、试剂井(reagent well)、缓冲剂以及用于反应容器的多个隔离通道(28)的构造,例如,图8A描绘了微流体装置,其具有四个试剂井和用于反应容器的四个隔离通道(28)。

[0121] 1. 样本被添加至样本入口(16),试剂被添加至试剂入口(17),并且缓冲剂被添加至缓冲剂入口(18)。

[0122] 2. 阀1(23)与阀5(27)和活塞(22)一起打开和关闭以将样本(16)吸入反应容器(20)。

[0123] 3. 阀1、2、3和4关闭,阀5(27)和活塞(22)打开和关闭以驱动样本(16)到废液出口内。注意对于试剂(步骤4)和缓冲剂(步骤5)重复此过程序号(id)。

[0124] 4. 阀2(24)与阀5(27)和活塞(22)一起打开和关闭以将试剂(17)吸到反应容器(20)内。

[0125] 5. 阀3(25)与阀5(27)和活塞(22)一起打开和关闭以将缓冲剂(18)吸入反应容器(20)。

[0126] 在各图中相同的参考标记指示相同的元件。

具体实施方式

[0127] 本发明的目的是提供一种用于进行生物化验的微流体装置,其具有以紧凑、有效且低成本的方式使流体移动通过多通道和多通路的能力。

[0128] 在大多数实施例中,化验装置将由多个基底(substrates)构成,这些基底堆叠在一起形成三个主要层:(a)气动/流体界面层,(b)通道封闭层和(c)流体/反应容器层。此外,该装置将包含用于驱动、控制和调整流体流的微流体阀和活塞。关于流体/气动通道结构以及阀、活塞和入口端口的布置,参考图1-8的以下描述涵盖了微流体装置的一种具体构造,然而本发明的范围并非意在受限于此具体构造,而意在包括其它构造,既包括目前已知的(例如稍后提出的实施例)也包括在将来以后研发的构造。

[0129] 图1-气动/流体界面层(a)

[0130] 图1包括图1A和1B并且描绘了气动/流体层(a),其由例如显微镜载片(a2)等玻璃片构成,在玻璃片上附接有大约150 μm 厚的具有切透通道的柔韧聚合物膜(a1),使得它们形成在一侧上由玻璃片(a2)封闭而在另一侧敞开的敞开通道或槽道(a3)。

[0131] 图2-通道封闭层(b)

[0132] 图2包括图2A、2B和2C,并且描绘了通道封闭层(b),通道封闭层(b)通过将迈拉片(b4)附接至柔韧聚合物制成的片(b5)而形成,该迈拉片(b4)大约12 μm 厚并且具有预切通孔(b6)和诸如铝等反射涂层,该柔韧聚合物制成的片(b5)大约150 μm 厚并且具有相应的预切通孔(b6)。注意:在备选实施例中,例如如图2C中所示,可以想到通道封闭层(b)可仅由迈拉片(具有或不具有反射涂层)(b4)构成而没有柔韧聚合物片。通道封闭层(b)被永久地结合至气动/流体层(a),封闭气动/流体层(a)中的通道的顶部并据此形成封闭通道。除了充当用于气动/流体层(a)中的通道的顶部封闭件之外,通道封闭层(b)还提供以下功能:

[0133] • 通孔(b6)允许从气动/流体层(a)至流体/反应容器层(c)的流体和气动通过。

[0134] • 通道封闭层(b)由弯成阀和泵促动的部件的柔软材料构成。

[0135] • 聚合物膜(DuPont公司的Mylar™)(b4)提供不透层,其是在此文献中稍后描述的泵和活塞的必要部件。

[0136] • 在迈拉层(b4)上的反射涂层在激发能量到达迈拉前将其反射,从而防止自发光(见图5)

[0137] • 反射涂层将激发能量反射回到反应容器上,这导致二倍相乘的入射荧光以及发射荧光的二倍增加,从而使发射射线的捕获增强了近二倍。这导致未反射的荧光信号相对于反射的信号近四倍的总增加,从而产生探测信号的近四倍的增加。

[0138] 图3-流体/反应容器层(c)

[0139] 图3包括图3A和3B并且描绘了流体/反应容器层(c),其由例如200 μm 厚的盖玻片等薄玻璃片(c6)构成,薄玻璃片(c6)上附接有大约150 μm 厚的具有切透通道的柔韧聚合物膜(c7),使得它们形成在一侧上由玻璃片(c6)封闭而在另一侧敞开的敞开通道或槽道(c8)。这些通道提供用于流体的路线(c9)、用以容纳反应容器的(多个)通道(c10),并且提供用于机载阀和活塞的特征(c11)。反应容器插入到流体/反应容器层(c)内并且其随后附接到通道封闭层(b)(未被气动/流体层占据的侧),从而封闭流体/反应容器层(c)中的通道的顶部

并且形成如图4中描绘的封闭通道。

[0140] 图4-完全组装的微流体装置

[0141] 图5-具有反射涂层的迈拉膜

[0142] 此微流体装置包含机载的、气动促动的活塞和阀,其用于驱动、控制和调整流体流的目的。这将包括引入和测量生物样本、试剂、稀释液和清洗缓冲剂的流,以及控制用于在反应容器中进行的化验的流率和培育时间。

[0143] 图6-微流体阀

[0144] 这些阀通过向包含在气动/流体层(c)中的气动通道(12)施加负压力而促动,从而使柔软的通道封闭层(b)弯曲并且将其提升离开聚合物壁(14),允许流体流过(见图6B)。为了在释放负压力并且允许柔软层松弛时保持紧密密封,必需施加正压力(见图6A)。柔软的通道封闭层(b)包含不透气的迈拉片(b4),从而防止气体渗透进入流体通道(15)。

[0145] 图7-微流体活塞

[0146] 活塞通过向包含在气动/流体界面层(a)中的气动通道(12)施加负压力(图7A)和正压力(图7B)而促动,从而使柔软的通道封闭层(b)弯曲并且在流体通道(15)内产生正压力和负压力。由一个在任一侧上均具有微流体阀的微流体活塞组成的装置能够以将沿两个方向驱动流体的顺序被促动。柔软的通道封闭层包含不透气的迈拉片(b4),从而防止气体渗透进入流体通道(15)。

[0147] 图8-微流体装置的运行

[0148] 通过示例的方式,以下是微流体装置的一种可能的构造的运行的描述。这通过示例的方式示出,并且本发明并非意在受限于以下列出的此具体构造,而意在包括其它构造,既包括目前已知的也包括在将来以后研发的构造。可以想到具有多个样本入口、试剂井、缓冲剂以及用于反应容器的多个隔离通道(28)的构造,例如,图8B描绘了微流体装置,其具有四个试剂井和用于反应容器的四个隔离通道(28)。

[0149] 1. 样本被添加至样本入口(16),试剂被添加至试剂入口(17),并且缓冲剂被添加至缓冲剂入口(18)。

[0150] 2. 阀1(23)与阀5(27)和活塞(22)一起打开和关闭以将样本(16)吸入反应容器(20)。

[0151] 3. 阀1、2、3和4关闭,而阀5(27)和活塞(22)打开和关闭以驱动样本(16)到废液出口内。注意对于试剂(步骤4)和缓冲剂(步骤5)重复此过程序号(id)。

[0152] 4. 阀2(24)与阀5(27)和活塞(22)一起打开和关闭以将试剂(17)吸到反应容器(20)内。

[0153] 5. 阀3(25)与阀5(27)和活塞(22)一起打开和关闭以将缓冲剂(18)吸入反应容器(20)。

[0154] 图1B、2B和5—浅通道(槽道),其中相应地插入有小反应容器

[0155] 流体/反应容器层(a)被示出为由硬质材料的基部(base)限定,在示例中为玻璃显微镜载片以及附接的聚合物层,在聚合物层中具有形成为切出的槽的敞开通道(a3)。通道(a3)的深度因此由附接到基部的聚合物膜的厚度限定。如图5中所示,跨过该深度的是呈短的空心流管的形式的插置反应容器。在该示例中,玻璃基部为200 μ m厚,聚合物膜为大约150 μ m厚,并且如图5中所示,该容器具有为其外直径数倍的分离的短的长度。该通道在空心流

元件周围被通道封闭层(b)以非永久性结合封闭。

[0156] 图2B和2C、4B和5--作为通道封闭层(b)的聚酯膜(DuPont公司的Mylar TM)--优点

[0157] 材料的三种不同组合提供各自的优点。最简单的结构是使用薄聚酯(Mylar TM)膜其本身为柔韧隔膜而不是微流体装置中常用的柔韧弹性隔膜。聚酯膜具有低透气性的有利优点。弹性隔膜的一个值得注意的问题是,为促动阀和活塞,在隔膜的空气侧施加正压力以关闭阀、施加真空压力以打开阀。当使用正压力保持阀关闭时,弹性隔膜的透气性允许隔膜的压力侧上的任何气体通过渗透穿过隔膜并且其可导致在流体通道中有害的气泡形成。当确实发生时,如果流体侧上已经存在种子气泡,则在流体通道中的气泡形成是值得注意的问题。尽管如此,如果阀区中的流体通道完全充满并且没有气泡,则气体渗透率非常低且对化验而言不成问题。然而,如果在该阀座上有预先存在的气泡,那么将会发生从气体压力侧至流体侧的气体渗透并导致已经在那里的小气泡变大并影响化验的准确性。当流体暴露于捕获剂时,气泡可干扰捕获的均匀性。在那个区域,它们可改变流体力学,即导致流体围绕气泡流动,并且改变结合运动学等。一般而言,它们是不被期望的因为它们被察觉到在化验过程中会产生变化性。

[0158] 已意识到,尤其是在高压力系统中,通过使用非弹性不透气隔膜(极佳的选择是聚酯(Mylar TM))来防止来自阀和活塞的促动的气泡的产生是有利的。为了将聚酯膜结合至例如PDM等通道限定层,化学预处理和暴露于氧化等离子体在这些层之间形成结合以在化验期间封闭通道。

[0159] 众所周知,聚酯膜(Mylar TM)呈数量级地比诸如PDMS等弹性体更硬,但可意识到,可以增加横截面积、阀和活塞的占用空间以取得与从例如弹性体等非常柔韧的隔膜所得到的一样的促动运动。存在许多情况,其中网络的密集度不需要太高,使得可以适应扩大的隔膜促动区。

[0160] 当然,存在其它情况,其中非常期望增加网络中元件的密集度,使得可在更小的占用空间中实现更多功能。以下所描述的实现方式实现了在更小的占用空间中进行更多化验、进行更多不同的化验、更多样本、更多分析物、更多任何东西的能力。尽管如此,对于某些化验而言,聚酯膜(Mylar TM)的使用被认为是显著的进步。

[0161] 在许多情况中,通常期望使用例如注射泵或蠕动泵等外部泵利用高流体压力驱动微流体装置中的流体流。当需要高的流率时以及在其它情况中当必需产生通过非常小的通道的高流率(其需要高的外部压力)时这是必要的。在这种装置中当然需要阀。在大多数的情况中,当期望通过阀上的非常高的背压阻挡通过阀的流时,必需具有非常高的气动促动压力以保持该阀座关闭。我们意识到施加至隔膜的此高压促进了空气穿过隔膜的不利扩散,可通过提供非弹性不透气的隔膜例如聚酯膜来避免,以产生更低的化验的变差系数(coefficient of variation)。

[0162] 聚酯膜具有一种特性可能妨碍了其应用,即高的自发荧光性,尤其是在存在绿色激光时。但是存在其它探测技术,例如,化学发光、电致化学发光和光致变色工艺,它们经常用于免疫化验,其中自发荧光不成问题。

[0163] 存在其它情况,其中期望采用落射荧光(epifluorescence)(光激励荧光发射)作为探测模式,其中光必须穿过的隔膜的自发荧光是潜在的问题,但这里提出的独特的解决方案解决了该问题。

[0164] 如上所述,该问题的一个解决方案是使用具有反射涂层的聚酯膜(Mylar™),例如在隔膜的面向激励源的一侧上的铝蒸汽涂层。因而防止了落射荧光探测系统中激励激光受聚酯中的自发荧光干扰,因为入射在隔膜上的光仅通过反射涂层反射而不到达自发荧光物质。在这种情况下,如图5中所示,产生了另外的好处,即从如下的角度均可取得增加的信号的捕获,也就是激励光束有机会激发感兴趣的荧光目标两次,一次在其穿过的过程中,一次在其返程中。荧光发射受到两次捕获,即,探测器探测直接的荧光发射以及反射的荧光发射。因此,在使用反射涂层时,存在信号益处。

[0165] 采用聚酯膜(Mylar™)的第三种有利的结构示出于上文图4-7以及相关的文本中,其中避免了金属表面与通道中的样本和试剂流体的接触。对于微流体通道中的任何种类的金属处理表面并不定期望接触流体,以避免与化学药剂反应。

[0166] 而且金属处理的表面遭受潮湿环境可不利地影响金属与聚酯膜(Mylar™)的粘合的稳定性。示出于图4-7中、具有与聚酯膜结合的弹性体层并且限定了暴露于流体的表面的混合隔膜结构解决了此问题。

[0167] 对于以上的实现方式,关于此特征,通道以诸如PDMS等弹性结构形成或是以注射模塑或压花塑料部件或以玻璃或陶瓷蚀刻形成并不重要。阀的工作端是柔韧隔膜。也就是其将包括一层诸如聚酯(Mylar™)等非弹性不透蒸气的膜以及一层诸如PDMS等弹性体或一层其上具有铝的聚酯膜或一层不具有反射涂层的聚酯膜。

[0168] 在此实现方式中,不存在用注射泵或蠕动泵来外部驱动的流。所有流均通过由隔膜的区域形成的机载活塞和机载阀产生,而在其它区域中的隔膜使流体通道完成并密封流体通道。在装置的液体侧上基本通过大气压排出的同时,那些活塞和阀的状态的任何组合产生沿任何所需方向上的流。通过此结构,采用了优选为PDMS的弹性隔膜。

[0169] 活塞被构造成以类似于阀的方式被促动。在隔膜的气动侧上,其使用压力和真空两者以产生此柔韧隔膜的偏移。施加在隔膜的气动侧上的压力推动活塞向下进入流体通道中的腔(泵室),该动作使流体移动并推动流体流出该腔。流体将沿最低压力的方向流动。所以如果流体通道在活塞的一侧上被阀堵塞,那么流向着通风区沿其它方向出现。

[0170] 用于使用气动和真空促动活塞使试剂和流体在微流体通道内流动的机理被称为蠕动过程。活塞或者偏移入流体室或偏移出流体室,分别使流体从流体侧上排出活塞室或将流体吸入该室。在活塞由真空促动的情况中,其被吸起离开或吸出流体活塞室区域,这在该位置产生负压力并且驱动流体向其进入。因此,泵送是通过从任何期望的储液器或位置吸入流体而实现的,并且其通过基本上关闭所有的阀(除了将通向所期望的流体源的位置的阀之外)来实现。

[0171] 在优选的实现方式中,具有固定尺寸的活塞通过以可控制的方式从给定低压力切换至给定真空而促动。低压力和真空来自于外部源,并且该活塞结构的移动的几何形状确定了内部流体体积的移动。因此提供了每个行程分离的、固定的体积的移动。对于活塞的给定行程,固定的体积被移动,或者被吸入或者被推出泵室。在典型的实现方式中,体积被选择成在控制在选定数值的几个百分点内的每个活塞每行程大约300-600纳升的范围内。典型的尺寸是大约1毫米长,0.5毫米宽,呈椭圆形,具有大约±100微米的偏移范围。

[0172] 装置的运行涉及类蠕动地从通风入口储液器源泵送试剂和流体。所有源和池(sinks)都与大气压通风。例如,缓冲剂入口储液器、探测入口储液器和样本入口储液器都

是敞开于大气压的储液器。废液也与大气压通风。流是由总是使用复数个阀和一个活塞的阀和活塞状态的组合产生的,以产生定向流。例如向废液方向的流是通过打开活塞下游向废液的阀、堵塞任何上游的流并且使用活塞向废液室的方向推动流体而实现。由于所描述的通风,所以不存在背压。

[0173] 回向任何入口的流也可通过关闭下游或在废液侧上的阀、打开入口侧上的阀并且使用活塞以推动流体回退而产生。

[0174] 举一种流程序的例子,可以调整阀和泵以使缓冲剂液体从缓冲剂入口阀向废液移动并且备选地回入探测储液器以使用缓冲剂将在各自储液器中的诸如探测抗体等脱水的捕获剂再水化。使用阀和活塞状态的组合,系统能实现流从任何入口移动至任何其它入口或从任何入口移动至出口而从没有背压。

[0175] 实质上,活塞运行于更少背压的流体网络,因为在那些阀中流所期望移动的任何方向都敞开于任何入口或出口,这些入口或出口都是与大气通风的。

[0176] 对于活塞及其活塞室,椭圆形状在侧面尺寸中提供紧凑性,布置椭圆使得椭圆长轴线与对应于所示的微盒体的长轴线的直通道呈一线。椭圆几何形状的另一个益处主要是其提供如下的通道的区域:通道的区域逐步从正常流体通道扩张,向外扩张成此椭圆形状,并且随后其再收缩回正常通道尺寸,与紧随的层流流势线(laminar flow stream lines)一致。例如,典型的通道尺寸可为150到250微米宽,直到活塞室位于的点处,并且随后以此椭圆形状扩张超过1毫米的长度尺寸和扩张至大约500微米宽,随后以类似的方式变窄至200微米的通道宽度。使椭圆狭窄但仍足够大以实现用于化验所需的体积的移动(displacement),例如300或600纳升。由于因为总的内部体积增加,穿过活塞的速率降低,因此保持其这样狭窄帮助减少凹处(pockets),在这些凹处中流体可变为困住或到达非常低的速率。当需要混合或一种试剂由另一种试剂替换有必要时,期望保持流体流过该通道,以可行的程度限制该通道的宽度,使得穿过泵的速率可保持足够高以冲灌通道并且无任何残留,同时不需要大量的流体以完成其移动。在本实现方式中,期望使用在大约400微米和800微米之间的宽度和在大约600微米和1200微米之间的长度,更小的尺寸对应于所描述的更低的泵送量。

[0177] 在此具体实现方式中,泵和阀的功能是执行化验,一种涉及穿过通道填充多种不同含水试剂液体的免疫化验,这些通道包含具有例如抗体等固化的捕获剂的空心流元件。目的是将例如特定种类的抗原的分析物捕获到表面上。

[0178] 有用的捕获剂包括抗体、抗原、低聚物、DNA、天然DNA或甚至用于化验的小分子。

[0179] 以下描述是关于根据所描述的特征的装置中执行的特定的免疫化验。捕获剂以对将在含水样本内流动的例如人类血浆、人类血清、尿或脑流体等特定分析物具有高亲和力的方式来选择。随着感兴趣的分析物由如所描述的活塞促动而流过通道,部分的分析物粘合在空心流元件的内表面上或例如3个到10个元件之间优选地4到6个的少量系列的该元件上。由于该粘合的出现,在空心元件中和空心元件附近的流体体积中的该特定分析物的浓度降低,所以期望用新鲜溶剂替换该小部分(slug)体积。出于此目的,流体通过活塞和阀的循环促动泵送穿过系统。通过打开接近于入口的阀且随后施加真空压力至活塞,能够从储液器吸入样本。如先前所提及,吸入75和600纳升之间;在目前优选的实现方式中,200纳升。在目前的实现方式中,选择每活塞行程200纳升,系统中有四个活塞,并且由于每一个移动

200纳升,所以所有四个活塞的一个完整行程提供每循环800纳升。

[0180] 每个通道中有一个活塞,并且在所描述特定装置中,如图中所描绘,装置通过四个独立通道运行,结果将导致4倍的每活塞200纳升。800纳升从任何此时被使用的储液器吸出。如果使样本流过装置,那么每循环将消耗800纳升的样本,无论是血清还是血浆或者每循环其它所选的样本。如果使缓冲剂和探测抗体流过,同样的情况也是正确的。其总是以这些每循环800纳升的分离的量的移动,这是由所选的活塞设计的几何形状决定的。流以类脉动方式出现,因为如果期望单向流,则活塞将吸入800纳升,随后其将推出800纳升,并且随后其将吸入800纳升,随后其将推出800纳升,以此类推。在典型的ELISA步骤期间,在其中有时期望在通道内以每通道200纳升部分体积地使800纳升流体往复震荡,而在净流量中并不实际地用新部分取代该部分。那仅是通过使除一个之外的所有阀关闭并随后使活塞往复震荡而执行的。没有净流量被允许穿过通道。流进入通道,并且随后其移动回上游,并且随后其以此循环方式被向下吸回并被推回上游。在具体化验中,在部分被排出而新部分被引入前,这样做大约60次。在免疫化验中这样做60次以便实质地使用分析物并尽可能使其与空心流元件的粘合。

[0181] 关于微流体装置的构造,图4A示出多子组件构造,其中创建两个独特的子组件作为独立、单独的装置,其具有硬质基体支撑该装置。在它们形成后,使它们一起创建成完成的组件。描述于图4B左侧,气动流体界面层A包括两个部件,在此情况中,玻璃基底和结合至玻璃基底的聚合物膜形成气动通道和至外界的流体界面通道。其也可整个地构造为注射模塑塑料或压花塑料构件。该构想采用带有形成在一侧上的通道的固体硬质基底。通道封闭层B结合在其之上,其也称为隔膜或阀和活塞促动隔膜。其以永久结合机制结合,使用先前描述的工艺-等离子结合、PDMS至PDMS或更复杂但性质类似的迈拉至PDMS结合。那将构成被称为气动流体层的完成的子组件。第二子组件也包括玻璃固体基底和PDMS片,其在PDMS片与玻璃基底结合的地方具有切入其中的通道,以形成图4B中我们所称的流体反应层C。此处的理念是创建这两个子组件,并且在机械意义上他们是单独的。这提供了在使流体子组件与气动子组件接触前,将空心流元件放置到敞开流体通道内的机会。这在先前已完成,通过使那两层与彼此接触,使得在流体装置上的PDMS通道层与以非永久结合方式结合到气动装置的PDMS隔膜层接触,如图1-8所示。该结合在那些表面之间具有静电粘附的性质以保持两个装置在一起。该方式中,希望粘附足够强以防止通道的泄漏,但不过于强以至于使用背压可以克服在阀处的那个力。阀因此能够由真空促动而促动脱离阀座,隔膜和阀座之间的粘附使得真空克服非永久静电粘附。此构造过程从而涉及两个子组件的非永久附接,其凭借使彼此紧密接触的PDMS与PDMS之间的自粘附。装置运行良好并且允许使用者嵌入空心流元件或任何其它元件,这些元件为圆形或球形元件或任何其它类型的装置,其适合于在通过组装两个子组件彼此接触而完成通道前放入流体通道。该装置工作良好。该装置的优点之一是装置的可再使用构造工艺,使得在已运行特定的化验后,可以拆开装置,移除在上一次运行中用过的或消耗的元素并且用新元素替换它们-从而保存流体装置,但却替换可消耗的空心元件。这产生了优点:用最少数量的装置非常快速地运行化验作业测试,并提供了成本效益。其对于例如在研究环境中的用于研究的实验室有用,其中实验室兴趣在于将试剂或目标分配或安置或放置入通道内并且随后运行化验并且通过再使用微流体装置而重复该过程。

[0182] 图1-8的微流体装置的构造呈现了刚描述的阀和活塞以及子组件的连接的构想。

[0183] 参考图9等,完成两个预构造子组件之间的组装的具有相当大的优点的另一个有用的技术(相比于使用非永久结合过程)是形成永久结合。

[0184] 已发现由刚描述的一般机构和设计所允许的低压力运行可如此减小空气上的驱动压力以渗透隔膜,使得起泡问题减小到一定程度,以至于例如PDMS等弹性隔膜可使用,其相比于现有技术的设计具有显著降低的空气渗透和起泡的危险。这具有低成本和制造简单的优点,并且使能够实现极其一致且灵敏的化验。

[0185] 现在将描述的实现方式中的区别是由真空或压力促动以运行阀和活塞的隔膜或柔韧层是由弹性材料制成的并且使用不同的有利技术以制作该装置。

[0186] 通过分批工艺生产的特殊空心流元件的描述

[0187] 所解决问题的之一涉及与如上文已描述的和已描绘的空心流元件关联的表面面积,即,元件具有小于700微米的长度,优选地小于500微米,并且在许多情况下,大约200微米,并且孔直径在大约75+/-50微米之间,其固定在流通道中且暴露于液体样本流(这种空心流元件和基于其的化验装置可从CyVek公司,Wallingford CT获得,其商标为“Micro-Tube TM”、“u-Tube TM”及“Mu-Tube TM”)。这种装置由被无限拉拔的微孔丝高效地制造,微孔丝例如用以形成毛细管,但在这种情况中,丝被精细地切割成段以形成分离的、极短的空心流元件,而不是毛细管。可以了解,通过沉浸技术施加的固定在这种装置表面上的捕获剂可引起显著的耗尽(depletion)问题。例如,当尝试表征例如每毫升几皮克的在低级别的分析物的浓度时,耗尽出现,s是期望的。称为“耗尽”的该现象出现,由于与流元件的更大的有效面积结合,其中被测量的样本中的分析物浓度在体积方面能被不利地耗尽。这导致化验的灵敏度以及从而其有用性的降低。为了进一步解释,在ELISA或夹层型氨基抗原化验中的任何分析物将以一种方式结合以捕获抗体,该方式由动力反应(一种动态过程)支配。当例如抗原等分析物与诸如抗体等捕获剂结合时,也会发生相反的情况,结合的分析物分子与捕获剂脱离结合。动力学涉及被捕获的分析物的“捕获率”和被释放的分析物的“释放率”。捕获反应将继续,耗尽周围体积中的分析物,并降低其净捕获率,直到系统达到平衡,其中结合率和脱结合率相等。该渐进行为基本依照指数曲线而发生。

[0188] 平衡条件的绝对值取决于被化验的样本量中分析物的原始浓度。浓度的增加导致更高的信号,浓度降低导致更低的信号。在发生化验耗尽的情况下,样本中分析物的浓度随着时间不利地降低。可以了解,在元件所暴露于的液体样本量中,固定在流通道中的空心流元件可存在过多的捕获剂,降低了分析物的有效浓度。相对于企图测量的初始的开始点浓度,浓度以过快速率降低。虽然对于此的校准努力是有帮助的,但是这种耗尽最终降低化验的灵敏度,因为随着信号降低,其接近噪音水平,并导致更低的信噪比,即化验的有效性的固有的降低。(早已存在显著的噪音贡献者,即,外来杂音、捕获抗体的非特定结合、荧光噪音、电子噪音等)。因此,尤其对于探测小浓度,期望不要以不对化验测量起积极作用的方式耗尽分析物的初始体积。做这的有效方式(如通过以设法限制暴露表面的量)并非已显而易见。这可视为伴随各种描述的小探测元件的使用的固有问题,小探测元件通过沉浸等涂覆并且用于免疫化验或夹层化验或甚至分子诊断式化验。人们通常希望将元件沉浸在捕获剂中,例如抗体或用于待感测或探测的分析物的捕获分子的某些类型的部分,以均匀地涂覆元件的所有表面。发明的一个目的是克服关于空心流元件的这个问题,空心流元件特征在

于内表面和外表面或通常还具有两个端表面。总计其上涂覆有密集的捕获分子的所有表面积可总计达到超过100,000平方微米数量级的表面积。这是由小孔丝(small bore filament)形成的空心流元件的优选形式的情况,元件具有大约如下的数量级:小于700微米的长度,优选地大约500微米或更少,并且在目前优选的实现方式中为200微米。同样的,发现内孔期望在50微米 \pm 25微米的范围内,用于通过沉浸和搅动实现均匀的涂层。在一个优选的情况下,元件具有125微米的外直径或宽度以及70微米的内直径或宽度。此处所解决的具体问题是寻找实用的方法,用于准确降低沉浸-涂覆的概括地说是流化元件、具体地说是空心流元件、并且具体地说是所提及尺寸的元件的有效表面积。

[0189] 此处所解决的进一步的问题涉及处理过的空心流元件,其将在通道中固定位置处用于暴露于样本的流。期望呈批量地以游离状态暴露元件于用于施加捕获剂或抗体至元件表面的固定工序,并且随后将各个元件机械地传输至其在通道中的固定位置处,例如在多元微流体“芯片”(或“箱体”)中。期望使用快和准确的放置工序,例如,安装在准确的X、Y级上的拾取和放置装置。出于此目的,期望物理接触微小元件,用于从表面拾取它并且将它放置在随后关闭以形成微流体路线的敞开通道中。期望使用抓手,例如接触装置的外表面的钳仪器或真空拾取器。拾取和放置行为通过预对准待接纳空心流元件的开口通道和用自动拾取-和-放置仪器向其上供应游离元件的表面而成为可能。这使抓手能够从供应凹处(supply pocket)向它们将被固定的期望的流通道位置准确地拾取并且放置空心流元件。通过真空拾取,在供应槽中可能以端对端抵接的关系提供空心元件,并且用真空拾取接合外圆柱表面。我们意识到,产生了关于具有例如固定在元件的外表面上的抗体等有效捕获剂的问题。由于操作工序,此种涂层易于机械损坏。微流元件的外表面与(a)例如对准凹处或槽等供给表面、(b)传输抓手或真空拾取装置和(c)其沉放至其中的通道的表面接触。所有这些接触机会对脆弱的涂覆的捕获剂造成可能的损坏,涂覆的捕获剂典型地为吸附在流元件的表面的抗体等的非常薄的层。此涂层通常仅为几个分子厚,厚度为纳米或数十纳米的数量级,并且很脆弱。损坏放置的空心流元件的捕获表面的最终结果在读取化验报告期间被看到。如果表面以任何方式被刮伤或干扰,那可造成捕获的分析物的不规则的浓度或呈现,信号可为不规则的,并且导致化验的不可再现的或拙劣的表现。

[0190] 因此,我们认识到期望在空心探测元件并且尤其是由微孔丝形成的细孔元件的外表面上没有固定的有效捕获剂,该外表面是易于损坏的且该外表面导致捕获剂或抗体的总表面积的增加,这导致了耗尽。

[0191] 权利要求书中和下文描述的特征解决了这些和其它重要的问题。

[0192] 分离的空心流元件沉浸在包含诸如抗体或抗原等捕获剂的液体中,并且在通过液体涂覆后被拾取和放置在用于流穿过化验的通道中。空心流元件采用的优选形式是:分离元件,其长度小于大约700微米,并且孔直径为70 \pm 50微米,优选地为50 \pm 25微米。流元件是表面处理的,使得诸如捕获抗体等有效捕获剂不在外侧上或在受限的外侧区域中。为了此效果,将空心流元件放置于有效药剂的浴器中并且激烈搅动,造成受保护的內表面的涂覆,但由于极端的剪切力,造成外表面上的干净区域,例如,圆横截面分离元件的整个外圆柱表面为干净区域。代替或除此剪切工序之外,构思特别的丝制造工序,造成阻止用预先确定的捕获剂涂覆流元件的外表面。在所选择的涂覆区域上的捕获剂用精确定位激光束来消融或失效,例如可通过用于大量元件的同时处理的遮挡片生产,留下在空心流元件的内表

面上的限定区域的剩余有效药剂。在元件的内侧上的剩余捕获剂自身有效地限定与期望的化验相关的可读的编码。流通道形状相对于固定在通道中的流元件确定尺寸,以允许(a)万分之一第一元件堵塞,沿空心流元件的暴露的外侧的旁通通道流到达并流过在通道中的稍后的元件,以及(b)样本和化验液体流过空心流元件使表面暴露于捕获剂和其它化验液体。不需要尝试密封外侧,可如通过压靠该元件的弹性片来简单地抓起元件。使用流元件和通道壁之间的静电吸引以将元件固定在适当的位置,克服当仪器在元件的传送后被拉走时放置仪器的任何干扰力。在化验后,在使用落射荧光探测的情况中,荧光被激发并由限定于空心流元件几何形状的专用扫描读取。定位器根植于记录数据中,并且用于在探测的荧光数据(例如从这些元件)中定位感兴趣的区域。用在空心元件内侧的捕获剂物质写成的编码通过元件的透明壁读取。多个特征是或将被发现是有用于其它空心元件的,例如,更长的元件。

[0193] 关于扫描,本发明的目的是提供一种用于执行包含在微流体芯片中的多个固定元件的荧光测量的方法。此方法提供用于确定在扫描以及适当的聚焦和相机的曝光期间将遵循的路线。该方法基于已知的一般芯片布置。提供的方法导致了将待测量的芯片放置入扫描器中并且随后开始扫描的能力而不需要任何额外的手工设置。该方法不停歇并且产生期望的荧光测量作为结果。

[0194] 发明的某些方面涉及排除或防止有效捕获剂在空心流元件的外表面例如延伸外圆柱表面和/或端表面出现,同时使有效捕获剂留在内表面上而不被干扰,或留在期望区域或图案。解决此方面的特征包括有选择地限制在内表面上的捕获剂的技术和与外表面和内表面结合起作用以实现期望的结果的步骤。

[0195] 对于降低总捕获表面面积的具体优点,将描述发明的两个方面以及它们的组合的效果。使用第一技术以排除或防止诸如抗体等捕获剂固定至空心流元件的外表面。这是在批量涂覆工序期间完成的,并且涉及将分离的空心元件悬留在带有感兴趣的捕获剂的Eppendorff管或其它实验室管中,并且激烈地搅动流体以向元件的外表面施加分裂剪切力。优选地,这是通过使流体高速涡旋来实现的,例如采用绕容器轨道运行的仪器,该轨道运行器大约2000转/分,围绕轨道路线,该轨道路径具有大约0.5cm的支撑平台的总的横向幅度,其为经过轨道运行器的旋转中心测量的。空心流元件放置有一定量例如一毫升的诸如抗体的捕获剂。适当的涡旋速度取决于例如悬留的性质例如选择的液体的粘性等,并且可通过实验容易地确定。其通过观察捕获剂是否有效地在不存在于空心流元件的外侧长表面(例如在主体为圆横截面的情况中的外圆柱表面)上来设定。

[0196] 有关的物理原理涉及在元件的外表面上的剪切力,其作用以防止捕获剂与表面通过吸附工序的结合。人们可观察到有力的搅动是否足够以剪切下已经被结合至该表面的任何捕获剂,例如抗体。同时,内表面凭借管型的几何形状和管的微孔被包围地保护而免受该剪切影响。这防止涡旋在元件内引起任何扰动出现。仅层流情况存在。由于微孔元件,雷诺数总是足够低以保证那种层流情况存在于内表面上。在这些情况下,根据定义,在内壁界面处空心元件中穿过的流体的速率为零。所以那里不涉及剪切力,而外侧处于高扰动、高剪切力环境中。元件的长度短使内表面的涂层能够基本均匀,而通过沉浸涂覆的更长的元件易于遭受不利的非均匀涂层。所观察到的诸如涡旋等激烈搅动的结果是通过执行夹层化验而观察到的荧光完全不存在于空心元件的外圆柱表面或其它形状,而其却以可观察的方式出现于内表面上。在正方形端部的空心流元件的情况中,荧光还出现在元件的端面上。

[0197] 涡旋是目前用于产生剪切力的优选技术。这里示出的情况使用以非常快速的方式、以小的圆周、以大约每分钟几千转的速度、并以大约25mm的幅度往复沿轨道运行旋转涂覆的元件。

[0198] 然而,产生高度扰动的任何类型的快速震荡都可使用,所以往复的运动、圆周的转动、将非常快速混合流体并且产生高剪切力的任何运动都可满足要求。

[0199] 总结而言,在有激烈搅动的情况下空心流元件导致诸如抗体等捕获剂从元件外表面移除,并且防止它们涂覆有捕获剂,但使元件内表面的情况适合固定捕获剂,例如,捕获抗体,以用于随后与样本的分析物相互作用。

[0200] 作为高剪切技术的替换方案,我们构思了一种备选工序,其中,在小孔管的原始拉拔(drawing)期间,并且在沿拉拔路线的点之前,将通常可移除的保护聚合物涂层施加至丝,将诸如喷溅金、银或石墨等不粘涂层施加至丝,例如通过经由喷溅室(sputtering chamber)来实现。硅烷或类似涂层必须在例如抗体等捕获剂将附接前施加至接纳表面。然而,由于喷溅涂层等的特性,表面将不接纳硅烷或等同物,随后同样的,也不接纳有效捕获剂。

[0201] 发明的另一个特征涉及实现如下期望和技术:从流元件的选择的端面和内表面的边缘部分或其它部分移除涂覆的捕获剂。优选地,在激烈搅动工序之后,元件进一步使用激光排除工序加工,从未通过高剪切工序从其移除药剂的表面移除或使诸如抗体等捕获剂失效。那些表面包括横向端面和内表面的所选部分,仅留下在内表面上的环形带,其尺寸定为足够进行化验,但足够小以降低来自样本的分析物的耗尽。

[0202] 在优选形式中,将消融激光横向布置于空心元件延长轴线,其具有作用:平行于端面但达到端面的能量实现的作用对于那些端面上的捕获剂具有使失效或移除的作用,作为基本平行的射线入射的结果,但还作为通过限定那些端面的透明物质的射线的内在的反射散射的结果。

[0203] 如果以新颖结合使用,描述的两个新颖工序的实际效果是仅留下所选尺寸的带,其可为狭窄的固定在空心元件内表面上的捕获剂。这可以一种方式完成,使得留下由无捕获剂的空间分隔的一个或更多带。因此人们可制造在中间的单个带或更接近一端的单个带或沿元件的长度分布的多个带。这些带可具有不同宽度并且可具有不同的间隔并且可具有编码的形式,例如条形码,这对于为具体流元件编码有用。

[0204] 下面是具有重大新颖特征的制作技术的描述。

[0205] 短的空心元件是首先由先前供应的连续小孔丝形成(即切割成)为短的分离元件。随后,以成批的方式地处理它们。

[0206] 大量空心元件随后在Eppendorff管中暴露以清洗缓冲剂。在执行清洗工序后,缓冲剂被移除,并且由硅烷替代。通过使用此简单的、低成本的沉浸步骤,硅烷被允许结合至元件的所有表面。多余的硅烷在一段时期后用缓冲剂中的水清洗掉。随后溶液中的诸如抗体等捕获剂被添加入具有大量空心元件的Eppendorff管并且允许整夜的培育。在轨道轨道涡旋器(orbital vortexer)上以每分钟2000转执行培育大约16个小时,通过轨道运动的直径向移动大约0.5厘米。包含大量Eppendorff管的轨道板直径大约6英寸,但是轨道运动是逆时针并且随后顺时针运动的环形图案,例如,该轨道运行导致从一侧到另一侧大约0.5厘米的移动。

[0207] 在涡旋工序完成后,最终结果是捕获剂已固定在空心元件的内表面上,并且还固定在端面上,但其不出现在空心元件的外圆柱表面上。捕获剂溶液从Eppendorff管移除,其由清洗缓冲剂(一种清洗缓冲剂溶液)替代,并且清洗缓冲剂溶液随后进一步由稳定化缓冲剂替代,我们称之为堵塞缓冲剂(blocking buffer)。在优选的实施例中,称为STABLE COAT(稳定涂层)的商业材料的溶液被使用。

[0208] STABLE COAT堵塞溶液被引入Eppendorff管与空心流元件,随后那些元件的一部分与一些STABLE COAT一起被吸入吸管,并且分配到对准板上。为了用钳拾取,对准板包括一系列矩形凹处,每个设计成在小空间内容纳并且定位单个元件,优选地具有若干微米大小的间隙公差,元件和凹处的壁之间的空间为10到50微米。在允许元件在板上活动后,它们落入这些凹处中并在存在缓冲溶液的情况下保持静止。通过将具有元件的它们的板放置入离心机或离心保持器(centrifuge holder)并以大约2000rpm(转/分钟)离心运动30秒,从而从板和元件移除所有多余的STABLE COAT溶液,多余的缓冲溶液从包含元件的对准板移除。此工序通过板的新颖设计而促进,其中排放通道从凹处径向延伸。

[0209] (在真空拾取器的情况中,由于元件可端对端地紧密在一起,使用连续的槽以接纳比凹处所能达到的密集度更大的处理过的元件,因为如用钳的情况将接合圆柱表面而非端面来拾取。)

[0210] 空心元件静止在板中时,进一步用激光加工,优选地紫外线激光器,其可为准分子激光器、氟化物激光器或氟化氩激光器,具有两个间隔的光束,使得元件的端部和端部边缘部分或区域通过激光束以一种方式垂直于元件轴线暴露,使得来自元件的端部以及元件内表面的区域的诸如抗体的捕获剂消融或使其性质改变。激光器构造的一个特征是两个激光束以固定距离间隔开,其限定捕获抗体表面的剩余的带的期望宽度。可允许在对准板的空心元件凹处内的空心元件以一定自由度往复移动,与此同时,激光仍然在加工元件的大致端部并在元件的中心附近留下固定宽度图案,增加或减少合理的公差范围。

[0211] 可能代替以限定具有间隙的一系列三条或更多激光光束,使得激光束之间的不同间隙中的不同宽度的激光光束产生的图案限定暴露在空心元件中的图案,其看起来像并且用作条形码。

[0212] 另外,可以了解具有在空心元件外侧的通道中的显著的旁通流与穿过元件的流同样有用。一个优点是制造的简单,因为元件可被保持但不被密封并且不尝试使用累赘的粘合剂以将元件粘附至通道壁。另一个优点是完全破坏化验的风险的避免,因为当在液体流路中布置成串联时,微粒可能会阻塞空心流元件之一的内部流。具有在外侧上的显著的旁通流,至少有50%那么大,在许多情况中达到75%或更大,并且在某些优选的例子中达到100%或更多是很有用的。至少在一定程度上,这能使元件“短路”,确保就算一个元件被堵塞或阻塞并且流停止,其它元件也将接纳流并且化验将仅部分地被堵塞微粒影响。此外还意识到由于此处呈现的构想,能够避免在外部上具有有效捕获剂从而不导致耗尽问题,外部即对于圆柱形元件而言,在空心元件的圆柱外部或在其端面上。先前描述的技术关于避免有效捕获剂粘合至空心元件的外部圆柱表面以及激光处理端部,从而促成所描述的使用旁通流的实用性。

[0213] 空心流元件的定尺寸

[0214] 从理论观点而言,长久以来接受的知识是诸如抗体等捕获剂表面面积越小,则化

验越敏感。因此总是期望使空心元件的内直径保持尽可能小,以最小化该表面面积。但是现在已根据经验确定,在极限范围内,当直径增加一定程度时,化验的表现得到改善。可以相信,这是由期望使用的批量处理产生的非均匀涂层的直接结果,也可能是化验期间出现的一些作用的直接结果,因为在管元件直径相比于75微米的内直径的元件更小的情况下,可能存在体积量的干扰,即实际流过空心元件的总体积的干扰。我们已发现内直径应当为大约75+/-50,并且在优选情况中,为 50 ± 25 。

[0215] 优选地,外直径具有在1.2至4倍的内直径或宽度的范围内的直径或宽度。

[0216] 对于空心流元件的长度,当长度小于约700微米时,并且在许多情况中,小于500微米时取得最佳结果。在目前优选的形式中,长度为250 μm 。

[0217] 100.当我们讨论时我将检查那个。在较早的申请中,将20比1的比率设定为是20比1的内直径长度比内直径被认为是优选的。

[0218] 已经发现,当通过本文描述的批量处理涂覆时,更短的空心元件导致捕获剂涂层的更好的均匀性,并且同样发现在拾取和放置行动期间,更短的空心元件更适合经得起承受轴向钳力。

[0219] 如同先前提到的,提供两个各自制作在其相应的固体基底或载体上的子组件存在显著优点,其为尺寸上地稳定,尽管在可允许的程度下柔韧。极小的空心流元件(或将在盒体内固定就位的其它探测元件)在对准之前被放置在子组件之一的匹配表面上的打开位置中。一旦子组件对准,使两个子组件在结合条件下在一起以形成一个完成的组件,并且固定元件的嵌入位置。随后使两个子组件在一起以完成流体通道。使它们一起形成环状完成了阀和活塞装置的同时嵌入探测元件。这些特征出现于先前参考图1-8描述的非永久结合的实现方式。

[0220] 现在将描述广泛的组装构想的另一个实现方式,其使用永久结合特征。我们现在将参考从图9开始的附图。以下是在图9等中的标出的部件的列表。

- [0221] 20 完成的暗盒
- [0222] 22 样本入口井
- [0223] 24 缓冲剂入口井
- [0224] 26 废液井储液器
- [0225] 28 储液器井-探测抗体试剂-优选实施例-脱水
- [0226] 30 微流体通道
- [0227] 32 极小的空心流元件(“元件”)
- [0228] 34 微流体阀座
- [0229] 35 微流体阀气动室
- [0230] 36 活塞流体室
- [0231] 37 活塞气动室
- [0232] 38 弹性隔膜
- [0233] 39 等离子结合界面
- [0234] 40 描绘流的箭头
- [0235] 41 旁通流路
- [0236] 42 玻璃基底

- [0237] 43本体(bulk)材料
- [0238] 44微流体通道井
- [0239] 46 控制储液器层
- [0240] 48流体层子组件-无元件
- [0241] 50流体层子组件-带有元件
- [0242] 52单样本四分析物微流体网络
- [0243] 54微流体阀-整个组件
- [0244] 55活塞-全组件
- [0245] 56储液器/控制塑料构件
- [0246] 58气动界面口
- [0247] 60活塞控制线
- [0248] 62阀控制线
- [0249] 64臂工具端(钳或真空探头)
- [0250] 66拾取和放置臂(向上和向下移动)
- [0251] 68源/目标X、Y台(沿X和Y坐标移动)
- [0252] 70空心流元件源(槽和井板)
- [0253] 72目标微流体装置
- [0254] 74臂工具端-真空
- [0255] 76臂工具端-钳
- [0256] 78有效表面

[0257] 在图9中,从上侧开始,子组件46,即控制器/储液器层46,由两个元件组成,上部注射模塑或机械加工塑料部件56以及结合至其下表面的PDMS隔膜片38。

[0258] 底部流体层或子组件50具有探测元件,例如空心短圆柱流元件32。流体子组件包括薄玻璃片42,其具有面朝着永久地结合至其上表面的PDMS衬垫或片38,片38具有限定通道壁44之间流体通道的切口,通道的底部在玻璃片42上,如图10C所示。在所示的实施例中,在使那两个子组件在一起前,探测元件通过拾取和放置动作分配入流体层48的通道中的固定位置中。使两个子组件46和50在一起并且以一种方式结合,这提供对流体紧密并无泄漏的运行,而且使得通过隔膜38的部分实现阀和活塞的促动。此构造的一个新颖特征是如所描述的两个子组件使用PDMS衬垫,使得能够将探测元件捕获或嵌入通道中,此处为极短的空心流元件(Micro-tube商标元件)。将那两个子元件结合成单个组件提供具有包含空心流元件以及功能阀和活塞的微流体通道的功能性。在流体上稳固(fluidically robust)并且无泄漏的微流体结构中,使用原本已知的等离子结合工序,以执行许多描述的功能,紧固探测元件就位并且以完全密封通道的方式形成阀和泵的隔膜,以及使用将描述的工序,其使由PDMS隔膜接触的暴露阀座处的等离子结合失效。

[0259] 流体子组件通过将PDMS共价结合至玻璃而组装,随后上组件(即储液器组件)通过将PDMS共价结合至塑料形成。主要优点是在组装前,将分离的小探测元件(即空心流元件)放置入敞开通道中。

[0260] 技术的重要性还涉及以有效的批量处理使诸如抗体等捕获剂能够固定在固体基底上,从而允许数千的该元件以非常简单的批量处理制作,其具有成本效益并且高可复制

性。处理自身不存在将导致损坏生物内容的处理参数,并且可为室温处理。

[0261] 因此构想的特征包括将子组件聚到一起至固定位置处的捕获元件,捕获(或探测)元件已经以批量处理预先准备好,由于使用结合工序的最终组装,尤其是永久等离子结合工序以结合子组件,并且以可选方式在阀座处通过重复地、局部地偏移阀表面和使其接触阀表面来做到它,现在将描述这些。

[0262] 阀磨合(break-in)工作过程

[0263] ●将气动控制输入口连接至外部控制气动线

[0264] ●使用真空(5-14 psi)促动所有阀以便将隔膜向上吸引入气动阀室。

[0265] ●使表面激活(例如等离子激活)的储液器/控制层与流体层保形接触。

[0266] ●向阀控制线短暂地施加压力(1-10 psi)以便迫使PDMS隔膜与流体层的PDMS表面密切接触。在控制线中切换回真空压力前,允许接触持续大约1-3秒。

[0267] ●在1-2分钟的时间段上,通过迅速执行真空和压力之间的顺序的促动大约20个循环来执行初始的阀的磨合。

[0268] ●取决于PDMS表面的表面活性和受热历程,在5-20分钟的时段上继续用真空和压力来使阀循环。一旦执行完初始磨合循环,优选地使用更缓慢且更延长的促动顺序以防止PDMS表面的缓慢的不可阻挠的结合,直到所有用于结合的倾向都被阻止,其可通过用压力促动阀持续多达1分钟,随后用真空间歇促动以便打破任何新形成的结合来实现。已经示出继续此工序持续多达20分钟以完全地防止在阀隔膜和阀座之间的未来的永久结合。

[0269] ●当使类似表面在一起时,也可以使用具有分子结合能力的其它材料,并且以相似的方式破坏在阀座处的分子结合。

[0270] 阀磨合过程的描述

[0271] 主要由重复的 $-O-Si(CH_3)_2$ 组构成的天然PDMS本质上是疏水的,并且在不特殊处理的情况下具有粘附但不永久地结合至例如PDMS、玻璃和硅等其它类似表面的趋势。然而,当用氧等离子等处理时,甲基组(CH_3)由硅烷醇组($SiOH$)组替代,从而形成高表面能量,疏水表面能够不可逆地与包含高密度的硅烷醇组的其它类似表面结合。此不可逆结合过程通过OH组之间的聚合反应出现在各个表面上,导致了共价 $Si-O-Si$ 结合并伴随水(H_2O)的析出。

[0272] 氧等离子和类似技术具有例如压力、功率和时间等控制参数,这些参数全部都决定表面OH组的浓度。更高的OH组浓度导致两个表面之间的更多共价结合,并从而导致更高的机械结合。在氧等离子或类似处理后,被留下暴露于大气,通过从本体至表面的短的可移动的聚合物链的迁移,亲水表面将经历“恢复”回到其天然疏水状态。在室温下,完全“恢复”出现在几小时的时间段内,并且可通过增加温度而加速和通过在真空中和/或低温度中储存而减速。在结合前,通过在 $-50^\circ C$ 的真空袋中储存活性基底持续几天以锁定亲水表面处理而使适应这点。

[0273] 由于结合机制在相当缓慢的聚合反应之后,聚合反应涉及在完全消耗可得的OH位置前在几分钟到几小时的时段上水的析出,在完成前可能打断此过程。一旦完成,在界面之间的结合强度是可与本体的撕裂强度相比,导致两种材料的不可逆的附接。在这个阶段,尝试分隔开层将导致一个或两个层的本体的损坏。然而,在结合循环的早期阶段期间通过机械地分隔开表面而打断结合过程被发现仅仅不可修复地破坏两个表面之间的少量形成的

结合。本体的撕裂强度相比界面结合高出很多,因此分隔不会对本体产生不可修复的损坏。并且,如果足够早地打断结合过程(通常在开始几秒内),则分隔层所需要的力稍稍大于分隔未处理层所需要的粘附力。使层恢复接触一小段持续时间(通常再多几秒)将再次开始和打断结合。每次重复该循环,潜在的结合逐渐被排除,直到所有这样的结合位置被消耗掉并且材料回复到具有未处理材料的属性。

[0274] 在优选的新颖技术中,微阀通过例如等离子激活等表面激活PDMS或类似表面而形成在PDMS层之间,使它们接触并且随后激活阀以如下方式打开和关闭,使得永久破坏柔韧隔膜和阀座之间的结合,但导致在宽阔的表面上其它地方的完全和稳固的结合,以保持装置在一起。

[0275] 装置制造

[0276] 参考图9,使用所描述的构想的产品是可消耗的微流体暗盒,其用于数量化人类血浆样本中的抗体浓度的目的。如图9中所示的暗盒包含用于样本入口的机载装置(board provisions),换言之,包含将接纳例如血浆或血清样本等待分析的样本的储液器。

[0277] 完成的暗盒20包含样本入口井22,其用于接纳患者的血浆或血清样本或其它类型的体液,包括脑髓流体(cerebral spinal fluid)或尿;其还将包含缓冲剂入口井24,缓冲剂为在化验的处理期间使用的试剂;废液储液器井26设计成包含流过微流体通道并且在微流体暗盒上不再需要自备的所有试剂和样本;还包含储液器井28,其具有包含在其中的具有荧光标签的探测抗体。在优选实施例中,探测抗体在通道中或在储液器中脱水,而在运行期间,使用包含在缓冲剂井24中的缓冲剂再水化。

[0278] 现在参考图10、11 和12。图10示出包含四个独立微流体通道组的微流体通道,独立微流体通道组包含极小的空心流体流元件,后文称为元件。图10示出那4个通道组各自包含6个通道30。存在极小的空心流元件32、微流体阀座34和活塞36。极小的空心流体元件在批量处理中形成,其具有提供在元件内表面上的捕获抗体,并且那些元件定位在通道32中。

[0279] 空心元件的尺寸的范例:优选实施例的长度大约为250微米,内直径大约为75微米而外直径大约为125微米。图11为以两个范例通道平行的范例通道示出的空心元件的放大示意图。

[0280] 在目前优选的实践中,通道比元件更宽,并且元件由附近的静电力吸引而粘附至一个通道壁,限定了在其它侧的旁通流路。

[0281] 图13示出了在通道30中的空心流元件的横截面图,其中在元件外侧上具有围绕空心元件的空间。图13描绘了在微流体通道30中的空心元件32,其中带有描绘的流动箭头40,空心元件由顶表面弹性隔膜38捕获并且在底部表面由玻璃基底元件42捕获。

[0282] 对于玻璃基底层42的典型尺寸是200微米厚度的硼硅酸盐玻璃而弹性隔膜层元件38具有100-200微米的典型的厚度。同样提供通道为弹性PDMS材料,其典型地为100-150微米高,从而形成微流体通道。在图13中还示出,弹性隔膜层不仅向左而且向右延续,同样地玻璃基底不仅向左而且向右延续,并且在任一侧上都包含一个或更多也包含了空心玻璃元件的平行微流体通道,玻璃层元件42结合至弹性壁,即微流体通道壁44,其先前在使用涉及PDMS表面的等离子激活的共价结合技术的子组件工序中形成,并且随后接触并且从而结合至玻璃层,空心元件被插入该通道。

[0283] 存在另外的平行通道30。平行通道的目的是使不同抗体彼此隔离,以用于防止交

叉反应。

[0284] 通道深度小于被拾取并抵靠通道壁之一放置的空心元件的直径,使得元件和通道壁之间的静电力从元件放开诸如钳或真空拾取器等放置装置。在此过程中,通过在端处侧向以“L”形运动移动,增加静电吸引并且允许钳从与元件接合释放并且允许钳被移开。通道30通过使控制/储液器46的弹性隔膜的两端接触而封闭。元件保持在弹性体38和玻璃42之间的通道30中。

[0285] 图11示意地示出两个范例通道,其包含一系列四个间隔开的元件32和旁通流动空间41。

[0286] 图14是带有在通道30中的元件32的流体层子组件48的顶视图。组件50包含该元件。

[0287] 在图14中示出四组微流体单独样本,即四个分析物网络52,每个网络设计成用其自己各自的样本执行化验。

[0288] 图12是包含四个元件32和微流体活塞室36以及具有座34的阀54(图10)的单个通道30的放大示意图。

[0289] 图12通过箭头描绘穿过围绕空心元件32的旁通流路41并且穿过元件的流。

[0290] 参考图9和14,通道30由玻璃基底42和微流体通道壁形成,微流体通道壁通过110微米厚度的PDMS刀切片32形成。

[0291] 图9示出通过使用已知的技术使玻璃片42和独特的切有图案的PDMS片32在一起而形成流体区域48。

[0292] 储液器/控制塑料构件56(包含用于样本22、化验缓冲剂24和试剂废液26的流体储液器)结合至PDMS隔膜38以形成控制/储液器层46。

[0293] 参考图15的透视图,层46和隔膜38准备通过等离子激活的分子结合而组装。图16是描绘最终组件46的顶视图。气动界面口58适于与计算机控制气动控制线匹配,计算机控制气动控制线提供压力和真空促动至阀54(由隔膜38和微流体阀座34形成)和活塞55(活塞由倚靠在活塞流体室36和活塞气动室上的弹性隔膜38形成)活塞控制线60和阀控制线62。由夹在37和36之间的隔膜38形成的活塞泵由在一个方向的真空和在另一方向的压力激活。

[0294] 已描述了本发明的多个实施例。然而,将理解可做出不同的修改而不偏离本发明的精神和范围。因此,其它实施例在所附权利要求书的范围内。

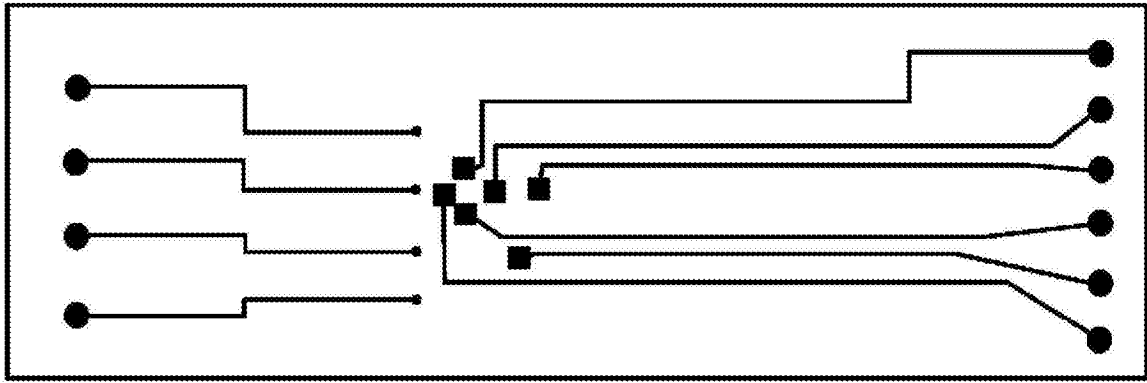


图1A

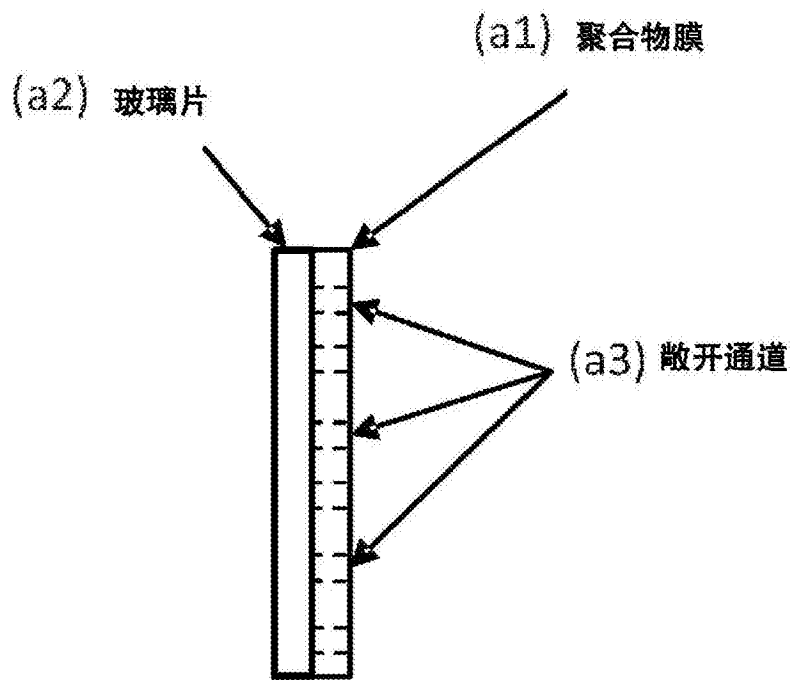


图1B

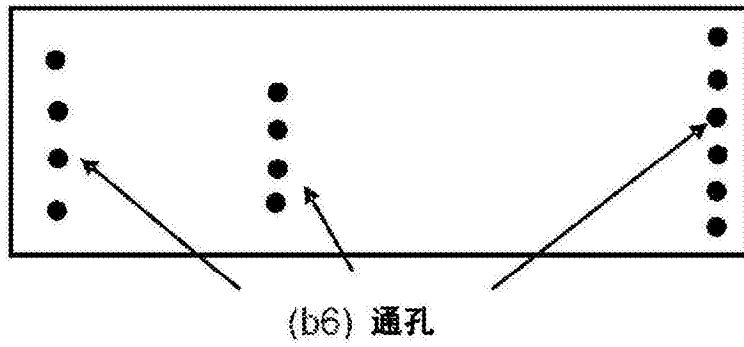


图 2A

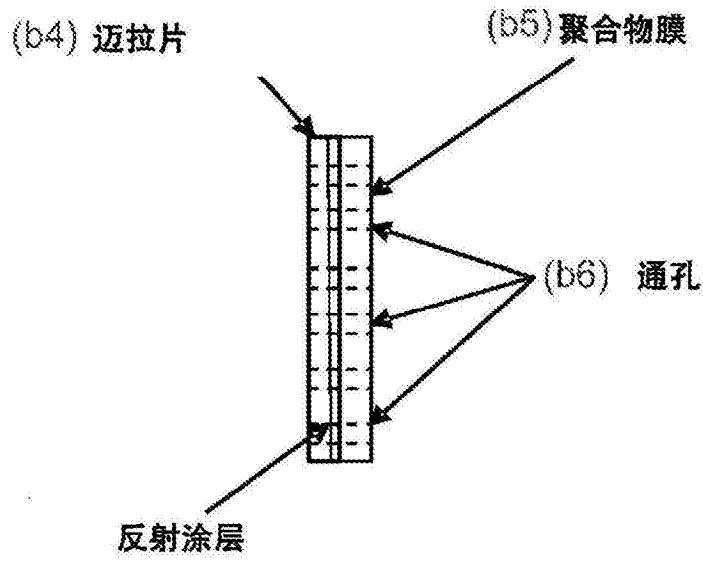


图2B

备选实施例

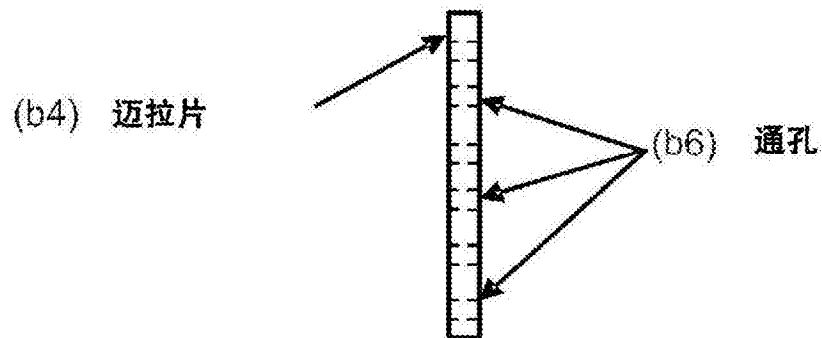


图2C

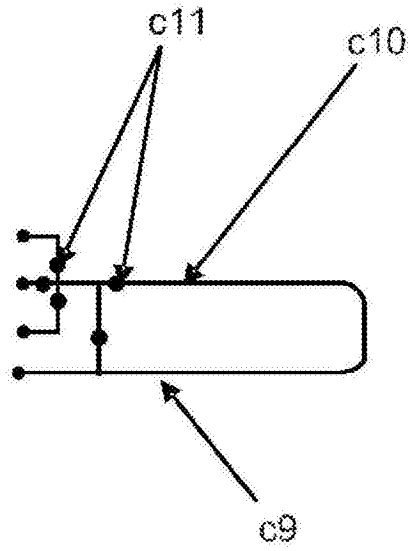


图3A

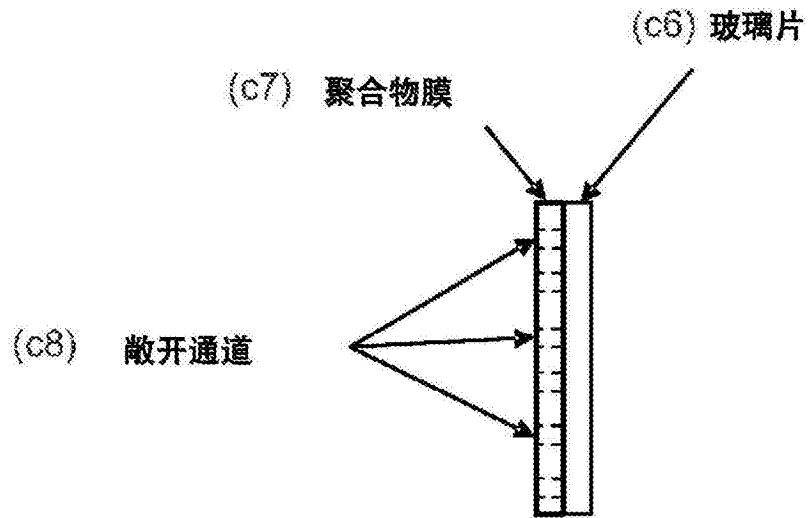


图3B

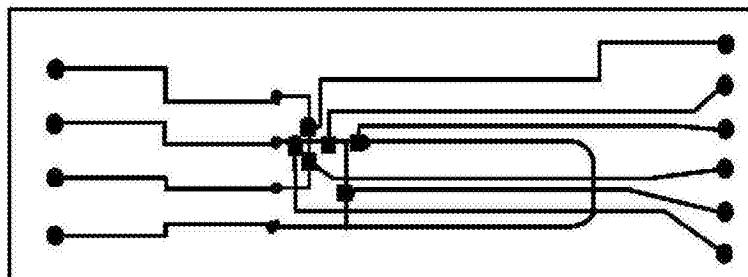


图4A

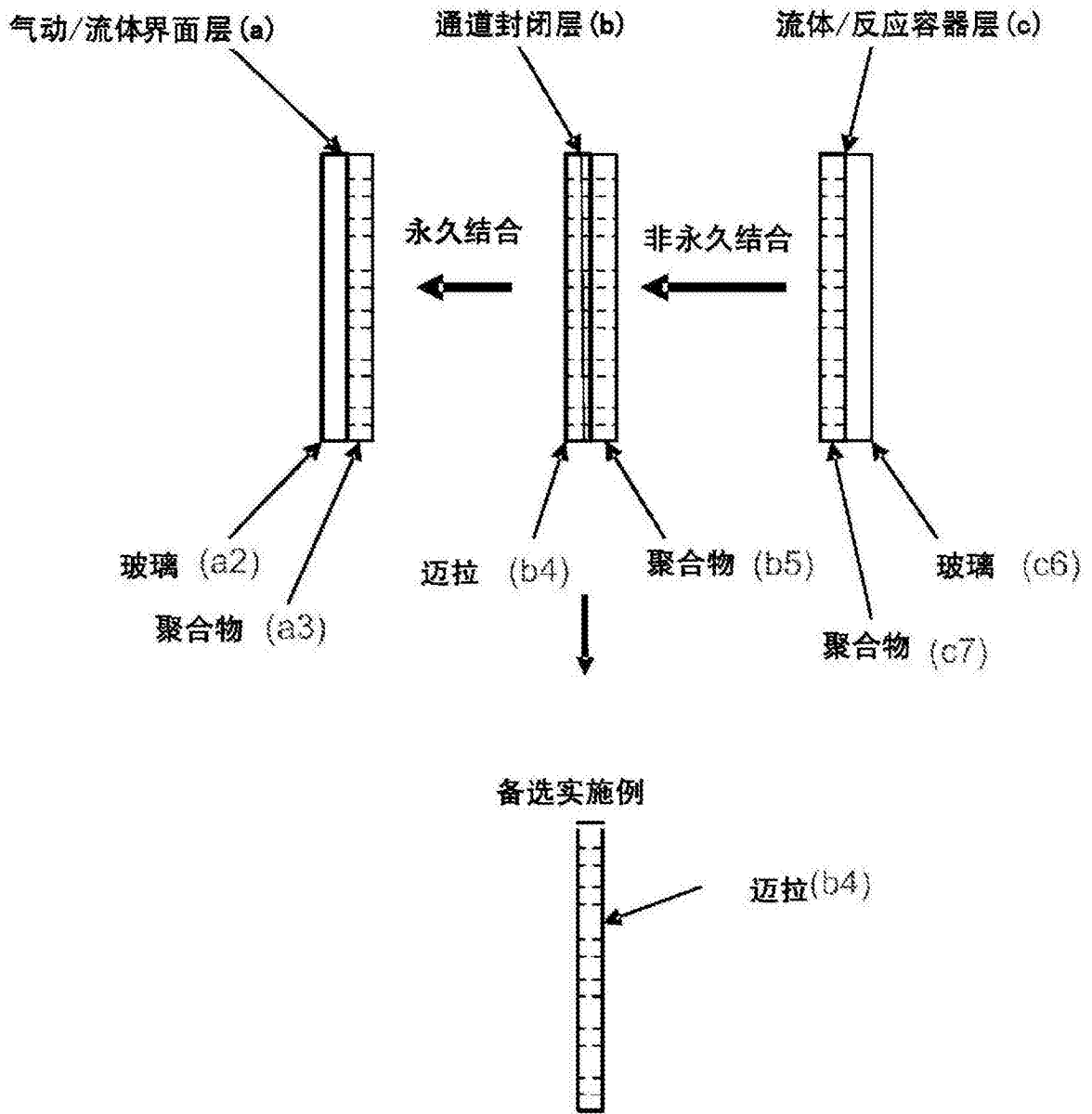
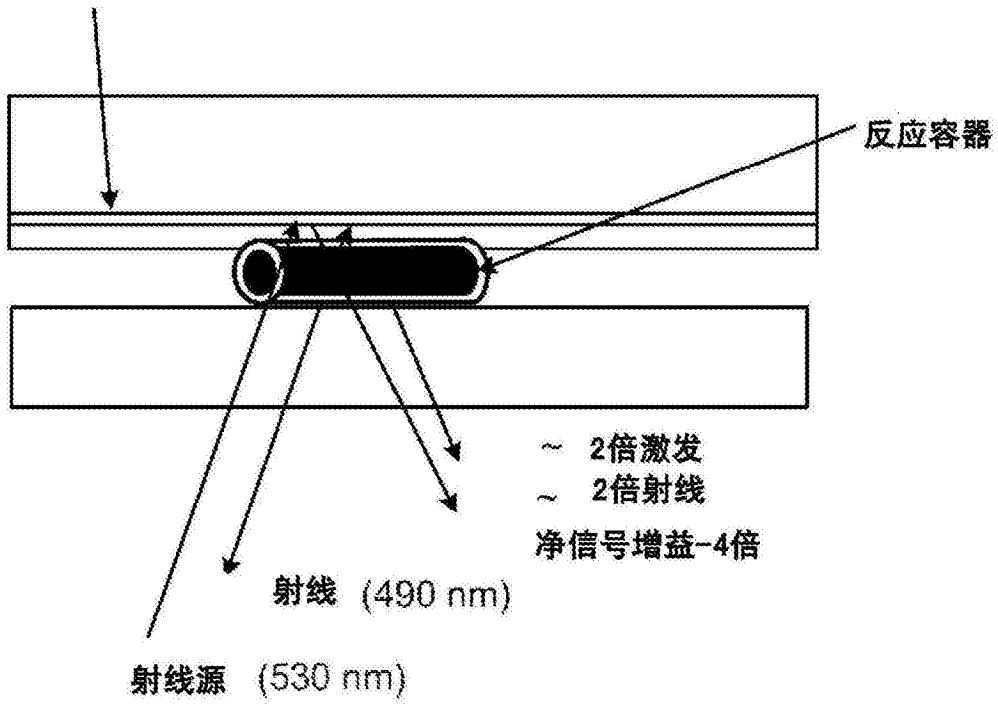


图4B

涂覆12微米的铝的迈拉膜阻止气体渗透



具有反射涂层的迈拉膜

图5

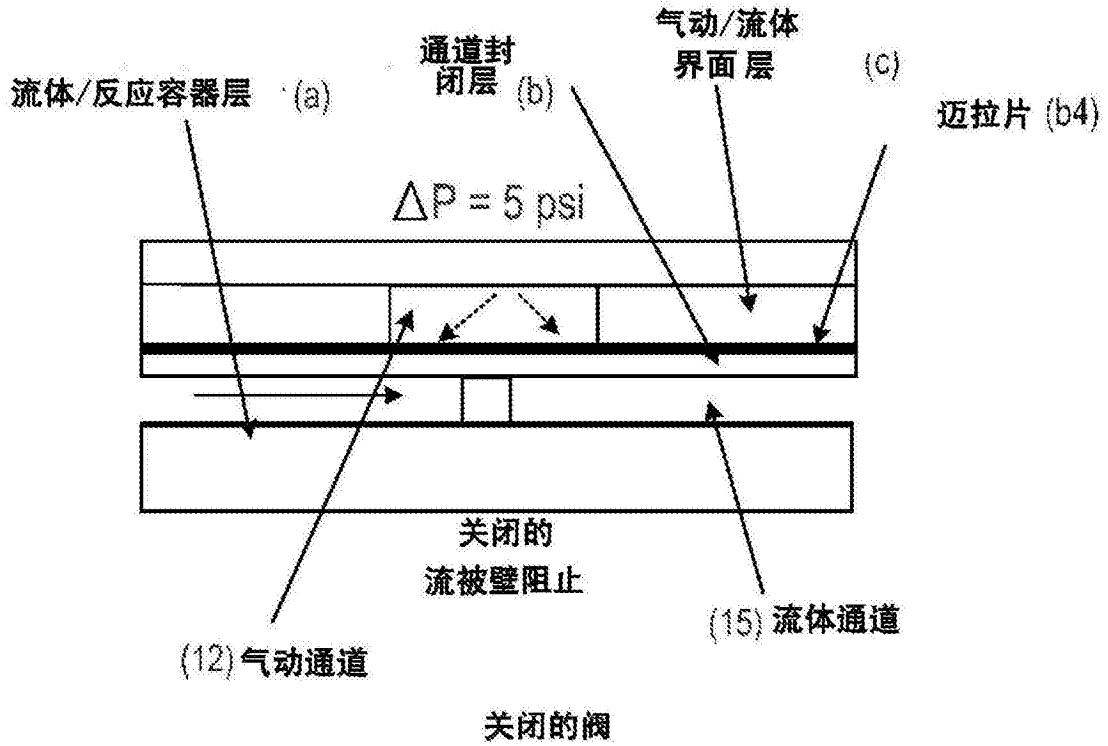


图6A

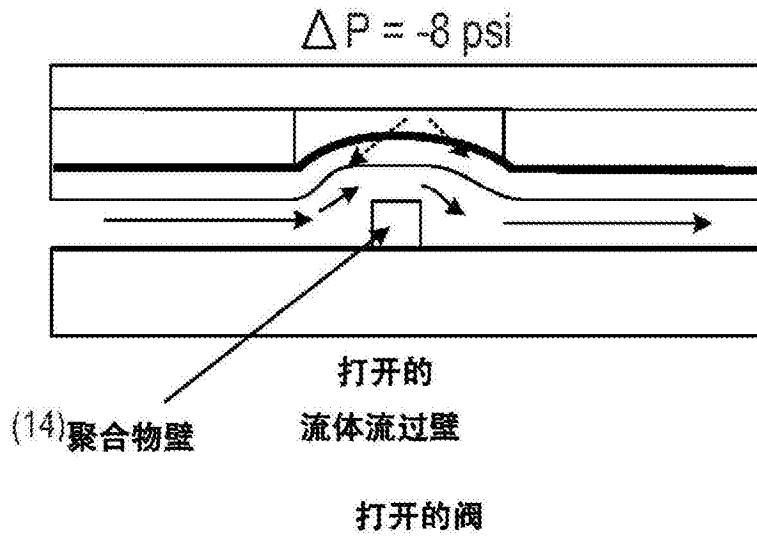


图6B

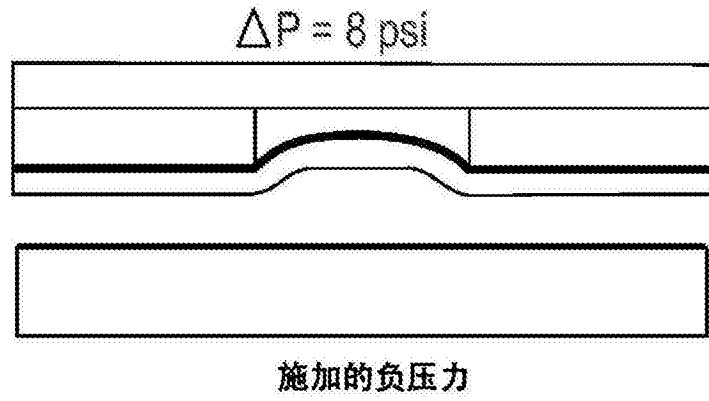


图7A

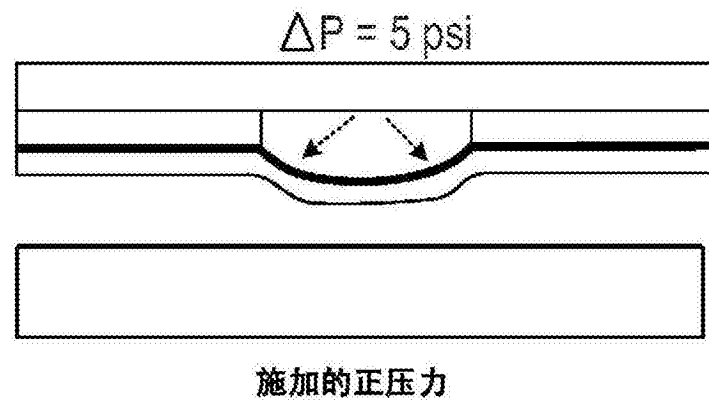


图7B

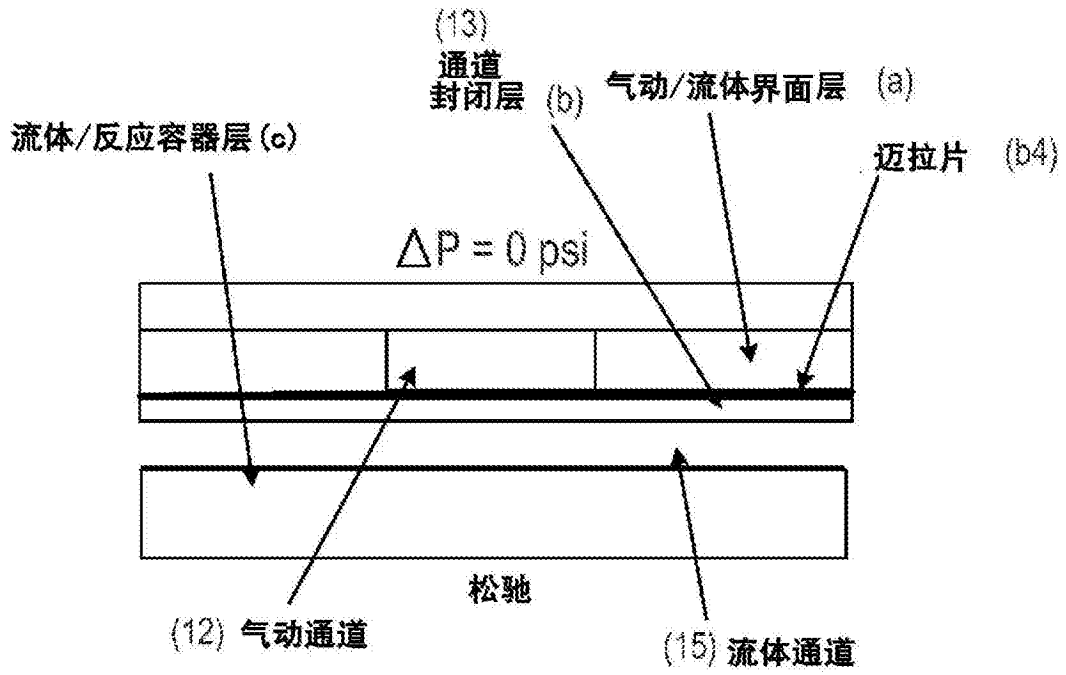


图7C

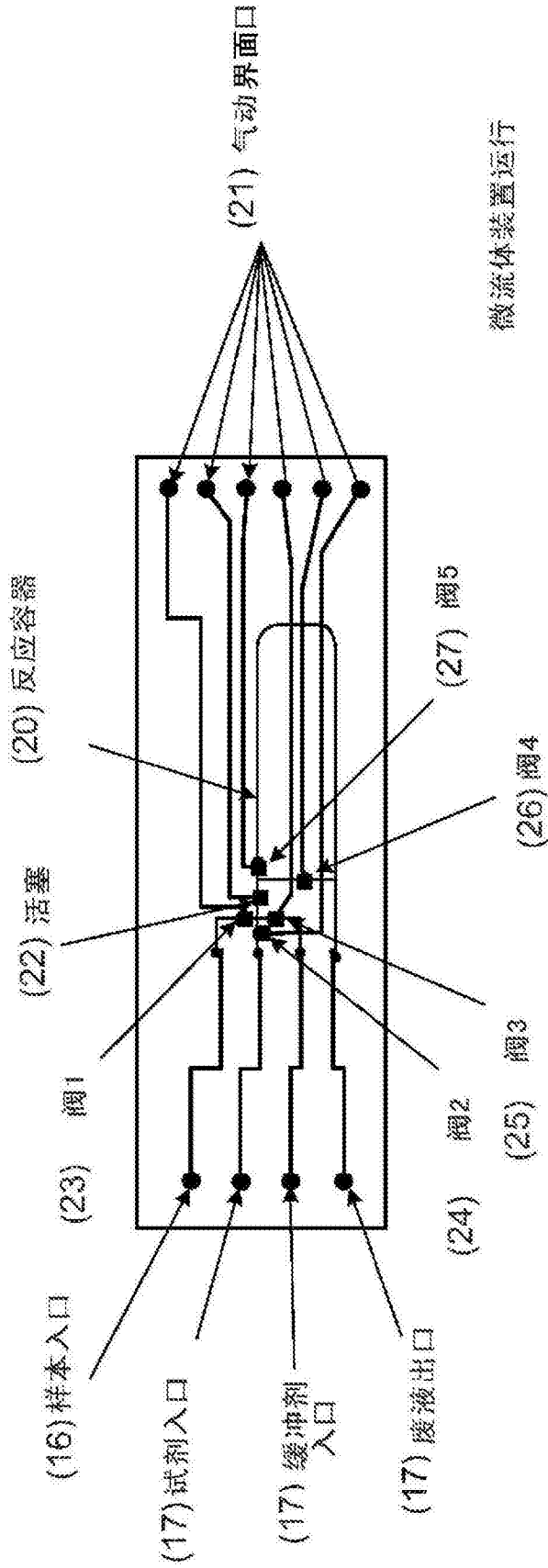


图8

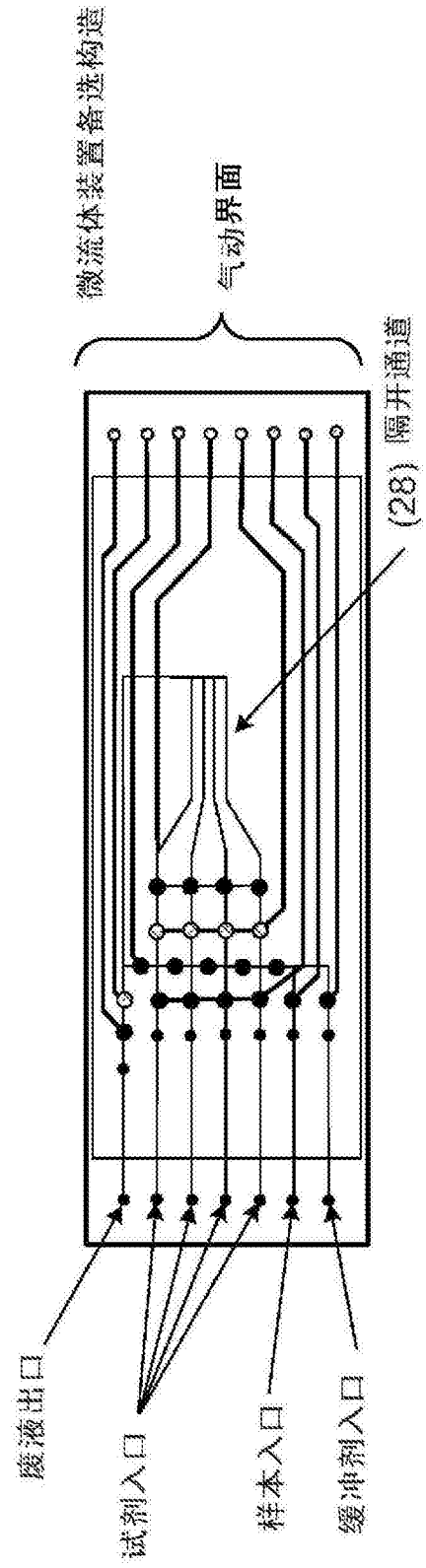


图8A

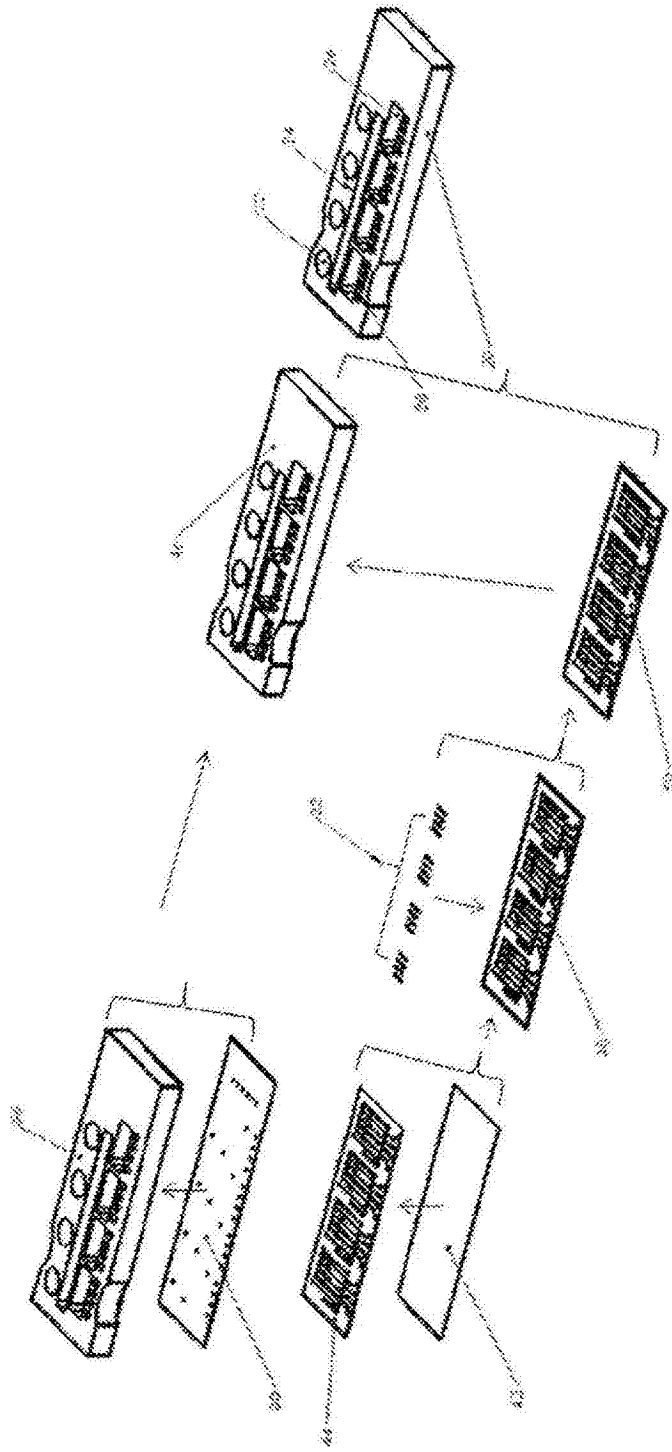


图9

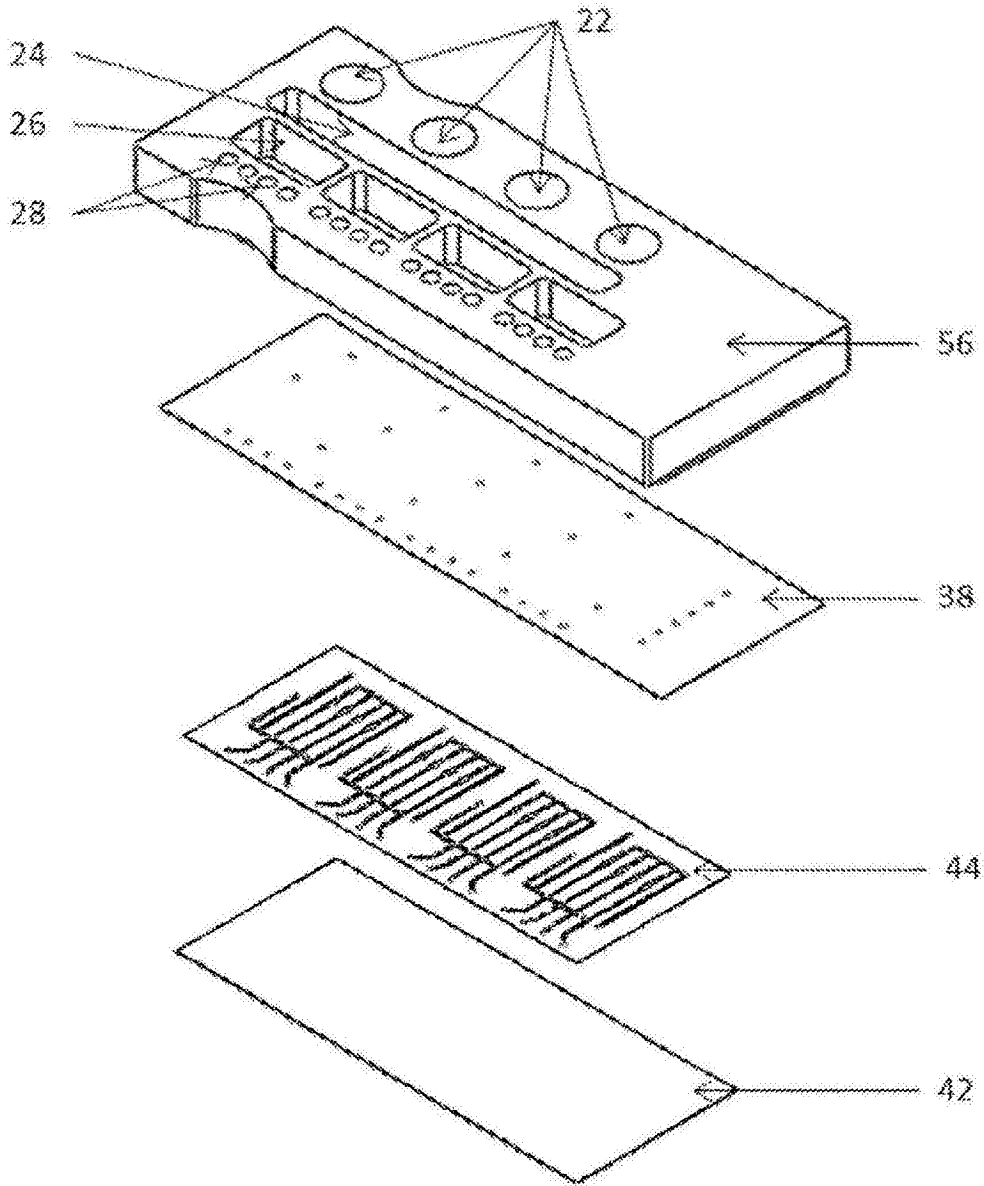


图9A

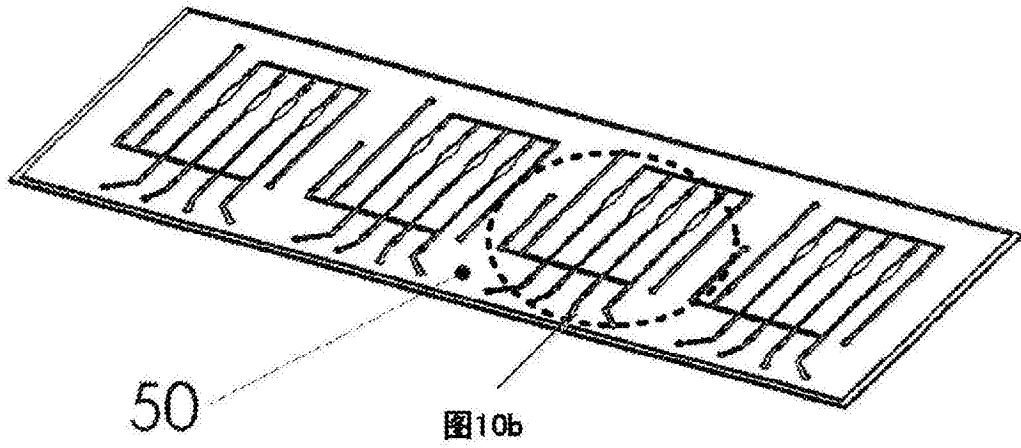


图10A

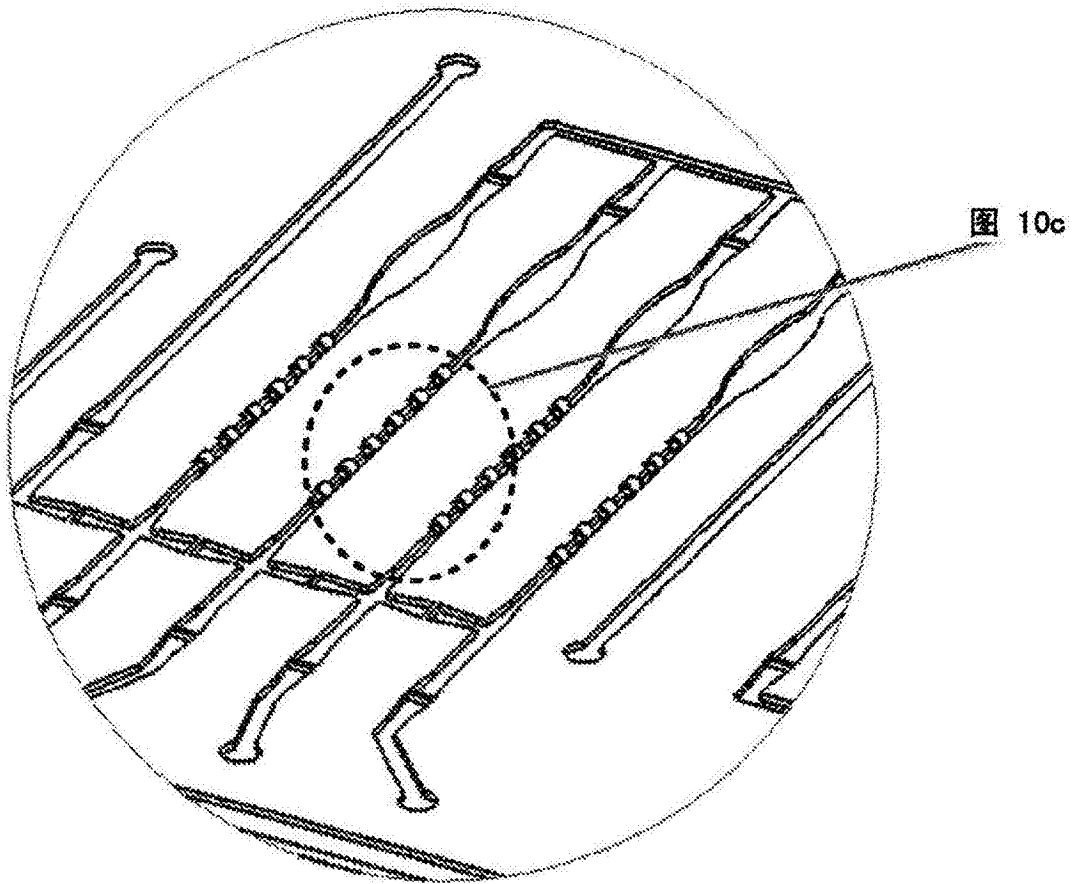


图10B

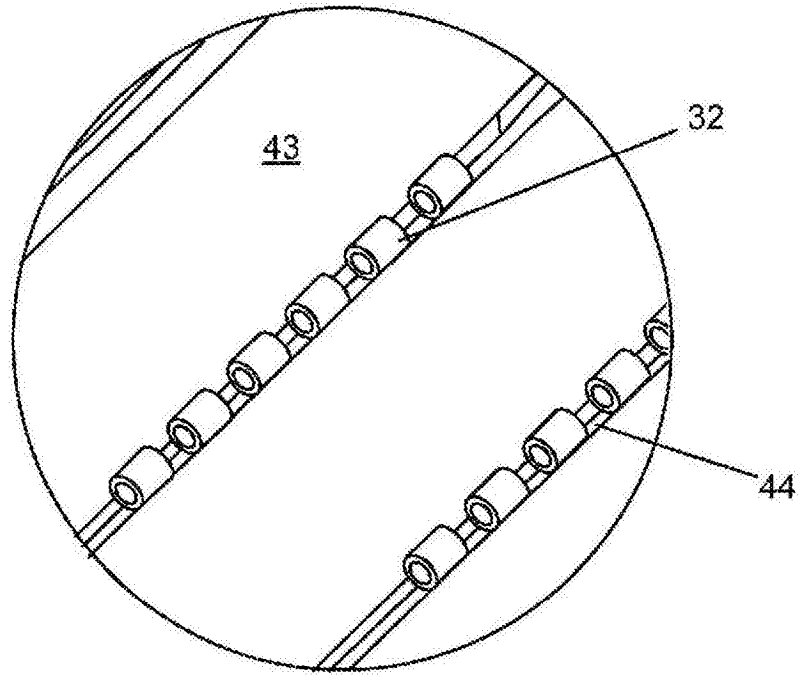


图10C

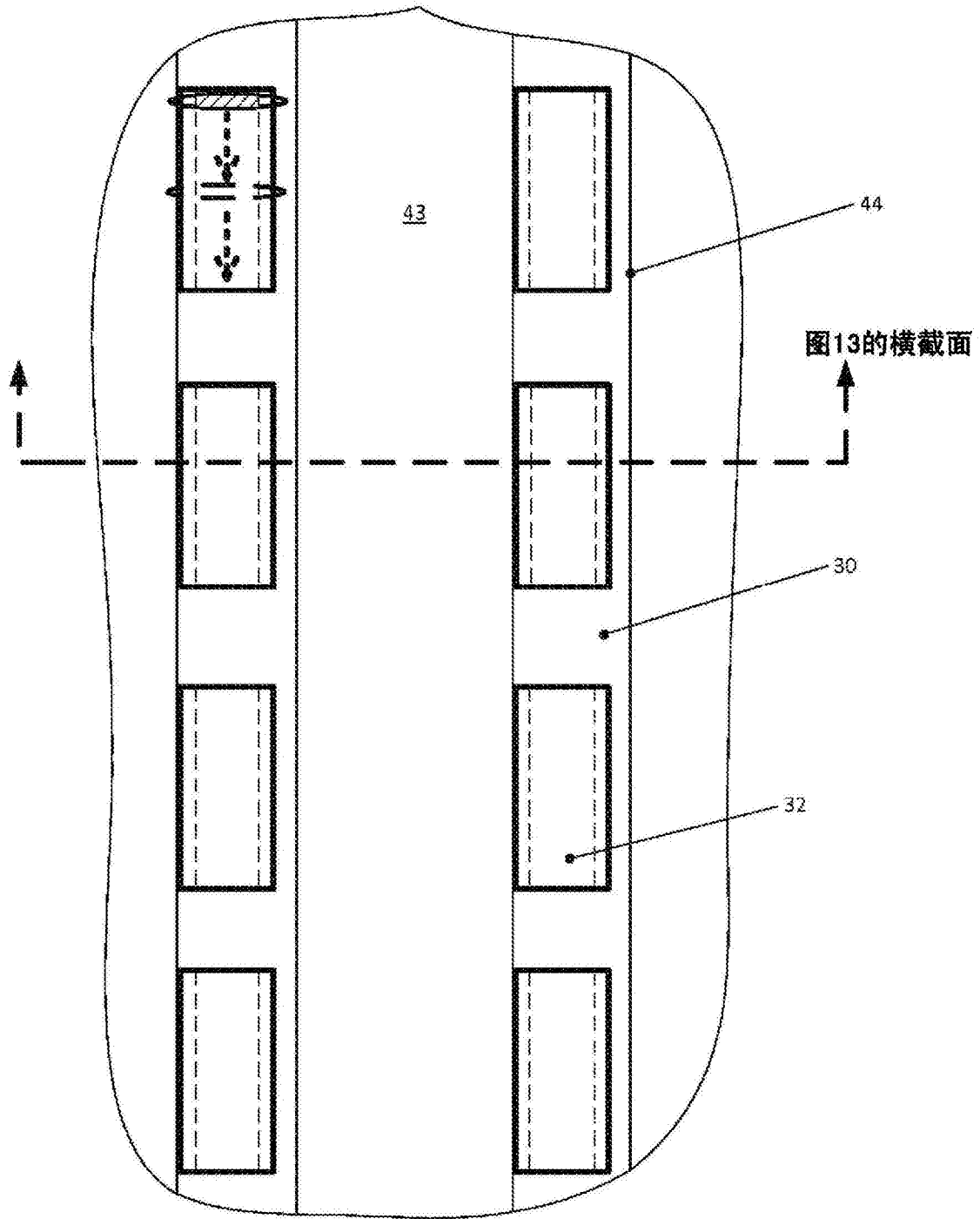


图11

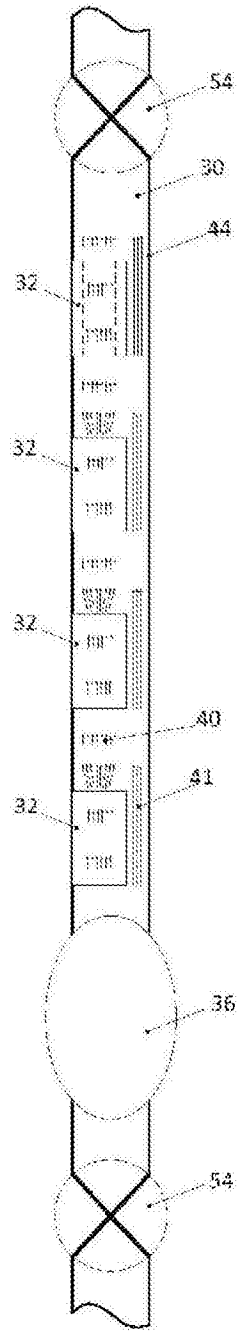


图12

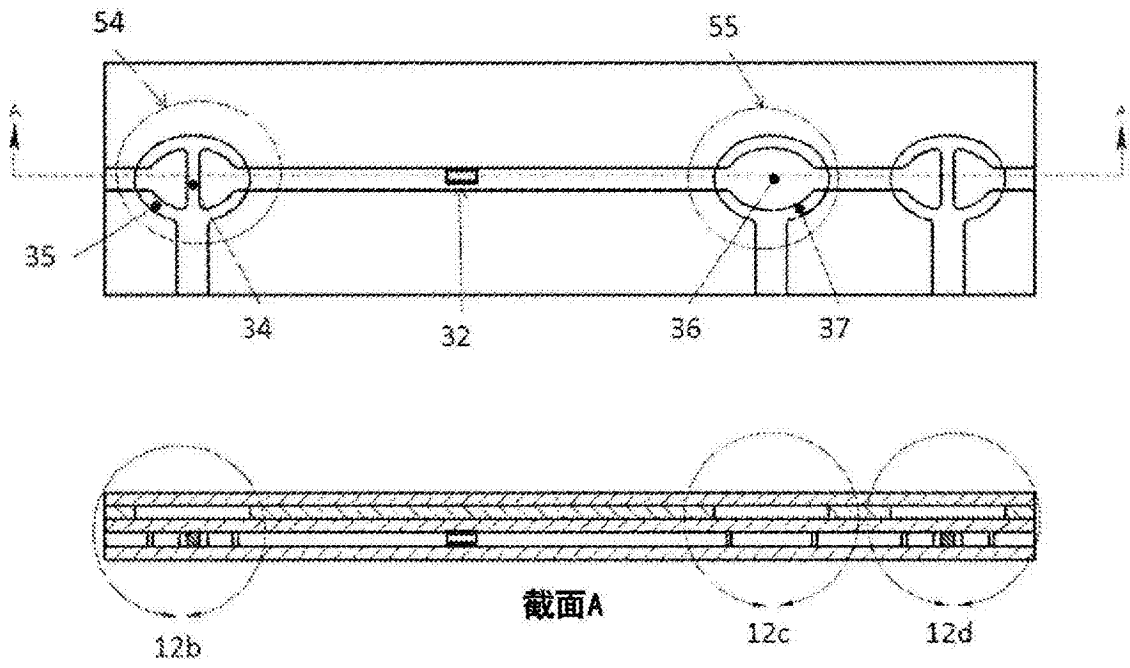


图12A

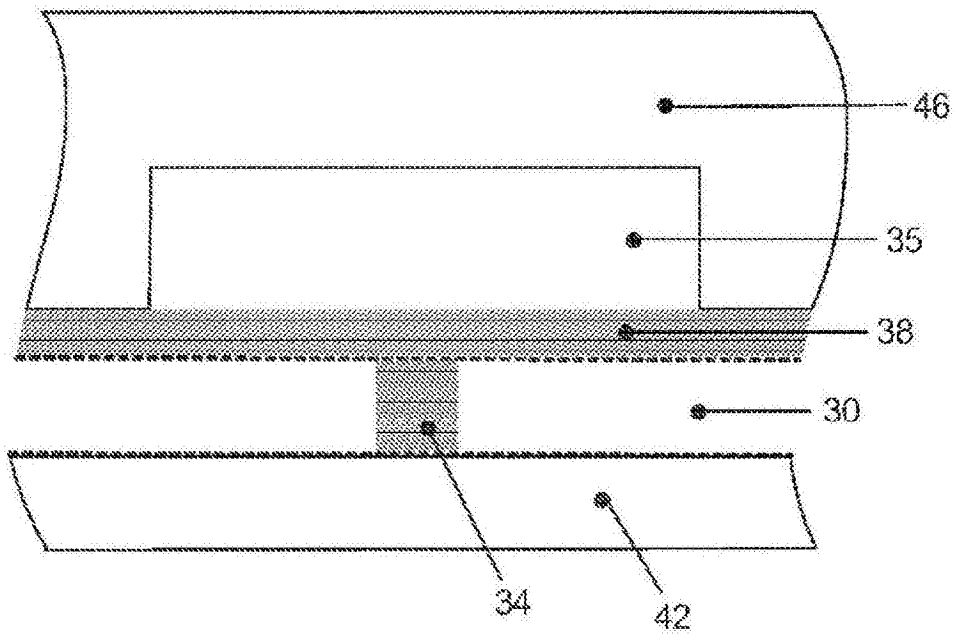


图12B

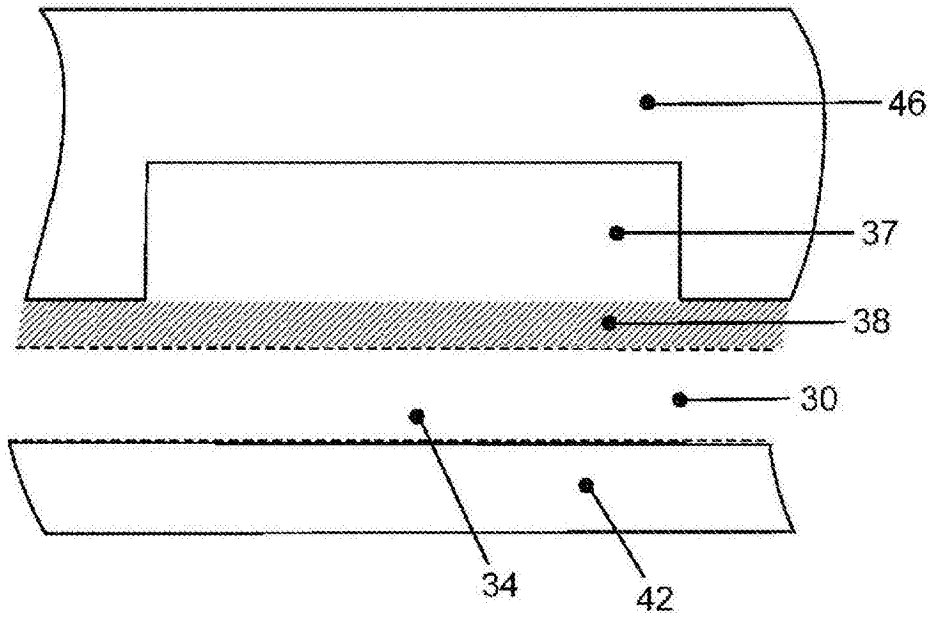


图12C

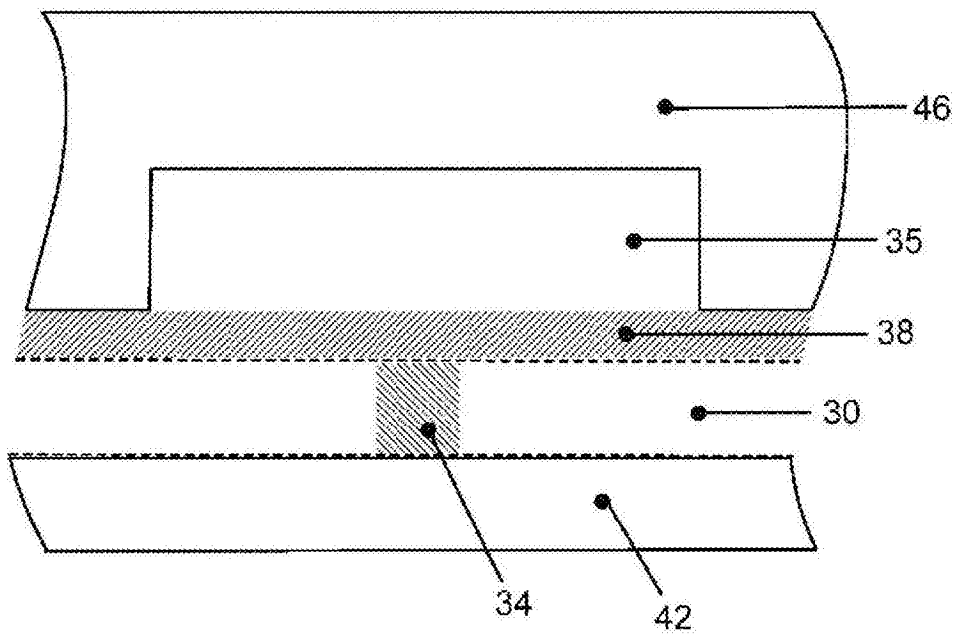


图12D

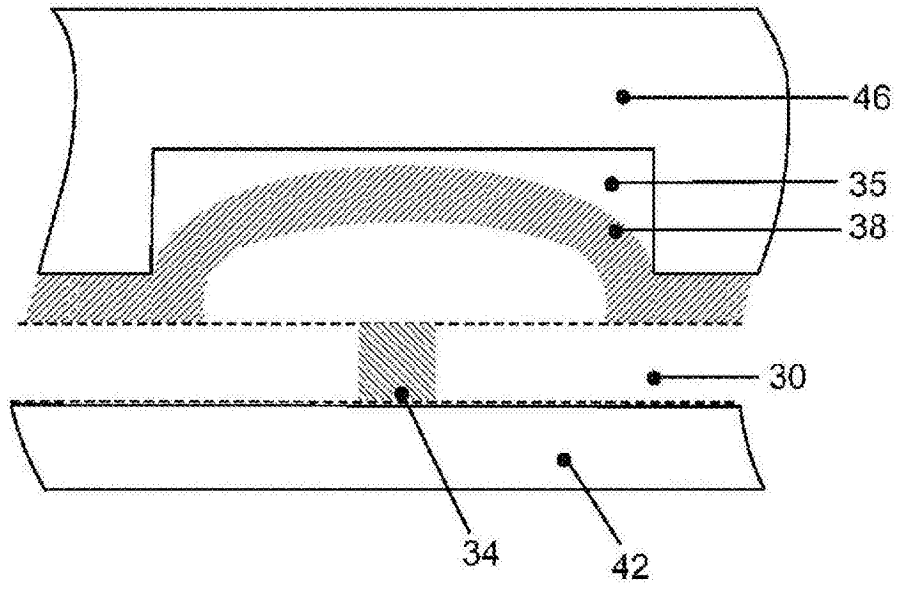


图12E

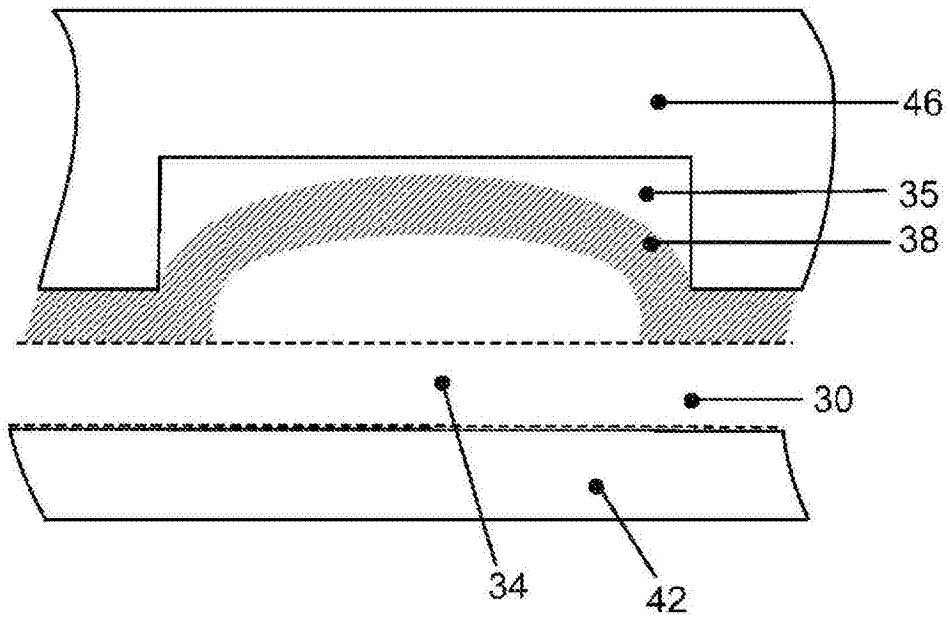


图12F

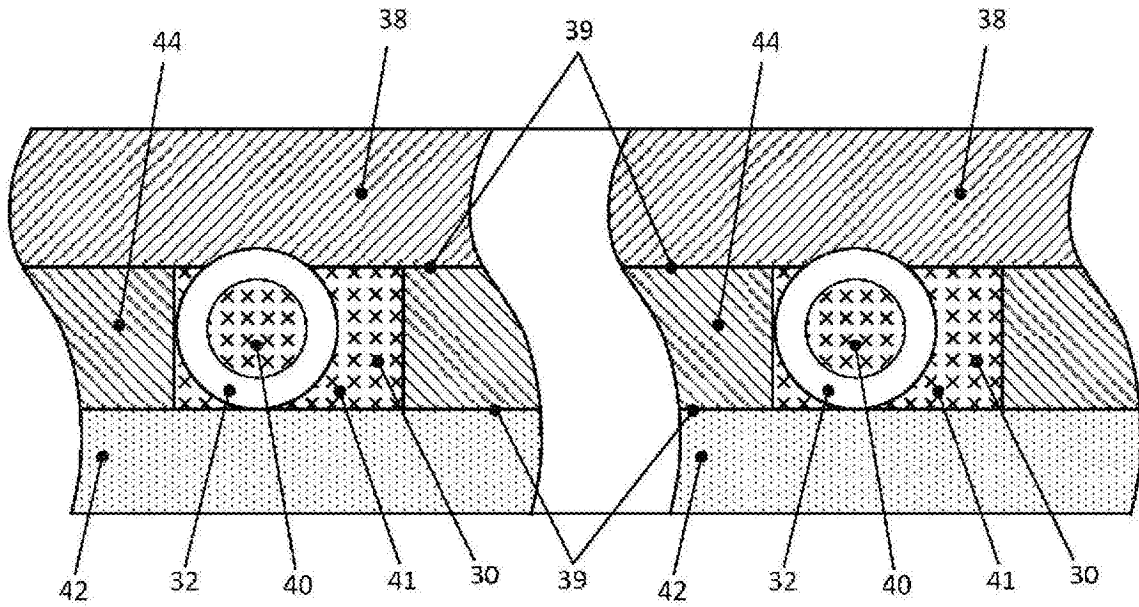


图13

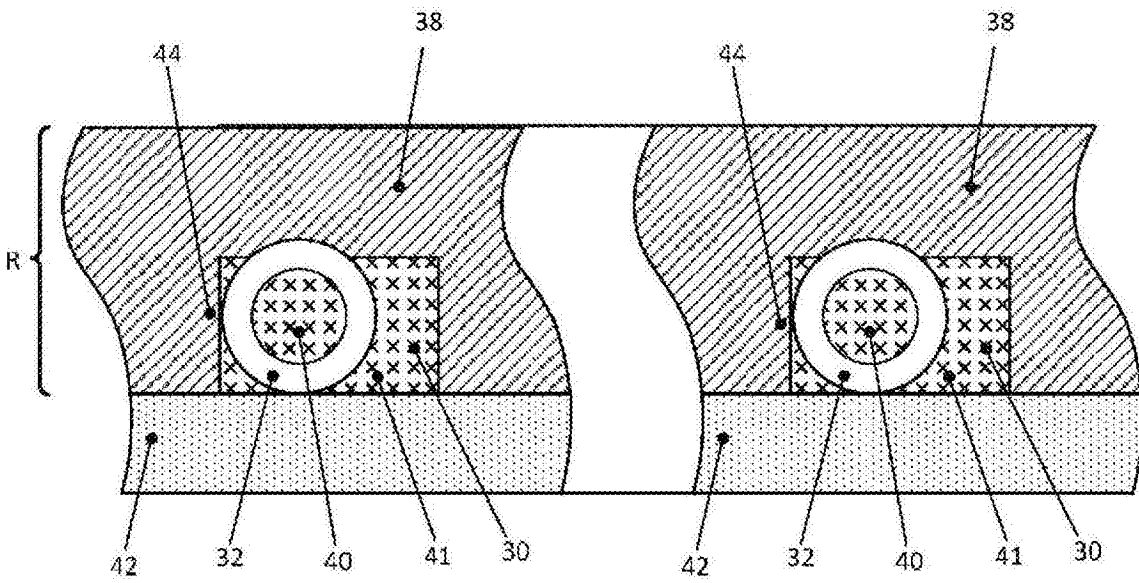


图13a

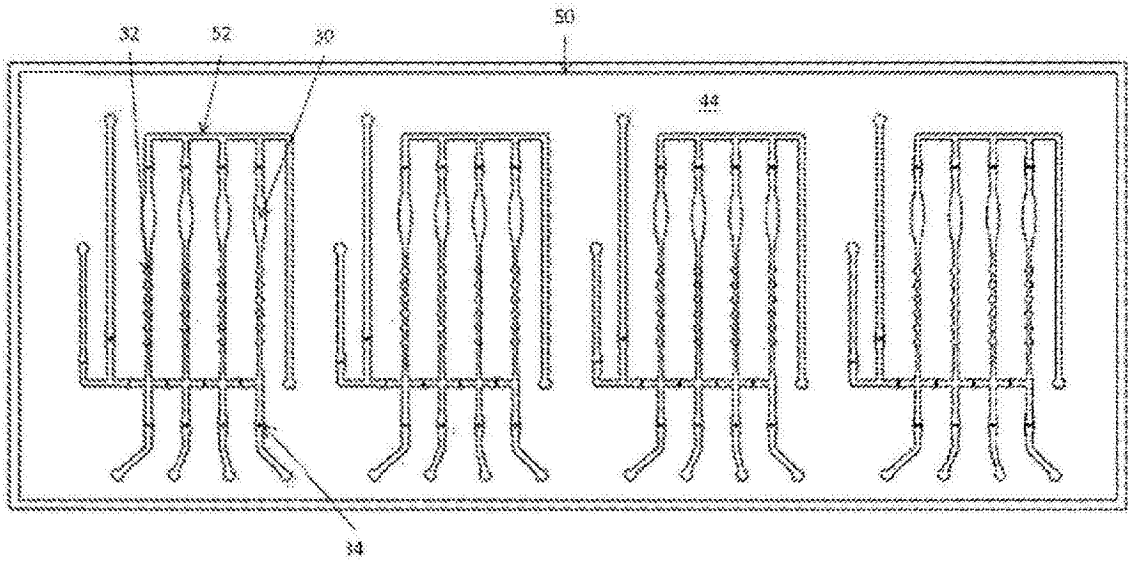


图14

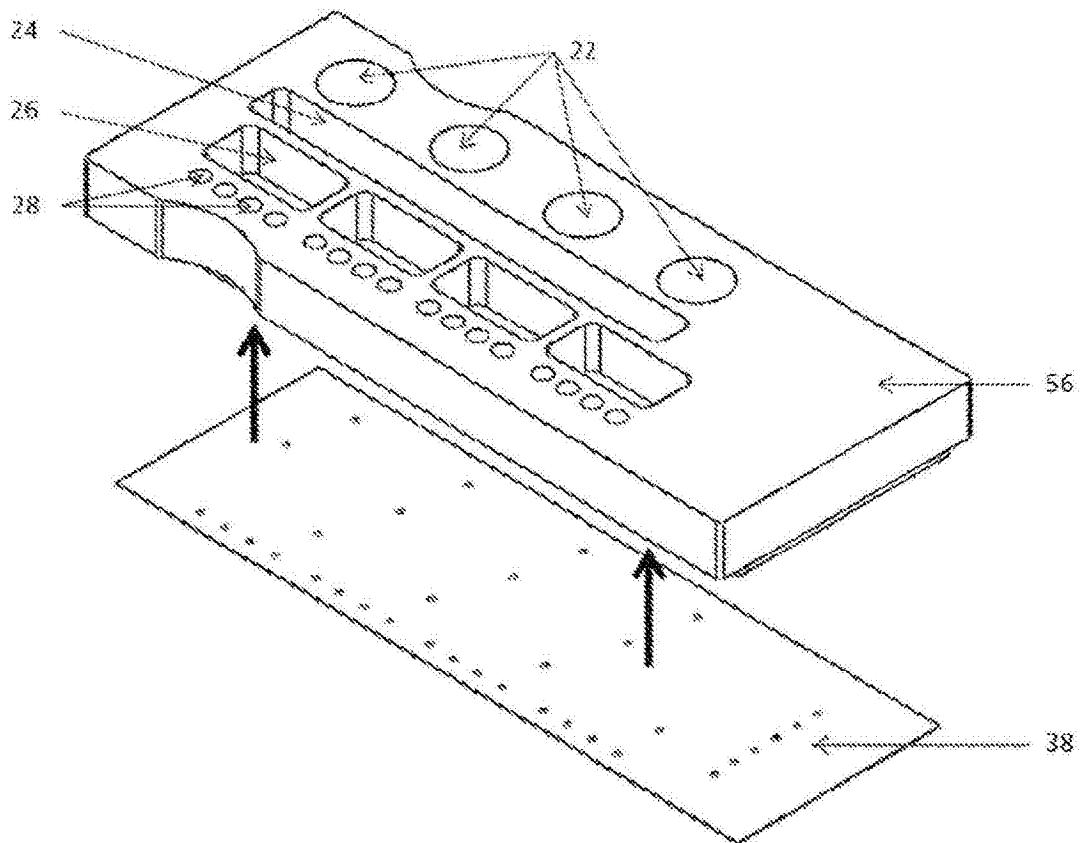


图15

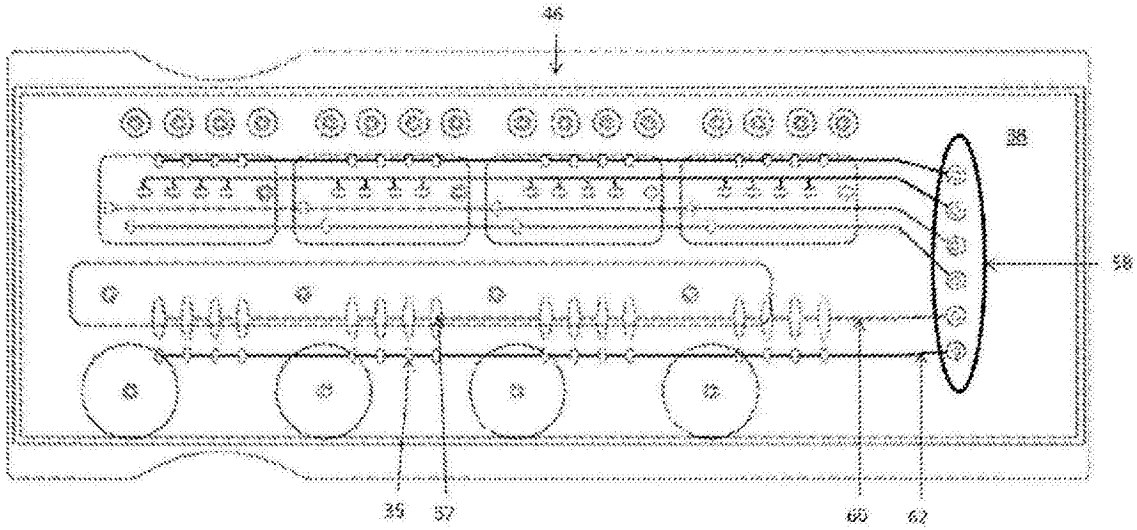


图16

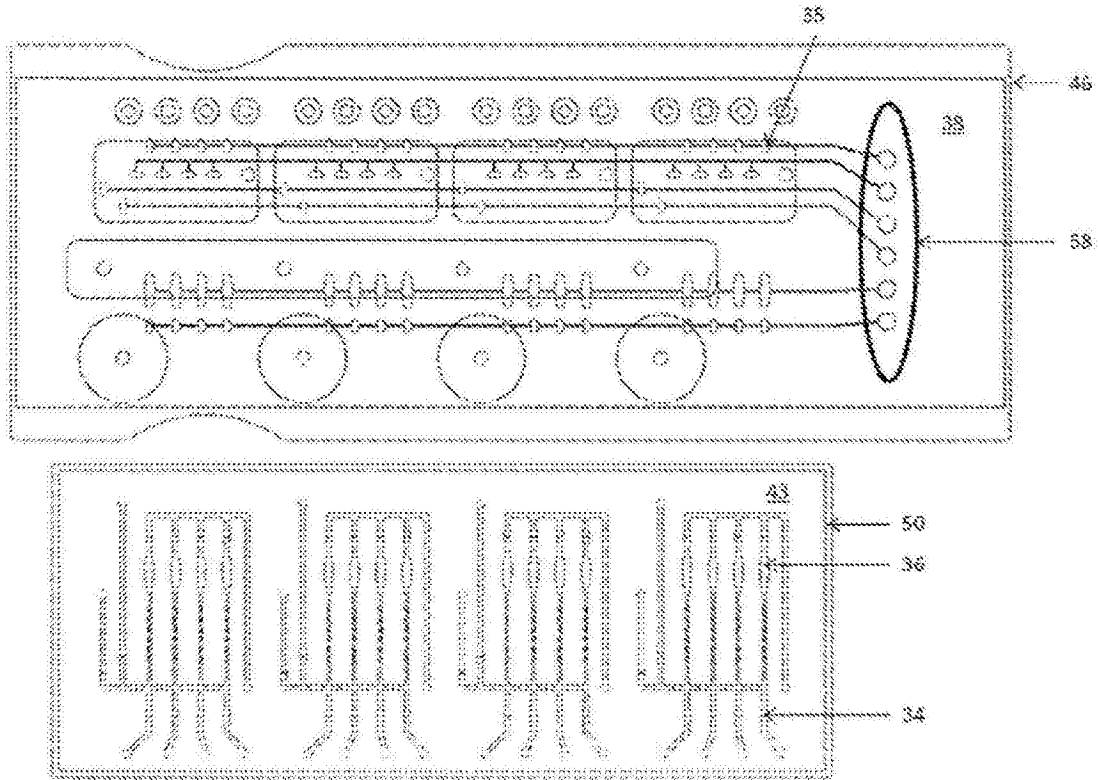


图17

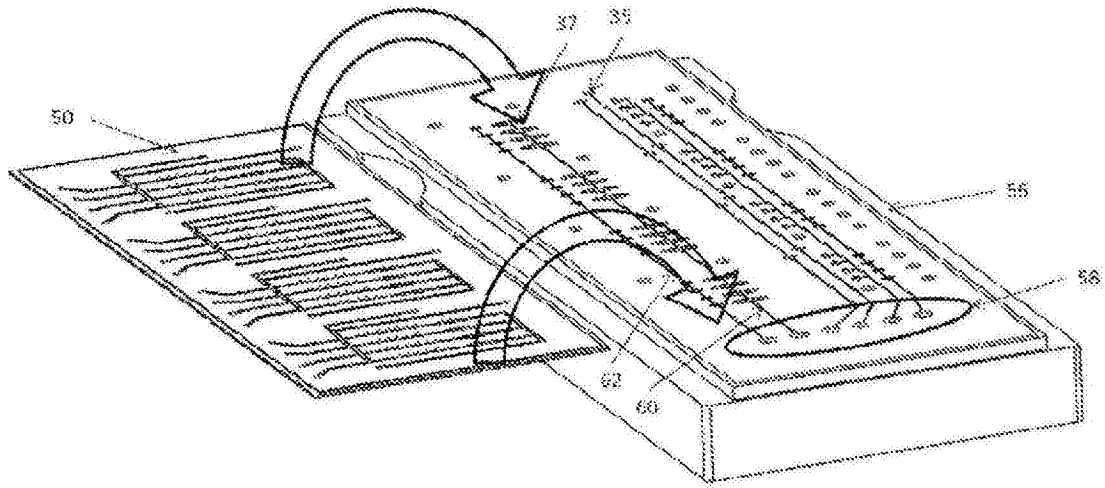


图18

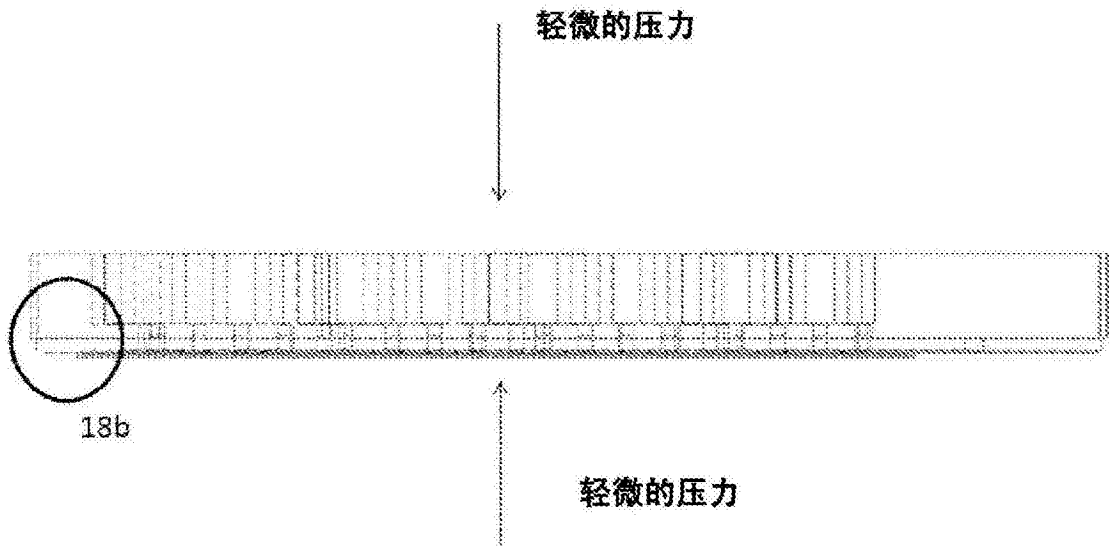


图18A

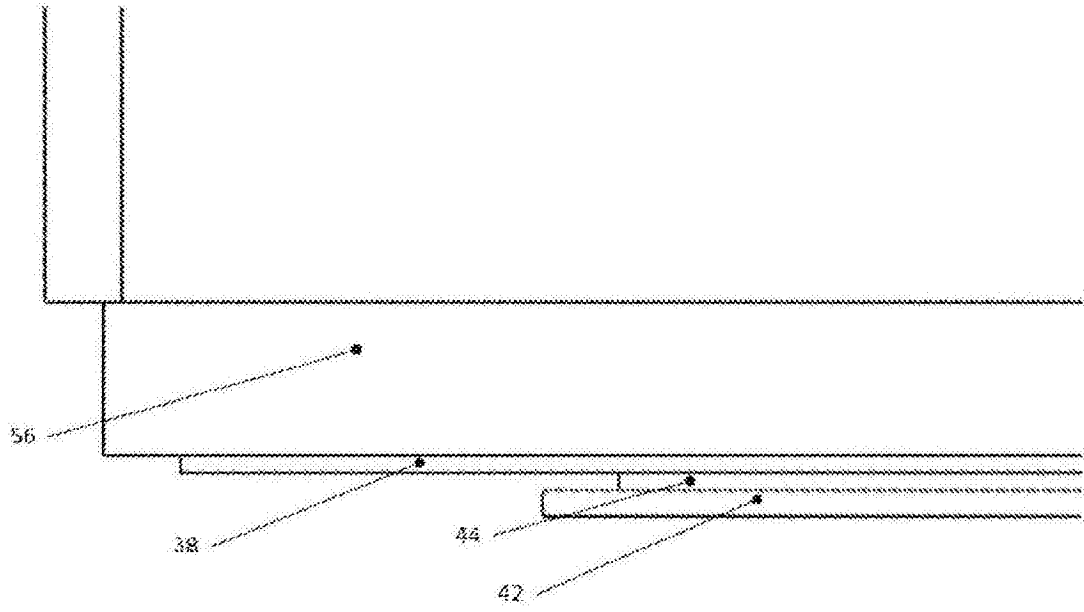


图18B

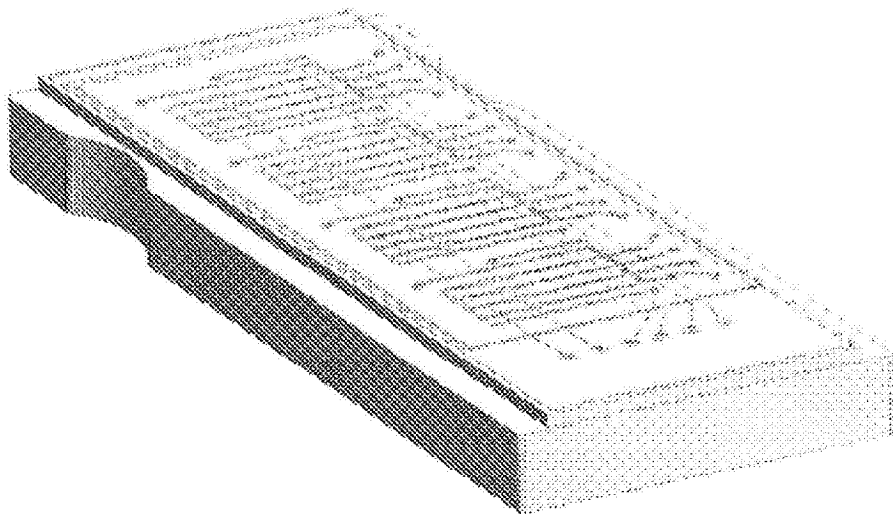


图18C

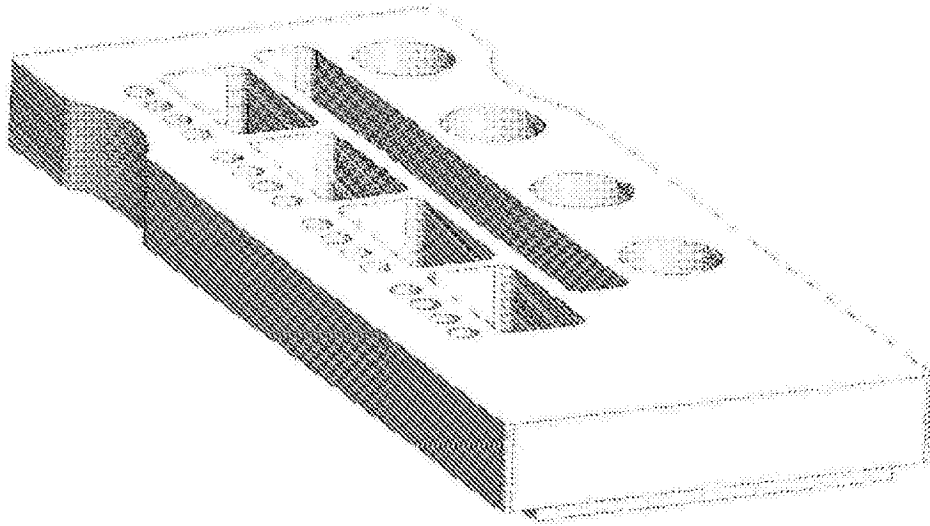


图18D

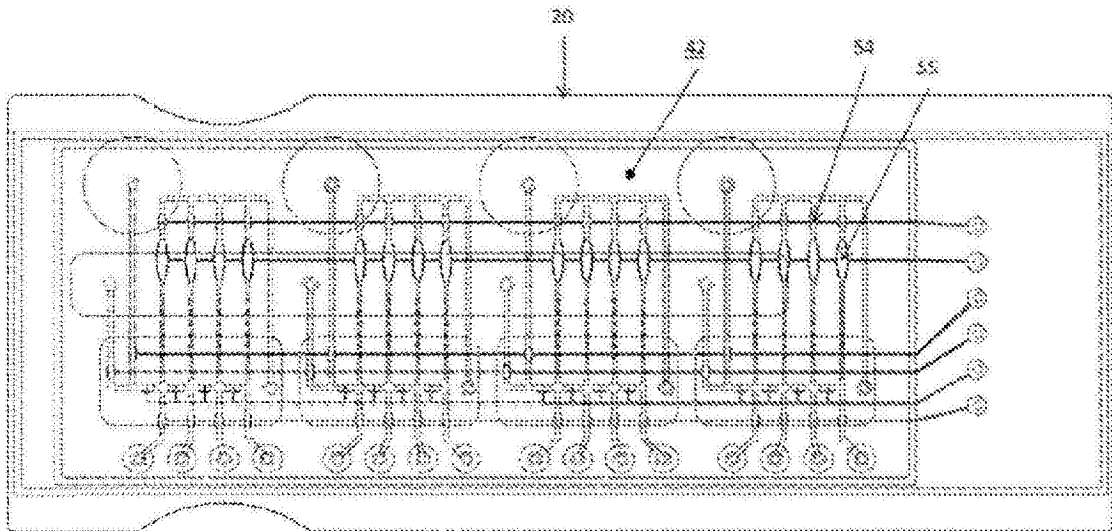


图19

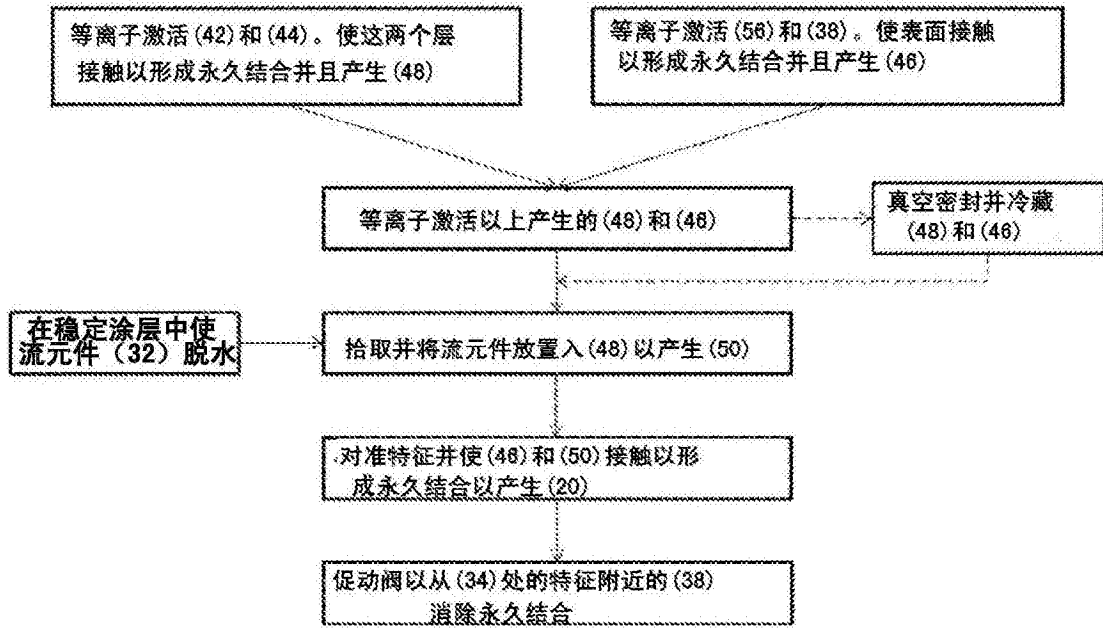


图20

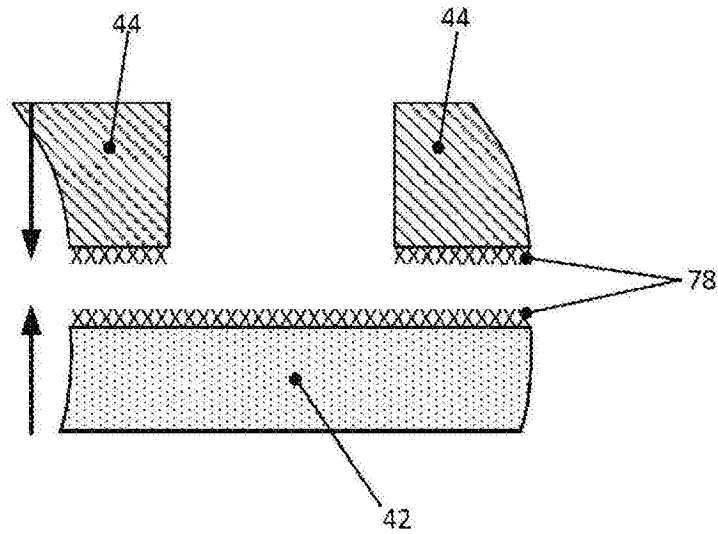


图20A

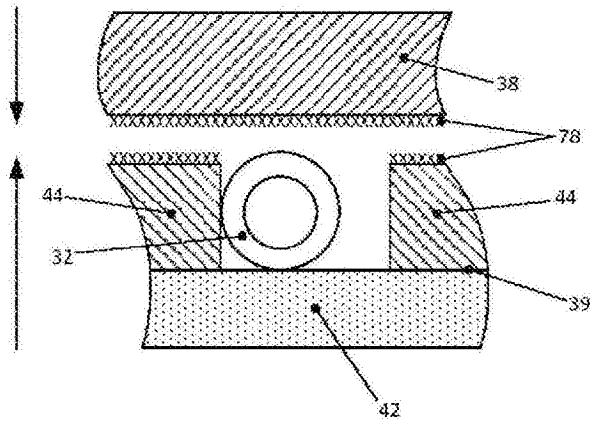


图20B

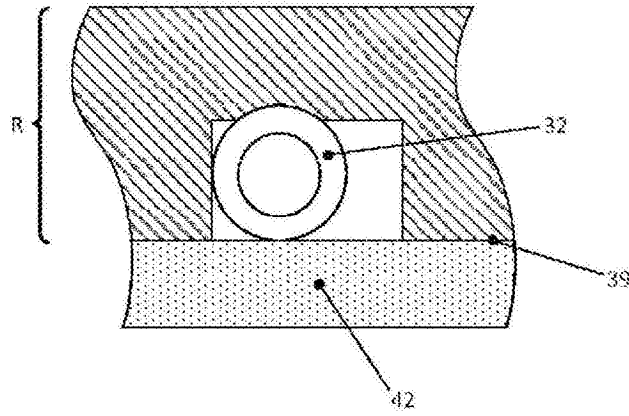


图20C

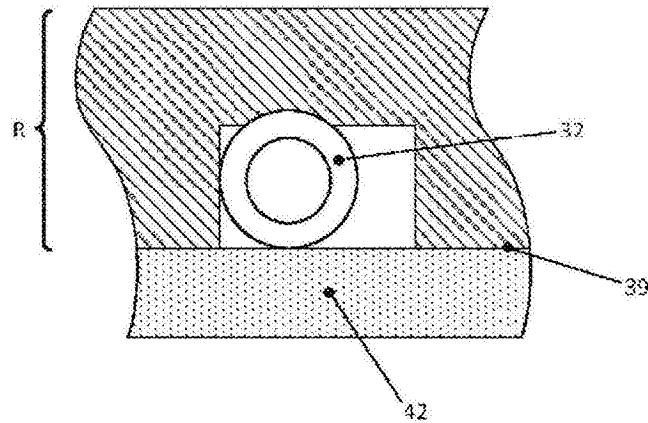


图20D

拾取和放置-顶视图

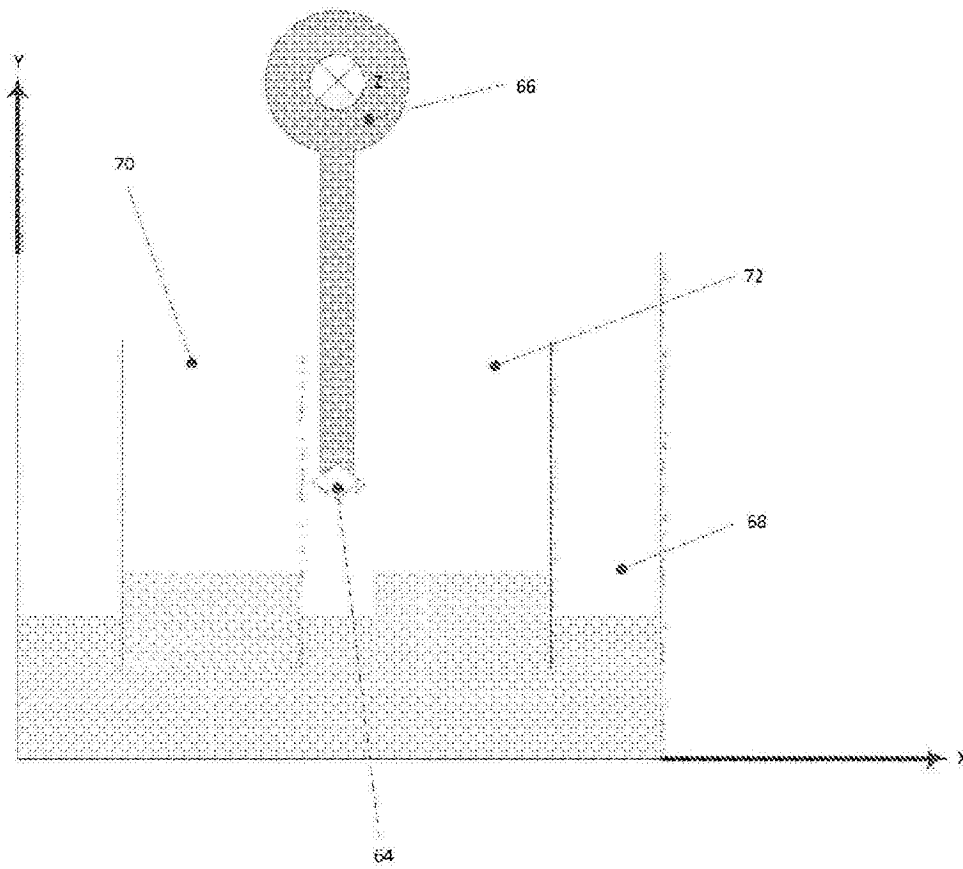


图21

拾取和放置-前视图

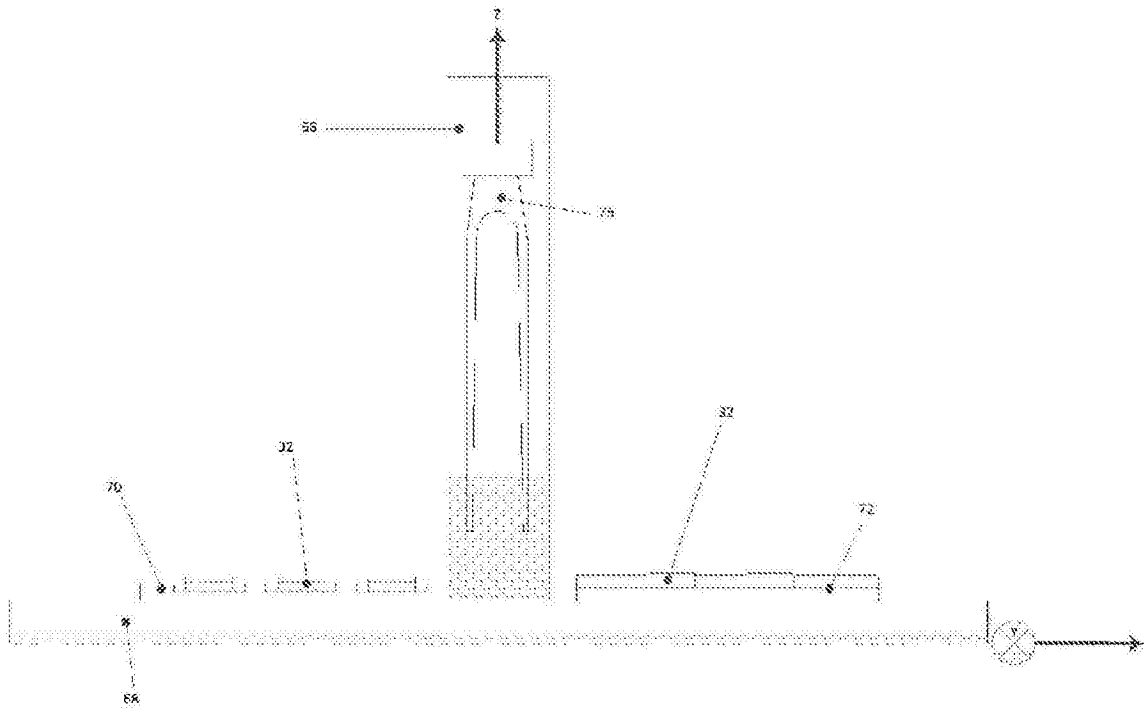


图22

用钳拾取

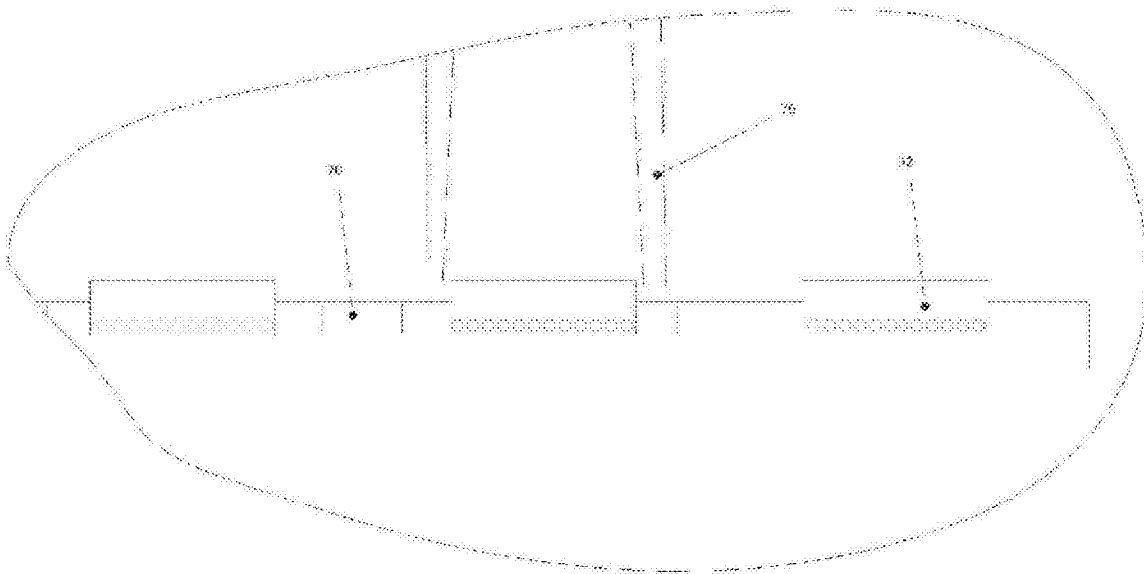


图23

用钳放置

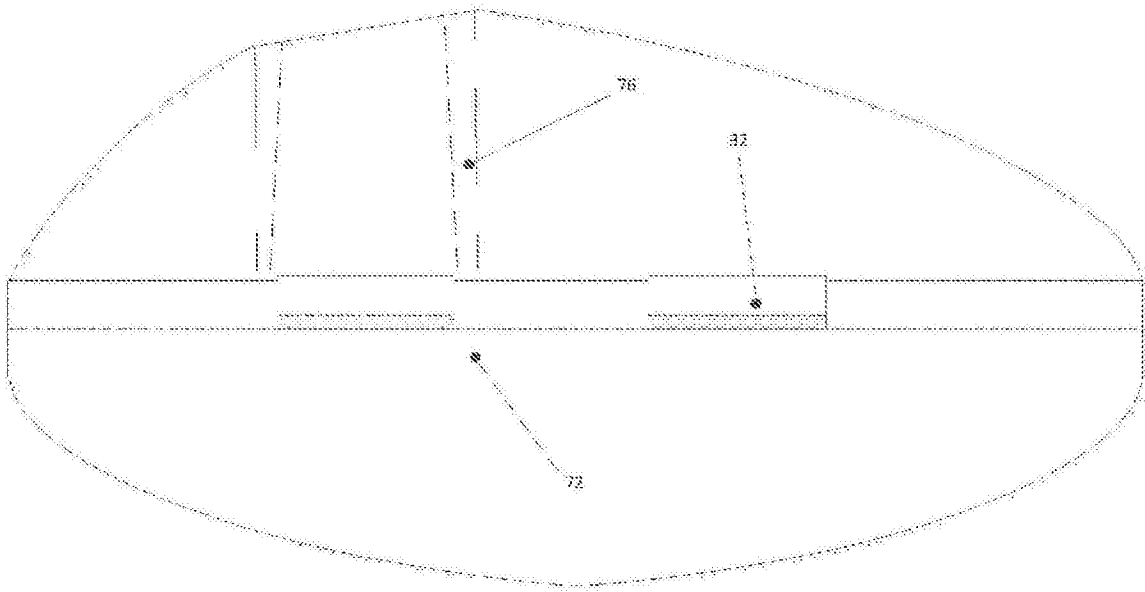


图24

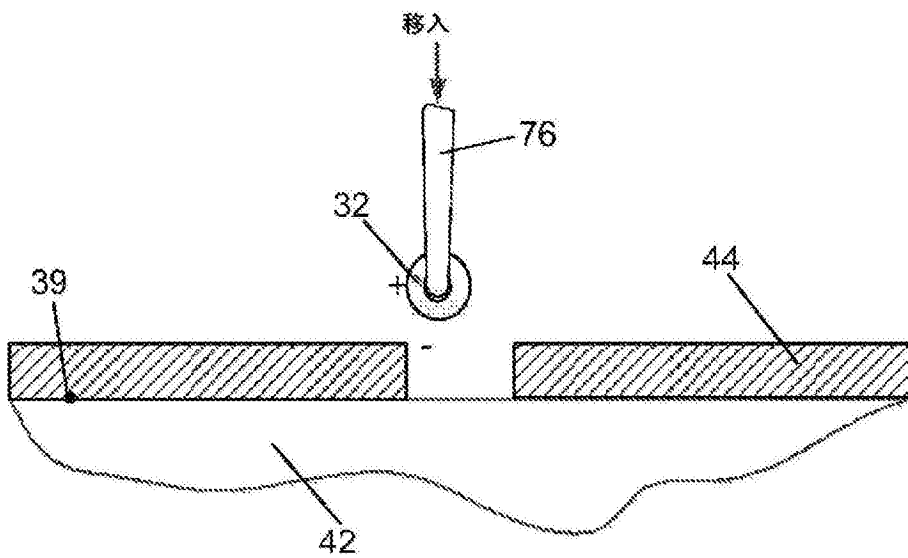


图25

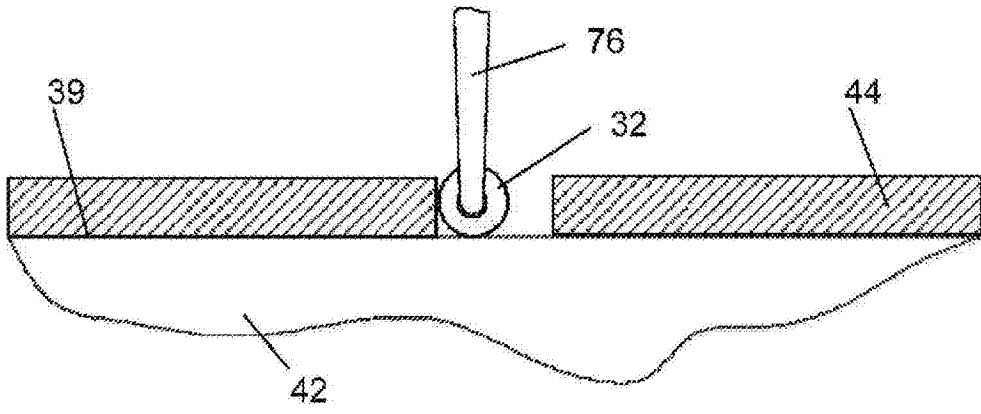


图26

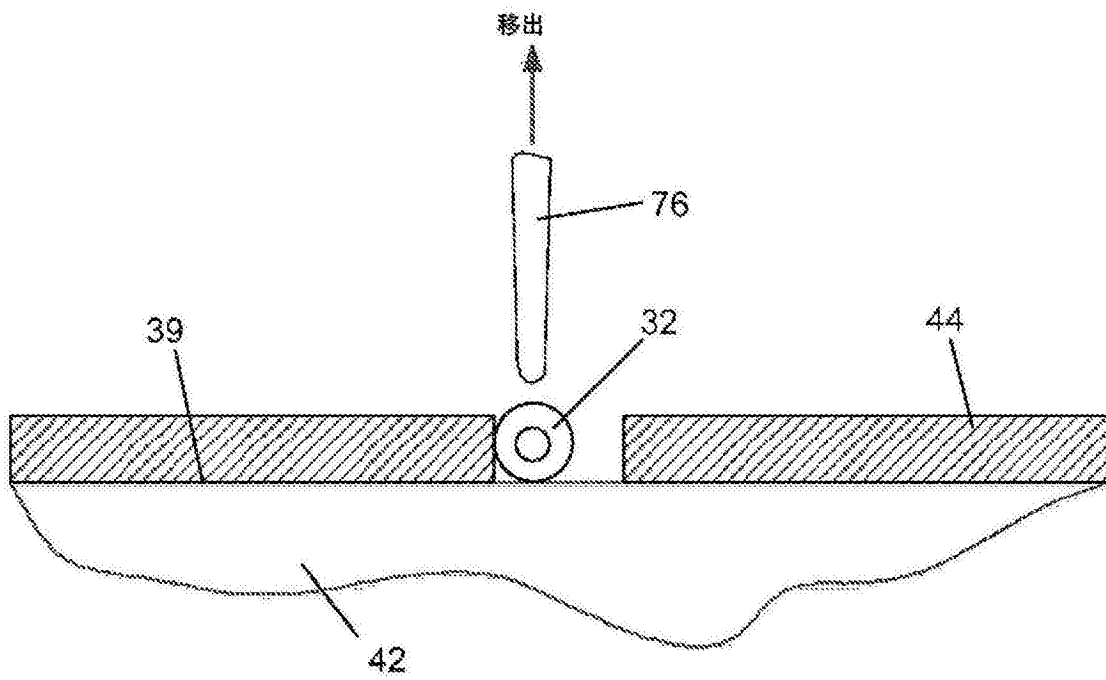


图27

拾取和放置-前视图

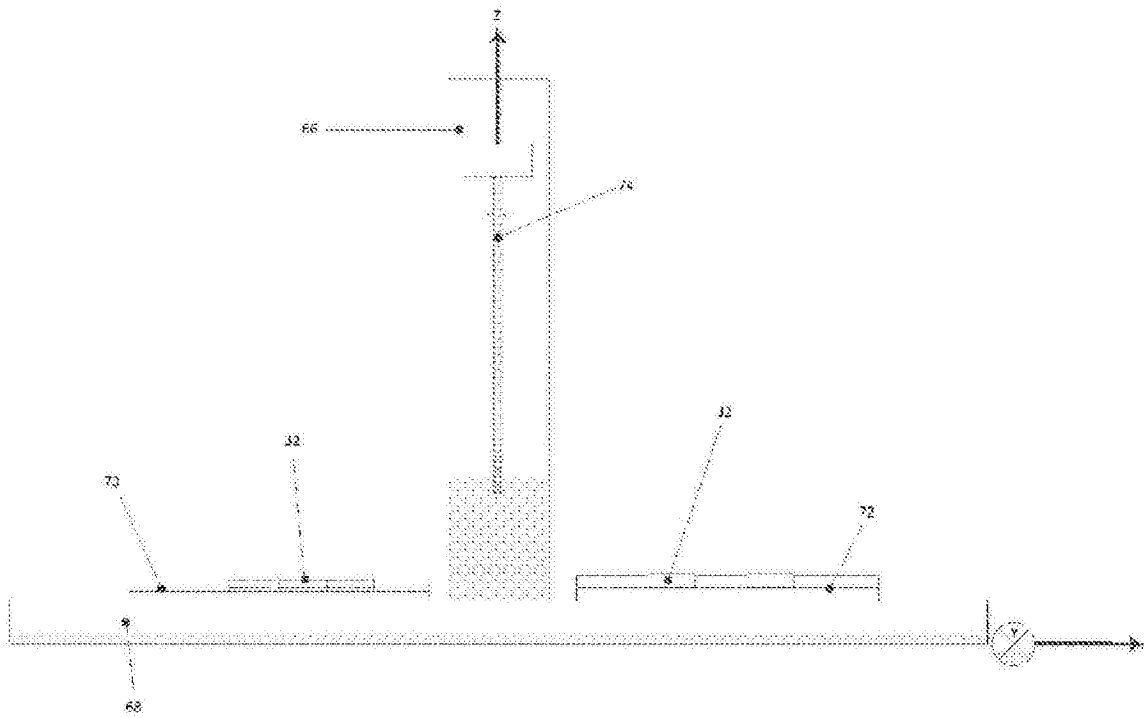


图28

用真空拾取

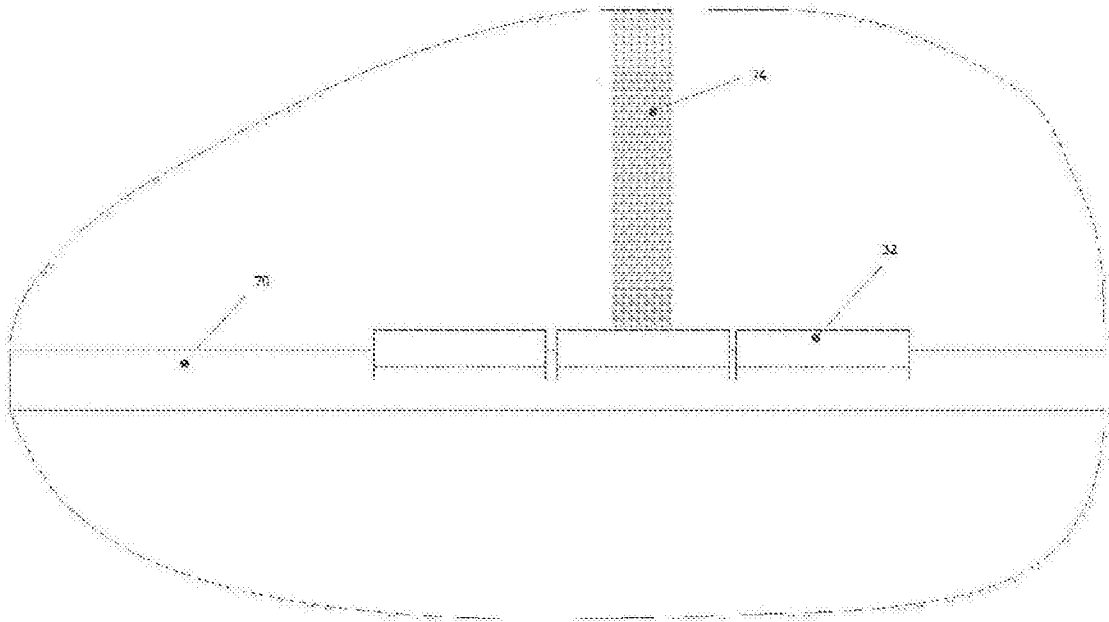


图29

用真空放置

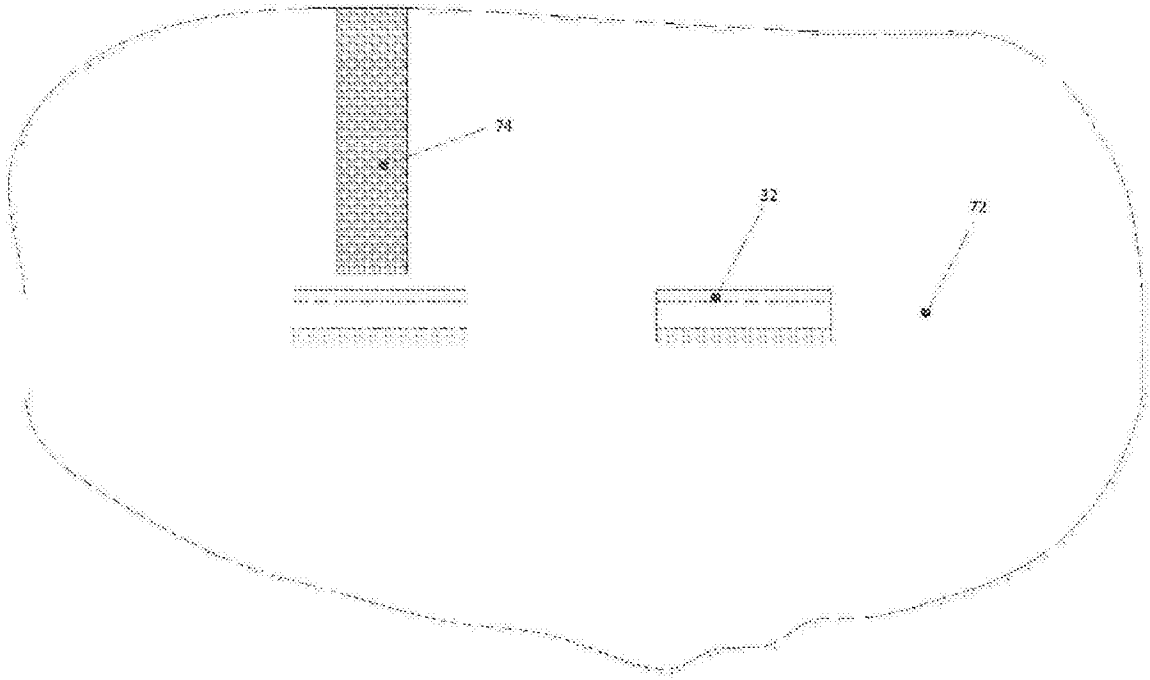


图30

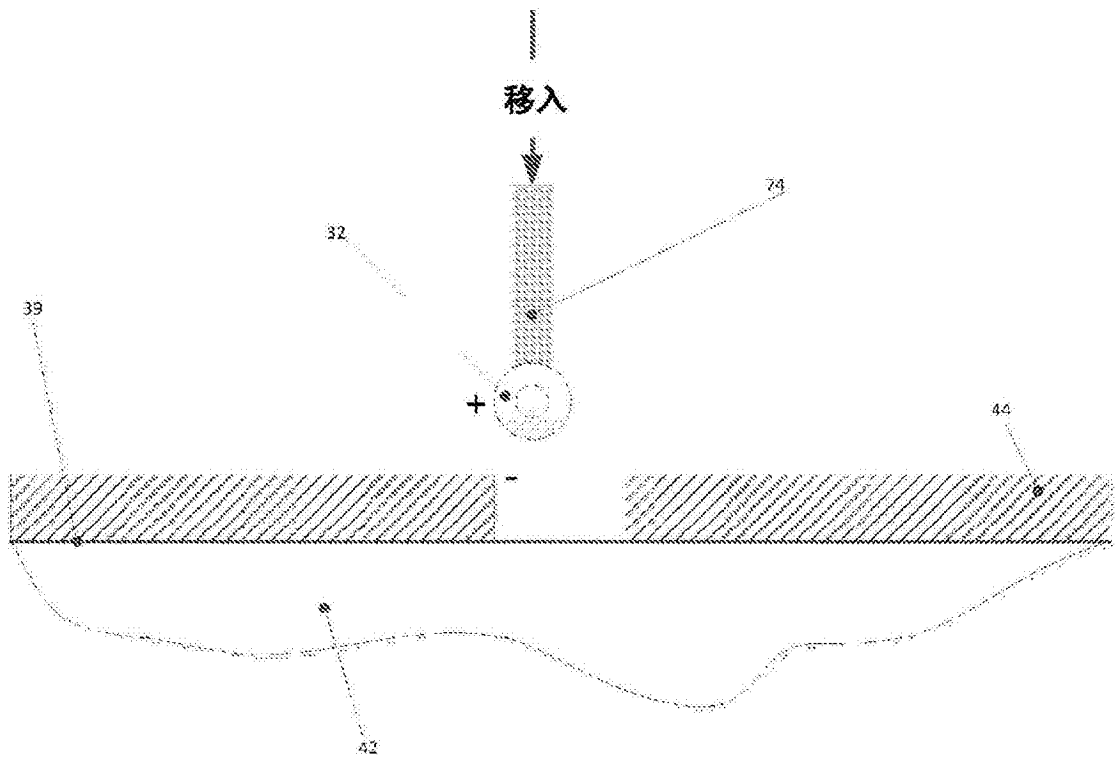


图31

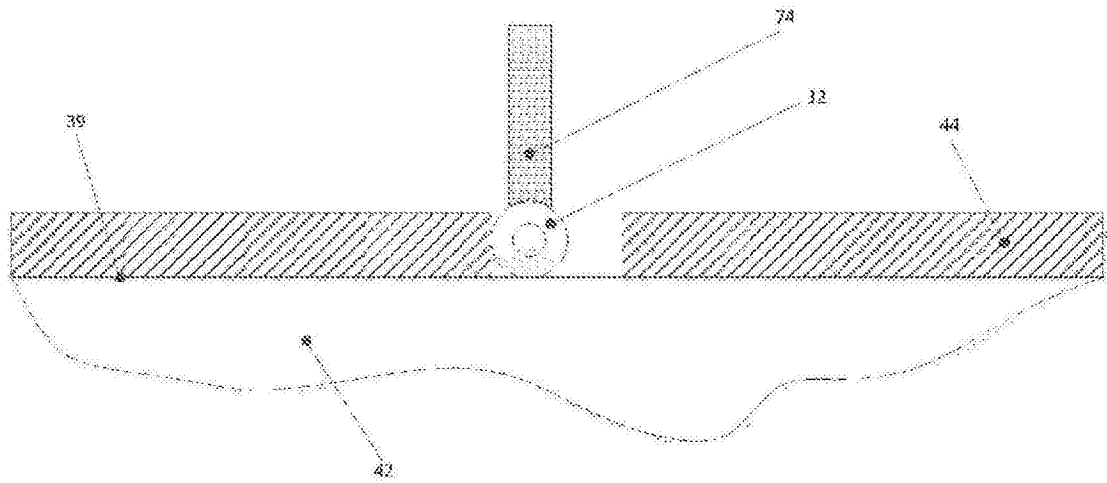


图32

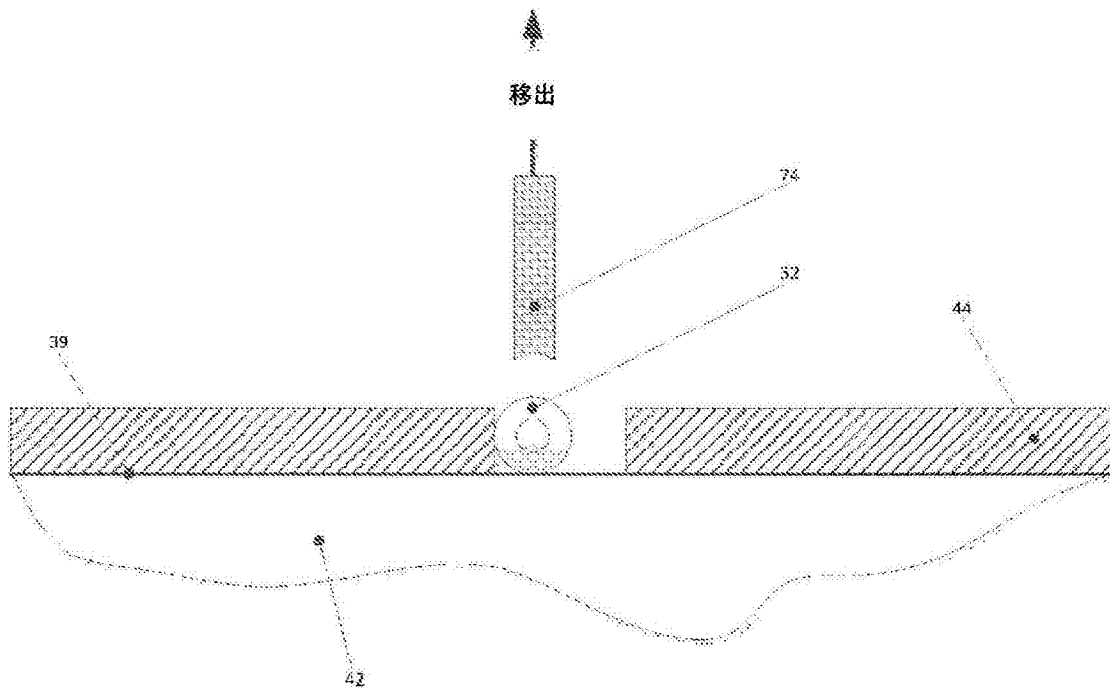


图33

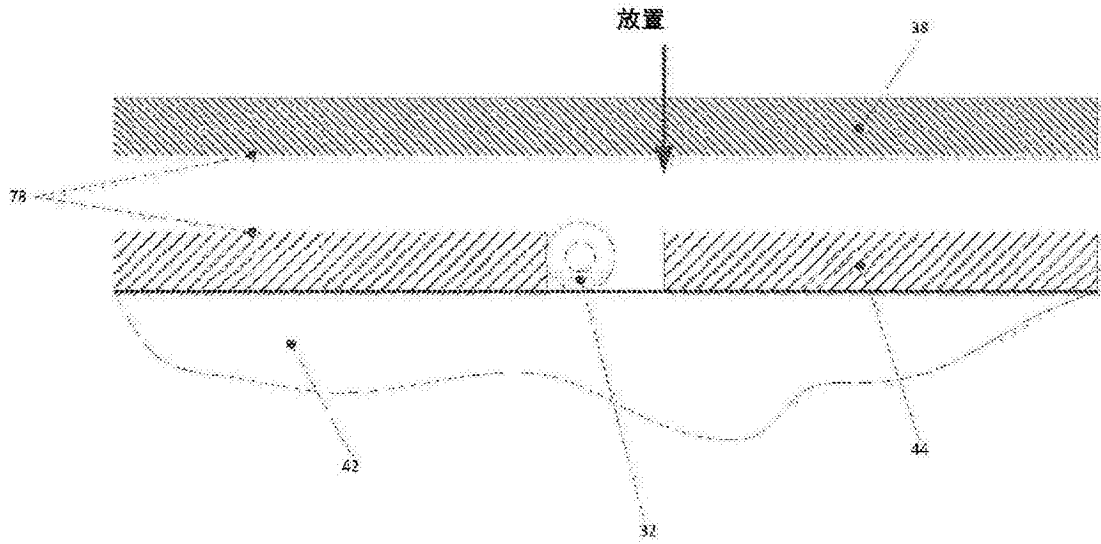


图34

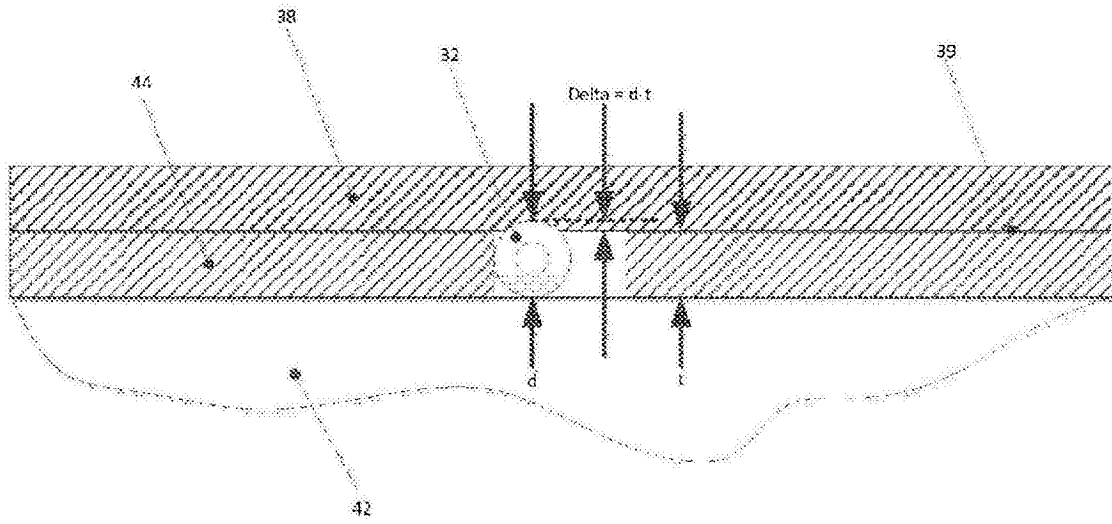


图35

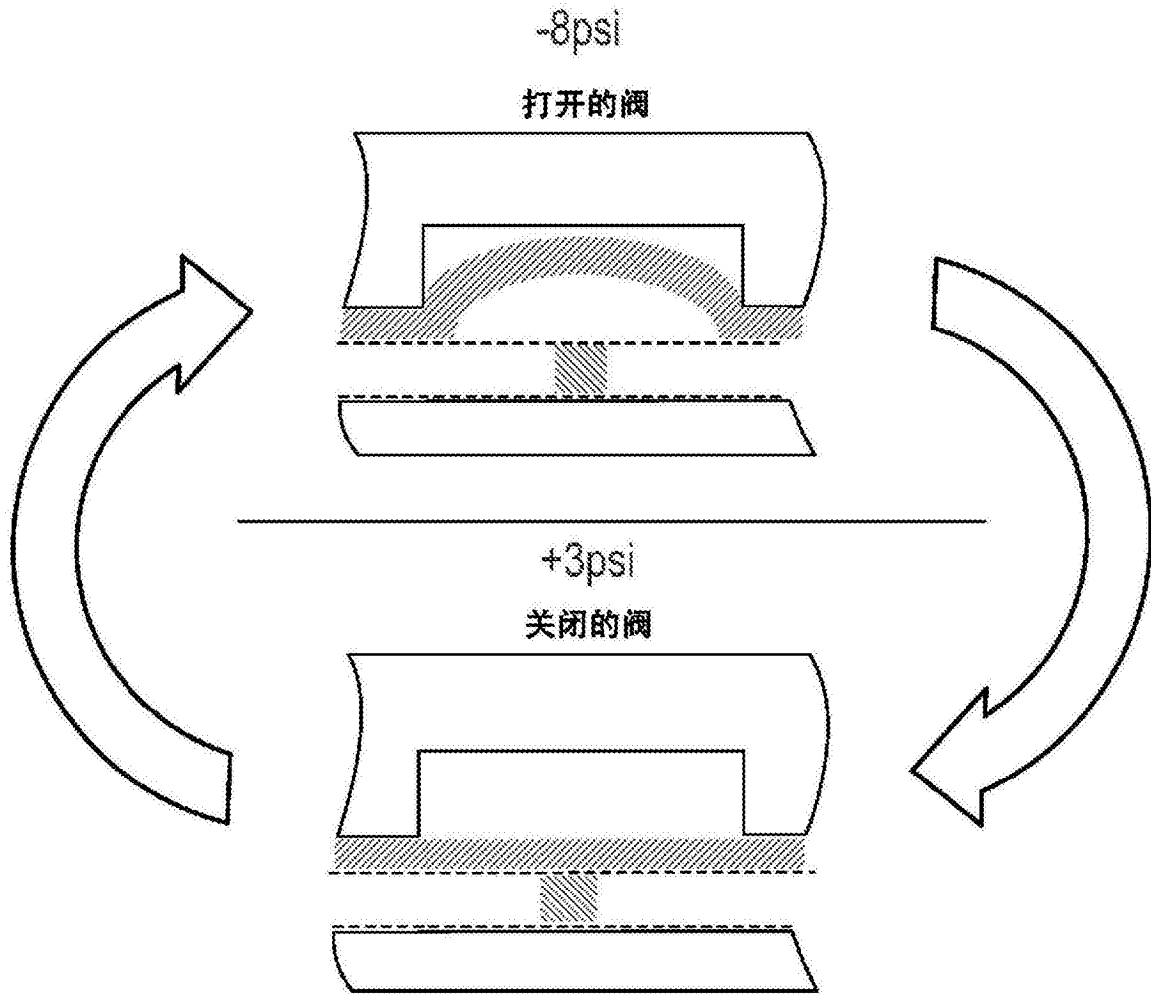
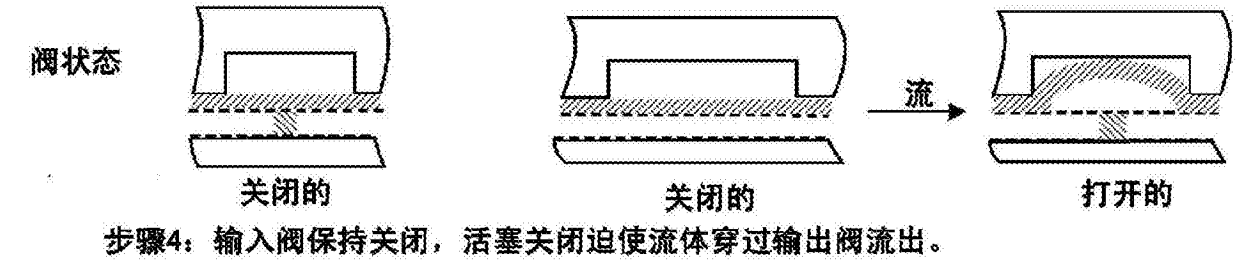
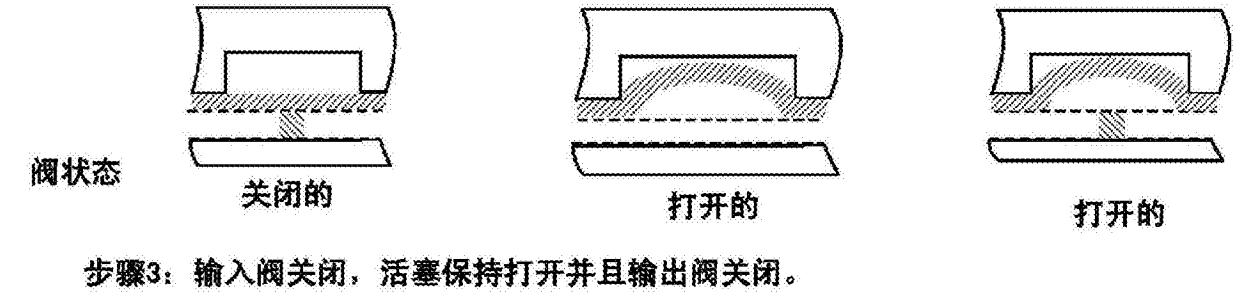
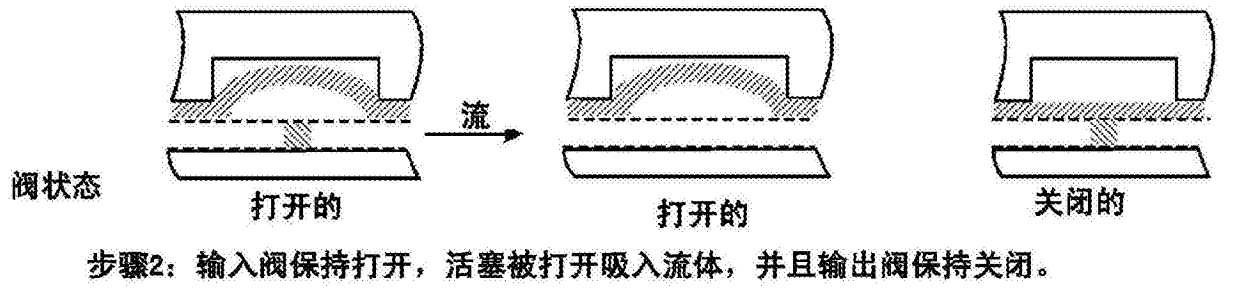
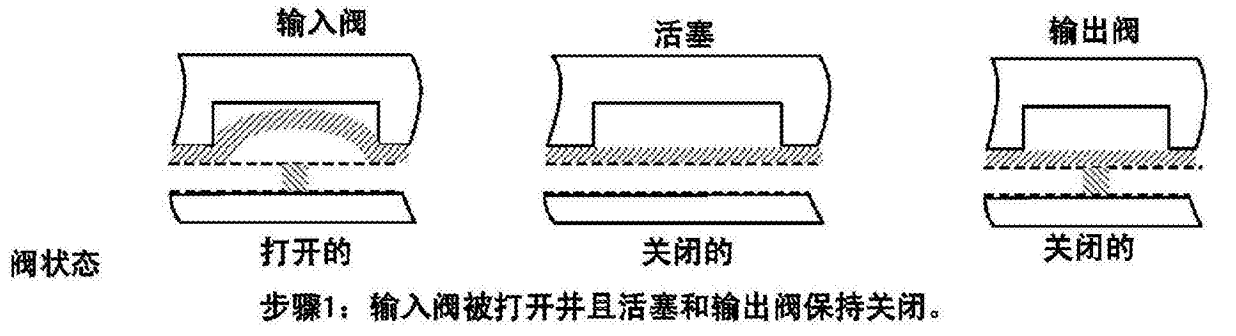


图36描绘了在打开状态中的阀和在关闭状态中的阀。为了消除从阀座到隔膜表面的永久结合，重复地从打开到关闭来改变阀状态。

图36



重复步骤1-4直到所期望的体积被泵送。

图37描绘了所需要以在微流体装置中产生流的步骤和相关的阀状态。需要三个微流体部件以完成此流。这些部件是输入阀、活塞和输出阀。为了在微流体装置中产生流, 所有三个元件必须根据下文描述的和在图37中的图解展示的步骤而一起促动。

图37