



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114405561 B

(45) 授权公告日 2024.03.15

(21) 申请号 202110563656.4

(22) 申请日 2016.07.25

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114405561 A

(43) 申请公布日 2022.04.29

(30) 优先权数据
62/196,816 2015.07.24 US
62/261,577 2015.12.01 US
62/331,635 2016.05.04 US

(62) 分案原申请数据
201680055919.8 2016.07.25

(73) 专利权人 新型微装置有限责任公司(DBA
新型装置)
地址 美国马里兰州

(72) 发明人 A.M.D.派斯 R.J.A.派斯

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105

专利代理师 王增强

(51) Int.Cl.
B01L 3/00 (2006.01)

(56) 对比文件
WO 2008036997 A1,2008.04.03
CN 104254595 A,2014.12.31
DE 102009035941 A1,2011.02.17
US 2009/0035746 A1,2009.02.05
US 2013/0118900 A1,2013.05.16
US 2003/0233862 A1,2003.12.25
CN 103394410 A,2013.11.20
JP 特開平6-313767 A,1994.11.08
CN 103562727 A,2014.02.05

审查员 石玉

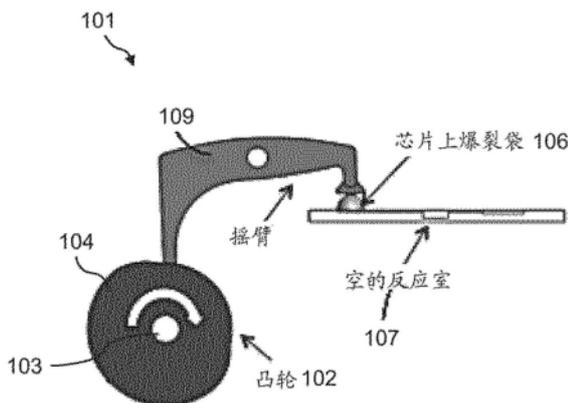
权利要求书2页 说明书22页 附图49页

(54) 发明名称

微流体样品处理设备和制备生物样品的方法

(57) 摘要

本发明提供了用于通过多个样品制备和分析步骤进行生物样品的简单、低功率、自动化处理的方法和装置。所描述的方法和装置便于在无设备、非实验室环境中的复杂诊断测定的即时护理实施。



1. 一种微流体样品处理设备,包括:

一个或多个致动元件,该一个或多个致动元件包括至少两个永磁体,其中该至少两个永磁体在空间上布置在所述一个或多个致动元件上并且彼此偏移,使得它们执行测定的顺序步骤;

微流体盒,该微流体盒包括多个试剂分配单元;多个流体井,该多个流体井适于接收磁性颗粒;以及将所述多个流体井串联连接的多个流体导管;

其中所述微流体盒足够靠近所述一个或多个致动元件定位并且所述微流体盒和致动元件中的至少一个适于旋转或线性移动,使得所述永磁体能够与磁性颗粒相互作用并通过使所述磁性颗粒穿过流体导管在流体井之间移动,执行测定的顺序步骤;

其中所述多个流体导管交替地偏移;

其中,当致动元件和微流体盒发生相对移动时,第一永磁体适于通过所述永磁体和所述磁性颗粒之间的相互作用在流体井之间捕获并转移所述磁性颗粒,以及其中所述交替偏移的流体导管适于通过防止磁性颗粒随着所述第一永磁体进一步前进直到第二永磁体捕获并转移所述磁性颗粒来将磁性颗粒临时包含在所述流体井中。

2. 根据权利要求1所述的微流体样品处理设备,其中,所述一个或多个致动元件是圆形的并且适于绕中心轴旋转。

3. 根据权利要求1所述的微流体样品处理设备,还包括一个或多个加热器、热沉、突起或其组合。

4. 根据权利要求1所述的微流体样品处理设备,其中,所述微流体盒位于两个致动元件之间。

5. 根据权利要求4所述的微流体样品处理设备,其中,所述微流体盒和两个致动元件是圆形的并且适于绕中心轴旋转。

6. 根据权利要求4所述的微流体样品处理设备,其中,所述微流体盒和两个致动元件适于线性运动。

7. 根据权利要求1所述的微流体样品处理设备,包括一个致动元件和一个微流体盒。

8. 根据权利要求7所述的微流体样品处理设备,其中,所述一个致动元件旋转,并且所述一个微流体盒被固定。

9. 根据权利要求7所述的微流体样品处理设备,其中,所述微流体盒和一个致动元件是圆形的并且适于绕中心轴旋转。

10. 根据权利要求7所述的微流体样品处理设备,其中,所述微流体盒和一个致动元件适于线性运动。

11. 根据权利要求1所述的微流体样品处理设备,其中,所述多个流体井通过多个流体入口连接至所述多个试剂分配单元。

12. 根据权利要求11所述的微流体样品处理设备,其中,所述多个试剂分配单元包括可混溶液体或不可混溶液体。

13. 根据权利要求12所述的微流体样品处理设备,包括至少第一试剂分配单元和第二试剂分配单元,其中所述第一试剂分配单元包括不可混溶液体并且通过第一流体入口连接到所述多个流体导管,并且其中所述不可混溶液体填充所述多个流体导管;第二试剂分配单元包括可混溶液体并且通过第二流体入口连接到第一流体井,其中所述多个流体导管串

联连接所述多个流体井。

14. 根据权利要求13所述的微流体样品处理设备,其中,所述第二试剂分配单元适于将所述可混溶液体释放到所述第二流体入口中,并部分地填充所述第一流体井。

15. 根据权利要求14所述的微流体样品处理设备,其中,所述第一试剂分配单元适于将所述不可混溶液体释放到所述多个流体导管中并进入到多个流体井中,其中,所述不可混溶液体覆盖所述多个流体井中的至少第一流体井内的所述可混溶液体。

16. 根据权利要求15所述的微流体样品处理设备,其中,所述不可混溶液体包括油。

17. 根据权利要求1所述的微流体样品处理设备,其中,所述多个流体井中的至少一个包括冻干试剂。

18. 根据权利要求17所述的微流体样品处理设备,还包括至少一个突起、至少一个加热器和至少一个热沉,其中所述至少两个永磁体、所述至少一个突起和至少一个加热器在空间上布置在所述一个或多个致动元件上,使得它们执行测定的顺序步骤。

19. 根据权利要求1所述的微流体样品处理设备,其中所述磁性颗粒与生物样品能够被引入所述流体井中。

微流体样品处理设备和制备生物样品的方法

[0001] 本申请是申请日为2016年7月25日、申请号为201680055919.8、发明名称为“包括使用线性或旋转运动的磁性和机械致动元件的样品处理设备及其使用方法”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 交叉参照相关申请

[0003] 本申请要求2015年7月23日提交的美国时间申请号62/196,816、2015年12月1日提交的美国时间申请号62/261,577以及2016年5月4日提交的美国时间申请号62/331,635的权益;其全部内容以援引结合于此。

背景技术

[0004] 即时护理(“POC”)设备允许在患者护理现场进行方便快速的测试。因此,集成了微流体技术的POC设备类型的样品到回答和芯片实验室(“LOC”)系统已变得越来越流行。这些LOC将各种实验室功能,如提取,扩增,检测,解释和报告,以前手动和/或异地执行,都集成在同一台设备上。因为样品到回答和LOC测试是在患者护理场所而不是在实验室设施中进行的,所以这些类型的测试在污染控制方面存在问题,特别是在涉及过程期间人为干预的步骤中。因此,需要在样品到回答的LOC内使样品处理自动化,以最小化人为干预。这些样品到回答和LOC通常为几平方毫米到几平方厘米大小,并且通常是微机电系统(“MEMS”)的类型。能够检测和分析诸如此处的生物材料的MEMS通常被称为Bio-MEMS。

[0005] 根据临床实验室改进修正案(“CLIA”),市场上的大多数POC诊断设备被归类为高或中等复杂度。这些联邦指导方针通常适用于人类的临床实验室测试仪器,但在某些允许放弃这些指导方针的情况下除外。其中一个条件是当设备或仪器满足某些风险、错误和复杂性要求时。为了使POC诊断测试符合CLIA放弃的,样品制备和流体处理步骤需要最小化。减少这些步骤的一种方法是要将试剂储存在密封的装置中,例如泡袋或爆裂袋以释放。

[0006] 将试剂输送到微流体芯片中通常包括使用泵,例如注射泵或蠕动泵,以及外部试剂填充的瓶子,注射器或储存器。这些系统不仅难以弄成便携式的,而且由于需要集成在一起的众多部件以及对进入微流体芯片的无泄漏流体接口的需求,这些系统也很复杂。能使流体处理的简单、小型化和低功率自动化的方法尚未在商业现有技术中成功实施。因此,这被看作是妨碍仍在大型临床设施中进行的大多数多步生物测定测试中POC实施的障碍。

[0007] 需要多个处理步骤(包括但不限于移液、加热、冷却、混合、清洗、孵育、标记、结合和洗脱)的复杂生物测定依赖于昂贵的实验室自动化装备来运行样品到回答序列。用于样品到回答序列自动化的低成本,低功耗,小型化仪器尚未实现,因此,用于运行样品到回答序列的即时护理微流体设备依赖于附加仪器,其采取独立台式或便携式仪器的形式以在微流体设备上进行测试。实施可以自动化微流体盒上的样品处理步骤的单独仪器被看作是保持每次测试的成本并因此使得盒的成本较低的一种方式。在为即时护理应用开发的系统中,这可以采用带有螺线管柱塞、线性致动器、微控制器和电子电路的便携式台式仪器的形式来自动化样品处理序列。虽然这样的仪器可以让用户对样品处理顺序进行控制,但它需要受控的环境和大量的电力来运行。这些即时护理系统在其中没有基础设施运行仪器的低

资源环境中,或者在其中外行人看不到需要或无法负担购买昂贵的仪器进行测试时的家庭和非医院环境中,不可行,或者没有接受过培训以操作与测试一起进行的仪器。因此,开发能够直接集成到微流体设备并能够运行自动化样品到回答序列的低功耗、独立、廉价和一次性使用仪器的方法被视为开发可以从样品到答案运行复杂的多步骤核酸、蛋白质和免疫分析的单次使用测试设备的障碍。

[0008] 一次性测试不需要仪器来运行它们仅限于以下方面:1)简单的单步骤测定,其中样品是唯一的液体,不使用试剂(这些测试通常包括试纸测试,例如尿液测试条和妊娠测试);和2)以包含试剂瓶和用法说明集的套件形式出售的多步骤测定,其中用户依赖于遵循用法说明并将试剂分配到一次性测试盒的不同区域中(这些设备通常运行不需要样品制备步骤的免疫测定)。

[0009] 多步骤测定设备的一些示例包括但不限于,Chembio Diagnostic Systems, Inc.'s DPP® HIV 1/2 Assay, SURE CHECK® HIV 1/2, HIV 1/2 STAT-PAK®, and HIV 1/2 STAT-PAK® DIPSTICK tests。这些测试依靠用户手动执行一系列步骤来完成序列。如果用户不熟练或没有按照说明正确执行测试,则存在测试执行不正确的风险,因此根据测试如何执行可能会有所不同。此外,当试剂未完全容纳在所述设备内时,还有额外的污染风险。如果没有合适的实验室规程、手套和装备(例如,通风橱和实验室基础设施,例如含有生物安全设施),处理起来有害的某些苛刻的试剂不能在這些试剂套件测试中实施,除非经过培训的技术人员在包含设施中执行所述测试。

[0010] 如果测试不是简单的和自动化的,外行就会冒风险进行测试。由于测试复杂度增加超过两到三个步骤,因此这些基于手动套件的测试在其实用性上不足。核酸扩增测定法(例如等温测定法如环介导的扩增法)的进步降低了加热/冷却热循环的使用仪器负担,因为这些测试仅需要将样品保持在单一温度下(通常在60-70°C之间C)。然而,这些测试仍然需要多个用户启动的步骤来完成样品到回答序列,这需要熟练的操作员或附加的自动化使用仪器。

[0011] 样品制备对于涉及生物样品处理的许多诊断测定来说是必不可少的。生物样品通常在适合用于测定之前经历多个复杂的处理步骤。这些步骤需要从原始样品中分离、浓缩和/或纯化感兴趣的分析物,并去除样品中会干扰所需测定的材料。样品处理步骤通常涉及精确的温度条件、试剂体积和孵育时间,其需要以精确的顺序和严格控制的环境(如实验室环境)进行。用于样品处理的常规自动化系统涉及高度复杂且昂贵的使用仪器和熟练的人员来操作它们。由于这些系统通常放置在集中式实验室中,因此必须经常将原始样品存储并转移到不同场所的实验室进行处理。这些因素与多种限制相关,包括高成本、结果延迟以及由于运输和不当存储导致的样品完整性受损。

[0012] 本发明提供了用于通过多个样品制备和测定步骤进行生物样品的简单、低功率,自动化处理的方法和设备。所描述的方法和设备有助于在无装备、非实验室环境下的复杂诊断测定的即时护理实施。

发明内容

[0013] 根据本发明,公开了使用线性或旋转运动自动化的具有磁性和机械致动元件的样品至回答微流体设备及其使用方法的各种实施例。在一个实施例中,提供了一种微流体设

备,其包括:

[0014] 一个或多个包括凸轮轴和凸轮凸角的凸轮;

[0015] 一个或多个摇臂;

[0016] 微流体盒,该微流体盒包括一个或多个流体通道、一个或多个反应室以及一个或多个包含流体和易碎隔膜密封件的爆裂袋;和

[0017] 凸轮机构,其构造成使所述凸轮轴旋转;

[0018] 其中所述一个或多个凸轮被构造成使得所述凸轮轴的旋转导致所述凸轮凸角致动所述一个或多个摇臂,并且其中所述一个或多个摇臂被构造成使得致动导致所述摇臂从打开位置移动到关闭位置,在该关闭位置压力被施加在一个或多个爆裂袋上,使得易碎隔膜被破坏并且流体被释放到一个或多个反应室中。

[0019] 在一些实施例中,多个凸轮凸角和摇臂被构造成使得凸轮轴的一次完整旋转导致摇臂以时间和空间受控的方式将压力施加在多个爆裂袋上。在一些实施例中,一个或多个凸轮凸角和一个或多个摇臂被构造成使得在一个或多个爆裂袋的易碎隔膜密封件已经被破坏之后,摇臂保持在关闭位置。在一些实施例中,凸轮凸角构造成使得在破裂袋之后摇臂保持在关闭位置。在一些实施例中,微流体设备还包括沿着一个或多个流体通道的一个或多个隔膜阀,其中,一个或多个凸轮凸角构造为使得凸轮轴的旋转引起凸轮凸角打开和/或关闭一个或多个更多隔膜阀。在一些实施例中,凸轮轴构造成经由卷绕弹簧机构旋转。

[0020] 在一些实施例中,微流体设备还包含样品制备室,其中样品制备室包括用于DNA捕获的载体。在一些实施例中,凸轮轴的旋转速度以及多个凸轮凸角和多个摇臂的构造使得能够以时间受控的方式使多个爆裂袋爆裂以执行DNA纯化的清洗步骤。在一些实施例中,微流体盒还包括扩增室、热沉和加热器,其中热沉和加热器被构造为在致动多个凸轮凸角和多个摇臂间歇地冷却和加热扩增室。在一些实施例中,凸轮轴的旋转速度以及多个凸轮凸角和多个摇臂的构造使得热沉和加热器能够间歇地冷却并且以时间受控的方式加热扩增室以执行PCR热循环。在一些实施例中,微流体盒还包括包含用于DNA捕获的载体的DNA杂交室。

[0021] 在另一个实施例中,提供了包含微流体盒的微流体设备,该微流体盒包括:

[0022] 多个试剂填充袋;

[0023] 反应室;和

[0024] 凸轮轴;

[0025] 其中所述凸轮轴包括在沿着所述凸轮轴的角度位置处的多个槽,使得所述凸轮轴到预定位置的旋转导致一个或多个所述角槽在一个或多个所述试剂填充袋和反应室之间形成流动通道。

[0026] 在另一个实施例中,提供了一种试剂分配单元,包括:

[0027] 包括试剂和易碎密封件的试剂袋;和

[0028] 集成磁性元件,该集成磁性元件构造成当被磁场吸引时压下所述试剂袋,使得所述易碎密封件被破坏。在一些实施例中,磁性元件包括柱塞。在一些实施例中,磁性元件包括珠。在一些实施例中包括尖锐物体。

[0029] 在另一个实施例中,提供了一种微流体设备,包括:

[0030] 流体导管;

[0031] 反应室;和

[0032] 如在此其他地方所述的试剂分配单元;

[0033] 其中所述试剂分配单元被结合到所述微流体设备以形成气密密封件,并且其中所述试剂分配单元被构造成当所述易碎密封件被破坏时经由所述流体导管将所述试剂排空到所述反应室中。在一些实施例中,微流体设备还包括陷阱,其中陷阱包括松散的磁性材料并且被构造成将试剂袋保持在压下位置。

[0034] 在另一个实施例中,提供了一种微流体设备,包括:

[0035] 多个流体室,其经由阀彼此流体连接;以及旋转轴,该旋转轴包括永磁体,该永磁体以交替磁极轴向和径向地布置在所述旋转轴的外周上,

[0036] 其中所述流体室中的每一个包括被捕获的永磁体,其运动方向沿着垂直于所述旋转轴的轴线的路径被限制,并且其中所述旋转轴和流体室被构造成使得所述旋转轴的旋转使所述永磁体运动用于在每个流体室内混合流体。

[0037] 在另一个实施例中,提供了一种试剂袋,其包括在密封件的易碎部分中的精确位置处的破裂点,其中该试剂袋包括被约束到试剂袋的特定区域的磁性元件,其直接覆盖密封件的易碎部分。

[0038] 在另一个实施例中,提供了一种微流体设备,包括:

[0039] 一个或多个线性致动元件;和

[0040] 微流体箱体;

[0041] 其中所述一个或多个线性致动元件包括用于磁珠位移、流体阀致动和/或试剂袋爆裂的固定磁性元件;并且其中所述微流体箱体包括具有集成的磁性柱塞元件的储存的试剂袋、用于样品处理的试剂室、具有用于控制磁珠通过阀移动的非磁性柱塞的磁性枢转摇臂阀,以及包括磁柱塞的磁性控制阀,该磁柱塞包括用于磁珠位移的固定磁性元件。在一些实施例中,一个或多个致动元件被构造成在微流体设备之下和/或之上滑动。在一些实施例中,致动元件经由从由马达、卷绕弹簧、手摇曲柄、手动推动和线性螺线管致动器组成的组中选择的方法移动。

[0042] 在另一个实施例中,提供了一种微流体设备,包括:

[0043] 一个或多个线性致动元件;和

[0044] 微流体箱体;

[0045] 其中所述一个或多个线性致动元件包括包含在其自己的陷阱中的固定的和部分捕获的磁性元件的组合,使得它们的运动限于用于磁珠位移、流体阀致动和/或试剂袋爆裂的一个轴线或方向;并且其中所述微流体箱体包括具有集成的磁性柱塞元件的储存的试剂袋,用于样品处理的试剂室,具有用于控制磁珠通过阀移动的非磁性柱塞的磁性枢转摇臂阀,以及包括磁性柱塞的磁性控制阀,所述磁性柱塞包括用于磁珠位移的固定磁性元件。在一些实施例中,一个或多个致动元件被构造成在微流体设备之下和/或之上滑动。在一些实施例中,致动元件经由从由马达、卷绕弹簧、手摇曲柄、手动推动和线性螺线管致动器组成的组中选择的方法移动。

[0046] 在另一个实施例中,提供了一种微流体设备,包括与集成到反应室中的磁性柱塞元件对准的试剂袋,其中磁性柱塞元件被构造为使得当它被磁场吸引时,其破坏试剂的易碎密封件进入试剂袋,并将试剂袋中的试剂位移到反应室中。在一些实施例中,磁性柱塞元

件位于流体入口和试剂袋之间,而且其中磁性元件具有凹口,该凹口用作引导件并且限制流体通过引导凹口流到反应室,并且其中引导凹口构造成使得当磁性元件柱塞到达其最顶部位置时,关闭流体进入反应室的流动。

[0047] 在另一个实施例中,提供了一种微流体设备,包括:

[0048] 致动元件,该致动元件具有多个容纳在旋转轴内部的部分捕获的磁性元件,其中所述旋转轴构造在具有多个磁陷阱的套筒中;

[0049] 多个如在此其他地方所述的试剂分配单元;

[0050] 混合室;和

[0051] 混合室磁体。

[0052] 在一些实施例中,微流体设备进一步包括固定的永磁体,该固定的永磁体构造成使得它们的相反的磁极与旋转轴的周边对准,由此导致混合室磁体在轴旋转时被高频率地吸引和排斥。在一些实施例中,微流体设备被构造成使得当旋转轴旋转时,第一试剂分配单元与第一部分捕获的磁性元件对准,由此第一部分捕获的磁体移出旋转轴并进入套筒中的第一磁陷阱,从而能够吸引磁性元件并且破坏第一试剂分配单元的袋上的易碎密封件。在一些实施例中,微流体设备被构造成使得随着旋转轴继续旋转,第二试剂分配单元与第二部分捕获的磁性元件对准,由此第二部分捕获的磁体移出旋转轴并进入所述套筒中的第二磁陷阱,从而能够吸引磁性元件并破坏第二试剂分配单元的袋上的易碎密封件。在一些实施例中,微流体设备被构造为使得在储存的试剂已经分配之后,旋转轴可以高RPM旋转以通过使得轴中的固定永磁体以高频率向混合磁体呈现交替磁极来实现混合。

[0053] 在另一个实施例中,该系统机械地确保磁性柱塞元件在致动之后不能返回到其初始位置,其中包含磁性柱塞的套筒包括模制到其壁中的至少一个悬臂棘轮元件,使得磁体使棘轮在该位置偏斜但是当磁体移位时,棘轮将缩回并使磁性柱塞不能移回到其初始位置。在一些实施例中,棘轮被弹簧加载球代替。

[0054] 在另一个实施例中,提供了一种样品处理系统,该样品处理系统采用包括在轨道上移动的磁体的致动元件,其中磁体吸引结合生物分子的磁珠。当磁体沿着轨道移动时,它将微珠芯片中的磁珠拖动。轨道的路径是穿过多个试剂室,使得磁珠在适当的时间移动通过所有的试剂室,磁体最终移动通过陷阱,例如球陷阱。在一些实施例中,磁性元件安装在滑架上,滑架可沿着滑轨自由移动。整个滑轨通过沿线性螺钉移动穿过微流体设备的长度。在该系统的另一个实施例中,线性螺钉由齿条和小齿轮机构代替。在另一个实施例中,可以在轨道上布置一个或多个磁体以顺序或并行执行多个样品处理步骤。

[0055] 在另一个实施例中,采用旋转致动元件的微流体设备被提供用于使样品处理序列自动化。此外,根据设计和样品处理要求,样品处理设备的一些实施例可以采用一个或多个旋转和线性致动元件的组合,以获得对x,y,z和r轴的控制。

[0056] 在另一个实施例中,提供了用于控制示例性微流体设备中的流体流动的磁性柱塞元件阀。在一些实施例中,提供了具有非磁性柱塞元件的磁性枢转摇臂阀,例如其中具有磁性元件的摇臂的阀围绕其轴线枢转(或旋转)。当外部磁场接近时,它将吸引摇臂上的磁性元件,并使柱塞向下按压隔膜阀上,从而阻止流体流过通道。当磁场被移除时,摇臂返回到其原始位置并且可以继续通道中的流动。

[0057] 在另一个实施例中,提供了隔膜阀或夹阀,其可以使用磁性柱塞元件下压在微流

体设备上。当外部磁场接近磁性柱塞元件时,其将柱塞吸向其,从而压下隔膜阀并停止通道中的流动。

[0058] 在另一个实施例中,永磁体以这样的方式轴向和径向地固定在旋转轴的周边上,从而使得沿着旋转轴的长度呈现交替的极性。流体装置或容器包含捕获在其内部的第二永久磁体材料,使得其运动限于一个轴。当旋转轴放置在流体装置或容器附近时,容器内的永磁材料经受交替的吸引力和排斥力,导致流体装置或容器内的往复运动和剪切运动。

[0059] 在该系统的另一个实施例中,磁性柱塞元件被约束成使得其仅能够沿挤压试剂分配单元的袋所需的方向移动,破坏易碎密封件并且将试剂分配通过流体导管并进入微流体设备。

[0060] 在一些实施例中,微流体设备中的反应室被设计成使得它们可以被压缩以将流体从一个反应室移动到另一个反应室。

[0061] 在另一个实施例中,提供了用于核酸扩增测试的样品制备的微流体设备。流体井通过进入每个流体井的底部的入口流体导管连接到一个或多个含有可混溶试剂的试剂分配单元。流体井体积被设计为使得它们仅部分地被通过入口流体导管进入的可混溶液体试剂填充。在完成流体井的填充之后,致动含有不混溶液体的试剂分配单元,并且其内容物通过主流体导管分配到流体装置中,其填充主流体导管和流体井中的空体积,由此形成流体通道并且同时在流体井中的可混溶液体之间形成屏障以防止它们混合在一起。

[0062] 在另一个实施例中,提供了用于基于磁珠的样品制备的微流体盒,其包括流体井、流体导管、储存的液体试剂储存器和阀。微流体盒夹在顶部和底部致动器元件之间,该顶部和底部致动器元件包括永磁体和突出部或突起。永磁体和突起在空间上布置为使得它们随着微流体盒紧邻致动器元件旋转而根据它们的致动器元件的位置和速度以精确的时序执行测定自动化序列的不同步骤。可以执行的测定步骤包括将储存的试剂分配到流体井中,打开和关闭阀以控制流体流动的方向,打开和关闭通风口,捕获、重新悬浮和移动在井之间的磁珠。

[0063] 已经在上文中陈述了当前公开的主题的某些方面,其全部或部分地由当前公开的主题来解释,其他方面将变得显而易见,随着所述描述在当与如下所最佳描述的所附示例和附图结合时的进行。

附图说明

[0064] 已经以一般术语描述了当前公开的主题,现在将参考附图,附图不一定按比例绘制。

[0065] 图1A是致动摇臂之前的样品至回答微流体设备的实施例的侧视图;

[0066] 图1B是致动摇臂之后的样品至回答微流体设备的实施例的侧视图;

[0067] 图2是示例性的样品至回答微流体设备的透视图;

[0068] 图3是具有样品分析功能的示例性微流体设备的框图;

[0069] 图4是使用旋转端口设计的示例性微流体设备的实施例的顶视图;

[0070] 图5示出试剂分配单元(RDU)的截面图,图5A示出试剂袋内的磁性破坏元件,图5B示出了微流体设备内部的尖锐物体,用于破裂易碎密封件;

[0071] 图6示出了由磁性元件柱塞爆裂的试剂袋;

[0072] 图7示出了基于旋转轴磁性混合元件的实施例,图7A示出了具有永磁体的旋转轴,该永磁体以交替磁极轴向地和径向地布置在旋转轴的周边上,图7B描绘了在其附近具有旋转轴的多室流体混合系统;

[0073] 图8示出了用于RDU的示例性试剂袋的顶视图和截面AA视图,其包含用于控制易碎密封件上的破裂点的受约束的磁性破坏元件;

[0074] 图9示出了用于样品处理的示例性微流体设备,图9A示出线性致动元件的顶视图,图9B示出线性致动元件的截面AA视图,以及图9C示出了微流体盒体的顶视图;

[0075] 图10A-10F示出了当致动元件在微流体盒下方滑动时样品处理序列的各种情况;

[0076] 图11A-11F示出线性致动元件的不同实施例的示例。

[0077] 图12A-D示出了包括具有固定和部分捕获的磁性元件的致动元件的微流体样品处理设备的示例;

[0078] 图13示出了示例性微流体设备的横截面图,图13A示出集成到反应室中的磁性柱塞元件,以及图13B示出磁性柱塞元件被磁场吸引,从而破坏易碎密封件并将试剂袋的内容物移入反应室中;

[0079] 图14示出了示例性微流体设备的横截面图,图14A示出了集成到反应室中的带凹口的磁性柱塞元件,图14B示出了被磁场吸引的凹口磁性柱塞元件,从而破坏易碎密封件并将试剂袋的内容物移入反应室中,14C示出了在分配试剂袋的试剂之后关闭流体导管的入口端口的带凹口的磁性柱塞元件;以及棘轮元件即使在没有外部磁场的情况下也能够将磁性柱塞元件机械地保持在永久密封位置;

[0080] 图15示出包括旋转轴致动元件的样品处理系统的实施例,其中部分捕获和固定的磁性元件容纳在旋转轴内部;

[0081] 图16A-16D示出了当旋转轴致动元件在微流体设备上旋转时样品处理序列的不同实例;

[0082] 图17A和图17B示出了附加的非限制性实施例,即使在没有外部磁场的情况下,也将磁性柱塞元件机械地保持在永久密封位置;

[0083] 图18A和图18B示出了包括致动元件的样品处理系统的实施例,该致动元件包括在轨道上移动的磁体;

[0084] 图19A至图19C示出旋转致动元件的不同实施例的示例;

[0085] 图20示出了具有非磁性柱塞元件的示例性磁性枢转摇臂阀,图20A和图20B描绘了枢转摇臂阀几何形状的两个非限制性实施例的顶视图,图20C描绘了其中摇臂由磁场启动并且非磁性柱塞压下隔膜阀以停止流动的情况;

[0086] 图21示出了具有集成磁性柱塞元件的隔膜阀或夹阀,图21A描绘了当磁场“M”不在其附近时处于其打开状态的阀;以及图21B描绘了当磁场“M”处于其附近时处于关闭状态的阀;

[0087] 图22示出了用于使用磁性柱塞元件的滑动和滚动运动将试剂挤出试剂袋的RDU,图22A描绘了滑动平面磁性元件,图22B描绘了滚动圆柱形磁性元件,以及图22C和图22D描述了清空试剂袋;

[0088] 图23A-D示出了致动元件的顶视图和截面AA视图;具有挤压元件的微流体盒的顶视图和截面BB视图;以及当挤压元件被线性致动元件拖动从而分别将流体移动到下一个反

应室的情况；

[0089] 图24示出了用于分配储存的试剂以产生油-水流体回路的流体井构造和原理的示意图；

[0090] 图25A至图25C示出了用于基于磁珠的样品制备的示例性微流体盒的示意图,其包括流体井、流体导管、储存的液体试剂储存器和阀；

[0091] 图26B示出了示例性微流体设备上的基于磁珠的样品制备的原理,所述微流体设备具有包括固定永磁体的集成的顶部和底部旋转致动器元件；

[0092] 图26A至图26I示出了微流体盒相对于致动器元件的位置的不同情况,以说明使用线性致动的流体井之间的磁珠捕获、再悬浮和行进的原理；

[0093] 图27A至图27G示出了具有顶部和底部致动器元件的微流体设备的横截面视图,以说明在微流体设备上的基于磁珠的样品制备的原理。微流体设备包括通过油相彼此连接的流体井。顶部和底部的致动器元件具有可以按照预定顺序打开或关闭的电磁体。微流体设备在两个致动器元件之间移动；

[0094] 图28示出了示出微流体盒和致动器元件的微流体设备的透视图。微流体盒在致动器元件之间滑动；

[0095] 图29A至图29E示出了在微流体设备的流体井中使用突起作为挡板的原理,以随着磁体继续沿着运动路径移动而将磁珠限制到井中；以及

[0096] 图30A和图30B示出了使用致动的刺血针在微流体设备上从流体井到侧向流动条的流体转移的原理。

具体实施方式

[0097] 现在将在下文中参照附图更全面地描述本公开的主题,其中示出了本公开主题的一些但不是全部实施例。相似的附图标记在全文中指代相同的元件。当前公开的主题可以以许多不同的形式来实施,并且不应被解释为限于在此阐述的实施例；相反,提供这些实施例使得本公开将满足适用的法律要求。事实上,在此所阐述的目前公开的主题的许多修改和其它实施例对于与目前公开的主题有关的领域技术人员将想到具有在前面的描述和相关附图中提供的教导的益处。因此,要理解的到,本公开的主题不限于所公开的具体实施例,并且修改和其他实施例旨在被包括在所附权利要求的范围内。

[0098] 具有使用线性或旋转运动自动化的磁性和机械致动元件的样品-回答微流体设备及其使用方法

[0099] 所公开的本发明包括使用简单、低成本和低功率使用仪器的用于样品到回答自动化的方法和集成设备。在一个实施例中,提供了一种芯片实验室微流体系统和相关方法,其通过全部自动化集成在凸轮轴的单次旋转内以精确顺序执行多个步骤。在一个示例性实施例中,通过施加压力以破裂存储在盒内的试剂填充袋的易碎密封件,使得涉及定时试剂传送的流体处理序列成为可能。在一个实施例中,热管理也是可能的,例如,在聚合酶链式反应(PCR)期间,凸轮机构可以用于致动热沉的接触以控制样品温度并减少总体结果时间。

[0100] 例如,凸轮轴可以像钟表机械一样运行,以便以按照精确的顺序打开和关闭多个阀门以执行任务,例如运行发动机。当应用于LOC时,本发明可以采用单个凸轮轴来执行完成样品到回答诊断测试所需的所有致动和自动化步骤。

[0101] 因此,所需的唯一致动可以是使凸轮轴旋转一整圈。此外,根据本发明,在一个实施例中在单个平台上或在其上的若干下游测定过程中包含PCR前和PCR后模块的设施独立的微流体盒也是可能的。

[0102] 此外,旋转凸轮轴可以使用卷绕弹簧进行自供动力,例如,可在LOC设备上实现完全无电池自动化。

[0103] 由于处于低资源环境的诊断设备通常需要电池供电,因此本发明允许即时护理技术成为更接近完全无电的步骤。通过集成旋转凸轮轴,即时护理诊断可通过多种因素得到改善,包括减小尺寸、功耗、设备的成本和复杂性等。

[0104] 根据本发明的一个方面的微流体盒可以允许使用微流体模块化在单个平台上集成PCR之前和之后的处理步骤。多功能性也可以添加到系统中,因为它能够进行基于PCR的DNA扩增和进一步的下游处理,如DNA

[0105] 例如,杂交微阵列集成在同一芯片上。因此,可以轻松筛选单个样品用于多种病原体。

[0106] 本发明的各个方面也可以适用于各种其他设备。例如,本发明也可以用于在芯片实验室设备上以样品到回答格式基本自动化生物测定。另一种可能的应用是用于蛋白质测定。

[0107] 本发明相对于现有技术其他优点包括:1) 控制单个凸轮轴上的用于流体管理、热管理和电子管理的所有致动步骤;2) 简单的设计、低制造成本、低功率、马达,或卷绕弹簧来控制驱动顺序;3) 微流体盒和凸轮轴技术,其可用于将多个下游测定过程集成到单个设施独立的平台上;和4) 设施独立的盒允许用于下游处理的附加模块以“LEGO”模块方式添加,该模块可以与旋转凸轮轴致动器协同工作,以实现设备上的精确自动化。

[0108] 因此,使用本发明的各方面的设备是可能的,包括一次性、设施独立的微流体盒,其特征是填充有试剂的泡袋,以及补充的凸轮轴,其完成单次旋转中的用于样品到回答序列的所有单独的致动和自动化步骤。实质上,凸轮轴作为整个样品到回答自动化过程的机械“程序”。当凸轮轴与摇臂结合使用时,摇臂可以像用于致动的柱塞那样工作。随着凸轮轴转动,摇臂与泡袋接触并施加破裂易碎密封件所需的力。该构思示出的图1中。使用此该构思,单个凸轮轴致动器可执行以下基本任务中的一个或多个:1) 打破芯片上试剂填充泡包装件的易碎密封件以释放其内容物;2) 致动芯片上隔膜阀以控制微流体芯片上的流体输送;3) 将控制体积的试剂空间地和时间地释放到反应室中;4) 致动冷却元件以在微流体芯片上快速热循环;5) 致动永磁体以将磁珠从一个位置移动到另一个位置;和6) 致动电触点用于读出。

[0109] 可选的非限制性实施例包括:1) 使用卷绕弹簧来为凸轮轴提供动力;2) 使用凸轮轴致动器以用于使注射器柱塞的操作自动化以按自动顺序分配试剂;和3) 使用水平或竖直设计。

[0110] 在此描述的特征可以允许使用单个致动机构的流体处理/管理、热管理、电气管理的3D空间和时间控制。操作顺序由凸轮凸角的排列和方向编码。

[0111] 其他实施例可以包括不使用摇臂、凸轮加销钉、齿轮、时钟机构、卷绕弹簧、钢琴锤动作或任何其他机械变化的凸轮,其可以能够使样品到回答序列自动化。

[0112] 在一个实施例中,凸轮机构也可以用于致动功能化电极以从一个样品移动到另一

个。

[0113] 现在参照图1A和1B,示出了分别在摇臂109的致动之前和之后示出的示例性微流体设备101的侧视图。微流体设备101具有带凸轮轴103和凸轮凸角104的凸轮102。还示出了具有至少一个芯片上爆裂袋或泡袋106和反应室107的微流体盒105。爆裂或泡袋107填充有诸如试剂的流体,其在爆裂时分配容纳在其中的流体。这些爆裂或泡袋106可以大批量生产,从而降低制造成本。当专门为微流体应用而制造时,所含流体的体积范围为15至450。泡袋106通常包括安装在袋的出口处的易碎隔膜密封件。这样的易碎隔膜通常需要有意的压力来破坏其密封件并释放其内容物。

[0114] 当凸轮机构102旋转通过凸轮轴103时,凸轮凸角104致动摇臂109,使它将压力施加在爆裂袋107中,并且破坏易碎隔膜。

[0115] 如可从图2中看到的,多个凸轮202可安装在凸轮轴203上。每个凸轮202具有凸轮凸角204,凸轮凸角204提供空间形貌以在不同时间和间隔致动摇臂。当凸轮轴203旋转时,凸轮凸角204推压摇臂209,摇臂209又压靠爆裂袋或泡袋206,释放其内容物。通过在凸轮轴203上布置多个凸轮202,可以控制反应的空间和时间控制。摇臂209或摇臂机构像柱塞一样起作用,该柱塞向下推动泡袋206,施加足够的压力以使其易碎的膜密封件破裂。例如,如图2所示,包含不同试剂的多个爆裂袋可以空间地组装到微流体盒上。

[0116] 当凸轮轴203旋转一整圈时,凸轮凸角204提升并接合摇臂209,从而空间地和时间地上控制微流体盒205上的泡袋206中的储存试剂的释放。凸轮凸角204被设计成使得:破裂所述袋之后,摇臂保持在关闭位置。这可以用作止回阀以确保试剂没有回流到破裂的袋中。凸轮凸角204还可用于沿着流体通道打开和关闭隔膜阀,从而实现该通道上的流体流动控制。

[0117] 如以上一般性讨论的,在图2中,示出了多个凸轮和摇臂机构。每个凸轮202和摇臂机构209对应于特定的泡袋206。当每个凸轮和摇臂机构以适当的间隔被致动时,各种试剂通过形成在微流体盒205上的通道208从泡袋释放并进入也形成在微流体盒205上的反应室207中。

[0118] 旋转凸轮轴也可以使用卷绕弹簧机构自供动力。这样可以在LOC设备上实现完全无电源自动化,其中用户可以基本上转动钥匙以获得自动诊断结果。由于低资源环境中的诊断设备需要使用电池供电,因此这项创新技术使即时护理技术更接近于完全无电。

[0119] 现在参照图3,示出了示出用于PCR和DNA杂交的示例性样品到答案系统301的构思的框图。在该示例中,多个凸轮302由凸轮轴303支撑。每个凸轮302具有用于致动摇臂309的凸轮凸角304。微流体盒305设置有多个爆裂袋306(在该示例中为溶解、清洗和洗脱缓冲液)各种反应室307、废物室313和各种通道308以将流体连接到其相应的室307,313。还在特定室307,313和爆裂袋306之间提供阀310以防止流体从倒流并造成污染。

[0120] 在该示例中,首先将样品引入室307(样品制备),其可以包含用于DNA捕获的载体,例如二氧化硅珠,FTA纸或磁珠。对于样品制备步骤,随着凸轮轴303旋转,使凸轮凸角304致动对应的摇臂进入“关闭”位置,由此使含有溶解缓冲液(在该示例中)的爆裂袋破裂并释放到样品制备室307中。凸轮轴的转速和凸角尺寸可以变化以控制每个反应步骤的时间。其他摇臂顺序地进入关闭位置,并且破裂它们的各自袋,例如将清洗缓冲液306释放到样品制备室307中用于DNA纯化的清洗步骤。

[0121] 在PCR热循环期间,热沉311可以通过其对应的摇臂间歇地致动以接触扩增室并提供冷却。使用PCR热循环,更耗时的步骤之一是降低样品的温度。通过使用仅在冷却步骤期间接触的致动热沉,完成每个PCR循环所花费的时间可以显著减少。因此,如该示例中所示的,采用单一凸轮轴旋转可以实现样品至回答序列的完全自动化。

[0122] 热沉311也可以设置在微流体盒上,例如在PCR循环期间,以按照由凸轮机构和/或旋转速度指定的精确顺序与反应室307间歇接触。第一阶传热和传质计算估计在将样品从95度冷却至65度需要花费的时间降低大约7倍。该时间减少是在环境空气温度为25度的情况下用1“×1”×0.5“的铝块热沉实现的。例如,如果没有热沉的冷却时间需要30秒/循环并且有25个循环;则节省的时间对于整个PCR过程将是12.5分钟,这例如在流体处理期间的热管理中提供了显著的优势,在该图中还示出了在微流体盒305上的加热器312。

[0123] 现在参照图4,示出了使用集成旋转端口设计的示例性样品到回答微流体设备的平面图。如图4所示的,示例性微流体设备401将凸轮轴403集成为微流体盒405的一部分。在该实施例中,该盒的凸轮轴403在凸轮轴403的旋转期间联接到致动机构。通过该系统,可以设计和构造特定的凸轮轴用于各种不同的测定。另一种替代方法是构建标准凸轮轴模块安装件,并为不同的测定开发独特的凸轮轴模块。

[0124] 图4的示例性系统使用精确切割的槽414,其沿着轴403定位在预定角度位置处。当旋转至预定角位置时,槽414形成试剂填充袋406和反应室407之间的流动通道408。流动压力可以通过向下推动在试剂填充袋406上来开发。旋转端口也有助于简单的阀门。

[0125] 微流体盒也可以设计成没有PCR扩增室。在此情况下,该盒可以包含用于检测分析物而不扩增目标的DNA杂交室。该设计对于通过具有强大的单分子检测器(如全内反射荧光(TIRF)显微镜或单光子雪崩二极管(SPAD)阵列检测器)的DNA杂交阵列的样品至回答高通量筛选尤其有吸引力。

[0126] 在其他实施例中,本发明使用与机械自动化结合的磁致动来完成微流体设备上的样品到回答序列。在此所述的设备的致动方法和各种实施例可以用于将试剂分配到流体装置中并且沿着流体导管,打开/关闭阀门,在流体芯片内引起搅拌和混合,打开/关闭电路或创建流体室内的电连接。

[0127] 流体装置由试剂袋组成,其将微流体设备上的生物样品处理所需的试剂分配。袋试剂包括但不限于例如缓冲液,盐,酸,碱,标签,标记,标识物,水,醇,溶剂,蜡,油,气体,凝胶。当袋上施加足够的压力时,袋会爆裂,从而将袋的内容物分配到导向其预期反应室的流体导管中。袋设计为具有与流体导管的入口对准的易碎密封件,使得当袋破裂时,其内容物被迫进入通向反应室的流体导管。

[0128] 磁体可以吸引磁性元件,这可能是另一种磁体,电磁体或铁磁材料。以下本发明描述了一种应用爆裂压力来清空试剂袋的新颖方法和器械。该器械被称为试剂分配单元(RDU)。RDU由含有储存试剂的试剂袋和可以是永久磁体或铁磁元件的集成磁性元件组成。当该磁性元件被带入其附近的磁场吸引时,其将朝向该磁场移动,并且起到像压下试剂袋的柱塞的作用,并且通过这里描述的非限制性实施例之一,爆裂该袋,导致其内容物被排入流体芯片。柱塞的运动受到限制,因此它可以有效地清空所述泡;这是通过使其进入的设计指南来实现的。

[0129] 图5描绘了微流体设备上的RDU的横截面图。在该示例中,RDU使用粘合剂512粘合

到微流体设备511,使得其与微流体设备形成气密密封。RDU具有在试剂袋505的顶部上的集成的磁性元件柱塞503。试剂袋包含储存的试剂514并且由易碎的密封层506密封。通过将磁性元件柱塞包封在护套502内以使其运动受到约束而被保持就位的。

[0130] 在一些实施例中,试剂填充袋包含小珠或尖锐物体504,使得在磁场509的影响下,珠或尖锐物体504将有助于破碎易碎密封件。该物体由磁性材料制成,其当被磁场吸引时会使得易碎密封件破裂。在另一个实施例中,如图5B所示,固定到流体装置入口的尖锐物体513将在试剂袋推动在该元件上时破裂试剂袋的易碎密封件。

[0131] 在一些实施例中,如图5中看到的,在微流体设备511上存在陷阱510,使得松散的磁性材料可永久展开并保持在试剂袋下方的合适位置,以保持袋被压下。这样的系统像一次性致动的阀一样工作,以保持试剂袋被压下,从而防止从反应室508经由流体导管507回流到试剂袋中的任何回流。

[0132] 在图6中看到的另一个实施例中,易碎密封件被设计为使其在一定的压力下破裂。磁性元件柱塞被磁场吸引,提供必要的爆裂压力和变形,破坏易碎密封件。位于试剂袋上方的磁性元件柱塞同时被吸向相同的磁场,并使破裂的袋变形,由此迫使存储的试剂通过流体导管流入反应室中。

[0133] 在大量样品量需要进行混合、溶解或均质化的应用中,流体可以分解为独立的较小的室,这些室彼此流体连接,每个室都包含自己的永久磁体。图7A描绘了旋转轴705,该旋转轴705包括永磁体,该永磁体交替磁极706轴向地和径向地布置在旋转轴的外周上,以及图7B描绘了多室流体混合系统,其中流体室704使用阀702彼此连接,使得它们可以处理一定范围的样品体积。永磁体703存在于每个室中,并且其运动方向沿着垂直于旋转轴的轴线的路径被限制。

[0134] 在图8看到的另一个实施例中,试剂袋被设计成允许在精确位置发生破裂点。这是通过设计试剂袋使得其包含磁性元件804来完成的,该磁性元件804被约束至试剂袋的特定区域805,并其因此直接覆盖密封件802的易碎部分806。

[0135] 尽管在此描述的用于样品处理的方法可以用单个致动运动执行多个过程,但是为了描述微流体设备上的致动控制,在此描述了控制多个样品处理步骤的单个线性致动元件的简化示例,其中三个样品处理步骤,即:1)从试剂袋中爆裂并释放储存的试剂;2)在室之间移动磁珠;以及3)打开和关闭流体阀。

[0136] 可结合到同一致动控制元件中的其他过程包括但不限于打开/关闭流体室内的电连接,将用于开/关控制的按钮开关按压至电路,刺穿真空容器,打开/关闭通风孔,启动加热元件或热沉。这样的系统的一个巨大优势是可以增加额外的步骤,并且系统复杂度增加最小化。参照图9A,9B和9C,用于样品处理的示例性微流体设备901的顶视图和截面AA,所述微流体设备包括线性致动元件903,该线性致动元件903包括用于磁珠位移的固定磁性元件904,用于流体阀致动的固定磁性元件905和用于试剂袋破裂的固定磁性元件902;以及包括具有集成磁性柱塞元件907的储存试剂袋的微流体盒908,用于样品处理的试剂室906,用于控制磁珠通过阀移动的具有非磁性柱塞909的磁性枢转摇臂阀,以及由磁性柱塞910组成的磁性控制阀。致动元件903紧靠微流体盒908并相对于其滑动。在该示例性实施例中,致动元件903在微流体盒908下滑动,然而在其他实施例中,微流体设备901被设计成致动元件903在顶部滑动。

[0137] 另外,致动元件可以包括顶部元件和底部元件,所述顶部元件和底部元件在相同方向上一起移动或独立地沿不同方向移动,使得它们的移动导致用于样品处理的多个致动步骤,以预定顺序发生。

[0138] 随着致动元件在图10A,10B,10C,10D,10E和10F中的微流体盒下方滑动,在不同的情况下描绘了样品处理序列。一些可用于引起滑动运动的方法包括马达,卷绕弹簧,手摇曲柄,手动推动,线性螺线管致动器。在滑动致动元件1003上的固定磁性元件1002被成形为使得微流体盒上的流体元件上的致动状态(开/关,打开/关闭,上/下)受在滑动致动元件上的固定磁性元件的形状控制。在图10A的情况一下,滑动致动元件上的固定磁体与具有非磁性柱塞的磁性枢转摇臂阀重叠并关闭该阀。当致动元件保持滑动时,在图10B中的情况二下,固定的磁性元件压下储存的试剂袋,使其释放其内容物到反应室中。同时,具有非磁性柱塞的磁性枢转摇臂阀保持关闭,由此将存储的试剂捕获在反应室中。当致动元件在图10C中的情况3下继续滑动时,第二固定磁性元件与第二储存的试剂袋重叠,由此使其爆裂并将其内容物释放到同一反应室中。具有非磁性柱塞的磁性枢转摇臂阀保持关闭。在图10D中的情况四下,磁性元件与包含磁珠的反应室重叠,并开始将它们吸过流体导管并进入第二反应室中。在相同的情况下,第三试剂袋爆裂,其内容物被释放到第二反应室中。当致动元件在图10E中的情况五下保持滑动时,固定磁性元件现在不再与具有非磁性柱塞的磁摇臂阀重叠,并且该阀返回其“关闭”状态,从而打开流体导管,使得磁珠能够进入第二反应室中。最后,在图10F的情况六下,磁珠被转移到第二反应室中,而固定的磁性元件重叠并关闭阀进入和离开第二室,使得磁珠被捕获在第二反应室中。

[0139] 该实施例描述了如何使用单个致动元件来控制多个样品处理步骤的示例。优选的是,该系统使用诸如钕磁体的永磁体来完成致动步骤,使得所得到的器械将利用最小的功率来执行致动控制。但是,也可以使用电磁体和永磁体的组合来使样品处理步骤自动化。

[0140] 为了附加的控制,在一些实施例中,可以使用多个致动元件,其以不同的速度和在不同的方向致动。线性致动元件的一些非限制性实施例示出在图11A-11F中。

[0141] 致动元件的另一个实施例在图12A,12B,12C和12D中进行了描述。这将包括容纳在其自己的陷阱1201中的固定和部分捕获的磁性元件1202的组合,使得它们的运动限于一个轴线/方向。部分捕获的磁性元件可用于不可逆地附接并捕获在图5A所示的磁陷阱510中,即使当滑动致动元件继续向前移动时。当希望永久地关闭阀时,例如保持试剂袋被压下以避免在随后的样品处理步骤期间回流,该实施例是有用的。

[0142] 图12B是致动元件的截面AA,其示出了容纳在盲孔中的部分捕获的磁性元件1202,使得其运动被限制在垂直于微流体盒的表面的方向上。图12D示出了当致动元件滑动时的特定情况,其中部分捕获的磁体已经离开致动元件并且永久地将它们自身附接到位于试剂袋下的磁陷阱。在该实施例中,即使当滑动致动元件继续向前移动时,试剂袋也被部分捕获的磁性元件1202永久压下。

[0143] 将试剂分配到图13A和图13B所示的流体室中的另一个示例性方法,其中磁性柱塞元件1303被集成到反应室1304中,并且试剂袋1302与其对准。当磁性柱塞元件被磁场1305吸引时,其破坏试剂袋的易碎密封件,进入试剂袋并将试剂1306移位到反应室中。

[0144] 在图14中看到的另一个实施例中,反应室位于远离流体入口的位置,并且磁性柱塞元件位于入口和试剂袋之间。磁性元件在其上具有凹口1403,其充当引导件并限制流体

通过引导凹口进入反应室的流动。引导凹口被设计成使得当磁性元件柱塞到达其最高位置时,通过流体导管进入反应室的入口被关闭,如图14C中所看到的。棘齿元件1402存在于流体装置内部,使得它永久地将磁性元件柱塞保持在密封位置。

[0145] 样品处理系统的另一个实施例是具有容纳在旋转轴1503内部的部分捕获的磁性元件1502的致动元件,并且示出在图15中。该旋转轴组装在具有磁陷阱1505的套筒1504中。套筒与包含RDU 1507、混合室1508和混合室磁体1509的微流体设备1506组装。存在固定的永磁体1510,其布置成使得其相反的磁极与旋转轴的周边对准;当轴旋转时,该磁体使混合室磁体吸引并以高频排斥。

[0146] 图16A描绘了当旋转轴组装到套筒中的情况。没有部分被捕获的磁体与RDU对准。在图16B中描绘的情况示出了当旋转轴已经旋转了一角度使得第一RDU与第一部分捕获的磁性元件对准。在此情况下,该部分捕获的磁体移出旋转轴并进入套筒中的磁陷阱。这也启动了第一RDU上的磁性元件的吸引力,其破裂了所述袋上的易碎密封件并将其组成试剂移位到溶解室中。图16C描绘了当所述轴已经旋转一角度使得第二部分捕获的磁体与第二RDU对准时的下一个情况。这会使RDU也将其组分排入混合室中。

[0147] 在储存的试剂已经分配之后,旋转轴如图16D所示地以高RPM旋转以能使混合。这导致所述轴中的固定永磁体以高频率向混合磁体提供交替磁极。这样的高频率的吸引和排斥导致在混合室中的混合。

[0148] 参照图17,示出了系统的另一个实施例,其在机械上确保磁性柱塞元件在致动之后不能返回到其初始位置。该实施例在需要像试剂袋或阀的元件在整个样品处理序列中被永久压下的情况下是有利的。图17A描绘了磁体1701处于其初始位置的情况。包含磁体的套筒1702包括模制在其壁中的至少一个悬臂式棘轮元件1703。磁体在这个位置偏转棘轮。当磁体如图17B所示移位时,棘轮将缩回,使得磁体不可能向下移回到其初始位置。图17C描绘了具有弹簧加载球的该机构的另一个实施例。球的作用类似于棘轮,它磁力将磁体拉向它的同时在磁体侧偏转;然而,在去除磁场之后,磁体的边缘将不能够压下弹簧加载球。

[0149] 参照图18,示出采用包括在轨道1803上移动的磁体1802的致动元件的样品处理系统的独特实施例。磁体吸引结合生物分子的磁珠。随着磁体沿轨道移动,其拖动微流体芯片1804中的磁珠。轨道路径通过图18中的试剂室R1至R4。在适当的时间将磁珠移动通过所有试剂室。最后,磁体移动通过陷阱的端部,其是球陷阱1805。

[0150] 图18B描述了用于磁体在轨道上的运动的机构。磁性元件安装在滑架1807上,滑架1807可沿滑轨1806自由移动。整个滑轨通过沿着线性螺钉1808移动横穿微流体设备的长度。在该系统的另一实施例中,线性螺钉被齿条和小齿轮机构取代。当滑轨横穿芯片的长度时,滑架上的磁体就会骑在轨道上。

[0151] 在另一个实施例中,可以在轨道上布置一个或多个磁体以顺序或并行执行多个样品处理步骤。尽管在该实施例中磁体被示为在轨道上滑动,但也可以将磁体固定在移动的传送带的轨道路径上。

[0152] 以上实施例描述了使用线性致动元件的样品处理自动化,然而旋转元件将赋予它们自己的优点。图19A,19B,19C示出采用旋转致动元件以使样品处理序列自动化的微流体设备的实施例。

[0153] 此外,根据设计和样品处理要求,样品处理设备的一些实施例可以采用一个或多

个旋转和线性致动元件的组合,以获得对 x , y , z 和 r 轴的控制。

[0154] 以下描述用于控制示例性微流体设备中的流体流动的磁性柱塞元件阀的实施例。在该实施例中描述了具有非磁性柱塞元件的示例性磁性枢转摇臂阀。图20A和20B示出了可用作微流体设备中的阀的枢转摇臂阀几何形状的两个非限制性实施例的顶视图。在这样的阀中,具有磁性元件2005的摇臂2003绕其轴线2006枢转(或旋转)。当外部磁场2004靠近时,其将吸引摇臂上的磁性元件。这导致柱塞2002向下按压隔膜阀,从而停止流体通过所述通道的流动。图20C示出摇臂2003由磁场启动并且非磁性柱塞2002压下隔膜阀以停止流动的情况。当磁场被去除时,摇臂返回到其原始位置并且可以恢复通道中的流动。

[0155] 参照图21,可以使用如2101中看到的磁性柱塞元件在微流体设备上压下隔膜或夹阀。图21A描述了流动通道打开的情况。在隔膜片2103上看到磁性柱塞元件2102。当外部磁场进入磁性柱塞元件附近时,它将柱塞吸向它,从而压下隔膜阀并阻止在通道中的流动。这在图21B中进行了描述。

[0156] 应用固定到旋转轴的永磁体能够使生物样品(包括但不限于细胞和病毒)混合、均质化和/或机械破碎。在一示例性实施例中,永磁体沿轴向和径向固定在旋转轴的周边上,从而沿旋转轴的长度呈现交替的极性。流体装置或容器包含捕获在其内部的第二永久磁体材料,使得其运动严格限制于一个轴线。当旋转轴放置在流体装置或容器附近时,该容器内的永磁材料经受交替的吸引力和排斥力,导致流体装置或容器内的往复运动和剪切运动。这样的效应可以用来执行包括细胞和病毒的生物样品的混合、均质化和溶解。在该实施例中,流体容器将在其内部包含至少一个永磁体,其运动在垂直于所述轴的旋转轴线的方向上被限制。交变场的频率由所述轴的旋转速度和永磁极在径向方向上的空间分布决定。

[0157] 在另一个实施例中,流体装置/容器内的磁体可以被限制在不同方向上例如平行于旋转轴的轴线的往复运动。另外,完全放弃上述磁体运动限制可能是有利的。在一些实施例中,可以将粒子(诸如由玻璃、二氧化硅、聚合物、金属或其组合制成的珠)放置在容器内-这些粒子将有助于机械破坏流体容器内的生物样品(例如细胞和病毒)。在一个实施例中,永磁体可以直接与流体室中的流体接触,在另一个实施例中,永磁体可以非常接近流体室,例如被单独室中的不可渗透层分隔开,该不可渗透层足够接近能够在流体室中引起振动和涡旋力。这样的系统相对于使用具有交替/开关极性的电磁体的优点包括:它仅需要一个致动器旋转元件(马达轴)以在沿旋转轴的长度间隔开的多个流体室或容器中引起溶解、均化和混合效应。

[0158] 在该系统的另一个实施例中,将试剂挤出RDU中的试剂袋可能是理想的。在需要附加控制试剂流量的情况下,这是特别有利的。图22是该实施例的截面图。在该实施例中,磁性柱塞元件2203被约束成使得其仅能够沿挤压袋所需要的方向上移动,破坏易碎密封件2202并且将试剂分配穿过流体导管并进入微流体设备中。在一些实施例中,在图22A中,磁性柱塞元件可以具有平坦的平面底部表面。在其他实施例中,磁性柱塞元件可以是导致滚动效应的圆柱体。图22B,图22C和图22D示出了RDU中的磁性柱塞元件2203由微流体设备的致动元件中的部分捕获的圆柱形磁体致动,导致试剂袋的挤压,使得易碎密封件破裂,导致稳定的试剂流入微流体设备中的室中。

[0159] 可以使用充气袋来将流体从微流体设备中的一个反应室移动到另一个反应室以推动流体。在一些实施例中,当微流体设备中的反应室被设计成使得它们可以被压缩时,图

22中示出的实施例可用于将流体从一个反应室移动到另一个反应室。尽管有可能爆裂空气填充袋以将试剂推出室,以与填充试剂的方式相同,但在一些实施例中,图22中描述的挤压机构可以用来做这一步。在图23中,在此描述了上述微流体设备,其中反应室被设计成使得它们可以被挤压和压缩成平坦和平面状态。图23A示出了包含用于将试剂挤出袋的部分固定的磁辊的致动元件的顶视图和截面AA视图。图23B示出了在反应室附近具有部分捕获的磁辊的反应袋的顶视图和截面BB视图。当线性致动元件移动时,图23C和23D示出反应室被磁性滚动元件挤压以将其流体分配到下一个室中。

[0160] 本发明的另一方面是用于核酸扩增测试的样品制备的流体装置。流体装置包括两个或更多个流体井,这些流体井构造成使得它们经由主流体导管彼此连接。流体井可以通过入口流体导管分别填充液体试剂。在本发明的一些方面中,入口流体导管连接到流体装置的外部开口,以使流体井能够通过移液或将试剂通过入口流体导管注入到井中而被填充。

[0161] 对于即时护理环境,设施独立系统是有利的,因为它们不需要任何复杂的、用户驱动的移液或注射步骤。因此,在本发明的其他方面,可以将试剂储存在流体装置上的试剂袋中。当在袋上施加足够的压力时,它会爆裂,从而将袋中的内容物分配到导向其预期反应室的流体导管中。所述袋设计成具有与入口流体导管对准的易碎密封件,使得当袋爆裂时,其内容物被迫进入入口流体导管并填充流体井。袋试剂包括但不限于缓冲液、盐、酸、碱、标签、标记、标识物、水、醇、溶剂、蜡、油、气体、凝胶等。

[0162] 每个流体井体积被这样设计,使得其可以仅部分地填充有可混溶的液体试剂,以便不允许每个流体井中的可混溶液体溢出并且通过连接每个流体井的主要流体导管彼此混合。每个流体井的表面可以包含亲水性和疏水性表面,或者可以被改性成亲水性或疏水性的(例如通过亲水性或疏水性涂层)。可以进行亲水改性以提高润湿性并且更好地使液体试剂均匀地填充井,同时可以进行疏水改性以降低润湿性并促进流体填充的流体井之间的固体粒子的平滑转移。

[0163] 含有不混溶液体例如矿物油的试剂袋连接到连接每个井的主流体导管,使得在致动时:1)含有不混溶液体的试剂袋的内容物被释放以在填充到流体井中的液体上形成不混溶的油相;以及2)流体井中的所有可混溶液体按顺序连接以形成流体回路,但是通过油相彼此分离以避免相互混合。主流体导管排出到一个储存器中以收集多余的油。取决于测定要求,可混溶的试剂可以顺序地或并行地分配到它们各自的井中。在已经填充试剂井之后分配不混溶液体,使得主流体导管和部分填充井中的空体积完全充有不可混溶的油相以形成流体回路。

[0164] 尽管可以用由油相分离的缓冲液预先填充流体井,然后密封并储存所述盒供以后使用,但是一些试剂(包括但不限于酶、寡核苷酸、三磷酸脱氧核(糖核)苷(dNTP)和缓冲液)在室温下或长时间以液体形式是不稳定的,因此需要以冻干形式储存并在使用前水合。另外,将样品引入这样的预先填充的系统会带来挑战。所公开的发明提供了一种方法和装置,以解决与微流体设备上的样品处理的样品引入、试剂传送和测定自动化相关的挑战。

[0165] 图24描绘了流体室构造的框图示意图。流体井2407通过进入每个流体井底部的入口流体导管2403连接到一个或多个RDU 2402,该RDU 2402含有可混溶试剂(RDU1,RDU2和RDU3)。流体井体积被设计成使得它们仅被通过入口流体导管进入的可混溶液体试剂2404

部分地填充。在完成流体井的填充后,启动含有不混溶液体的RDU4,并将其内容物通过主流体导管2401分配到流体装置中。不混溶液体的非限制性示例是油2406,其填充主流体导管和流体井中的空的体积,从而形成流体路径,同时在流体井中的可混溶液体之间形成屏障,从而防止它们混合在一起。选择用于关闭流体回路的不混溶液体,使得它与可混溶液体试剂具有最小或不具有反应性。多余的油收集在储存器2405中。该油还用作防止在核酸扩增或可能需要加热的其他测定步骤期间蒸发的蒸汽屏障。

[0166] 所产生的流体回路具有用于使用磁珠进行固相捕获而自动化样品制备步骤的优点,因为所述珠可以随着磁体移动通过油相移动到含有不同样品处理试剂的流体井中。作为示例,可以使用用于核酸纯化的溶解、结合、清洗和洗脱缓冲液填充所述井,并且通过油相分离。磁珠可以通过油相以预定顺序移入不同的井中,从而完成用于核酸纯化的样品制备步骤。这使得微流体设备上的样品处理步骤的自动化变得容易。

[0167] 在另一个实施例中,微流体盒上的流体井和主流体导管可以用油完全预先填充。在使用微流体设备期间,储存在试剂袋中的可混溶的液体试剂被分配到微流体盒上的期望的流体井中,从而排出过量的油,其然后收集在过量的油储存器2405中。

[0168] 生物样品制备中经常使用磁珠来提取、分离和纯化生物样品中的核酸、蛋白质、生物分子和细胞。基于磁珠的固相提取的主要优点是易于自动化,因为不需要离心或真空歧管。在优化的条件下,DNA选择性地结合到磁珠的功能表面,而其他污染物保留在溶液中。可以使用外部磁场将珠捕获到位,并且可以通过用污染物吸出溶液并在清洗缓冲液中清洗珠来去除污染物。然后将纯化的DNA洗脱出所需体积并直接用于分子生物学应用。

[0169] 所公开的本发明描述了用于基于磁珠的样品制备的方法和设备,其包括流体芯片,该流体芯片包括具有用于制备样品的可混溶液体试剂的一系列流体井,其被不可混溶的油相分离;以及具有一个或多个空间取向的永久磁体固定在其上的顶部和底部致动器元件,这取决于所需的流体井的数量和再悬浮步骤。顶部和底部致动器上的永磁体被布置成使得它们可以在单个连续运动中:1)重新悬浮磁珠;和2)以预定顺序在流体井之间移动磁珠。

[0170] 流体井被设计为使得它们具有周期性隔开的顶部和底部挡板或障碍物,它们充当物理屏障以将珠限制在井的顶部或底部上的固定位置,并防止所述珠进一步在致动器元件上在永磁体的方向上移动。在一些实施例中,流体井的壁可以用作挡板或物理屏障以限制珠运动到预定路径。当井的相反面上的磁体进入磁珠附近时,它们被吸引到磁体上,导致它们通过存在于流体井中的液体试剂或缓冲液重新悬浮。不混溶油相作用以完成一流体路径,以便所述珠可以重新悬浮并通过充满油的主流体导管移动穿过一系列油井中的不同试剂,以便完成样品到回答序列。本发明是有利的,因为它能够仅采用单个连续运动和永磁体来完成样品到回答序列,因此降低了用于样品到回答自动化的复杂性和功率负担。

[0171] 在一些实施例中,可以使用伺服马达或步进马达来移动致动器元件或微流体设备。在一些实施例中,机械卷绕弹簧机构可以用于产生运动。机械卷绕弹簧还有一个额外的优点,即完全无电,不需要电能就能自动完成序列。在一些实施例中,致动器元件可以由用户的手指手动驱动。

[0172] 参照图25A,示出了用于基于磁珠的样品制备的示例性微流体盒的示意图,其包括流体井、流体导管、储存的液体试剂储存器和阀。微流体盒夹在顶部和底部致动器元件之

间,致动器元件包括永磁体和突出部或突起。永磁体和突起在空间上布置为使得它们随着微流体盒紧邻致动器元件旋转而根据它们的致动器元件的位置和速度以精确定时执行测定自动化序列的不同步骤。可以执行的测定步骤包括将储存的试剂分配到流体井中、打开和关闭阀以控制流体流动的方向、打开和关闭通风口、捕获,重新悬浮以及在孔之间移动磁珠。如图25B和25C所看到的,充满油的流体导管2505,通过该流体导管,磁珠能够依次进入微流体设备上的多个试剂填充的流体井2506,交替地偏移,使得井的壁充当物理屏障以将珠限制到期望的井。旋转致动器元件上的永磁体也偏移,以便沿着旋转路径捕获并重新悬挂在充满多个试剂的流体井中的珠。

[0173] 作为示例,可以使用集成加热器在微流体设备上执行等温核酸扩增测试 (NAAT),例如环介导等温扩增 (LAMP)。流体井可以充满缓冲液用于结合、清洗和洗脱。具有磁珠的电荷S可用于核酸提取和纯化。用于LAMP的冻干试剂可储存在指定用于扩增的流体井中的微流体盒上。磁珠可以储存在指定用于结合的井中的微流体盒上。

[0174] 当微流体盒在顶部和底部致动器元件之间旋转时,用于执行NAAT的操作顺序可以如下:1) 通过打开阀将溶解液引入第一“结合”孔;2) 将结合,清洗1,清洗2和洗脱缓冲液分别分配到微流体盒上的第一,第二,第三和第四井中;3) 填充矿物油使其覆盖所述井中的试剂并形成连续的流体回路,磁珠可以通过该流体回路在井之间行进;4) 将磁珠依次捕获,重新悬浮并通过顶部油导管移入四个井中;5) 通过打开一阀,将洗脱井中洗脱的DNA计量加入含有冻干主混合物的第五个LAMP扩增井中,从而使试剂保湿;以及6) 其中一个致动器元件上的加热器与LAMP扩增室接触以将其加热到期望的温度达所需的时间量。

[0175] 25B和图25C更详细地描述了在所公开的本发明中实现流体井之间的磁珠捕获,再悬浮和行进以完成样品制备的原理。顶部致动器元件2502具有标记为1,3和5的空间取向永久磁体2507,并且底部致动器元件2504具有标记为2,4和6的空间取向永久磁体。在该实施例中,微流体盒2503在固定顶部致动器元件2502和底部致动器元件2504之间逆时针旋转。微流体盒旋转到“结合”井位于顶部永磁体“1”下方的位置,从而使磁珠被吸引到它并且捕获在“结合”井的顶部。微流体盒继续旋转并通过连接油填充流体导管将珠移动到标记为“清洗”的下一个井中。“清洗”井的侧壁沿着磁珠的路径起到物理屏障的作用,当永磁体“1”移开时,其限制了在清洗井顶部的油中的珠,使得其力不再被珠感觉到。当微流体盒继续旋转时,它会到达其中第一个“清洗”井在底部致动器元件上标记为“2”的永磁体顶部上的位置,这导致第一清洗井顶部的珠被吸引到永磁体“2”并被重新悬浮并捕获在“清洗”井的底部的清洗缓冲液中,以类似的方式,磁珠被磁体3,4,5重新悬浮,捕获并移动,直到它们到达“洗脱”井,其中珠上的核酸被洗脱到存在于“洗脱”井的底部的缓冲溶液中。

[0176] 参照图26A至图26I,示出了微流体盒相对于致动器元件的位置的不同情况,以说明使用线性致动在流体井之间的磁珠捕获,再悬浮和行进的原理。致动器元件包括顶部和底部永磁体。图26A示出了磁场范围内没有井的起始位置。在图26B处,第一顶部永磁体靠近第一井,由此捕获存在于主流体导管中的油中的磁珠。捕获的磁珠通过主流体导管移动到第二井,如图26C中看到的。

[0177] 这里,第二流体井的壁阻碍了它们的路径,并且它们仍然被约束在第二流体井中。图26D示出了第一底部永磁体靠近第二流体井的位置,由此将珠吸引到流体井的底部,在那里它被重新悬浮在存在于流体井中的缓冲试剂中。图26E示出了第二顶部永磁体靠近第二

井并且将珠通过主流体导管拖曳到第三流体井中的位置。图26F示出了由于其侧壁充当挡板而约束到第三流体井的珠。在图26G中,第二底部永磁体靠近第三井并将珠吸引到井的底部,从而将它们重新悬浮在存在于底部的缓冲液中。在图26H中,珠被第三顶部永磁体吸引到顶部,并通过主要流体导管转移到第四流体井。在图26I中,第三底部永磁体将珠吸引到第四流体井的底部,从而将珠重新悬浮在存在于第四流体井中的缓冲液中。

[0178] 永磁体可以用电磁体代替,如图27所示。微流体盒在包括电磁体的致动器元件之间移动。顶部或底部电磁体可以按顺序打开或关闭,以便于磁珠在不同流体井2703之间移动和重新悬浮。图27表示磁珠通过样品处理序列的不同情况。在图27A中所示的情况下,电磁体EM12701被开启以捕获油相2702中的珠。当EM1保持ON时,珠移动通过油相,如图27B所示的情况下看到的。在图27C中的情况下,EM1被关闭并且EM2 2704被开启。这导致珠被吸向EM2,导致珠重新悬浮在其流体井中的试剂2703中。当珠准备好移动到下一个流体井时,EM1被重新开启,从而将珠朝向它吸引而到油相中。在图27D中所示的情况下,珠移动到下一个填充试剂的流体井的上方。然后EM1被关闭并且EM2被开启,导致珠在被EM2捕获之前通过填充在流体井中的试剂重新悬浮,如图27E中所示的。最后,在图27F和27G中,通过选择性地以期望的时序顺序开启和关闭EM1或EM2,珠移动并重新悬浮通过最后的流体井。顶部和底部电磁体可以交替产生脉冲,以实现珠在反应井中的混合和重新悬浮。尽管可以使用电磁体代替永磁体和挡板,但它们需要电源和电子控制器来接通和断开,从而使使用仪器的要求变得更加复杂。因此,它不像使用永磁体那样吸引人,特别是在即时护理和资源不足环境下。

[0179] 所公开的本发明描述了用于微流体盒上的流体处理的方法和装置。微流体设备包括具有易碎密封件的一个或多个储存的试剂填充袋,以及致动器元件,该致动器元件包括一个或多个空间取向的突起,以便当所述盒在致动器元件之间滑动时将试剂以预定顺序分配到流体盒的井中。

[0180] 参照图28,其是用于使用磁珠进行样品制备的顺序试剂输送的微流体盒和致动器元件的透视图。微流体盒具有在板上存储在试剂袋2803中的试剂,所述试剂袋2803用易碎密封件密封,使得当施加力时,密封件打破并通过流体导管将试剂释放到微流体盒中的井中。试剂袋被空间取向为使得当微流体盒与致动器元件配合并在其间从一端滑动到另一端滑动时,袋被挤压以顺序输送试剂。流体井具有一个或多个顶部挡板2804和底部挡板2802,其用于将珠限制在井中。致动器元件在其上具有一个或多个机械元件(例如,突起,柱塞等)2806,其布置成使得它起到挤压试剂袋并将它们的试剂分配到微流体盒中的井中的作用。机械元件被设计成使得它们可以在整个样品到回答序列中保持试剂袋被挤压以防止回流。在一些实施例中,机械元件可用于以预定顺序打开和关闭微流体盒上的夹紧式阀,以便控制微流体盒上的流体流动方向或打开或关闭通气孔。致动器元件也可以在其上具有一个或多个固定磁体。如图28中看到的,致动器元件具有顶部磁体2805和底部磁体2807,它们在空间上布置为使得它们捕获,重新悬浮并将磁珠移动到不同的流体井中以完成样品制备序列。

[0181] 在一些实施例中,珠可以直接转移到LAMP或其他NAAT扩增系统中并直接在该系统中洗脱。这使得所有捕获的核酸能够被输入到NAAT扩增系统中。图29描述了在流体井中使用突起作为挡板以便当磁体继续沿着运动路径移动时将珠限制在井中的原理。流体井在顶

部2902上具有突起,当磁体沿着其运动路径继续移动时,该突起用于限制珠。试剂2908在图29所示的横截面示意性微流体设备中由不混溶的油相2904分开。顶部固定磁体2905和底部固定磁体2907分别存在于微流体设备的顶部和底部致动器元件上。当顶部固定磁体2905靠近如图29A中看到的第一流体井时,存在于其上的磁珠被吸引到磁体并被捕获在油相中的顶部。当微流体盒继续在致动器元件之间移动时,珠如29B中看到的移动通过流体导管并进入第二流体井。在此,当微流体设备继续移出如图29C中看到的顶部磁体的磁场时,突起2902起到将珠约束至第二孔的作用。然后,当底部磁体接近流体井时,如图29D中看到的,约束在油相中的磁珠然后可以移动通过井的底部处的可混溶试剂。这里,在顶部捕获的磁珠被吸引到底部磁体2907,因此被重新悬浮并移动通过存在于流体井底部处的试剂。在图29E中,当侧壁用作挡板时,磁珠被捕获在井的底部,以防止珠移出井。该方法可以用于使用空间取向的挡板和永磁体在微流体设备上的室或井之间移动磁珠以进行样品处理。

[0182] 在一个实施例中,具有中空通道或针的刺血针可由致动元件致动以刺穿扩增室的壁并将流体转移到侧流条以进行检测。图30描述了将含有待检测分析物的液体产品从流体井3002移动到侧向流动条3003的原理。图30A示出了在致动之前具有中空通道3004的刺血针3005。图30B示出了致动之后的中空刺血针,在那里它刺穿侧向流动条和流体井的底部,从而形成用于流体流动到侧向流动条的导管。

[0183] 取决于应用和用户需求,样品处理系统可以集成马达、致动器、加热元件、热电偶、风扇、冷却单元、微控制器、光学检测器、电极、过滤器、光源、电池组,无线模块和电子设备使得它形成了单个的、设施独立的、自给自足的用于进行生物样品处理的集成系统。试剂袋、储存器和反应室的体积可以根据生物测定和用户的需要而变化。典型的体积范围可以从1 μ l到10ml或从5 μ l到1ml。微流体设备有许多合适的材料,例如玻璃、聚碳酸酯、PMMA、COC、硅或一种或多种材料的组合。微流体设备可以用集成的硅或玻璃MEMS功能化电极阵列或微阵列或用于检测的侧向流动条的聚合物注射模制的。基于其生物相容性和化学相容性,可以基于用户的要求和对其进行的测定来选择材料。根据用户要求和样品处理应用,微流体设备的覆盖区范围可以从几平方毫米到几十平方厘米。在一些实施例中,多个微流体设备可以被堆叠或布置并且并行处理。样品处理系统中的磁体的拉力、形状和尺寸将根据样品处理需求、形状、尺寸、体积、材料特性和易碎密封件的破裂压力来选择。易碎密封材料包括铝箔、聚合物、橡胶、金属、胶带、金属氧化物或材料的组合。

[0184] 一般限定

[0185] 尽管在此使用了特定的术语,但它们仅用于一般性和描述性的意义,而不是为了限制的目的。除非另外限定,否则在此使用的所有技术和科学术语具有与由目前描述的主题所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。

[0186] 如在此所用的“核酸”是指包含共价连接的称为核苷酸的亚单位的聚合化合物。“核苷酸”是大核酸分子中的分子或单个单位,其包含连接至磷酸基团的核苷(即,包含与糖连接的嘌呤或嘧啶碱基的化合物,通常为核糖或脱氧核糖)。“多核苷酸”或“寡核苷酸”或“核酸分子”在在此中可互换使用以表示核糖核苷(腺苷,鸟苷,尿苷或胞苷;“RNA分子”或简称为“RNA”)或脱氧核糖核苷(脱氧腺苷,脱氧鸟苷,脱氧胸苷或脱氧胞苷;“DNA分子”或简称为“DNA”)的磷酸酯聚合物形式,或其任何磷酸酯类似物,如硫代磷酸酯和硫酯,为单链或双链形式。

[0187] 包含任何长度的RNA、DNA或RNA/DNA杂合序列的多核苷酸都是可能的。用于本发明的多核苷酸可以是天然存在的、合成的、重组的、离体生成的或其组合,并且还可以利用本领域已知的任何纯化方法进行纯化。因此,术语“DNA”包括但不限于基因组DNA、质粒DNA、合成DNA、半合成DNA、互补DNA(“cDNA”;由信使RNA模板合成的DNA),以及重组DNA(人为地设计并因此经历了来自其天然核苷酸序列的分子生物学操作的DNA)。

[0188] “扩增化”,“扩增”,“核酸扩增”等是指产生核酸模板(例如,模板DNA分子)的多个拷贝或者产生与核酸模板(例如,模板DNA分子)互补的多个核酸序列拷贝。

[0189] 术语“顶部”、“底部”、“之上(over)”、“之下”和“在…上(on)”在整个说明书中参照所描述的设备的部件的相对位置使用,例如顶部和底部基板在设备内的相对位置。将认识到,无论它们在空间中的取向如何,这些设备都是有功能的。

[0190] 关于液滴致动器上的珠的“珠”是指能够与液滴致动器上或其附近的液滴相互作用的任何珠或粒子。珠可以是多种形状中的任何一种,例如球形、大致球形、蛋形、盘形、立方形、无定形和其他三维形状。珠可以例如能够在液滴致动器上经液滴中的液滴操作,或者以允许液滴致动器上的液滴与液滴致动器上的珠或从液滴致动器上滴下的珠进行接触的方式相对于液滴致动器另外构造。可以在液滴中、在液滴操作间隙中或在液滴操作表面上提供珠。珠可以提供在位于液滴操作间隙之外或位于与液滴操作表面分开的储存器中,并且储存器可以与允许包括珠的液滴进入液滴操作间隙中或与液滴操作表面接触的流动路径相关联。珠可以使用各种各样的材料制造,包括例如树脂和聚合物。珠可以是任何合适的尺寸,包括例如微珠、微米粒子、纳米珠和纳米粒子。在一些情况下,珠是磁性响应的;在其他情况下,珠不是明显地磁响应性的。对于磁响应珠,磁响应材料可以构成基本上全部的珠、珠的一部分或仅珠的一个组分。尤其是珠的其余部分可以包括允许附着测定试剂的聚合物材料、涂层和组成部分。合适珠的示例包括流式细胞术微珠、聚苯乙烯微粒和纳米粒子、官能化聚苯乙烯微粒和纳米粒子、涂覆聚苯乙烯微粒和纳米粒子、二氧化硅微珠、荧光微球和纳米球、官能化荧光微球和纳米球、涂覆荧光微球和纳米球、染色微粒和纳米粒子、磁性微粒和纳米粒子、超顺磁性微粒和纳米粒子(例如可得自加利福尼亚州卡尔斯巴德的Invitrogen Group的DYNABEADS®粒子)、荧光微粒和纳米粒子、涂覆的磁性微粒和纳米粒子、铁磁微粒和纳米粒子、涂覆的铁磁微粒和纳米粒子。珠可以与生物分子或能够结合到生物分子并与生物分子形成复合物的其他物质预先结合。珠可以与抗体、蛋白质或抗原、DNA/RNA探针或对期望目标具有亲和力的任何其他分子预先结合。

[0191] 关于磁性响应珠的“固定”意味着珠基本上被限制在液滴致动器上的液滴或填充液中的适当位置。例如,在一个实施例中,固定珠充分限制在液滴中的合适位置以允许执行液滴分裂操作,产生基本上具有全部珠的一个液滴和基本上缺乏珠的一个液滴。

[0192] “磁响应”意味着响应于磁场。“磁响应珠”包括或由磁响应材料组成。磁响应材料的示例包括顺磁材料、铁磁材料、亚铁磁材料和超磁材料。合适的顺磁材料的示例包括铁、镍和钴以及金属氧化物,例如Fe₃O₄、BaFe₁₂O₁₉、CoO、NiO、Mn₂O₃、Cr₂O₃和CoMnP。

[0193] 当任何形式的液体(例如,液滴或连续体,无论是移动的还是静止的)被描述为在电极、阵列、基质或表面“上”、“处”或“之上”时,这样的液体可以是或者与电极/阵列/基质/表面直接接触,或者可以与介于液体和电极/阵列/基质/表面之间的一个或多个层或膜接触。在一个示例中,填充液可被认为是这样的液体与电极/阵列/基质/表面之间的膜。

[0194] 根据长期的专利法公约,术语“a”,“an”和“the”在本申请(包括权利要求)中使用时指“一个或多个”。因此,例如,除非上下文明显相反(例如,多个主题),否则对“主题”的引用包括多个主题等。

[0195] 在整个说明书和权利要求书中,除非上下文另有要求,否则术语“包括(comprise)”,“包括(comprises)”和“包括(comprising)”以非排他性的含义使用。同样,术语“包含(include)”及其语法变体意图是非限制性的,使得列表中的项目的叙述不是排除可被替换或添加到所列项目的其他类似项目。

[0196] 为了本说明书和所附权利要求的目的,除非另有说明,否则在说明书和权利要求书中使用的所有表示数量、尺寸、尺度、比例、形状、配方、参数、百分比、参数、量、特性和其他数值的数字,应理解为在所有情况下均由术语“约”修饰,尽管术语“约”可能不明确地与该值、量或范围一起出现。因此,除非有相反指示,否则在下面的说明书和所附权利要求书中阐述的数字参数不是且不必是精确的,但是可以根据需要近似和/或更大或更小,反映公差,转换因子,舍入,测量误差等,以及本领域技术人员已知的其他因素,这取决于本公开主题试图获得的期望性质。例如,术语“约”在提到数值时可以意味着涵盖与指定量的在一些实施例中 $\pm 100\%$ 、在一些实施例中 $\pm 50\%$ 、在一些实施例中 $\pm 20\%$ 、在一些实施例中 $\pm 10\%$ 、在一些实施例中 $\pm 5\%$ 、在一些实施例中 $\pm 1\%$ 、在一些实施例中 $\pm 0.5\%$ 并且在一些实施示例中 $\pm 0.1\%$ 的变化,因为这样的变化适合于执行所公开的方法或采用所公开的组合物。

[0197] 此外,当与一个或多个数字或数字范围结合使用时,术语“约”应理解为指所有这样的数字,包括范围内的所有数字,并通过将边界扩展到所述数字值之上和之下来修改该范围。通过端点的数值范围的叙述包括包含在该范围内的所有数字,例如整数,包括其分数(例如,1至5的叙述包括1,2,3,4和5以及其分数例如1.5,2.25,3.75,4.1等)以及该范围内的任何范围。

[0198] 说明书中提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献指示了本公开主题所属领域的技术人员的水平。所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献在此通过引用并入在此,其程度如同每个单独的出版物、专利申请、专利和其他参考文献被具体地和单独地指出通过引用并入。应该理解的是,虽然在此提及了许多专利申请、专利和其他参考文献,但是这样的参考文献并不构成承认这些文献中的任何文献构成本领域公知常识的一部分。

[0199] 虽然为了清楚理解的目的已经通过举例说明和示例详细描述了前述主题,但是本领域技术人员将会理解到,可以在所附权利要求的范围内实施某些改变和修改。

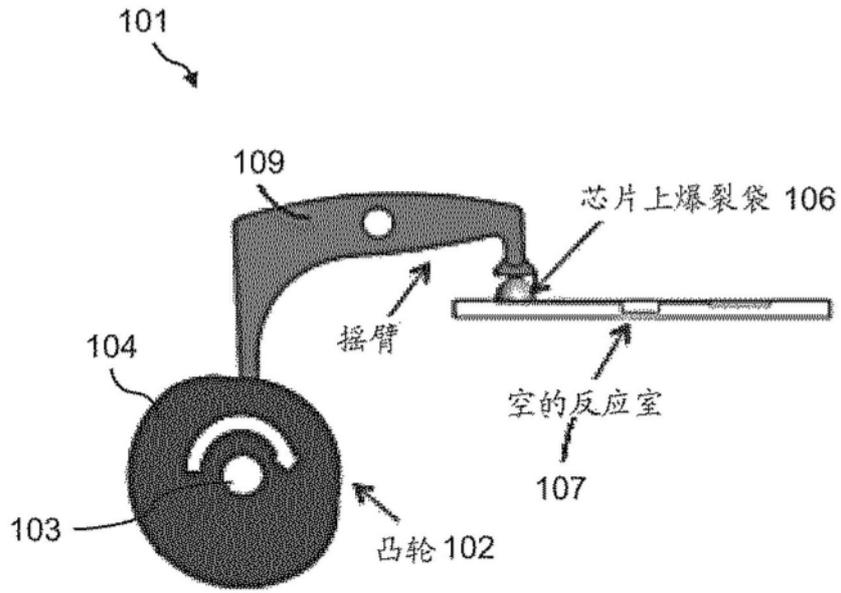


图1A

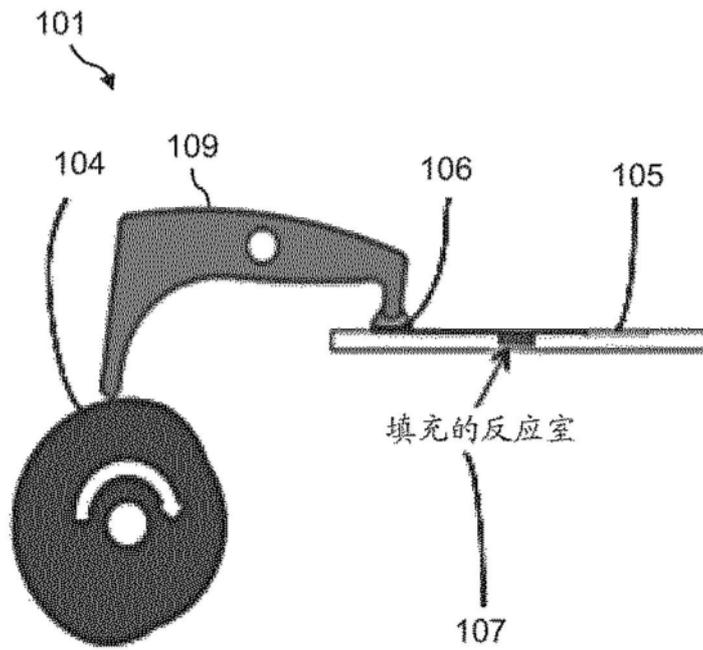


图1B

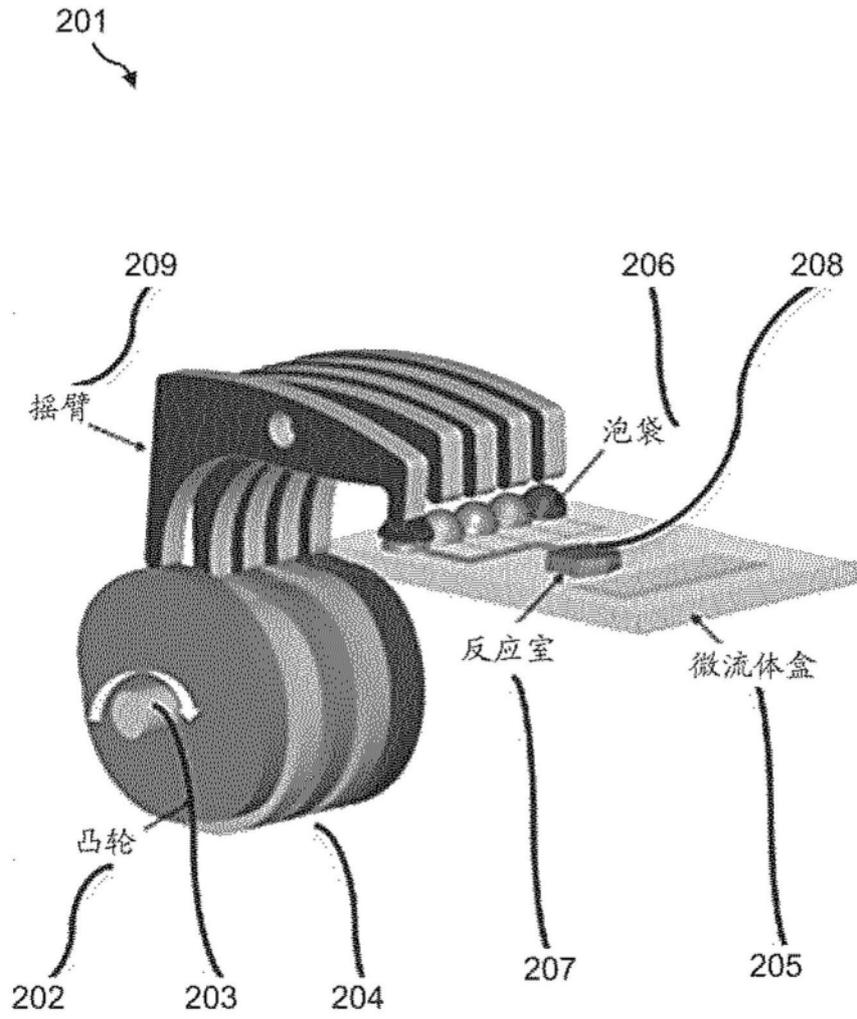


图2

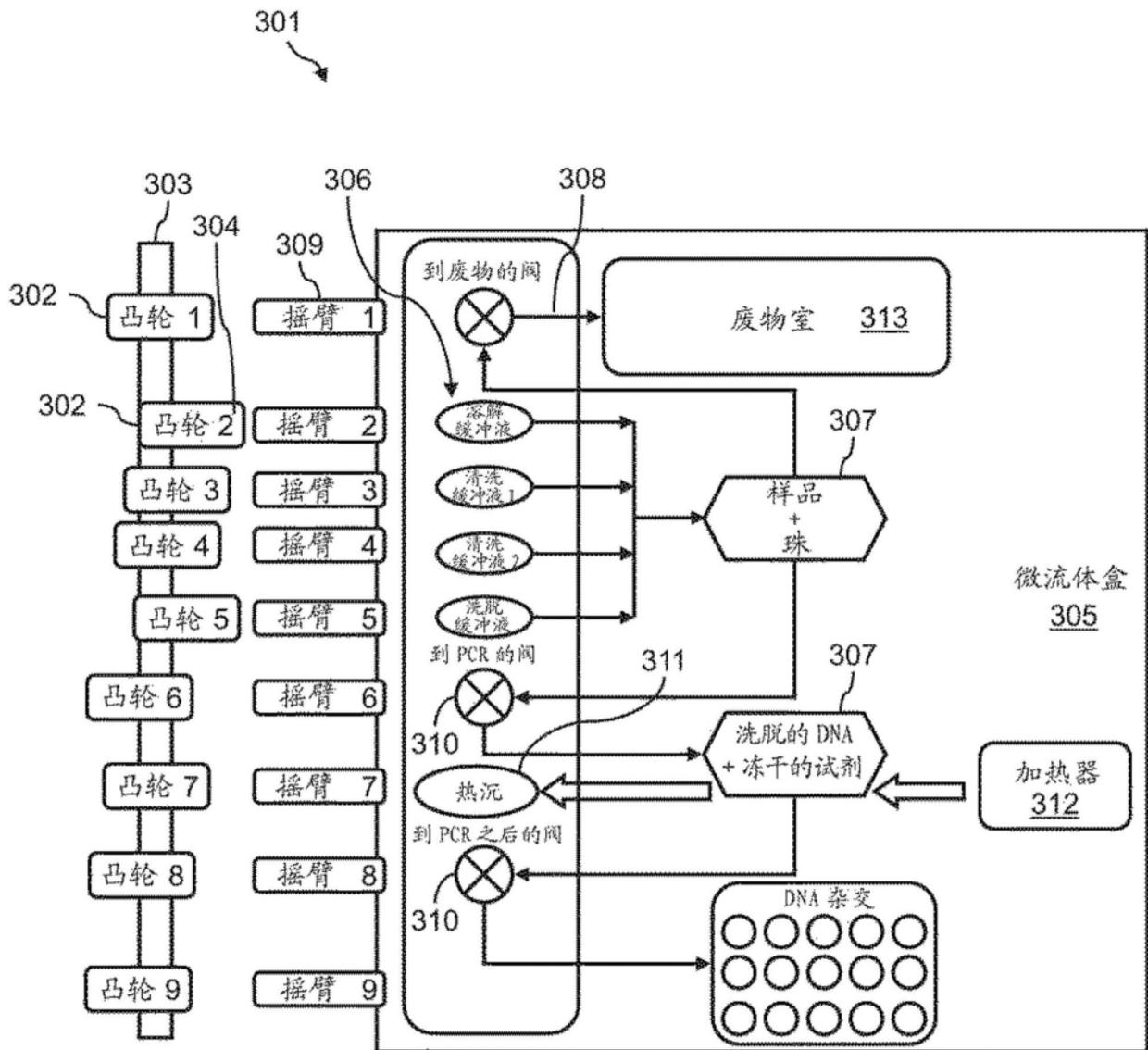


图3

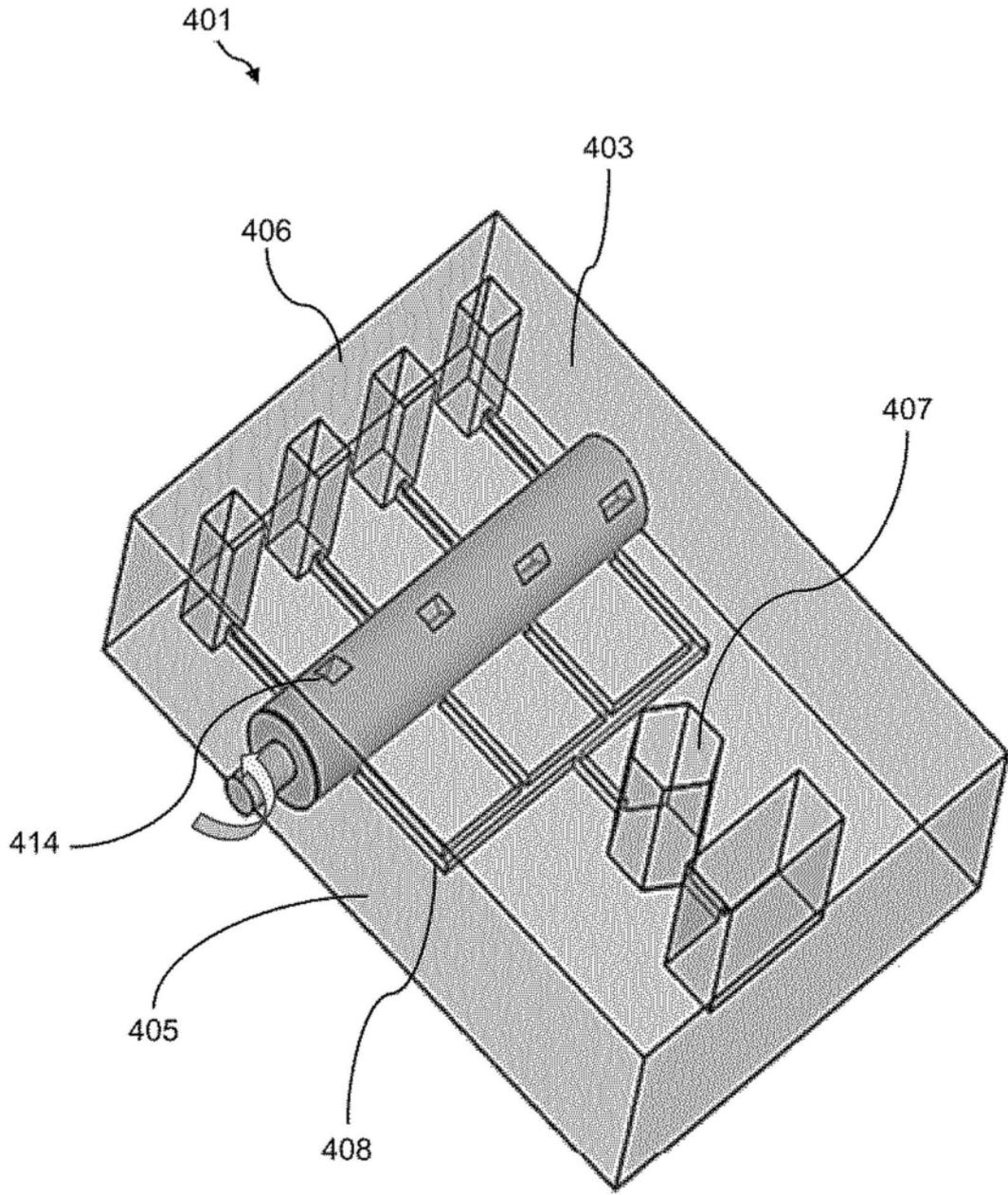


图4

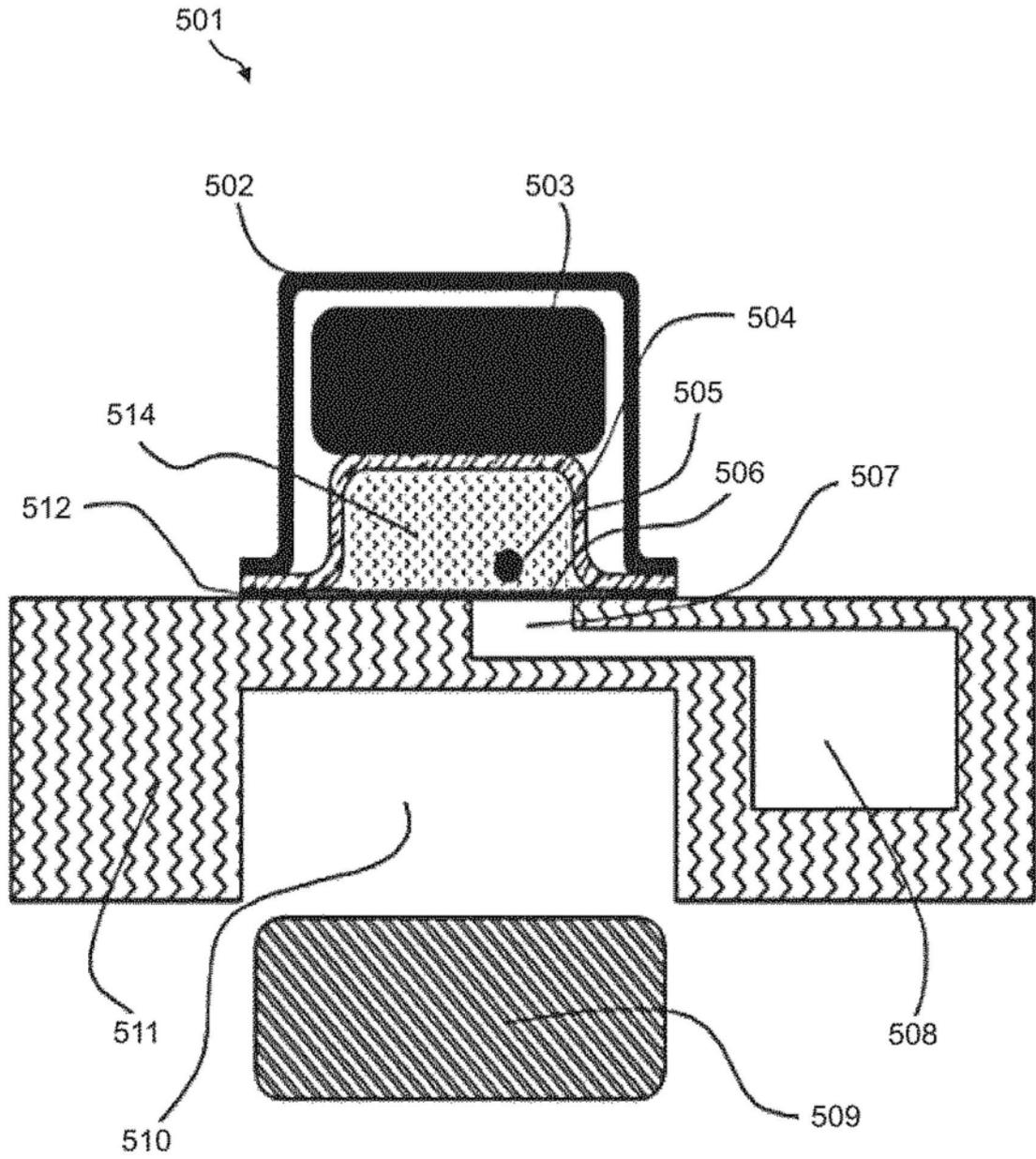


图5A

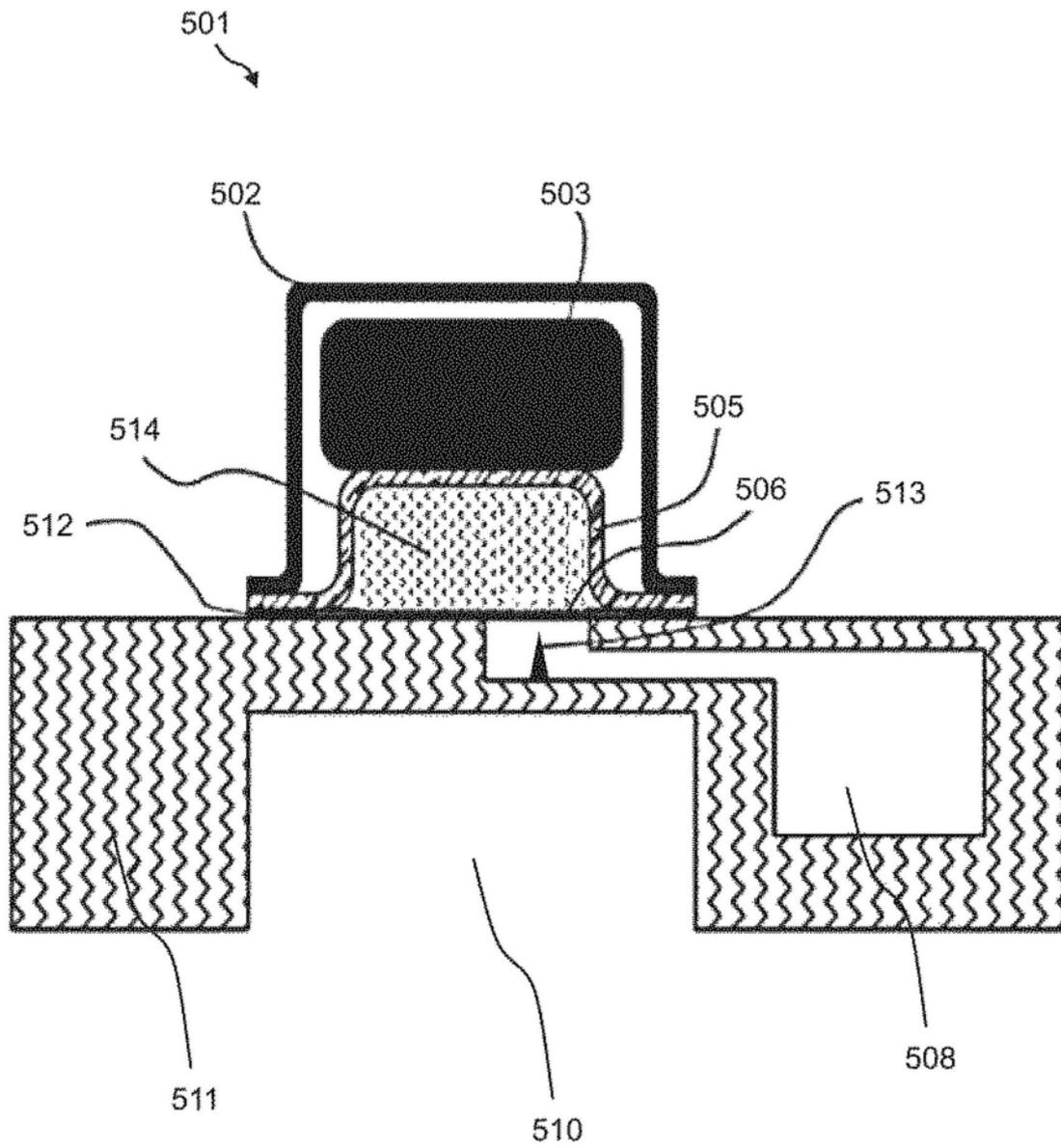


图5B

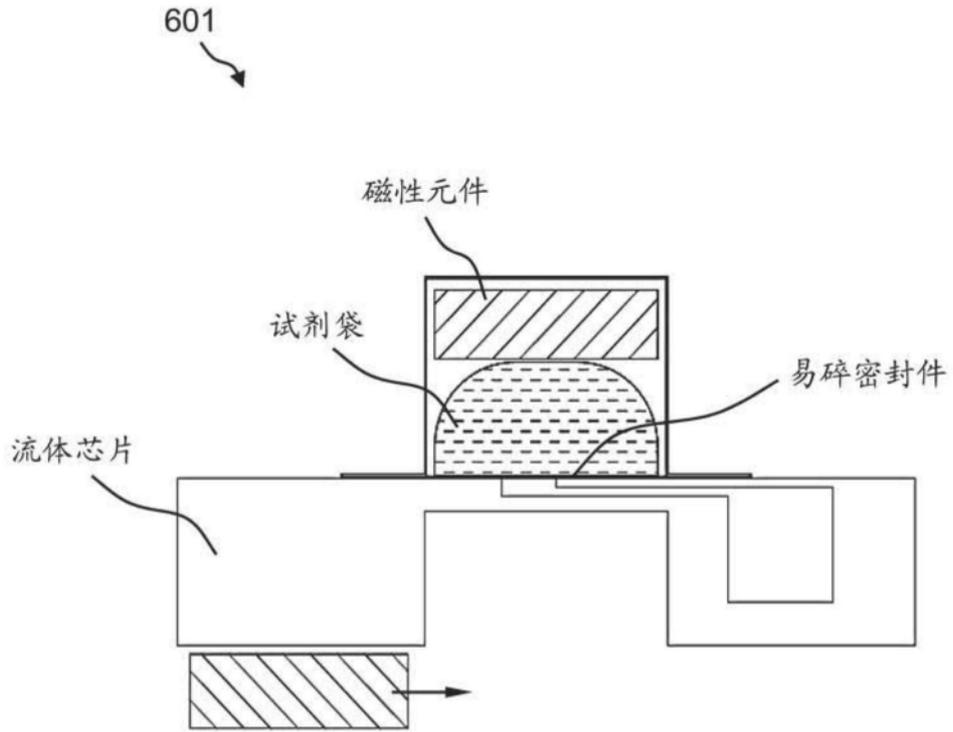


图6A

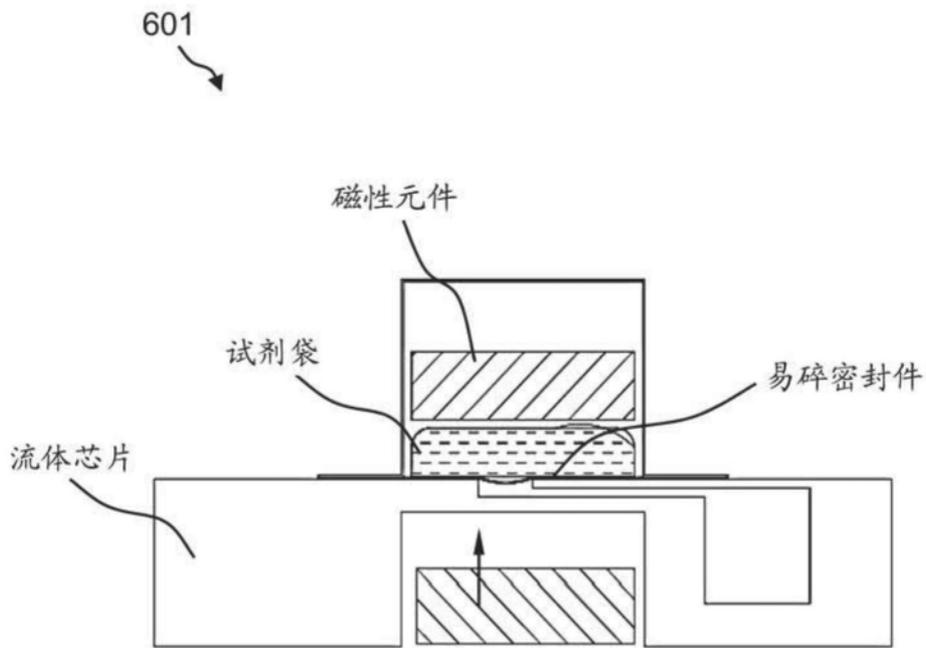


图6B

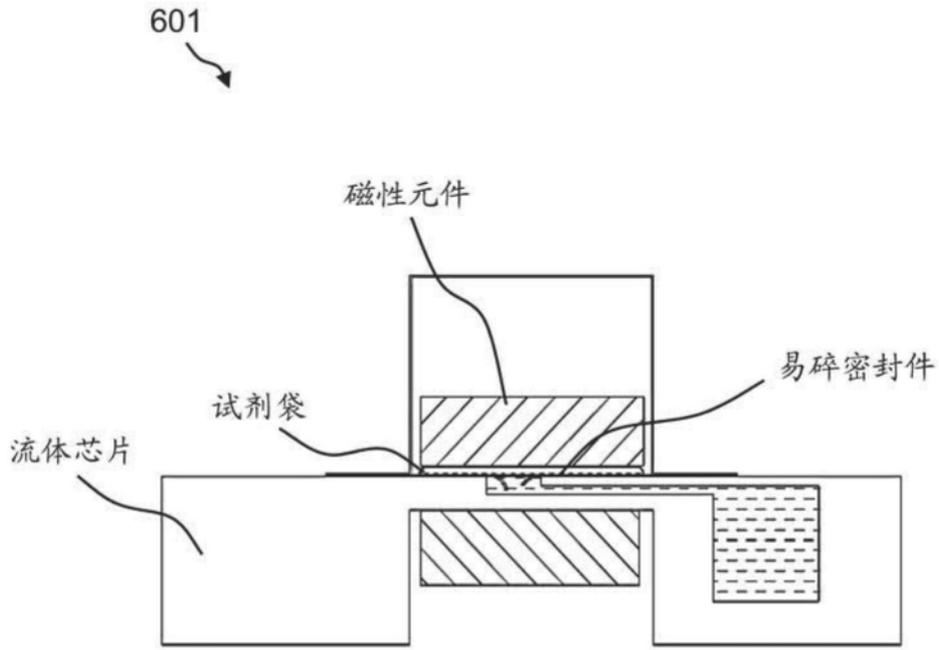


图6C

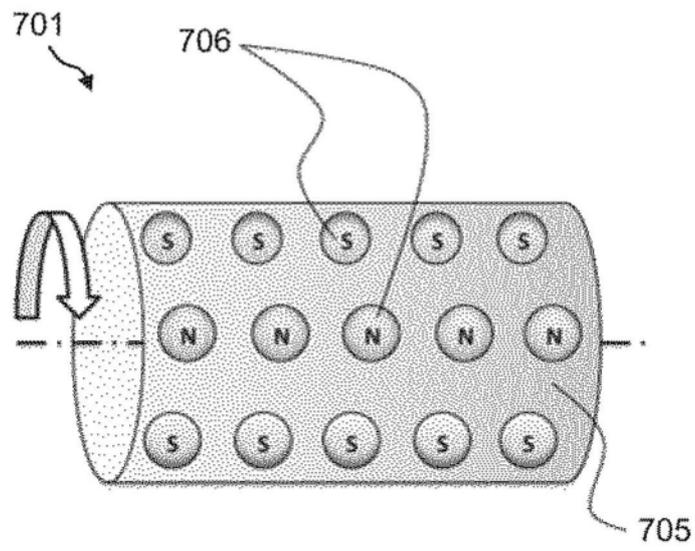


图7A

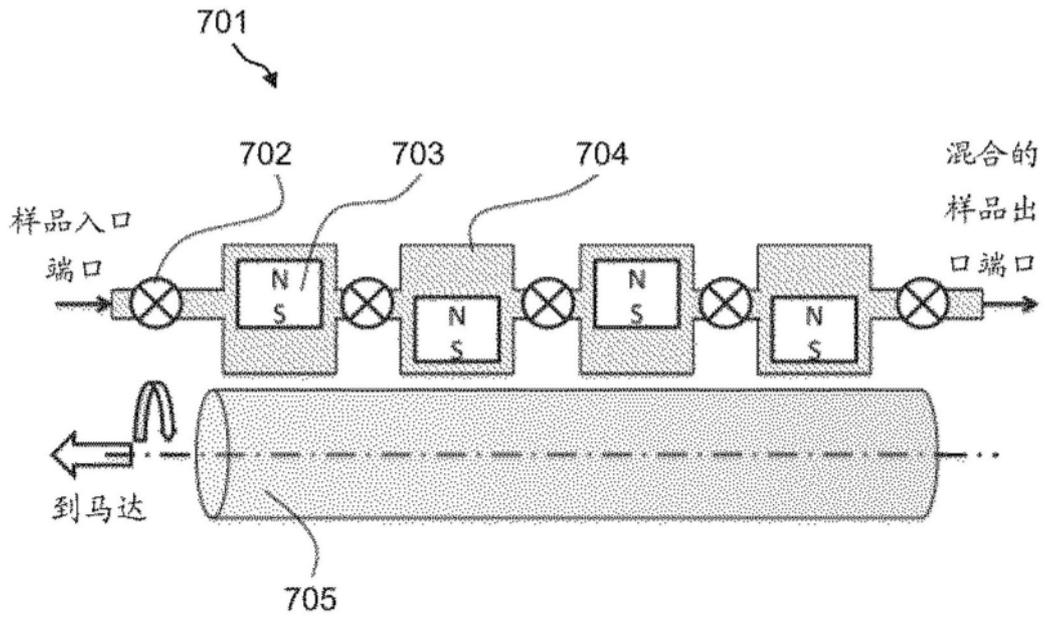


图7B

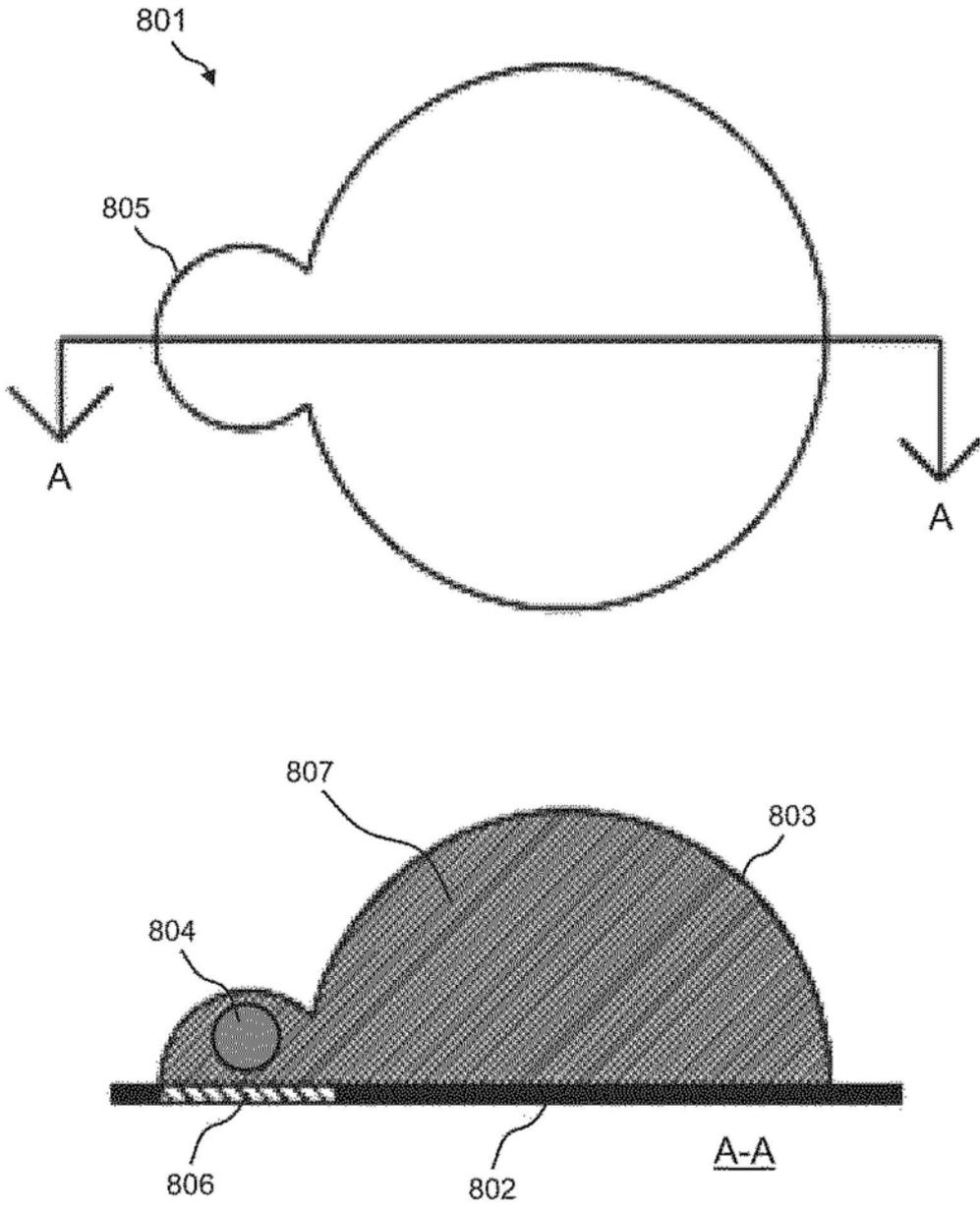
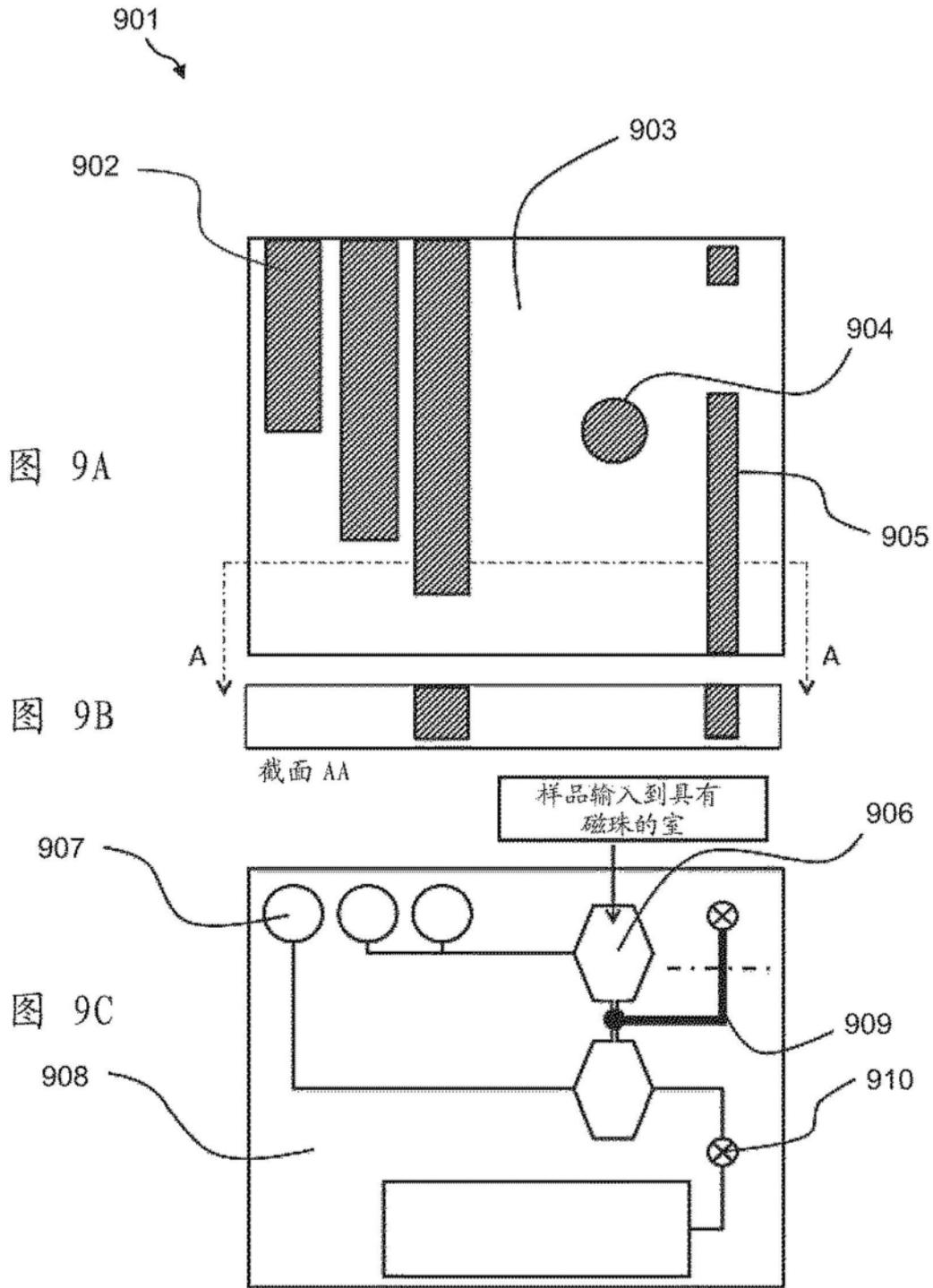


图8



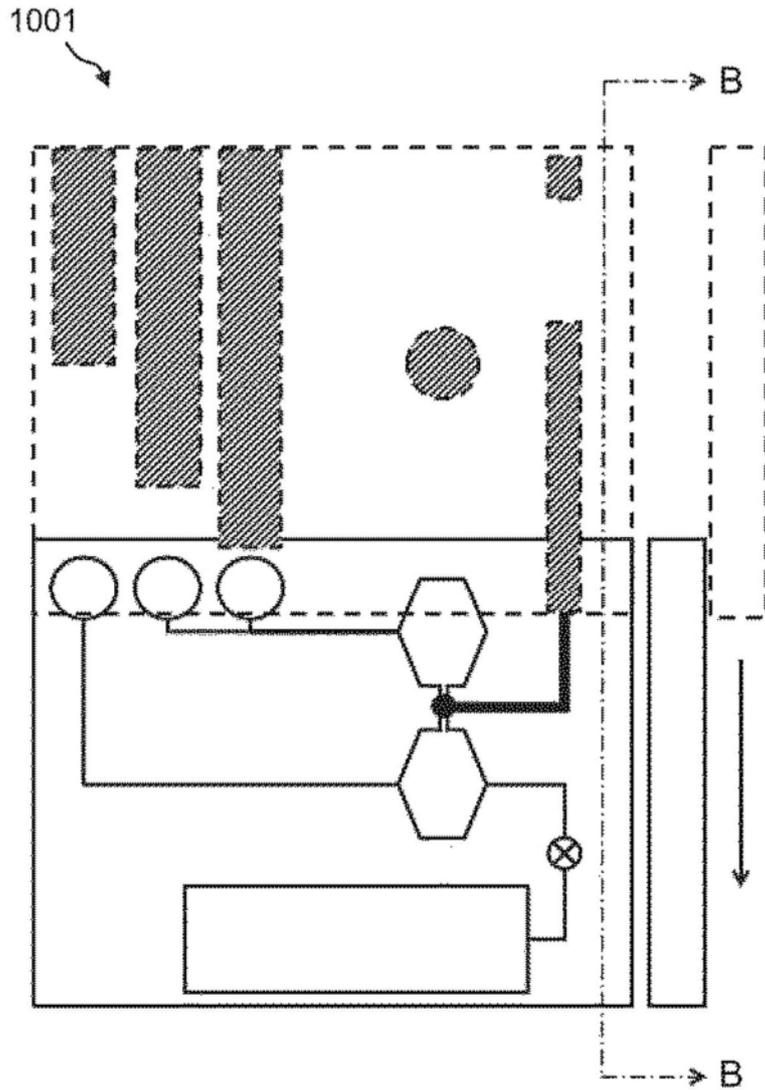


图10A

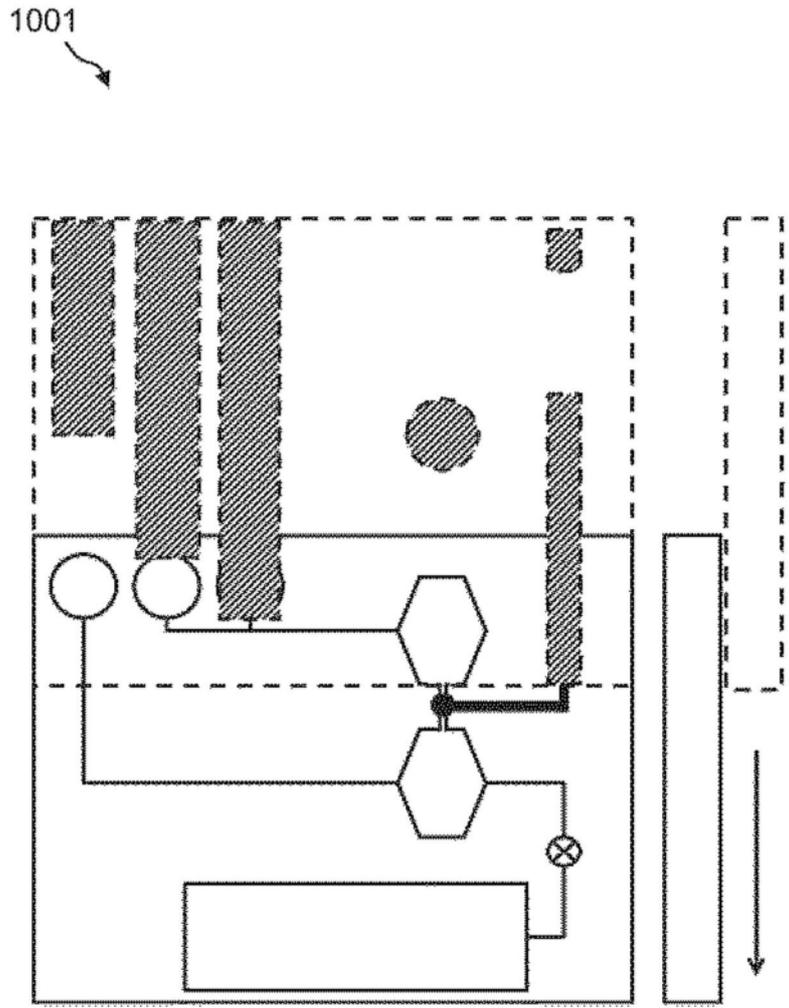


图10B

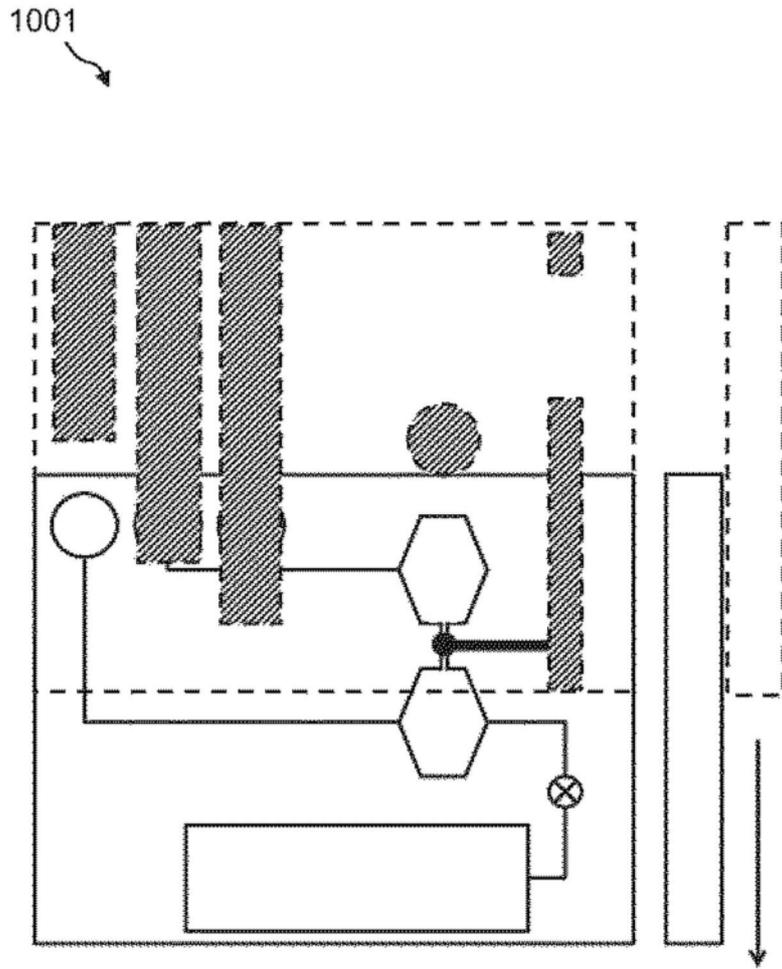


图10C

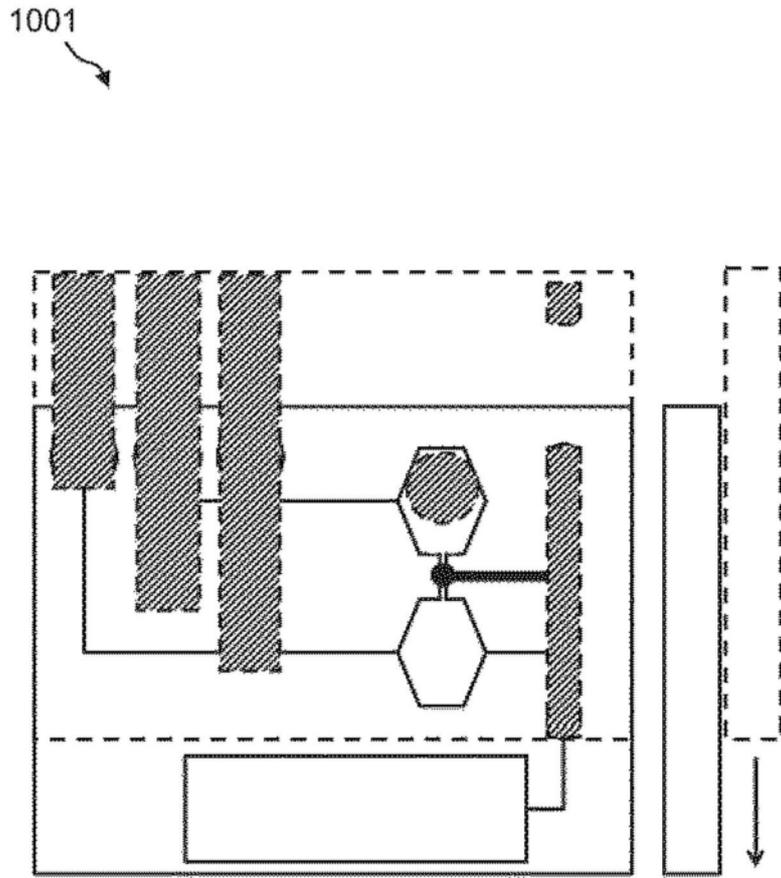


图10D

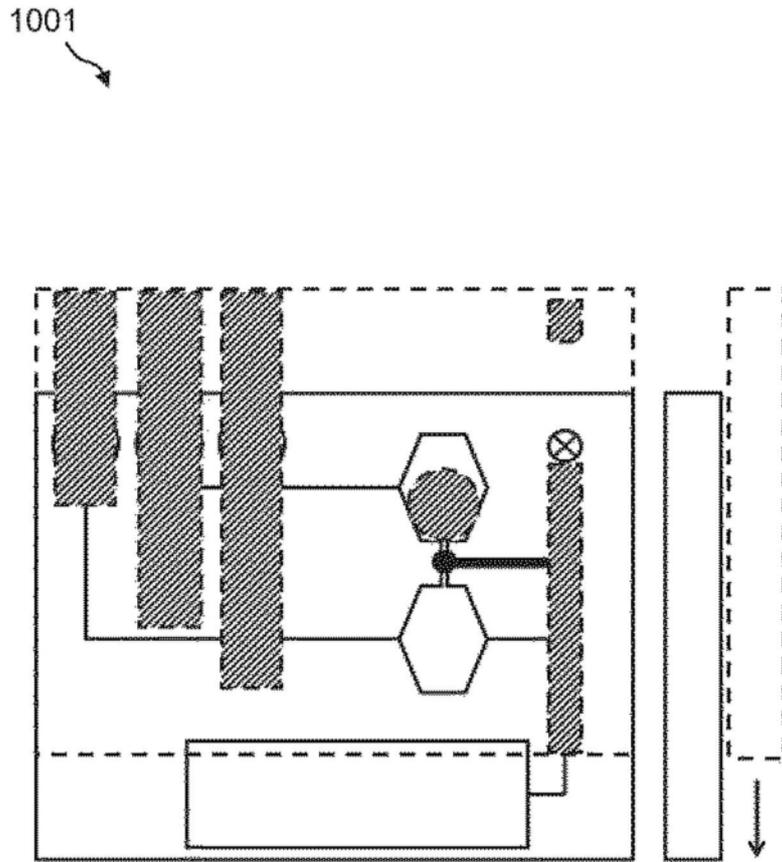


图10E

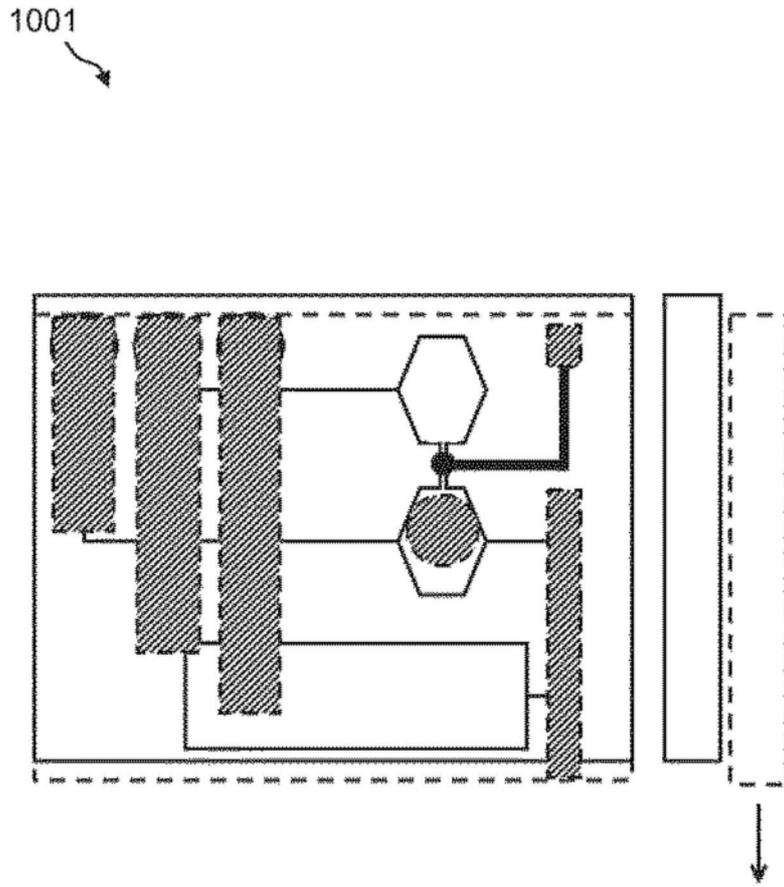


图10F

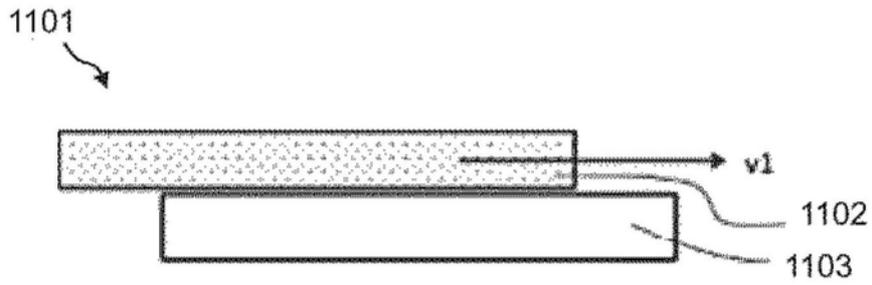


图11A

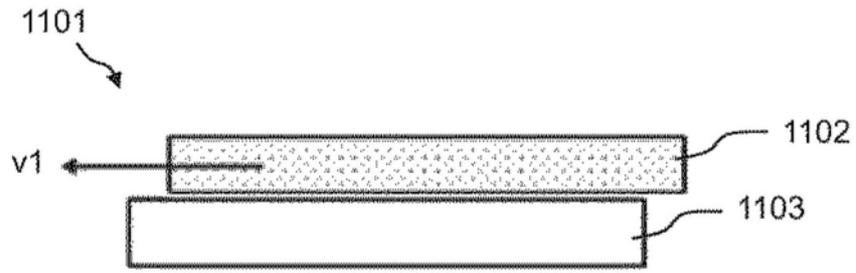


图11B

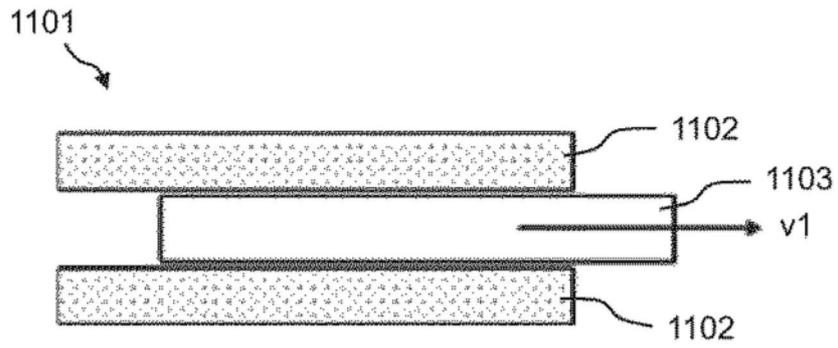


图11C

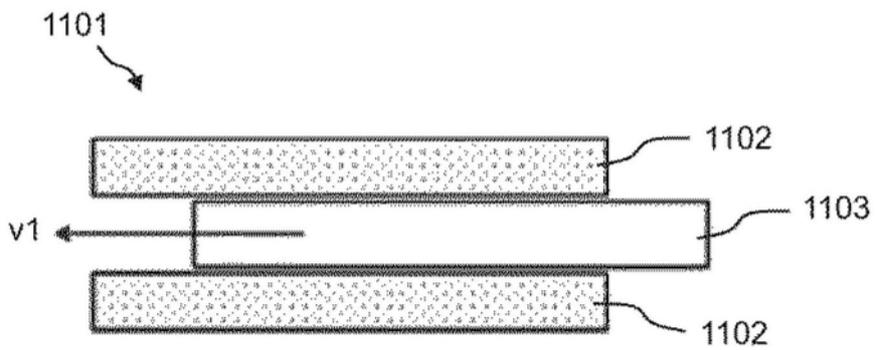


图11D

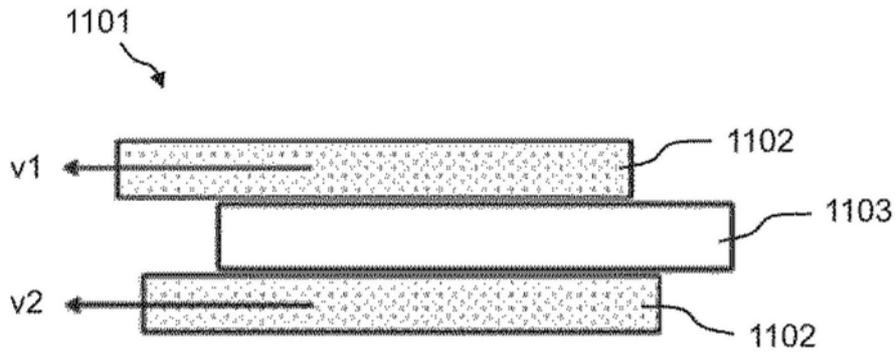


图11E

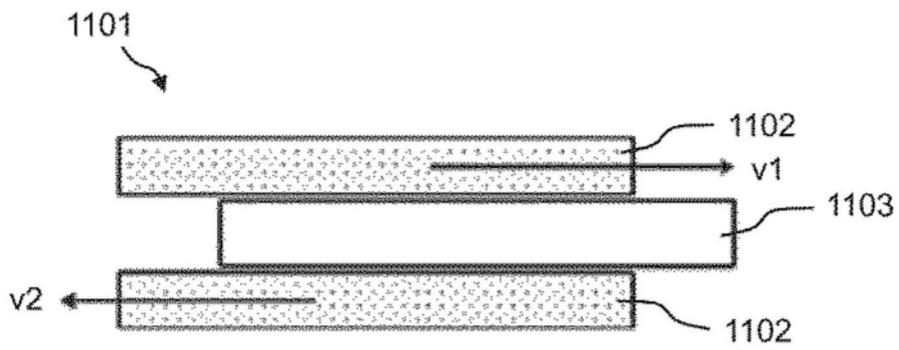


图11F

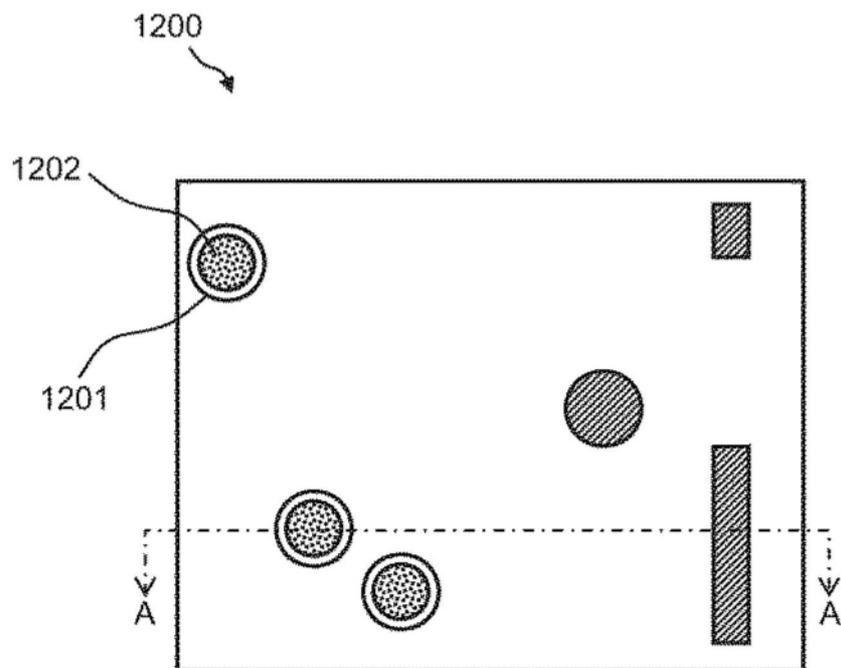


图12A

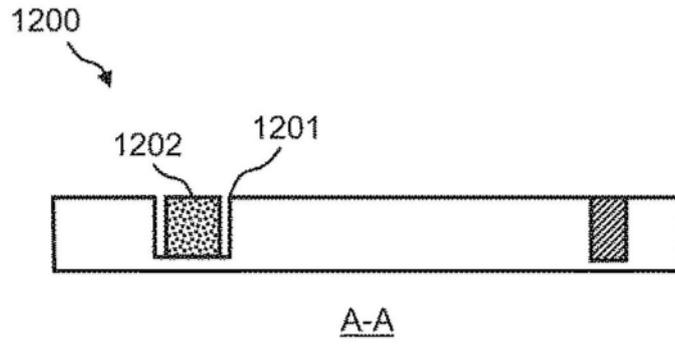


图12B

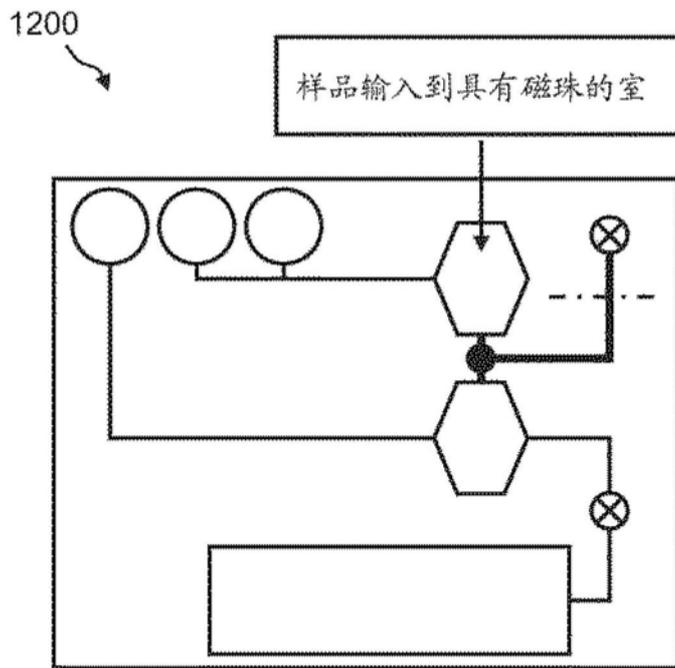


图12C

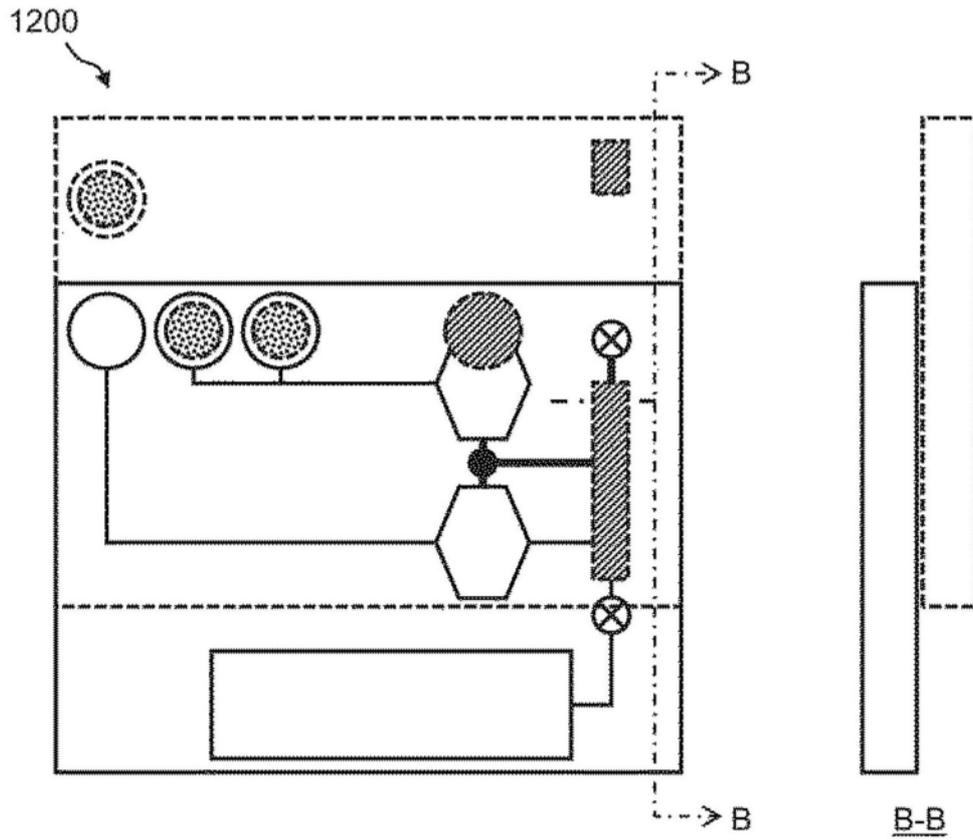


图12D

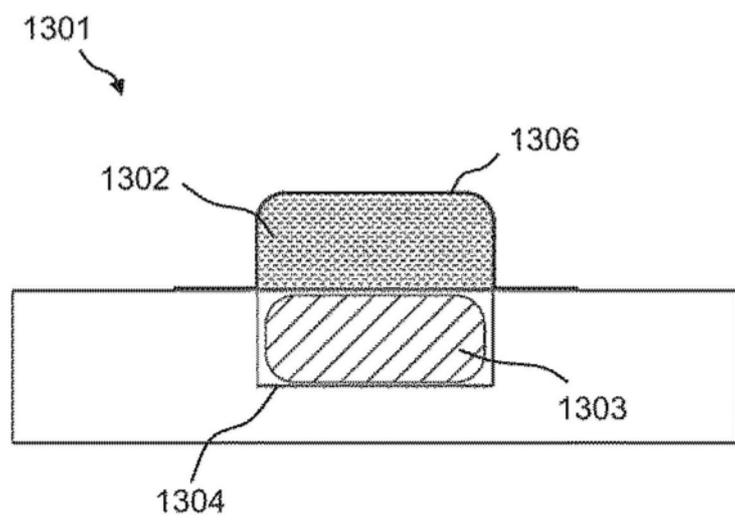


图13A

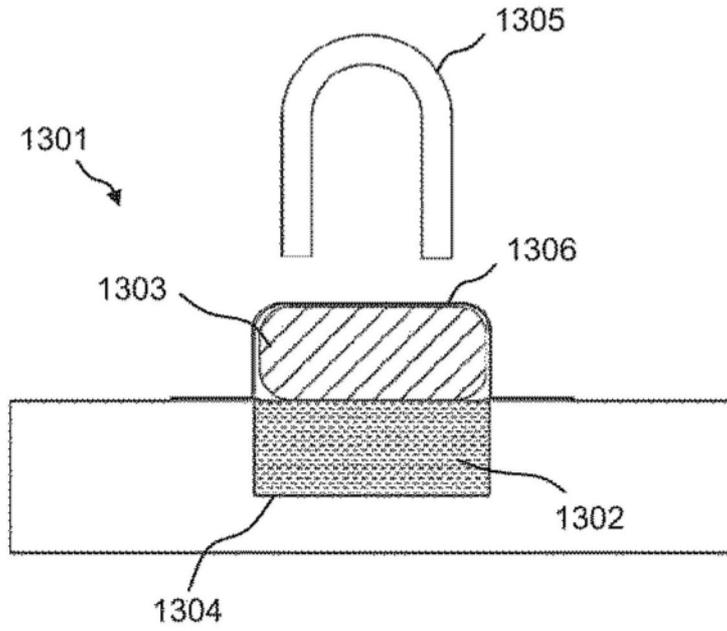


图13B

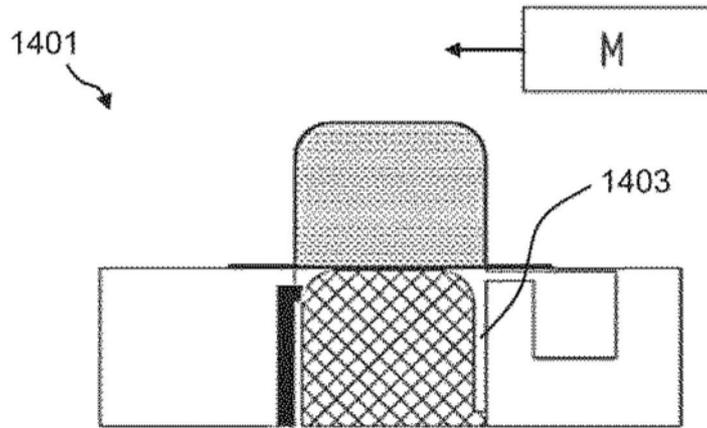


图14A

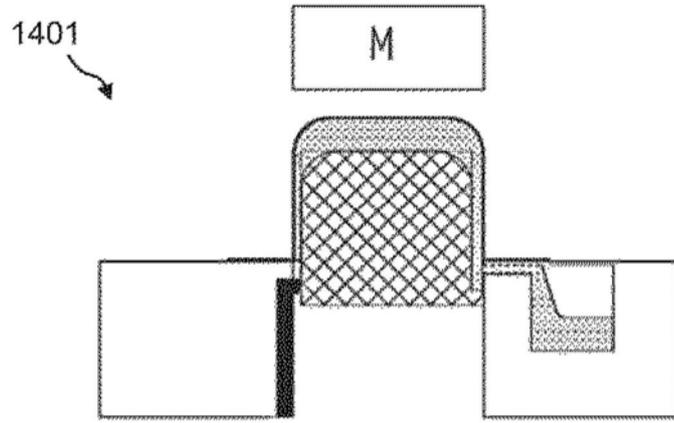


图14B

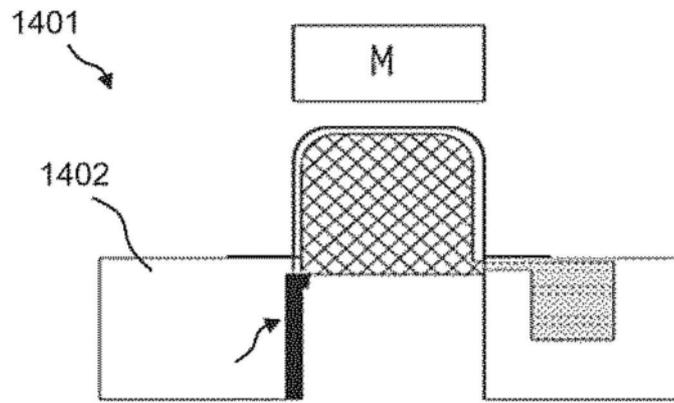


图14C

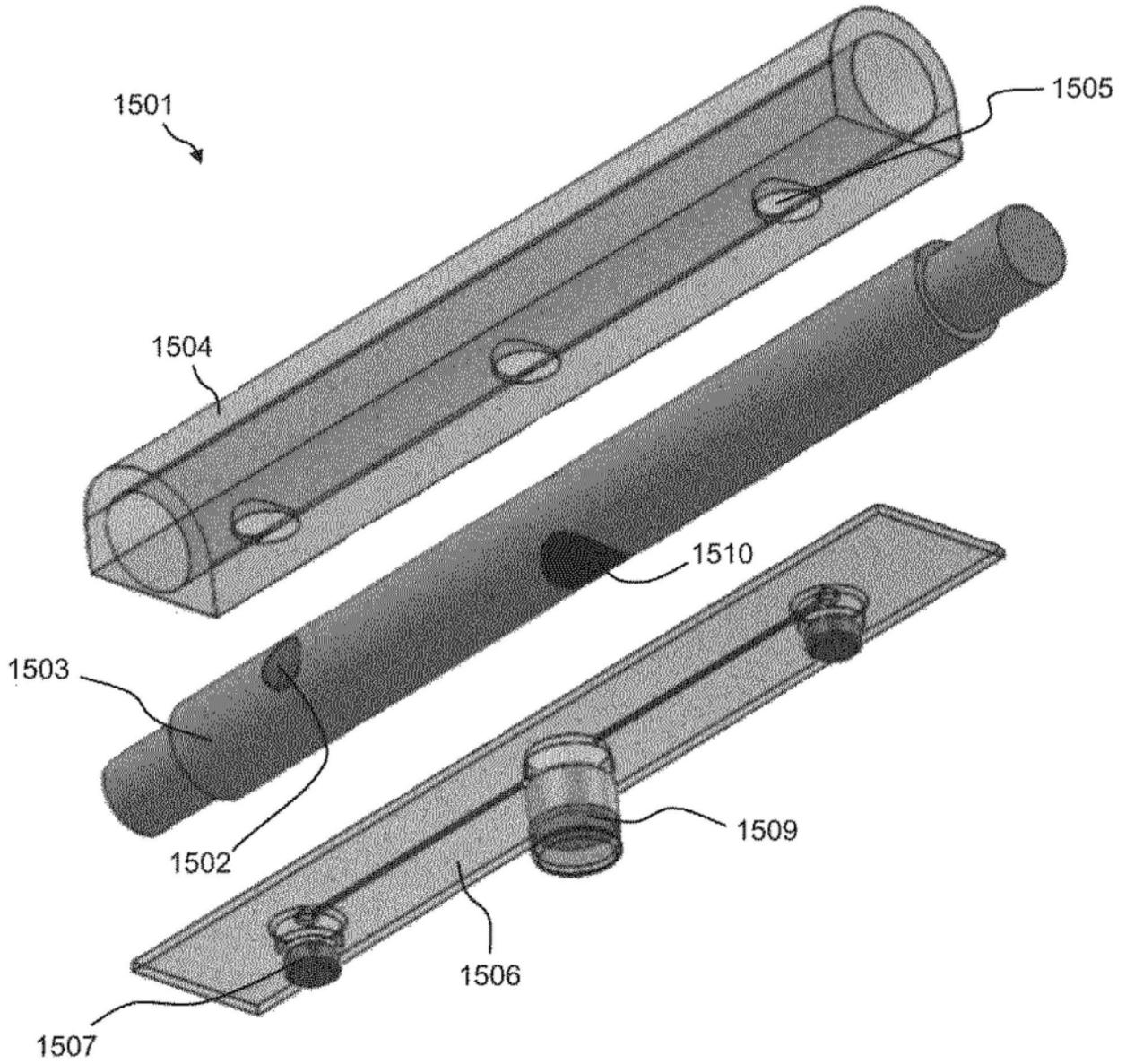


图15

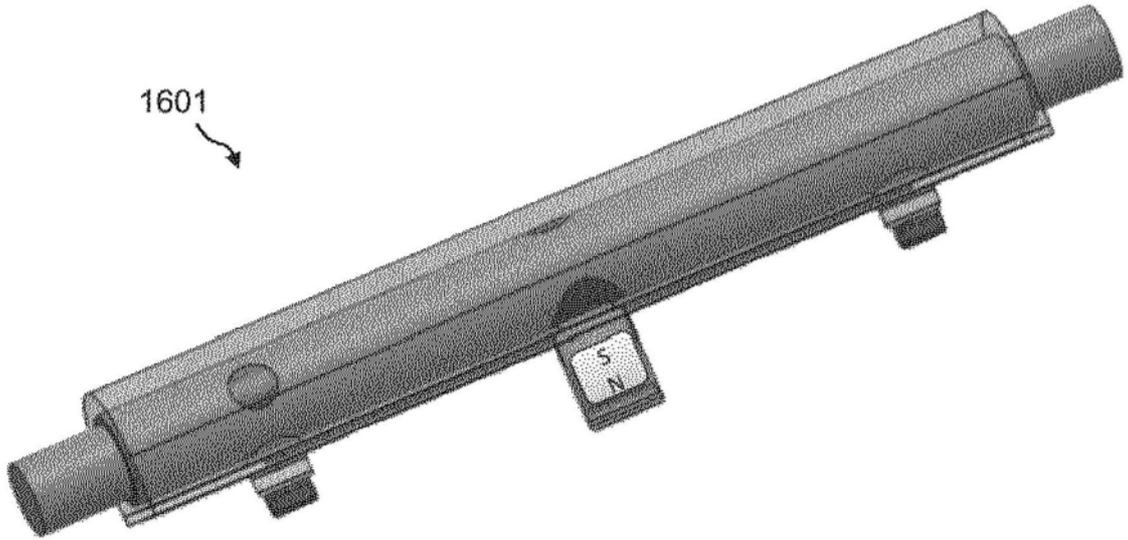


图16A

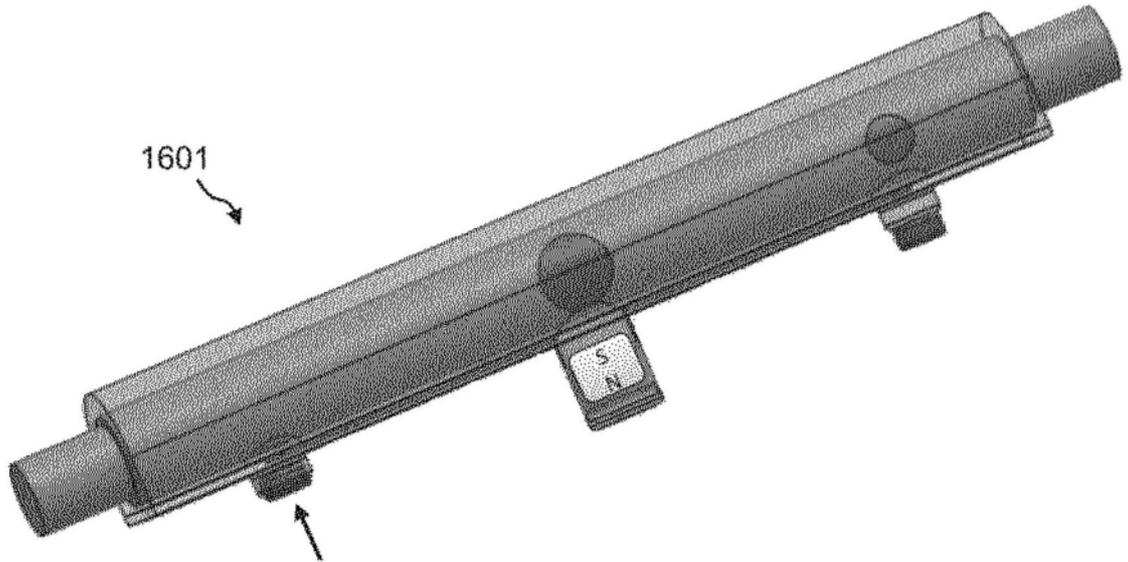


图16B

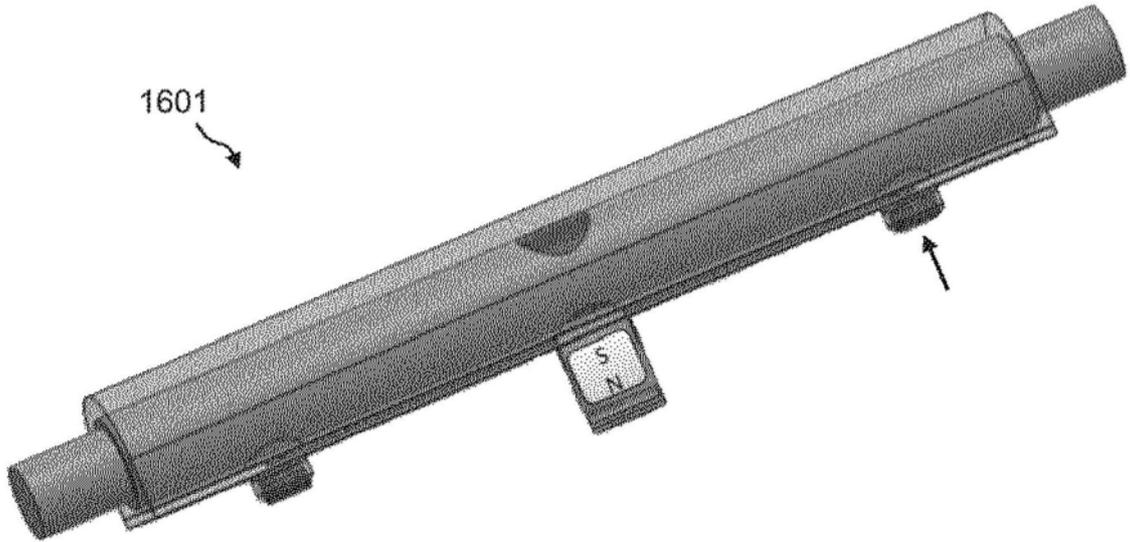


图16C

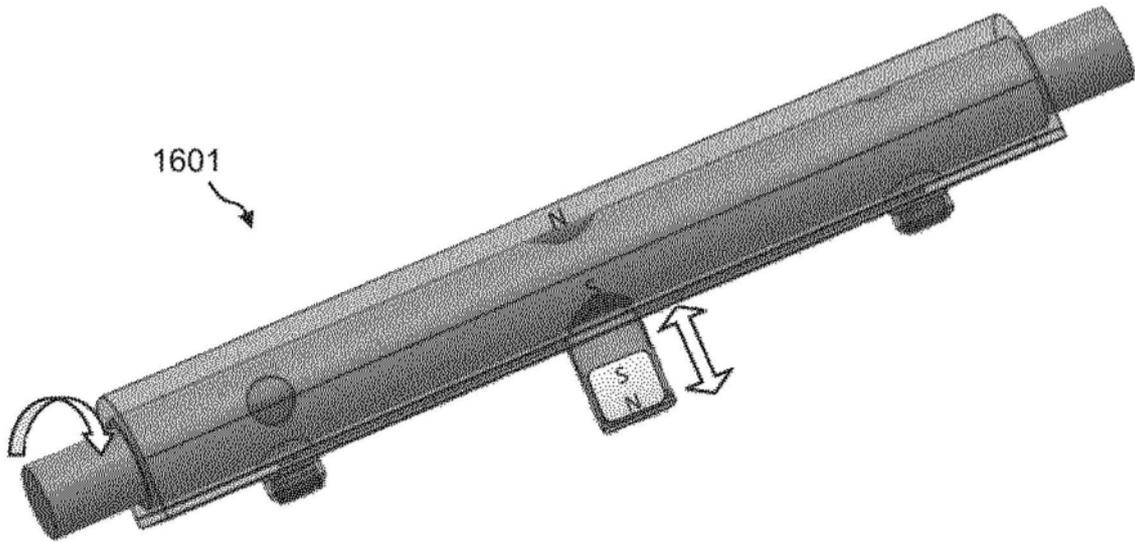


图16D

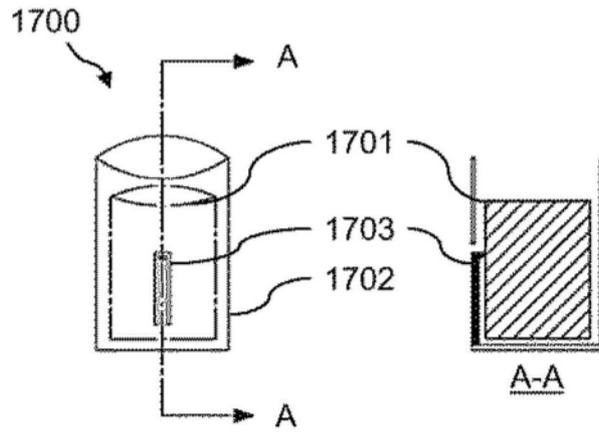


图17A

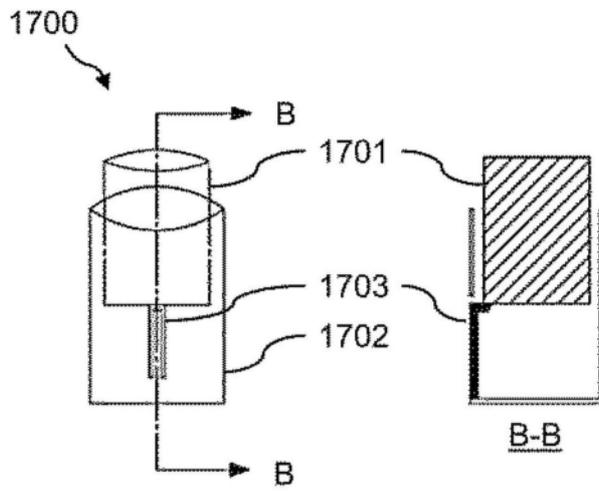


图17B

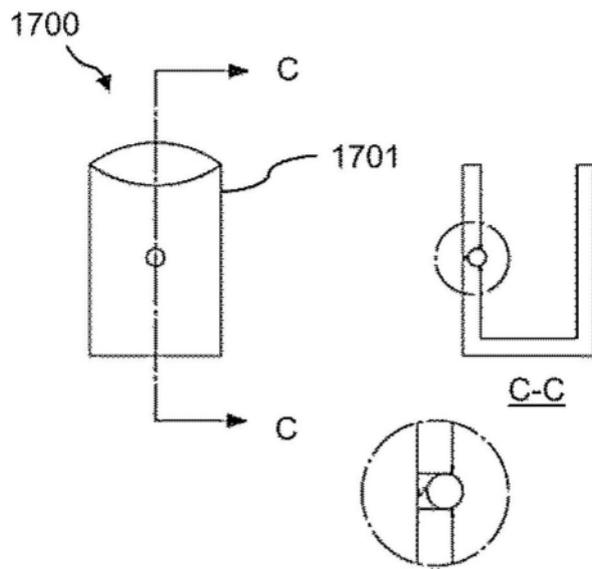


图17C

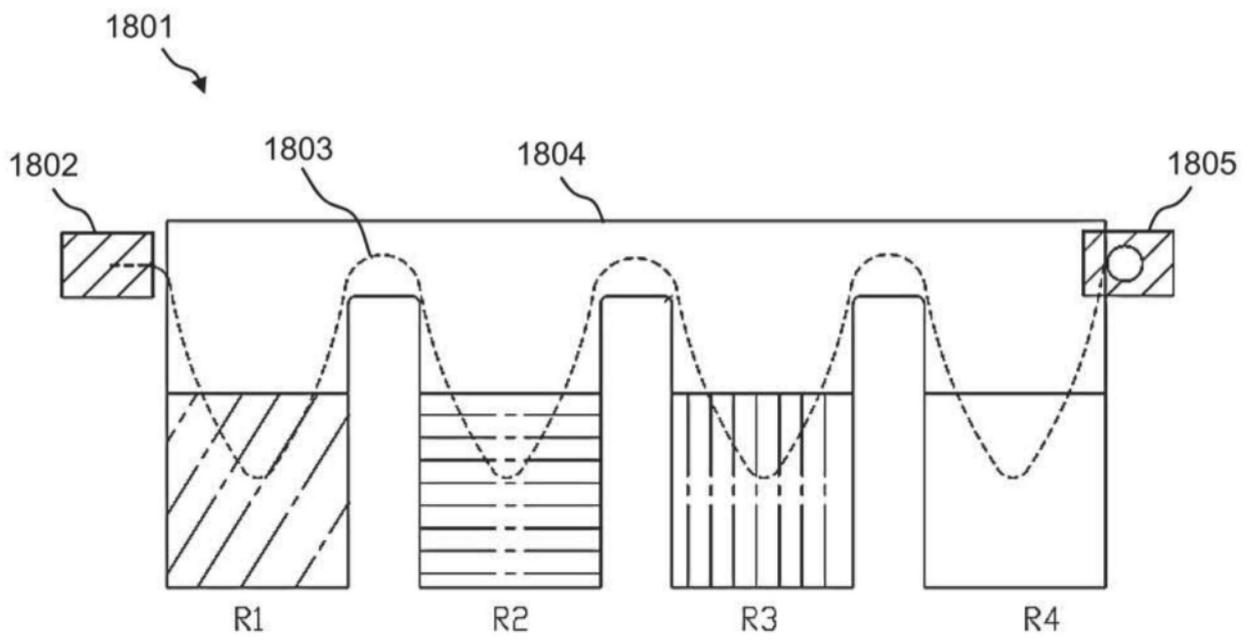


图18A

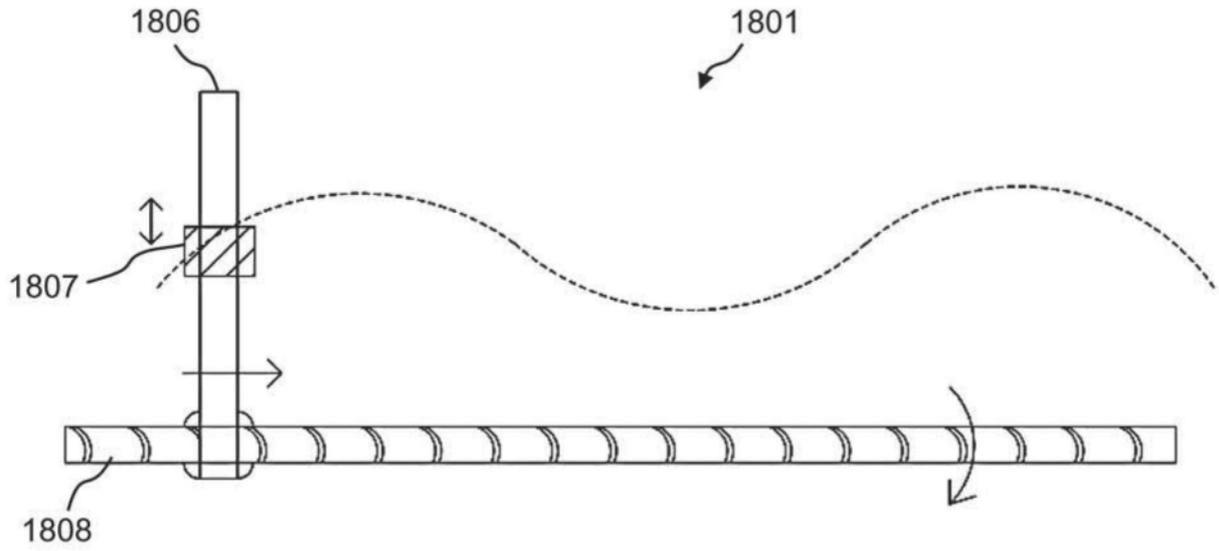


图18B

1901

图 19A

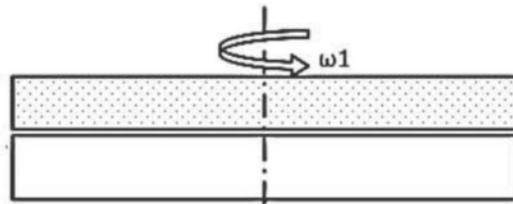


图 19B

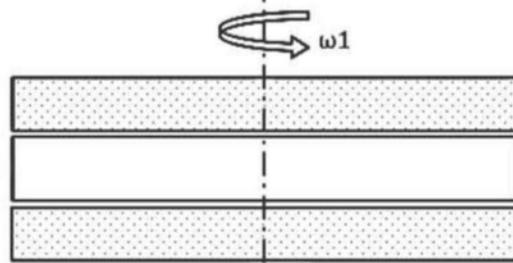
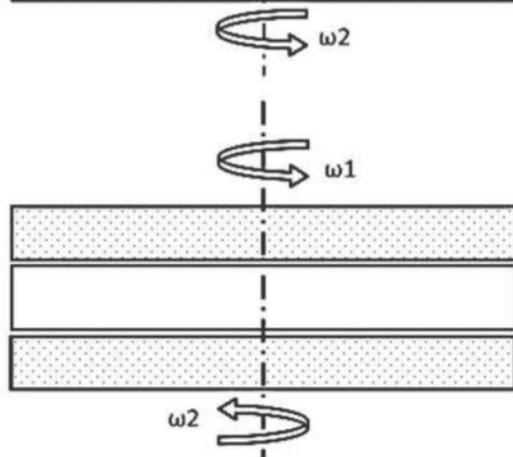


图 19C



2001

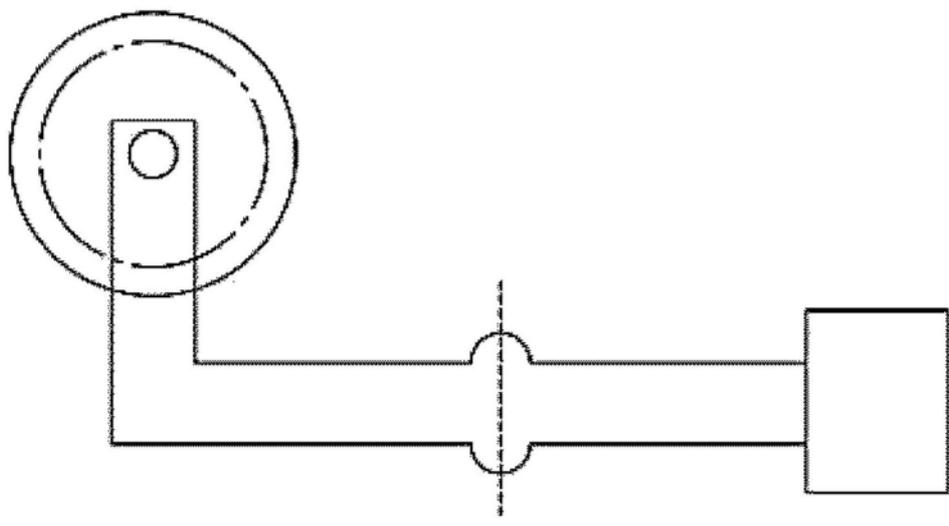


图20A

2001

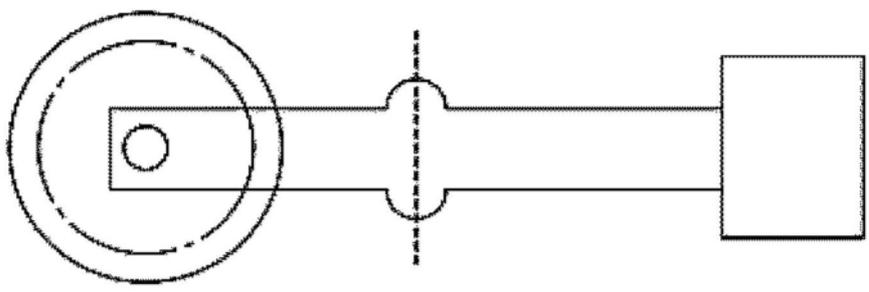


图20B

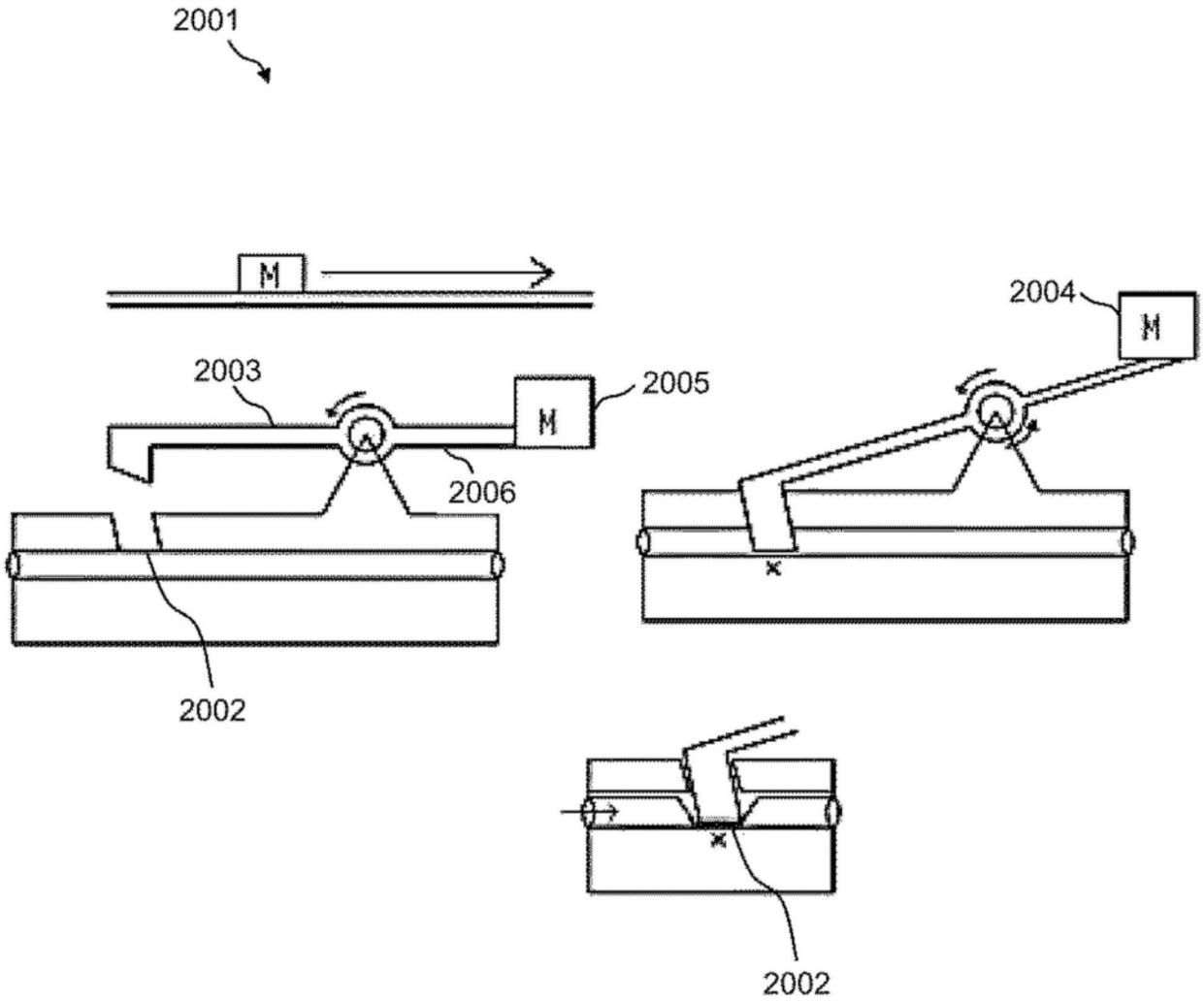


图20C

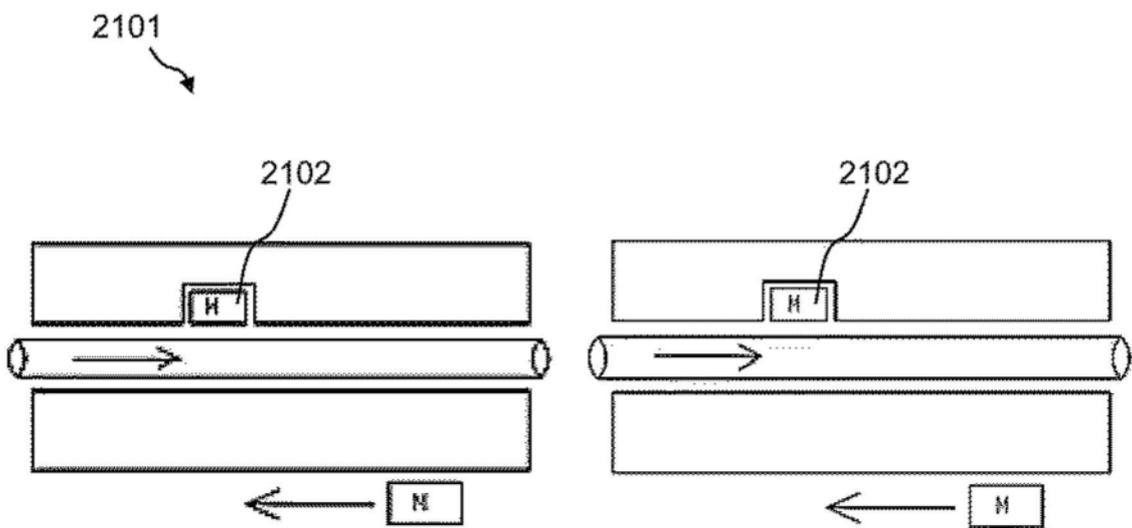


图21A

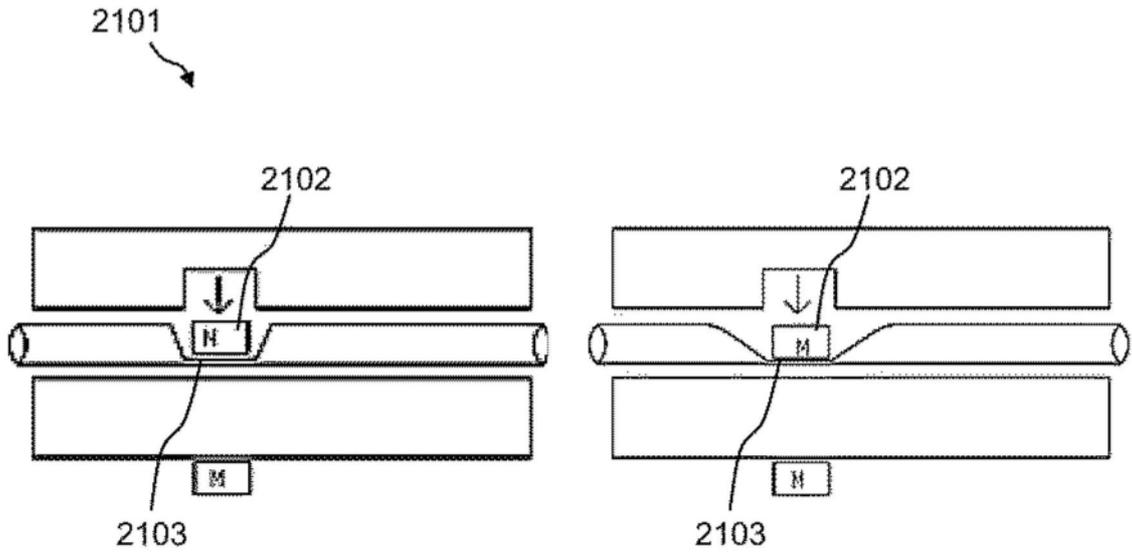


图21B

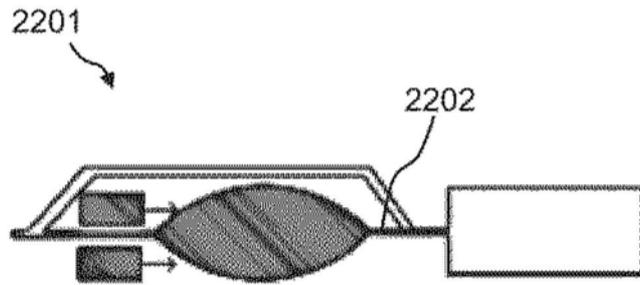


图22A

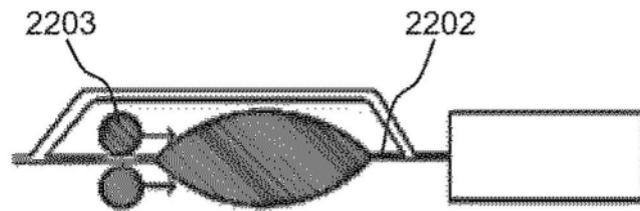


图22B

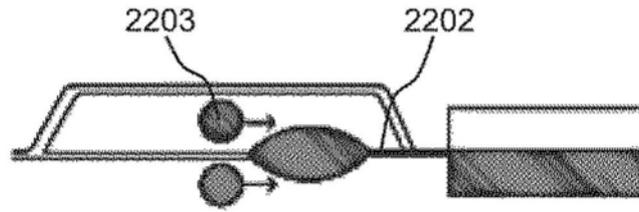


图22C

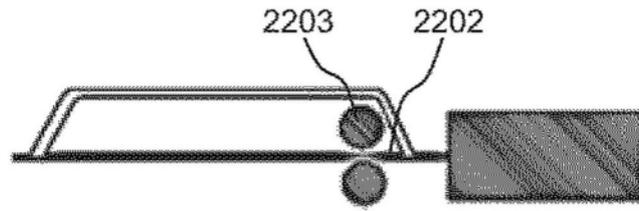


图22D

2301

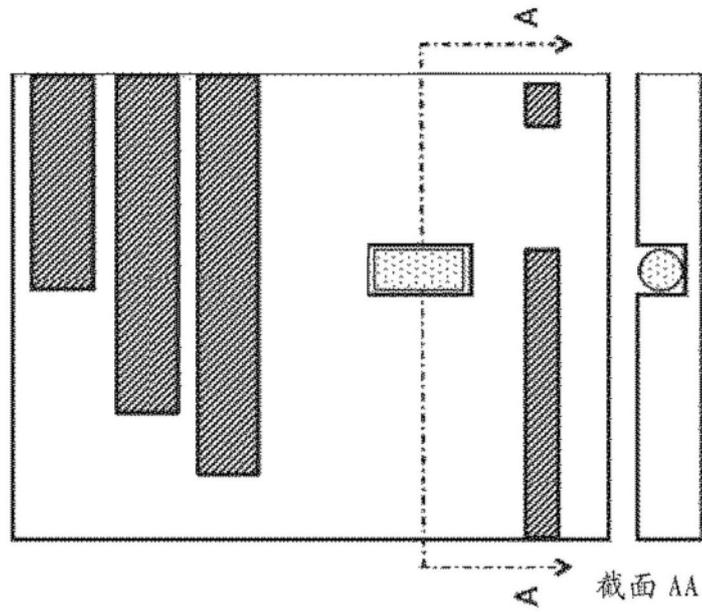


图23A

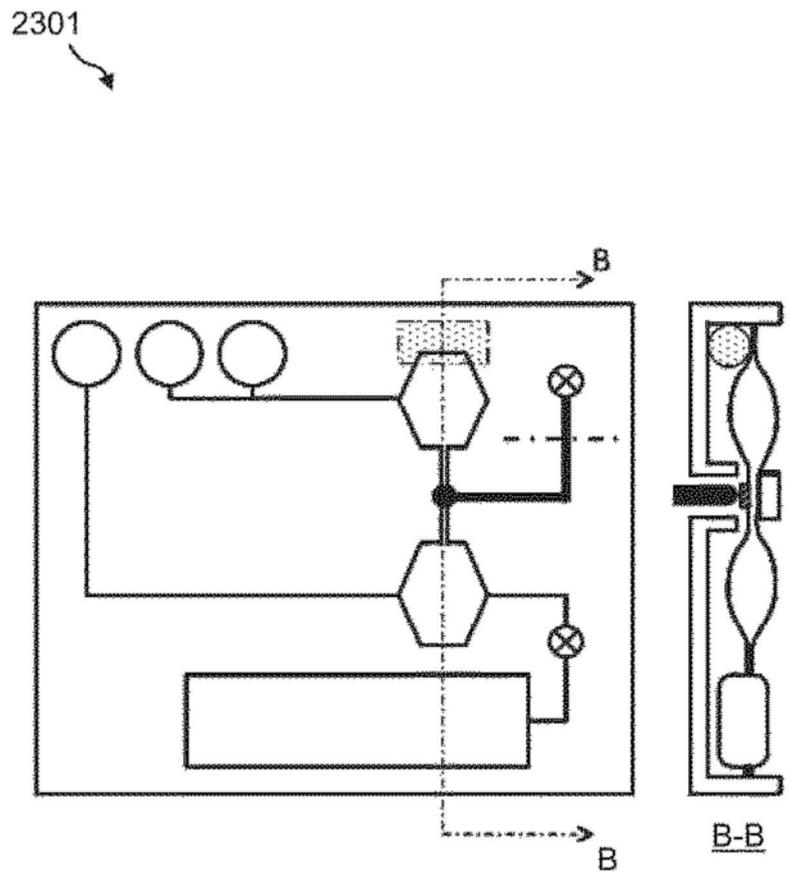


图23B

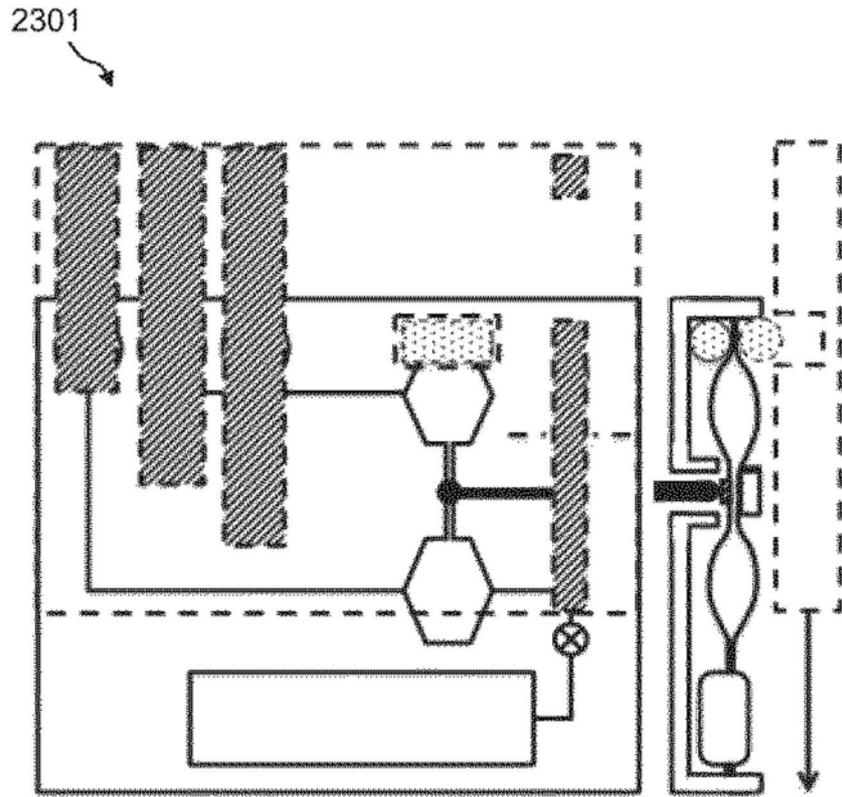


图23C

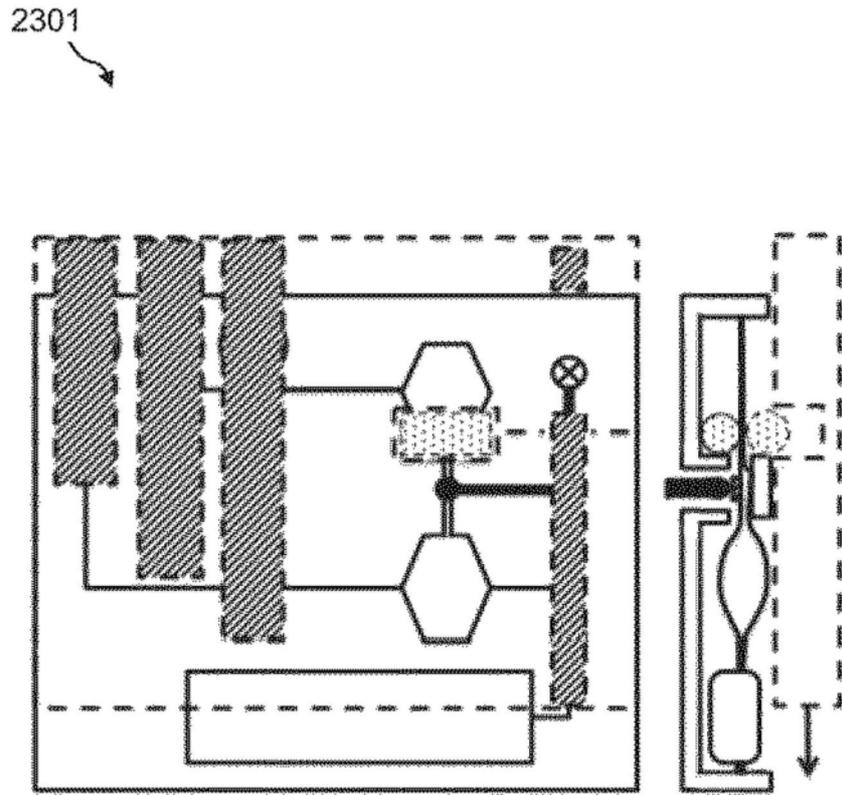


图23D

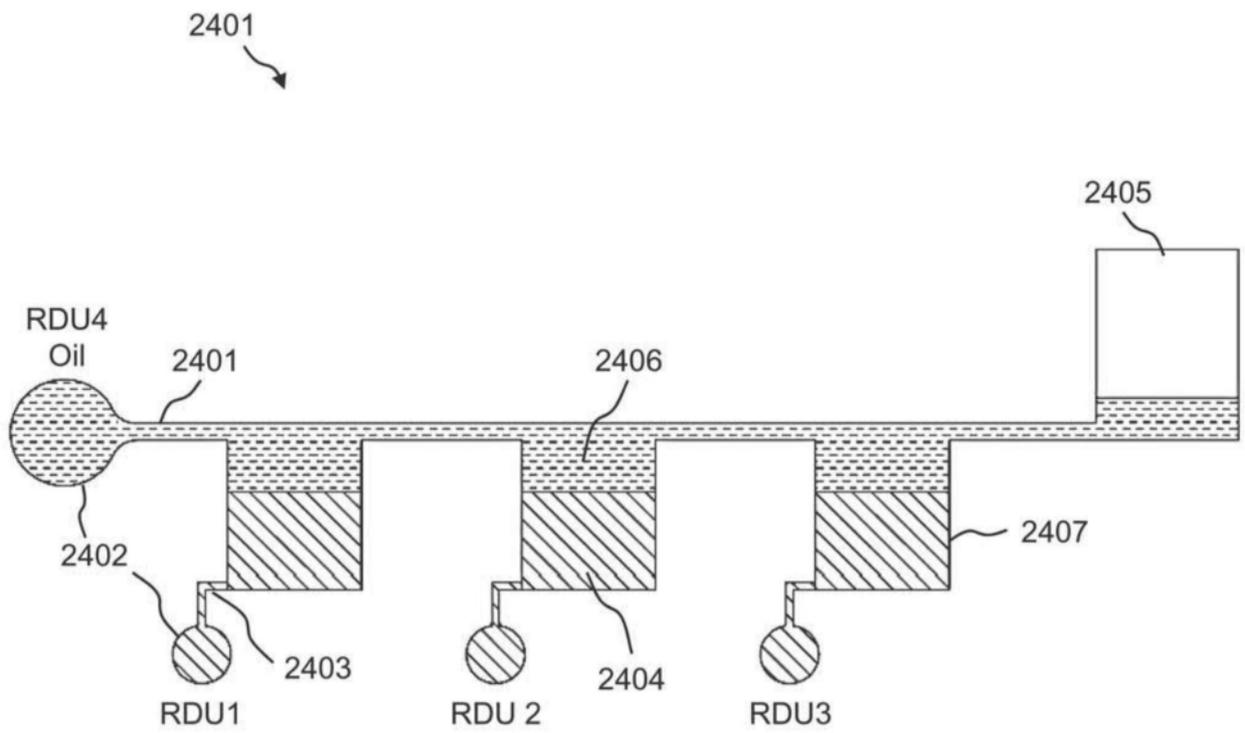


图24

2501

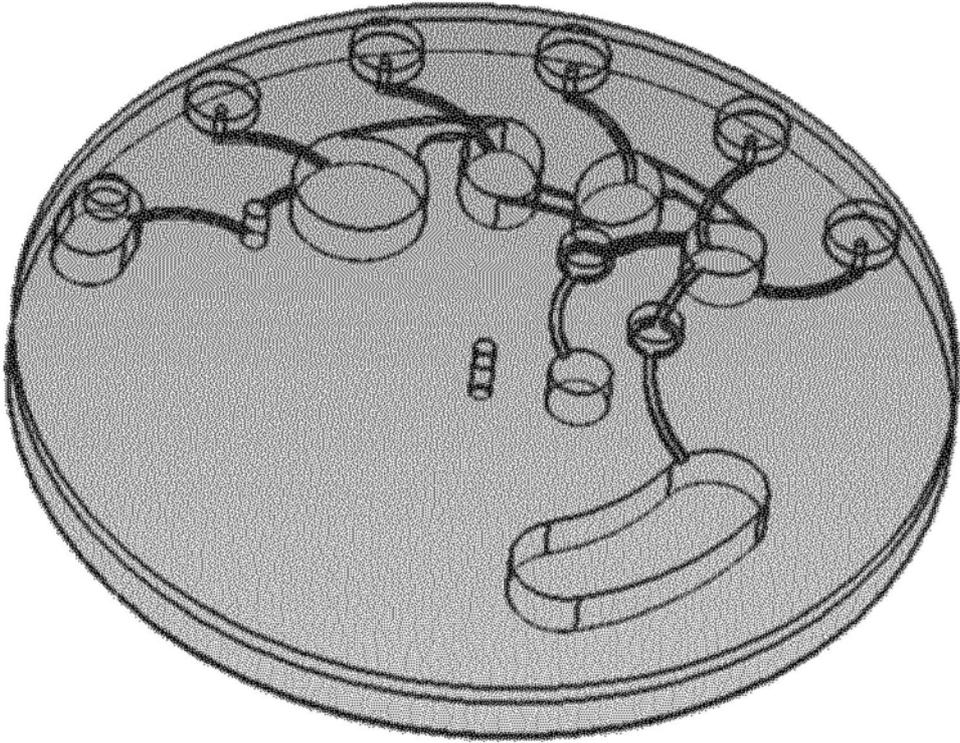
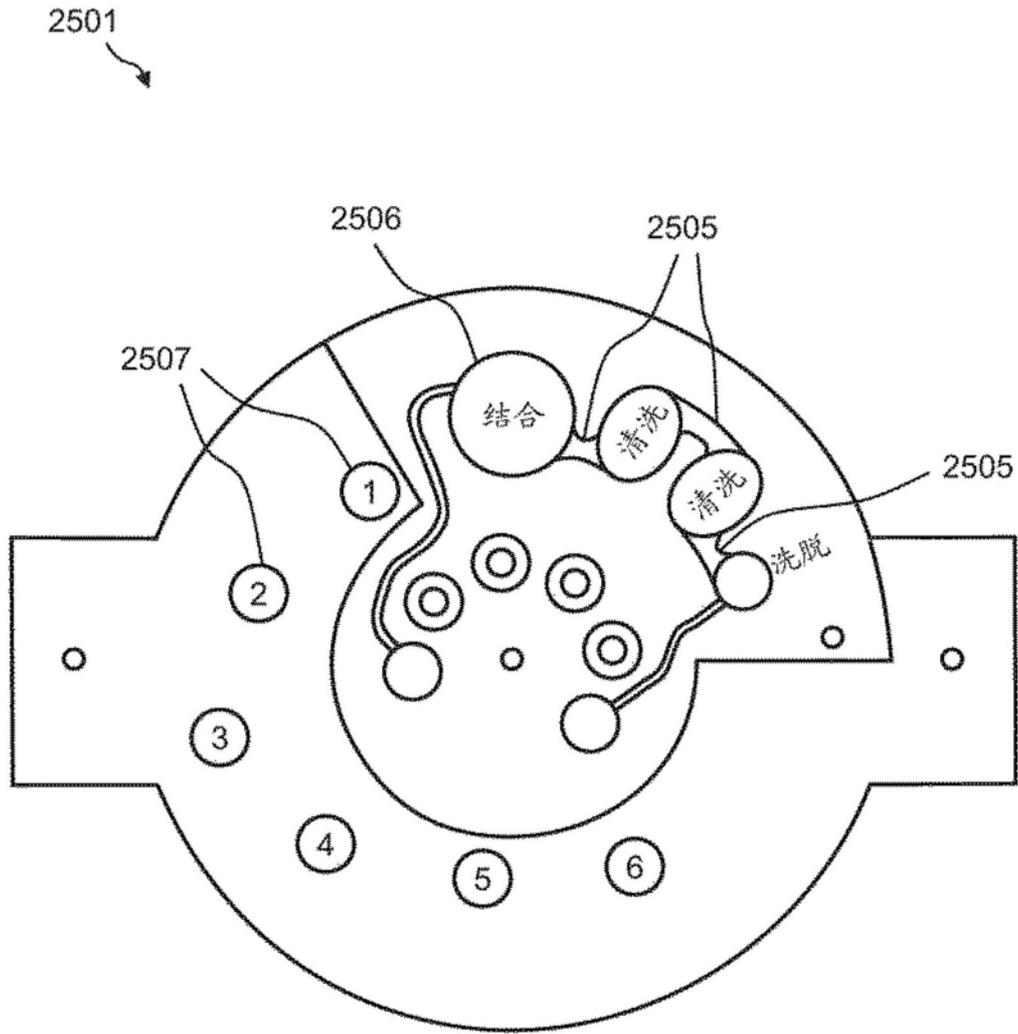


图25A



1, 3, 5 是在顶部致动器元件上的永磁体
2, 4, 6 是底部致动器元件上的永磁体

图25B

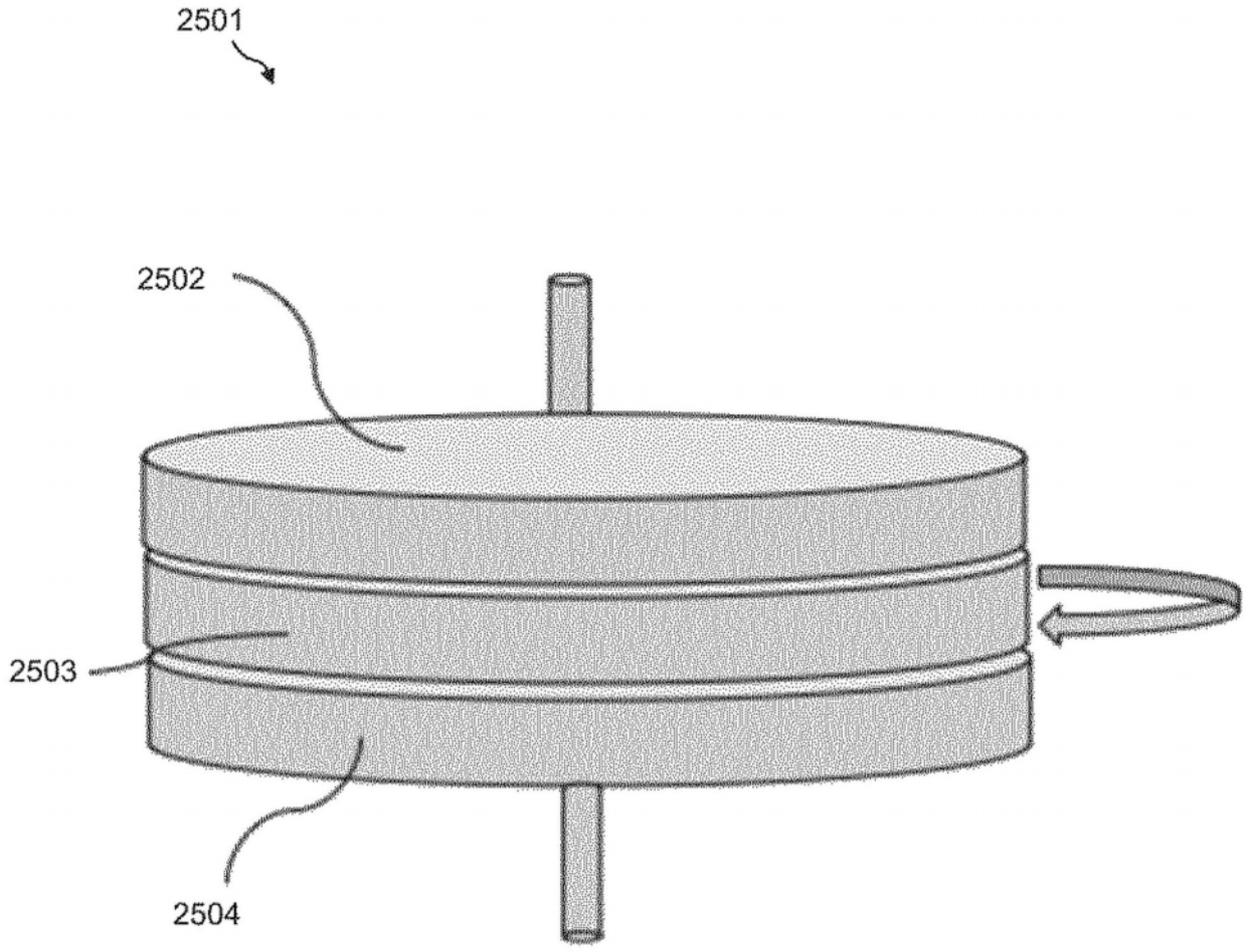


图25C

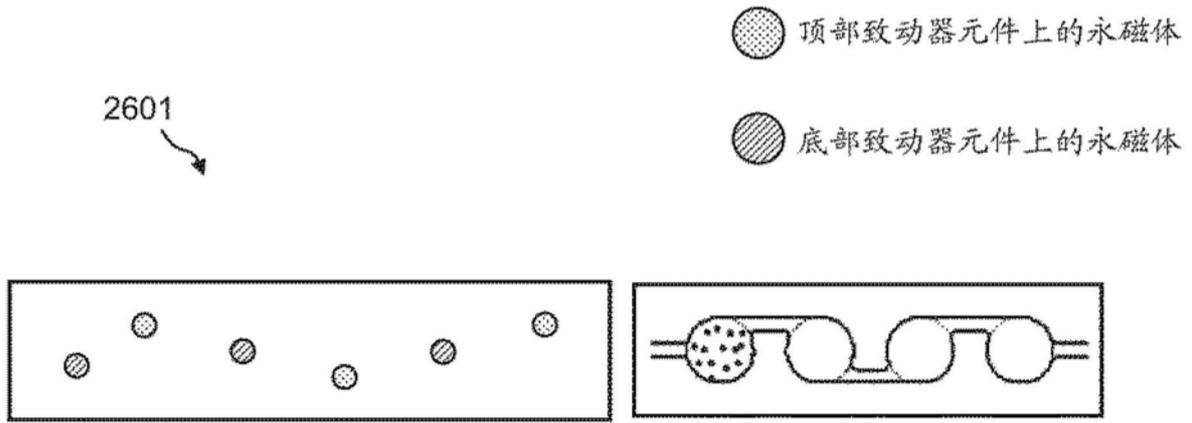


图 26A

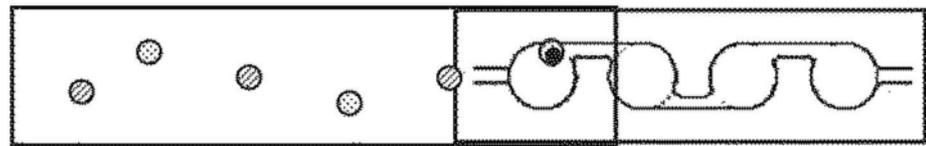


图 26B

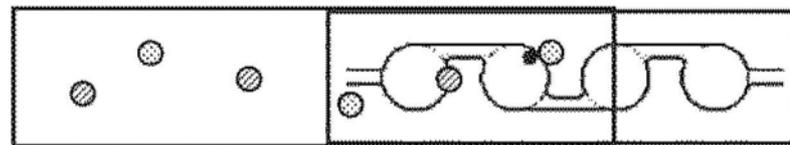


图 26C

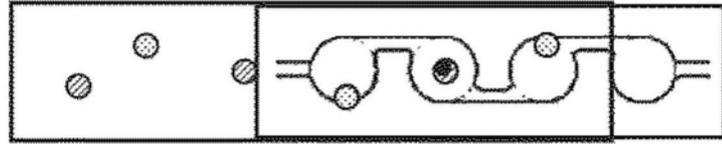
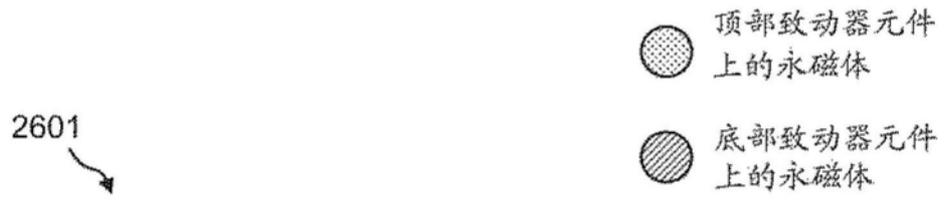


图 26D

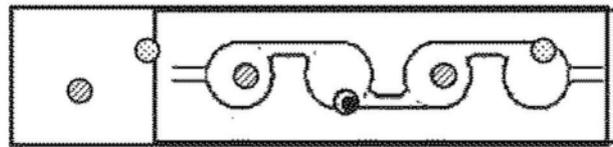


图 26E

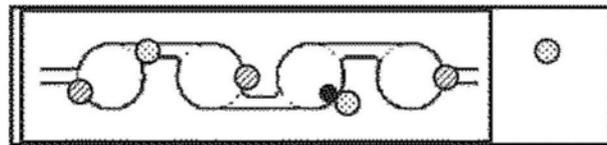
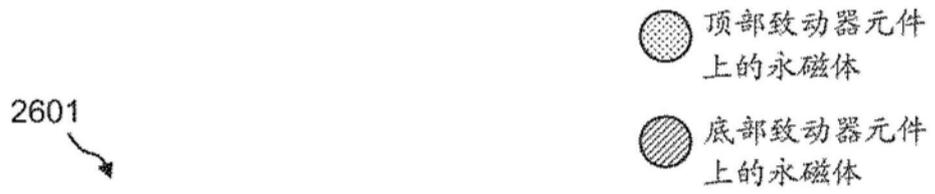


图 26F



2601

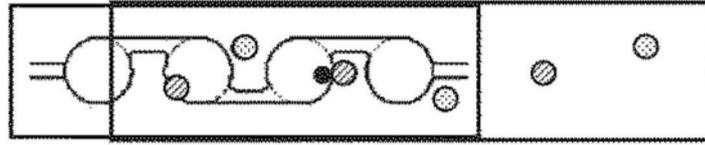


图 26G

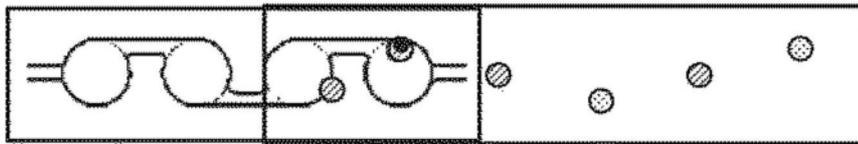


图 26H

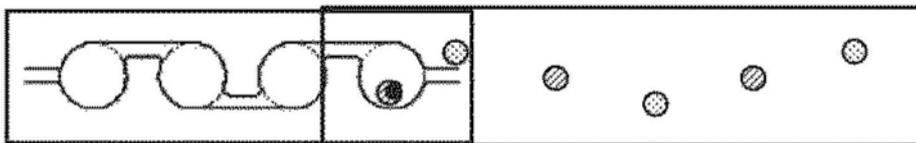


图 26I

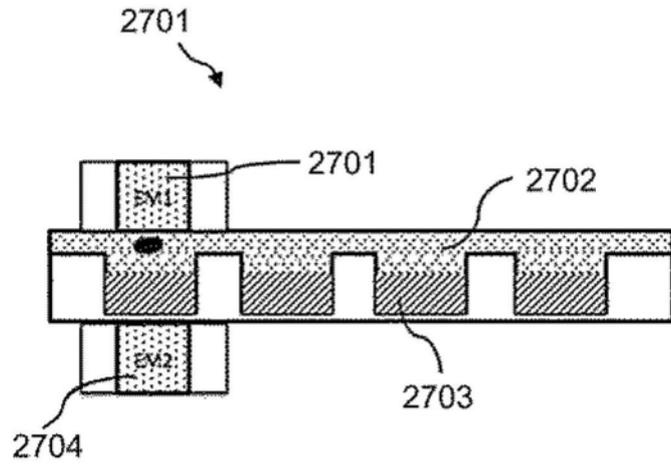


图27A

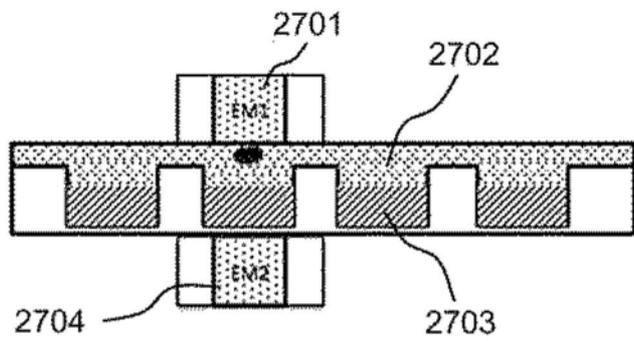


图27B

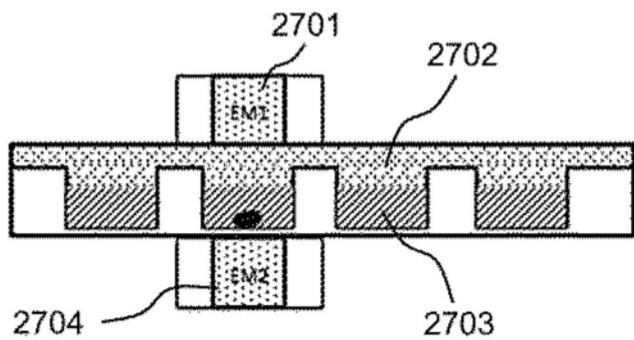


图27C

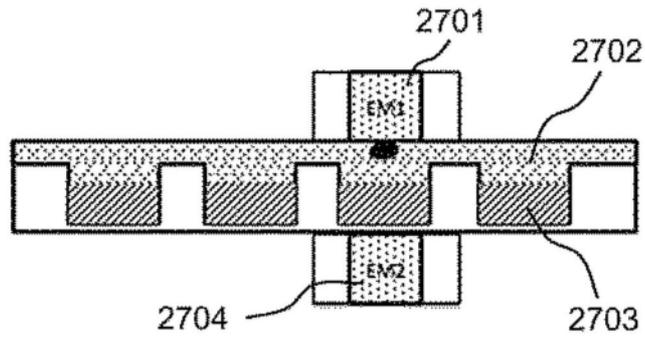


图27D

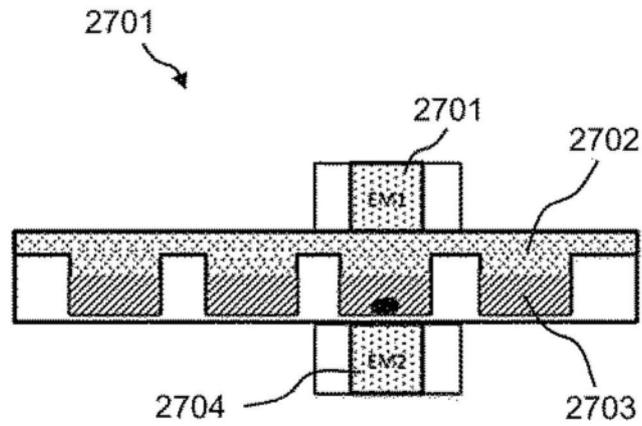


图27E

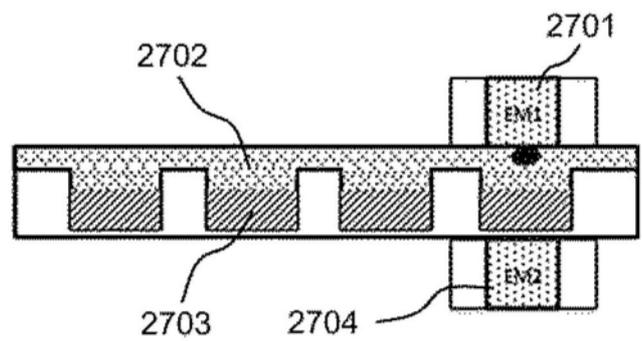


图27F

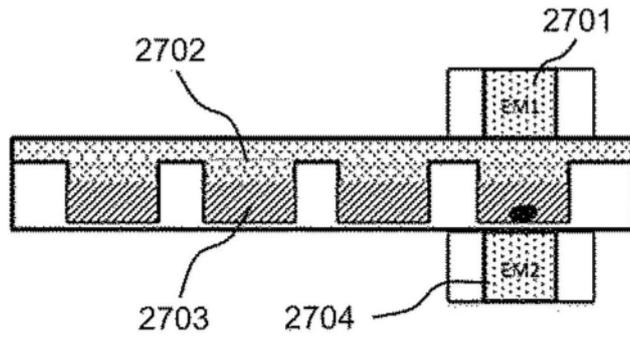


图27G

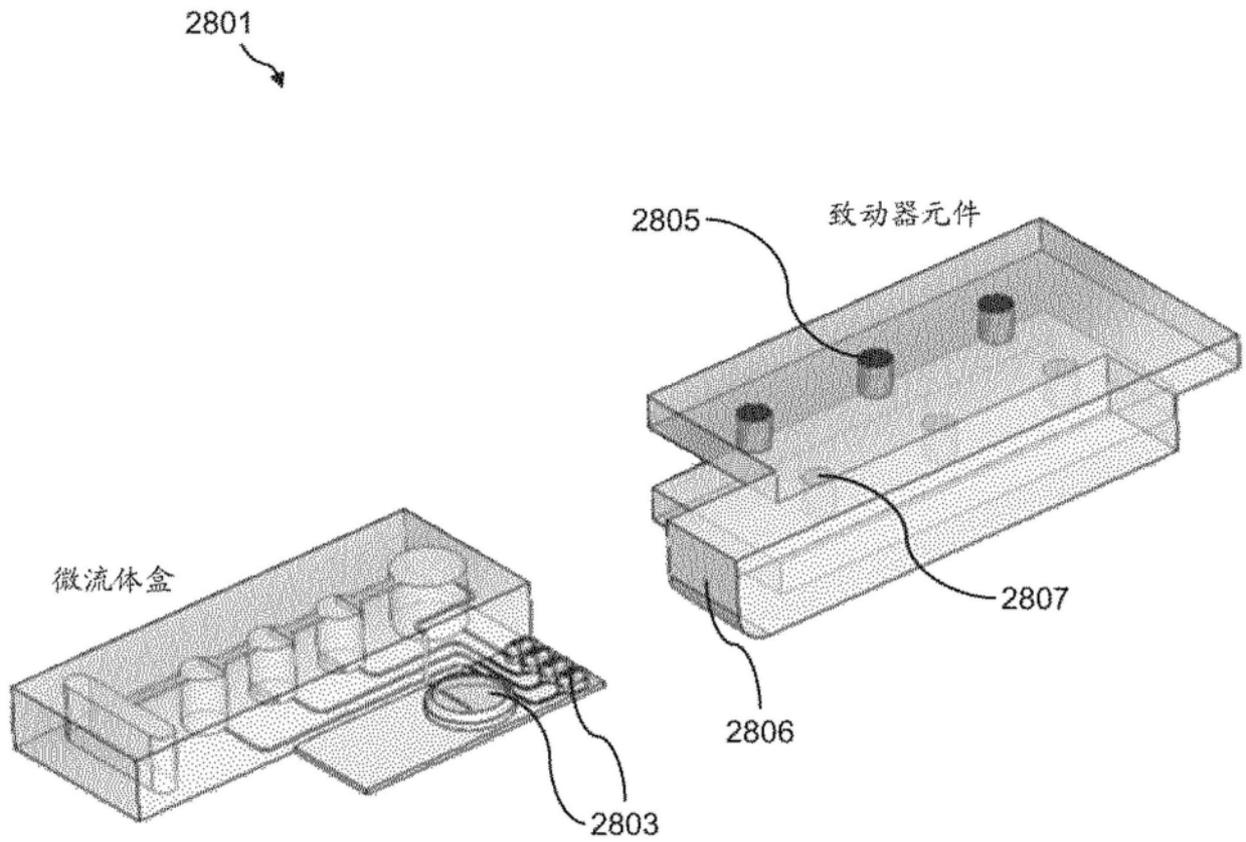


图28

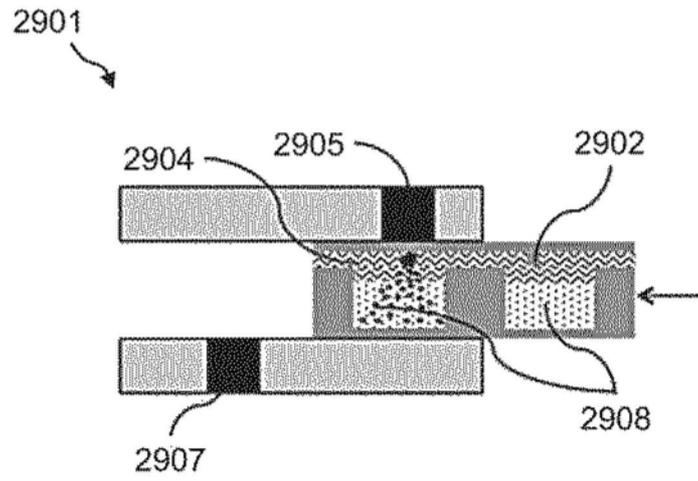


图29A

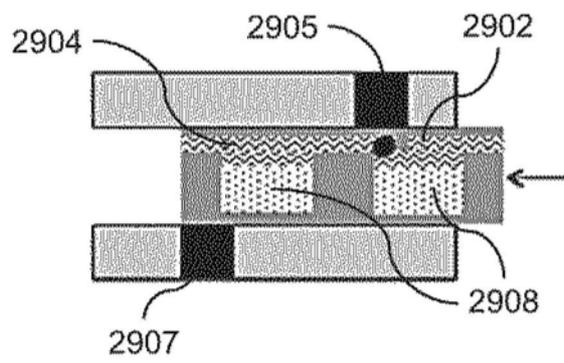


图29B

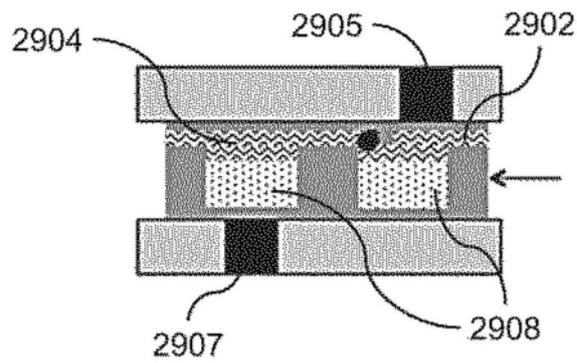


图29C

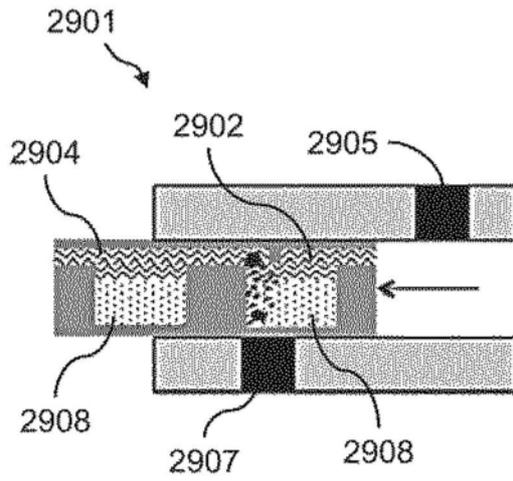


图29D

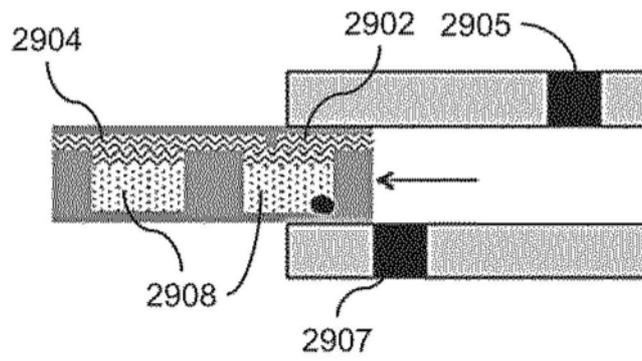


图29E

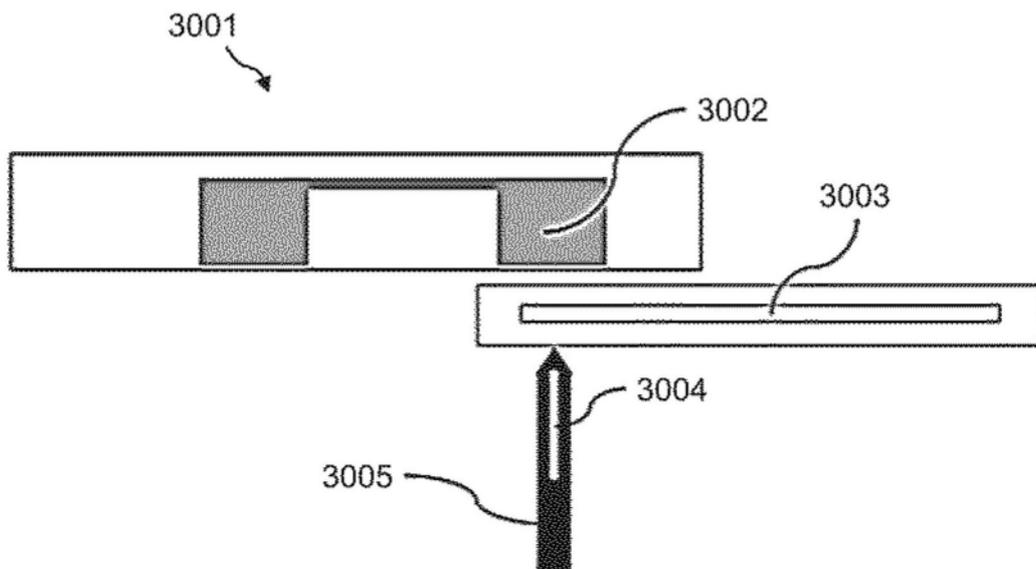


图30A

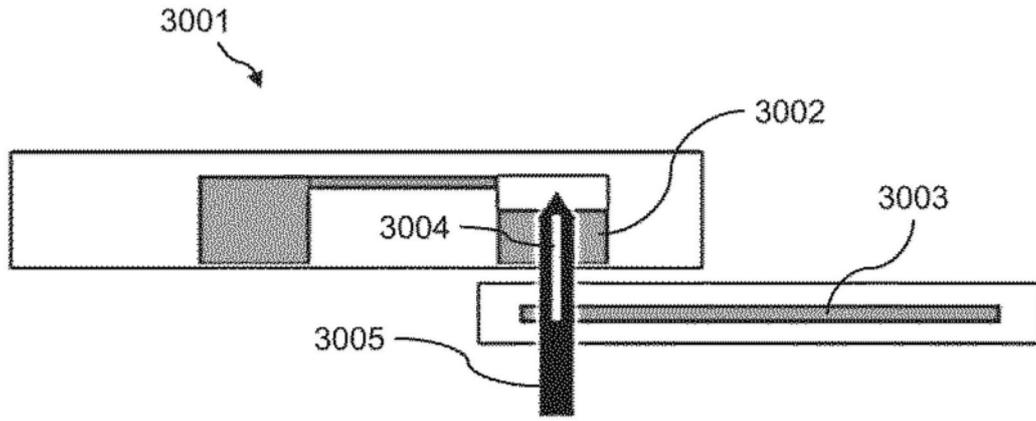


图30B