



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113167809 A

(43) 申请公布日 2021. 07. 23

(21) 申请号 201980080304.4

(22) 申请日 2019.10.02

(30) 优先权数据

10-2018-0153517 2018.12.03 KR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.06.03

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2019/012926 2019.10.02

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/116763 KO 2020.06.11

(71) 申请人 光云大学校产学协力团

地址 韩国首尔

(72) 发明人 沈俊燮

(74) 专利代理机构 北京英创嘉友知识产权代理

事务所(普通合伙) 11447

代理人 桑传标

(51) Int.Cl.

G01N 35/10 (2006.01)

G01N 35/00 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

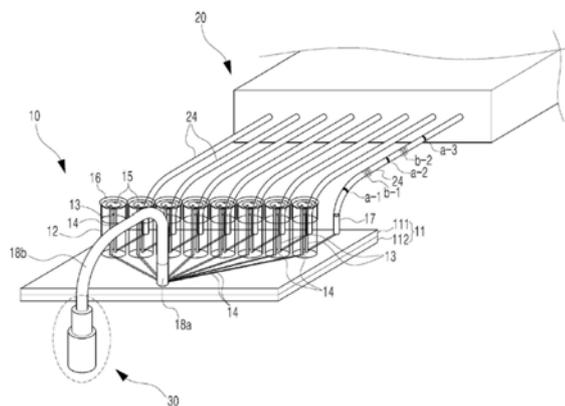
权利要求书2页 说明书8页 附图9页

(54) 发明名称

微流体连接装置

(57) 摘要

本发明涉及一种微流体连接装置,该微流体连接装置与使用用于常规样品反应的96孔的反应实验相比,能够使用更少的样品,进行更快的反应观察。该装置包括:具有细管形状的微管;微型阀,由使微管中填充的试剂移动或停止的流体移动单元构成;板状的底板;反应区,通过所述微管提供的样品之间在反应区发生化学反应,反应区具有观察该化学反应的观察窗,且设置于底板的上表面上;供给管,将反应区与微管连接;以及从反应区排出反应物的排放管。其与常规ELISA中使用的96孔板相比,实施抗体免疫反应分析的速度明显提升,并且可以用非常少量的样品进行分析,所需费用更低,并且多个反应过程可自动执行中间清洗步骤,减少实验人员的工作量,并且能够在现场即刻实现紧急的免疫反应试验,具有能够飞跃性提升医疗体系及医疗技术效果。



1. 一种微流体连接装置,其特征在于,该装置包括反应板;

所述反应板包括:

板状的底板;

反应区,为设置于底板预定部位的微型腔体,并具有观察窗,通过所述观察窗观察提供到所述反应区的样品之间发生的化学反应;

供给管,连接至所述反应区并向所述反应区供给试剂;以及,

排放管,用于将反应物排出所述反应区;

其中,所述底板的一面上形成有柱状试剂升降柱,所述柱状试剂升降柱的内部设置有沿垂直方向延伸的供给管和排放管,所述反应区形成于所述试剂升降柱的端部,并且所述供给管和排放管与所述反应区相连。

2. 根据权利要求1所述的微流体连接装置,其特征在于,所述试剂升降柱上连接有可拆卸的密封盖,所述反应区由所述密封盖的内表面而形成封闭空间,所述密封盖的内表面固定有捕获抗体。

3. 根据权利要求2所述的微流体连接装置,其特征在于,所述底板的表面上平行地形成有多个所述试剂升降柱、反应区以及密封盖,且与所述试剂升降柱的数量相对应地设置有多个微管。

4. 根据权利要求3所述的微流体连接装置,其特征在于,在由8孔的12行构成的常规96孔中,多个并排形成的所述密封盖为形成所述96孔的所述12行中的一行。

5. 根据权利要求1所述的微流体连接装置,其特征在于,所述微流体连接装置还包括:细管状的微管;微型阀,由使所述微管中填充的试剂移动或停止的流体移动单元形成,所述微管与所述供给管连接,用于将试剂由所述微管供应至所述供给管。

6. 根据权利要求5所述的微流体连接装置,其特征在于,所述微型阀包括:

板状的主体;

内置于主体中且彼此平行的多个所述微管;

多个缓冲器,沿纵向设置于嵌入所述微管的区域的部分的上部;

加压辊杆,为横截面为圆形的杆状构件,其长度方向与所述缓冲器交叉,并沿着所述缓冲器的上部滚动以同时挤压多个所述缓冲器,以及

使加压辊杆或主体可以沿所述微管方向移动的驱动单元,

所述主体内部具有多个彼此平行形成的微通道,所述微管内置于所述微通道中,所述主体和所述缓冲器由弹性材料制成,所述加压辊杆或主体中任意一者因驱动单元而移动时,所述加压辊杆沿缓冲器的上部滚动并挤压所述缓冲器,从而使所述缓冲器、所述微通道以及所述微管被所述加压辊杆压缩,随着形成的压缩点的移动,使内置于所述微管中的样品移动。

7. 根据权利要求6所述的微流体连接装置,其特征在于,所述微通道的上部形成有压力释放部,该压力释放部为所述缓冲器断开的部分,多个微通道中的每个微通道的压力释放部彼此错开地形成,当滚动所述缓冲器上部的所述加压辊杆到达所述压力释放部上部时,所述微管和所述微通道的压力被释放;

所述微通道还包括设置在所述排放管中的抽吸泵,用于当所述加压辊杆到达所述压力释放部的上部时,吸入填充在所述压力释放部下部的微管中的多个样品,以向所述反应区

的方向上输送多个样品。

8. 根据权利要求7所述的微流体连接装置,其特征在于,所述压力释放部形成为,当所述加压辊杆进行滚动时,从多个微通道的一端的所述微通道到另一端的所述微通道依次与所述加压辊杆接触。

9. 根据权利要求7所述的微流体连接装置,其特征在于,将所述多个反应区中的每一个区的排放管全部连接到一个排放孔,所述抽吸泵设置为连接到一个排放孔。

10. 根据权利要求5所述的微流体连接装置,其特征在于,所述微型阀包括:

基座,设置在主体下方;

旋转支撑架,固定地设置在所述基座的两侧,内部设有轴承,连接于所述加压辊杆的两端,固定加压辊杆并能够使其旋转,

进一步包括线性马达,该线性马达用于使所述微型阀在所述轴承及所述加压辊杆之间向前或向后移动。

微流体连接装置

技术领域

[0001] 本发明涉及微流体连接装置,该装置能够利用极微量的流体观察流体化学反应,尤其是涉及相较于现有试剂反应中使用的96孔板的反应试验,能够使用更少的试剂更快速地观察反应的微流体连接装置。

背景技术

[0002] 酶联免疫吸附测定法 (Enzyme-linked immunosorbent assay, 以下称为“ELISA”)是指使用以酶为标志物的抗原-抗体反应(抗原抗体反应)来测定抗原(抗原)或抗体量(抗体量)的方法。

[0003] ELISA在临床医学领域、环境或食品污染监测等领域被广泛用作定量分析待分析物内部抗原/抗体的分析工具。ELISA的工序简单,具有灵敏度和选择性高的特性,是一种有效的多重分析工具。

[0004] 在常规的ELISA中,其过程是通过使用96孔板进行的,将96个样品烧杯或试管垂直和水平地密集插入具有96个插入孔的板中,并且在消耗相对较长一段时间后提供可读取颜色的资料。另外,由于所需的样品量应该是能够将烧杯或试管填充到一定水平的量,特别是在样品昂贵的情况下,执行该过程需要大量的成本。因此,当在现场需要即刻诊断时,由于耗时长以及成本问题,存在应用难的问题。

[0005] 在常规的ELISA中,使用的是96孔板,其基于将单个抗原与针对单个抗原的特异性抗体结合的基本免疫学原理,为了实施经过多个步骤的免疫分析法,除了必需的成分外,每个反应步骤都必须洗涤除了必需的成分外的物质,并且每个反应步骤都需要通过移液器运输和引入试剂的流程,并且需要花费大量时间才能通过肉眼观察到样品发生反应。

[0006] 但是,抗体免疫反应不仅在研究机构的学术实验中被广泛使用,而且在医院的许多地方作为紧急处理而被广泛使用,由于需要迅速进行紧急治疗,因此需要快速处理。但是,由于常规的ELISA方法花费大量的时间、成本和劳力,因此在大多数情况下由于不能满足现场医疗的需要而无法通过准确的诊断及时接受治疗。

[0007] 通过ELISA进行的反应过程如图1所示,包括:将诸如血液或血浆之类的测量样本提供到固定有捕获抗体的底物上,并将样本中存在的目标抗原与捕获抗体结合的过程;将连接有标记物的抗体重新与捕获抗体-抗原结合物以夹心形式结合的过程,以及最终结合酶底物的过程。此时,在每个反应步骤中,必须注射抗原或抗体等样品,且必须等待很长时间,并且在每个反应的中间还需要洗涤和去除不必要的反应物的过程。因此,不可避免的是,一次免疫反应需要大量的时间,并且当使用常规的96孔板时,为了可以在视觉上区分反应,使用了大量昂贵的样品,花费巨大。

[0008] 因此,需要一种反应装置技术,其与常规ELISA中使用的96孔板相比,实施抗体免疫反应分析的速度要快得多,并且它可以用非常少量的样品进行分析,所需费用更低,并且多个反应过程可自动执行中间清洗步骤,减少实验人员的工作量。

[0009] [现有技术文献]

[0010] 韩国注册专利公报第10-1515020号(公告日:2015.04.24)

发明内容

[0011] 技术问题

[0012] 因此,本发明提供一种微流体连接装置,相较于常规ELISA中使用的96孔板,不仅能够实现更快速的抗体免疫反应分析,且以极微量的试剂就能够实现分析,所需费用低廉,通过自动实施包括中间洗涤等多个反应过程,减少实验人员的工作。

[0013] 解决技术问题的手段

[0014] 为了实现上述目的,本发明的微流体连接装置包括:细管状的微管;微型阀,该微型阀由使微管中填充的试剂移动或停止的流体移动单元形成;以及,反应板;反应板由板状的底板、反应区、将反应区与微管连接的供给管以及用于从反应区排出反应物的排放管组成,反应区设置于底板的表面上且具有观察该化学反应的观察窗,通过该观察窗可以观察通过所述微管提供到其中的样品之间发生的化学反应。

[0015] 其中,所述反应区形成于底板上面设置的柱状试剂升降柱的上端,供给管和排放管分别连接到反应区的部分在垂直方向上延伸且置于试剂升降柱中。

[0016] 优选地,所述反应区以预定的区域形成在试剂升降柱上表面,反应区由密封试剂升降柱上部的密封盖保护,所述观察窗形成在密封盖的中央。

[0017] 其中,优选在反应板的表面上平行地形成有多个所述试剂升降柱、反应区和密封盖,且与试剂升降柱的数量相对应地安装有多个微管。

[0018] 在这种情况下,所述微型阀优选包括:板状的主体;内置于主体中且彼此平行的多个所述微管;多个缓冲器,沿纵向设置于嵌入微管的区域的部分的上部;加压辊杆,为横截面为圆形的杆状构件,其长度方向与缓冲器交叉,设置于缓冲器上部,并沿着缓冲器的上部滚动以同时挤压多个缓冲器,以及使加压辊杆或主体可以沿着所述微管方向移动的驱动单元,所述主体内部具有多个彼此平行形成的微通道,所述微管内置于微通道中,主体和缓冲器由弹性材料制成,加压辊杆或主体中任意一者因驱动单元而移动时,加压辊杆沿缓冲器的上部滚动并挤压缓冲器,从而使缓冲器、微通道以及微管被加压辊杆压缩,随着形成的压缩点的移动,使内置于微管中的样品移动。

[0019] 此时,所述微通道还包括上部形成的压力释放部,该压力释放部优选为缓冲器断开的部分,多个微通道中的每个微通道的压力释放部彼此错开地形成,当滚动缓冲器上部的加压辊杆到达压力释放部上部时,微管和微通道的压力被释放,还包括设置在所述排放管中的抽吸泵,用于当加压辊杆到达压力释放部的上部时,吸入填充在压力释放部下部的微管中的多个样品,以便向所述反应区的方向输送多个样品。

[0020] 另外,优选地,所述压力释放部形成为:加压辊杆进行滚动时,从多个微通道的一端的微通道到另一端的微通道能够依次接触加压辊杆。

[0021] 并且,优选地,将多个反应区中的每一个设置的排放管全部连接到一个排放孔,并且所述抽吸泵被设置连接到一个排放孔上。

[0022] 另一方面,优选地,微型阀包括:基座,设置在主体下方;旋转支撑架,固定地设置在基座的两侧,内部设有轴承,并连接至所述加压辊杆的两端,固定加压辊杆并能够使其旋转,进一步包括线性马达,该线性马达用于使微型阀在轴承及加压辊杆之间向前或向后移

动。

[0023] 发明效果

[0024] 本发明的微流体连接装置,相较于常规ELISA中使用的96孔板,不仅能够更快地实施抗体免疫反应分析,并且即使是非常少量的样品也可以进行分析,因此成本低廉,通过自动执行包括中间洗涤的多个反应过程,具有可以减少实验人员的劳动的效果。

附图说明

[0025] 图1为本发明的反应装置进行的免疫反应示意图;

[0026] 图2a为本发明的反应装置的示意性立体图;

[0027] 图2b为图2a中的试剂升降柱的放大立体图;

[0028] 图3a为图2b的侧视截面图;

[0029] 图3b为图3a的分解图;

[0030] 图3c为示出图3a的变型实施例的侧视截面图;

[0031] 图4为图2a中反应板的照片;

[0032] 图5为图2a中的微型阀的局部平面图;

[0033] 图6a为表示图5中通道上部缓冲器原理的主视剖面图;

[0034] 图6b为示出通道上部缓冲器的变型实施例的立体图;

[0035] 图7为表示图2a的微型泵的整体结构的照片;

[0036] 图8为示出图7的微型泵的工作顺序的照片;

[0037] 图9为示出7种浓度的cTnI的色差的照片;

[0038] 图10为添加的样品量与反应时间之间的关系图;

[0039] 图11为示出图9各图片中添加样品量与cTnI浓度的曲线图;

[0040] 图12为注入的样品量与浓度之间的关系图;

[0041] 图13为本发明的ELISA和常规ELISA工序的对照表。

具体实施方式

[0042] 为了解释依据本发明构思的实施方式,示例性地给出了本发明实施例中所呈现的特定结构以及功能性的描述,并且可以以不同形式的实施方式实现本发明的构思。此外,不应将其解释为仅局限于本说明书中描述的实施例,应理解为包括本发明的思想和技术范围内包括的所有修改物、等同物或替代物。

[0043] 下面,参照附图详细描述本发明。

[0044] 本发明的微流体连接装置由图2所示的反应板(10)构成。

[0045] 反应板(10)包括:板状的底板(11);反应区(15),由微管(24)供应的样品在反应区中发生化学反应,反应区(15)具有观察化学反应的观察窗,且设置在底板的上表面;连接反应区(15)和微管(24)的供给管(13)以及用于从反应区(15)排出反应物的排放管(14)。

[0046] 其中,柱状的试剂升降柱(12)设置于底板(11)的上表面上,反应区(15)形成在试剂升降柱(12)的上端。内置于试剂升降柱中供给管(13)和排放管(14)分别在垂直方向上延伸,以分别与形成于试剂升降柱(12)上端的反应区(15)连接。

[0047] 试剂升降柱(12)制成如图2a所示的柱状,因此其形状与在常规生物免疫反应实验

中使用的密集地插入96孔板中的烧杯或精细烧杯形状相同。因此,它可以与使用各种常规96孔板进行分析实验所需的设备(例如用于加工常规96孔板的烤箱或循环仪)一起使用。

[0048] 但是,在试剂升降柱(12)中,反应区(15)设置在顶部,反应仅在试剂升降柱(12)的上表面形成的小体积的空间内进行,因此,相较于常规的96孔板,显著地减少了所需的试剂以及待测物的量,即使是非常少量的试剂或待测物,就能够实现在常规96孔板中进行的目標分析实验。

[0049] 另外,在试剂升降柱(12)的最上端形成有反应区(15),并且在其下方的内部空间垂直地内置有供给管(13)和排放管(14),供给管将试剂或待测物供应到反应区(15),排放管用于排出反应区(15)的反应物,尽管所需的样品量极少,但是由于发生反应的位置位于最容易观察到的反应区(15)的最上端,因此与常规的96孔板相比,反而更容易观察到反应。

[0050] 如图2a和图2b所示,为了方便观察,在试剂升降柱(12)最上端形成的反应区(15)的上部具有观察窗。但是,由于观察窗透明,在图2a和图2b中无法看到,反应区(15)的上部具有观察窗。尤其是,观察窗形成于用于封闭试剂升降柱(12)的密封盖(16)的上表面中心。

[0051] 如图2b所示,密封盖(16)密封包括反应区(15)的试剂升降柱(12)的上部。由于密封盖(16)可拆卸地与试剂升降柱(12)连接,当需要紧急提取反应物时,将密封盖(16)与试剂升降柱分离,就能够从反应区(15)中直接提取。另外,当反应区(15)需要进行消毒以及清洗时,将密封盖(16)从试剂升降柱(12)剥离开来,可进行消毒或清洗。此时,也能够使用清洗常规的96孔板的专业设备进行清洗。

[0052] 反应区(15)形成于密封盖(16)内部顶板与试剂升降柱(12)上表面的交汇处。形成反应区(15)的空间具体是通过在试剂升降柱(12)的上表面上加工形成的具有一定形状图案而形成的空间,例如图3a所示的宽六边形形状。因此,当密封盖(16)连接到试剂升降柱(12)的上表面时,所述加工的图案形状的空间即成为反应区(15)。

[0053] 此时,捕获抗体被固定在密封盖(16)的内部顶板上,即观察窗的底面上。捕获抗体的固定与常规免疫反应试验中使用96孔板时的情况相同,特定捕获抗体固定于孔内并且是可商购的。

[0054] 常规的96孔板是通过由彼此并排连接8个孔组成的12行孔汇聚形成。此时,如图2a所示,可以使用彼此连接的8个密封盖(16)。

[0055] 尤其是,由于图2a所示的由8个孔组成的市售密封盖(16)已经在抗体已经为内部顶板上固定有捕获抗体状态下,本发明中可以直接将市售的96孔板用作本发明的密封盖(16),而无需另外制作密封盖或者在制备好的密封盖上另外固定捕获抗体。

[0056] 当将这种市售的8个孔组成的密封盖(16)连接到8个试剂升降柱(12)上部时,由于8个孔将试剂升降柱(12)的上表面密封,反应区(15)成为密闭状态,成为可以利用捕获抗体进行抗原-抗体反应的状态。

[0057] 如图2b和图3a所示,反应区(15)接受由供给管(13)供给的样品或待测物,通过排放管(14)排出反应后的剩余物质或者中间清洗后的洗涤水。反应区(15)在如图3a中以六面体形状的平面形示出,但对反应区(15)的形状没有特别的限定,如图2b所示,也可以形成圆形。尽管反应区(15)具有一定的面积,但观察窗与反应区(15)之间的间距,即构成反应区(15)的空间的高度极其微小,因此,反应仅需要极少量的样品或待测物就能够进行操作。因此,本发明的微流体反应装置具有:反应所需的样品量极少,即使对于昂贵的样品也仅需要

少量即可,与现有技术相比,具有显著降低成本的效果。

[0058] 如图2b和图3a所示,供给管(13)和排放管(14)分别与注入孔(17)和排放孔(18a)连接。如图2b所示,注入孔(17)和排放孔(18a)可以为简单的孔的形式,或者如图2a及图3a所示,还可以包括底板(11)上部突出的短管。

[0059] 如图2b和图3a所示,供给管(13)和排放管(14)由试剂升降柱(12)的下端至注入孔(17)或排放孔(18a)的区间,水平方向内置于底板(11)上。

[0060] 参照图3c所示,试剂升降柱(12)可以形成于底板(11)的底面。此时,注入孔(17)和排放孔(18a)设置在底板(11)的上表面。这样布置是因为常规96孔能够用作密封盖,当96孔中内置有流动性物质时,能够观察到如图3c所示的连接以及排布。

[0061] 底板(11)可以选择价廉且耐化学性优异的任何材质。底板(11)的材质例如可以为PDMS(聚二甲基硅氧烷, Polydimethylsiloxane)等透明度好、耐久性强且加工性优异的材质。

[0062] 底板(11)可以由2个板(111, 112)重叠的形式制造。此时,供给管(13)和排放管(14)的水平部分插入到构成底板(11)的2个板中,即插入到上板(111)和下板(112)之间,或者,供给管(13)和排放管(14)形成为在上板(111)的底面或下板(112)的顶面上的、上板(111)和下板(112)彼此接触的部分形成的水平方向的凹槽。

[0063] 并且,反应板(10)可以与向反应板(10)供给样品的微型阀(20)连接。

[0064] 微型阀(20)上内置有细管状的微管(24),当微管(24)中填充有样品时,设有使样品移动的流体移动单元。后续将参照下述图5至图8详细说明微型阀(20)。

[0065] 在本发明中,如在图2a所示的实施例中,在底板(11)的上表面上平行地布置有多个试剂升降柱(12)。因此,如在常规的96孔板中一样,可以同时多个相关的反应实验。此时,将微型阀(20)与反应板(10)连接的微管(24),也与如图2a所示的试剂升降柱(12)数量相对地一一连接。

[0066] 如图5所示,微型阀(20)包括:板状的主体(21);内置于主体(21)中且彼此平行的多个微管(24);多个缓冲器(22),沿纵向设置于嵌入微管(24)的区域的的上部;加压辊杆(25),为横截面为圆形的杆状构件,其长度方向上与缓冲器(22)交叉,设置于缓冲器(22)的上部,并沿着缓冲器(22)上部滚动以同时挤压多个缓冲器(22);以及使加压辊杆(25)或主体(21)可以沿着微管(24)方向移动的驱动单元(图中未示出)。

[0067] 根据图6a所示的实施例,内置有微管(24)的主体(21)可以由上板(212)和下板(211)以重叠的形态制成。其中,微通道(241)形成于上板(212)的底面,由于上板(212)由弹性材料制成,因此,当微通道(241)上部的缓冲器(22)受到压力时,压力通过上板(212)传递,使得微通道(241)如图6a的右侧图片所示变得扁平。如图6a所示,当微通道(241)在压力下变平时,最终内置于微通道(241)中的微管(24)扁平变形并被堵塞。其中,将微管(24)变得扁平的点在下文中称为“压缩点”。

[0068] 由于加压辊杆(25)的垂直下部形成有所述“压缩点”,因此,当加压辊杆(25)沿着缓冲器的上部移动时,压缩点也与加压辊杆(25)一起移动。但是,在此移动的主体可以是加压辊杆(25),或者是加压辊杆(25)可以仅在原地旋转,移动其中内置有微管(24)的主体(21)。移动方向为沿着微管(24)的纵向方向形成的缓冲器(22)的纵向方向。

[0069] 如图5和图6a所示,缓冲器(22)具有将加压辊杆(25)的压力传达至微管(24)来密

封微管(24)的一点的的作用。微管(24)的密封就发生在所述压缩点上,压缩点使得微管(24)内部填充的样品或待测物由于加压辊杆(25)和主体(21)的相对静止而不移动。

[0070] 但是,只有当加压辊杆(25)或主体(21)中任意一个移动时,微管(24)内部填充的样品或待测物(以下,称为“样品等”)才会移动,由于调节微量样品的移动距离仅仅依靠加压辊杆(25),如图5所示,多个微管(24)相互平行排列,并且根据所需的反应时间在每个微管(24)内部的不同的位置填充,因此,在微管(24)内的样品等的到达时间不同。由于移动中的误差,各微管(24)内部的样品等的移动速度或顺序也会不同。

[0071] 因此,本发明中,为了使各个微管(24)中填充的样品等依据实验计划,按顺序依次达到反应区(15),设有压力释放部(23)和抽吸泵(30)。

[0072] 如图5所示,压力释放部(23)为缓冲器(22)断开部分。缓冲器(22)断开的部分如图6a右侧图所示可知,即使从上部挤压加压辊杆(25),微通道(241)和微管(24)不受到挤压、不被压缩。因此,若从微管(24)的任意一端吹入或者吸入空气,则样品等随之处于可移动的状态。

[0073] 如图2a所示,抽吸泵(30)连接至反应板(10)上形成的排放孔(18a)上。反应板(10)上形成有一个排放孔(18a),与多个反应区(15)中的每一个相连,从反应区(15)排出反应残余物的多个排放管(18b)全部连接至一个排放孔(18a)。这是因为多个排放管(18b)的每一个均设置抽吸泵(30)的话,不仅费用上升,若是通过控制多个抽吸泵(30)来控制到达各反应区(15)的样品等的速度的话,则还需要能够按序控制抽吸泵(30)的控制系统,为此也增加了所需的费用。

[0074] 因此,在本发明中,在一个排放孔(18a)上设置一个抽吸泵(30),相应地,在缓冲器(22)上按照希望的反应顺序依次形成压力释放部(23)。并且,当加压辊杆(25)和主体(21)之间发生相对运动时,任意一个微管(24)上部形成的压力释放部(23)与加压辊杆(25)相遇,该微管(24)变成压力释放状态。其中,抽吸泵(30)运转时,样品等仅在已经释放压力的微管(24)内部移动。

[0075] 压力释放部(23)根据所期望的反应顺序依次形成。由图5可知,由于安装了抽吸泵(30),因此加压辊杆(25)在前进过程中,按照与压力释放部(23)相接的顺序,在与压力释放部(23)连接的反应区(15)内进行反应。

[0076] 参照图6a,除了形成压力释放部(23)状态下的微管(24)以外,其他微管(24)由于加压辊杆(25)而均处于压缩的状态。由于仅有位于加压辊杆(25)下部的压力释放部(23)的微管(24)处于打开状态,当运转抽吸泵(30)时,样本等仅从打开的微管(24)移动以进入反应区(15)。

[0077] 另外,由于设置了抽吸泵(30),即使加压辊杆(25)没有多次移动以推出样品等,当加压辊杆(25)处于压力释放部(23)上部时,由于产生吸力,样品等可以通过压力立即到达反应区(15)。因此,由于抽吸泵(30)和压力释放部(23)之间相互作用,使得整个反应分析工艺能够快速地进行。

[0078] 另外,当样品等由于运转抽吸泵(30)而向反应区(15)移动时,为了在一个反应区(15)中发生2个以上相关联的反应,在任意一个反应后,除了所需的物质外,还需要排放残留物。因此,如图3a所示,第一样品(a-1)和第二样品(a-2)以及第3样品(a-3)之间分别填充第一洗涤液(b-1)和第二洗涤液(b-2),洗涤反应区(15)后,为进行下一步反应做准备。作为

在一个反应区中发生这种连续反应的例子,可以参照前序背景技术部分中参照图1所描述的ELISA。在这种情况下,第一抗体预先包覆在反应区(15)中,第一试剂(a-1)为目标抗原,第二试剂(a-2)为三明治形态结合的第二抗体,第三试剂(a-3)为酶底物。

[0079] 由于这种连续反应发生在常规96孔板中的杯底部,即便消耗大量高价样品,也存在更难观测的问题,而在本发明中,即使使用极少量的样品,能够在最佳观测位置观察到反应。

[0080] 另外,根据实验需要,可能需要在各微管(24)之间变化或调整压力释放部(23)的位置。为了应对这种情况,如图6b所示,缓冲器(22)单独制造以与上板(212)分离,从而在期望的位置形成压力释放部(23)。缓冲器制成一定长度的模块形式,并且在上板(212)的上表面上形成有可拆卸地固定缓冲器(22)的缓冲器把持凸起(29)。

[0081] 如图6b所示,缓冲器把持凸起(29)可以在缓冲器(22)的长度方向上的一端和另一端固定的形式设置。其中,缓冲器把持凸起(29)也由弹性材料形成。因此,当加压辊杆(25)通过时,缓冲器把持凸起(29)不妨碍缓冲器(22)的收缩,并且能够一并压缩缓冲器(22)和缓冲器把持凸起(29)。

[0082] 加压辊杆(25)沿着缓冲器(22)的上部移动,挤压缓冲器的过程可以在加压辊杆(25)自身沿着缓冲器(22)的长度方向移动的同时进行,或者,构成微型阀(20)的主体(21)自身移动,此时,加压辊杆(25)可以被固定在原地并且仅旋转。

[0083] 在图7所示实施例中,缓冲器(22)原地旋转、主体(21)为可移动状态。为了实现该功能,微型阀(20)包括:设置于主体(21)下部的基座(28);旋转支撑架(26),固定设置于基座(28)的两侧,内部设有轴承(图中未示出),并连接至加压辊杆(25)的两端,以可旋转的方式固定加压辊杆(25);还包括能够使主体(21)在轴承和加压辊杆(25)之间前进或后退的线性马达(27)。此时,构成微型阀(20)的主体(21)和反应板(10)固定地连接在一起并且移动时,即使没有将微管(24)的长度制成比所需的长度更长,微管(24)也不会由于受到张力而被从注入孔(17)拔出并与注入孔(17)分离的现象。

[0084] 通过这样的配置,线性马达(27)拉动主体(21)的过程仅需一次,就完成了每个反应区(15)中一系列的多个反应,并且反应区(15)内可以按所需顺序进行并完成全部反应。此时,当加压辊杆(25)置于任何一个压力释放部(23)中时,线性马达(27)停止,然后,抽吸泵(30)通过开放压力释放部(23)的微管(24)依次吸入样品(a-1,a-2和a-3)以及洗涤液(b-1和b-2),所有相继的反应都在与微管(24)连接的反应区(15)中进行,其中加压辊杆(25)位于压力释放部(23)上部,并且在此期间线性马达(27)停止动作。

[0085] 该过程在图8的照片中示出。在图8中,反应按照(a)(b)(c)(d)(e)(f)的顺序进行。

[0086] 另一方面,反应清楚进行所需的样品量在图9的照片中表示。图9中所示的八张图片是从反应区(15)的上方拍摄的,每张图片显示的是:当施用不同量的样品时,通过颜色的强度指示反应程度的场景。

[0087] 图9的照片是当在本发明的微流体反应装置中进行与用于定量检测心脏肌钙蛋白I(cTnI)蛋白的实际ELISA程序相同的反应程序时,反应区的颜色变化。其中,第一抗体被包被在反应区(15)中,首先,依次通过15 μ L cTnI抗原(cTnI蛋白,Enzo Biosemic,美国)、45 μ L洗涤液和与15 μ L HRP底物结合的二抗,按照抗原结合反应、洗涤、第二抗体结合反应的顺序进行。

[0088] 这种情况下,图9显示了当15 μ L cTnI抗原中的cTnI为八种不同浓度时,其颜色变化。此时,在97.5pg/mL浓度下已经能够清晰地观察到检测反应,而在高于390pg/mL的浓度下,即使提高cTnI的浓度,其颜色也相同,为了清晰地观察反应,只要浓度为3a90 pg/mL以上时,就能够成功地实现实验工序。

[0089] 另一方面,图10的图表中,一系列点表示酶底物的反应时间和产生的反应物的量。由图10可知,直到某一点为止,随着反应时间的增加,反应物的生成量增加,在某一点以后,即使再经过一定时间,反应物的生成量仍相同。即,可知:如本发明所示,消耗样品等的量越少,所需的反应时间越短。

[0090] 图11和图12所示的图表中,显示了根据cTnI浓度的产物的量,是与上述图9所示的图相对应的曲线图。可以看出,随着cTnI浓度的增加,产物的量呈线性相关,但是由于获得清晰的反应结果的浓度为如前所述的97.5pg/mL,因此无需将cTnI的浓度增加至该浓度以上。

[0091] 图13所示的表是比较使用常规96孔板的ELISA反应过程与使用本发明的微流体反应装置的情况下的ELISA反应过程中消耗的样品量和消耗反应时间所得的数据。最左边的数据是依据本发明的情况所需的量和时间,相较于常规方式,可知:本发明中消耗的样品量和反应时间明显更少。

[0092] 如上所述,在本发明中,由于以极低的高度形成反应区间,因此即使样本量少也可以进行免疫反应检测,因此,可以大幅度降低成本和时间。另外,由于抽吸泵和压力释放部之间的相互作用,多个通道可以独立且按序地反应。并且其可以自动、方便地进行操作,无需任何准备程序,例如在一个反应区内的一系列反应中,每次都利用移液器提供试剂或者在反应与反应之间进行清洗精细烧杯等准备工序。因此,无需辛苦地、长时间集中地进行免疫反应试验,并且进一步缩短了整个反应过程所需的时间。

[0093] 因此,即使在需要紧急检查的危及情况下,本发明的检查设备也可以在现场进行就地检查,具有能够大幅度提升医疗服务质量的效果。

[0094] 上述本发明不限于上述实施方式和附图,在本发明的技术精神范围内可以进行各种替换,修改和变更,对于本领域技术人员来说是显而易见的。

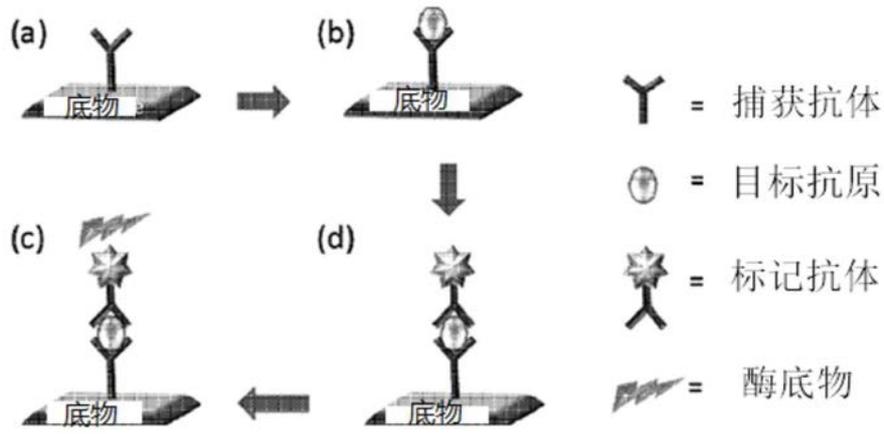


图1

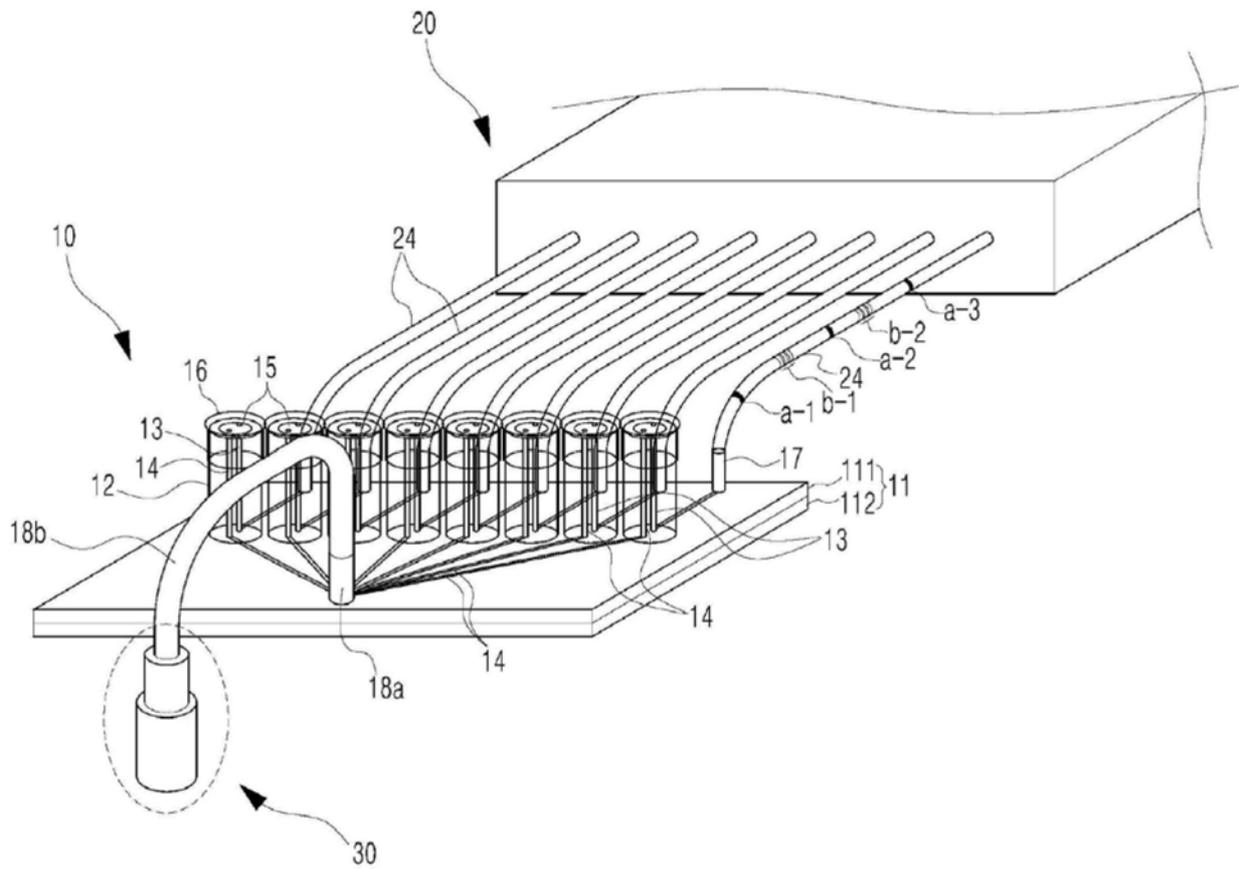


图2a

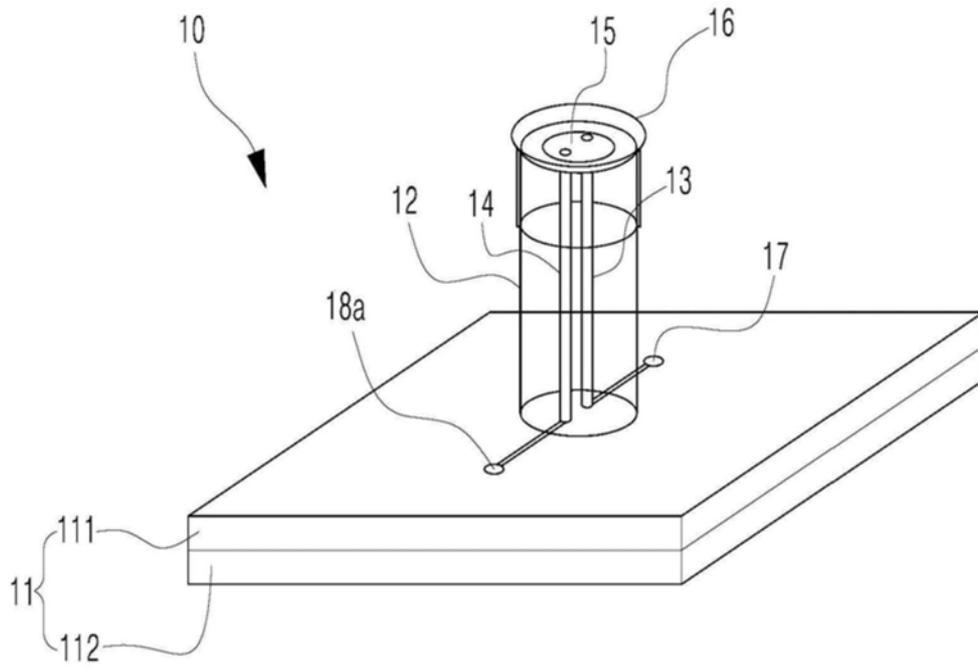


图2b

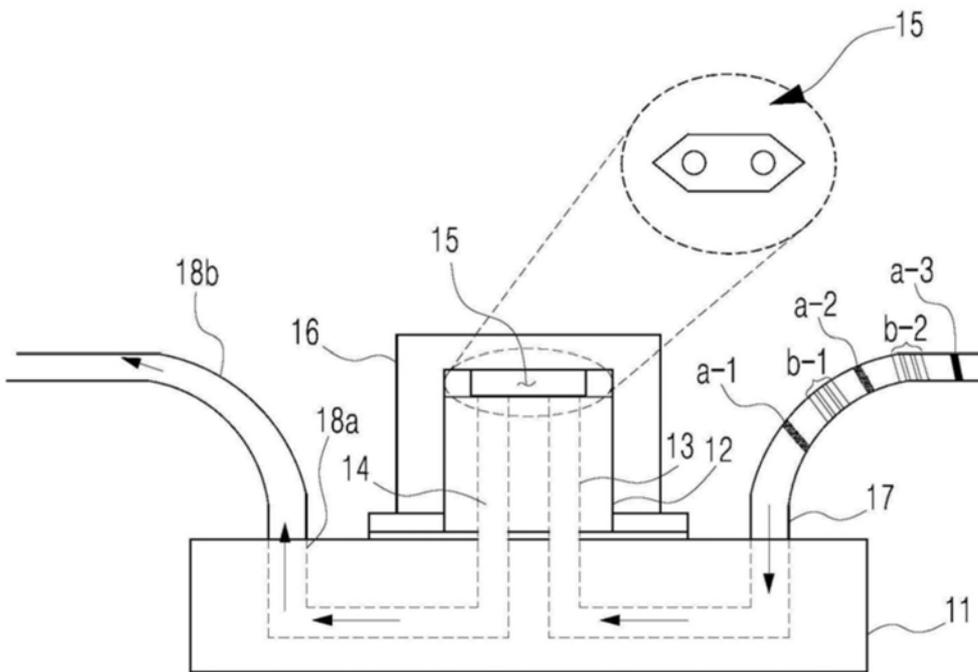


图3a

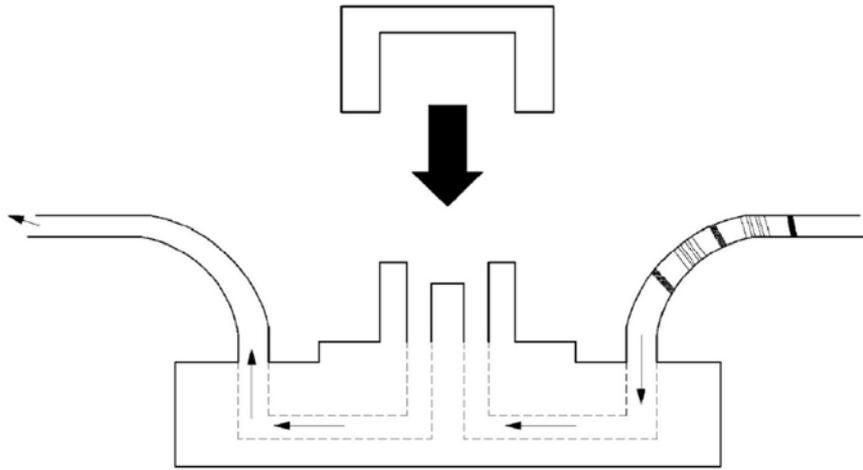


图3b

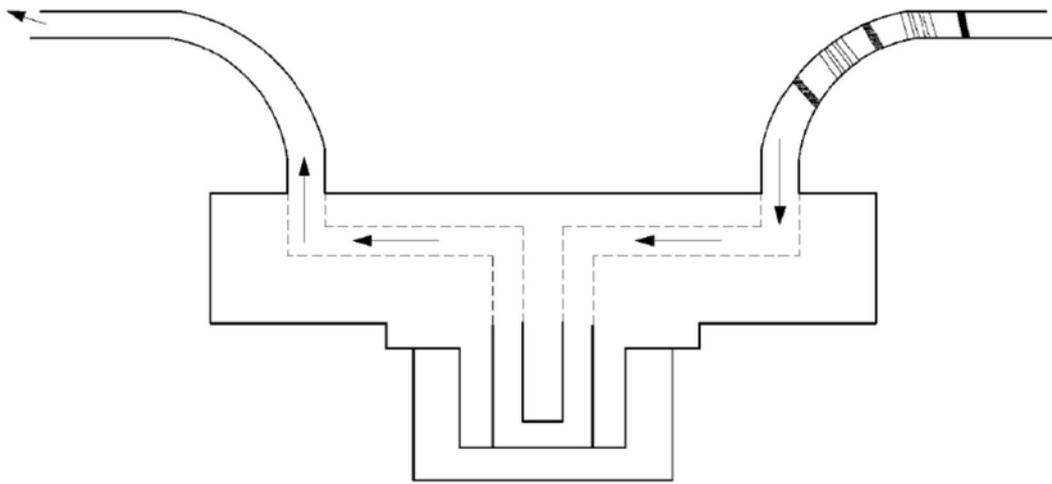


图3c

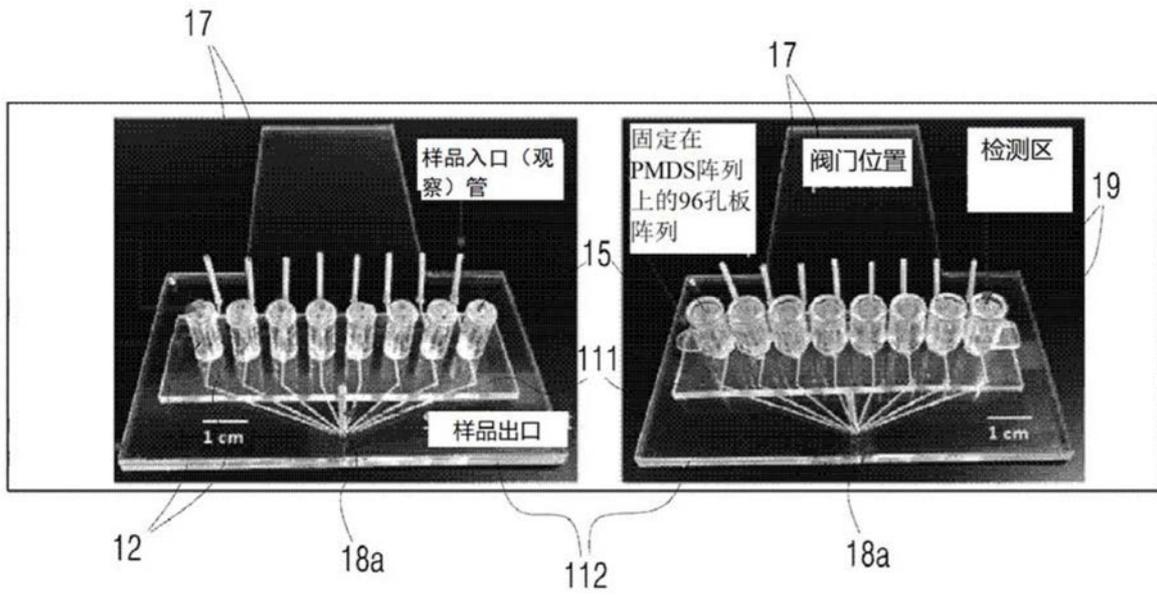


图4

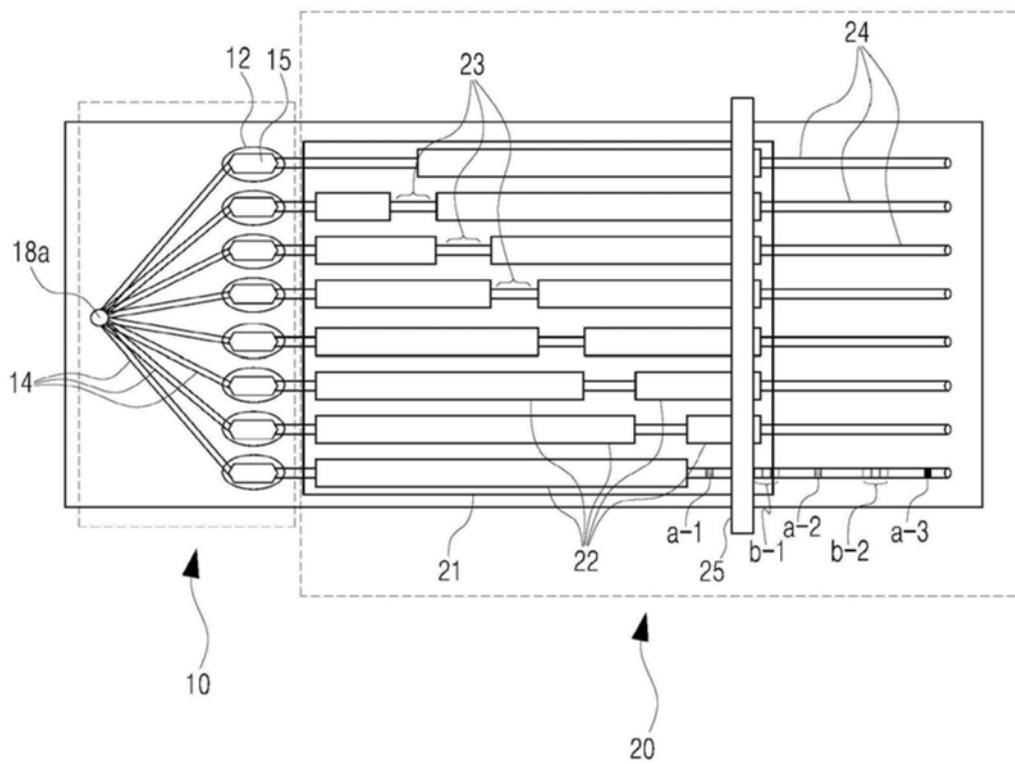


图5

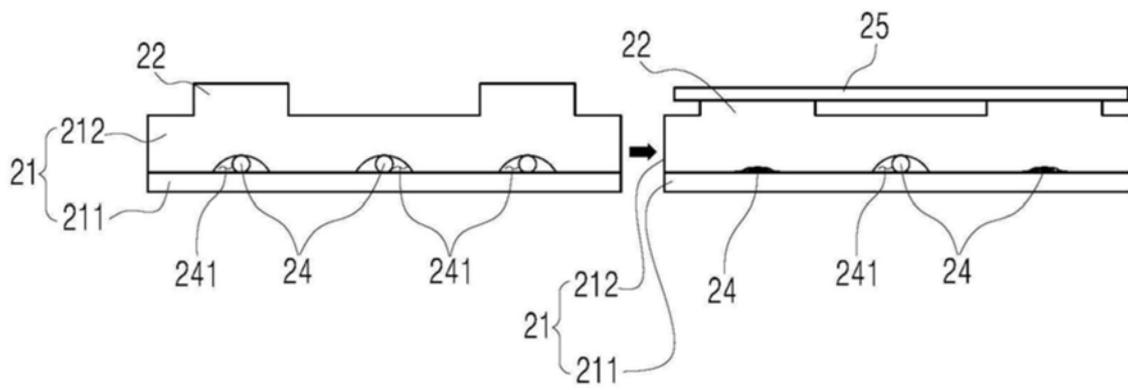


图6a

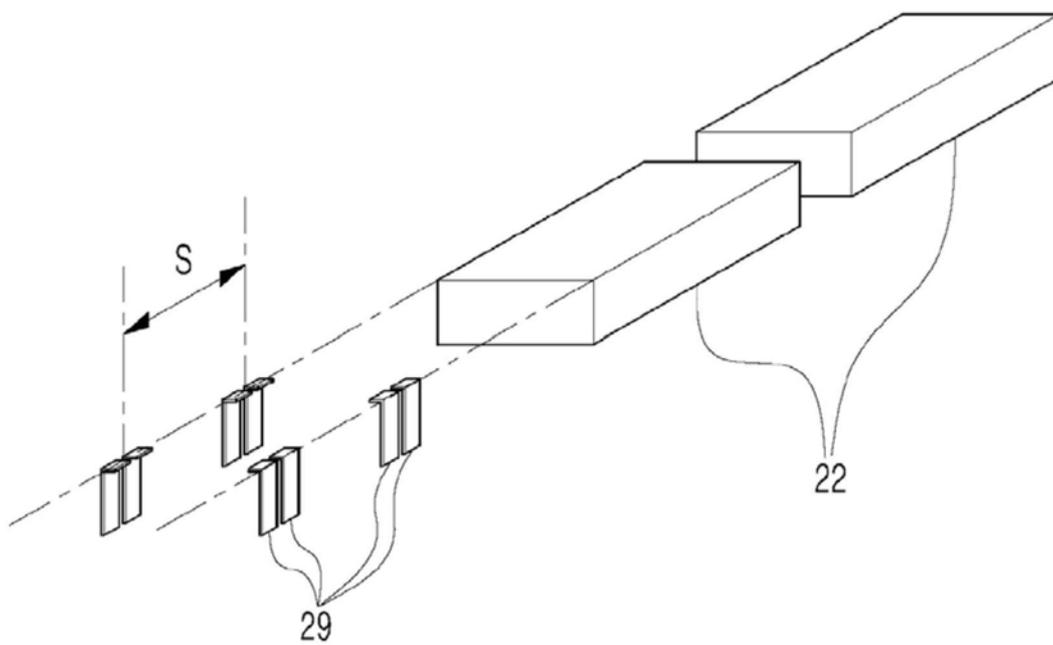


图6b

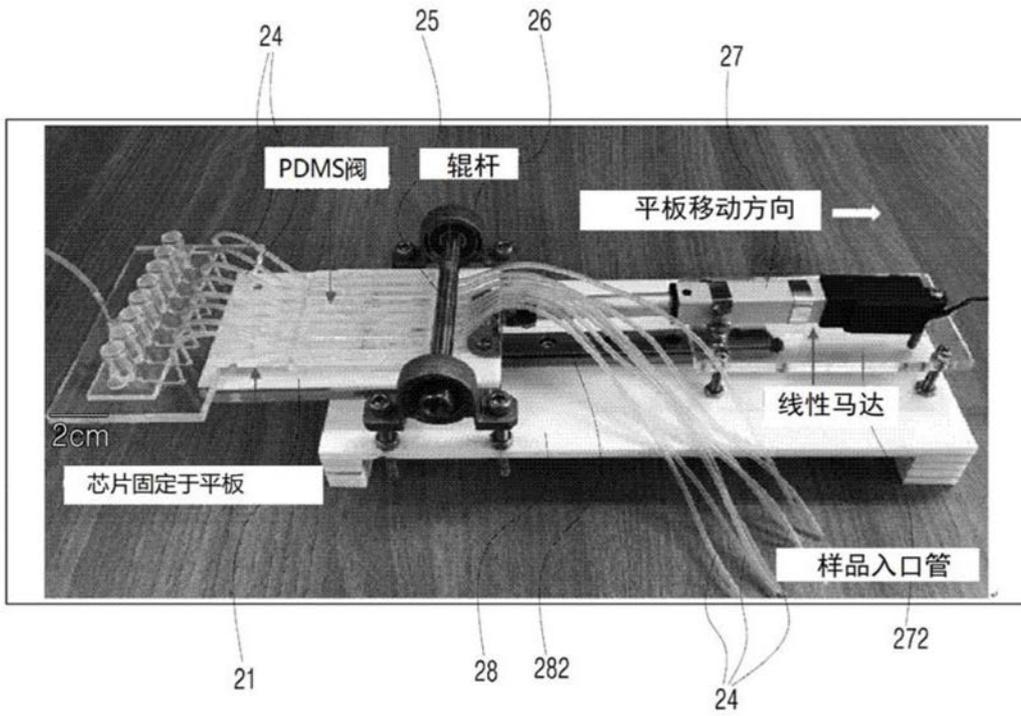


图7

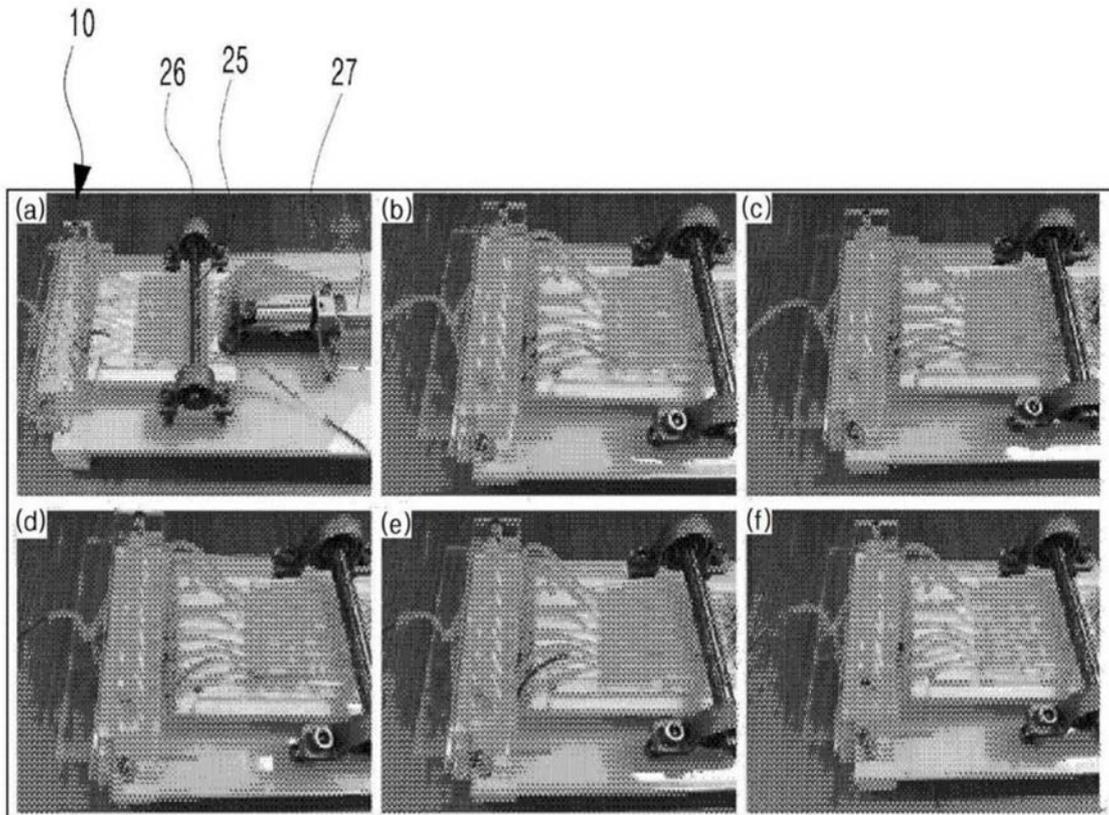


图8

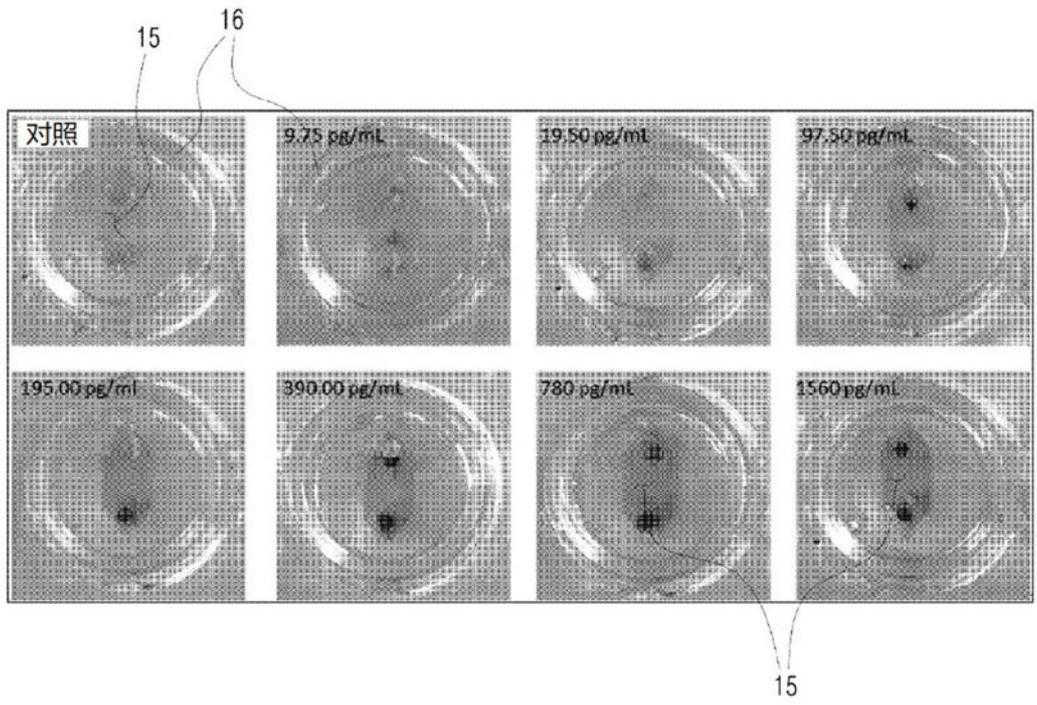


图9

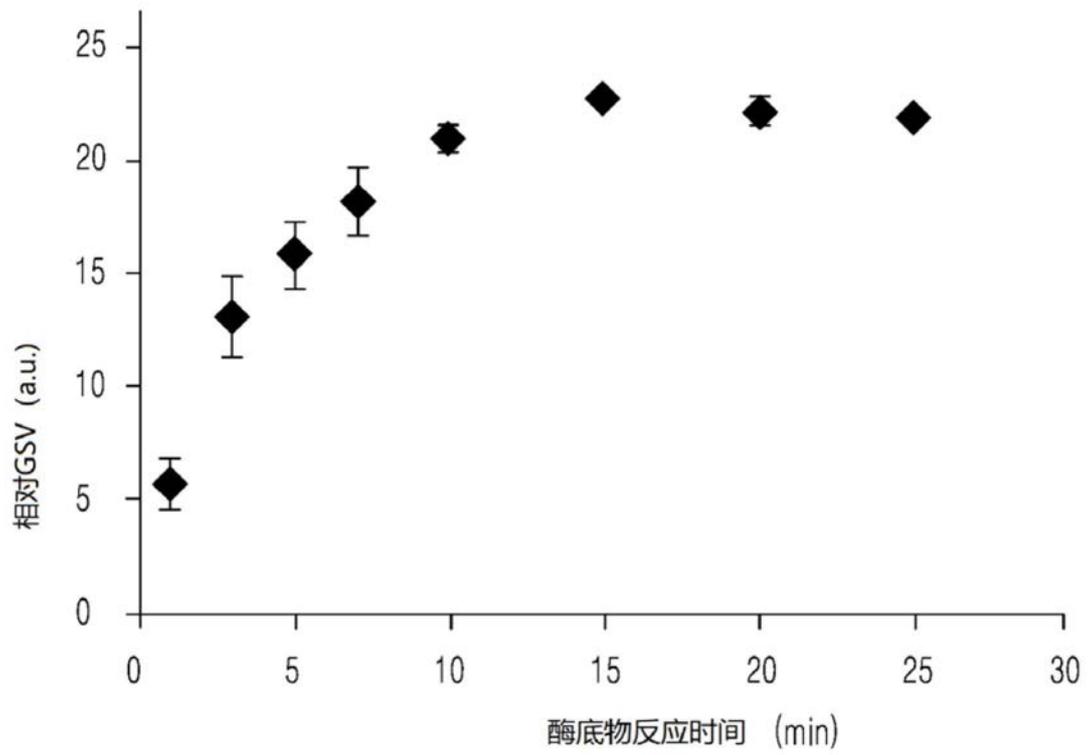


图10

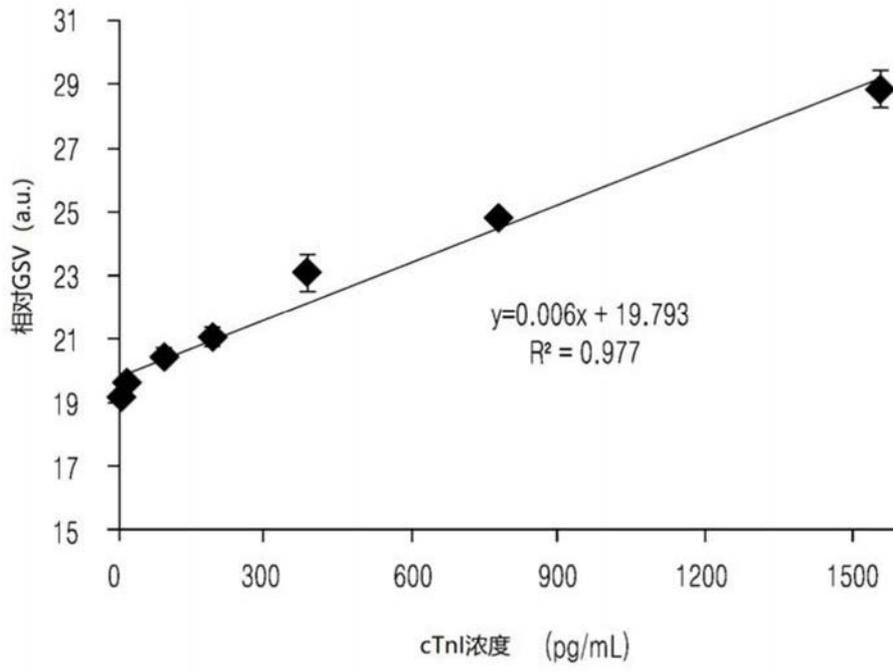


图11

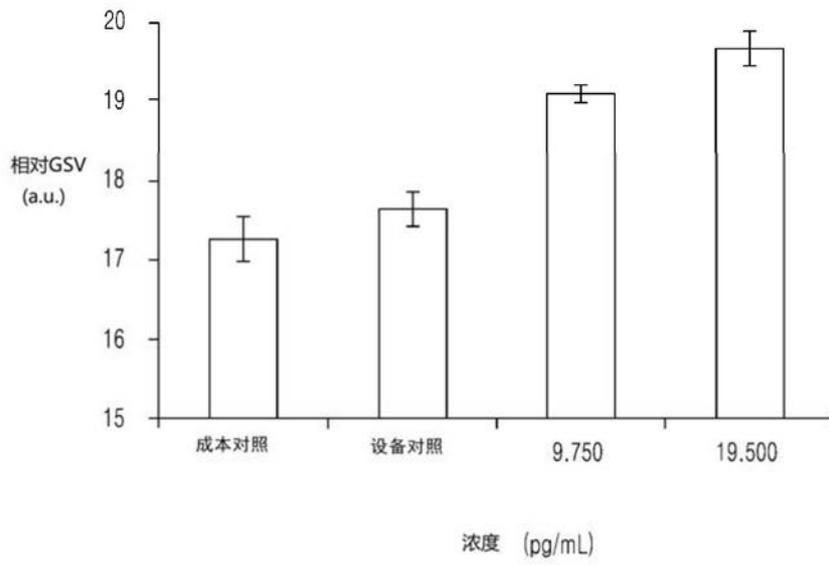


图12

	拟议的微流平台 ELISA		常规ELISA		Enzo手册中建议的 常规ELISA	
抗原/酶联第二抗 体/酶底物/检测方 法	cTnI/AV-HRP第二抗 体/HRP酶底物/使用 ELISA读取器进行比色分 析		cTnI/单克隆(M)抗 体/HRP酶底物/使用 ELISA读取器进行比 色分析		cTnI HV-HRP 第二抗 体/TMB酶底物/使用 ELISA读取器进行比色分 析	
时间和试剂	<u>体积</u> [μL]	<u>时间</u> [min]	<u>体积</u> [μL]	<u>时间</u> [min]	<u>体积</u> [μL]	<u>时间</u> [min]
抗原固定化	15	10	100	60	100	60
抗体复合物形成	15	10	100	8 * 60	100	60
信号放大	15	15	100	30	100	20~30

图13