



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112840012 A

(43) 申请公布日 2021.05.25

(21) 申请号 201980065110.7

(22) 申请日 2019.09.19

(30) 优先权数据

16/148,282 2018.10.01 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.04.01

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CA2019/051330 2019.09.19

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/069603 EN 2020.04.09

(71) 申请人 SM分子生物研究有限公司

地址 加拿大安大略省

(72) 发明人 肖立峰 吴元民 陈元骥

(74) 专利代理机构 上海胜康律师事务所 31263

代理人 樊英如 张静

(51) Int.Cl.

C12M 1/00 (2006.01)

C12M 1/38 (2006.01)

C12Q 1/686 (2006.01)

C12Q 1/6806 (2006.01)

B01F 15/02 (2006.01)

B01F 3/08 (2006.01)

B01L 3/02 (2006.01)

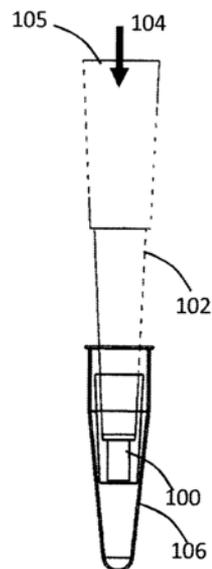
权利要求书2页 说明书7页 附图12页

(54) 发明名称

用于形成微液滴的微量移液器吸头

(57) 摘要

提供了一种用于生成应用于数字聚合酶链反应的微液滴乳液的微液滴乳化器。该装置包括容纳分散相液体的微量移液器；附接到微量移液器并具有多个基本上扁平的微通道的液滴生成器。分散相液体被迫通过微通道以在腔室内部在连续液体相中形成分散液体相的微液滴乳液。微液滴的大小由微通道的形状和纵横比、微通道的深度以及决定微通道上液滴的接触角的微液滴生成器头的材料来控制。



1. 用于生成应用于数字聚合酶链反应的微液滴乳液的微液滴乳化器,所述微液滴乳化器包括:

a) 具有入口和出口的微量移液器;

b) 微液滴生成器头,其具有敞开的顶部以附接到所述微量移液器的所述出口,并具有多个基本上扁平的微通道,其中每个所述基本上扁平的微通道具有长度,以及具有高度和宽度的剖面形状。

c) 包含连续相液体的腔室,其中插入有所述微液滴生成器;

由此,分散相液体被迫通过所述微液滴生成器头并流动通过所述多个基本上扁平的微通道,以在所述腔室内在所述连续相液体中生成所述分散相液体的多个微液滴,并且由此,每个所述微液滴的大小都由每个所述基本上扁平的微通道的所述形状、所述长度,以及由所述微液滴生成器头的材料限定的所述微液滴的接触角来控制。

2. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中每个所述基本上扁平的微通道均通向较大的孔,其中所述较大的孔的尺寸被设置为允许形成具有预定直径的微液滴,并且由此所述连续相液体进入所述较大的孔并加速形成在所述较大的孔内部的所述微液滴的掐断过程。

3. 根据权利要求2所述的微液滴乳化器,其中所述较大的孔为圆柱形或椭圆形或矩形。

4. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中每个所述基本上扁平的微通道都包括连接至次级微通道的初级微通道,并且其中所述次级微通道相对于所述初级微通道是横向的。

5. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中每个所述基本上扁平的微通道都包括连接至次级微通道和三级微通道的初级微通道,其中所述次级微通道和所述三级微通道与所述初级微通道一起形成星形剖面形状。

6. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中所述微液滴生成器头具有基本上平坦的底壁,并且其中所述多个基本上扁平的微通道形成在所述基本上平坦的底壁中。

7. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中所述微液滴生成器头具有基本上平坦的底壁和多个侧壁,并且其中所述多个基本上扁平的微通道形成在所述底壁和所述多个侧壁中。

8. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中所述微量移液器的所述出口的直径为至少1mm。

9. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中所述微量移液器的体积在10微升至1毫升的范围内。

10. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中所述多个基本上扁平的微通道的数量和图案是预定的,以避免所述微液滴的聚结或生成中断,其中两个相邻的微通道之间的间隔是微液滴的预定直径的至少2倍,优选为3至5倍。

11. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中所述腔室是盖住所述微量移液器的所述出口的移液器盖帽,并且其中所述移液器盖帽填充有油溶液,从而在所述移液器盖帽内生成所述微液滴乳液。

12. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中所述高度在10至200微米的范围内,所述宽度在1至100微米的范围内,以及所述长度在10至500微米的范围内。

13. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中每个所述微通道的所述剖面形状为矩形或椭圆形。

14. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中每个所述微通道的纵横比被定义为所述通道的所述高度除以所述宽度,所述纵横比在3-40的范围内。

15. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中所述分散相液体是水性溶液,以及所述连续相液体是油基溶液。

16. 根据权利要求1所述的微液滴乳化器,其中所述微液滴生成器头由疏水性材料制成。

17. 用于生成应用于数字聚合酶链反应的微液滴乳液的微液滴乳化器,所述微液滴乳化器包括:

a) 具有入口侧和出口侧的微量移液器,其中所述出口侧具有在所述微量移液器的壁上切出的一组出口开口;

b) 尺寸适合于装配在所述一组出口开口中的一组膜,其中每个膜具有多个基本上扁平的微通道,其中每个所述基本上扁平的微通道都具有长度,以及具有宽度和高度的剖面形状;

c) 盖住所述微量移液器并包含连续相液体的微量移液器盖帽,

由此,所述分散相液体被迫通过所述微量移液器以在所述微量移液器盖帽的内部在所述连续液相中形成分散液相的微液滴乳液。

18. 根据权利要求17所述的微液滴乳化器,其中每个所述基本上扁平的微通道都包括连接至次级微通道的初级微通道,并且其中所述次级微通道相对于所述初级微通道是横向的。

19. 根据权利要求17所述的微液滴乳化器,其中每个所述基本上扁平的微通道包括连接至次级微通道和三级微通道的初级微通道,其中所述次级微通道和所述三级微通道与所述初级微通道一起形成星形剖面形状。

20. 根据权利要求17所述的微液滴乳化器,其中所述一组膜由疏水性材料制成,用于为每个所述微液滴形成大的接触角。

用于形成微液滴的微量移液器吸头

技术领域

[0001] 本发明总体上涉及一种用于乳化的装置,尤其涉及一种形成用于数字PCR的均匀微液滴的装置。

背景技术

[0002] 数字聚合酶链反应(dPCR)是一种对核酸(例如DNA、cDNA或RNA)进行直接定量和克隆扩增的系统。常规PCR通常用于测量核酸量,并且通过每个样本进行单个反应来进行。利用dPCR方法,也可以对样本进行单个反应,但是该样本被分离为大量的分区,并且该反应分别在每个分区中进行。这种分离允许对核酸量进行更可靠的收集和灵敏的测量。

[0003] 在dPCR中,对样本进行分区,使得该样本中的单个核酸分子定位并集中在许多单独的区域。单个核酸分子的捕获或分离可以在微孔板、毛细管、乳液的分散相和小型化腔室的阵列中,以及在核酸结合表面上进行。样本的分区使人们通过假设分子群体遵循泊松分布来估算不同分子的数量。结果,每个分区的样本将分别包含“0”或“1”个分子,或者阴性或阳性反应。在PCR扩增后,可以通过对包含PCR终产物阳性反应的区域进行计数来对核酸进行定量。在常规PCR中,PCR扩增循环数与起始拷贝数成正比。然而,dPCR不取决于扩增循环数来确定初始样本量,从而消除了对不确定指数数据的依赖以对靶标核酸进行定量,并且因此提供了绝对定量。

[0004] 本发明旨在形成应用于液滴数字PCR(Droplet Digital PCR)的乳化微液滴。在液滴生成期间,液滴的均匀性难以控制。数字PCR通常需要可充当微反应器的非常小的液滴。许多因素可能影响液滴形成的质量。在PCR中,液滴大小通常在10~500 μm 的范围内,优选的液滴数量小于10,000,000,否则检测成本会很高。作为消耗品,液滴生成器的制造成本可能阻止其在数字PCR中的应用。因此,本发明提供了一种新的方法来生成具有高均匀性、高效率、低成本和更加简单的液滴。

[0005] 自从提出数字PCR以来,已经发明了数百种方法和装置。典型的装置是来自美国BioRAD的ddPCR。ddPCR引入了具有生成液滴的错流的微流体通道。类似的方法被用于RainDrop dPCR系统,该系统还利用微流体通道来生成用于PCR的液滴。STILLA的Naica系统在微流体芯片中采用特殊的几何结构来生成大量均匀的液滴。这些装置是当前数字PCR市场中的典型产品,并且它们都利用一种微芯片形式来支持其样本分散。

[0006] 现有的方法已经要么利用剪切力要么利用自发的液滴生成方法来生成液滴。许多方法已经使用错流将连续相切成分散相。一些方法依赖于微通道的几何结构,其在分散相上施加压力以自破碎成液滴。后一种方法消耗较少的能量,并且其更易于控制。

[0007] 大量的现有技术装置使用上述方法。例如,US6281254使用阶梯状结构来自发地生成液滴。在这种芯片中,具有一定纵横比的微通道形成为在两层之间具有对准的基座。当液体线(liquid thread)流过通道时,体积变化导致流破碎并形成一系列液滴。

[0008] CN107427788A和JP2018511466A在其芯片中也使用了阶梯状结构来实现液滴的生成。与传统的一阶梯状结构相比,该装置具有多个阶梯。

[0009] US20130078164A1和US20150258543A1在具有连续几何变化的通道结构中使用倾斜的坡度。在这种情况下,表面张力将使扁平线断裂成一系列液滴。US9816133构造了一组这样的通道以大量生产液滴。在US20080314761A1和US20180085762A1中使用了类似的方法。

[0010] 大多数现有技术系统已经在芯片中构造了微通道。因此,这种乳化称为阶梯乳化或微通道乳化。这种类型的扁平通道结构也可用于膜中。US20090264550提出了一种用于热拉伸膜的制造方法,其可以引起初始微通道变形为扁平的微通道,例如将盒子变形为矩形或将圆形变形为椭圆。

[0011] 现有技术主要基于具有特定纵横比的几何结构。通过这种结构,表面张力是生成液滴的主要动力。在没有错流的情况下,仅需要单向能量输入来施加到分散相上,并且液滴的大小和均匀性仅取决于几何参数。

[0012] 与当前可用的装置和发明相关的问题是它们都已经在微芯片上实现了自发的液滴形成方法。然而,这种微芯片的制造是昂贵的,从而导致成品昂贵。

[0013] 本发明提供了生成小液滴的简单方法,而无需复杂的微流体技术。本发明利用改进的传统移液器吸头,其用于将流体转移至PCR装置。移液器吸头不昂贵并且通常用于大多数医学和生物学应用中。本发明可以有效地将传统的常规定量PCR装置升级为数字PCR仪器。用本发明提出的微量移液器吸头可以容易地生成均匀的液滴并进行热循环。连同单层图像处理方法一起,数字PCR的总成本还是会大大降低。

发明内容

[0014] 公开了一种用于生成微米级液滴乳液的微液滴乳化器。该微液滴乳化器包括微量移液器、附接到微量移液器的微量液滴生成头,以及其中形成有乳液的连续相液体腔室。该微液滴生成器头包括多个扁平微通道,该多个扁平微通道在液体通过其中时形成液滴。为了将液滴生成头装配到微量移液器上,需要切割传统的移液器吸头以扩大端孔。可以制造具有所需出口孔的任何尺寸的微量移液器。

[0015] 微液滴生成器头包括多个扁平微通道。扁平被定义为具有大的纵横比(即大的长宽比)的剖面形状。

[0016] 在本发明的一个实施方案中,仅存在一系列微通道。而在另一个实施方案中,每个微通道通向较大的微通道或孔。这是通过将两个不同的膜彼此粘结而实现的。一种膜具有较小的微通道,而另一种具有较大的微通道。通过对准通道并粘结两个膜,构成了本发明的两腔室系统。微通道是扁平的(呈狭缝形式或细长形式)。

[0017] 在本发明的另一个实施方案中,第二膜中的微通道在横向上覆盖在第一膜中的微通道上。当液体流流入这种跨通道系统时,由于显著的液滴变形,该流会迅速掐断。

[0018] 本发明主要应用于数字PCR应用中的液滴形成中。没有基于移液器吸头的用于数字PCR产品的现有技术。手动操作和自动化控制都可轻松实现。单个吸头或多个吸头都可用于实现成批液滴的形成。

[0019] 本装置可用于遗传测试、医学和生物学研究实验室以及遗传疾病和癌症的临床诊断。

[0020] 本发明的一个目的是提供一种用于数字PCR的装置。与当前的自发乳化相比,基于

微量移液器吸头的本发明使得有可能将传统的qPCR升级为数字PCR,从而使液滴生成在特定应用中更加灵活,降低数字PCR的成本。使用具有液滴形成功能的移液器吸头,PCR应用变得更广泛用于实验室中的手动操作或质量分析中的自动操作。

[0021] 本发明的另一目的是提供一种用于数字PCR的低成本、快速、更灵活且易于操作的装置。

[0022] 本发明的另一个目的是提供一种简易的方法来实现液滴形成,使数字PCR的成本最小化,使数字PCR的应用最大化以及容易地集成传统的qPCR系统。

附图说明

[0023] 在下文中,将结合提供的附图来描述本文的实施方案,这些附图被提供用以说明而不是限制权利要求的范围,其中,相同的标记表示相同的元件,并且其中:

图1是本发明的微液滴乳化器;

图2A示出了附接至移液器的微液滴生成器头;

图2B示出了在微液滴生成器头的底壁处的一组扁平微通道;

图3A是微液滴生成器头的立体图;

图3B示出了具有扁平微通道的图案的微液滴生成器头的底壁;

图4示出了高通量毛细管吸头;

图5A示出了用于轮廓表面上的膜支撑件的毛细管吸头结构;

图5B示出了轮廓膜上的扁平微通道阵列;

图6示出了管和吸头的附接方法,管旋转或吸头上下移动;

图7A示出了具有圆形通道和圆形孔图案的双面蚀刻图案;

图7B示出了圆形孔的剖面视图;

图7C示出了圆形孔的剖面的等距视图;

图8A示出了具有矩形阶梯状孔的双面蚀刻图案;

图8B示出了矩形孔的剖面视图;

图9A示出了具有交叉阶梯状孔的双面蚀刻图案;

图9B示出了来自交叉孔的剖面视图;

图9C示出了来自第一平面中的交叉孔的剖面视图;

图9D示出了来自第二平面中的交叉孔的剖面视图;

图10A示出了图案6的组合交叉孔的俯视图;

图10B示出了在平面6处来自图案6的组合孔的剖面等距视图;

图11A示出了图案7的组合交叉孔的俯视图;

图11B示出了在平面6处来自图案7的组合孔的剖面等距视图;

图12A示出了在本装置中的液滴形成的过程;

图12B示出了在本装置中的液滴形成的过程;以及

图12C示出了在本装置中的液滴形成的过程。

具体实施方式

[0024] 附图并非旨在是穷举的或将本发明限制为所公开的精确形式。应当理解,可以通

过修改和变更来实践本发明,并且所公开的技术仅由权利要求及其等同物进行限制。

[0025] 根据一个或多个各种实施方案,参考以下附图详细描述了本文公开的技术。提供附图仅出于说明的目的,并且仅描绘了所公开技术的典型或示例性实施方案。提供这些附图是为了帮助读者理解所公开的技术,并且不应被认为是对其宽度、范围或适用性的限制。应当注意,为了清楚和易于图示,这些附图不一定按比例绘制。

[0026] 本发明提出了一种使用微量移液器来实现微液滴乳液的方法。图1至3示出了附接到微量移液器102的吸头的微液滴生成器100。迫使分散相液体104穿过微量移液器102和微液滴生成器100以在移液器盖帽106或任何包含连续相液体的腔室内形成微液滴。

[0027] 为了制造该装置,从端孔切下标准的200 μ l移液器102,以形成直径至少3mm的圆形剖面。也可以使用任何其他尺寸的移液器,包括10 μ l、20 μ l、50 μ l、500 μ l和1ml的体积。然后,通过诸如粘结、压配等的附接系统将微液滴生成器头310(图3A)附接到微量移液器102的吸头。微液滴生成器头基本上是带有具有多个扁平微通道206的特定结构的微流体套筒头或膜。微通道具有较大的纵横比(高度/宽度),其中高度在10到200微米的范围内,宽度在1到100微米的范围内,并且长度在10到500微米的范围内。根据所需的液滴直径,微通道的数量可以为一百到几百个。除了微通道的间隔需要满足最小距离以避免相邻液滴的聚结或液滴形成的中断以外,对微通道图案没有其他要求。

[0028] 图2A示出了微液滴生成器头200,其包括从顶部入口侧204敞开并且在其出口侧206处具有多个通道的套筒202。通道206在图2B中示出。通道的主视图在图3A和3B中示出。通道通常是细长的以迫使液体脱离其平衡球形。当液体被迫通过非圆形通道时,它会以非圆形液体块离开。非圆形液体块不稳定,并在表面张力的作用下迅速变形。由于表面张力与射流的曲率成反比关系(即 σ/r ,其中 σ 是液体表面张力系数,而 r 是液带的曲率),因此液体块越窄,变形就越快。因此,提供了具有大的剖面纵横比的微通道。

[0029] 具有高吞吐量的本发明的另一个实施方案在图4A、4B和4C中示出。在这种情况下,吸头400具有几个壁:底壁410和几个侧壁420。在所有表面上构造出孔以允许高的液滴生成速率。

[0030] 图5示出了本发明的另一实施方案。将微量移液器500切割成具有底部开口510和几个侧开口520。将具有微通道的底部膜530和具有微通道的多个侧面膜540插入到微量移液器开口中。这提供了带有微液滴生成器的集成式微量移液器。一旦微通道被安装到微量移液器上,移液器吸头610就被插入到微量移液器500上并被转到如图6所示的锁定位置。借由通过微量移液器注入水性液体,在移液器吸头内部形成乳化的液滴。

[0031] 本发明的另一个实施方案是如图7和8中所示的基于阶梯乳化的图案。图7示出了在每个扁平微通道710的端部,设计了稍大的圆柱形通道720,这有助于液滴的掐断。膜上的阶梯状结构微通道可被蚀刻以达到不稳定效果,从而使液滴自发地从吸头掉落。为了将流掐断,较大通道的剖面面积应为较小通道的剖面面积的至少2倍。图8示出了在每个微通道810的端部处的较大的矩形通道820。

[0032] 图9A至9D和10A至10B示出了使用两个交叉通道的本发明的另一个实施方案。第一通道910和1010从微液滴生成器头的内部开始,以形成纵横比大的液体流。这些纵横比较大的水性液体流突然进入相对于第一通道950和1050在横向方向上的次级通道920和1020。因此,液体的中心部分被迫进入横向方向,从而形成交叉液体流。在喷嘴的出口处,生成具有

交叉形状的剖面的液体流。因此,表面张力从曲率较大的区域向内推动液体,从而掐断液滴。由于现在在液体附着点上有四个角,因此会迅速发生掐断并形成小液滴。

[0033] 图11A和11B示出了使用星形通道1100的本发明的另一实施方案。在该构造中,液体以星形离开,从而具有六个高曲率角。每个微通道1110与另外两个微通道1120和1130交叉,这另外两个微通道1120和1130与初始微通道1110一起形成星形剖面。因此,进一步加快了掐断过程,甚至形成了更小的液滴。

[0034] 在本微通道中的液滴形成的过程在图12A至12C中示出。图12A示出了在微通道1212内部的水流1210。由于通道的纵横比大,所以在通道的内部形成了抛物线流1214。由于连续相是粘度比水高的油,所以一旦油1216进入通道中,它就可以待在那里,在液体上形成从通道内部延伸到通道外部的纺锤型变形区1218。因此,水流变成抛物线。也可能没有油进入通道,而在通道中填满了水性液体。一旦水性液体进入连续油基液体腔室1220,表面张力往往使悬垂的液滴1222破碎并变成球形微液滴1224。由于所附着的液滴的颈部区域1226很小,因此该液滴可以容易地从喷嘴上脱离,从而在油内形成液滴。

[0035] 在同一装置的另一实施方案中,如图12B所示,发现通过在较小通道1232的出口处具有稍大的通道1230,液滴形状被迫保持为椭圆形1234,直到其变为大约较大通道1230的尺寸为止。这就是较大通道1240内部的油防止液滴变成球形的原因。随着向移液器吸头的储油器开放的滴顶部变得更具球形,底部和附着部分保持为椭圆形,因为油被捕获在滴下方并阻止滴在所有方向上的变大。该双腔室系统加快了液滴分离,并因此导致了较小液滴在油中的形成。图12C示出了使用椭圆形或椭球形的较大腔室1250的本发明的另一实施方案。如针对图12B所描述的类似效果导致微液滴从核心液体中快速破碎出来。

[0036] 微通道的纵横比被定义为通道的高度比通道的宽度,如果通道的高度为140微米,而通道的宽度为4.3微米,则纵横比将为32.6。纵横比的范围大于3.0,它们可以在3至40的范围内。

[0037] 通道的尺寸和形状设计成一旦液体离开通道就促进液体破碎成液滴。还确定通道的数量和间隔,以防止液滴在形成时聚结。如果通道彼此之间太近,液滴将接触并聚结。微孔之间的间隔由液滴直径决定,并且其是液滴直径的2倍,并且优选为液滴直径的3~5倍。同样,对于在5微米至200微米的范围内的液滴直径,每单位面积生成的液滴的数量在每平方厘米10~20,000的范围内。

[0038] 由于微通道的尺寸小,所以不能将外部液体吸回到吸头中。因此,连续相液体从另一个开口端105注入到吸头中,以填充移液器盖帽或腔室。

[0039] 当将分散相液体注入吸头时,气闸 (air lock) 阻止液体的注入以填充吸头。因此,需要外部压力来驱动液体流,以及排出吸头中的残留空气并使液体到达套筒头的微孔的内表面。注意,微通道的深度远小于吸头的深度,并且微通道中的残留空气的体积可以忽略不计。

[0040] 在排出空气后,一旦微量移液器填满分散相液体,就将吸头浸入包含连续相液体的腔室(例如移液器盖帽)中。保持驱动分散相进入扁平微通道的压力,当与连续相接触时,液体将自动破碎成微液滴以形成乳化的液滴。微液滴可在重力作用下流到管的底部。

[0041] 微液滴可以在从1到100微升/分钟变化的很宽的流速范围内生成。通过改变泵的泵送速率可以容易地改变分散相的流速,而不会影响滴的大小。微液滴的数量和生成速率

取决于连续相的乳化性能、液滴的大小和微通道的数量。例如,纵横比在3.0到20范围内的单个微通道可以按在5~30Hz范围内的频率生成在50~300微米的范围内的液滴直径。通常,在通道大小相同和时间相同的情况下,阶梯状组合通道比简易微通道生成更多的液滴,而星形组合通道比阶梯状组合通道生成更多的液滴。

[0042] 所形成的微液滴的大小取决于以下因素:(i)微液滴生成器的材料,该材料决定了微液滴在通道出口处的接触角,该材料优选为疏水的;(ii)微通道的形状,优选为扁平的形状,例如矩形或椭圆形;(iii)微通道的剖面纵横比,优选大于3:1;(iv)微通道的深度,其足以在通道中进行自我破碎。

[0043] 下表表示出了可以提供适当液滴的喷嘴范围。

长度 μm	宽度 μm	深度 μm (椭圆形)	深度 μm (矩形)	接触角	液滴直径 (椭圆形) μm	液滴直径 (矩形) μm
120	15	160	200	127.5	75	90
120	10	130	180	120	60	75
120	18	170	200	132	80	90
120	20	170	200	135	85	95
120	16	160	200	129	75	90
130	10	200	280	115	75	90

[0044] 在本微通道装置中液滴形成的主要原理如下:通过迫使液体通过直通的微通道,在孔的出口处形成液滴。这被称为基于边缘的液滴生成(Edge Based Droplet Generation)。液滴在重力的作用下可落到移液器吸头的底部(因为水性液滴比周围的油重)。由于液滴可能粘到孔的出口上,因此可能需要外部流以将液滴与孔表面分离或将它们分散在连续相中。这可以通过简单地摇动移液器而使液滴从吸头上落下来实现。

[0045] 在形成液滴之后,可以在热循环机中加热并扩增包含液滴的管。然后将扩增的乳液倒入读取器芯片中。读取器设备通常由气压控制系统、光学成像捕获和单层芯片(其中所有液滴在进口气压的控制下被引入到观察区域中)组成。为了使系统边缘和中心线的流体保持垂直运动,将边缘的形状修改为曲线边缘以减慢边缘流速。

[0046] 用于光学观察的详细操作是首先将管放在支架中,然后在温度回到室温后打开盖子。拿起读取器芯片以完全覆盖管,然后将支架和芯片组装在一起。

[0047] 将组合的芯片倒转倾斜,管中的乳液将流入芯片读取器中。通过控制出口处的气压,所有乳液都将铺在单层观察区中。光学图片相机扫描整个观察区域并给出绝对的定量分析报告。基于这种毛细管吸头,常规定量PCR可以轻松升级为绝对定量PCR。

[0048] 通过用毛细管吸头代替传统的移液器吸头,样本将被分散到标准管中并在传统的qPCR装置中进行热循环,只需利用独特的单层成像过程,即可轻松实现绝对定量PCR。

[0049] 本发明通过仅添加额外的液滴读取器单元,提供了将常规定量PCR升级为液滴数字PCR的可行方法。本发明将降低用户的投资并有效利用现有仪器。

[0050] 前述内容仅被认为是对本发明原理进行说明。此外,由于本领域技术人员将容易想到许多修改和改变,因此不希望将本发明限制于所示出和描述的确切构造和操作,因此,可以采用落入本发明范围的所有合适的修改和等同物。

[0051] 关于以上描述,应当认识到,本发明的部件在尺寸、形状、形式、材料、功能和操作

方式、组装和使用方面的最佳关系被认为对于本领域技术人员来说是明白易懂且显而易见,并且与附图中示出的和说明书中描述的内容等效的所有关系旨在被本发明所涵盖。

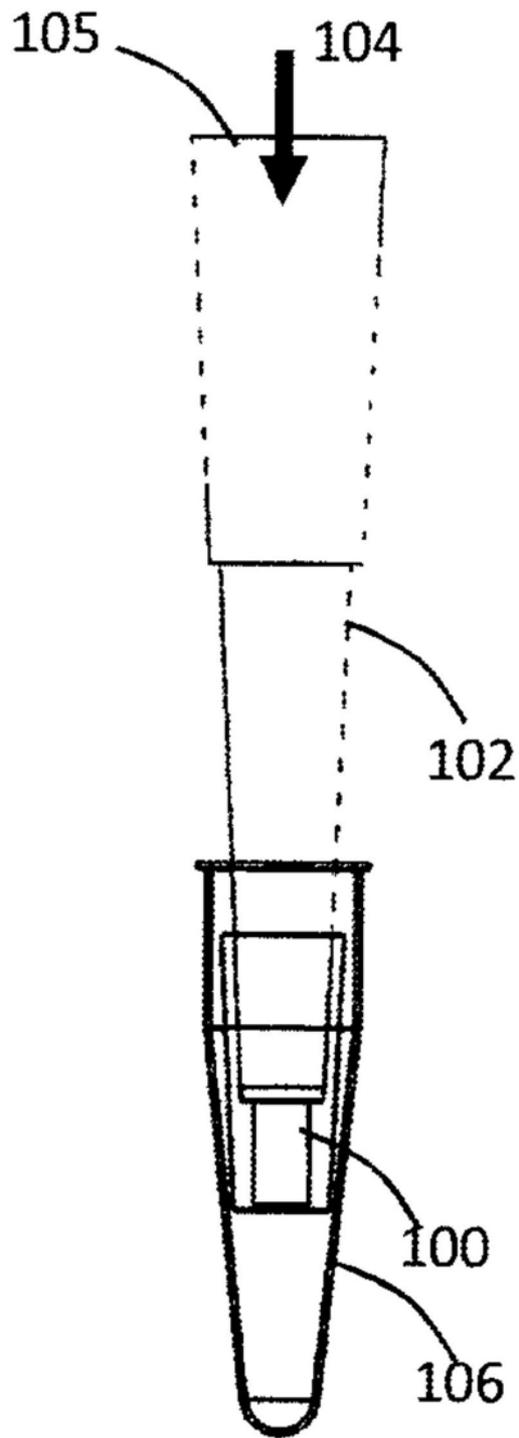


图1

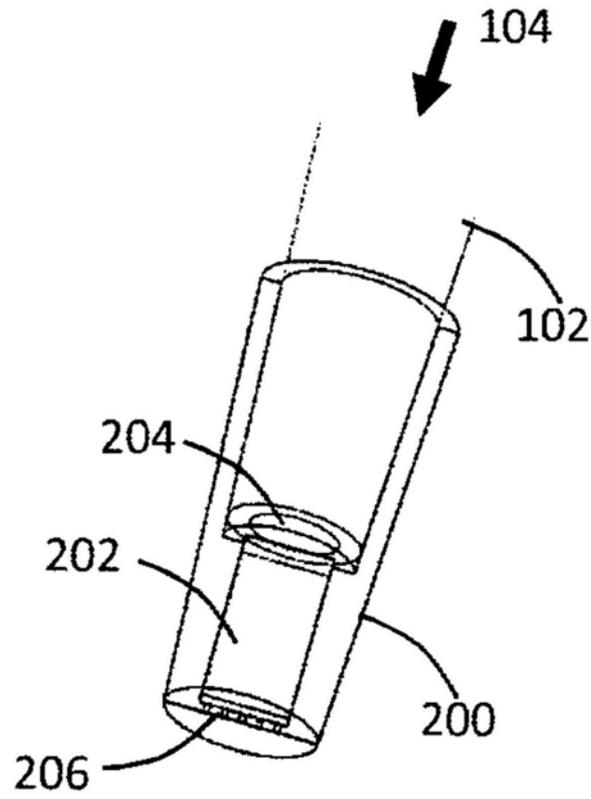


图2A



图2B

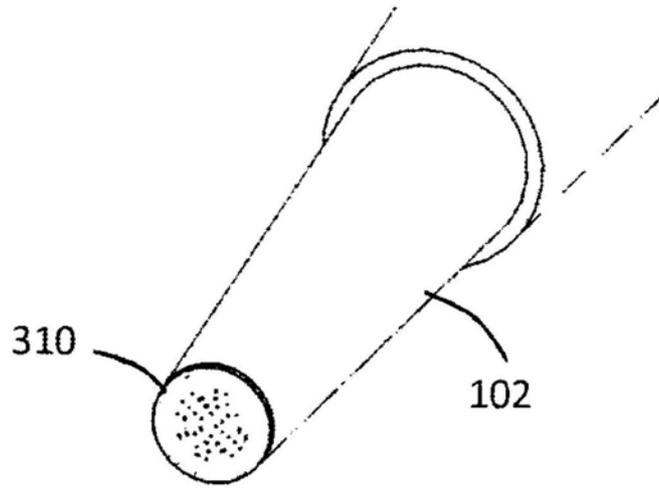


图3A

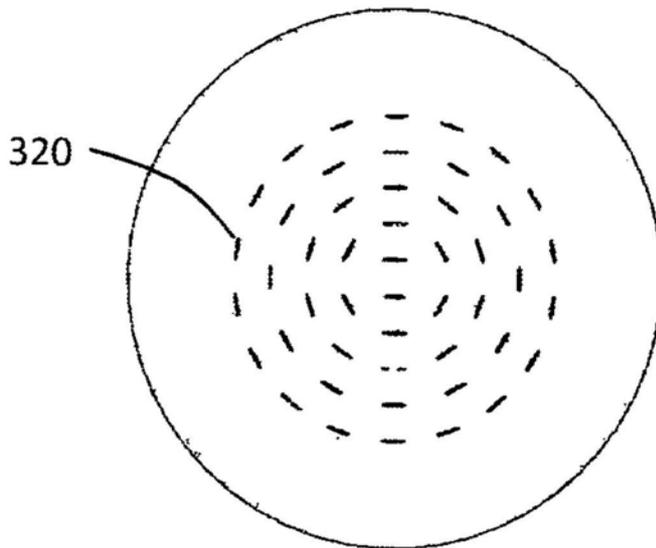


图3B

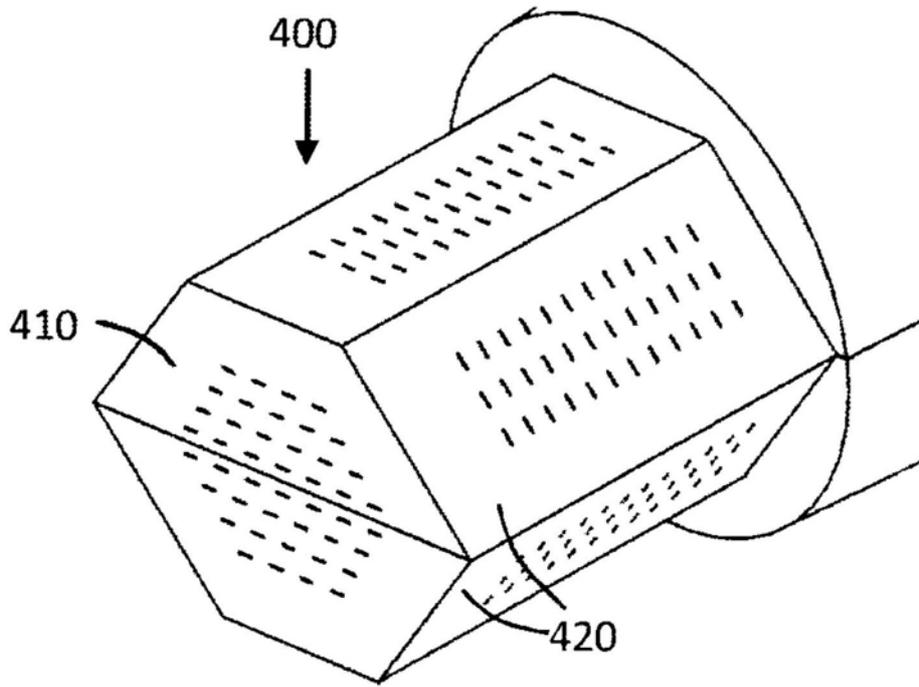


图4

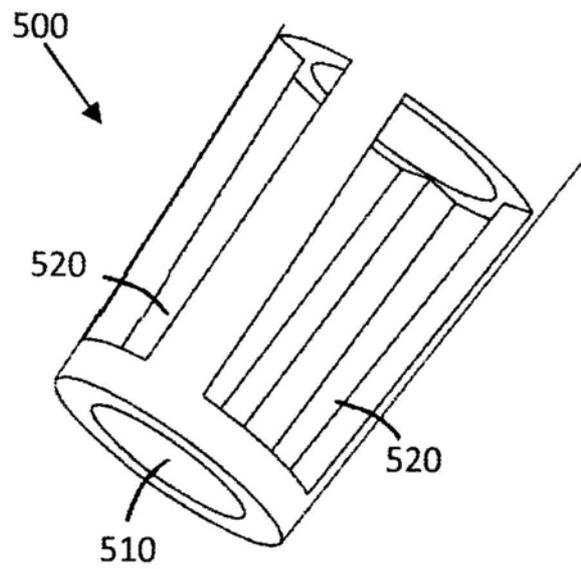


图5A

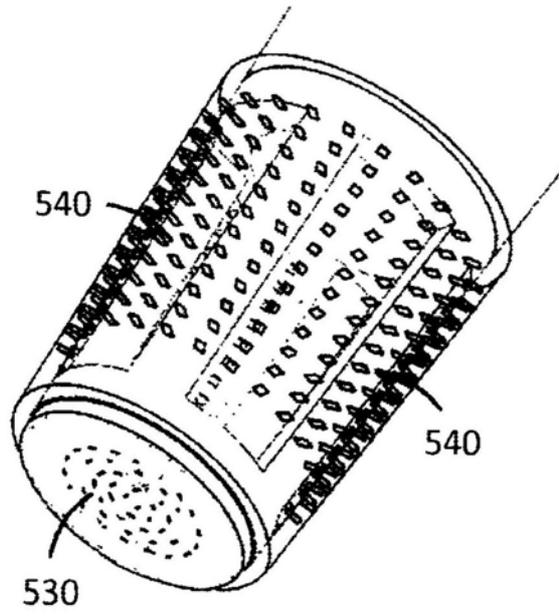


图5B

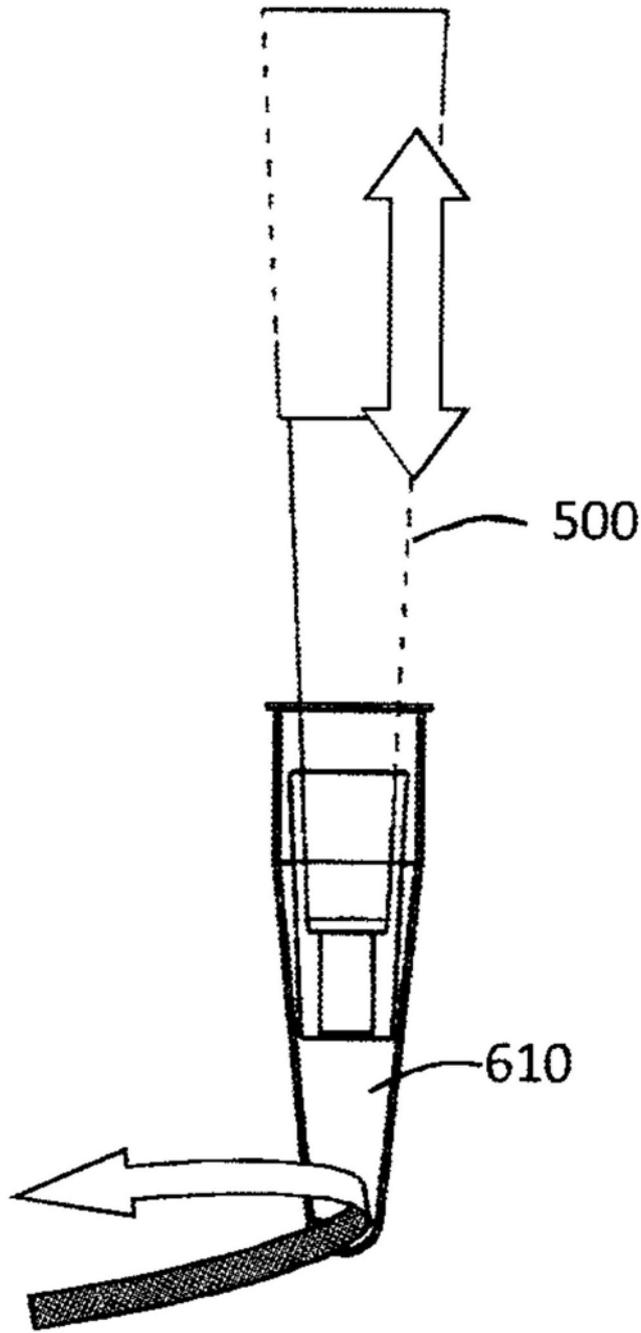


图6

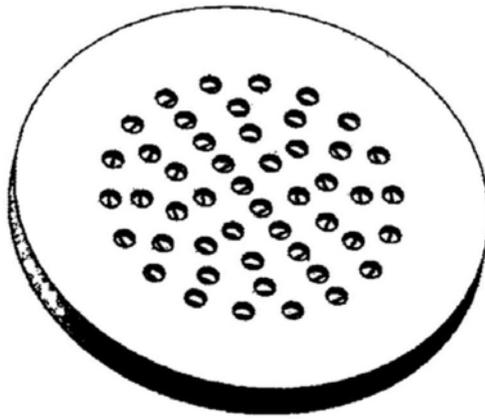


图7A

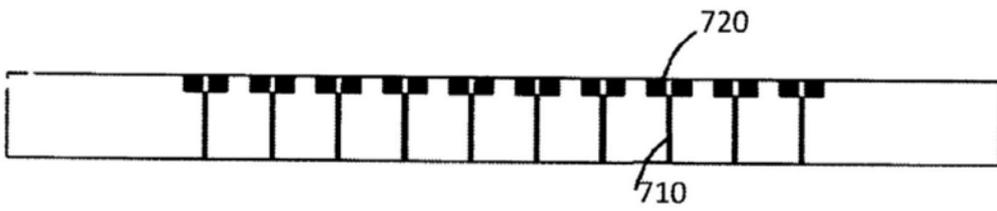


图7B

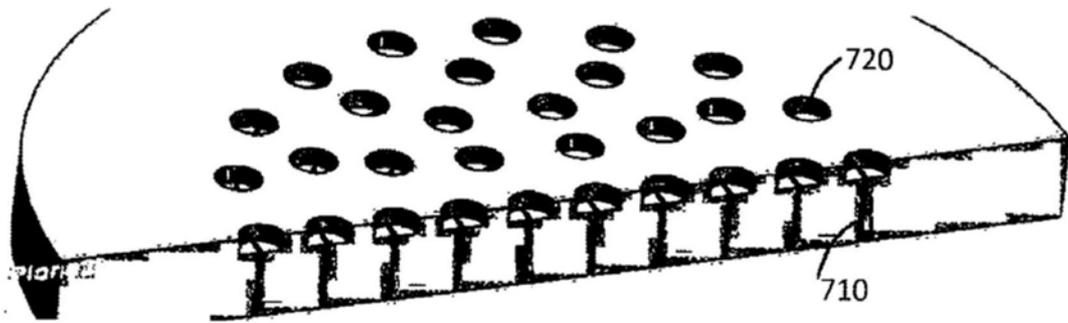


图7C

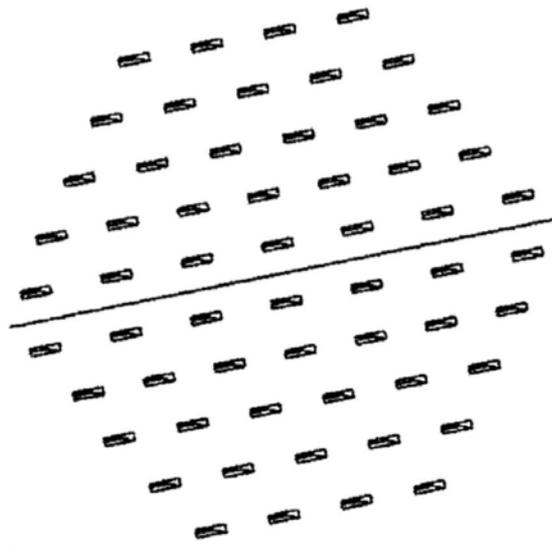


图8A

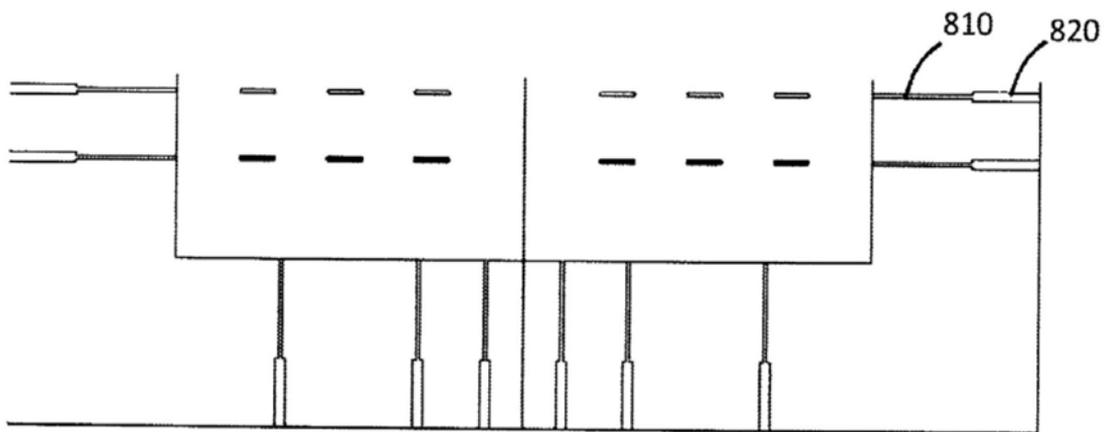


图8B

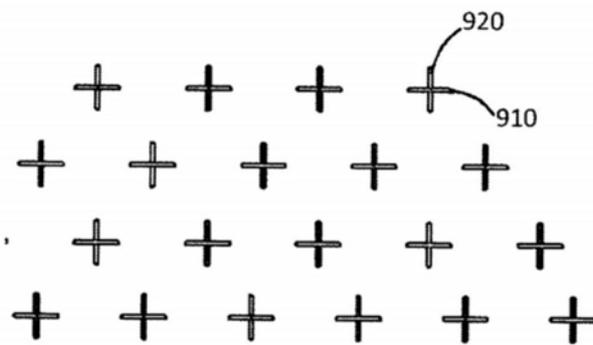


图9A

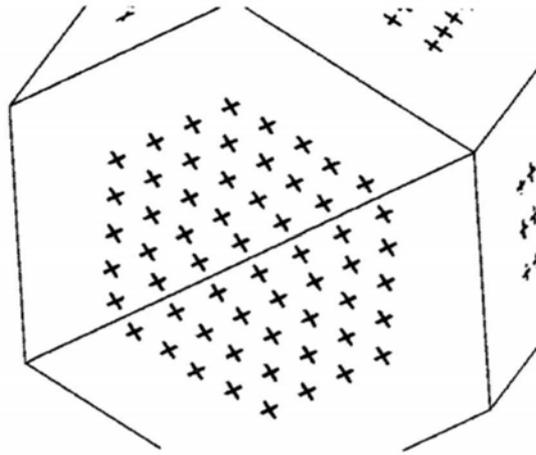


图9B

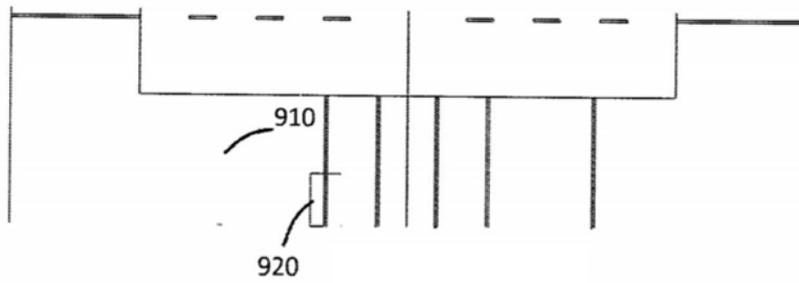


图9C

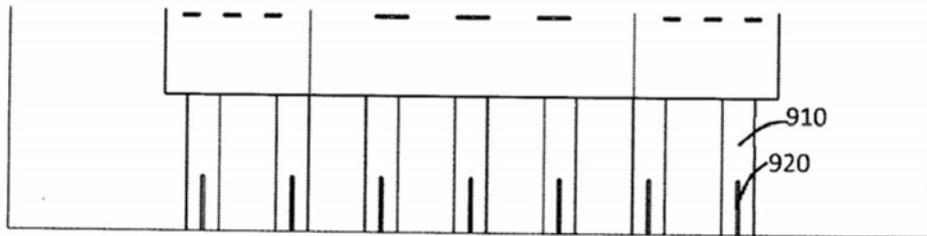


图9D

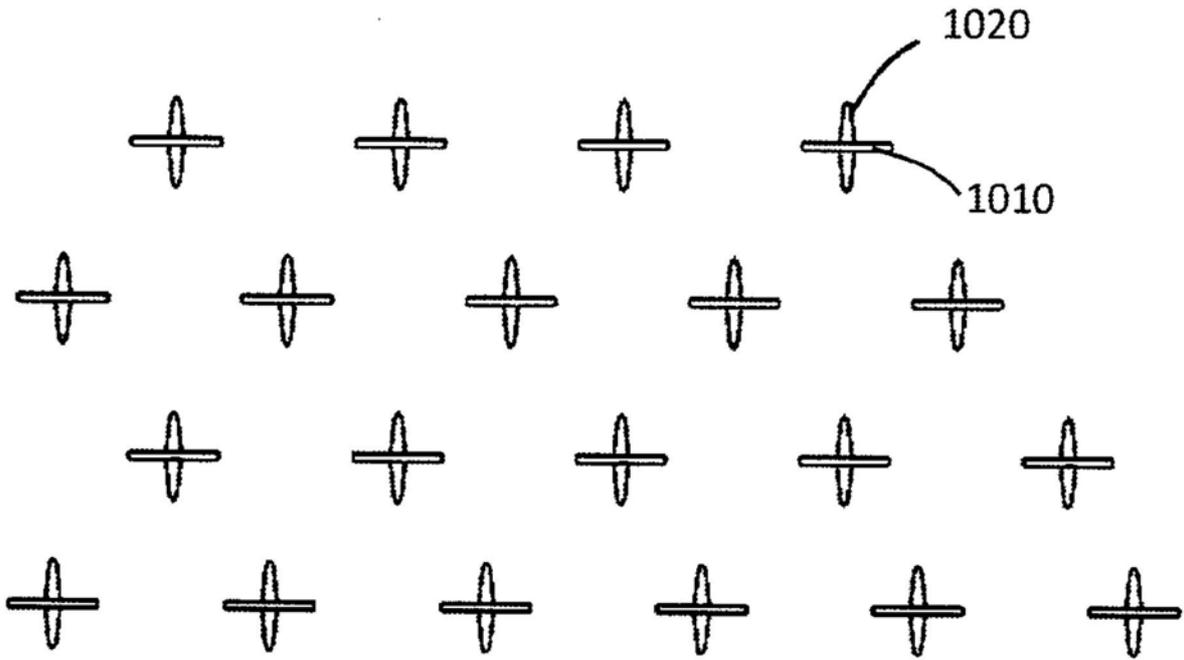


图10A

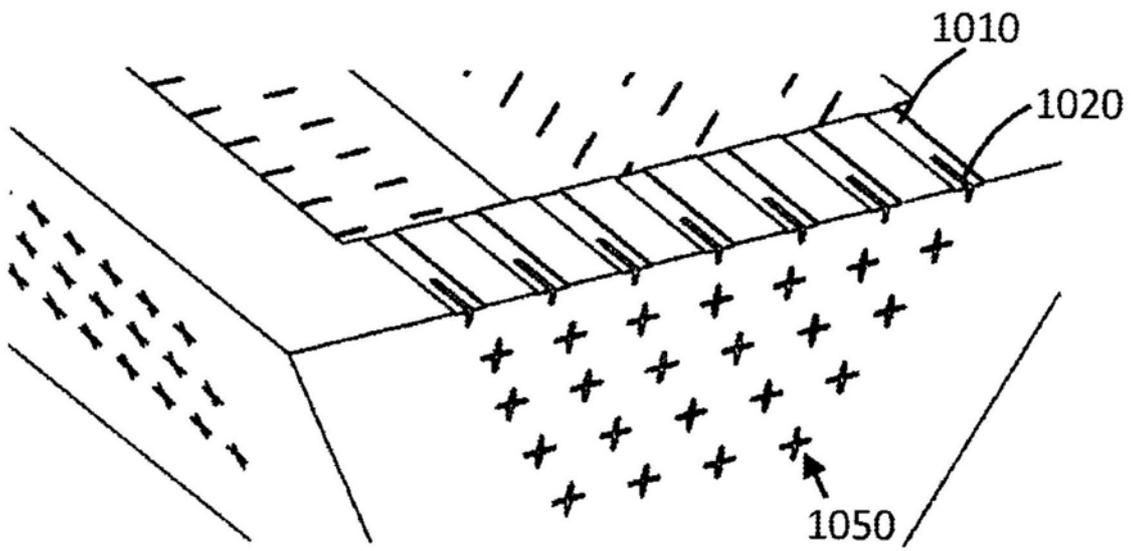


图10B

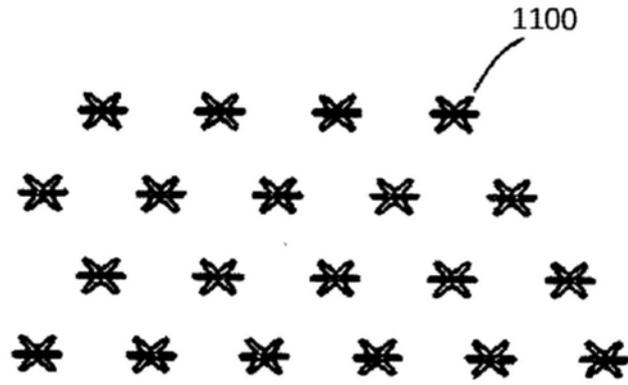


图11A

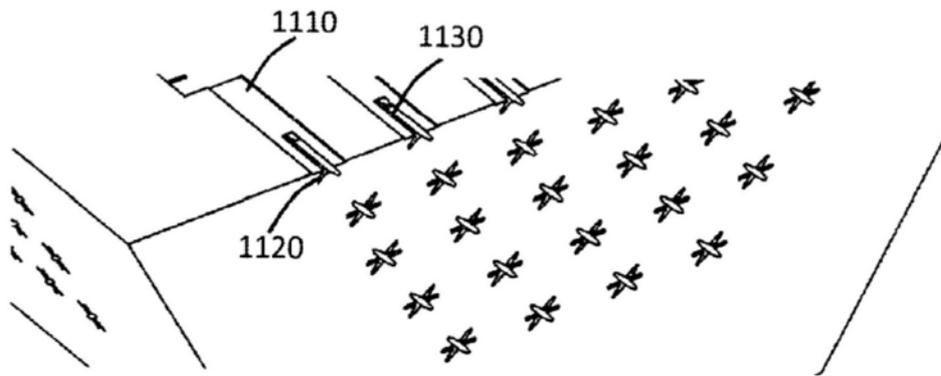


图11B

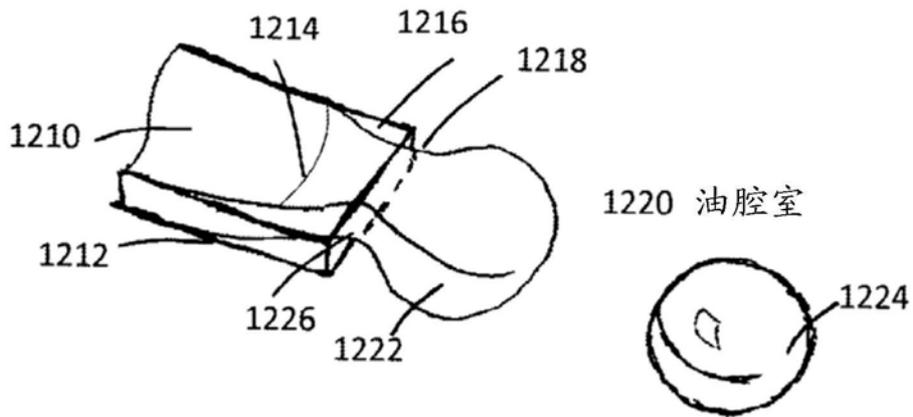


图12A

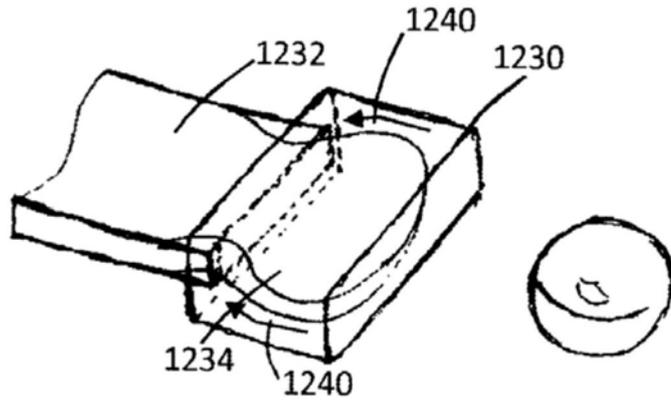


图12B

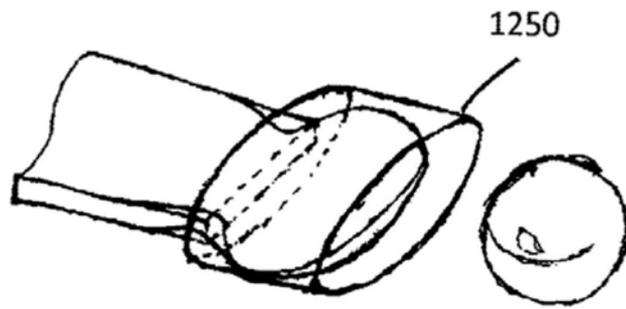


图12C