



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109030813 A

(43)申请公布日 2018.12.18

(21)申请号 201810799131.9

(22)申请日 2018.07.19

(71)申请人 东莞东阳光科研开发有限公司

地址 523871 广东省东莞市长安镇上沙振
安路368号东阳光科技园

(72)发明人 焦政 顾志鹏 李重阳 刘仁源
李建霖 姜桂华

(74)专利代理机构 北京品源专利代理有限公司
11332

代理人 巩克栋

(51)Int.Cl.

G01N 33/531(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

B01L 3/00(2006.01)

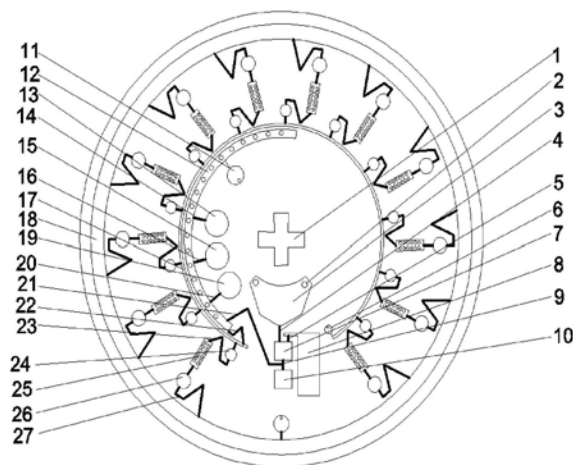
权利要求书2页 说明书12页 附图1页

(54)发明名称

一种化学发光免疫检测微流控芯片、检测仪
及检测方法

(57)摘要

本发明提供了一种化学发光免疫检测微流控芯片、检测仪及检测方法,所述芯片包括基板,所述基板设置有通过微通道依次连通的进样单元、分配单元、反应单元和废液回收单元;进样单元包括进样孔;分配单元包括第一混合槽;反应单元包括反应槽,反应单元中固定有固化剂层,用于与待测样品发生免疫反应;废液回收单元包括第一废液槽。所述化学发光免疫检测微流控芯片能够实现所有试剂预先包埋于芯片中,兼顾了大型仪器的检测结果精确可控与传统即时检测的快速操作简单的优点;通过离心实现流体控制,通过定量孔实现样品定量;可以实现多靶标同时检测。



1. 一种化学发光免疫检测微流控芯片, 包括基板, 其特征在于, 所述基板设置有通过微通道依次连通的进样单元、分配单元、反应单元和废液回收单元;

进样单元包括进样孔;

分配单元包括第一混合槽;

反应单元包括反应槽, 反应单元中固定有固化剂层, 用于与待测样品发生免疫反应;

废液回收单元包括第一废液槽。

2. 根据权利要求1所述的化学发光免疫检测微流控芯片, 其特征在于, 所述进样单元与分配单元之间的微通道设有第一阀; 分配单元与反应单元之间的微通道设置第二阀; 反应单元与废液回收单元之间的微通道设置第三阀。

3. 根据权利要求1或2所述的化学发光免疫检测微流控芯片, 其特征在于, 所述化学发光免疫检测微流控芯片还包括液体存储单元, 液体存储单元包括至少一个液体存储罐, 优选为3个; 液体存储罐通过微通道与分配单元连通;

优选地, 所述液体存储罐包括储液罐罐体, 所述储液罐罐体的内部设有容纳液体试剂的空腔; 第一密封塞, 第一密封塞与所述储液罐罐体可拆卸连接, 并且能够将所述空腔的一端密封; 第二密封塞, 所述第二密封塞与所述储液罐罐体滑动连接, 并且能够将所述空腔的另一端密封; 空腔与第一密封塞配合的一端能够通过微通道与分配单元连通;

优选地, 所述空腔一端开口的大小小于另一端开口的大小, 所述第一密封塞能够位于所述空腔开口小的一端;

优选地, 当所述第二密封塞沿所述空腔滑动至所述空腔开口小的一端时, 所述第二密封塞与所述空腔贴合;

优选地, 所述第二密封塞靠近所述空腔开口小的一端向外延伸形成凸起, 所述凸起正对所述空腔开口小的一端;

优选地, 所述液体存储罐还包括固定绳, 所述固定绳的一端固定在所述储液罐罐体上, 另一端固定在所述第一密封塞上;

优选地, 所述储液罐罐体的一端设有储液槽, 所述储液槽能够与所述空腔开口小的一端和分配单元分别连通。

4. 根据权利要求1-3之一所述的化学发光免疫检测微流控芯片, 其特征在于, 所述进样单元还包括第一定量槽和第二废液槽, 进样孔、第一定量槽和第二废液槽依次通过微通道连通, 第一定量槽还与分配单元连通;

优选地, 所述第一阀设置于第一定量槽和分配单元之间;

优选地, 所述进样单元还包括残渣收集槽, 所述残渣收集槽通过微通道与第一定量槽连通, 残渣收集槽与基板离中心的距离大于第一定量槽与基板离中心的距离。

5. 根据权利要求1-4之一所述的化学发光免疫检测微流控芯片, 其特征在于, 所述分配单元还包括分配槽, 第一混合槽、分配槽和反应单元依次通过微通道连通;

优选地, 所述分配槽与第一混合槽连通的微通道上设置第四阀;

优选地, 所述第一阀、第二阀、第三阀和第四阀独立地选自疏水阀和/或毛细阀。

6. 根据权利要求1-5之一所述的化学发光免疫检测微流控芯片, 其特征在于, 所述反应单元还包括第二定量槽, 第二定量槽一端与分配单元连通, 另一端与反应槽连通;

优选地, 所述第二定量槽设置于第二阀与分配单元之间;

优选地,所述反应单元还包括第二混合槽,第二混合槽一端与第二定量槽连通,另一端与反应槽连通;

优选地,所述第二混合槽设置于第二阀与反应槽之间;

优选地,所述基板设置多个反应单元。

7.根据权利要求1-6之一所述的化学发光免疫检测微流控芯片,其特征在于,所述化学发光免疫检测微流控芯片还包括磁铁,磁铁设置于基板一侧,用于固定反应单元产生的具有磁性的反应物;

优选地,所述基板还设置有固定于离心装置的固定槽;

优选地,所述固定槽设置于基板的几何中心;

优选地,所述加样单元、分配单元、反应单元和废液回收单元距离基板离心中心的距离依次增加。

8.根据权利要求1-7之一所述的化学发光免疫检测微流控芯片,其特征在于,所述化学发光免疫检测微流控芯片包括基板,所述基板设置有进样单元、液体存储单元、分配单元、反应单元和废液回收单元;

进样单元包括进样孔、第一定量槽、第二废液槽和残渣收集槽;进样孔和第一定量槽通过微通道连通,第二废液槽和残渣收集槽分别通过微通道与第一定量槽连通,残渣收集槽与基板离心中心的距离大于第一定量槽与基板离心中心的距离;

液体存储单元包括稀释液存储罐、清洗液存储罐和底物液存储罐;

分配单元包括第一混合槽和分配槽,第一混合槽通过微通道与分配槽连通,其连通的微通道上设置第四阀;

反应单元包括第二定量槽、第二混合槽和反应槽,反应单元中固定有固化剂层;第二定量槽、第二混合槽和反应槽依次通过微通道连通,第二定量槽与第二混合槽连通的微通道上设置第二阀;

废液回收单元包括第一废液槽;

其中,第一定量槽、稀释液存储罐、清洗液存储罐和底物液存储罐分别通过微通道与第一混合槽连通,第一定量槽与第一混合槽连通的微通道上设置第一阀;

第二定量槽与分配槽通过微通道连通,第二定量槽与第二混合槽连通的微通道上设置第二阀;

反应槽与第一废液槽连通,其连通的微通道上设置第三阀;

所述第一阀、第二阀、第三阀和第四阀独立地选自疏水阀和/或毛细阀。

9.一种化学发光免疫检测仪,其特征在于,包括权利要求1-8之一所述的化学发光免疫检测微流控芯片。

10.一种利用权利要求1-8之一所述微流控芯片的化学发光免疫检测方法,其特征在于,所述方法包括如下步骤:

- (1) 加入待测样品,通过旋转微流控芯片使得待测样品流动,分配待测样品;
- (2) 旋转微流控芯片使得待测样品流入反应区,进行化学发光免疫反应;
- (3) 旋转微流控芯片使得反应后的液体排出。

一种化学发光免疫检测微流控芯片、检测仪及检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于微流控技术领域,涉及一种化学发光免疫检测微流控芯片、检测仪及检测方法。

背景技术

[0002] 化学发光免疫分析方法由于其高灵敏度、高特异性的优点,已经基本替代放射免疫分析和酶联免疫分析,成为免疫分析诊断领域应用最多一种免疫分析方法。

[0003] 目前市场上使用的化学发光免疫分析仪主要有两种,一种是全自动化学发光免疫分析仪,另一种是半自动化学发光免疫分析仪。

[0004] 全自动仪器实现了整个化学发光免疫分析过程的自动化处理,包括进样、加样、加试剂、温育、清洗、磁分离以及发光检测等,测试过程无需人工参与,测试通量较高,适用于样本处理量大的大型医院。但是,全自动的设备结构复杂,体积庞大,占地面积大,设备造价高,检测速度慢。

[0005] 半自动仪器则只保留了化学发光检测以及简单的机械控制结构,其余过程由人工完成。极大降低了仪器成本,但是增加了人工操作误差,影响了结果的准确性。如CN105241871A公开的用于全血样品检测的磁微粒化学发光微流控芯片和CN105842468A公开的微流控化学发光免疫检测装置。

[0006] POCT(Point Care of Testing)是近几年来体外诊断行业重要发展方向和增长最快的领域。POCT产品属于小型便携仪器,通过简化设计和技术创新,POCT产品缩短了从样本采集、检测到结果报告的检测周期,可以在患者身边实现现场检测,快速取得诊断结果,而且POCT操作简单,不需要专业检验师,甚至患者本人就可以操作。如CN105203746A公开了一种POCT化学发光免疫分析系统,但是其仅使用单靶标,微量样本的膜分离会导致分离后进入反应体系的样本量出现不稳定的批间差,从而导致最终检测结果的不稳定。

[0007] CN107091936A公开了一种基于微流控技术的化学发光免疫盘片,包括加样口、试剂口及检测槽;与所述检测槽相比,过渡槽更加远离所述盘片的旋转中心;第一通道的一端连通所述检测槽的远离所述旋转中心的端部,另一端连通所述过渡槽,中间为弯折部;所述第一通道的最小旋转半径小于所述检测槽的最大旋转半径;与所述过渡槽相比,废液槽更加远离所述盘片的旋转中心;所述过渡槽与所述废液槽连通。但是其试剂没有集成在芯片上,造成了仪器复杂与大型化,反应腔后面的堤坝设计加工精度要求高,导致芯片成本增加。

[0008] 因此,基于微流控技术的化学发光免疫检测装置仍需进一步的研究。

发明内容

[0009] 针对现有技术存在的不足,本发明的目的在于提供一种化学发光免疫检测微流控芯片、检测仪及检测方法,所述化学发光免疫检测微流控芯片结构简单,检测速度快,检测结果准确,能够实现多靶标同时检测。

[0010] 本发明中如无特殊说明所述“第一”、“第二”、“第三”及“第四”等仅仅是为了区别各个结构,并不表示数量。

[0011] 所述微通道是指尺寸为0.01-5.00mm的通道,如0.05mm、0.10mm、0.20mm、0.30mm、0.50mm、1.00mm、2.00mm、2.50mm、3.50mm或4.50mm等。

[0012] 为达此目的,本发明采用以下技术方案:

[0013] 本发明的目的之一在于提供一种化学发光免疫检测微流控芯片,包括基板,所述基板设置有通过微通道依次连通的进样单元、分配单元、反应单元和废液回收单元;

[0014] 进样单元包括进样孔;

[0015] 分配单元包括第一混合槽;

[0016] 反应单元包括反应槽,反应单元中固定有固化剂层,用于与待测样品发生免疫反应;

[0017] 废液回收单元包括第一废液槽。

[0018] 本发明提供的化学发光免疫检测微流控芯片将检测试剂预先包埋在反应单元中,检测过程中仅需要加入待检测的样品即可,操作简单。

[0019] 本发明提供的所述化学发光免疫检测微流控芯片基于离心技术。所述离心中心是指所述微流控芯片离心时的中心。所述离心可将化学发光免疫检测微流控芯片固定于离心装置上进行。

[0020] 优选地,所述进样单元与分配单元之间的微通道设有第一阀;分配单元与反应单元之间的微通道设置第二阀;反应单元与废液回收单元之间的微通道设置第三阀。

[0021] 本发明提供的化学发光免疫检测微流控芯片其微通道设置的阀能够精确控制流体的流动。

[0022] 所述化学发光免疫检测微流控芯片还包括液体存储单元,液体存储单元包括至少一个液体存储罐,如2个、3个、4个、5个、6个、10个、15个或30个等,优选为3个;液体存储罐通过微通道与分配单元连通。所述液体存储单元用于存储检测时所需的液体,如稀释液、清洗液和底物液等。所述液体存储单元的设置避免了检测仪器的复杂化,使得检测仪器结构简单,操作简便。

[0023] 优选地,所述液体存储罐包括储液罐罐体,所述储液罐罐体的内部设有容纳液体试剂的空腔;第一密封塞,第一密封塞与所述储液罐罐体可拆卸连接,并且能够将所述空腔的一端密封;第二密封塞,所述第二密封塞与所述储液罐罐体滑动连接,并且能够将所述空腔的另一端密封;空腔与第一密封塞配合的一端能够通过微通道与分配单元连通。按压第二密封塞,所需的液体即可流入分配单元中。

[0024] 优选地,所述空腔一端开口的大小小于另一端开口的大小,所述第一密封塞能够位于所述空腔开口小的一端。

[0025] 优选地,当所述第二密封塞沿所述空腔滑动至所述空腔开口小的一端时,所述第二密封塞与所述空腔贴合。

[0026] 优选地,所述第二密封塞靠近所述空腔开口小的一端向外延伸形成凸起,所述凸起正对所述空腔开口小的一端。以便于将液体存储罐中的液体全部流入分配单元中。

[0027] 优选地,所述液体存储罐还包括固定绳,所述固定绳的一端固定在所述储液罐罐体上,另一端固定在所述第一密封塞上。

[0028] 优选地,所述储液罐罐体的一端设有储液槽,所述储液槽能够与所述空腔开口小的一端和分配单元分别连通。所述储液罐罐体中的液体先流入储液槽再通过微通道流入分配单元。

[0029] 所述进样单元还包括第一定量槽和第二废液槽,进样孔、第一定量槽和第二废液槽依次通过微通道连通,第一定量槽还与分配单元连通。所述进样单元设置上述结构可以直接加入血样,血样加入进样孔中后,进行离心,流入第一定量槽中,过量的血样进入第二废液槽。通过第一定量槽的设置所述化学发光免疫检测微流控芯片能够达到定量检测。

[0030] 优选地,第一阀设置于第一定量槽和分配单元之间。

[0031] 优选地,所述进样单元还包括残渣收集槽,所述残渣收集槽通过微通道与第一定量槽连通,残渣收集槽与基板离心中心的距离大于第一定量槽与基板离心中心的距离。所述残渣收集槽侧设置能够使得所述化学发光免疫检测微流控芯片直接使用全血样品,全血样品进入进样孔,离心后的血红细胞能够沉入所述残渣收集槽中,所需的血清或血浆保存在第一定量槽中,多余的血清或血浆流入第二废液槽中。

[0032] 所述第一混合槽为圆弧形、方形或多边形等,所述第一混合槽的形状不受限制,本领域技术人员可根据需要进行选择。

[0033] 优选地,所述第一混合槽上设置有第一气孔。所述第一混合槽可设置在所述基板的内部,以避免离心时样品由于离心力的作用洒到基板以外,造成样品浪费,此时,需要在第一混合槽上开设气孔,以利于样品在第一混合槽中的流动。

[0034] 优选地,所述分配单元还包括分配槽,第一混合槽、分配槽和反应单元依次通过微通道连通分配槽的设置方便了样品与所需液体的混合及分配。

[0035] 优选地,分配槽与第一混合槽连通的微通道上设置第四阀。

[0036] 优选地,所述第一阀、第二阀、第三阀和第四阀独立地选自疏水阀和/或毛细阀。

[0037] 疏水阀是将微管道表面进行疏水改性,这样微管道表面张力大大增加,当液体在外力作用下通过此微管道时,所需要的外力随之增加。芯片应用时表现为在较低转速下,液体受到的离心力较小,液体无法通过此微管道,当转速提高到一定程度,液体可以突破此微管道的表面张力,得以通过此微管道。

[0038] 毛细阀是对微管道进行亲水处理,当液体未浸润此管道时,液体在离心力作用下停留在弯折下方,当离心力停止时液体浸润整个微管道,再实施离心力,液体在离心力与毛细力的作用下,能够持续突破此微管道。

[0039] 优选地,所述分配槽为圆弧形、方形或多边形等,所述分配槽的形状不受限制,本领域技术人员可根据需要进行选择。

[0040] 优选地,所述分配槽上设置有第二气孔。所述分配槽可设置在所述基板的内部,以避免离心时样品由于离心力的作用洒到基板以外,造成样品浪费,此时,需要在分配槽上开设气孔,以利于样品在分配槽中的流动。

[0041] 所述反应单元还包括第二定量槽,所述第二定量槽一端与分配单元连通,另一端与反应槽连通。所述第二定量槽的设置更加有利于样品的定量检测。

[0042] 优选地,所述第二定量槽设置于第二阀与分配单元之间。

[0043] 优选地,所述反应单元还包括第二混合槽,第二混合槽一端与第二定量槽连通,另一端与反应槽连通。所述固化剂层优选设置在所述第二混合槽中,以与样品进行混合,混合

后流入反应槽中进行反应。

[0044] 优选地,所述第二混合槽设置于第二阀与反应槽之间。

[0045] 优选地,所述基板设置多个反应单元。所述多个是指至少两个,如所述反应单元可为1个、2个、3个、4个、6个、8个、10个、15个或20个等,所述芯片可设置多组检测通道,通过预先包埋不同的试剂,可以实现多靶标同时检测,大大节省时间和操作步骤。

[0046] 优选地,多个反应单元均匀分布在基板上。

[0047] 所述第一废液槽为圆形、方形或多边形等,所述第一废液槽的形状不受限制,本领域技术人员可根据需要进行选择。

[0048] 优选地,所述第一废液槽上设置第三气孔和排液口。所述第一废液槽可设置在所述基板的内部,以避免离心时液体由于离心力的作用洒到基板以外,造成样品浪费,此时,需要在第一废液槽上开设气孔,以利于液体在第一废液槽中的流动。所述排液口用于将废液排出所述芯片。

[0049] 所述基板为圆形、方形或多边形等,所述基板的形状不受限制,本领域技术人员可根据需要进行选择。

[0050] 优选地,所述化学发光免疫检测微流控芯片还包括磁铁,磁铁设置于基板一侧,用于固定反应单元产生的具有磁性的反应物。所述电磁铁的设置是可选的,当反应孔上预放置的固化试剂含有磁珠时需要磁铁,如果不含有就不需要磁铁。

[0051] 优选地,所述基板还设置有固定于离心装置的固定槽。

[0052] 优选地,所述固定槽设置于基板的几何中心。

[0053] 所述加样单元、分配单元、反应单元和废液回收单元距离离心中心的距离依次增加。即所述加样单元、分配单元、反应单元和废液回收单元按照液体在离心力作用下的流动方向依次设置。

[0054] 作为优选的技术方案,所述化学发光免疫检测微流控芯片包括基板,所述基板设置进样单元、液体存储单元、分配单元、反应单元和废液回收单元;

[0055] 进样单元包括进样孔、第一定量槽、第二废液槽和残渣收集槽;进样孔和第一定量槽通过微通道连通,第二废液槽和残渣收集槽分别通过微通道与第一定量槽连通,残渣收集槽与离心中心的距离大于第一定量槽与离心中心的距离;

[0056] 液体存储单元包括稀释液存储罐、清洗液存储罐和底物液存储罐;

[0057] 分配单元包括第一混合槽和分配槽,第一混合槽通过微通道与分配槽连通,其连通的微通道上设置第四阀;

[0058] 反应单元包括第二定量槽、第二混合槽和反应槽,反应单元中固定有固化剂层;第二定量槽、第二混合槽和反应槽依次通过微通道连通,第二定量槽与第二混合槽连通的微通道上设置第二阀;

[0059] 废液回收单元包括第一废液槽;

[0060] 其中,第一定量槽、稀释液存储罐、清洗液存储罐和底物液存储罐分别通过微通道与第一混合槽连通,第一定量槽与第一混合槽连通的微通道上设置第一阀;

[0061] 第二定量槽与分配槽通过微通道连通,第二定量槽与第二混合槽连通的微通道上设置第二阀;

[0062] 反应槽与第一废液槽连通,其连通的微通道上设置第三阀;

[0063] 所述第一阀、第二阀、第三阀和第四阀独立地选自疏水阀和/或毛细阀。

[0064] 本发明中,所述第一定量槽用于定量芯片需的总样品量,确保样品量够整个芯片使用;

[0065] 所述第二定量槽用于定量单个检测项目的血清量或底物液或稀释液等,确保单个反应孔中的量够检测所需要的量。

[0066] 利用上述优选的化学发光免疫检测微流控芯片的检测方法包括如下步骤:

[0067] (1) 向进样孔中加入一定量的全血,全血进入进样槽后,将所述化学发光免疫检测微流控芯片(以下简称为芯片)固定于离心装置中,开启离心装置,芯片开始旋转;

[0068] (2) 旋转开始后,进样槽中的全血通过微通道进入第一定量槽和残渣收集槽,并到达第一阀,多余的液体全血经过微通道排入第二废液槽中,一段时间后,血红细胞由于离心力沉入残渣收集槽中,血浆或血清保存在第一定量槽中;

[0069] (3) 旋转芯片,第一定量槽中的血浆或血清通过微通道的第一阀分配到第一混合槽中,并到达第四阀;

[0070] (4) 芯片停止旋转,释放稀释液存储罐中的稀释液,完成后,旋转芯片,稀释液完全释放到第一混合槽中,并达到第四阀;

[0071] (5) 旋转芯片,第一混合槽中的混合液经过第四阀排入分配槽中,随后通过微通道排入第二定量槽中,并到达第二阀;

[0072] (6) 旋转芯片,第二定量槽中液体经过第二阀进入第二混合槽中,溶解第二混合槽中的固化试剂,完成混合,第二混合槽中的混合液由于离心力进入反应槽,并到达第三阀,在反应槽中完成免疫反应,开启反应槽下方预置在机器中的电磁铁,将混合液中的磁微粒固定;

[0073] (7) 旋转芯片,反应槽中的液体经过第三阀全部进入第一废液槽中;

[0074] (8) 芯片停止旋转,清洗液存储罐释放清洗液,并到达第四阀,完成后,旋转芯片,将清洗液完全释放至分配槽,随后通过微通道排入第二定量槽中,并到达第二阀;

[0075] (9) 旋转芯片,第二定量槽中液体经过第二阀,进入反应槽,完成清洗,并到达第三阀;

[0076] (10) 旋转芯片,反应槽中的液体全部经过第三阀进入第一废液槽中;

[0077] (11) 芯片停止旋转,底物存储罐释放底物液,完成后,底物液到达第四阀,旋转芯片,将底物液完全释放至分配槽,随后通过微通道排入第二定量槽中,并到达第二阀;

[0078] (12) 旋转芯片,第二定量槽中液体经过第二阀到达第二混合槽,并进入反应槽,完成化学发光反应,进行发光信号捕捉,完成检测。

[0079] 所述旋转的转速可为1000-8000r/min,如1500r/min、2000r/min、2300r/min、2800r/min、3000r/min、5000r/min、7000r/min或7500r/min等,旋转的时间可为1-10min,如2min、3min、5min、8min、9min或9.5min等。

[0080] 本发明的目的之二在于提供一种化学发光免疫检测仪,其包括如上所述的化学发光免疫检测微流控芯片。

[0081] 本发明的目的之三在于提供一种如上所述微流控芯片的化学发光免疫检测方法,所述方法包括如下步骤:

[0082] (1) 加入待测样品,通过旋转微流控芯片使得待测样品流动,进行待测样品的分

配;

[0083] (2) 旋转微流控芯片使得待测样品流入反应区,进行化学发光免疫反应;

[0084] (3) 旋转微流控芯片使得反应后的液体排出。

[0085] 本发明提供的化学发光免疫检测方法基于离心技术,通过旋转控制样品流入的位置,进而完成化学发光免疫检测。

[0086] 所述旋转离心的转速可为1000-8000r/min,如1500r/min、2000r/min、2300r/min、2800r/min、3000r/min、5000r/min、7000r/min或7500r/min等,旋转的时间可为1-10min,如2min、3min、5min、8min、9min或9.5min等。

[0087] 本发明所述的数值范围不仅包括上述例举的点值,还包括没有例举出的上述数值范围之间的任意的点值,限于篇幅及出于简明的考虑,本发明不再穷尽列举所述范围包括的具体点值。

[0088] 与现有技术相比,本发明的有益效果为:

[0089] 1、本发明提供的化学发光免疫检测微流控芯片兼顾大型仪器的检测结果精确可控与传统即时检测的快速操作简单的优点;

[0090] 2、本发明提供的化学发光免疫检测微流控芯片将所有试剂均预先包埋于芯片中,检测过程中只需要加入待检测的血样,操作简单;

[0091] 3、本发明提供的化学发光免疫检测微流控芯片检测样品时,通过离心实现流体控制,通过定量孔实现样品定量,使检测结果更精确;

[0092] 4、本发明提供的化学发光免疫检测微流控芯片中有多组检测通道,通过预先包埋不同的试剂,可以实现多靶标同时检测。

附图说明

[0093] 图1为实施例3提供的化学发光免疫检测微流控芯片的结构示意图。

[0094] 其中:1、固定槽;2、进样孔;3、进样槽;4、第一微通道;5、第二微通道;6、第一气孔;7、第一定量槽;8、第二废液槽;9、第三微通道;10、残渣收集槽;11、第二气孔;12、第一混合槽;13、稀释液存储罐;14、第四微通道;15、清洗液存储罐;16、第五微通道;17、分配槽;18、第一废液槽;19、底物液存储罐;20、第六微通道;21、第七微通道;22、第八微通道;23、第九微通道;24、第二定量槽;25、第二混合槽;26、反应槽;27、第十微通道。

具体实施方式

[0095] 下面结合附图并通过具体实施方式来进一步说明本发明的技术方案。

[0096] 实施例1

[0097] 一种化学发光免疫检测微流控芯片,包括方形基板,基板几何中心设置有固定槽,基板还设置有通过微通道依次连通的进样单元、分配单元、反应单元和废液回收单元;加样单元、分配单元、反应单元和废液回收单元距离离中心心的距离依次增加;还包括设置于基板一侧的磁铁,用于固定反应单元产生的具有磁性的反应物;

[0098] 进样单元包括进样孔;

[0099] 分配单元包括第一混合槽;

[0100] 反应单元包括反应槽,反应单元中固定有固化剂层,用于与待测样品发生免疫反

应；

[0101] 废液回收单元包括第一废液槽；

[0102] 进样孔、第一混合槽、反应槽和第一废液槽通过微通道依次连通，其中，进样孔与第一混合槽之间的微通道设有第一阀；第一混合槽与反应槽之间的微通道设置第二阀；反应槽与第一废液回收槽之间的微通道设置第三阀；

[0103] 第一阀、第二阀和第三阀独立地选自毛细阀或疏水阀。

[0104] 利用上述化学发光免疫检测微流控芯片进行检测的方法包括如下步骤：

[0105] (1) 向进样孔中加入一定量的待测样品，将所述化学发光免疫检测微流控芯片（以下简称为芯片）固定于离心装置中，开启离心装置，芯片开始旋转，待测样品到达第一阀；

[0106] (2) 转变方向旋转，待测样品流入第一混合槽，并到达第二阀；

[0107] (3) 转变方向旋转，待测样品流入反应槽，并到达第三阀，待测样品与反应槽中的固化剂进行化学发光反应，捕捉发光信号，完成检测；

[0108] (4) 转变方向旋转，反应后的液体流入第一废液槽，排出。

[0109] 实施例2

[0110] 一种化学发光免疫检测微流控芯片，包括圆形基板，其几何中心设置有固定槽，所述基板还设置进样单元、液体存储单元、分配单元、反应单元和废液回收单元；加样单元、分配单元、反应单元和废液回收单元距离离心中心的距离依次增加；

[0111] 进样单元包括进样孔、第一定量槽和第二废液槽；进样孔、第一定量槽和第二废液槽通过微通道依次连通；

[0112] 液体存储单元包括清洗液存储罐和底物液存储罐；所述清洗液存储罐和底物液存储罐的结构相同，均包括储液罐罐体，所述储液罐罐体的内部设有容纳液体试剂的空腔；第一密封塞，第一密封塞与所述储液罐罐体可拆卸连接，并且能够将所述空腔的一端密封；第二密封塞，所述第二密封塞与所述储液罐罐体滑动连接，并且能够将所述空腔的另一端密封；空腔与第一密封塞配合的一端能够通过微通道与分配单元连通；所述空腔一端开口的大小小于另一端开口的大小，所述第一密封塞能够位于所述空腔开口小的一端；当所述第二密封塞沿所述空腔滑动至所述空腔开口小的一端时，所述第二密封塞与所述空腔贴合；所述第二密封塞靠近所述空腔开口小的一端向外延伸形成凸起，所述凸起正对所述空腔开口小的一端；所述液体存储罐还包括固定绳，所述固定绳的一端固定在所述储液罐罐体上，另一端固定在所述第一密封塞上；所述储液罐罐体的一端设有储液槽，所述储液槽能够与所述空腔开口小的一端和分配单元分别连通；

[0113] 分配单元包括第一混合槽和分配槽，第一混合槽通过微通道与分配槽连通，其连通的微通道上设置第四阀；

[0114] 反应单元包括第二定量槽、第二混合槽和反应槽，反应单元中固定有磁性固化剂层，所述磁性固化剂层可为包被磁性微球的固化酶标抗体；第二定量槽、第二混合槽和反应槽依次通过微通道连通，第二定量槽与第二混合槽连通的微通道上设置第二阀；

[0115] 废液回收单元包括第一废液槽；

[0116] 其中，第一定量槽、清洗液存储罐和底物液存储罐分别通过微通道与第一混合槽连通，第一定量槽与第一混合槽连通的微通道上设置第一阀；

[0117] 第二定量槽与分配槽通过微通道连通，第二定量槽与第二混合槽连通的微通道上

设置第二阀；

[0118] 反应槽与第一废液槽连通，其连通的微通道上设置第三阀；

[0119] 第一阀、第二阀、第三阀和第四阀为疏水阀或毛细阀。

[0120] 利用上述化学发光免疫检测微流控芯片的检测方法包括如下步骤：

[0121] (1) 向进样孔中加入一定量的待测样品(如稀释后的血清或血浆)，进入进样槽后，将所述化学发光免疫检测微流控芯片(以下简称为芯片)固定于离心装置中，开启离心装置，芯片开始旋转；

[0122] (2) 旋转开始后，进样槽中的待测样品通过微通道进入第一定量槽，并到达第一阀，多余的待测样品经过微通道排入第二废液槽中；

[0123] (3) 旋转芯片，第一定量槽中的待测样品通过微通道的第一阀分配到第一混合槽中，并到达第四阀；

[0124] (4) 旋转芯片，第一混合槽中的待测样品经过第四阀排入分配槽中，随后通过微通道排入第二定量槽中，并到达第二阀；

[0125] (5) 旋转芯片，第二定量槽中液体经过第二阀进入第二混合槽中，溶解第二混合槽中的固化试剂，完成混合，第二混合槽中的混合液由于离心力进入反应槽，并到达第三阀，在反应槽中完成免疫反应，开启反应槽下方预置在机器中的电磁铁，将混合液中的磁微粒固定；

[0126] (6) 旋转芯片，反应槽中的液体经过第三阀全部进入第一废液槽中；

[0127] (7) 芯片停止旋转，清洗液存储罐释放清洗液，并到达第四阀，完成后，旋转芯片，将清洗液完全释放至分配槽，随后通过微通道排入第二定量槽中，并到达第二阀；

[0128] (8) 旋转芯片，第二定量槽中液体经过第二阀，进入反应槽，完成清洗，并到达第三阀；

[0129] (9) 旋转芯片，反应槽中的液体全部经过第三阀进入第一废液槽中；

[0130] (10) 芯片停止旋转，底物存储罐释放底物液，完成后，底物液到达第四阀，旋转芯片，将底物液完全释放至分配槽，随后通过微通道排入第二定量槽中，并到达第二阀；

[0131] (11) 旋转芯片，第二定量槽中液体经过第二阀到达第二混合槽，并进入反应槽，完成化学发光反应，进行发光信号捕捉，完成检测。

[0132] 所述旋转的转速可为1000-8000r/min，如1500r/min、2000r/min、2300r/min、2800r/min、3000r/min、5000r/min、7000r/min或7500r/min等，旋转的时间可为1-10min，如2min、3min、5min、8min、9min或9.5min等。

[0133] 实施例3

[0134] 一种化学发光免疫检测微流控芯片，如图1所示，包括圆形基板，圆形基板几何中心设置固定槽1，所述基板还设置进样单元、液体存储单元、分配单元、反应单元和废液回收单元；加样单元、分配单元、反应单元和废液回收单元距离离心中心的距离依次增加；

[0135] 进样单元包括进样孔2、第一定量槽7、第二废液槽8和残渣收集槽10；进样孔2和第一定量槽7通过第一微通道4连通，第二废液槽8通过第二微通道5与第一定量槽7连通，残渣收集槽10通过第三微通道9与第一定量槽7连通，残渣收集槽10与离心中心的距离大于第一定量槽7与离心中心的距离；

[0136] 液体存储单元包括稀释液存储罐13、清洗液存储罐15和底物液存储19；所述稀释

液存储罐13、清洗液存储罐15和底物液存储19的结构相同,均包括储液罐罐体,所述储液罐罐体的内部设有容纳液体试剂的空腔;第一密封塞,第一密封塞与所述储液罐罐体可拆卸连接,并且能够将所述空腔的一端密封;第二密封塞,所述第二密封塞与所述储液罐罐体滑动连接,并且能够将所述空腔的另一端密封;空腔与第一密封塞配合的一端能够通过微通道与分配单元连通;所述空腔一端开口的大小小于另一端开口的大小,所述第一密封塞能够位于所述空腔开口小的一端;当所述第二密封塞沿所述空腔滑动至所述空腔开口小的一端时,所述第二密封塞与所述空腔贴合;所述第二密封塞靠近所述空腔开口小的一端向外延伸形成凸起,所述凸起正对所述空腔开口小的一端;所述液体存储罐还包括固定绳,所述固定绳的一端固定在所述储液罐罐体上,另一端固定在所述第一密封塞上;所述储液罐罐体的一端设有储液槽,所述储液槽能够与所述空腔开口小的一端和分配单元分别连通;

[0137] 分配单元包括第一混合槽12和分配槽17,第一混合槽12通过第八微通道22与分配槽17连通,所述第八微通道22上设置第四阀;

[0138] 反应单元包括第二定量槽24、第二混合槽25和反应槽26,反应单元中固定有磁性固化剂层,所述磁性固化剂层可为包被磁性微球的固化酶标抗体;第二定量槽24、第二混合槽25和反应槽26依次通过微通道连通,第二定量槽24与第二混合槽25连通的第九微通道23上设置第二阀;

[0139] 废液回收单元包括第一废液槽18;

[0140] 其中,第一定量槽7通过第七微通道21,稀释液存储罐13通过第四微通道14,清洗液存储罐15通过第五微通道16,底物液存储19通过第六微通道20分别与第一混合槽12连通,第一定量槽7与第一混合槽12连通的第七微通道21上设置第一阀;

[0141] 第二定量槽24与分配槽17通过微通道连通,第二定量槽24与第二混合槽25连通的微通道上设置第二阀;

[0142] 反应槽26与第一废液槽18连通,其连通的第十微通道27上设置第三阀;

[0143] 第一阀、第二阀、第三阀和第四阀独立地为疏水阀或毛细阀;

[0144] 第一混合槽12、分配槽17和第一废液槽18均设置在基板内,第一混合槽12呈圆弧形,其上设置第一气孔6,分配槽17呈圆弧形,其上设置第二气孔11,第一废液槽18呈圆形,其上设置第三气孔;

[0145] 所述化学发光免疫检测微流控芯片还包括磁铁,用于吸附固定反应槽26中的产生的磁性微粒。

[0146] 利用上述优选的化学发光免疫检测微流控芯片的检测方法包括如下步骤:

[0147] (1) 向进样孔2中加入一定量的全血,全血进入进样槽3后,将所述化学发光免疫检测微流控芯片(以下简称为芯片)固定于离心装置中,开启离心装置,芯片开始旋转;

[0148] (2) 旋转开始后,进样槽3中的全血通过微通道进入第一定量槽7和残渣收集槽10,并到达第一阀,多余的液体全血经过微通道排入第二废液槽8中,一段时间后,红细胞由于离心力沉入残渣收集槽10中,血浆或血清保存在第一定量槽7中;

[0149] (3) 旋转芯片,第一定量槽7中的血浆或血清通过微通道的第一阀分配到第一混合槽12中,并到达第四阀;

[0150] (4) 芯片停止旋转,释放稀释液存储罐13中的稀释液,完成后,旋转芯片,稀释液完全释放到第一混合槽12中,并达到第四阀;

[0151] (5) 旋转芯片, 第一混合槽12中的混合液经过第四阀排入分配槽17中, 随后通过微通道排入第二定量槽24中, 并到达第二阀;

[0152] (6) 旋转芯片, 第二定量槽24中液体经过第二阀进入第二混合槽25中, 溶解第二混合槽25中的固化试剂, 完成混合, 第二混合槽25中的混合液由于离心力进入反应槽26, 并到达第三阀, 在反应槽26中完成免疫反应, 开启反应槽26下方预置在机器中的电磁铁, 将混合液中的磁微粒固定;

[0153] (7) 旋转芯片, 反应槽26中的液体经过第三阀全部进入第一废液槽18中;

[0154] (8) 芯片停止旋转, 清洗液存储罐15释放清洗液, 并到达第四阀, 完成后, 旋转芯片, 将清洗液完全释放至分配槽17, 随后通过微通道排入第二定量槽24中, 并到达第二阀;

[0155] (9) 旋转芯片, 第二定量槽24中液体经过第二阀, 进入反应槽26, 完成清洗, 并到达第三阀;

[0156] (10) 旋转芯片, 反应槽26中的液体全部经过第三阀进入第一废液槽18中;

[0157] (11) 芯片停止旋转, 底物存储罐释放底物液, 完成后, 底物液到达第四阀, 旋转芯片, 将底物液完全释放至分配槽17, 随后通过微通道排入第二定量槽24中, 并到达第二阀;

[0158] (12) 旋转芯片, 第二定量槽24中液体经过第二阀到达第二混合槽25, 并进入反应槽26, 完成化学发光反应, 进行发光信号捕捉, 完成检测。

[0159] 所述旋转的转速可为1000-8000r/min, 如1500r/min、2000r/min、2300r/min、2800r/min、3000r/min、5000r/min、7000r/min或7500r/min等, 旋转的时间可为1-10min, 如2min、3min、5min、8min、9min或9.5min等。

[0160] 实施例4

[0161] 一种化学发光免疫检测微流控芯片, 除设置10个反应单元外, 其余与实施例3相同。

[0162] 实施例5

[0163] 利用实施例3所述的化学发光免疫检测微流控芯片进行双抗体夹心法测试甲胎蛋白AFP

[0164] 酶标记抗体过程: 碱性磷酸酶标记的AFP抗体采用专利CN 104198721B中的酶标记方法。具体为: 准确量取碱性磷酸酶0.5-0.8mg, 置于2mL的离心管中; 称取4-6mg的SMCC (N-马来酰亚胺甲基) 环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯用DMSO (二甲基亚砷) 溶解至一定浓度; 在含有碱性磷酸酶的离心管中加入适量的SMCC溶液, 混匀后, 于25℃反应1小时, 结束后, 透析去除溶液中过量的SMCC, 再经过AKTA蛋白纯化仪得到偶联抗体的碱性磷酸酶。

[0165] 酶标抗体固化过程: 将纯化后的酶标抗体用超滤管浓缩, 再溶于冻干稳定剂中, 此冻干稳定剂包括蔗糖、组氨酸缓冲液 (pH=7.4)、聚山梨醇酯-20的混合溶液, 置于冷冻干燥机中冻干12-24小时, 成干粉状, 保存待用。(保存于芯片中混合槽25处)

[0166] 抗体固定在板上过程 (直接包被在基板上也可以实现功能): 微流控芯片包被抗体处经表面亲水改性且富含氨基-NH₂的基团, 其含量是0.21eq/g, 首先将芯片浸泡在100mL 0.01M的PBS (pH=8.0) 容器中, 加入200uL戊二醛溶液, 再加入300ug的AFP包被抗体, 轻微震荡混匀混合溶液, 避光并放置于4℃冰箱里, 反应12小时后, 取出芯片, 用含有0.5%的BSA和0.01%的TWEEN-20的Tris (pH=7.4) 封闭液于4℃下封闭2小时, 最后将芯片用10mM的PBS清洗4-6遍, 于50℃的烘箱里烘干2小时, 得到一定区域包被有AFP一抗的微流控芯片。(保存于

芯片中反应槽26处)

[0167] 按照实施例3所述的检测方法进行检测,将底物液存储罐里放入AMPPD及其金刚烷衍生物CSPD和CDP-Star,将酶标抗体和待测人的血清混匀孵育,流入反应孔26孵育反应一定时间后,注入含有0.01%的Trixon-100的Tris (pH=7.4) 清洗液100uL,清洗后,再注入190uL底物液。

[0168] 酶促使发光底物持续恒定发光,用发光测定仪测量反应产物的相对光强度,再根据校准品的浓度来得出待测物的结果。

[0169] 实施例6

[0170] 利用实施例3所述的化学发光免疫检测微流控芯片进行双抗体夹心法测试癌胚抗原CEA

[0171] 酶标记抗体过程:准确量取3mg辣根过氧化物酶HRP溶解于0.3mL (0.2mol/L, pH=5.6) 醋酸盐缓冲液中。于上液中加入0.15mL新配的0.1mol/L NaIO₄溶液,室温避光20min。上液中加入2.5%乙二醇0.3mL,室温30min,与NaIO₄反应,防止过度氧化。将HRP分装到1.5mL离心管中,每管50uL,向离心管中加入CEA抗体,混匀。将上述溶液加入透析袋中,置2000mL的碳酸盐缓冲液 (0.05M, pH=9.5) 中透析,4℃搅拌过夜,中间更换两次磷酸盐缓冲液。透析后加入0.004mL新配的5mg/mL NaBH₄溶液,混匀,4℃放置2小时。结束后,透析去除溶液中过量的盐离子,再经过AKTA蛋白纯化仪得到偶联抗体的辣根过氧化物酶。

[0172] 酶标抗体固化过程:将纯化后的酶标抗体用超滤管浓缩,再溶于冻干稳定剂中,此冻干稳定剂包括蔗糖、组氨酸缓冲液 (pH=7.4) 、聚山梨醇酯-20的混合溶液,置于冷冻干燥机中冻干12-24小时,成干粉状,保存待用 (保存于芯片中第二混合槽25处)。

[0173] 抗体包被磁性微球过程:取2mL圆底离心管中依次加入CEA抗体、(3mg/30uL) 苯磺酰化磁珠、(NH₄)₂SO₄、355uL硼酸钠缓冲液BBS (0.1M pH9.5) 包被液使磁珠终浓度为5mg/mL, 200uL (NH₄)₂SO₄浓度为1M;磁珠:抗体 (质量比) =25:1, 40uL抗体/(mg磁珠),算出抗体及Buffer 3B的体积。轻柔混匀,置于多用途旋转摇床20转、37℃反应20小时。偶联反应完后洗涤,磁架吸附3min,去上清,加入1.8mL洗涤液,混匀,磁架吸附3min,去上清,洗涤三次。再加入含1%的牛血清白蛋白BSA的Tirs缓冲液封闭,置于多用途旋转摇床20转、37℃反应20小时。(保存于芯片中混合槽25处)

[0174] 保存方法:1) 将所得包被好的磁珠稀释至50mL磁珠稀释液 (磁珠浓度120uL/mL) 中,4℃存放备用。2) 加入100uL磁珠稀释液 (磁珠浓度60uL/mL) ,4℃保存。

[0175] 按照实施例3所述的检测方法进行检测,将底物液预埋罐里放入鲁米诺Lumino及其增强剂4-(1H-三氮唑) 苯酚 (TRP),将酶标抗体和待测人的血清混匀孵育,再与磁珠包被物孵育反应一定时间后,到达含有磁铁的微通道,注入含有0.01%的Trixon-100的Tris (pH=7.4) 清洗液100uL,清洗后,再注入190uL底物液鲁米诺Lumino及其增强剂4-(1H-三氮唑) 苯酚 (TRP)。

[0176] 酶促使发光底物持续恒定发光,用发光测定仪测量反应产物的相对光强度,再根据校准品的浓度来得出待测物的结果。

[0177] 实施例7

[0178] 利用实施例3所述的化学发光免疫检测微流控芯片进行双抗体夹心法测试卵巢癌相关标志物CA125

[0179] 发光物标记抗体过程:准确量取吡啶酯磺酰胺(DMAE-NHS)或异鲁米诺及其衍生物(ABEI) 0.5-0.8mg,置于2mL的离心管中,按一定质量反应比例吸取CA125抗体,混匀后,振荡孵育于25℃反应6-8小时左右,结束后,透析去除溶液中过量的吡啶酯磺酰胺(DMAE-NHS)或异鲁米诺及其衍生物(ABEI),再经过AKTA蛋白纯化仪得到偶联抗体的发光物。

[0180] 标记抗体固化过程:将纯化后的标记抗体用超滤管浓缩,再溶于冻干稳定剂中,此冻干稳定剂包括蔗糖、组氨酸缓冲液(pH=7.4)、聚山梨醇酯-20的混合溶液,置于冷冻干燥机中冻干12-24小时,成干粉状,保存待用。

[0181] 抗体固定在板上过程:微流控芯片包被抗体处经表面亲水改性且富含羧基-COOH的基团,其含量是0.43eq/g,首先将芯片浸泡在100mL 0.1M的MES(pH=6.0)容器中,加入100uL(1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐)EDC溶液和200uLN-羟基琥珀酰亚胺NHS溶液,再加入300ug的CA125包被抗体,轻微震荡混匀混合溶液,避光并放置于4℃冰箱里,反应12小时后,取出芯片,用含有0.5%的BSA和0.01%的TWEEN-20的Tris(pH=7.4)封闭液于4℃下封闭2小时,最后将芯片用10mM的PBS清洗4-6遍,于50℃的烘箱里烘干2小时,得到一定区域包被有CA125一抗的微流控芯片。

[0182] 按照实施例3所述的检测方法进行检测,将底物液预埋罐里放入NaOH及其H₂O₂,将酶标抗体和待测人的血清混匀孵育,流入包被一抗的区域孵育反应一定时间后,注入含有0.01%的Trixon-100的Tris(pH=7.4)清洗液100uL,清洗后,再注入190uL底物混合液。

[0183] 闪光型化学发光系统为瞬间发光,需立即用发光测定仪测量反应产物的相对光强度,再根据校准品的浓度来得出待测物的结果。

[0184] 申请人声明,以上所述仅为本发明的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,所属技术领域的技术人员应该明了,任何属于本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,可轻易想到的变化或替换,均落在本发明的保护范围和公开范围之内。

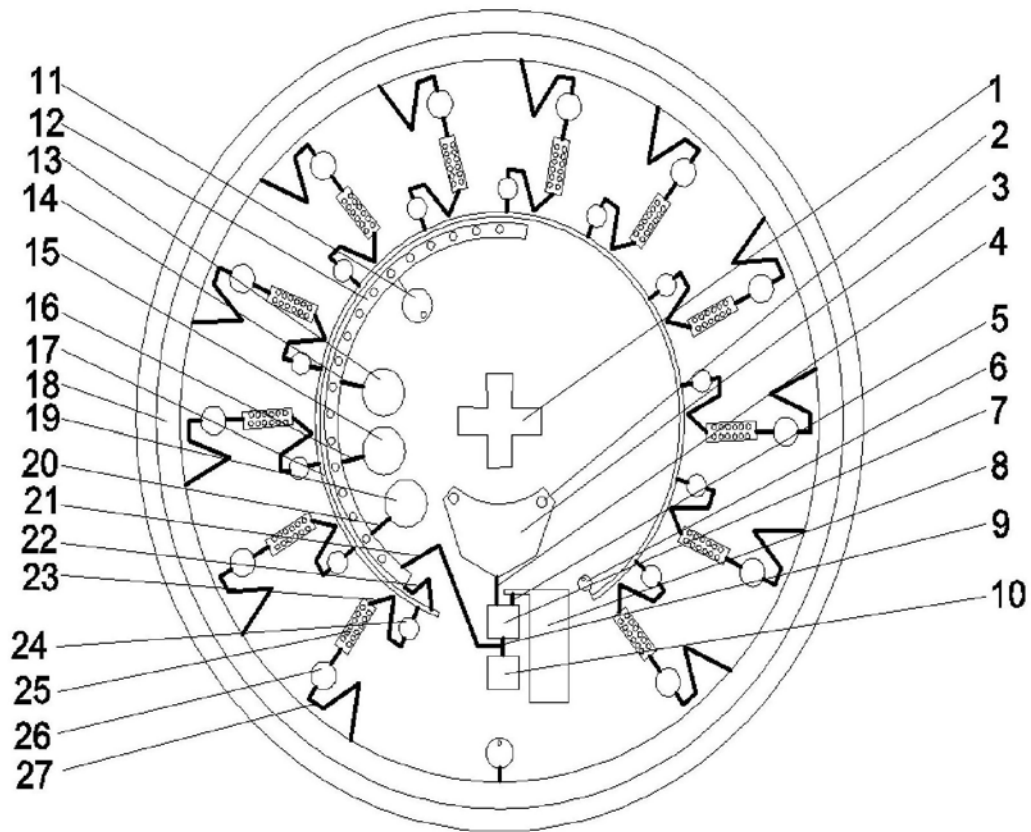


图1

专利名称(译)	一种化学发光免疫检测微流控芯片、检测仪及检测方法		
公开(公告)号	CN109030813A	公开(公告)日	2018-12-18
申请号	CN201810799131.9	申请日	2018-07-19
[标]申请(专利权)人(译)	东莞东阳光科研开发有限公司		
申请(专利权)人(译)	东莞东阳光科研开发有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	东莞东阳光科研开发有限公司		
[标]发明人	焦政 顾志鹏 李重阳 刘仁源 李建霖 姜桂华		
发明人	焦政 顾志鹏 李重阳 刘仁源 李建霖 姜桂华		
IPC分类号	G01N33/531 G01N33/543 B01L3/00		
CPC分类号	G01N33/531 B01L3/5027 G01N33/54326		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种化学发光免疫检测微流控芯片、检测仪及检测方法，所述芯片包括基板，所述基板设置有通过微通道依次连通的进样单元、分配单元、反应单元和废液回收单元；进样单元包括进样孔；分配单元包括第一混合槽；反应单元包括反应槽，反应单元中固定有固化剂层，用于与待测样品发生免疫反应；废液回收单元包括第一废液槽。所述化学发光免疫检测微流控芯片能够实现所有试剂预先包埋于芯片中，兼顾了大型仪器的检测结果精确可控与传统即时检测的快速操作简单的优点；通过离心实现流体控制，通过定量孔实现样品定量；可以实现多靶标同时检测。

