



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110031617 A

(43)申请公布日 2019.07.19

(21)申请号 201910307480.9

(22)申请日 2019.04.17

(71)申请人 厦门大学

地址 361005 福建省厦门市思明南路422号

(72)发明人 陈宏 徐成龙 李秀秀

(74)专利代理机构 厦门南强之路专利事务所

(普通合伙) 35200

代理人 马应森

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

B01L 3/00(2006.01)

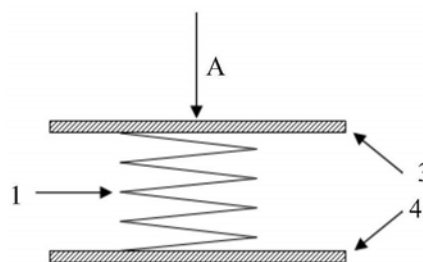
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

一种用于免疫诊断的一维纸芯片及其制备方法与应用

(57)摘要

一种用于免疫诊断的一维纸芯片及其制备方法与应用。一维纸芯片设有载体、探针、上下夹板,探针固定在载体上,载体设在上下夹板之间。对载体表面处理;将载体裁剪成长条状;在载体上固定探针;将载体折叠,折痕分布于各个探针之间的间隔;折叠后的载体即为固定有不同种探针的一维纸芯片长条状载体;将折叠后的载体放入上下夹板之间,使含有探针的点位、上下夹板的圆形孔洞对齐,后固定;在下夹板下方垫上吸水纸用于吸水;将待测样品从上夹板的圆形孔洞中加入,沿着探针从下夹板析出,被吸水纸吸收;将用于检测的标记物或基团等从上夹板的圆形孔洞中加入,沿着探针从下夹板析出,被吸水纸吸收;取出载体,放入仪器内检测。可在免疫诊断检测中应用。



1. 一种用于免疫诊断的一维纸芯片,其特征在于设有载体、探针、上夹板和下夹板,所述探针固定在载体上,所述载体设在上夹板和下夹板之间。

2. 如权利要求1所述用于免疫诊断的一维纸芯片的制备方法,其特征在于包括以下步骤:

- 1) 对载体进行表面处理,去除其表面杂质、多余毛刺;
- 2) 根据需要固定的探针数量,将载体裁剪成长条状;
- 3) 在载体长度方向上固定探针;
- 4) 待探针完全干燥且固定在载体上后,将载体进行折叠,折痕分布于各个探针之间的间隔,使得折叠后所有探针互相对齐,均在一个点位上;
- 5) 折叠后的载体即为固定有不同种探针的一维纸芯片长条状载体;
- 6) 根据需要制作上夹板和下夹板;
- 7) 将折叠后的载体放入上夹板和下夹板之间,使含有探针的点位、上夹板和下夹板的圆形孔洞对齐,后固定;
- 8) 在下夹板下方垫上足量的能够完全吸收制备及检测过程中溶液的吸水纸用于吸水;
- 9) 将待测样品从上夹板的圆形孔洞中加入,沿着探针从下夹板析出,被吸水纸吸收;
- 10) 将用于检测的标记物或基团从上夹板的圆形孔洞中加入,沿着探针从下夹板析出,被吸水纸吸收;
- 11) 从上夹板和下夹板中取出载体,展平后放入用于检测化学发光或荧光标志物的仪器内进行检测。

3. 如权利要求2所述用于免疫诊断的一维纸芯片的制备方法,其特征在于在步骤1)中,所述载体选自滤纸、硝酸纤维素膜、层析纸中的一种。

4. 如权利要求2所述用于免疫诊断的一维纸芯片的制备方法,其特征在于在步骤3)中,所述在载体长度方向上固定探针是按相隔1~3cm的距离在载体长度方向上固定探针,以探针溶液不互相接触为最佳。

5. 如权利要求2所述用于免疫诊断的一维纸芯片的制备方法,其特征在于在步骤3)中,所述探针的种类采用抗体溶液、抗原溶液、DNA中的一种。

6. 如权利要求2所述用于免疫诊断的一维纸芯片的制备方法,其特征在于在步骤6)中,所述上夹板和下夹板的长度为5~10cm,宽度为2~3cm。

7. 如权利要求2所述用于免疫诊断的一维纸芯片的制备方法,其特征在于在步骤6)中,所述上夹板和下夹板的中心均设有半径为0.5~1cm的圆形孔洞;所述上夹板和下夹板的材质可为亚克力、塑料、金属。

8. 如权利要求2所述用于免疫诊断的一维纸芯片的制备方法,其特征在于在步骤10)中,所述将用于检测的标记物或基团是将10~1000 μ L用于检测的标记物或基团等从上夹板的圆形孔洞中加入。

9. 如权利要求2所述用于免疫诊断的一维纸芯片的制备方法,其特征在于在步骤11)中,所述用于检测化学发光或荧光标志物的仪器采用Typhoon多功能激光扫描成像系统、GE AI600超灵敏多功能生物分子成像仪。

10. 如权利要求1所述用于免疫诊断的一维纸芯片在免疫诊断检测中应用。

一种用于免疫诊断的一维纸芯片及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫诊断领域,尤其是涉及基于纸基微流控芯片技术的可以同时检测多种物质的一种用于免疫诊断的一维纸芯片及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 免疫诊断技术是指应用免疫学的理论、技术和方法诊断各种疾病和测定免疫状态。目前广泛应用于医院、血站、体检中心等,其主要包括酶联免疫、化学发光和放射免疫等。但其存在诸多问题,包括:样品利用率低下、难以实现多种指标检测、成本高昂等。

[0003] 随着微流控技术的发展,使得在微流体通道内进行免疫诊断成为了可能。

[0004] 微流控芯片技术起源于20世纪70年代,Terry等实现了微缩的气相色谱在硅片上的构造,进而演示了一种进行混合气体成分分析的效果。在20世纪90年代,Manz等基于微流控芯片的高效高速毛细管电泳分离系统,首先提出了微全分析系统的概念,又被称为Lab on a Chip,即微流控芯片技术。它依托微纳加工技术,将生物化学分析过程集成在一块几平方厘米的芯片上,通过微流通道控制样品的制备、稀释、分离、检测等基本操作,进行至少一种连续反应,实现高通量快速分析的目的。目前,在医学诊断和环境监测等领域受到广泛关注。但由于微纳加工技术的成本较高、工艺要求复杂等缺点,其发展及应用受到了较大限制。

[0005] 2007年,Whitesides等首次提出了纸基微流控芯片技术的概念,它利用纸张作为代替传统硅、石英、玻璃等材料作为基底,在其上加工出一定结构的微通道网络及相关分析器件,进行一步或者多步生物化学反应过程,以达到分析检测目的。相较于传统微流控芯片,纸基微流控芯片具有诸多优点:成本低廉,分析系统更易微型化、便携化,生物相容性好,检测背景较低,且易于降解,后续处理简单、无污染。随后,Martinez等提出了一种用于检测葡萄糖和蛋白质的纸基微流控芯片,为纸基微流控芯片的提供了一个发展方向。

[0006] 但目前传统的纸基微流控芯片主要还停留在实验室阶段,相较于传统微流控芯片其成本虽然降低,但由于加工微流体通道技术的复杂性,其成本依然处于一个较高的水平。这成为纸基微流控芯片进入实际应用一个最大的阻碍。

发明内容

[0007] 本发明的目的是针对现有的免疫诊断检测技术方面的不足,提供使用滤纸、硝酸纤维素膜、层析纸等作为免疫诊断的载体,制备出一种具有特殊外形的一维纸芯片,主要由上下固定板和纸构成,可以含有多种探针,探针排布的自由度大,方法简单,材料要求低,成本低廉且易于操作,不仅能用于免疫诊断领域,还可以用于分子诊断,DNA杂交、亲和反应以及环境监测中重金属离子的检测的一种用于免疫诊断的一维纸芯片及其制备方法与应用。

[0008] 所述用于免疫诊断的一维纸芯片设有载体、探针、上夹板和下夹板,所述探针固定在载体上,所述载体设在上夹板和下夹板之间。

[0009] 所述用于免疫诊断的一维纸芯片的制备方法包括以下步骤:

- [0010] 1) 对载体进行表面处理, 去除其表面杂质、多余毛刺等;
- [0011] 在步骤1) 中, 所述载体可选自滤纸、硝酸纤维素膜、层析纸等中的一种。
- [0012] 2) 根据需要固定的探针数量, 将载体裁剪成长条状;
- [0013] 3) 在载体长度方向上固定探针;
- [0014] 在步骤3) 中, 所述在载体长度方向上固定探针可按相隔1~3cm的距离在载体长度方向上固定探针, 以探针溶液不互相接触为最佳; 所述探针的种类可采用抗体溶液、抗原溶液、DNA等中的一种。
- [0015] 4) 待探针完全干燥且固定在载体上后, 将载体进行折叠, 折痕分布于各个探针之间的间隔, 使得折叠后所有探针互相对齐, 均在一个点位上;
- [0016] 5) 折叠后的载体即为固定有不同种探针的一维纸芯片长条状载体;
- [0017] 6) 根据需要制作上夹板和下夹板;
- [0018] 在步骤6) 中, 所述上夹板和下夹板的长度可为5~10cm, 宽度可为2~3cm; 所述上夹板和下夹板的中心均设有半径为0.5~1cm的圆形孔洞; 所述上夹板和下夹板的材质可为亚克力、塑料、金属等。
- [0019] 7) 将折叠后的载体放入上夹板和下夹板之间, 使含有探针的点位、上夹板和下夹板的圆形孔洞对齐, 后固定;
- [0020] 8) 在下夹板下方垫上足量的能够完全吸收制备及检测过程中溶液的吸水纸用于吸水;
- [0021] 9) 将待测样品从上夹板的圆形孔洞中加入, 沿着探针从下夹板析出, 被吸水纸吸收;
- [0022] 10) 将用于检测的标记物或基团等从上夹板的圆形孔洞中加入, 沿着探针从下夹板析出, 被吸水纸吸收;
- [0023] 在步骤10) 中, 所述将用于检测的标记物或基团可将10~1000 μ L用于检测的标记物或基团等从上夹板的圆形孔洞中加入。
- [0024] 11) 从上夹板和下夹板中取出载体, 展平后放入可用于检测化学发光或荧光标志物的仪器内进行检测。
- [0025] 在步骤11) 中, 所述用于检测化学发光或荧光标志物的仪器可采用Typhoon多功能激光扫描成像系统、GE AI600超灵敏多功能生物分子成像仪等。
- [0026] 所述用于免疫诊断的一维纸芯片可在免疫诊断检测中应用。
- [0027] 与传统纸基微流控芯片相比, 本发明具有以下优点:
- [0028] 1) 本发明无需在基底上加工出微流体通道, 加工成本大大降低;
- [0029] 2) 本发明中得到的固定有探针纸芯片, 可以随意固定探针种类、数量、大小;
- [0030] 3) 本发明所使用的基底, 为市面上价格较低的定性滤纸、硝酸纤维素膜等, 载体成本低;
- [0031] 4) 本发明中得到的固定有探针纸芯片, 可以在常温下进行较长时间保存与运输。

附图说明

- [0032] 图1为固定有不同种探针的一维纸芯片的示意图。
- [0033] 图2为纸芯片结构示意图。

- [0034] 图3为纸芯片上夹板示意图。
[0035] 图4为纸芯片下夹板示意图。
[0036] 图5为纸芯片检测过程示意图。
[0037] 图6为检测结果示意图。

具体实施方式

[0038] 以下实例将结合附图对本发明作进一步的说明。本实施例在以本发明技术方案为前提下进行实施,给出了详细的实施方式和过程,但本发明的保护范围不限于下述的实施例。

[0039] 如图1~4所示,所述用于免疫诊断的一维纸芯片实施例包括采用3D打印的载体1(固定有探针的滤纸)、探针2、上夹板3和下夹板4,上夹板3和下夹板4即为外壳,所述探针2固定在载体1上,所述载体1设在上夹板3和下夹板4之间。上夹板3和下夹板4的中心位置设有用于进样A的圆形孔洞B,通过卡口5可将上夹板3和下夹板4固定,且从上夹板3和下夹板4中流出的液体由下夹板4下的吸水纸6吸收。

[0040] 所述用于免疫诊断的一维纸芯片的制备方法实施例包括以下步骤:

[0041] 1) 对载体进行表面处理,去除其表面杂质、多余毛刺等;所述载体选自滤纸、硝酸纤维素膜、层析纸等中的一种。

[0042] 2) 根据需要固定的探针数量,将载体裁剪成长条状;

[0043] 3) 在载体长度方向上固定探针;所述在载体长度方向上固定探针可按相隔1~3cm的距离在载体长度方向上固定探针,以探针溶液不互相接触为最佳;所述探针的种类可采用抗体溶液、抗原溶液、DNA等中的一种。

[0044] 4) 待探针完全干燥且固定在载体上后,将载体进行折叠,折痕分布于各个探针之间的间隔,使得折叠后所有探针互相对齐,均在一个点位上;

[0045] 5) 折叠后的载体即为固定有不同种探针的一维纸芯片长条状载体;

[0046] 6) 根据需要制作上夹板和下夹板;所述上夹板和下夹板的长度可为5~10cm,宽度可为2~3cm;所述上夹板和下夹板的中心均设有半径为0.5~1cm的圆形孔洞;所述上夹板和下夹板的材质可为亚克力、塑料、金属等。

[0047] 7) 将折叠后的载体放入上夹板和下夹板之间,使含有探针的点位、上夹板和下夹板的圆形孔洞对齐,后固定;

[0048] 8) 在下夹板下方垫上足量的能够完全吸收制备及检测过程中溶液的吸水纸用于吸水;

[0049] 9) 将待测样品从上夹板的圆形孔洞中加入,沿着探针从下夹板析出,被吸水纸吸收;

[0050] 10) 将用于检测的标记物或基团等从上夹板的圆形孔洞中加入,沿着探针从下夹板析出,被吸水纸吸收;所述将用于检测的标记物或基团可将10~1000 μ L用于检测的标记物或基团等从上夹板的圆形孔洞中加入。

[0051] 11) 从上夹板和下夹板中取出载体,展平后放入可用于检测化学发光或荧光标志物的仪器内进行检测。所述用于检测化学发光或荧光标志物的仪器采用Typhoon多功能激光扫描成像系统、GE AI600超灵敏多功能生物分子成像仪等。

[0052] 以下给出具体实施例。

[0053] 1、制备含有探针的一维纸芯片

[0054] 将人癌胚抗体CEA、NSE、CA125三种第一抗体溶液分别稀释成浓度为1 μ g/ml待用；

[0055] 取干净的定性滤纸，裁剪成长度为10cm，宽度为2cm的长条状待用；

[0056] 取稀释后人癌胚抗体CEA、NSE、CA125第一抗体溶液各5 μ L，间隔为0.5cm，依次滴在滤纸上，使得滤纸上总计含有3组CEA、NSE、CA125第一抗体溶液，重复3次；

[0057] 待滤纸干燥后进行折叠，在固定有第一个和第二个第一抗体探针之间进行对折，使含有探针的点位对齐，之后再在固定有第二个和第三个第一抗体探针之间进行对折，使含有探针的点位对齐，如此反复，使所有含有探针的点位对齐；

[0058] 将滤纸夹在上下3D打印的上下夹板之间，使点位与夹板之中的进样孔对齐，再在下层底板放置滤纸，制备含有探针的一维纸芯片。总计制作3个相同的有探针的一维纸芯片。

[0059] 2、样品反应

[0060] 配制含有不同种浓度均为100ng/mL抗原的待测样品三组，其中第一组含有CEA、NSE抗原，第二组含有NSE、CA125抗原，第三组含有CEA、CA125抗原，分别从三个纸芯片的上夹板中的进样口中加入，待样品全部流尽待用；

[0061] 配制浓度为100ng/mL含有CY3标记的CEA、NSE、CA125第一抗体混合溶液，从三个纸芯片的上夹板中的进样口中加入，待样品全部流尽待用，如图5。

[0062] 3、结果检测

[0063] 取下一维纸芯片的上下夹板和吸水纸后将其展开平直，置于Typhoon&Storm系列多功能激光扫描成像系统中(参见图6)，用520nm激光曝光一定时间后得到曝光图像信息。对于待测样中含有对应抗原的探针点位信号强度明显高于不含有对应抗原的点位。

[0064] 本发明利用纸作为载体，制备出可以同时检测多种物质的一维滤纸芯片。该种纸芯片的材料可以为定性滤纸、硝酸纤维素膜、层析纸等，材料要求低，探针排布的自由度大，本发明简单，用药量少，并且克服了传统纸基微流控芯片高成本的问题，制造成本大大降低。

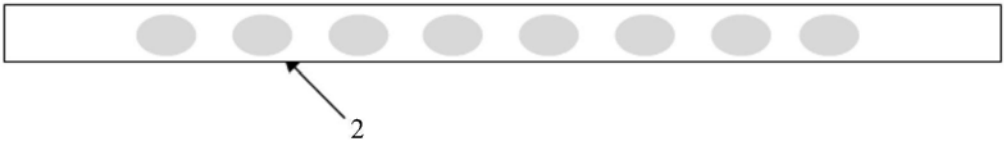


图1

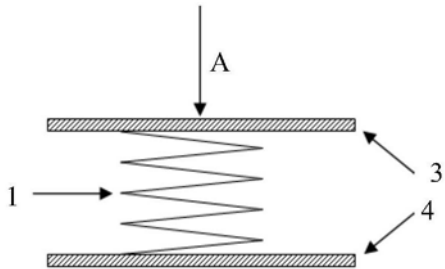


图2

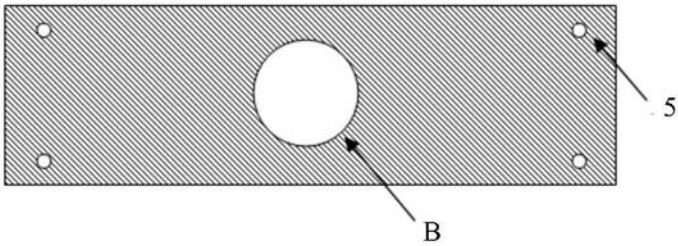


图3

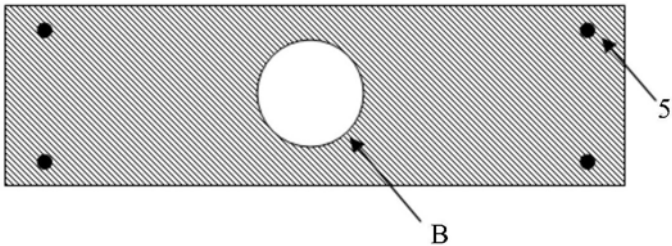


图4

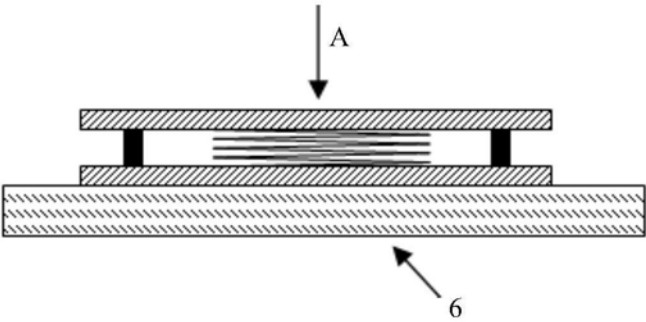


图5

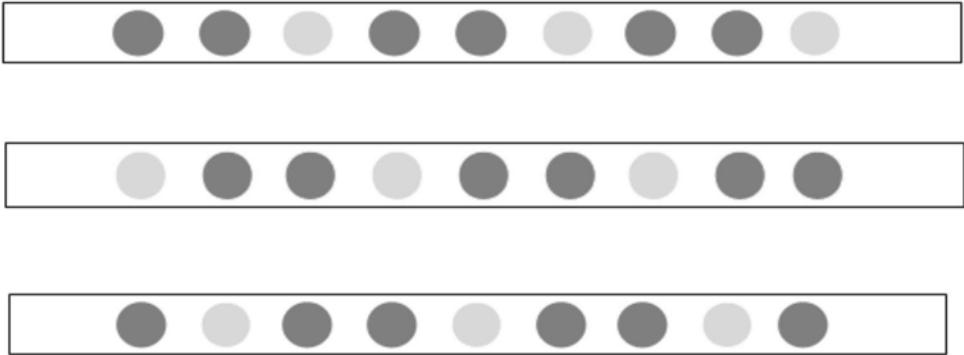


图6

专利名称(译)	一种用于免疫诊断的一维纸芯片及其制备方法与应用		
公开(公告)号	CN110031617A	公开(公告)日	2019-07-19
申请号	CN201910307480.9	申请日	2019-04-17
[标]申请(专利权)人(译)	厦门大学		
申请(专利权)人(译)	厦门大学		
当前申请(专利权)人(译)	厦门大学		
[标]发明人	陈宏 徐成龙 李秀秀		
发明人	陈宏 徐成龙 李秀秀		
IPC分类号	G01N33/53 B01L3/00		
CPC分类号	B01L3/5027 G01N33/5302		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种用于免疫诊断的一维纸芯片及其制备方法与应用。一维纸芯片设有载体、探针、上下夹板，探针固定在载体上，载体设在上下夹板之间。对载体表面处理；将载体裁剪成长条状；在载体上固定探针；将载体折叠，折痕分布于各个探针之间的间隔；折叠后的载体即为固定有不同种探针的一维纸芯片长条状载体；将折叠后的载体放入上下夹板之间，使含有探针的点位、上下夹板的圆形孔洞对齐，后固定；在下夹板下方垫上吸水纸用于吸水；将待测样品从上夹板的圆形孔洞中加入，沿着探针从下夹板析出，被吸水纸吸收；将用于检测的标记物或基团等从上夹板的圆形孔洞中加入，沿着探针从下夹板析出，被吸水纸吸收；取出载体，放入仪器内检测。可在免疫诊断检测中应用。

