



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109211866 A

(43)申请公布日 2019.01.15

(21)申请号 201811370129.6

(22)申请日 2018.11.17

(71)申请人 郑州亲和力科技有限公司

地址 450001 河南省郑州市高新区长椿路
11号河南省大学科技园18号楼5楼

(72)发明人 牛亚静 付红伟 张娟丽 高勇
徐泼实 李海剑 李伟甲 刘亚品
马万顺

(74)专利代理机构 郑州天阳专利事务所(普通
合伙) 41113

代理人 聂孟民

(51)Int.Cl.

G01N 21/64(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

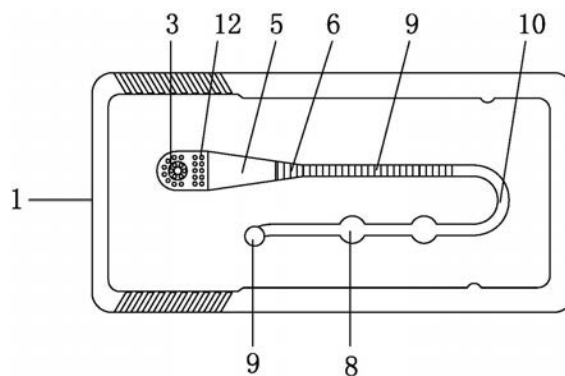
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

一种快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片

(57)摘要

本发明涉及快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片,可有效解决现有CK-MB检测芯片灵敏度低、重复性差、易受外界环境干扰,以及现有配套仪器昂贵、检测时间长的问题。底板为空心凹槽长方形,顶板置于底板凹槽的正上方,构成底板和顶板的密封结构,顶板的上平面有样品加样口和负压接口,底板的凹槽内经回形管装有串接在一起的样品加样区、血细胞过滤区、微栅反应腔、时间阀、识别反应区和废液池,血细胞过滤区上装有血细胞滤膜,样品加样口正对底板样品凹槽内的样品加样区,回形管的负压端接负压接口,微栅反应腔预封装荧光标记的抗CK-MB单克隆抗体混合样品,识别反应区包被抗CK-MB的单克隆抗体;本发明易生产制备,使用方便,准确率高,节能环保,成本低廉。



1. 一种快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片,包括底板、顶板、样品加样区、微栅反应腔、识别反应区、废液室和血细胞过滤区,其特征在于,所述的底板(1)为空心凹槽长方形,顶板(2)置于底板凹槽的正上方,构成底板和顶板的密封结构,顶板的上平面有样品加样口(11)和负压接口(9),底板的凹槽内经回形管(10)装有串接在一起的样品加样区(3)、血细胞过滤区(12)、微栅反应腔(5)、时间阀(6)、识别反应区(7)和废液池(8),血细胞过滤区(12)上装有血细胞滤膜(4),样品加样口(11)正对底板样品凹槽内的样品加样区(3),回形管(10)的负压端接负压接口(9),微栅反应腔(5)预封装荧光标记的抗CK-MB单克隆抗体混合样品,构成样品与荧光标记的BNP单克隆抗体混合反应区;识别反应区(7)包被抗CK-MB的单克隆抗体;样品加样区(3)中的样品靠自虹吸作用移动或采用负压接口连接控制泵进行移动;

所述的CK-MB单克隆抗体的制备方法是:

1)、荧光微球的活化、洗涤,此步骤需要将荧光微球表面修饰基团活化,取直径为200 nm荧光微球,加入缓冲液离心,弃上清,沉淀用洗涤缓冲液重复洗涤3次;将末次沉淀重悬于所述洗涤缓冲液中,使荧光微球的质量体积比终浓度为1%,所述洗涤缓冲液选自PBS缓冲液和MES缓冲液中的一种;

2)、CK-MB抗体包被荧光微球,取1 ml活化洗涤后的200 nm胶乳溶液,加入抗CK-MB抗体,使抗CK-MB抗体终浓度为1 mg/ml;混匀后,置4度,摇床以220rpm转速包被8h;用PBS缓冲液洗涤未与荧光微球结合的抗CK-MB抗体,重复3次;封闭:将洗涤后的抗CK-MB抗体的荧光微球溶于包含所述保护剂的缓冲液中,使所述荧光微球的质量体积比终浓度为0.1-0.14%;

3)、抗CK-MB抗体和荧光微球结合后封闭,将所述荧光微球与所述抗CK-MB抗体混合物,加入BSA0.3%,室温下反应2 h,离心,除去其中少量的沉淀物;清洗,将形成的荧光微球-抗CK-MB抗体复合物溶液离心,弃上清,加入磷酸盐缓冲液重复清洗3次;将末次沉淀溶于含所述保护剂和防腐剂的缓冲液中,使所述荧光微球的质量体积比终浓度为0.04%-0.14%。

2. 根据权利要求1所述的快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片,其特征在于,所述荧光标记抗体为荧光微球标记抗体,所述荧光微球载体为天然或合成的有机高分子材料,负载的荧光物质有机物,其激发波长为620-680 nm,发射波长为730-790 nm,粒径为100-500 nm。

3. 根据权利要求1所述的快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片,其特征在于,所述的顶板上开有排气孔。

4. 根据权利要求1所述的快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片,其特征在于,所述的样品加样区上开有圆形或方形的加样孔(11)。

5. 根据权利要求1所述的快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片,其特征在于,所述底板为长方形的凹槽状,具有不同功能微结构,底板和顶板采用胶粘、机械固定、超声封合密封固定在一起。

6. 根据权利要求1所述的快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片,其特征在于,所述微栅反应腔,包括有等间距排列的微结构,所述微结构为梯形、三角形、半圆形的一种。

7. 根据权利要求1所述的快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片,其特征在于,所述时间阀包括阻滞栏结构形成的导流槽,每个阻滞栏呈下宽上窄的梯形、阶梯形或三角形。

8. 根据权利要求1所述的快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片, 其特征在于, 所述识别反应区, 包括有等间距排列的微结构, 所述微结构为梯形、三角形、半圆形。

一种快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片

技术领域

[0001] 本发明涉及医疗诊断设备,特别是一种快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片。

背景技术

[0002] 肌酸激酶(以下简称为CK)是由两种不同亚基(M和B)组成的二聚体,主要与细胞的能量代谢相关。正常人体组织主要含3种同工酶,即CK-MM、CK-BB、CK-MB。CK-MM主要存在于肌肉细胞中,CK-BB主要存在于脑细胞中,CK-MB主要存在于心肌细胞中。CK-MB是目前常用的心肌损伤标志物,曾一度被视为诊断心肌梗死的“金标准”。

[0003] CK-MB在急性心肌梗死发病后4~8小时内增高,24小时达峰值,两三天其浓度恢复正常。CK-MB因其具有重要的生理功能和临床指导意义,已引起人们广泛的重视和深入的研究。

[0004] 目前市场上多用酶联免疫吸附法、化学发光法、胶乳增强免疫比浊法、荧光免疫法及胶体金免疫层析法等测定血清中的CK-MB。但酶联免疫检测法操作复杂,检测耗时长;化学发光法对专业技术要求高,不易在临床实验室中进行常规开展。胶体金免疫层析法具有操作简便、检测快速,标本用量少,价格便宜的优势,但是当待测物质含量较低,通过肉眼来判断容易出现误判,灵敏度较低。荧光免疫层析法大多数采用荧光素或其他物质CN 106248927 A作为发光源,虽然有较高的线性范围,但受背景信号的干扰,不能够保证低端灵敏度。中国专利200610114997 .9公布了一种血清中肌酸激酶同工酶的化学发光测定方法,其主要利用肌酸激酶催化磷酸肌酸与二磷酸腺苷反应生成三磷酸腺苷和肌酸,再用甘油激酶催化三磷酸腺苷和甘油生成3-磷酸甘油,3-磷酸甘油被磷酸甘油氧化酶氧化并产生过氧化氢,再经过氧化物酶作用,过氧化氢使鲁米诺氧化而发光。中国专利200520041211 .6披露了一种心血管疾病诊断和预测多指标蛋白芯片检测试剂盒,该试剂盒采用化学发光法(如辣根过氧化物酶和鲁米诺)检测,并能同时检测C反应蛋白、肌红蛋白、心肌肌钙蛋白I、肌酸激酶同工酶等八种抗体。虽然化学发光法灵敏度较高,但重复性和稳定性均较差,且配套仪器昂贵,不能单样品快速即时检测,大大限制了化学发光法的广泛应用。中国专利CN 106248927 A公布了一种肌酸激酶同工酶荧光免疫层析法,主要采用了时间分辨荧光微球作为荧光标记物,对肌酸激酶同工酶进行检测及信号的读取,定量检测全血、血清或血浆中的CK-MB含量。该试纸条具有方便快捷、操作简单,但是大多数都采用将时间分辨荧光微球固定在结合物释放垫上,由于微球的释放不均一,导致重复性和稳定性较差。

[0005] 微流控技术(Microfluidics)是把生物、化学、医学分析过程的样品制备、反应、分离、检测等基本操作单元集成到一块微米尺度的芯片上,自动完成分析全过程。由于它在生物、化学、医学等领域的巨大潜力,已经发展成为一个生物、化学、医学、流体、电子、材料、机械等学科交叉的崭新研究领域。微流控芯片是微流控技术实现的主要平台。微流控芯片,微流控技术(Microfluidics)实现的主要平台,有着体积轻巧、使用样品及试剂量少,且反应

速度快、可大量平行处理及可即用即弃等优点。随着芯片微加工技术的发展,微流控技术得到了广泛的应用。微点专利US 20100009430A1阐述了一种基于微流控技术的肌酸激酶同工酶荧光免疫法,通过微流控芯片实现包被抗体与荧光抗体的固定,应用于血清/血浆中肌酸激酶同工酶的检测方法。专利CN 105424922 A公开了一种基于磁珠包被抗体的微流控芯片及捕获心肌标志物的方法,应用于免疫磁珠包被结合抗体领域,防止包被抗体复溶于流体系统及被流体中抗原捕获脱离包被基材。CN 105435867 A公开了一种检测全血中肌酸激酶同工酶的磁微粒化学发光微流控芯片,气泵使样本和酶标抗体混合均匀,到达包被区,溶解磁标抗体,充分反应后磁铁收集磁颗粒并清洗,移至检测区,释放发光基底液,仪器检测系统检测发光信号强度,从而实现全血样本中CK-MB的定量检测。

[0006] 针对现有CK-MB检测设备的不足和缺陷,开发快速、准确、稳定性高、灵敏度高的CK-MB定量检测设备,具有巨大发展潜力和应用前景。微流控芯片技术能够实现样品制备、反应、分离、检测等基本操作单元集成于一块微米尺度的芯片,同时,微通道形成的网络,能够贯穿整个系统,具有便携、低能耗、易于制作等优点,易于满足生命科学对生物样品进行低剂量、更高效、高灵敏、快速分离分析的需求,有望为即时诊断和家庭医疗等领域提供新的快速诊断设备,因此CK-MB检测设备的改进和创新势在必行。

发明内容

[0007] 针对上述情况,为克服现有技术之缺陷,本发明之目的就是提供一种快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片,可有效解决现有CK-MB检测芯片灵敏度低、重复性差、易受外界环境干扰,以及现有配套仪器昂贵、检测时间长的问题。

[0008] 本发明解决的技术方案是,一种快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片,包括底板、顶板、样品加样区、微栅反应腔、识别反应区、废液室和血细胞过滤区,所述的底板为空心凹槽长方形,顶板置于底板凹槽的正上方,构成底板和顶板的密封结构,顶板的上平面有样品加样口和负压接口,底板的凹槽内经回形管装有串接在一起的样品加样区、血细胞过滤区、微栅反应腔、时间阀、识别反应区和废液池,血细胞过滤区上装有血细胞滤膜,样品加样口正对底板样品凹槽内的样品加样区,回形管的负压端接负压接口,微栅反应腔预封装荧光标记的抗CK-MB单克隆抗体混合样品,构成样品与荧光标记的CK-MB单克隆抗体混合反应区;识别反应区包被抗CK-MB的单克隆抗体;样品加样区中的样品靠自虹吸作用移动或采用负压接口连接控制泵进行移动;

所述的CK-MB单克隆抗体的制备方法是:

1)、荧光微球的活化、洗涤,此步骤需要将荧光微球表面修饰基团活化,取直径为200 nm荧光微球,加入缓冲液离心,弃上清,沉淀用洗涤缓冲液重复洗涤3次;将末次沉淀重悬于所述洗涤缓冲液中,使荧光微球的质量体积比终浓度为1%,所述洗涤缓冲液选自PBS缓冲液和MES缓冲液中的一种;

2)、CK-MB抗体包被荧光微球,取1 ml活化洗涤后的200 nm胶乳溶液,加入抗CK-MB抗体,使抗CK-MB抗体终浓度为1 mg/ml;混匀后,置4度,摇床以220rpm转速包被8h;用PBS缓冲液洗涤未与荧光微球结合的抗CK-MB抗体,重复3次;封闭:将洗涤后的抗CK-MB抗体的荧光微球溶于包含所述保护剂的缓冲液中,使所述荧光微球的质量体积比终浓度为0.1-0.14%;

3)、抗CK-MB抗体和荧光微球结合后封闭,将所述荧光微球与所述抗CK-MB抗体混合物,加入BSA0.3%,室温下反应2 h,离心,除去其中少量的沉淀物;清洗,将形成的荧光微球-抗CK-MB抗体复合物溶液离心,弃上清,加入磷酸盐缓冲液重复清洗3次;将末次沉淀溶于含所述保护剂和防腐剂的缓冲液中,使所述荧光微球的质量体积比终浓度为0.04%-0.14%。

[0009] 本发明结构简单,新颖独特,易生产制备,使用方便,准确率高,节能环保,成本低廉,通过集成化芯片将反应、分离、检测一体化操作(把除测试样本外所有组分均集成到芯片内)并配套小型便携设备,从而实现对样品中CK-MB更高效、高灵敏、更快速的分离和分析,经济和社会效益显著。

附图说明

[0010] 图1为本发明的结构主视图。

[0011] 图2为本发明的底板部分结构主视图。

[0012] 图3为本发明CK-MB微流控免疫芯片检测原理图。

[0013] 图4为本发明CK-MB检测标准曲线图。

具体实施方式

[0014] 以下结合附图和具体情况对本发明的具体实施方式作详细说明。

[0015] 由图1、图2所示,一种快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片,包括底板、顶板、样品加样区、微栅反应腔、识别反应区、废液室和血细胞过滤区,所述的底板1为空心凹槽长方形,顶板2置于底板凹槽的正上方,构成底板和顶板的密封结构,顶板的上平面有样品加样口11和负压接口9,底板的凹槽内经回形管10装有串接在一起的样品加样区3、血细胞过滤区12、微栅反应腔5、时间阀6、识别反应区7和废液池8,血细胞过滤区12上装有血细胞滤膜4,样品加样口11正对底板样品凹槽内的样品加样区3,回形管10的负压端接负压接口9,微栅反应腔5预封装荧光标记的抗CK-MB单克隆抗体混合样品,构成样品与荧光标记的CK-MB单克隆抗体混合反应区;识别反应区7包被抗CK-MB的单克隆抗体;样品加样区3中的样品靠自虹吸作用移动或采用负压接口连接控制泵进行移动;

所述的CK-MB单克隆抗体的制备方法是:

1)、荧光微球的活化、洗涤,此步骤需要将荧光微球表面修饰基团活化,取直径为200 nm荧光微球,加入缓冲液离心,弃上清,沉淀用洗涤缓冲液重复洗涤3次;将末次沉淀重悬于所述洗涤缓冲液中,使荧光微球的质量体积比终浓度为1%,所述洗涤缓冲液选自PBS缓冲液和MES缓冲液中的一种;

2)、CK-MB抗体包被荧光微球,取1 ml活化洗涤后的200 nm胶乳溶液,加入抗CK-MB抗体,使抗CK-MB抗体终浓度为1 mg/ml;混匀后,置4度,摇床以220rpm转速包被8h;用PBS缓冲液洗涤未与荧光微球结合的抗CK-MB抗体,重复3次;封闭:将洗涤后的抗CK-MB抗体的荧光微球溶于包含所述保护剂的缓冲液中,使所述荧光微球的质量体积比终浓度为0.1-0.14%;

3)、抗CK-MB抗体和荧光微球结合后封闭,将所述荧光微球与所述抗CK-MB抗体混合物,加入BSA0.3%,室温下反应2 h,离心,除去其中少量的沉淀物;清洗,将形成的荧光微球-抗CK-MB抗体复合物溶液离心,弃上清,加入磷酸盐缓冲液重复清洗3次;将末次沉淀溶于含所

述保护剂和防腐剂的缓冲液中,使所述荧光微球的质量体积比终浓度为0.04%-0.14%。

[0016] 为了保证使用效果和使用方便,所述的顶板上开有排气孔;所述的样品加样区上开有圆形或方形的加样孔11(图中未标示);

所述底板为长方形的凹槽状,具有不同功能微结构,底板和顶板采用胶粘、机械固定、超声封合密封固定在一起;

所述微栅反应腔,包括有等间距排列的微结构,所述微结构为梯形、三角形、半圆形的一种;

所述时间阀包括阻滞栏结构形成的导流槽,每个阻滞栏呈下宽上窄的梯形、阶梯形或三角形;

所述识别反应区,包括有等间距排列的微结构,所述微结构为梯形、三角形、半圆形等;

所述识别反应区包被抗CK-MB的单克隆抗体,质控区包被质控单克隆抗体,微栅反应腔为样品与荧光标记的抗CK-MB单克隆抗体混合反应区,所述血细胞过滤区包含滤血膜,废液池用于存储废液。所述微流控芯片测试流程中,样品靠自虹吸作用移动,所述顶板(1)与底板(2)采用超声焊接法。

[0017] 本发明所述的微流控芯片,主要应用于血浆、全血、血清、尿液、脊髓液、羊膜水的检测等。

[0018] 本发明所述的微流控芯片,材质包括PS、PC、PMMA等高分子材料,但不局限于上述材料,优选为PS。

[0019] 本发明所述的微流控芯片,加工方法主要有机械加工法、注塑法、模具法、光刻加工法等,优选为光刻加工法。

[0020] 所述CK-MB检测抗体为一对配对抗体,即一个包被抗体和一个标记抗体。

[0021] 所述配对抗体,只要实现配对识别即可,可以是市售产品或用常规制备方法制得的抗体,可以是单克隆抗体,也可以是多克隆抗体,优选为单克隆抗体。

[0022] 本发明所述抗体,为单克隆抗体时,其来源没有明确限制,可以是市售产品,也可以是参照文献或国家公布制备方法,利用,细胞融合技术或基因重组技术等制备的单克隆抗体,优选为细胞融合技术提取的单克隆抗体。

[0023] 本发明所述抗体,是多克隆抗体时,其来源没有明确限制,可以是市售产品,也可以是参照文献或国家公布制备方法,通过兔、大鼠、小鼠、绵羊、山羊、马等产生的多克隆抗体,优选为鼠源多克隆抗体。

[0024] 所述标记抗体为荧光微球标记抗体,所述荧光微球粒径为100-500 nm,优选为200 nm。

[0025] 所述荧光微球,荧光微球的载体为天然或合成的有机高分子材料,负载的荧光物质有机物,其激发波长为620-680 nm,发射波长为730-790 nm。

[0026] 所述荧光标记抗体,是通过抗体与荧光微球化学反应交联而制成,在所述抗体-荧光微球制备中,所述抗抗体与荧光微球的质量比为1:10 - 1:100,优选为1:10。

所述荧光微球,通过表面修饰基团与抗CK-MB抗体化学反应交联,表面修饰基团有多种,羧基,氨基,醛基,羰基,优选为羧基。

[0027] 所述滤血膜为玻纤或无纺布材料,厂家主要有杭州科百特过滤器材有限公司、沃特曼公司、奥斯龙公司。

[0028] 所述包被抗CK-MB抗体,终浓度为1mg/ml,缓冲液为PB,CB,Tris-HCl,优选为PB。

[0029] 所述保护剂包括牛血清白蛋白和明胶,质量体积比终浓度为为3-10%,优选为3%。

[0030] 所述荧光标记的缓冲液选自硼酸盐缓冲液、碳酸盐缓冲液、Tris-HCl缓冲液、磷酸盐缓冲液和甘氨酸缓冲液中的一种或多种,优选为硼酸盐缓冲液

所述荧光标记的缓冲液,缓冲液的浓度为10-100mM,优选为10Mm。

[0031] 所述荧光标记的缓冲液,缓冲液的pH为7.0-7.5,优选为7.2。

[0032] 所述反应活性剂选自吐温20,吐温100,优选为吐温20;

所述反应活性剂质量体积比为0.02-0.4%,优选为0.2%。

[0033] 所述试剂防腐剂选自叠氮钠、硫柳汞和PrOClIn300中的一种或多种,优选为PrOClIn300。

[0034] 所述试剂防腐剂,所述防腐剂的质量体积比为0.1-2%,优选为1%。

[0035] 为了使本领域的技术人员更好地理解本发明的技术方案,下面结合具体实施例对本发明作进一步的详细说明。

[0036] 实施例1:荧光抗体的制备

(1) 荧光微球的洗涤:取直径为200 nm荧光微球,加入PB缓冲液离心,弃上清,沉淀用洗涤缓冲液重复洗涤3次;将末次沉淀重悬于所述洗涤缓冲液中,使荧光微球的质量体积比终浓度为1%;

(2) 荧光微球的活化:配置活化剂EDC、NHS溶液,浓度分别为1mg/ml、1mg/ml。取洗涤后的微球200ul,分别加入EDC、NHS溶液50ul,震荡,反应30min;

(3) 荧光抗体溶液的制备:用10 mmol/L的溶液稀释CK-MB单克隆抗体至5 ug/ml,取抗CK-MB抗体溶液,加入上述活化溶液,保证最后抗体浓度为25 ug/ml,4度,反应3h;

(4) 荧光抗体的封闭和保护:取含有3%BSA和1%PC 300溶液,加入上述反应液,震荡反应30min;反应结束后,9000rpm离心力下,弃上清,取沉淀物置于PBS缓冲液,4度保存待用。

[0037] 质控抗体标记的荧光微球的制备过程同CK-MB制备微球的过程相同。

[0038] 实施例2:CK-MB免疫荧光微流控芯片的制备

(1) 包被抗体溶液的制备:用10 mmol/L的PB溶液稀释CK-MB单克隆抗体至5 ug/ml;

(2) 质控抗体溶液的制备:用10 mmol/L的PB溶液稀释CK-MB质控抗体至5 ug/ml;

(3) 点样:采用biodot仪器,将包被抗体和质控抗体分别喷于微流控底板的识别反应区和质控线位置,37度,3h;

(4) 荧光微球固定:将荧光微球标记过得抗体固定于微栅反应腔,37度,3h;

(5) 组合封装:将固定了抗体和荧光抗体的微流控底板与顶板组装,并采用超声焊接方法组合,与干燥剂一并封装与铝箔袋,置于干燥柜中保存,待用。

[0039] 实施例3:标准曲线的绘制

用小牛血清稀释CK-MB标准品,浓度为:0、0.5、2.0、10.0、25.0、50.0、100.0 ng/ml。

[0040] 分别取50 μ l标准品滴加到微流控芯片加样孔,反应15分钟后,通过CK-MB微流控芯片读数仪读取系统检测信号,每个标准品的浓度检测三次,标准曲线如图3所示。

[0041] 实施例4:CK-MB样本检测

选取40例国外荧光检测法检测CK-MB的临床样本(样本浓度覆盖标准品的检测范围),采用本发明的CK-MB微流控芯片及配套仪器进行检测。以荧光检测法检测的CK-MB浓度为横

坐标,以本发明检测CK-MB浓度为纵坐标,绘制样本相关性曲线,如图4。其中,CK-MB的相关性系数R均大于0.97,完全符合临床试验的要求。

[0042] 由上述可以看出,一种检测全血中肌酸激酶同工酶的免疫荧光微流控芯片,所述微流控芯片包括顶板(1)结构和底板(2)结构,其中顶板有加样孔和负载电压接孔;底板上的样品区、血细胞过滤区、微栅反应腔、内部质控区、识别反应区,废液池依次连接。同时,每个区域分别有特殊设计的微结构。负载电压接孔,可以连接负载电压,实现负压控制液体的流动。样品区为样品加入孔,血细胞过滤区为特殊设计空腔并添加特殊滤膜组成。微栅反应腔设计有微栅结构,保证了样品与荧光抗体的充分结合,并实现了液体匀速流动;识别反应区设计有微通道与自虹吸微结构,实现抗体均质固定和样品的定量快速反应。废液池为反应后的废液存储,并且防止了污染与回流。微流控芯片将不同功能区以微通道形成连接网络,全封闭芯片系统,实现了样品反应、分离、检测等一体化操作,缩减了操作步骤及操作误差,同时,降低了外界的干扰和污染。

[0043] 所述识别反应区包被抗CK-MB的单克隆抗体,质控区包被质控单克隆抗体,微栅反应腔为样品与荧光标记的抗CK-MB单克隆抗体混合反应区,所述血细胞过滤区包含滤血膜,废液池用于存储废液。所述微流控芯片测试流程中,样品靠自虹吸作用移动,所述顶板(1)与底板(2)采用超声焊接法。

[0044] 本发明与现有技术相比,具有以下突出的有益技术效果:

1) 本发明采用免疫荧光法,具有灵敏度高、基质影响小的优点。

[0045] 2) 本发明采用的微流控芯片,将样本混合、反应、分离和检测功能集成于一个芯片上,并把反应所需的所有试剂组分集成到芯片,操作一体化,简单快速。

[0046] 3) 基于微流控检测芯片技术,通过精细稳定地控制免疫反应过程,达到有效地控制微反应的变异系数。

[0047] 4) 本发明操作简便,检测时,只需加入样本,把芯片放入小型便携配套仪器中即可。

[0048] 5) 本发明配套仪器是小型便携仪器,仪器只与芯片发生物理接触,芯片内液体不与仪器接触,不会污染仪器而产生交叉干扰,使用安全,有显著的经济和社会效益。

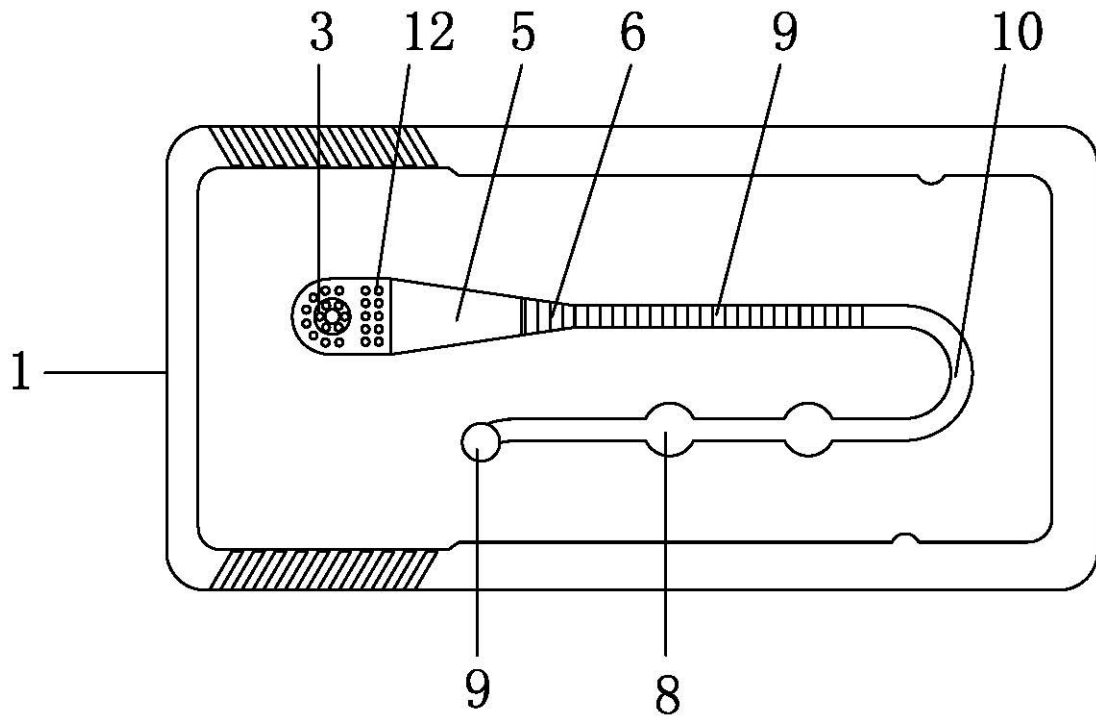


图1

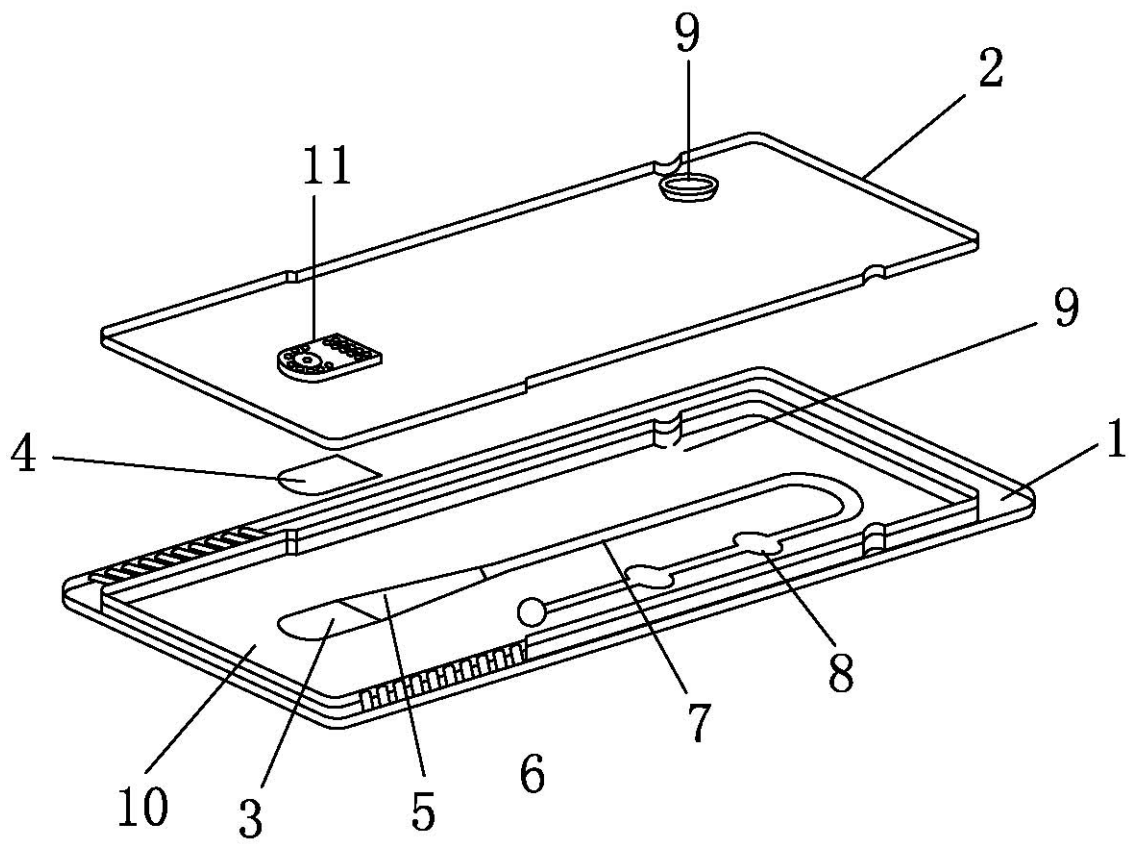


图2

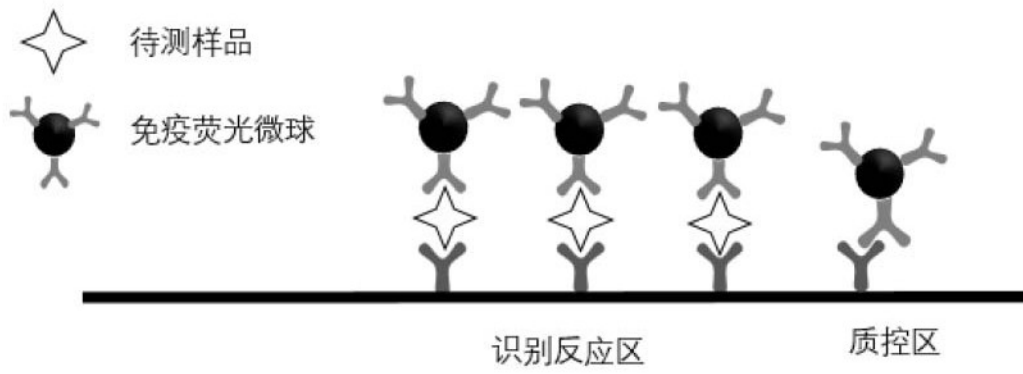


图3

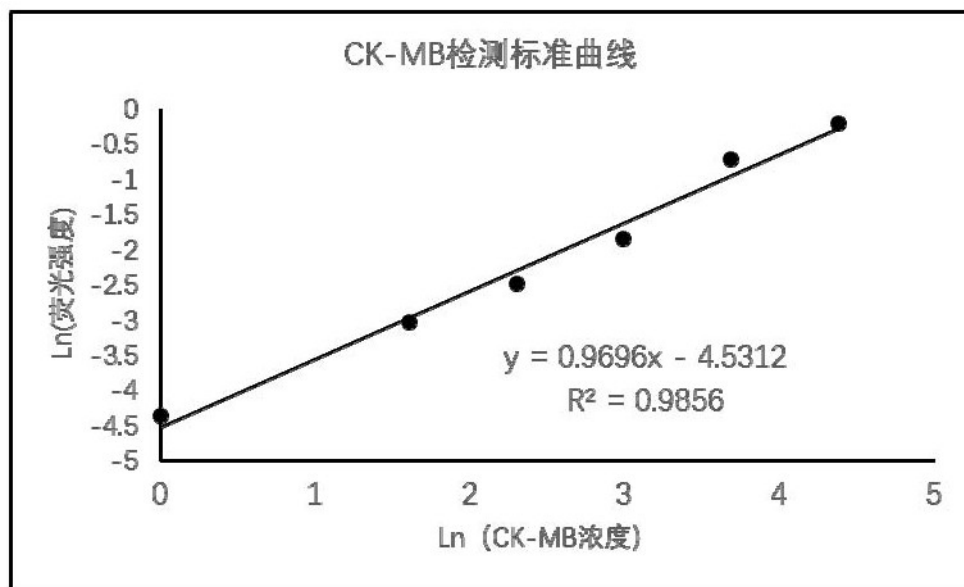


图4

专利名称(译)	一种快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片		
公开(公告)号	CN109211866A	公开(公告)日	2019-01-15
申请号	CN201811370129.6	申请日	2018-11-17
[标]发明人	牛亚静 付红伟 张娟丽 高勇 徐泼实 李海剑 李伟甲 刘亚品 马万顺		
发明人	牛亚静 付红伟 张娟丽 高勇 徐泼实 李海剑 李伟甲 刘亚品 马万顺		
IPC分类号	G01N21/64 G01N33/533 G01N33/543		
CPC分类号	G01N21/6486 G01N33/533 G01N33/54313		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及快速定量检测CK-MB的微流控荧光免疫芯片，可有效解决现有CK-MB检测芯片灵敏度低、重复性差、易受外界环境干扰，以及现有配套仪器昂贵、检测时间长的问题。底板为空心凹槽长方形，顶板置于底板凹槽的正上方，构成底板和顶板的密封结构，顶板的上平面有样品加样口和负压接口，底板的凹槽内经回形管装有串接在一起的样品加样区、血细胞过滤区、微栅反应腔、时间阀、识别反应区和废液池，血细胞过滤区上装有血细胞滤膜，样品加样口正对底板样品凹槽内的样品加样区，回形管的负压端接负压接口，微栅反应腔预封装荧光标记的抗CK-MB单克隆抗体混合样品，识别反应区包被抗CK-MB的单克隆抗体；本发明易生产制备，使用方便，准确率高，节能环保，成本低廉。

