



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107643394 A

(43)申请公布日 2018.01.30

(21)申请号 201710758173.3

(22)申请日 2017.08.29

(71)申请人 天津派普大业仪器科技有限公司

地址 300401 天津市北辰区青光村北天津  
医药医疗器械工业园

(72)发明人 刘江 王雷 徐栋 段志超

(74)专利代理机构 重庆为信知识产权代理事务  
所(普通合伙) 50216

代理人 余锦曦

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

B01L 3/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页 附图9页

(54)发明名称

微流控放射免疫两步检测法

(57)摘要

本发明公开一种微流控放射免疫两步检测法,包括微流控板和测试仪,按以下步骤进行检测首先将放射性标记抗体滴加在微流控板的标记物区,接着将样液滴在微流控板的样品区,间隔X分钟后利用测试仪测试并分析微流控板上检测区的放射性强度,采用本发明的有益效果是由于放射性元素为短半衰期,不适宜采用普通的荧光标记抗体或抗原预包装的方法,本发明提供的方法中,直接在检测前滴加标记抗体或抗原,不再需要事先进行预包装,放射性标记抗体或抗原为单独包装,放射性标记抗体在快速检测领域的使用不再受限制。

1. 一种微流控放射免疫两步检测法,其特征在于:包括微流控板和测试仪,按以下步骤进行检测:首先将放射性标记抗体或抗原滴加在所述微流控板的标记物区(4),接着将样液滴在微流控板的样品区(3),间隔X分钟后利用测试仪测试并分析微流控板上检测区(7)的放射性强度。

2. 根据权利要求1所述的微流控放射免疫两步检测法,其特征在于:所述放射性标记抗体为放射性碘标记抗体。

3. 根据权利要求2所述的微流控放射免疫两步检测法,其特征在于:所述放射性碘为碘125。

4. 根据权利要求1、2或3所述的微流控放射免疫两步检测法,其特征在于:所述微流控板包括芯板(1)和底板(2),所述芯板(1)覆盖在所述底板(2)上,所述芯板(1)的内侧面上顺着样液的流动方向设有依次连通的样品区(3)、标记物区(4)和检测区(7),所述芯板(1)上对应样品区(3)和标记物区(4)分别设有加样孔(9)和标记物加入孔(10),所述检测区(7)上顺着样液的流动方向依次设有检测反应带(5)和反应参考带(6)。

5. 根据权利要求4所述的微流控放射免疫两步检测法,其特征在于:所述测试并分析微流控板上检测区(7)的放射性强度的方法为:将所述微流控板插入测试仪,分别测试检测反应带(5)和反应参考带(6)的放射性强度,并根据标准曲线计算样液中目标抗原的浓度。

6. 根据权利要求5所述的基于微流控技术的两次加样检测方法,其特征在于:所述标准曲线的制作方法为:配置具有浓度梯度的标准抗原,在所述微流控板上滴加所述放射性标记抗体后,滴加不同浓度的标准抗原,间隔X分钟后利用测试仪分别测试检测反应带(5)和反应参考带(6)的放射性强度,以检测反应带(5)和反应参考带(6)的放射性强度比值为纵坐标、以标准抗原浓度为横坐标绘制标准曲线。

7. 根据权利要求4所述的基于微流控技术的两次加样检测方法,其特征在于:所述测试仪包括检测箱(22),该检测箱(22)顶面嵌设有控制面板(27),前端面开有微流控板插口(23),微流控板插口(23)用于插装所述微流控板,所述检测箱(22)内部设置有检测机构(26);

所述检测机构(26)设置有抗射线干扰铅块(31),抗射线干扰铅块(31)的底部开有竖直向下的射线入射孔(33),该射线入射孔(33)的孔口处设置有闪烁晶体(34),孔底安装有光电倍增管(36),射线入射孔(33)中部安装有光耦合器(35);

所述微流控板插口(23)处设置有传送机构(24),该传送机构(24)将微流控板的反应参考带(5)和检测反应带(6)依次水平传送到所述闪烁晶体(34)的正下方;

所述控制面板(27)、光电倍增管(36)和传送机构(24)分别与控制器(28)连接。

## 微流控放射免疫两步检测法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及快速检测技术领域,具体涉及一种微流控放射免疫两步检测法。

### 背景技术

[0002] 随着材料科学、微纳米加工技术和微电子学所取得的突破性进展,微流控芯片也得到了迅速发展。微流控芯片(microfluidic chip)又称为“芯片上的实验室”(lab-on-a-chip),它是以微机电加工技术为基础,在硅片、玻璃或聚二甲基硅氧烷(PDMS)等材料上制作微通道网络,使得可控流体在微通道网络中流动,从而实现生物和化学领域中的反应、分离、检测等操作。

[0003] 放射免疫检测技术是开始应用较早的一项标记免疫技术,放射免疫检测技术的特点是:灵敏度高,能对抗体含量很低的样本进行检测。与现有的其他免疫检测技术相比,比如荧光免疫检测,放射性免疫检测的检测灵敏度更高,并且试剂成本也较荧光免疫检测低。

[0004] 但是,现有的放射免疫检测技术也存在一些缺点:比如,有潜在的放射污染可能,因为需要用放射性物质标记抗原,所以,检测后的废弃物具有放射性。

[0005] 现有的放射性免疫检测是将样本、放射性标记抗原和一定量的抗体加入试管,然后进行一系列的复杂、多步操作后才能进行检测,操作复杂会带来更大的测试误差,同时产生较多的放射性废物,这些废弃物需要专门的回收处理,这就给废弃物的回收处理带来了较大的困难。

### 发明内容

[0006] 为解决以上技术问题,本发明提供一种微流控放射免疫两步检测法。

[0007] 技术方案如下:一种微流控放射免疫两步检测法,其关键在于:包括微流控板和测试仪,按以下步骤进行检测:首先将放射性标记抗体或抗原滴加在所述微流控板的标记物区,接着将样液滴在微流控板的样品区,间隔X分钟后利用测试仪测试并分析微流控板上检测区的放射性强度。

[0008] 采用上述技术方案由于放射性元素为的短半衰期,不适宜采用普通的荧光标记抗体或抗原预包备的方法,本发明提供方法中,直接在检测前滴加标记抗体或抗原,不再需要事先进行预备包被,放射性标记抗体或抗原为单独包装,放射性标记抗体在快速检测领域的使用不再受限制。

[0009] 作为优选:上述放射性标记抗体为放射性碘标记抗体。

[0010] 上述放射性碘为碘125。

[0011] 上述微流控板包括芯板和底板,所述芯板覆盖在所述底板上,所述芯板的内侧面上顺着样液的流动方向设有依次连通的样品区、标记物区和检测区,所述芯板上对应样品区和标记物区分别设有加样孔和标记物加入孔,所述检测区上顺着样液的流动方向依次设有检测反应带和反应参考带。采用该方案样液通过芯板上预留有加样孔和标记物加入孔,方便滴加样液或者标记抗体。

[0012] 上述测试并分析微流控板上检测区的结果的方法为：将所述微流控板插入测试仪，分别测试检测反应带和反应参考带的放射性强度，并根据标准曲线计算样液中目标抗原的浓度。采用该方案可直接计算出目标抗原的具体浓度，从而达到定量检测的目的。

[0013] 上述制作标准曲线的方法为：配置具有浓度梯度的标准抗原，在所述微流控板上滴加所述放射性标记抗体后，滴加不同浓度的标准抗原，间隔X分钟后利用测试仪分析检测反应区和反应参考区的放射性强度，以检测反应区和反应参考区的放射性强度的比值为纵坐标、以标准抗原浓度为横坐标绘制标准曲线。其中X根据免疫反应特征而定，根据不同的反应X的取值可为3min、5min或10min不等。采用此方案由于微流控板的生产差异、样品与标记物的溶解反应程度等的不同带来的误差会同时反应在检测反应区和反应参考区，导致二者的放射性强度同时升高或降低，以检测反应区和反应参考区的比值作为标准曲线的纵坐标则能有效的降低这种误差带来的影响。

[0014] 上述测试仪包括检测箱，该检测箱顶面嵌设有控制面板，前端面开有微流控板插口，微流控板插口用于插装所述微流控板，所述检测箱内部设置有检测机构；

[0015] 所述检测机构设置有抗射线干扰铅块，抗射线干扰铅块的底部开有竖直向下的射线入射孔，该射线入射孔的孔口处设置有闪烁晶体，孔底安装有光电倍增管，射线入射孔中部安装有光耦合器；

[0016] 所述微流控板插口处设置有传送机构，该传送机构将微流控板的反应参考带和检测反应带依次水平传送到所述闪烁晶体的正下方；

[0017] 所述控制面板、光电倍增管和传送机构分别与控制器连接。

[0018] 采用上述方案在检测时，只需要把滴加了放射性标记抗体和样液的微流控板插入判读仪，判读仪即可对微流控板进行检测，操作简单。检测完毕后，废弃物被存放在微流控板中，便于废弃物的回收处理，也对操作区域的放射性污染达到最小程度。

[0019] 有益效果：采用本发明的有益效果是由于放射性元素为短半衰期，不适宜采用普通的荧光标记抗体或抗原预包装的方法，本发明提供的方法中由于在微流控板上预留了样品孔和标记抗体孔，不再需要事先制备包被，检测时直接将放射性标记抗体、样品分别滴加在标记物池和样品池内，样品通过微流通道进入标记物池内与里面刚加入的放射性标记抗体直接反应，放射性标记抗体在快速检测领域的使用不再受限制。

## 附图说明

[0020] 图1为微流控板的结构示意图；

[0021] 图2为图1中a部的放大图；

[0022] 图3为图1的A-A' 剖视图；

[0023] 图4为图3中b部的放大图；

[0024] 图5为测试仪的立体结构示意图；

[0025] 图6为测试仪的内部结构示意图；

[0026] 图7为检测机构的机构示意图；

[0027] 图8为传送电路的电路图；

[0028] 图9为判读仪的判读方法流程图；

[0029] 图10为确认微流控板正常流程图；

[0030] 图11为判读仪的检测流程图；

[0031] 图12为云数据中心生成结论确认信息的流程图。

### 具体实施方式

[0032] 下面结合实施例和附图对本发明作进一步说明。

[0033] 实施例1,如图1-4所示,一种微流控板,包括芯板1和底板2,所述芯板1覆盖在所述底板2上,所述芯板1的内侧面上顺着液体的流动方向依次设有样品区3、标记物区4以及检测区7,所述标记物区4通过缓流通道18与样品区3连通,所述检测区7通过微通道17与所述标记物区4连通,所述检测区7上顺着液体的流动方向依次设有检测反应带5和反应参考带6,所述底板2上对应样品区3和标记物区4分别设有加样孔9和标记物加入孔10。

[0034] 所述底板2为透明板,所述缓流通道18和微通道17分别由芯板1和底板2之间的间隙形成,所述底板2和所述检测区7之间形成微流虹吸通道19,所述微流虹吸通道19的进液端通过所述微通道17和所述标记物区4连通。

[0035] 所述样品区3和标记物区4之间的芯板1上设有样液减速区11,所述样品区3和样液减速区11内顺着液体的流通方向分别设有样液减速凸台12,所述样品区3和样液减速区11之间设有样液溢流台阶21,液体可通过该样液溢流台阶21溢流进入样液减速区11,所述缓流通道18通过所述样液减速区11,所述加样区3、标记物区4和样液减速区11分别向外凹陷形成槽状,所述加样区3的凹陷深度小于所述样液减速区11的凹陷深度,所述检测区7的进液端设有混合液流速控制区13,该混合液流速控制区13向上凹陷形成槽状,所述混合液流速控制区13的凹陷深度小于所述标记物区4的凹陷深度,所述混合液流速控制区13内设有混合液减速凸台,所述检测区7出液端后方的所述芯板1上设有废液收集池14,所述微流虹吸通道19的出液端与该废液收集池14连通,所述废液收集池14内设有废液减速凸台15,所述废液收集池14入口处的废液减速凸台15的直径大于所述废液收集池14出口处的废液减速凸台15的直径。

[0036] 从图中还可以看出,所述样液减速区11两侧的所述芯板1上分别设有透气孔16,所述检测区7两侧的所述芯板1上设有条形的底板固定台20,所述底板2的两侧下部通过粘接剂粘接到对应的所述底板固定台20上,所述芯板1上还设置有二维码(图中未视出)。

[0037] 实施例2,如图5-8所示,一种测试仪,包括检测箱22,该检测箱22的前端面开有微流控板插口23,该微流控板插口23用于插装实施例1所述的微流控板。该微流控板插口23处设置有传送机构24,该传送机构24用于传送微流控板,在微流控板的移动路径上方设置有二维码扫描机构25和检测机构26,该二维码扫描机构25用于扫描所述微流控板上的二维码,该检测机构26用于检测微流控板的检测反应带5和反应参考带6的放射性强度;

[0038] 所述检测箱22顶面嵌设有控制面板27,该控制面板27、传送机构24、二维码扫描机构25、检测机构26分别与控制器28连接,该控制器28设置在所述检测箱22内。

[0039] 所述检测箱22内还设置有打印机37,所述控制器28通过打印驱动电路驱动打印机37打印,所述控制器28通过无线通信装置与云数据中心进行通信。

[0040] 所述检测机构26设置有抗射线干扰铅块31,该抗射线干扰铅块31的通过支撑架32垂直固定在所述传送机构24上方,所述抗射线干扰铅块31正对于传送机构24的中央位置处开有入射孔33,该射线入射孔33的孔口处设置有闪烁晶体34,孔底安装有光电倍增管36,射

线入射孔33中部安装有光耦合器35。

[0041] 所述闪烁晶体34发出的光线经光耦合器35合成一束光线后发送给光电倍增管36，所述光电倍增管36的输出端与所述控制器28连接。

[0042] 所述传送机构24包括步进电机29和微流控板固定器30，该步进电机29驱动微流控板固定器30带动所述微流控板前后移动，所述控制器28通过传送电路控制所述步进电机29工作。

[0043] 所述传送电路包括运算放大器U1和运算放大器U2，运算放大器U1的同相输入端与操作台的路径控制端组连接，反相输入端经电阻R1与电源连接，反相输入端还经电阻R2接地，运算放大器U1的输出端经电阻R3分别与三极管D1和三极管D2的基极连接，三极管D1的集电极与单脉冲电源连接，发射极连接所述步进电机29的正极，步进电机29的负极与三极管D2的集电极连接，三极管D2的发射极接地；

[0044] 运算放大器U2的反相输入端与控制器28连接，同相输入端经电阻R4与电源连接，同相输入端还经电阻R5接地，运算放大器U2的输出端经电阻R6分别与三极管D3和三极管D4的基极连接，三极管D3的集电极与单脉冲电源连接，发射极连接所述步进电机29的负极，步进电机29的正极与三极管D4的集电极连接，三极管D4的发射极接地。

[0045] 如图9所示，上述测试仪的使用方法如下：开启测试仪电源，确定测试仪的工作状态正常，接着将微流控板插入测试仪中，确认微流控板正常，启动测试仪对微流控板进行检测，等待打印结果，检测结束后对检测过的微流控板进行回收。

[0046] 如图10所示，所述确认微流控板正常的流程如下：

[0047] S1-1-1、获取二维码扫描机构25发送的二维码信息a；

[0048] S1-1-2、对二维码信息a进行解码，得到测试参数信息b，该测试参数信息b包括传送控制信息b1、对比数据b2、微流控板的生产信息b3等；

[0049] S1-1-3、根据生产信息b3判定该微流控板是否过期，若是，则发出过期信号，检测人员在看到过期信号后，对过期的微流控板进行更换。若不是，则发出正常信号；

[0050] 如图11所示，所述测试仪的控制器28设置有以下对微流控板的检测流程：

[0051] S1-1、根据传送控制信息b1输出控制信号，控制传送机构24将微流控板的反应参考带5和检测反应6带依次移动到闪烁晶体34的正下方；

[0052] S1-2、通过光电倍增管36采集反应参考带6和检测反应带5的放射性强度信号c；

[0053] S1-3、对采集的放射性强度信号c进行采样，并进行快速信号处理；

[0054] S1-4、判定是否得出检测数据d；

[0055] 若得到检测数据d，则将检测数据d和对比数据b2进行对比，得出检测结论信息e，打印检测结论信息e，并结束检测；

[0056] 若没得到检测数据d，则将全部放射性强度信号c和测试参数信息b发送云数据中心；同时，控制器还会通过GPS定位器获取到终端位置信息，并把位置信息一起发送给云数据中心。

[0057] S1-5、判定是否收到云数据中心反馈的结论确认信息g；

[0058] 若没有收到，则继续判定；

[0059] 若收到，则打印结论确认信息g。

[0060] 如图12所示，所述云数据中心采用以下步骤结论确认信息g：

[0061] S2-1、云数据中心获取放射性强度信号c和测试参数信息b;

[0062] S2-2、对放射性强度信号c进行高级信号处理,得到分析数据f,即云数据中心运用其强大的数据处理能力,对全部的放射性强度信号c进行全面的信号处理,得出分析数据f。

[0063] 如果云数据中心也未能得出分析数据f,则云数据中心会向售后服务中心发送维护信息,该维护信息包括终端标识、微流控板标识和终端位置信息。以便售后服务人员上门服务。

[0064] S2-3、将分析数据f与对比数据b2进行对比,得出结论确认信息g;

[0065] S2-4、将结论确认信息g反馈给检测终端。

[0066] 实施例3,一种微流控放射免疫两步检测法,包括实施例1所述的微流控板和实施例2所述的测试仪,按以下步骤进行检测:

[0067] 第一步制作标准曲线:配置具有浓度梯度的标准抗原,分次在所述微流控板的标记物加入孔10中滴加碘125标记抗体后,接着往加样孔9中滴加不同浓度的标准抗原,间隔X分钟后将所述微流控板插入测试仪,分别分析检测反应区5(为方便描述记录为T区)和反应参考区6(为方便描述记录为C区)的放射性强度,以T区和C区的放射性强度的比值即T/C为纵坐标、以标准抗原浓度为横坐标绘制标准曲线,将该标准曲线编译在所述二维码内打印在所述微流控板上,标准曲线即为对比数据b2的数据来源;

[0068] 第二步检测分析:通过标记物加入孔10将碘125标记抗体滴加到所述标记物区4内,接着通过所述加样孔9将样液滴加到所述样品区3内,间隔X分钟后将所述微流控板插入测试仪,分别分析T区和C区的放射性强度,并计算样液中目标抗原的浓度。

[0069] 实施例4,一种微流控放射免疫两步检测法,本实施例与实施例3的不同之处在于:所用抗体为碘131标记抗体,间隔X分钟后分析T区和C区的放射性强度。

[0070] 该检测方法中先滴加的物质也可作为抗原即需要测定的目标物质为样液中的抗体,制作标准曲线时则需以标准抗体浓度为横坐标,以T/C值为纵坐标制作标准曲线,检测时先将放射性标记抗原滴加到标记物区4,再将样液滴加在样品区3,间隔X分钟后测试T区和C区的放射性强度,根据标准曲线即可计算出样液中目标抗体的浓度即可。

[0071] 本发明提供的方法可以用于LH、HCG等的快速检测,滴加标记抗体时一般加入量小于5微升,这样先加入的抗体不会流动,滴加待测样品时一般加入约35微升以保证反应充分、检测更准确,本发明提供的方法也可用于具有多个检测通道的微流控板同时检测同一样品中不同的目标抗原。

[0072] 最后需要说明的是,上述描述仅仅为本发明的优选实施例,本领域的普通技术人员在本发明的启示下,在不违背本发明宗旨及权利要求的前提下,可以做出多种类似的表示,这样的变换均落入本发明的保护范围之内。

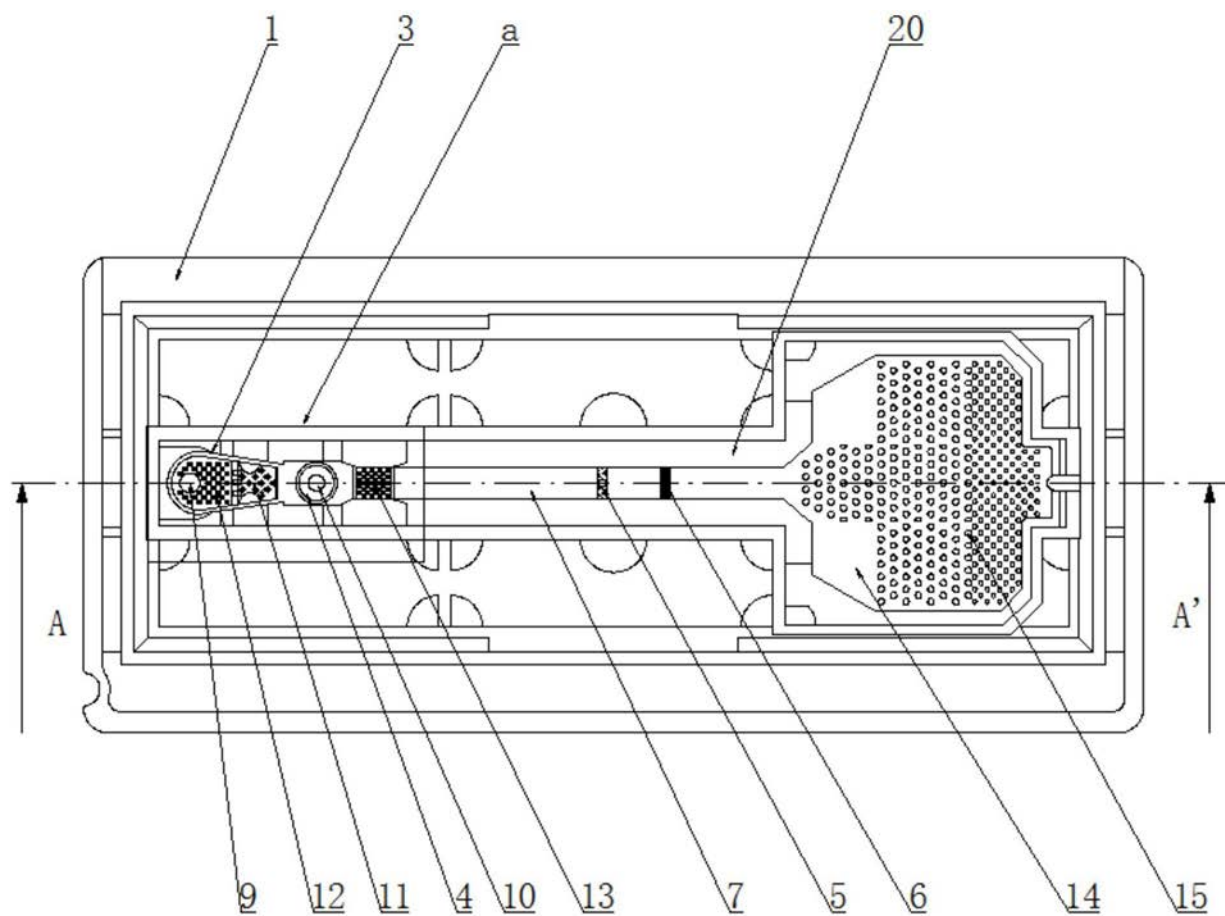


图1



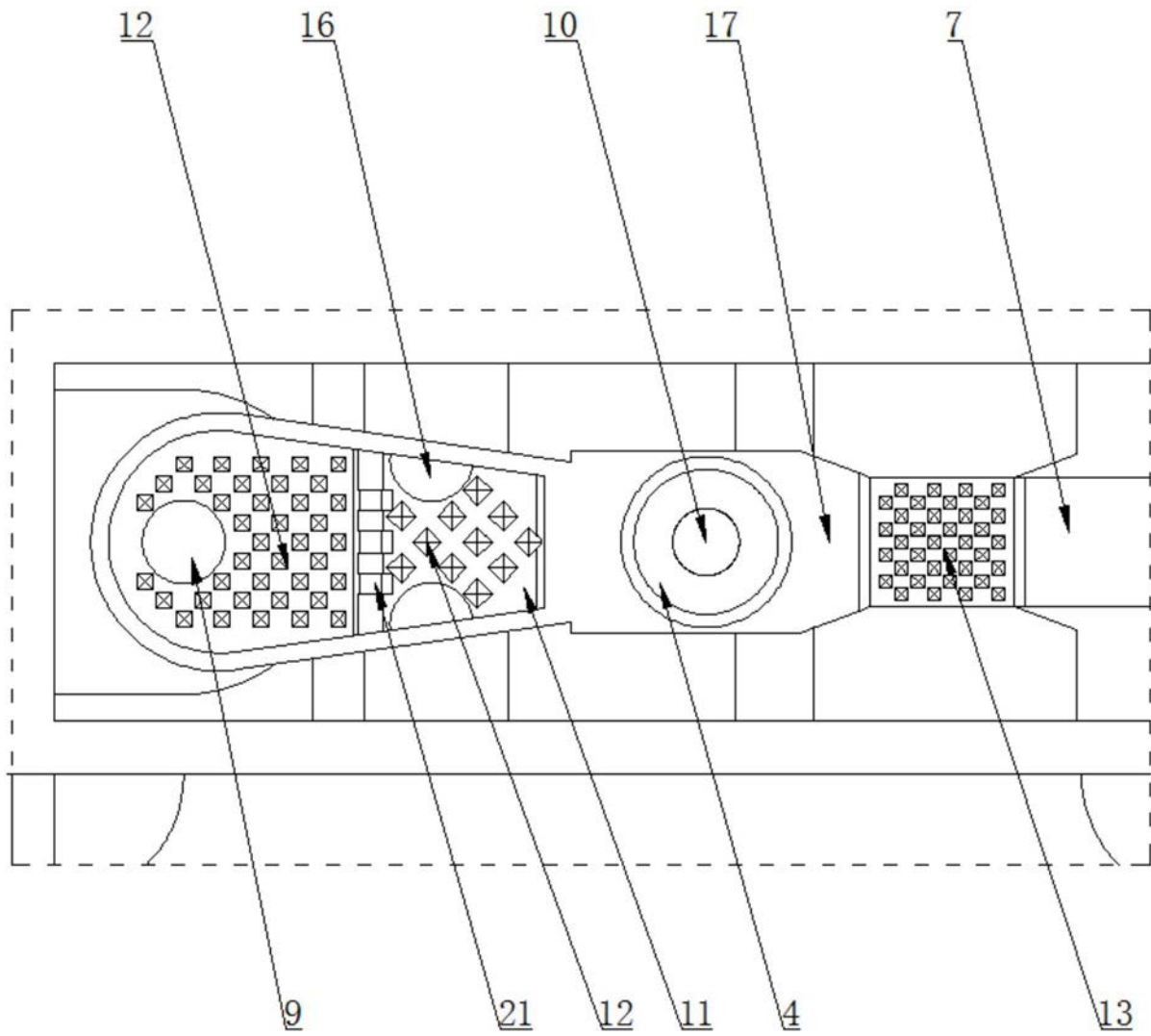


图2

A-A'

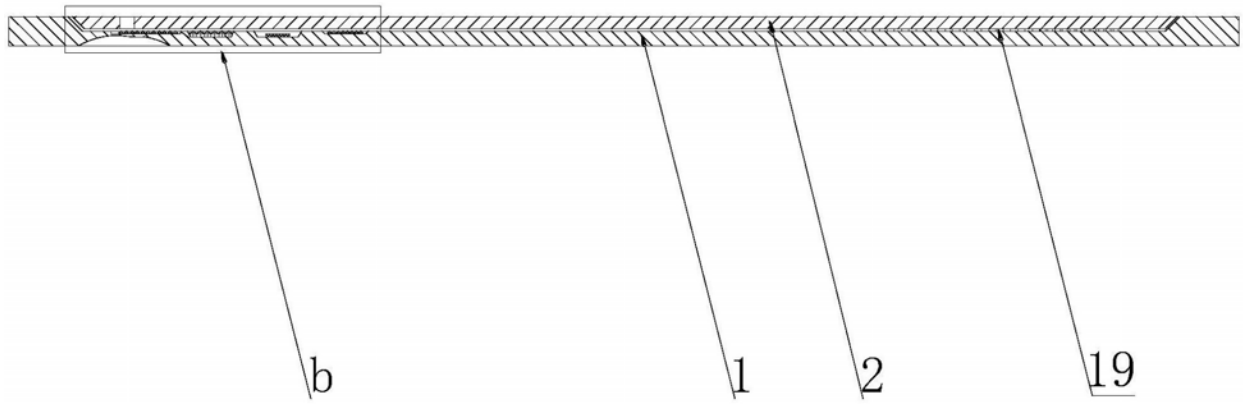


图3

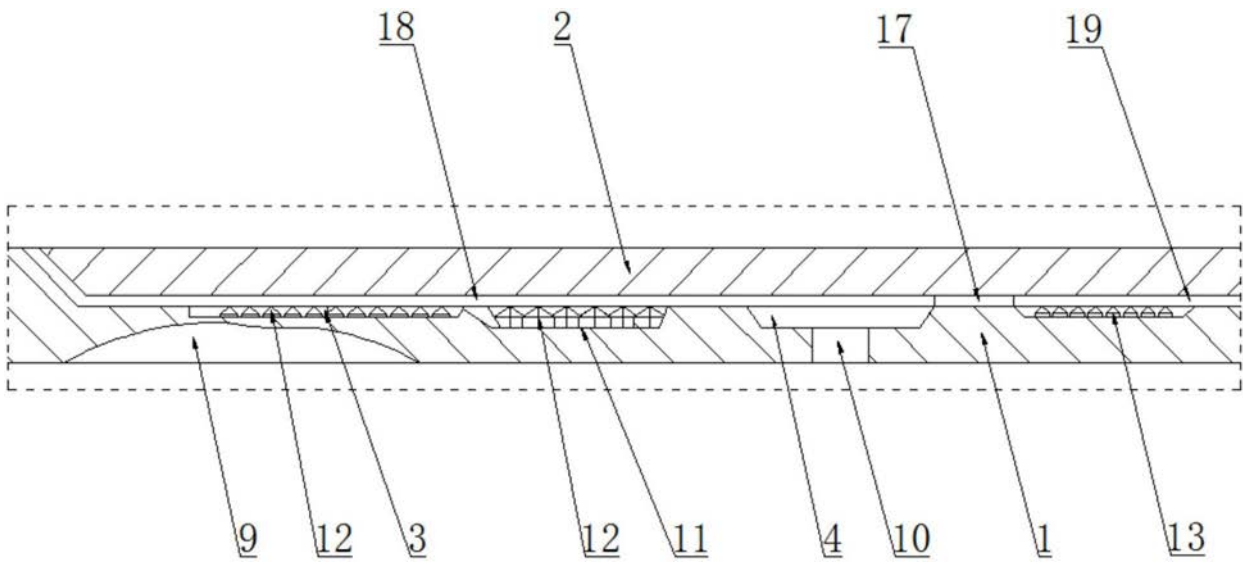


图4

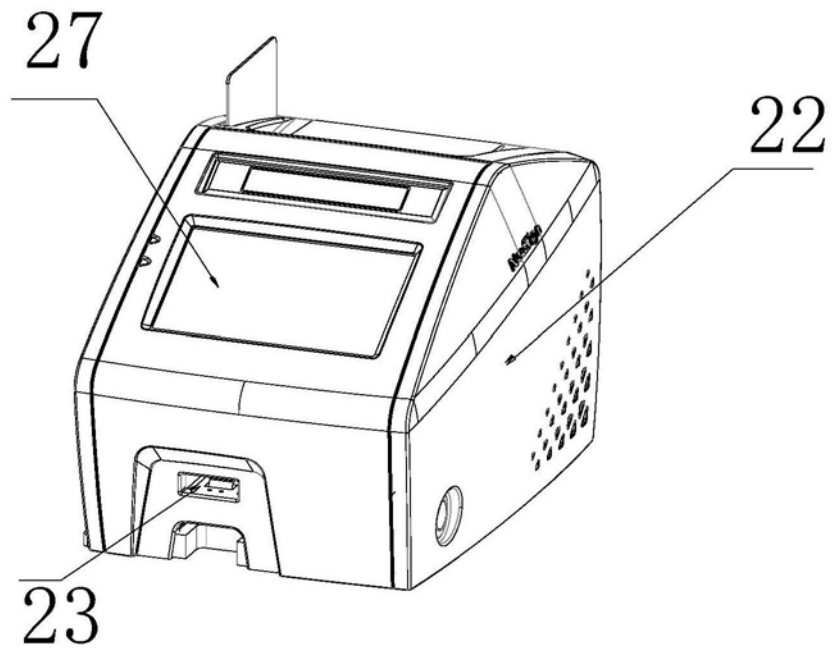


图5

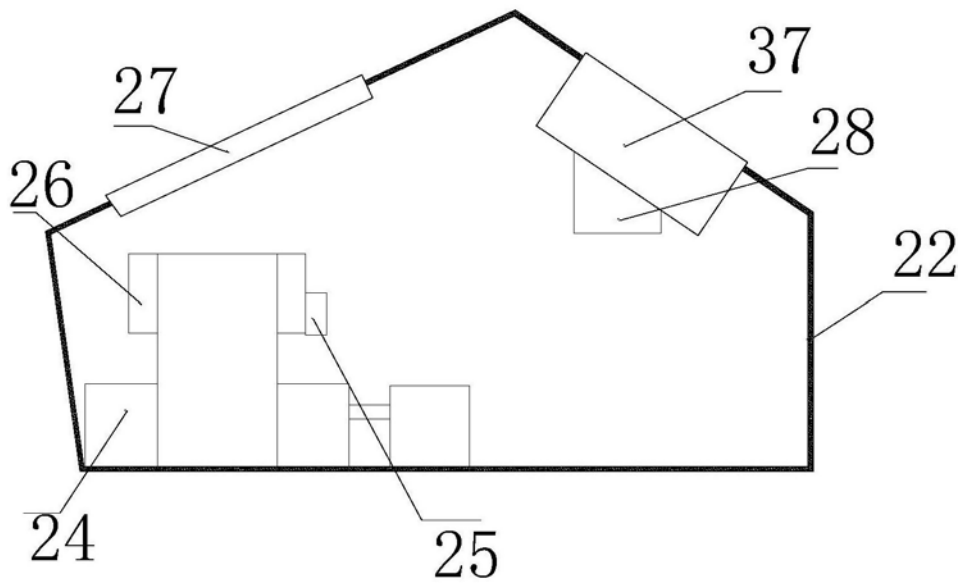


图6

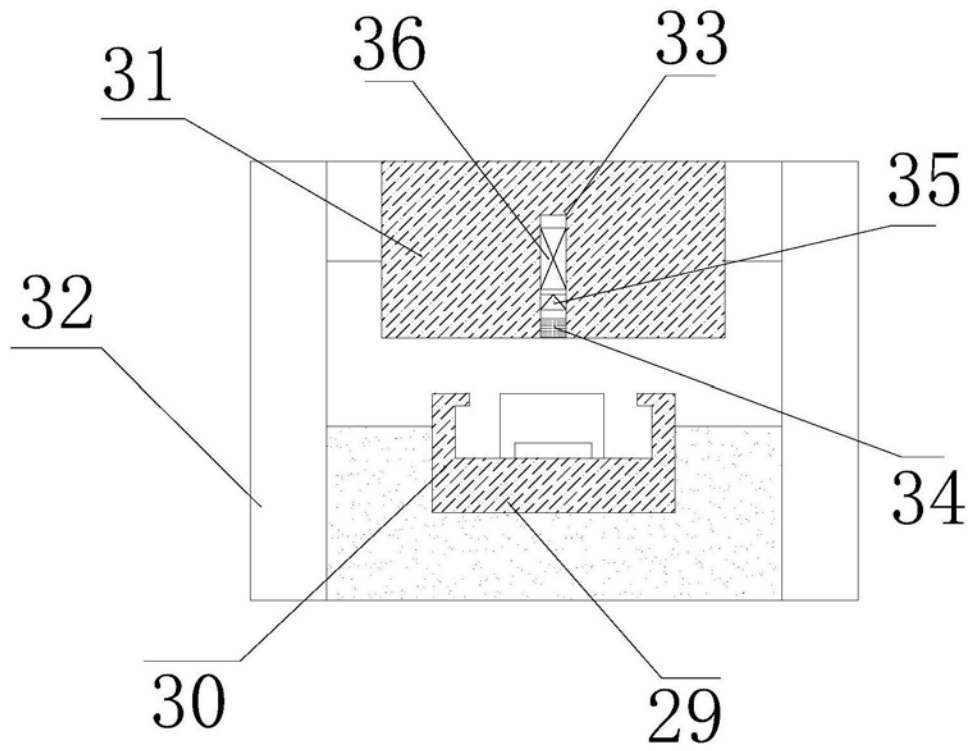


图7

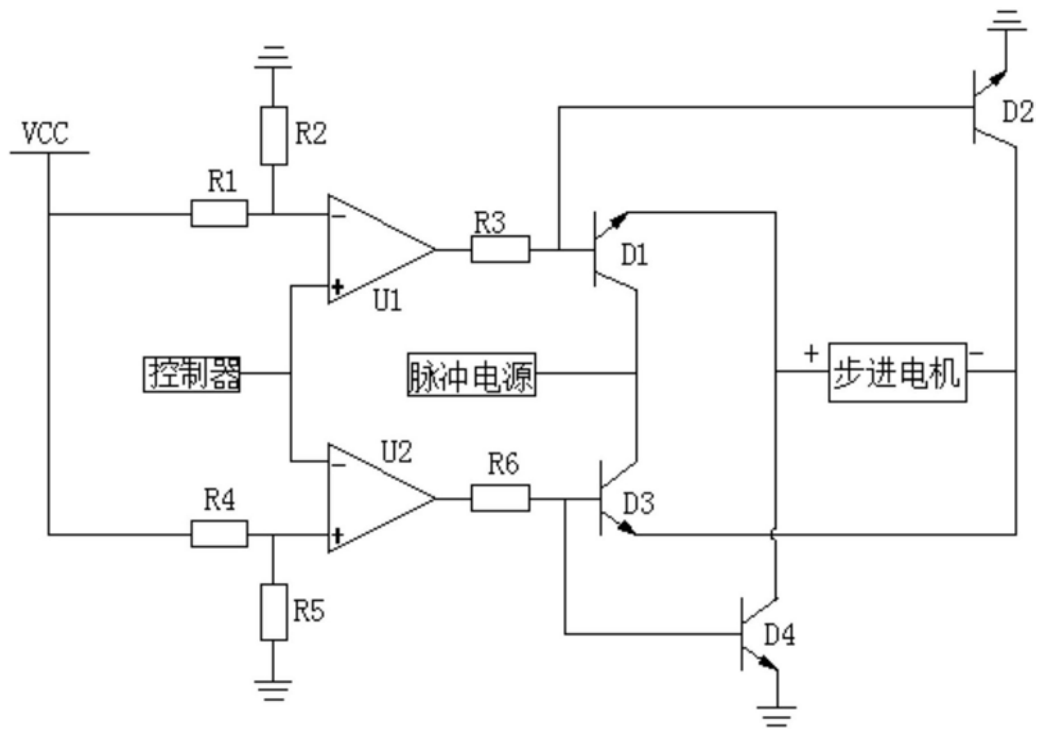


图8



图9

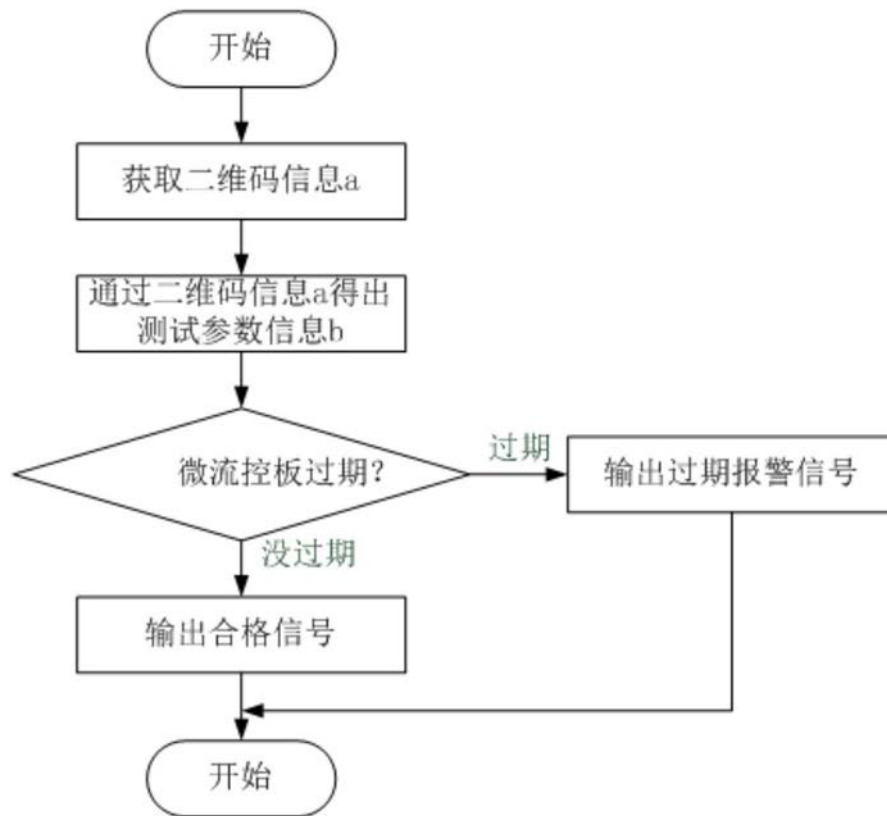


图10

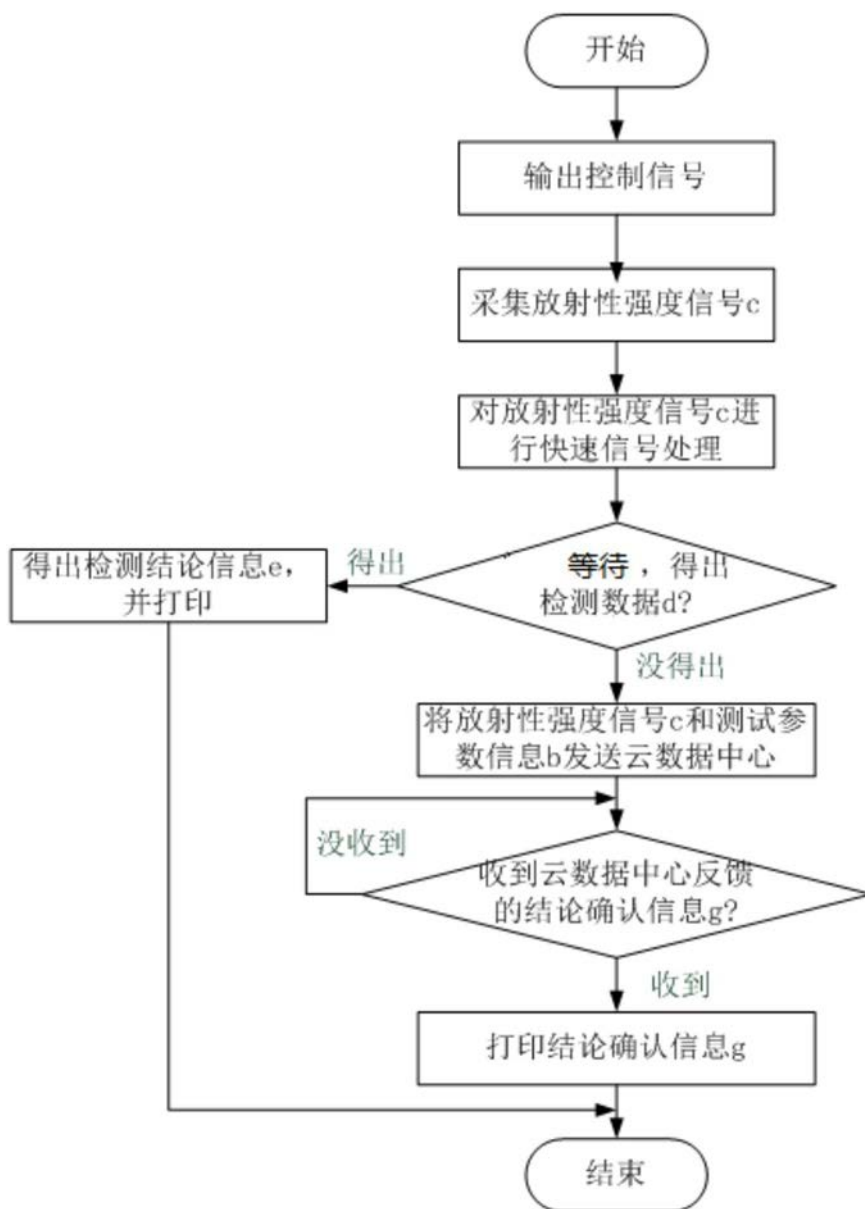


图11

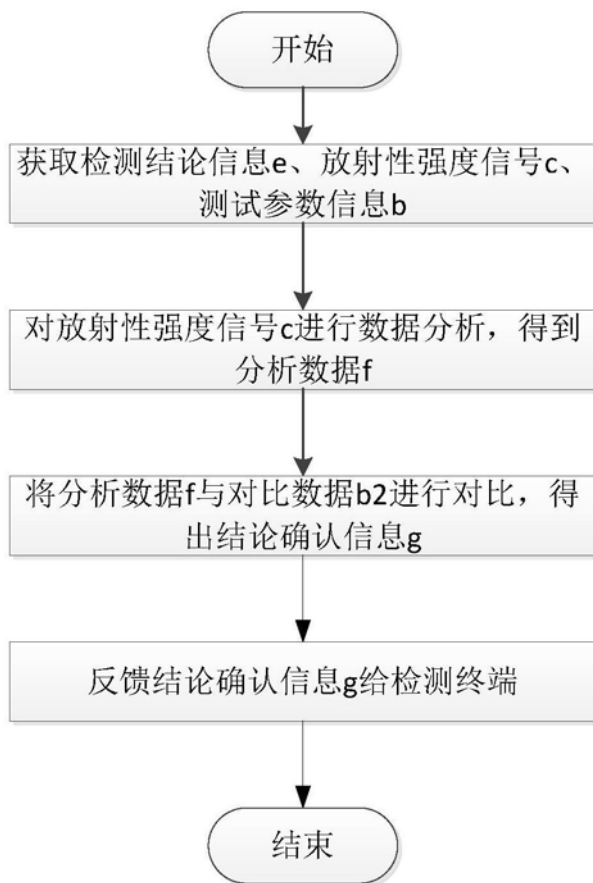


图12



专利名称(译)	微流控放射免疫两步检测法		
公开(公告)号	<a href="#">CN107643394A</a>	公开(公告)日	2018-01-30
申请号	CN2017110758173.3	申请日	2017-08-29
[标]申请(专利权)人(译)	天津派普大业仪器科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	天津派普大业仪器科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	天津派普大业仪器科技有限公司		
[标]发明人	刘江 王雷 徐栋 段志超		
发明人	刘江 王雷 徐栋 段志超		
IPC分类号	G01N33/53 B01L3/00		
其他公开文献	CN107643394B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明公开一种微流控放射免疫两步检测法，包括微流控板和测试仪，按以下步骤进行检测首先将放射性标记抗体滴加在微流控板的标记物区，接着将样液滴在微流控板的样品区，间隔X分钟后利用测试仪测试并分析微流控板上检测区的放射性强度，采用本发明的有益效果是由于放射性元素为短半衰期，不适宜采用普通的荧光标记抗体或抗原预包装的方法，本发明提供的方法中，直接在检测前滴加标记抗体或抗原，不再需要事先进行预包装被，放射性标记抗体或抗原为单独包装，放射性标记抗体在快速检测领域的使用不再受限制。

