



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106914287 B

(45)授权公告日 2018.12.28

(21)申请号 201710168784.2

(22)申请日 2017.03.21

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 106914287 A

(43)申请公布日 2017.07.04

(66)本国优先权数据
201710150638.7 2017.03.14 CN

(73)专利权人 同昕生物技术(北京)有限公司
地址 102206 北京市昌平区中关村生命科
学园生命科学创新大厦D201室

(72)发明人 彭京胜 焦守恕 李全 吴凡

(74)专利代理机构 北京海虹嘉诚知识产权代理
有限公司 11129
代理人 吴泳历

(51)Int.Cl.

B01L 3/00(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

审查员 莫绪飞

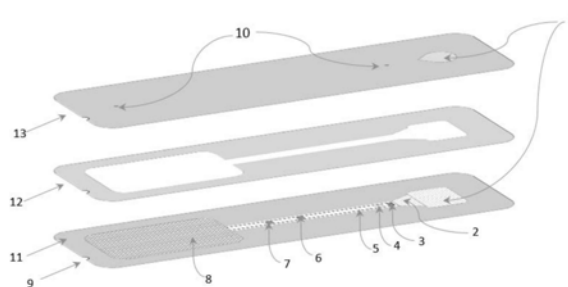
权利要求书3页 说明书9页 附图2页

(54)发明名称

一种微流控芯片及其制备方法与应用

(57)摘要

本发明提供一种微流控芯片,属于微流控技术领域;所述芯片包括基片,所述基片表面包括至少1个反应区;所述反应区内设置有靶标分子结合物,用于捕获和/或结合待测液体样品中的靶标分子并在所述反应区内发生结合反应;按液体流动方向,所述反应区内,和/或,紧挨着反应区的下游位置设置有至少1个控速区,所述控速区内设置有疏水剂,用于将所述靶标分子拦截在所述反应区内使其充分反应,但又不完全阻碍液体样品继续流动,从而实现对液体样品流速的控制。本发明还提供所述芯片的应用及其制备方法。本发明芯片具有重复性好、灵敏度高、成本低廉等优势。



1. 一种微流控芯片,包括基片,所述基片表面包括至少1个反应区;所述反应区内设置有靶标分子结合物,用于捕获和/或结合待测液体样品中的靶标分子并在所述反应区内发生结合反应;其特征在于,按照液体流动方向,所述反应区内,和/或,紧挨着反应区的下游位置设置有至少1个控速区,所述控速区内设置有疏水剂,用于将所述靶标分子拦截在所述反应区内使其充分反应,但又不完全阻碍液体样品继续流动,从而实现对液体样品流速的控制。

2. 根据权利要求1所述的微流控芯片,其特征在于,所述控速区内的疏水剂形成疏水线,和/或疏水点;

所述疏水线数量为3-6条;疏水线宽度为0.01-1mm;疏水线之间的间距为0.5-1mm;

所述疏水点排列成3-6列;各疏水点的直径为0.01-1mm;同列疏水点之间的间距为0.01-0.05mm。

3. 根据权利要求2所述的微流控芯片,其特征在于,所述控速区的疏水线或疏水点的排列方向不与液体流动方向平行以利于实现所述拦截。

4. 根据权利要求3所述的微流控芯片,其特征在于,基片还包括至少1条流体微通道;按液体流动方向,所述流体微通道从反应区的下游位置延伸出来,用于为液体样品的流动提供通道并将液体样品引导至下一位置或区域;

每条流体微通道的两侧为微通道控制线,用于控制所述液体样品在所述微通道内流动;所述微通道控制线为疏水剂构成的疏水线;

所述控速区位于所述微通道内;

所述控速区的疏水线或疏水点的排列方向与液体流动方向垂直。

5. 根据权利要求4所述的微流控芯片,其特征在于,所述微通道控制线的宽度为1-3mm;所述流体微通道的宽度为3-5mm。

6. 根据权利要求5所述的微流控芯片,其特征在于,按微通道液体流动方向,微通道内的下游位置依次设置有检测位和质控位,使液体样品沿着微通道依次流经检测位和质控位;

所述检测位固定有可捕获靶标分子-靶标分子结合物的免疫复合物的物质;

所述质控位固定有二抗或亲和素蛋白,用于芯片内部质控或校准。

7. 根据权利要求1-6任一所述的微流控芯片,其特征在于,所述基片还包括加样区和废液区;按液体流动方向,所述加样区为紧靠所述反应区的上游区域;

微通道的上游端连接所述反应区,下游端连接至所述废液区,用于使待测液体样本经加样区加载至芯片后,样本中靶标分子在反应区的控速区内与靶标分子结合物发生充分的免疫反应,进而经微流体微通道,依次流经检测位和质控位后,最终流入废液区;

所述加样区为全血滤膜,用于分离全血中的血细胞与血浆;

所述废液区为吸水树脂或吸水纸,用于吸收并储存反应废液。

8. 根据权利要求7所述的微流控芯片,其特征在于,还包括透明盖片和粘合层;

所述盖片的大小、形状与基片相匹配,用于覆盖具有反应区的基片表面并保护基片;盖片对应基片加样区的位置还设置有加样孔,用于露出基片的加样区;盖片对应基片反应区的位置开设至少1个排气孔,用于保持微通道内气压平衡,以便液体样本在表面张力驱动下沿微通道向下游流动;

所述盖片与基片之间通过粘合层固定在一起;所述粘合层为两面均具有粘性的片状结构;所述粘合层对应基片加样区、反应区、流体微通道、废液区的位置为镂空结构,从而不影响基片上液体样品的加载、反应、流动和/或排出。

9. 根据权利要求8所述的微流控芯片,其特征在于,所述盖片、粘合层、基片上还设置有定位孔,用于三者组装时的定位配合;

所述定位孔指,在三者对应的某一侧边上分别设置的至少1个形状、大小、位置一致的缺口;

所述盖片上设置有与基片上位置、形状、大小对应的控速区、流体微通道。

10. 根据权利要求9所述的微流控芯片,其特征在于,所述疏水剂指盖印油墨,或聚醚改性硅油,或纳米疏水材料,或记号笔油墨,或油性墨水,或聚硅氮树脂;

所述盖片和基片的材质选自:聚甲基丙烯酸甲酯、聚苯乙烯、聚碳酸酯、COC、聚乙烯,其中盖片为透明材料制成,基片为不透明材料;所述盖片厚度为0.5mm-2mm;所述基片的厚度为0.5mm-4mm。

11. 权利要求1-10任一所述的微流控芯片在免疫检测领域或制备检测用试剂方面的应用,其特征在于,在标有检测用途的商品包装盒内装入所述微流控芯片;和/或,将所述微流控芯片用于免疫检测。

12. 权利要求4-5或9任一所述的微流控芯片的制备方法,包括如下步骤:按液体流动方向,在靠近基片上游端的区域固定靶标分子结合物,形成反应区;在所述反应区的下游、微通道的上游端,或在所述反应区内设置疏水剂形成控速区。

13. 权利要求7或8所述的微流控芯片的制备方法,包括如下步骤:按液体流动方向,在靠近基片上游端的区域固定靶标分子结合物,形成反应区;在所述反应区的下游、微通道的上游端,或在所述反应区内设置疏水剂形成控速区。

14. 根据权利要求12或13所述的制备方法,其特征在于,所述设置疏水剂指,用疏水剂在基片上制作疏水线,和/或疏水点;

所述疏水线的制作步骤包括:用疏水剂进行划线;或采用机床加工,或激光雕刻/扫描形成线性沟槽后,再注入疏水剂;

所述疏水点的制作步骤包括:用疏水剂进行划点;或采用机床加工,或激光雕刻/扫描形成圆坑。

15. 根据权利要求14所述的制备方法,其特征在于,所述沟槽深度为0.05-0.3mm;所述圆坑深度为0.05-0.3mm。

16. 根据权利要求12或13所述的制备方法,其特征在于,还包括:按液体流动方向,在反应区下游端用疏水剂制作微通道控制线,以形成所述流体微通道。

17. 根据权利要求16所述的制备方法,其特征在于,所述用疏水剂制作微通道控制线指,用疏水剂进行划线;或采用机床加工,或激光雕刻/扫描形成线性沟槽后,再注入疏水剂。

18. 根据权利要求17所述的制备方法,其特征在于,所述沟槽深度为0.05-0.3mm。

19. 根据权利要求13所述的制备方法,其特征在于,还包括,在基片上游端设置全血滤膜形成加样区;

在基片下游端喷涂吸水树脂或设置吸水纸形成所述废液区;

在所述微通道内,靠近所述废液区的位置按液体流动方向依次设置检测位和质控位;
用双面胶通过激光切割形成与基片形状大小相适配,且中部与基片上的加样区、反应区、废液区相吻合的镂空结构的粘合层;并在基片、盖片和粘合层上均设置定位孔,并根据所述定位孔,将基片通过粘合层与所述基片粘合固定。

一种微流控芯片及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明属于微流控技术领域,具体涉及一种微流控芯片及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 微流控技术是一种以微米尺度空间对流体操控为主要特征的科学技术,微流控芯片具有将生物、化学等实验室的基本功能微缩到一个几平方厘米芯片上的能力,又称芯片实验室(Labon Chip)。近十多年来,该技术逐步应用于分析检测领域,具有节约成本、节省时间、操作简便、高通量检测等优势。

[0003] 微流控技术涉及诸多学科交叉,因其使用领域或研究方向不同,微流控芯片制作方法和制作材料呈现多样性。如专利CN104155462A、专利CN103278643A等以PDMS为基材,以光刻、模注法制备PDMS材质微流控芯片,该方法工艺简便、成本低、便于与其他材质如玻璃、硅键合,具有良好的化学惰性等特点,广泛应用于实验室微流控科学研究。但因PDMS芯片表面疏水且其表面改性后维持时间较短,PDMS芯片无法批量产业化应用。

[0004] 聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、聚碳酸酯(PC)、聚苯乙烯(PS)等热塑性聚合物,具有成本低、易于加工成型和批量生产等优点,采用热压或微注塑法制备微流控芯片已有大量报道(专利CN103464230A、CN101468506A等)。热压或微注塑法制备热塑性聚合物,具有可设计复杂通道实现其分离或混匀等功能、芯片易于批量生产等优势,但存在模具精度高且费用昂贵、需生产百万片以上才能均摊降低成本等缺点,成为热塑性聚合物微流控芯片产品开发困扰之一。

发明内容

[0005] 基于本领域上述现有芯片客观存在的成本昂贵、无法量产等缺陷,本发明提供了一种无侧壁、毛细力驱动的微流控芯片及其制备方法,其结构设计合理,生产成本低廉,是一种效果好、可量产的新型微流控芯片。

[0006] 本发明的技术方案如下:

[0007] 本发明提供一种微流控芯片,包括基片,所述基片表面包括至少1个反应区;所述反应区内设置有靶标分子结合物,用于捕获和/或结合待测液体样品中的靶标分子并在所述反应区内发生结合反应;本发明的芯片最大的特征在于:按照液体流动方向,所述反应区内,和/或,紧挨着反应区的下游位置设置有至少1个控速区,所述控速区内设置有疏水剂,用于将所述靶标分子拦截在所述反应区内使其充分反应,但又不完全阻碍液体样品继续流动,从而实现对液体样品流速的控制。

[0008] 本发明的芯片创新地利用疏水剂在反应区内形成控速区域,从而使流经反应区的液体样品的流速得以有效的控制从而使液体样品在反应区内得以充分反应,利用简单常见、成本低廉的材料解决了本领域长期以来未能解决的成本高、反应速度慢、样品用量大等问题;经实验验证,具备上述特征微流控芯片与现有市场在售同类芯片相比较,在相同的待测样品、反应条件下,本发明的芯片产品性能显著优于现有市场在售同类产品,在保证同

等重复性的前提下,本发明的芯片反应效率更高、反应时长更短、样品用量更小、灵敏度更高,且生产中不需高精密模具,适于批量生产,具有显著的成本优势及巨大的经济效益。

[0009] 只要基于控制液体样品流速目的在微流控芯片中设置了疏水剂的芯片产品均落入本发明请求保护的范围内。所述结合反应可以是生物领域的免疫结合反应,也可以是化学领域的结合反应,例如络合反应等。

[0010] 控速区内疏水剂的具体设置形式可以是多样化的,包括,可以用疏水剂形成各种图案、线条,或者将疏水剂注入芯片内层,等等;只要能实现将液体拦截在反应区内但又不绝对阻断液体继续往下流动的目的即可,本领域技术人员可按照本发明的教导,根据实际检测的液体样品和检测需要,调整控速区内疏水剂覆盖的范围大小、形状和尺寸,例如,在一些具体的实施例中,所述控速区内的疏水剂形成疏水线,和/或疏水点;所述疏水线数量为3-6条;疏水线宽度为0.01-1mm;疏水线之间的间距为0.5-1mm;所述疏水点排列成3-6列;各疏水点的直径为0.01-1mm;同列疏水点之间的间距为0.01-0.05mm。

[0011] 本领域技术人员基于本发明记载的数值范围,可根据实践需求和实际操作确定具体的数值点,可以取所述范围内的任一数值,并且上述数值范围不局限于实施例1-10所列举的数值点,例如,疏水线的宽度可以是0.01mm、0.02mm、……、0.05mm、0.06mm、0.07mm、……、0.09mm、0.1mm、0.2mm、0.3mm、……、0.8mm、0.9mm、1mm;疏水线之间的间距可以是0.5mm、0.6mm、0.7mm、0.8mm、0.9mm、1mm;各疏水点的直径可以取0.01mm、0.02mm、……、0.05mm、0.06mm、0.07mm、……、0.09mm、0.1mm、0.2mm、……、0.5mm、……、0.8mm、0.9mm、1mm;疏水点之间的间距可以为0.01mm、0.02mm、……、0.05mm。同样地,本文中的其它数值范围也可按上述规律取值。

[0012] 免疫检测领域的技术人员可以根据检测需要,在所述反应区内固定可结合所述靶标分子结合物的信号物质,或者直接在反应区内固定标记有信号物质的靶标分子结合物;所述靶标分子结合物的信号物质为量子点、荧光微球、荧光染料,优选量子点。所述靶标分子结合物为抗原、抗体、配体或适配体。所述靶标分子结合物的工作浓度为0.1-4ug/ml,优选1ug/ml。

[0013] 在优选的一些实施例中,所述控速区的疏水线或疏水点的排列方向不与液体流动方向平行以利于实现所述拦截。

[0014] 在基于上述任一实施例的更进一步的方案中,基片还包括至少1条流体微通道;按液体流动方向,所述流体微通道从反应区的下游位置延伸出来,用于为液体样品的流动提供通道并将液体样品引导至下一位置或区域;每条流体微通道的两侧为微通道控制线,用于控制所述液体样品在所述微通道内流动;所述微通道控制线为疏水剂构成的疏水线;所述控速区位于所述微通道内;所述控速区的疏水线或疏水点的排列方向与液体流动方向垂直。本发明采用巧妙的疏水剂划线是芯片上形成一个专供液体样品流动的微通道,不仅避免因机加工或/和激光雕刻微通道而通道表面光滑度不均一引起的微流控芯片产品差异,而且还解决了常规芯片需要额外设置侧壁来限定流体通道的问题。具体地,所述微通道控制线的宽度为1-3mm;所述流体微通道的宽度为3-5mm。

[0015] 在本发明的某些实施例中,所述芯片还具有如下特点:按微通道液体流动方向,微通道内的下游位置依次设置有检测位和质控位,使液体样品沿着微通道依次流经检测位和质控位;所述检测位固定有可捕获靶标分子-靶标分子结合物的免疫复合物的物质;所述质

控位固定有二抗或亲和素蛋白,用于芯片内部质控或校准。检测位的作用是,可捕获或结合待测物-结合物免疫复合物,并进一步可通过信号检测设备通过检测该复合物的浓度确定待测物浓度,从而实现对待测物的定量;质控位的作用在于:为避免出现假阳性或假阴性,为整个检测提供内部参照和校准。本领域技术人员可根据具体的检测对象,设置符合条件的二抗或/或亲和素蛋白,例如,所述二抗可以是抗鼠抗体、抗兔抗体。

[0016] 在进一步的实施例中,所述基片还包括加样区和废液区;按液体流动方向,所述加样区为紧靠所述反应区的上游区域;微通道的上游端连接所述反应区,下游端连接至所述废液区,用于使待测液体样本经加样区加载至芯片后,样本中靶标分子在反应区的控速区内与靶标分子结合物发生充分的免疫反应,进而经微流体微通道,依次流经检测位和质控位后,最终流入废液区;所述加样区为全血滤膜,用于分离全血中的血细胞与血浆;所述废液区为吸水树脂或吸水纸,用于吸收并储存反应废液。

[0017] 在优选的实施例中,如图1所示,本发明的微流控芯片还包括透明盖片和粘合层;所述盖片的大小、形状与基片相匹配,用于覆盖具有反应区的基片表面并保护基片;盖片对应基片加样区的位置还设置有加样孔,用于露出基片的加样区;盖片对应基片反应区的位置开设至少1个排气孔,用于保持微通道内气压平衡,以便液体样本在表面张力驱动下沿微通道向下游流动;所述盖片与基片之间通过粘合层固定在一起;所述粘合层为两面均具有粘性的片状结构;所述粘合层对应基片加样区、反应区、流体微通道、废液区的位置为镂空结构,从而不影响基片上液体样品的加载、反应、流动和/或排出。同时,粘合层对应形成的镂空结构的边缘可进一步起到侧壁的作用,使液体样品在反应区内的反应,以及微通道内的流动不会往两侧溢出,达到将液体封闭在基片内部的目的。

[0018] 在更进一步优选的实施例中,所述盖片、粘合层、基片上还设置有定位孔,用于三者组装时的定位配合;所述定位孔指,在三者对应的某一侧边上分别设置的至少1个形状、大小、位置一致的缺口;所述盖片上设置有与基片上位置、形状、大小对应的控速区、流体微通道,用于与基片对应配合,更好地起到控制液体流动、限制液体流向的作用。

[0019] 在本发明所有具体的实施例中,所述疏水剂指盖印油墨,或聚醚改性硅油,或纳米疏水材料,或记号笔油墨,或油性墨水,或聚硅氮树脂;本领域技术人员还可以采用作用相同、效果类似的疏水剂,本文中不再一一例举;所述盖片和基片的材质选自:聚甲基丙烯酸甲酯、聚苯乙烯、聚碳酸酯、COC、聚乙烯,优选聚甲基丙烯酸甲酯;其中盖片为透明材料制成,基片为不透明材料;所述盖片厚度为0.5mm-2mm,优选1mm;所述基片的厚度为0.5mm-4mm,优选2mm。

[0020] 另一方面,本发明还提供所述微流控芯片在免疫检测或制备检测试剂方面的应用,任何规模基于商业目的的生产、销售、使用、许诺销售具有上述任一实施例所述特征的特征的微流控芯片的行为,都落入本发明请求保护的范围内;所述行为包括但不限于,在标有检测用途的商品包装盒内装入所述微流控芯片;或将所述微流控芯片用于商业目的的检测。

[0021] 此外,本发明的另一组实施例还提供了所述微流控芯片的制备方法,包括如下步骤:按液体流动方向,在靠近基片上游端的区域固定靶标分子结合物,形成反应区;在所述反应区的下游、微通道的上游端,或在所述反应区内设置疏水剂形成控速区。采取上面的步骤即可得到解决本发明核心问题的微流控芯片产品。

[0022] 进一步地,所述设置疏水剂指,用疏水剂在基片上制作疏水线,和/或疏水点;所述

疏水线的制作步骤包括：用疏水剂进行划线；或采用机床加工，或激光雕刻/扫描形成线性沟槽后，再注入疏水剂；所述疏水点的制作步骤包括：用疏水剂进行划点；或采用机床加工，或激光雕刻/扫描形成圆坑。设置疏水剂的步骤不限于上述划线、划点、雕刻沟槽并注入疏水剂等方法，本领域技术人员还可以采用其它手段，只要能将疏水剂设置在基片上以形成符合要求的控速区域即可。具体地，所述沟槽深度为0.05-0.3mm；所述圆坑深度为0.05-0.3mm。

[0023] 在优选的实施例中，所述制备方法还进一步包括：按液体流动方向，在反应区下游端用疏水剂制作微通道控制线，以形成所述流体微通道。

[0024] 具体地，所述用疏水剂制作微通道控制线指，用疏水剂进行划线；或采用机床加工，或激光雕刻/扫描形成线性沟槽后，再注入疏水剂。同样地，微通道控制线的制作并不仅限于上面的步骤，本领域技术人员基于设置可供液体流动的通道的目的，可采用其它任何技术手段，将疏水剂制作成符合要求的微通道控制线。具体地，所述沟槽深度为0.05-0.3mm；

[0025] 在优选的实施例中，所述制备方法还进一步包括：在基片上游端设置全血滤膜形成加样区；在基片下游端喷涂吸水树脂或设置吸水纸形成所述废液区；在所述微通道内，靠近所述废液区的位置按液体流动方向依次设置检测位和质控位；用双面胶通过激光切割形成与基片形状大小相适配，且中部与基片上的加样区、反应区、废液区相吻合的镂空结构的粘合层；并在基片、盖片和粘合层上均设置定位孔，并根据所述定位孔，将基片通过粘合层与所述基片粘合固定。

[0026] 本发明最具体的一个实施例所提供的微流控芯片由盖片、基片及粘合层三部分组成，具体功能区分为加样区、反应区、控速区、检测区、废液区、定位孔以及排气孔。所述基片的结构区域分布按液体流动方向依次是：(1) 加样区：含全血滤膜(如GE MF1、LF1、VF2等)，用于全血中血细胞与血浆分离，使血浆或血清入微通道进行测定；(2) 反应区：含信号分子的结合物(抗体或抗原)，血浆或血清中待测物(抗原或抗体)与含信号分子的结合物(抗体或抗原)发生免疫反应；反应区、废液区间以微通道相连接，微通道由两条微通道控制线构成：采用激光雕刻和/或扫描、机床加工的疏水槽或/和注入疏水剂，或者喷涂(或划)疏水线利用其疏水性控制微流体的流动通道，避免因机加工或/和激光雕刻微通道而通道表面光滑度不均一引起的微流控芯片产品差异；(3) 控速区1：采用疏水剂划线，在一定时间内将待测物、信号分子结合物拦截反应区内，使其发生免疫反应；(4) 控速区2：采用激光雕刻和/或扫描的疏水区或/和注入疏水剂，利用疏水性控制微流体的流速，控制整个检测过程时间；(5) 检测位：基片检测位表面固定有可捕获待测物-结合物免疫复合物的物质，可通过信号检测设备检测待测物浓度；(6) 质控位：固定有特定蛋白，用于微流控芯片内部质控或校准。(7) 废液区：喷涂吸水树脂，用于存储反应废液。

[0027] 本发明以激光雕刻法切割双面胶设计芯片粘合层，以雕铣法在基片、盖片雕刻沟槽，并注入疏水剂，和/或在基片/盖片上划线、喷涂疏水剂，形成控速区，用于控制微流体通道和/或微流体流速，并利用疏水剂形成的疏水线设计出一种无侧壁微流体通道，同时建立了一种高效、简易的无侧壁微通道制备技术，解决了单纯激光雕刻或机床雕铣微通道导致的通道粗糙度不均一而影响微流控芯片检测，从而导致微流控芯片批间差较大的问题，克服了热压或微注塑法制备芯片因需要高精密度模具费用昂贵导致芯片成本高的缺陷，适于

聚合物芯片批量化生产及其产业化。本发明所提供的微流控芯片及其制备技术,具有成本低廉、操作简便、制作出的产品均一度高、检测效果好,非常适于量产,应用范围广泛。

附图说明

[0028] 图1为本发明的一个实施例所述的微流控芯片整体结构示意图;

[0029] 图2为本发明的一个实施例所述的微流控芯片俯视图;

[0030] 图3为本发明另一个实施例所述的微流控芯片的盖片结构示意图;

[0031] 图4为本发明另一个实施例所述的微流控芯片的基片结构示意图;

[0032] 图5为本发明产品与现有同类产品的相关性实验结果。

[0033] 图中附图标记列示如下:1-加样区;2-反应区;3-控速区1;4-控速区2;5-微通道控制线;6-检测位;7-质控位;8-废液区;9-排气孔;10-盖片;11-粘合层;12-基片;13-定位孔。

具体实施方式

[0034] 下面结合附图,通过具体实施例进一步对本发明的内容进行详细描述,但并不以此限制本发明的保护范围。如无特殊说明,下述实施例中使用的耗材均可商购获得;操作步骤均为常规操作。

[0035] 试剂耗材

[0036] 亚克力板材购自浙江聚鑫公司,BNP抗体购自Hytest公司,量子点购自北达聚邦公司,其他化学试剂均购自sigma公司;双面胶购自3M公司(9475LE);盖印油墨购自东莞市彩荣油墨有限公司;聚醚改性硅油购自济宁华凯树脂有限公司;羊抗鼠抗体购自杭州启泰;吸水纸购自江门达鸣纸业;Alere TriageBNP Test芯片购自alere公司。

[0037] 生物材料的来源

[0038] 43例临床样本(心衰患者15例、健康体检28例)的血液样品来自天津第一中心医院。实施例1、一种BNP微流控检测试剂及其制备方法

[0039] 采用下述方法制备本实施例的微流控芯片:

[0040] (1)BNP微流控检测试剂由三层结构组成,即盖片、粘合层及基片。盖片为透明亚克力板(厚度1mm),粘合层为0.115mm厚的双面胶,基片为非透明亚克力板(厚度2mm)。上述三层结构均采用激光雕刻或机床切割,芯片结构如图1-2所示。

[0041] (2)盖片结构如图3所示,含有加样区、控速区1-2、排气孔、微通道控制线。

[0042] a.控速区1:采用盖印油墨划线(宽度1mm)3条(间距1mm);

[0043] b.控速区2:采用聚醚改性硅油划线(宽度1mm)3条(间距1mm);

[0044] c.微通道控制线:采用聚醚改性硅油划线(宽度2mm),两条微通道控制线间距(微流体通道)为5mm;

[0045] (3)基片结构如图4所示,含有加样区、控速区1-2、微通道控制线、检测位、质控位、废液区,其中控速区1-2、微通道控制线制备方法见与盖片制备方法相同。

[0046] a.反应区:含偶联量子点的鼠抗人BNP抗体(0.5ug/ml,10ul)。

[0047] b.检测位:固定有鼠抗人BNP抗体(2ug/ml,10ul)。

[0048] c.质控位:固定有羊抗鼠抗体(2ug/ml,10ul)。

[0049] d.废液区:固定有吸水纸(0.25mm)。

- [0050] 实施例2、一种BNP微流控检测试剂及其制备方法
- [0051] 除了以下结构部分制备方法不同外,其他制备方法与实施例1相同。
- [0052] (1) 盖片
- [0053] a. 厚度为0.5mm;
- [0054] b. 控速区1:采用盖印油墨(东莞市彩荣油墨有限公司)划线(宽度1mm)6条(间距1mm);
- [0055] c. 控速区2:采用聚醚改性硅油(济宁华凯树脂有限公司)划线(宽度1mm)6条(间距1mm);
- [0056] d. 微通道控制线:采用聚醚改性硅油(济宁华凯树脂有限公司)划线(宽度2mm),两条微通道控制线间距(微流体通道)为3mm;
- [0057] (3) 基片厚度4mm,结构如图4所示,含有加样区、控速区1-2、微通道控制线、检测位、质控位、废液区,其中控速区1-2、微通道控制线制备方法见与盖片制备方法相同;废液区固定有吸水纸(0.85mm厚,江门达鸣纸业)。
- [0058] 实施例3、一种BNP微流控检测芯片及其制备方法
- [0059] 除了以下结构部分制备方法不同外,其他制备方法与实施例2相同。
- [0060] (1) 盖片仅有加样区、排气孔,无实施例2盖片中控速区、微通道控制线;盖片厚度2mm。
- [0061] (2) 基片控速区1采用机床加工,为0.01mm宽、0.05mm深度沟槽,沟槽内注入聚醚改性硅油,沟槽间隔为0.5mm;基片厚度0.5mm。
- [0062] (3) 基片控速区2采用机床加工,为0.5mm宽、0.3mm深度沟槽,沟槽内注入记号笔油墨,沟槽间隔为0.8mm。
- [0063] (4) 基片微通道控制线采用机床加工,为1mm宽、0.1mm深度沟槽,沟槽内注入聚醚改性硅油,流体微通道的宽度为4mm。
- [0064] 实施例4、一种BNP微流控检测芯片及其制备方法
- [0065] 除了以下结构部分制备方法不同外,其他制备方法与实施例3相同。
- [0066] (1) 基片控速区1采用激光扫描形成4列,直径0.05mm、深度0.05mm的小圆坑,同列疏水点之间的间距为0.05mm。
- [0067] (2) 基片控速区2采用激光扫描形成5列,直径0.2mm、深度0.3mm的小圆坑,同列疏水点之间的间距为0.01mm。
- [0068] (3) 基片微通道控制线采用机床加工,为1mm宽、0.3mm深度沟槽,流体微通道的宽度为5mm。
- [0069] 实施例5、一种BNP微流控芯片及其制备方法
- [0070] 采用下述方法制备本实施例的微流控芯片:
- [0071] (1) BNP微流控检测试剂由三层结构组成,即盖片、粘合层及基片。盖片为透明聚苯乙烯板(厚度1mm),粘合层为0.115mm厚的双面胶,基片为非透明聚碳酸酯板(厚度2mm)。上述三层结构均采用激光雕刻或机床切割,芯片结构如图1-2所示。
- [0072] (2) 盖片结构如图3所示,含有加样区、控速区1-2、排气孔、微通道控制线。
- [0073] a. 控速区1:采用盖印油墨划线(宽度0.05mm)6条(间距0.5mm);
- [0074] b. 控速区2:采用聚醚改性硅油划线(宽度0.5mm)4条(间距0.6mm);

[0075] c.微通道控制线:采用纳米疏水材料划线(宽度1mm),两条微通道控制线间距(微流体通道)为4mm;

[0076] (3)基片结构如图4所示,含有加样区、控速区1-2、微通道控制线、检测位、质控位、废液区,其中控速区1-2、微通道控制线制备方法见与盖片制备方法相同。

[0077] a.反应区:含偶联荧光染料的鼠抗人BNP抗体(0.5ug/ml,10ul)。

[0078] b.检测位:固定有鼠抗人BNP抗体(2ug/ml,10ul)。

[0079] c.质控位:固定有羊抗鼠抗体(2ug/ml,10ul)。

[0080] d.废液区:固定有吸水纸(0.25mm)。

[0081] 实施例6、一种BNP微流控检测试剂及其制备方法

[0082] 采用下述方法制备本实施例的微流控芯片:

[0083] (1)BNP微流控检测试剂由三层结构组成,即盖片、粘合层及基片。盖片为透明COC板(厚度1mm),粘合层为0.115mm厚的双面胶,基片为非透明聚乙烯板(厚度2mm)。上述三层结构均采用激光雕刻或机床切割,芯片结构如图1-2所示。

[0084] (2)盖片结构如图3所示,含有加样区、控速区1-2、排气孔、微通道控制线。

[0085] a.控速区1:采用记号笔油墨划线(宽度0.09mm)5条(间距0.8mm);

[0086] b.控速区2:采用油性墨水划线(宽度0.5mm)4条(间距0.7mm);

[0087] c.微通道控制线:采用聚硅氮树脂划线(宽度2.2mm),两条微通道控制线间距(微流体通道)为3.7mm;

[0088] (3)基片结构如图4所示,含有加样区、控速区1-2、微通道控制线,其中控速区1-2、微通道控制线制备方法见与盖片制备方法相同。

[0089] a.反应区:含偶联荧光微球的鼠抗人BNP抗体(0.5ug/ml,10ul)。

[0090] b.检测位:固定有鼠抗人BNP抗体(2ug/ml,10ul)。

[0091] c.质控位:固定有羊抗鼠抗体(2ug/ml,10ul)。

[0092] d.废液区:固定有吸水纸(0.25mm)。

[0093] 实施例7、一种BNP微流控检测试剂及其制备方法

[0094] 除了以下结构部分制备方法不同外,其他制备方法与实施例5相同。

[0095] (1)盖片仅有加样区、排气孔,无实施例2盖片中控速区、微通道控制线。

[0096] (2)控速区1采用疏水剂划点,使疏水点排列形成3列,各疏水点的直径为0.01mm;同列疏水点之间的间距为0.03mm。

[0097] (3)控速区2采用疏水剂划点,使疏水点排列形成6列,各疏水点的直径为0.5mm;同列疏水点之间的间距为0.04mm。

[0098] 实施例8、一种BNP微流控检测试剂及其制备方法

[0099] 除了以下结构部分制备方法不同外,其他制备方法与实施例4相同。

[0100] (1)基片控速区1采用激光扫描形成4列,直径0.06mm、深度0.08mm的小圆坑,扫描区域间隔及数量同实施例3。

[0101] (2)基片控速区2采用激光扫描形成5列,直径0.5mm、深度0.1mm的小圆坑,扫描区域间隔及数量同实施例3。

[0102] 基片微通道控制线采用机床加工,为1mm宽、0.3mm深度沟槽。

[0103] 实施例9、一种BNP微流控检测试剂及其制备方法

[0104] 除了以下结构部分制备方法不同外,其他制备方法与实施例4相同。

[0105] (1) 基片控速区1采用喷涂方式形成疏水点,直径1mm,排列成5列,同列疏水点之间的间距为0.01mm。

[0106] (2) 基片控速区2采用油性墨水划线(宽度0.02mm)6条(间距0.6mm)。

[0107] 基片微通道控制线采用机床加工,为1.5mm宽、0.05mm深度沟槽。

[0108] 实施例10、一种BNP微流控检测试剂及其制备方法

[0109] 除了以下结构部分制备方法不同外,其他制备方法与实施例4相同。

[0110] (1) 基片控速区1采用机床加工,为0.09mm宽、0.1mm深的沟槽,沟槽内注入聚醚改性硅油,沟槽间隔为0.5mm;基片厚度3mm。

[0111] (2) 基片控速区2采用机床加工,为0.5mm宽、0.3mm深的沟槽,沟槽内注入记号笔油墨,沟槽间隔为0.8mm

[0112] 基片微通道控制线采用机床加工,为3mm宽、0.2mm深的沟槽,流体微通道的宽度为3.5mm。

[0113] 上述任一实施例中,同一控速区内可以同时包含疏水线和疏水点;控速区还可以设置成3个或3个以上,本领域技术人员可在本发明所提供的数值范围内,根据实际需求调整疏水线或疏水点的尺寸、大小。

[0114] 实验例、本发明产品与现有同类产品的性能比较

[0115] 采用本发明实施例1-10所提供的微流控芯片,与市场在售同类产品进行性能方面的比较,对比产品为:Alere TriageBNP Test芯片,在同样的条件下,用同样的血液样品施加至本发明的芯片与对比产品进行检测,对比结果如下表1-2、图5所示:

[0116] 表1 本发明产品与市场在售同类产品检测试剂、样品用量、成本方面的比较

[0117]

公司产品	对比产品	本发明产品
重复性	<10%	<10%
时间	15min	10min
样本	200-250ul	50ul
成本	高	低

[0118] 由表1可知,在保证同等的重复性的前提下,本发明的芯片产品相比现有芯片产品,样品使用量更小,检测速度更快,并且,由于本发明的芯片产品在生产中不需高精密模具,因而,本发明的芯片产品的成本显著降低。

[0119] 同时,本实施例还提供了本发明产品和对比产品(图5)检测临床样本43例(心衰患者15例、健康体检28例)相关性研究。相关系数 r^2 大于0.95,两种试剂检测结果呈高度相关。

[0120] 根据上述检测结果比较了二者在符合率、灵敏度方面的性能,如下表2所示:

[0121] 表2 本发明产品与市场在售同类产品符合率、灵敏度方面的性能比较

		对比试剂		合计
		阳性	阴性	
[0122] 本发明试剂	阳性	13	1	14
	阴性	0	29	29
合计		13	30	43

[0123] 综上,本发明产品与市场在售同类产品比较,在检测速度、样品用量、试剂成本方面具有显著优势。同时,表2的结果表明,本发明产品与对比试剂阳性符合率为100%、阴性符合率为96.7%,总符合率为97.7%;结合临床病理信息,对比试剂灵敏度为86.7%,本发明试剂灵敏度为93.3%。

[0124] 以上实施例仅为本发明的优选实施例,以便于更好地理解本发明,本发明范围不限于以下实施例,例如,本发明的微流控芯片不仅限于制作BNP微流控检测芯片,还可以制作cTnI检测芯片、H-FABP检测芯片等等,并且都能获得与上述实施例等同的检测性能和效果,本文中不再赘述;同时,本发明可以有各种更改和变化,凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换或改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

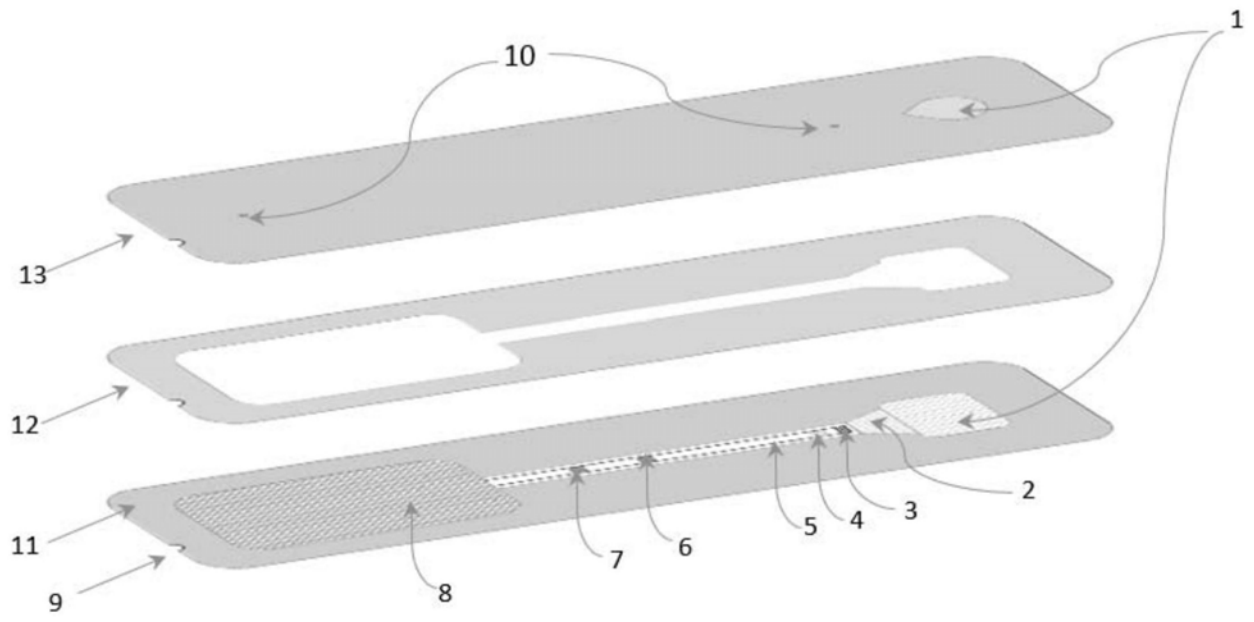


图1

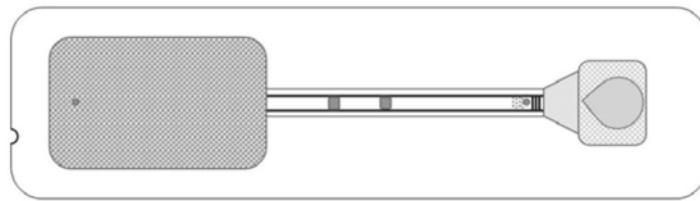


图2

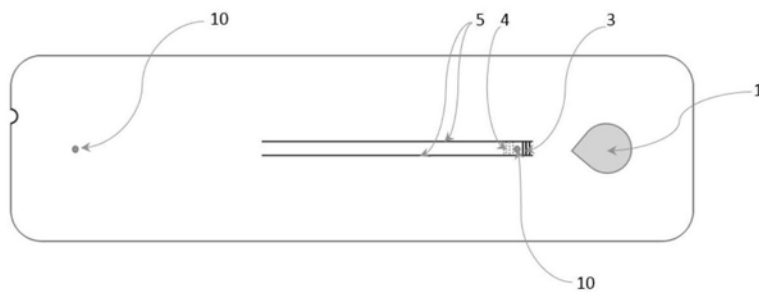


图3

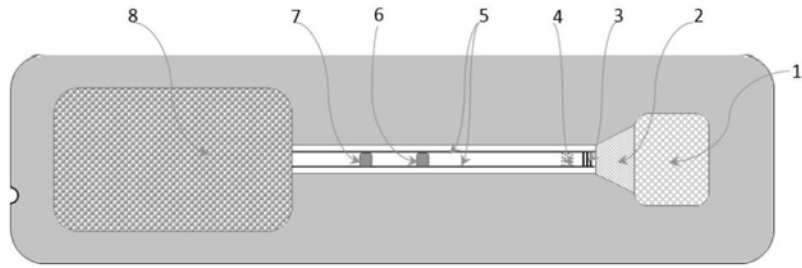


图4

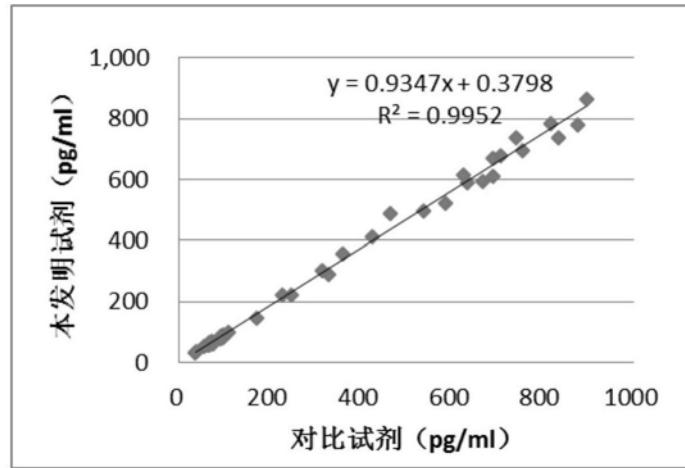


图5

专利名称(译)	一种微流控芯片及其制备方法与应用		
公开(公告)号	CN106914287B	公开(公告)日	2018-12-28
申请号	CN201710168784.2	申请日	2017-03-21
[标]申请(专利权)人(译)	同昕生物技术(北京)有限公司		
申请(专利权)人(译)	同昕生物技术(北京)有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	同昕生物技术(北京)有限公司		
[标]发明人	彭京胜 焦守恕 李全 吴凡		
发明人	彭京胜 焦守恕 李全 吴凡		
IPC分类号	B01L3/00 G01N33/53		
CPC分类号	B01L3/502746 B01L3/502761 B01L2200/10 B01L2200/143 B01L2200/148 B01L2300/165 G01N33/5302		
优先权	201710150638.7 2017-03-14 CN		
其他公开文献	CN106914287A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种微流控芯片，属于微流控技术领域；所述芯片包括基片，所述基片表面包括至少1个反应区；所述反应区内设置有靶标分子结合物，用于捕获和/或结合待测液体样品中的靶标分子并在所述反应区内发生结合反应；按液体流动方向，所述反应区内，和/或，紧挨着反应区的下游位置设置有至少1个控速区，所述控速区内设置有疏水剂，用于将所述靶标分子拦截在所述反应区内使其充分反应，但又不完全阻碍液体样品继续流动，从而实现对待测液体样品流速的控制。本发明还提供所述芯片的应用及其制备方法。本发明芯片具有重复性好、灵敏度高、成本低廉等优势。

