



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108169194 A

(43)申请公布日 2018.06.15

(21)申请号 201711334519.3

(22)申请日 2017.12.13

(71)申请人 东南大学

地址 210096 江苏省南京市江宁区东南大学路2号

(72)发明人 顾忠泽 何珍珠 高兵兵 阿杜

(74)专利代理机构 南京苏高专利商标事务所
(普通合伙) 32204

代理人 柏尚春

(51)Int.Cl.

G01N 21/64(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

B01L 3/00(2006.01)

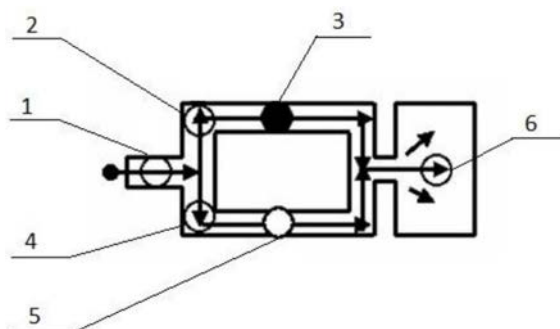
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

一种基于大蓝闪蝶的微流体芯片及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种基于大蓝闪蝶的微流体芯片及其制作方法,所述的微流体芯片以大蓝闪蝶的蝶翅为基底,通过在大蓝闪蝶的蝶翅表面进行局部亲水处理,形成亲水通道而制成,具体包括依次相连通的待测样品加样区、荧光标记抗体加载区、捕获抗体加载区和废液区。本发明提供的微流体芯片结合了生物源的有序结构和自组装光子晶体层来形成异质结构,可以增强标记物的荧光信号,用于提高免疫分析的灵敏度,可同时检测多种生物标记物。本发明提供的制作方法操作简单,原料来源广泛,可同时实现快速多元检测,促进了有序结构在POCT技术中的应用,可以广泛应用于生物分析和临床检测等领域。



1. 一种基于大蓝闪蝶的微流体芯片,其特征在于,所述的微流体芯片以大蓝闪蝶的蝶翅为基底,通过在大蓝闪蝶的蝶翅表面进行局部亲水处理,形成亲水通道而制成。

2. 根据权利要求1所述的基于大蓝闪蝶的微流体芯片,其特征在于,所述亲水通道包括依次相连通的待测样品加样区、荧光标记抗体加载区、捕获抗体加载区和废液区。

3. 根据权利要求2所述的基于大蓝闪蝶的微流体芯片,其特征在于,连接所述荧光标记抗体加载区和捕获抗体加载区的通道,为单个或者多个并联的通道。

4. 根据权利要求2所述的基于大蓝闪蝶的微流体芯片,其特征在于,所述捕获抗体加载区还在亲水蝶翅上滴SiO₂粒子自组装一层SiO₂光子晶体膜,形成异质结构。

5. 根据权利要求1所述的基于大蓝闪蝶的微流体芯片,其特征在于,包括依次相连通的待测样品加样区、荧光标记抗体加载区和捕获抗体加载区以及废液区,其中连接荧光标记抗体加载区和捕获抗体加载区的通道,为两个并联的通道,其通路上依次对称设有第一荧光标记抗体加载区和第二荧光标记抗体加载区,以及第一捕获抗体加载区和第二捕获抗体加载区。

6. 权利要求1-5任意一项所述基于大蓝闪蝶的微流体芯片的制作方法,其特征在于,包括以下步骤:

清洗大蓝闪蝶的蝶翅表面,然后将蝶翅固定于柔性基底上,将根据通道需求设计的图案化掩模板置于蝶翅上,对蝶翅进行局部亲水处理,得到图案化蝶翅,即得。

7. 根据权利要求6所述的基于大蓝闪蝶的微流体芯片的制作方法,其特征在于,所述柔性基底为聚丙烯、聚氯乙烯、聚乙烯、高抗冲聚苯乙烯、聚甲基丙烯酸甲酯中的一种或几种。

8. 根据权利要求6所述的基于大蓝闪蝶的微流体芯片,其特征在于,所述亲水处理的方法为等离子体处理、化学键修饰或亲水试剂喷涂中的一种或几种。

9. 根据权利要求6所述的基于大蓝闪蝶的微流体芯片的制作方法,其特征在于,还包括在所述图案化蝶翅的捕获抗体加载区滴SiO₂粒子,自组装一层不同粒径的SiO₂光子晶体膜,形成异质结构。

10. 根据权利要求9所述的基于大蓝闪蝶的微流体芯片的制作方法,其特征在于,所述SiO₂粒子粒径为180-345nm,粒子的质量分数为4-40%,加入量为0.1-1.0μL。

一种基于大蓝闪蝶的微流体芯片及其制作方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种微流体芯片及其制作方法,特别涉及一种基于大蓝闪蝶的微流体芯片及其制作方法。

背景技术

[0002] Point-of-care testing (POCT) 又名现场检测、即时检测,是近些年发展起来的快速有效的诊断分析技术。POCT诊断系统具有快速、简便、经济、便携、易处理等优点,可以为患者或未经训练的人员提供体外快速有效的诊断结果。然而,目前的POCT技术都只是依据不同的检测原理单一的检测一种待测物,无法实现多元分析与检测,限制了POCT的发展。因此,具有集成化,小型化和快速反应等优势的微流控芯片分析系统可以满足POCT的需求,有望实现POCT技术的多元分析。

[0003] 微流控 (microfluidics) 技术是一种针对极为小量 (一般为 10^{-9} ~ 10^{-18} L) 的流体进行操作调控的系统的科学技术。微流控芯片 (microfluidic chips) 又称芯片实验室,是一种以在微米尺度空间对流体进行操控为主要特征的科学技术,可以将生物、化学等实验室的基本功能微缩到一个仅有几平方厘米的芯片上。目前用于微流控芯片的最常见的基材主要有纸、塑料、硅、玻璃等。然而,纸具有较大的表面粗糙度,限制了微通道分辨率;塑料对于部分有机溶剂具有不相容性,会吸附待测物分子;硅和玻璃的处理成本较高,难以在资源匮乏的地区大量使用等。除了以上的问题,这些基底材料都是无序结构,导致了液体的不均匀流动,难以控制液体的流动行为。

[0004] 目前,基于有序微结构的传感研究已成为分析检测领域的研究重点,其高度有序的微结构使其具有很好的结构性能和光学特性,有利于传感器的小型化和集成化等。有序微结构依据来源可分为两种:天然有序结构 (包括昆虫翅膀,羽毛,叶表皮,壳等) 和人造有序结构 (包括胶体晶体,共聚物,纳米金属材料等)。这些有序结构已经实现了各种各样应用,包括生化检测,光学传感,储能,组织工程等。其中,基于典型的天然有序结构——大蓝闪蝶的相关研究已经得到广泛的应用。

发明内容

[0005] 发明目的:为了增强标记物的荧光信号,提高免疫分析的灵敏度,并同时实现多种标记物的检测,本发明提供了一种基于大蓝闪蝶的微流体芯片。

[0006] 本发明的另一目的是提供所述的微流体芯片的制作方法,该方法操作简单,反应快速,原料来源广泛,可批量生产。

[0007] 技术方案:本发明所述的一种基于大蓝闪蝶的微流体芯片,其以大蓝闪蝶的蝶翅为基底,通过在大蓝闪蝶的蝶翅表面进行局部亲水处理,形成亲水通道而制成。

[0008] 原始的大蓝闪蝶蝶翅表面具有蜡质层,表面具有疏水性,因此可以通过表面亲水化来制作微流体芯片;此外,大蓝闪蝶蝶翅具有鳞片状的有序结构,这种结构形成了明亮的蓝色表面,这种特性可用于荧光增强,提高免疫分析的灵敏度。

[0009] 所述亲水通道包括依次相连通的待测样品加样区、荧光标记抗体加载区、捕获抗体加载区和废液区。

[0010] 连接所述荧光标记抗体加载区和捕获抗体加载区的通道,为单个、两个或者多个并联的通道。

[0011] 所述捕获抗体加载区还在亲水蝶翅上自组装一层SiO₂光子晶体膜,形成异质结构。

[0012] 所述亲水处理的方法为等离子体处理、化学键修饰或亲水试剂喷涂中的一种或几种。

[0013] 一种具体的基于大蓝闪蝶的微流体芯片,包括依次相连通的待测样品加样区、荧光标记抗体加载区和捕获抗体加载区以及废液区,其中连接荧光标记抗体加载区和捕获抗体加载区的通道,为两个并联的通道,其通路上依次对称设有第一荧光标记抗体加载区和第二荧光标记抗体加载区,以及第一捕获抗体加载区和第二捕获抗体加载区。

[0014] 本发明所述基于大蓝闪蝶的微流体芯片的制作方法,包括以下步骤:

[0015] 清洗大蓝闪蝶的蝶翅表面,根据通道需求设计图案化掩模板,然后将蝶翅固定于柔性基底上,并利用上述图案化掩模板置于蝶翅上,对蝶翅进行局部亲水处理,得到图案化蝶翅,即得。

[0016] 具体包括以下步骤:

[0017] (1) 清洗蝶翅表面;

[0018] (2) 用CorelDRAW或其它绘图工具设计多通道图案并打印在掩模板上,然后通过切割或剪裁得到图案化掩模板,其中待测样品加样区,荧光标记抗体加载区,捕获抗体加载区,废液区以及相互连接的通道是镂空的;

[0019] (3) 将蝶翅固定于柔性基底上,并利用步骤(2)得到的图案化掩模板置于蝶翅上,对蝶翅进行局部亲水处理,得到图案化蝶翅;

[0020] 所述制作方法中,还包括在所述图案化蝶翅的捕获抗体加载区滴SiO₂粒子,自组装一层不同粒径的SiO₂光子晶体膜,形成异质结构,可进一步增强荧光信号,荧光增强的效果可以由不同粒径和不同浓度的SiO₂粒子来调控。

[0021] 所述SiO₂粒子粒径为180-345nm,粒子的质量分数为4-40%,加入量为0.1-1.0μL。加入量视粒子的浓度而定,当浓度为20wt.%,加入量为0.2μL时,粒子刚好在蝶翅检测区域自组装一层厚度适中的光子晶体膜。所滴入的SiO₂粒子。可以由不同粒径的SiO₂粒子来调控荧光信号。当光子晶体的光子禁带 λ ($\lambda=2.3D$, D 为光子晶体粒径) 接近荧光物质的激发波长时,发射的荧光会被光子晶体沿禁带方向反射,因此的荧光增强效果最好。

[0022] 所述的柔性基底为聚丙烯(PP)、聚氯乙烯(PVC)、聚乙烯(PE)、高抗冲聚苯乙烯(HIPS)、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)中的一种或几种。

[0023] 所述的清洗为先用乙醇清洗,再用去离子水清洗;所述的图案化掩模板为单通道或者多通道掩模板,用塑料或金属材质制成。

[0024] 本发明微流体芯片的工作原理如下:

[0025] 在微流体芯片的捕获抗体加载区分别固定与待测物对应的捕获抗体,封闭、干燥,在荧光标记抗体加载区滴入与捕获抗体相对应的荧光标记抗体,然后将待检测的混合样品由待测样品加样区加入并通过毛细作用流过微流体芯片,通过免疫反应,在膜上形成捕获

抗体-待测物-示踪抗体的夹心复合物,最后利用捕获抗体加载区的荧光信号强度来定量检测,使用荧光检测器检测荧光信号。

[0026] 所述的荧光物质为异硫氰酸荧光素 (FITC)、Cy3或RB200。可以根据不同的荧光物质的发射波长来选择具有不同粒径(或不同光子禁带)的SiO₂粒子,例如Cy3的发射波长在570nm,选用245nm的SiO₂粒子具有很好的荧光增强效果。

[0027] 有益效果:本发明利用天然的有序结构大蓝闪蝶蝶翅优异的光学性质和独特的结构特性来制备微流体芯片,并结合SiO₂纳米粒子对光的调控性来增强免疫荧光信号,可进行生物标志物的多元检测,其主要优点如下:

[0028] (1) 基于自然有序结构的微流体芯片的制作方法操作简单,反应快速,原料来源广泛,可批量生产。

[0029] (2) 这种基于大蓝闪蝶的微流体芯片同时结合了蝶翅的结构特性和光子晶体的光学特性,进一步增强了荧光信号,提高了免疫分析的灵敏度。

[0030] (3) 这种微流体芯片可以设计多个通道,同时进行多种标记物的检测,是一种有效的多元分析POCT平台,可用于生物分析和疾病的早期诊断,能够广泛应用于生物分析和临床检测等领域,促进了天然有序结构在POCT技术中的应用。

附图说明

[0031] 图1是本发明基于大蓝闪蝶的微流体芯片结构示意图;

[0032] 图2是本发明基于大蓝闪蝶的微流体芯片的制作流程示意图;

[0033] 图3是本发明基于大蓝闪蝶的微流体芯片用于检测IgG (a) 和AD7c (b) 的荧光图片和检测结果。

具体实施方式

[0034] 实施例1

[0035] 1、基于大蓝闪蝶的微流体芯片:

[0036] 如图1所示,本发明提供的基于大蓝闪蝶的微流体芯片,包括依次相连通的待测样品加样区1、荧光标记抗体加载区和捕获抗体加载区以及废液区6,其中连接荧光标记抗体加载区和捕获抗体加载区的通道,为两个并联的通道,其通路上依次对称设有第一荧光标记抗体加载区2和第二荧光标记抗体加载区4,以及第一捕获抗体加载区3和第二捕获抗体加载区5。

[0037] 2、基于大蓝闪蝶的微流体芯片的制作方法:

[0038] 如图2所示,图中M代表微流体芯片(Microfluidic chip)。

[0039] 首先,取一小片大蓝闪蝶后翅,先用乙醇清洗,再用去离子水清洗,重复三次;自然晾干后,将蝶翅固定于柔性基底上,并将设计好的多通道掩模板置于蝶翅上,等离子体150W处理60s得到图案化蝶翅;然后,在检测区(检测区就是捕获抗体加载区)滴0.2μL质量分数为20%的SiO₂粒子形成自组装粒子层,与蝶翅的有序结构共同形成异质结构,进一步增强荧光信号,得到微流体芯片。

[0040] 3、基于大蓝闪蝶的微流体芯片用于多元检测分析(利用实施例1所的微流体芯片):

[0041] 如图1所示,在微流体芯片的检测区(第一捕获抗体加载区3和第二捕获抗体加载区5)固定不同待测物的捕获抗体(如IgG、AD7c等),进行抗体固定、封闭与干燥之后,在荧光标记抗体加载区(第一荧光标记抗体加载区2和第二荧光标记抗体加载区4)滴适量与捕获抗体相对应的荧光标记抗体(如FITC、Cy3等),然后将待检测的混合样品由待测样品加样区1加入并通过毛细作用流过微流体芯片,通过免疫反应,在膜上形成捕获抗体-待测物-示踪抗体的夹心复合物,最后利用最终检测区的荧光信号强度来定量检测不同的生物标记物。

[0042] 实施例2

[0043] 与实施例1相同,区别在于连接荧光标记抗体加载区和捕获抗体加载区的通道为单通道,制作方法和实施例1相同,最终检测效果和实施例1相同。

[0044] 实施例3

[0045] 与实施例1相同,区别在于连接荧光标记抗体加载区和捕获抗体加载区的通道为三个并联的通道,制作方法和实施例1相同,最终检测效果和实施例1相同。

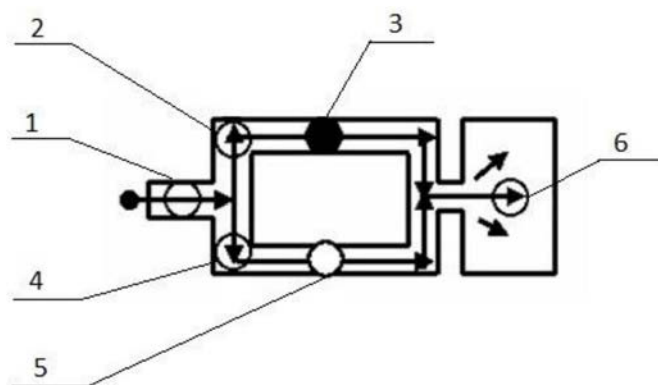


图1

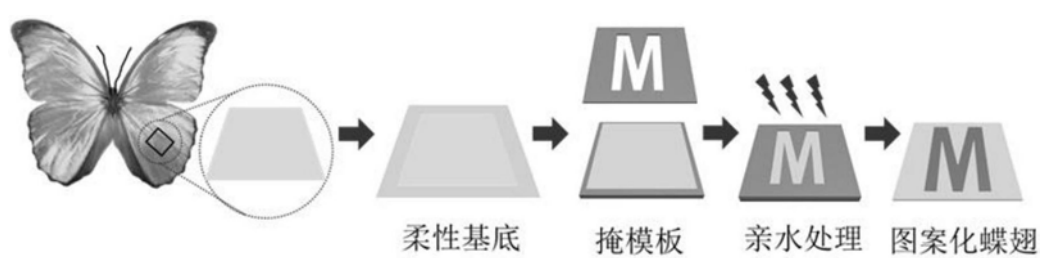


图2

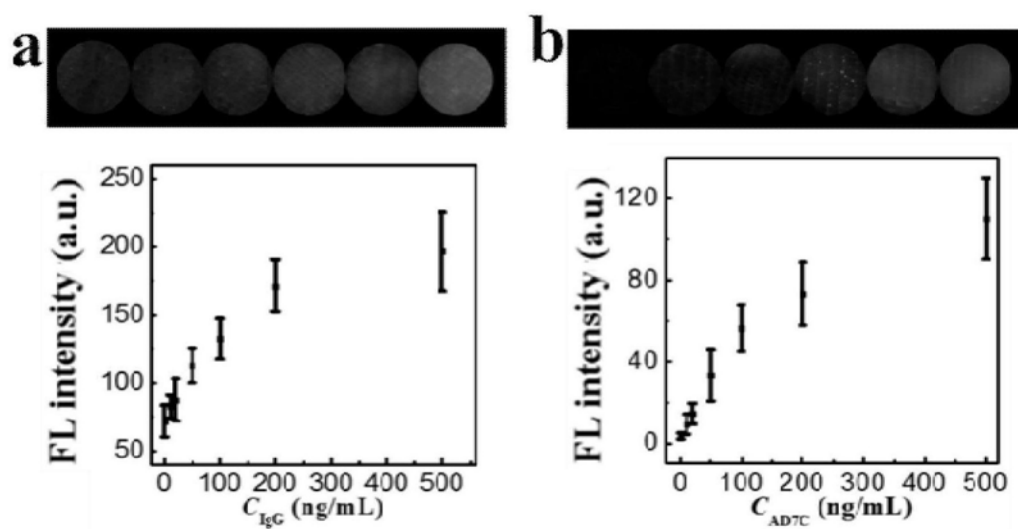


图3

专利名称(译)	一种基于大蓝闪蝶的微流体芯片及其制作方法		
公开(公告)号	CN108169194A	公开(公告)日	2018-06-15
申请号	CN2017111334519.3	申请日	2017-12-13
[标]申请(专利权)人(译)	东南大学		
申请(专利权)人(译)	东南大学		
当前申请(专利权)人(译)	东南大学		
[标]发明人	顾忠泽 何珍珠 高兵兵 阿杜		
发明人	顾忠泽 何珍珠 高兵兵 阿杜		
IPC分类号	G01N21/64 G01N33/533 B01L3/00		
CPC分类号	B01L3/5027 B01L2200/10 B01L2300/0861 B01L2300/161 G01N21/6428 G01N21/6486 G01N33/533		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种基于大蓝闪蝶的微流体芯片及其制作方法，所述的微流体芯片以大蓝闪蝶的蝶翅为基底，通过在大蓝闪蝶的蝶翅表面进行局部亲水处理，形成亲水通道而制成，具体包括依次相连通的待测样品加样区、荧光标记抗体加载区、捕获抗体加载区和废液区。本发明提供的微流体芯片结合了生物源的有序结构和自组装光子晶体层来形成异质结构，可以增强标记物的荧光信号，用于提高免疫分析的灵敏度，可同时检测多种生物标记物。本发明提供的制作方法操作简单，原料来源广泛，可同时实现快速多元检测，促进了有序结构在POCT技术中的应用，可以广泛应用于生物分析和临床检测等领域。

