



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110632287 A

(43)申请公布日 2019.12.31

(21)申请号 201910753469.5

(22)申请日 2019.08.15

(71)申请人 成都工业学院

地址 610031 四川省成都市花牌坊街2号

申请人 成都华宏微芯科技有限公司

(72)发明人 韩卫华 黄小娜

(74)专利代理机构 成都睿道专利代理事务所

(普通合伙) 51217

代理人 周自维

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

一种含探针阵列的毛细管及其应用和制备方法

(57)摘要

本发明提供了一种含探针阵列的毛细管及其应用和制备方法,涉及免疫诊断设备技术领域,包括毛细管,毛细管内壁设有检测区,检测区沿毛细管延伸方向间隔敷设有若干生物探针层,相邻两生物探针层间的毛细管内壁敷设有封闭剂层;本发明可以根据需要固定不同种类、数量和浓度的生物探针,固定过程简单方便;可用于多种指标的联合检测;所使用的载体是价格便宜的毛细管,成本极低。



1. 一种含探针阵列的毛细管,其特征在于:包括毛细管,所述毛细管内壁设有检测区,所述检测区沿毛细管延伸方向间隔敷设有若干生物探针层,相邻两所述生物探针层间的毛细管内壁敷设有封闭剂层。

2. 根据权利要求1所述的含探针阵列的毛细管,其特征在于:所述生物探针层和封闭剂层均为封闭的环状。

3. 根据权利要求1所述的含探针阵列的毛细管,其特征在于:所述毛细管内壁的检测区两端也敷设有封闭剂层。

4. 根据权利要求1所述的含探针阵列的毛细管,其特征在于:所述毛细管的材质为玻璃、石英、硅、金属、有机高分子材料或生物高分子材料。

5. 根据权利要求1所述的含探针阵列的毛细管,其特征在于:所述毛细管的内径为0.001mm~10mm。

6. 根据权利要求1所述的含探针阵列的毛细管,其特征在于:所述生物探针层的生物探针为核酸、多肽、蛋白质、抗原、抗体、多糖、配体或受体。

7. 一种微流控芯片,其特征在于:包括外壳和若干如权利要求1至6中任意一项所述的含探针阵列的毛细管,若干所述毛细管封装于所述外壳内,若干根毛细管相互串联或并联。

8. 一种含探针阵列的毛细管的制备方法,其特征在于:设毛细管一端为引入端、另一端为清洗端,制备步骤如下:

1) 生物探针固定:

S1. 从毛细管的引入端引入一段生物探针溶液液柱;

S2. 将毛细管温浴0.5h~1.5h;

S3. 将该段生物探针溶液抽出,从毛细管的清洗端引入缓冲液进行清洗并干燥;

2) 封闭剂固定:

S4. 从毛细管的引入端引入一段封闭剂溶液液柱,此段封闭剂溶液液柱长于上一步骤的生物探针溶液液柱;

S5. 将毛细管温浴0.5h~1.5h;

S6. 将该段封闭剂溶液抽出,从毛细管的清洗端引入缓冲液进行清洗并干燥;

3) 生物探针固定:

S7. 从毛细管的引入端引入一段生物探针溶液液柱,此段生物探针溶液液柱长于上一步骤的封闭剂溶液液柱;

S8. 将毛细管温浴0.5h~1.5h;

S9. 将该段生物探针溶液抽出,从毛细管的清洗端引入缓冲液进行清洗并干燥;

S10. 重复2)和3)的操作,直至制作完成。

9. 根据权利要求8所述的含探针阵列的毛细管的制备方法,其特征在于:还包括步骤S0. 对毛细管内壁进行预处理,使毛细管内壁偶联上能够与生物探针发生链接的活性基团。

一种含探针阵列的毛细管及其应用和制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫诊断设备技术领域,具体而言,涉及一种含探针阵列的毛细管及其应用和制备方法。

背景技术

[0002] 微流控技术指的是使用微管道或者微结构来实现各种反应、分离和检测的技术,具有时间省、试样消耗小,检测性能优异等特点。由于上述的特性,微流控芯片在体外诊断等领域受到广泛关注。传统的微流控芯片需要使用微加工技术在基底上加工出各种微通道和微结构,具有较大的技术难度和加工成本,这对于微流控芯片产品的开发和应用带来了严重的阻碍。

[0003] 和传统的微流控芯片相比,毛细管具有内径小、制作简单、成本低廉等优点,现在已经广泛应用于化学分析、免疫诊断等领域。但在目前的应用中,一根毛细管往往只固定一种探针,无法实现多指标的联合检测。日前有人提出利用可紫外分解的物质来作为中间相以达到在单根毛细管内固定多种不同探针的目的,但该方法中使用的紫外光会造成蛋白质的变性。

发明内容

[0004] 本发明的第一个目的在于提供一种含探针阵列的毛细管,其使用毛细管作为载体,在其内壁上同时固定多种生物探针,用于单一指标检测或多种指标的联合检测。

[0005] 本发明的第二个目的在于提供一种微流控芯片,其采用上述的含探针阵列的毛细管。

[0006] 本发明的第三个目的在于提供一种含探针阵列的毛细管的制备方法,其能快速稳定的制备上述的含探针阵列的毛细管。

[0007] 本发明的实施例是这样实现的:

[0008] 一种含探针阵列的毛细管,包括毛细管,所述毛细管内壁设有检测区,所述检测区沿毛细管延伸方向间隔敷设有若干生物探针层,相邻两所述生物探针层间的毛细管内壁敷设有封闭剂层。

[0009] 进一步的,所述生物探针层和封闭剂层均为封闭的环状。

[0010] 进一步的,所述毛细管内壁的检测区两端也敷设有封闭剂层。

[0011] 进一步的,所述毛细管的材质为玻璃、石英、硅、金属、有机高分子材料或生物高分子材料。

[0012] 进一步的,所述毛细管的内径为0.001mm~10mm。

[0013] 进一步的,所述生物探针层的生物探针为核酸、多肽、蛋白质、抗原、抗体、多糖、配体或受体。

[0014] 一种微流控芯片,包括外壳和若干如上所述的含探针阵列的毛细管,若干所述毛细管封装于所述外壳内,若干根毛细管相互串联或并联。

[0015] 一种含探针阵列的毛细管的制备方法,设毛细管一端为引入端、另一端为清洗端,制备步骤如下:

[0016] 1) 生物探针固定:

[0017] S1. 从毛细管的引入端引入一段生物探针溶液液柱;

[0018] S2. 将毛细管温浴0.5h~1.5h;

[0019] S3. 将该段生物探针溶液抽出,从毛细管的清洗端引入缓冲液进行清洗并干燥,形成生物探针层;

[0020] 2) 封闭剂固定:

[0021] S4. 从毛细管的引入端引入一段封闭剂溶液液柱,此段封闭剂溶液液柱长于上一步骤的生物探针溶液液柱;

[0022] S5. 将毛细管温浴0.5h~1.5h;

[0023] S6. 将该段封闭剂溶液抽出,从毛细管的清洗端引入缓冲液进行清洗并干燥,形成封闭剂层;

[0024] 3) 生物探针固定:

[0025] S7. 从毛细管的引入端引入一段生物探针溶液液柱,此段生物探针溶液液柱长于上一步骤的封闭剂溶液液柱;

[0026] S8. 将毛细管温浴0.5h~1.5h;

[0027] S9. 将该段生物探针溶液抽出,从毛细管的清洗端引入缓冲液进行清洗并干燥,形成生物探针层;

[0028] S10. 重复2)和3)的操作,直至制作完成。

[0029] 进一步的,还包括步骤S0.对毛细管内壁进行预处理,使毛细管内壁偶联上能够与生物探针发生链接的活性基团。

[0030] 本发明的有益效果是:

[0031] 本发明可以根据需要固定不同种类、数量和浓度的生物探针,固定过程简单方便;可用于多种指标的联合检测;所使用的载体是价格便宜的毛细管,成本极低。

[0032] 采用含探针阵列的毛细管制成的微流控芯片,相比于传统的微流控芯片,无需使用微加工方法加工微通道和微结构,也不需要进行芯片的键合,加工成本和难度大大降低。

[0033] 采用本发明的方法制备含探针阵列的毛细管,生物探针固定的自由度大、方法简单、材料要求低、成本低廉且易于操作,且能有效的避免各生物探针间的交叉污染。

附图说明

[0034] 为了更清楚地说明本发明实施例的技术方案,下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍,应当理解,以下附图仅示出了本发明的某些实施例,因此不应被看作是对范围的限定,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他相关的附图。

[0035] 图1为本发明实施例1提供的生物探针层和封闭剂层的分布示意图;

[0036] 图2为本发明实施例1提供的含探针阵列的毛细管的局部剖视图;

[0037] 图标:1-毛细管,2-生物探针层,3-封闭剂层。

具体实施方式

[0038] 为使本发明实施例的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。通常在此处附图中描述和示出的本发明实施例的组件可以以各种不同的配置来布置和设计。

[0039] 因此,以下对在附图中提供的本发明的实施例的详细描述并非旨在限制要求保护的本发明的范围,而是仅仅表示本发明的选定实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0040] 应注意到:相似的标号和字母在下面的附图中表示类似项,因此,一旦某一项在一个附图中被定义,则在随后的附图中不需要对其进行进一步定义和解释。

[0041] 在本发明的描述中,需要说明的是,术语“中心”、“上”、“下”、“左”、“右”、“竖直”、“水平”、“内”、“外”等指示的方位或位置关系为基于附图所示的方位或位置关系,或者是该发明产品使用时惯常摆放的方位或位置关系,仅是为了便于描述本发明和简化描述,而不是指示或暗示所指的装置或元件必须具有特定的方位、以特定的方位构造和操作,因此不能理解为对本发明的限制。

[0042] 实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市售购买获得的常规产品。

[0043] 下面对本发明实施例提供的一种含探针阵列的毛细管及其制备方法进行具体说明。

[0044] 如图1和图2所示,一种含探针阵列的毛细管,包括毛细管1,毛细管1内壁设有检测区,检测区沿毛细管1延伸方向间隔敷设有若干生物探针层2,相邻两生物探针层2间的毛细管1内壁敷设有封闭剂层3,生物探针层2和封闭剂层3均为封闭的环状且沿毛细管1内壁周向设置。

[0045] 毛细管1的内径在0.001mm~10mm之间,而毛细管1的长度是无限定的,根据实际需要来选择毛细管1的长度,通常毛细管1的长度在0.01mm~10000mm之间,需要说明的是,毛细管1的材质为玻璃、石英、硅、金属、有机高分子材料(如塑料等)或生物高分子材料,在本实施例中,毛细管1为直毛细管,在其他的实施方式中,毛细管1根据实际需要可以为弯曲的毛细管。

[0046] 为了增加含探针阵列的毛细管的储存时间和便于在运输过程中降低损毁受污染的风险;毛细管1内壁的检测区两端敷设有封闭剂层3。

[0047] 根据应用场景的需要,生物探针层2的生物探针为核酸、多肽、蛋白质、抗原、抗体、多糖、配体或受体;封闭剂层3的封闭剂主要为惰性蛋白、高聚物和糖类;常用的惰性蛋白有:酪蛋白、血清白蛋白、鸡卵白蛋白、动物血清、明胶、脱脂奶粉、多肽和氨基酸等;常用的高聚物有PEG4000、PEG20000、PVP和PVA等;常用的糖类为蔗糖、葡萄糖、海藻糖及各类低聚糖等。

[0048] 一种含探针阵列的毛细管的制备方法,设毛细管1一端为引入端、另一端为清洗端,制备步骤如下:

[0049] 1) 生物探针固定:

- [0050] S1.从毛细管1的引入端引入一段生物探针溶液液柱;
- [0051] S2.将毛细管1温浴0.5h~1.5h;
- [0052] S3.将该段生物探针溶液抽出,从毛细管1的清洗端引入缓冲液进行清洗并干燥,形成生物探针层;
- [0053] 2) 封闭剂固定:
- [0054] S4.从毛细管1的引入端引入一段封闭剂溶液液柱,此段封闭剂溶液液柱长于上一步骤的生物探针溶液液柱;
- [0055] S5.将毛细管1温浴0.5h~1.5h;
- [0056] S6.将该段封闭剂溶液抽出,从毛细管1的清洗端引入缓冲液进行清洗并干燥,形成封闭剂层;
- [0057] 3) 生物探针固定:
- [0058] S7.从毛细管1的引入端引入一段生物探针溶液液柱,此段生物探针溶液液柱长于上一步骤的封闭剂溶液液柱;
- [0059] S8.将毛细管1温浴0.5h~1.5h;
- [0060] S9.将该段生物探针溶液抽出,从毛细管1的清洗端引入缓冲液进行清洗并干燥,形成生物探针层;
- [0061] S10.重复2)和3)的操作,直至制作完成。
- [0062] 其中毛细管1温浴的温浴温度为4℃~45℃,需要说明的是,根据所采用的具体的方法、具体的生物探针类型来决定的,例如采用化学发光包被在磁珠上一般温度在25℃到45℃之间,而Elisa板通常温度在4℃-37℃;缓冲液的可以为磷酸缓冲液、碳酸缓冲液、Tris、Hepes或Mes等。
- [0063] 在以上操作开始前还包括步骤0) 封闭剂固定:从毛细管1的引入端引入一段封闭剂溶液液柱,此段封闭剂溶液液柱短于1)步骤的生物探针溶液液柱;将毛细管1温浴0.5h~1.5h;将该段封闭剂溶液抽出,从毛细管1的清洗端引入缓冲液进行清洗并干燥;
- [0064] 在以上操作结束后还包括步骤n) 封闭剂固定:从毛细管1的引入端引入一段封闭剂溶液液柱,此段封闭剂溶液液柱长于上述最后一步骤的生物探针溶液液柱;将毛细管1温浴0.5h~1.5h;将该段封闭剂溶液抽出,从毛细管1的清洗端引入缓冲液进行清洗并干燥;
- [0065] 在一些实施例中,在步骤S1之前还包括步骤S0.对毛细管1内壁进行预处理,使毛细管1内壁偶联上能够与生物探针发生链接的活性基团,活性基团为羟基、巯基、羧基、醛基和氨基等;由于一些生物探针自身具有或者经修饰而偶联上的羟基、巯基、羧基、醛基和氨基等活性基团,在生物探针溶液与毛细管1内壁接触时,会与毛细管1内壁上活性基团发生化学作用而链接在一起,从而使生物探针固定于毛细管1内壁。
- [0066] 实施例1
- [0067] 本实施例所用毛细管1为玻璃毛细管,毛细管1内径1mm,长度10cm;
- [0068] 对毛细管1进行清洁处理,包括酸洗和碱洗,得到洁净的毛细管1;
- [0069] 准备三种肿瘤标志物(CEA、NSE和CA125)对应的一抗,配置溶液待用;
- [0070] 配制5%的牛血清白蛋白溶液待用;
- [0071] 从毛细管1的引入端引入牛血清白蛋白溶液,长度为1cm,置于37℃温浴1h,后使用缓冲液进行清洗并干燥;

[0072] 将CEA的一抗溶液从毛细管1的引入端引入,长度为2cm,置于37℃温浴1h,后使用缓冲液进行清洗并干燥;

[0073] 从毛细管1的引入端引入牛血清白蛋白溶液,长度为3cm,置于37℃温浴1h,后使用缓冲液进行清洗并干燥;

[0074] 将NSE的一抗溶液从毛细管1的引入端引入,长度为4cm,置于37℃温浴1h,后使用缓冲液进行清洗并干燥;

[0075] 从毛细管1的引入端引入牛血清白蛋白溶液,长度为5cm,置于37℃温浴1h,后使用缓冲液进行清洗并干燥;

[0076] 将CA125的一抗溶液从毛细管1的a端引入,长度为6cm,置于37℃温浴1h,后使用缓冲液进行清洗并干燥;

[0077] 从毛细管1的一端(a端)引入牛血清白蛋白溶液,长度为7cm,置于37℃温浴1h,后使用缓冲液进行清洗并干燥。

[0078] 实施例2

[0079] 本实施例包括实施例1的所有内容,不同的是,本实施例在引入生物探针和封闭剂前对毛细管1内壁进行预处理,具体操作如下:对毛细管1内壁进行预处理,使毛细管1内壁偶联上能够与生物探针发生链接的活性基团,预处理步骤如下:

[0080] 将毛细管浸泡于10%NaOH溶液中,置于100℃反应10min,去离子水清洗后,吹干;

[0081] 将上步中吹干的毛细管浸泡于食人鱼溶液中,置于80℃反应1h,去离子水清洗后,吹干;

[0082] 将上步中吹干的毛细管浸泡于体积比为95:3:2(乙醇:水:APTES)混合溶液中,室温避光反应2h,分别使用乙醇和去离子水清洗,吹干,放入120℃烘箱处理1h;

[0083] 将上步中吹干的毛细管浸泡于戊二醛混合液中室温避光反应一夜,用丙酮和去离子水清洗后,吹干。

[0084] 当然以上所列举的方式并不用以限定本发明,使毛细管1内壁偶联上活性基团的方式可以采用任意本领域技术人员所公知的方法,具体方法根据实际使用时需要的活性基团来进行选择。

[0085] 实施例3

[0086] 本实施例提供一种微流控芯片,包括外壳和若干如实施例1或实施例2制作的含探针阵列的毛细管1,若干毛细管1封装于外壳内,若干根毛细管1相互串联或并联。

[0087] 实施例4

[0088] 取含实施例1和实施例2提到的三种肿瘤标志物的标准溶液或人血清100μl;

[0089] 将标准溶液或血清引入到实施例3提到的微流控芯片的微通道中,置于37℃温育1h,取出后清洗并干燥;

[0090] 配制荧光标记的二抗混合溶液,引入并充满微通道,置于37℃温育1h,取出后清洗并干燥。

[0091] 使用Typhoon&Storm系列多功能激光扫描成像系统进行荧光检测。

[0092] 以上仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明,对于本领域的技术人员来说,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、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

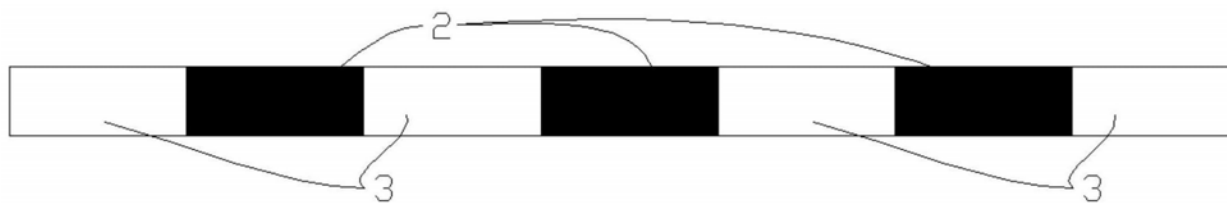


图1

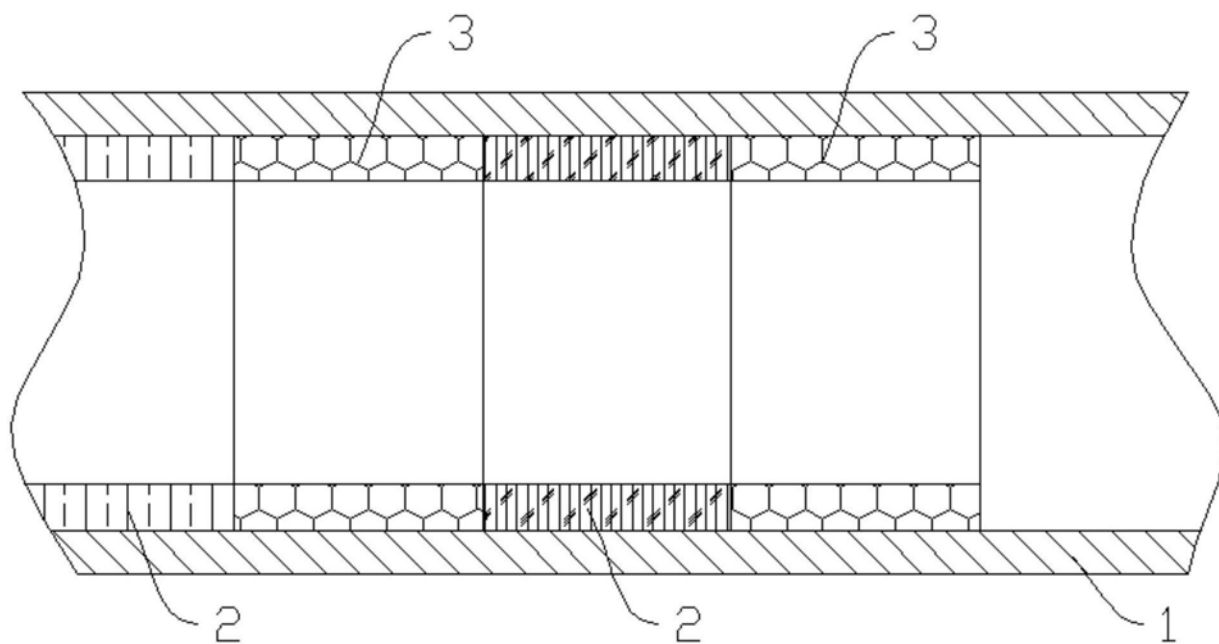


图2

专利名称(译)	一种含探针阵列的毛细管及其应用和制备方法		
公开(公告)号	CN110632287A	公开(公告)日	2019-12-31
申请号	CN201910753469.5	申请日	2019-08-15
[标]申请(专利权)人(译)	成都工业学院		
申请(专利权)人(译)	成都工业学院		
当前申请(专利权)人(译)	成都工业学院		
[标]发明人	韩卫华 黄小娜		
发明人	韩卫华 黄小娜		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/5302 G01N33/68 G01N2333/765 G01N2333/77		
代理人(译)	周自维		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种含探针阵列的毛细管及其应用和制备方法，涉及免疫诊断设备技术领域，包括毛细管，毛细管内壁设有检测区，检测区沿毛细管延伸方向间隔敷设有若干生物探针层，相邻两生物探针层间的毛细管内壁敷设有封闭剂层；本发明可以根据需要固定不同种类、数量和浓度的生物探针，固定过程简单方便；可用于多种指标的联合检测；所使用的载体是价格便宜的毛细管，成本极低。

