



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112986553 A

(43)申请公布日 2021.06.18

(21)申请号 201911289526.5

(22)申请日 2019.12.14

(71)申请人 南京岚煜生物科技有限公司

地址 211122 江苏省南京市江宁区乾德路2号

(72)发明人 许行尚 杰弗瑞·陈

(74)专利代理机构 南京正联知识产权代理有限公司 32243

代理人 顾伯兴

(51)Int.Cl.

G01N 33/531(2006.01)

G01N 27/327(2006.01)

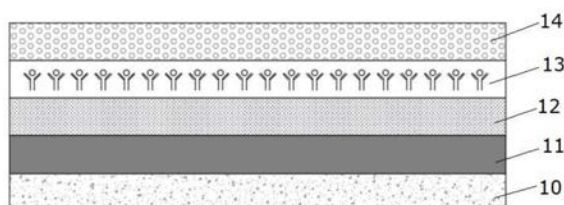
权利要求书2页 说明书12页 附图5页

(54)发明名称

一种免疫电极的制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种免疫电极的制备方法,其中免疫电极包括基层、金层、导电聚合物层和抗体层,所述基层、金层、导电聚合物层和抗体层从下至上依次贴合。该免疫电极的制备方法,具体包括以下步骤:(1)制备导电聚合物层:在镀金基层上制备聚吡咯层,获得聚吡咯/镀金基层;(2)制备免疫电极:在所述聚吡咯层上制备抗体层,获得抗体/聚吡咯/镀金基层;(3)形成免疫电极体系:将裸镀金基层与抗体/聚吡咯/镀金基层的外侧进行固定,得到免疫电极体系。将聚吡咯材料用于固定生物识别元件抗体,将其固载在免疫电极上,由于聚吡咯具有卓越的导电能力,能够加速电极表面电子转移,提高免疫电极的灵敏度。



1. 一种免疫电极的制备方法,其特征在于,具体包括以下步骤:

(1) 制备导电聚合物层:在镀金基层上制备导电聚合物层,获得导电聚合物/镀金基层;

(2) 制备免疫电极:在所述导电聚合物层上制备抗体层,获得抗体/导电聚合物/镀金基层;

(3) 表面多孔修饰:对抗体/导电聚合物/镀金基层的抗体层表面进行多孔修饰,

(4) 形成免疫电极体系:将裸镀金基层与多孔保护层/抗体/导电聚合物/镀金基层的外侧进行固定,得到免疫电极体系。

2. 根据权利要求1所述的免疫电极的制备方法,其特征在于,所述步骤(3)对抗体层表面进行多孔修饰的方法是采用聚苯乙烯或聚苯胺或聚丙烯酸叔丁酯或聚碳酸酯或聚乙烯醇为成膜试剂材料,氯仿或四氢呋喃或苯或CS₂为溶剂,将成膜试剂材料与溶剂混合均匀后滴加至抗体/导电聚合物/镀金基层的表面,使得抗体/导电聚合物/镀金基层的抗体层表面获得多孔保护层。

3. 根据权利要求2所述的免疫电极的制备方法,其特征在于,所述步骤(1)具体包括以下步骤:

S11将镀金后的镀金基层用乙醇和水清洗,并晾干备用;

S12将所述镀金基层置于反应液中在氮气氛围、冰浴条件下进行过夜无光照反应,过夜反应的时间为10~16h,然后用纯水冲洗干净、氮气吹干,在镀金基层表面修饰导电聚合物,获得导电聚合物/镀金基层。

4. 根据权利要求3所述的免疫电极的制备方法,其特征在于,所述步骤(2)具体包括以下步骤:

S21向步骤(1)得到的导电聚合物/镀金基层的表面滴加抗体溶液,37℃静置孵育1~2h,用0.1%的吐温-20溶液冲洗,得到抗体/导电聚合物/镀金基层;

S22在抗体/导电聚合物/镀金基层免疫电极的表面滴加封闭液,于37℃静置0.5~1.5h,封闭非活性位点,待用。

5. 根据权利要求4所述的免疫电极的制备方法,其特征在于,所述步骤(3)中所述成膜试剂材料在所述溶剂中的质量分数为1~20%,将成膜试剂材料与溶剂混合均匀后在25℃和相对湿度为50~90%条件下滴加至抗体/导电聚合物/镀金基层的表面,待所述溶剂挥发完后,则在抗体/导电聚合物/镀金基层的抗体层表面形成了一层多孔保护层。

6. 根据权利要求4所述的免疫电极的制备方法,其特征在于,所述基层采用PET或PP或PE或ABS柔性基层;所述步骤S12中的反应液的组成成分包括氯化铁、导电聚合物和盐酸,其中所述氯化铁的浓度为0.01~0.5mol/L,所述导电聚合物的浓度为0.01~0.5mol/L,所述盐酸的浓度为0.01~0.5mol/L;所述步骤S21向步骤(1)得到的导电聚合物/镀金基层的表面滴加15μL的0.024mg/mL的抗体;所述步骤S22中在多孔保护层/抗体/导电聚合物/镀金基层的表面滴加2%BSA封闭液;所述步骤(3)采用双面胶将镀金基层与抗体/导电聚合物/镀金基层的外侧进行固定使反应槽反应槽长为0.1~0.8cm;宽为0.1~0.6cm。

7. 根据权利要求6所述的免疫电极的制备方法,其特征在于,所述步骤S12中的反应液的组成成分包括氯化铁、导电聚合物、盐酸和十二烷基磺酸钠。

8. 根据权利要求6所述的免疫电极的制备方法,其特征在于,采用该免疫电极的微流体检测芯片从下往上依次包括下层芯片、中层芯片和上层芯片;所述下层芯片、中层芯片与上

层芯片相配合界定出封闭的微流道和多个相互独立的腔室；所述微流道和腔室均贯穿设置在所述中层芯片上；所述上层芯片上设有进样口，所述进样口通过所述微流道与所述腔室相连通；该微流体检测芯片还包括免疫电极体系，所述免疫电极体系包括标准电极和工作电极，所述标准电极包括镀金基层，所述工作电极包括镀金基层、导电聚合物层和抗体层，所述镀金基层、导电聚合物层和抗体层从下至上依次贴合。

9. 根据权利要求8所述的免疫电极的制备方法，其特征在于，所述腔室包括反应腔和废液腔，所述反应腔与所述废液腔均设置在所述中层芯片上，所述微流道包括流道一，所述反应腔与所述废液腔之间的所述流道一上设有截制阀位点二，所述免疫电极分为设置在所述上层芯片的背面的上层免疫电极和设置在所述下层芯片的正面的下层免疫电极；所述上层免疫电极和所述下层免疫电极之间有间隙；所述上层免疫电极在所述上层芯片的背面和所述下层免疫电极在所述下层芯片的正面均与所述中层芯片的所述反应腔所在的位置相对应地设置，所述上层免疫电极和所述下层免疫电极通过所述反应腔相连通，所述上层免疫电极为标准电极，所述下层免疫电极为工作电极。

10. 根据权利要求9所述的免疫电极的制备方法，其特征在于，所述反应腔包括反应腔一和反应腔二，所述微流道还包括流道二，所述反应腔一与所述反应腔二之间的所述流道二设有截制阀位点一，所述上层免疫电极在所述上层芯片的背面和所述下层免疫电极在所述下层芯片的正面均与所述中层芯片的所述反应腔二所在的位置相对应地设置，所述上层免疫电极和所述下层免疫电极通过所述反应腔二相连通。

11. 根据权利要求10所述的免疫电极的制备方法，其特征在于，所述腔室还包括清洗液腔，所述微流道还包括分流道，所述流道二在所述反应腔二与所述截制阀位点一之间向与所述流道二外侧方向向外延伸设有所述分流道，所述分流道连接有所述清洗液腔。

12. 根据权利要求10所述的免疫电极的制备方法，其特征在于，所述上层芯片上设有上层连通孔，所述下层芯片上设有下层连通孔，所述上层免疫电极通过所述下层连通孔与配套的检测仪器接触连接；所述下层免疫电极通过所述上层连通孔与配套的所述检测仪器接触连接。

13. 根据权利要求11所述的免疫电极的制备方法，其特征在于，所述腔室还包括有缓冲液腔，所述分流道沿与所述分流道外侧的方向向外延伸设有分流道一，所述分流道一连接有所述缓冲液腔。

一种免疫电极的制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于电化学免疫检测领域,尤其涉及一种免疫电极的制备方法。

背景技术

[0002] 电化学免疫传感器是基于抗原和抗体特异性结合的一种分析方法;具有检测迅速、检出限低、灵敏度高、操作简单和制备成本低的优点。

[0003] 近年来,电化学免疫传感器备受关注,被广泛应用于肿瘤标志物的检测中。免疫传感器用于连续目标物检测时,生物分子探针的再生性是制约该类型传感器实际应用时的一大问题。因此研制可大批量生产而且低成本的免疫传感器,用作可抛弃型传感器,将会克服免疫传感器多次测量时需对生物分子探针进行再生处理而造成的操作繁琐、费时耗力等弊端。面对越来越多的特殊检测环境,开发基于新材料、新工艺的新型传感器技术已成为发展趋势。基于柔性基质材料的柔性传感器,由于具有柔韧性、延展性、可自由弯曲甚至折叠、便于携带、可穿戴等特点,而且结构形式灵活多样,可根据测量条件的要求任意放置,适用于很多特殊应用场景和环境。常见的柔性材料包括聚乙烯醇(PVA)、聚酯(PET)、聚酰亚胺(PI)、聚萘二甲酯乙二醇酯(PEN)、纸片、纺织材料等。如中国科学院电子所夏善红课题组研制了纸基材料的柔性免疫传感器,通过在纸基上自组装单层膜并引入纳米金颗粒的方法,实现了糖化血红蛋白检测免疫传感器;浙江理工大学徐盼举在柔性基底(ITO/PET)上制备了基于氧化石墨烯(GO)/还原态氧化石墨烯(rGO)微阵列的传感器,用于提供细胞生长基底以及过氧化氢的灵敏检测。

[0004] 中国专利文献(申请号为:201810668237.5)公开了一种基于柔性电极的免疫传感器及其应用,属于生物传感器技术领域。所述的免疫传感器,包括柔性电极,所述柔性电极包括柔性电极基底和固定在柔性电极基底表面的生物分子探针,所述柔性电极基底的组成材料包括聚乳酸和石墨烯。

[0005] 其中电极作为电化学传感器的核心,可应用纳米材料或者复合材料等来制备修饰电极,使得电极具有更多的功能化,从而适用于多种多样的实验需求和检测需求;这些材料主要包括了:石墨烯、石墨烯-金纳米颗粒、石墨烯-磁性金纳米球复合材料、石墨烯-单链DNA、碳纳米管-离子液体等等,基于这些材料建的电化学免疫传感器具有灵敏度高、快速高效等优先,但作为电极修饰材料的稳定性有待提升或抗体-抗原反应特异性有待增强。

[0006] 中国专利文献(申请号为:200910153183.X)公开了一种纳米金免疫电极的制备方法,包括步骤:将圆盘金电极用氧化铝粉末抛光、用浓硫酸、过氧化氢混合液浸泡、超声波清洗、在0.5M硫酸溶液中用循环伏安法抛光、以氯金酸电解液为底液,用线性循环伏安扫描法在圆盘金电极上沉积纳米金颗粒、连接特异性抗体、封闭。

[0007] 因此,为了使得电极具有更多的功能化,有必要提供一种免疫电极,构建免疫电极体系,实现电化学检测方法,且检测灵敏度和稳定性高。

发明内容

[0008] 本发明要解决的技术问题是提供一种免疫电极,构建免疫电极体系,实现电化学检测方法,且检测灵敏度和稳定性高。

[0009] 为解决上述技术问题,本发明采用的技术方案是,该微流体检测芯片还包括免疫电极体系,所述免疫电极体系包括标准电极和工作电极,所述标准电极包括镀金基层,所述工作电极包括镀金基层、导电聚合物层和抗体层,所述镀金基层、导电聚合物层和抗体层从下至上依次贴合。

[0010] 本发明进一步改进在于,该免疫电极还包括多孔保护层,所述多孔保护层制备在所述抗体层的表面。

[0011] 作为本发明的优选技术方案,所述导电聚合物为聚吡咯或聚噻吩或聚苯胺。

[0012] 采用上述技术方案,在免疫电极中引入导电聚合物层,利用导电聚合物层固定生物识别元件抗体,并将抗体固载在电极表面,构建免疫电极,本发明的免疫电极所采用的是三电极体系,镀金基层是参比电极与对电极的复合电极,抗体/导电聚合物/镀金基层是检测电极;再基于抗原-抗体的特异性反应制备的PS微球标记的抗体与免疫电极、样本抗原进行免疫反应,得出样本指标的检测结果,从而通过检测反应前后免疫电极体系内的介电常数变化实现检测目的;同时采用柔性基层在其表面镀金,可以使基层具有导电性,金纳米或者非金纳米层具有良好的导电性,且较强的生物亲和性和一定程度上能保持蛋白活性,从而增加免疫电极的导电性和稳定性。上层是裸镀金层,中层是双面胶层,下层是抗体/导电聚合物/镀金基层,中层的胶层镂空出流道和反应腔室;其中镀金基层是购买的成品,金是通过真空磁溅射、电镀、丝网印刷等方式与基层连接的。

[0013] 本发明还要解决的技术问题是提供一种免疫电极的制备方法,构建免疫电极体系,实现电化学检测方法。

[0014] 为解决上述技术问题,本发明采用的技术方案是,该免疫电极的制备方法,具体包括以下步骤:

[0015] (1) 制备导电聚合物层:在镀金基层上制备导电聚合物层,获得导电聚合物/镀金基层;

[0016] (2) 制备免疫电极:在所述导电聚合物层上制备抗体层,获得抗体/导电聚合物/镀金基层;

[0017] (3) 表面多孔修饰:对抗体/导电聚合物/镀金基层的抗体层表面进行多孔修饰,采用聚苯乙烯或聚苯胺或聚丙烯酸叔丁酯或聚碳酸酯或聚乙烯醇为成膜试剂材料,氯仿或四氢呋喃或苯或CS₂为溶剂,将成膜试剂材料与溶剂混合均匀后滴加至抗体/导电聚合物/镀金基层的表面,使得抗体/导电聚合物/镀金基层的抗体层表面获得多孔保护层;

[0018] (4) 形成免疫电极体系:将裸镀金基层与多孔保护层/抗体/导电聚合物/镀金基层的外侧进行固定,得到免疫电极体系。

[0019] 采用上述技术方案,选用在镀金基层上制备导电聚合物层,从而在免疫电极中引入导电聚合物层,导电聚合物材料主要用于固定生物识别元件抗体,将抗体固载在免疫电极的表面,形成免疫电极,从而通过检测反应前后免疫电极体系内的介电常数变化实现检测目的。

[0020] 本发明进一步改进在于,该免疫电极的制备方法还包括步骤(5)制作免疫电极工

作曲线,将所述免疫电极体系连接在电化学工作站上,获得免疫电极工作曲线,便于实现检测目的。将制备好的免疫电极与电化学工作站相连接,通过检测反应前后免疫电极体系内的介电常数变化实现检测目的。

[0021] 作为本发明的优选技术方案,所述步骤(1)具体包括以下步骤:

[0022] S11将镀金基层用乙醇和水清洗,并晾干备用;

[0023] S12将所述镀金基层置于反应液中在氮气氛围、冰浴条件下进行过夜无光照反应,过夜反应的时间为10~16h,然后用纯水冲洗干净、氮气吹干,在镀金基层表面修饰导电聚合物,获得导电聚合物/镀金基层。

[0024] 作为本发明的优选技术方案,所述步骤(2)具体包括以下步骤:

[0025] S21向步骤(1)得到的导电聚合物/镀金基层的表面滴加抗体溶液,37℃静置孵育1~2h,用0.1%的吐温-20溶液冲洗,得到抗体/导电聚合物/镀金基层;

[0026] S22在抗体/导电聚合物/镀金基层免疫电极的表面滴加封闭液,于37℃静置0.5~1.5h,封闭非活性位点,待用。

[0027] 作为本发明的优选技术方案,所述步骤(3)中所述成膜试剂材料在所述溶剂中的质量分数为1~20%,将成膜试剂材料与溶剂混合均匀后在25℃和相对湿度为50~90%条件下滴加至抗体/导电聚合物/镀金基层的表面,待所述溶剂挥发完后,则在抗体/导电聚合物/镀金基层的抗体层表面形成了一层多孔保护层。

[0028] 作为本发明的优选技术方案,所述步骤(5)具体包括以下步骤:

[0029] S51将所述免疫电极体系连接在电化学工作站上;

[0030] S52将缓冲液作为底液采用循环伏安法测定免疫电极的背景CV曲线面积;

[0031] S53将不同浓度的D-Dimer抗原与标记PS微球的抗体溶液进行混合后,注入免疫电极体系内使其与包被的抗体结合,形成镀金基层-导电聚合物-抗体-多孔保护层-抗原-抗体微球,反应完成后用缓冲液冲洗去掉未结合的蛋白样品,再将所述缓冲液为底液,采用循环伏安法测定不同抗原浓度下免疫电极的CV曲线面积,绘制免疫电极工作曲线,便于实现检测目的。

[0032] 本发明是针对检测这个D-Dimer抗原指标来举例说明的,但同时也适用于其他凝血指标和其他疾病指标,包括心肌损伤标志物,性激素,甲状腺功能和感染因子检测等。

[0033] 作为本发明的优选技术方案,所述步骤S53中所使用的标记PS微球的抗体溶液的制备步骤为:

[0034] S531包被:将微球与D-Dimer抗体以1/3的比例溶解于Mes缓冲液中,后置于37℃振荡器中震荡20~40min进行包被;

[0035] S532活化:取10~20μL EDC溶液加入步骤S531包被后的溶液中,置于37℃振荡器中震荡0.5~1.5h进行活化;

[0036] S533封闭:取50~100μL BSA溶液加入步骤S532活化后的溶液中,置于37℃振荡器中震荡1~3h进行封闭;

[0037] S534清洗保存:将所述步骤S533封闭后的溶液进行离心清洗,后置于胶乳保存液中放于0~4℃冰箱中备用。

[0038] 本发明中的PS微球标记的抗体不是固定在反应腔的导电聚合物层上的;是固定在反应腔(反应腔2)前端的腔体中(反应腔1),反应时样本先与PS微球标记的抗体反应,再向

前运动到反应腔1与导电聚合物层上的固定抗体反应。

[0039] 作为本发明的优选技术方案,所述基层采用PET或PP或PE或ABS柔性基层;所述基层采用PET柔性基层;所述步骤S12中的反应液的组成成分包括氯化铁、导电聚合物和盐酸,其中所述氯化铁的浓度为0.01~0.5mol/L,所述导电聚合物的浓度为0.01~0.5mol/L,所述盐酸的浓度为0.01~0.5mol/L;所述步骤S21向步骤(1)得到的导电聚合物/镀金基层的表面滴加15 μ L的0.024mg/mL的抗体;所述步骤S22中在抗体/导电聚合物/镀金基层的表面滴加2%BSA封闭液;所述步骤(3)采用双面胶将裸镀金基层与抗体/导电聚合物/镀金基层的外侧进行固定使反应槽反应槽长为0.1-0.8cm;宽为0.1-0.6cm。

[0040] 作为本发明的优选技术方案,所述步骤S12中的反应液的组成成分包括氯化铁、导电聚合物、盐酸和十二烷基磺酸钠,所述步骤S52和S53中的缓冲液为PBS缓冲液,且所述PBS缓冲液中含有0.1~0.15mol/L NaCl作支持电解质。反应液中添加十二烷基磺酸钠可以改变亲和力,调节导电聚合物的疏水性能提高对抗体的固定能力。

[0041] 本发明还要解决的技术问题是提供一种适用于免疫电极的微流体检测芯片,能够实现电化学检测,检测灵敏度和稳定性高且电极之间的干扰小,检测结果准确率高。

[0042] 为解决上述技术问题,本发明采用的技术方案是,该采用免疫电极的微流体检测芯片,从下往上依次包括下层芯片、中层芯片和上层芯片;所述下层芯片、中层芯片与上层芯片相配合界定出封闭的微流道和多个相互独立的腔室;所述微流道和腔室均贯穿设置在所述中层芯片上;所述上层芯片上设有进样口,所述进样口通过所述微流道与所述腔室相连通;该微流体检测芯片还包括免疫电极,所述免疫电极包括标准电极和工作电极,所述标准电极包括镀金基层,所述工作电极包括镀金基层、导电聚合物层和抗体层,所述镀金基层、导电聚合物层和抗体层从下至上依次贴合。采用上述技术方案,微流体检测芯片检测具有精度高,速度快,检测成本较低的特点,适合进行精准医疗环节进行的检测;采用下层芯片、中层芯片和上层芯片的结构,设计合理,结构简单紧凑,同时能缩小该采用免疫电极的微流体检测芯片的大小,使芯片本体更小巧便携,且降低生产成本;腔室内预先包埋有检测试剂,芯片结构简单,操作方便,提高了检测效率,并大大减少了资源的消耗;实现快速检测,降低了成本;其中电极采用免疫电极,在免疫电极中引入导电聚合物层,优选聚吡咯,利用导电聚合物层固定生物识别元件抗体,并将抗体固载在电极表面,构建免疫电极,本发明的免疫电极所采用的是三电极体系,镀金基层是参比电极与对电极的复合电极,抗体/聚吡咯/镀金基层是检测电极;再基于抗原-抗体的特异性反应制备的PS微球标记的抗体与免疫电极、样本抗原进行免疫反应,得出样本指标的检测结果,从而通过检测反应前后免疫电极体系内的介电常数变化实现检测目的;其中聚吡咯具有卓越的导电能力,能够加速电极表面电子转移,提高免疫电极的灵敏度。

[0043] 作为本发明的优选技术方案,所述腔室包括反应腔和废液腔,所述反应腔与所述废液腔均设置在所述中层芯片上,所述微流道包括流道一,所述反应腔与所述废液腔之间的所述流道一上设有截制阀位点二,所述免疫电极分为设置在所述上层芯片的背面的上层免疫电极和设置在所述下层芯片的正面的下层免疫电极;所述上层免疫电极和所述下层免疫电极之间有间隙;所述上层免疫电极在所述上层芯片的背面和所述下层免疫电极在所述下层芯片的正面均与所述中层芯片的所述反应腔所在的位置相对应地设置,所述上层免疫电极和所述下层免疫电极通过所述反应腔相连通;所述上层免疫电极为标准电极,所述下

层免疫电极为工作电极。反应腔内预先包埋有检测试剂,当待测血液流入反应腔后,上层免疫电极和下层免疫电极均与反应腔中血液相接触,从而通过血液导电连通。通过设计上层免疫电极和下层免疫电极,将该采用免疫电极的微流体检测芯片的电极分两层设置,可以降低电极间的相互干扰,从而提高检测结果的准确性。

[0044] 作为本发明的优选技术方案,所述反应腔包括反应腔一和反应腔二,所述微流道还包括流道二,所述反应腔一与所述反应腔二之间的所述流道二设有截制阀位点一,所述上层免疫电极在所述上层芯片的背面和所述下层免疫电极在所述下层芯片的正面均与所述中层芯片的所述反应腔二所在的位置相对应地设置,所述上层免疫电极和所述下层免疫电极通过所述反应腔二相连通。设置截制阀位点一可以保证反应腔一进行反应时,血液样本及反应后的试剂只在反应腔一中,不会流入其他腔室中,能够使反应腔一单独进行反应。

[0045] 作为本发明的优选技术方案,所述腔室还包括清洗液腔,所述微流道还包括分流道,所述流道二在所述反应腔二与所述截制阀位点一之间向与所述流道二外侧方向向外延伸设有所述分流道,所述分流道连接有所述清洗液腔。设置截制阀位点二可以保证反应腔二进行反应时,血液样本及反应后的试剂只在反应腔二中,不会留入废液腔中,同时保证反应时,废液腔中的废液不会污染反应腔二,避免干扰反应腔二的反应。清洗液采用液囊设置在清洗液腔中,使用时,配套检测仪器的动力杆装置按压液囊,液囊前端与分流道连通处受挤压破裂,从而液囊内部液体流出。

[0046] 作为本发明的优选技术方案,所述反应腔二通过所述流道一与所述废液腔相连通。

[0047] 作为本发明的优选技术方案,所述上层芯片上设有上层连通孔,所述下层芯片上设有下层连通孔,所述上层免疫电极通过所述下层连通孔与配套的检测仪器接触连接;所述下层免疫电极通过所述上层连通孔与配套的所述检测仪器接触连接。这样的设置使得免疫电极无需另外设置与配套仪器的连接端即可通过上层连通孔和下层连通孔与配套仪器相连接。

[0048] 作为本发明的优选技术方案,所述中层芯片设有接液口,所述接液口与所述进样口的位置相对应设置,所述微流道还包括流道三,所述反应腔一通过所述流道三与所述接液口相连通。

[0049] 作为本发明的优选技术方案,所述腔室还包括有缓冲液腔,所述分流道沿与所述分流道外侧的方向向外延伸设有分流道一,所述分流道一连接有所述缓冲液腔。缓冲液采用液囊设置在缓冲液腔中,使用时,配套检测仪器的动力杆装置按压液囊,液囊前端与分流道连通处受挤压破裂,从而液囊内部液体流出。

[0050] 作为本发明的优选技术方案,所述上层芯片上还设有至少一个排气孔,所述排气孔设置在所述上层芯片的一端且设置在与所述废液腔相对应的位置处。通过在上层芯片贯穿设置至少一个排气孔,使得待测流体的流动阻力减小,流动更快速,实现快速填充腔室;排气孔的设置有利于样本的流动,方便进样,若没有设置排气孔,则样本不能流进反应腔进行反应,反应腔内预先包埋检测试剂。

[0051] 作为本发明的优选技术方案,所述进样口上设置有进样盖,待加样后盖住所述进样口,使样品流动。

[0052] 作为本发明的优选技术方案,所述镀金基层包括基层和金层;所述工作电极还包

括多孔保护层,所述多孔保护层设置在所述抗体层的表面。其中镀金基层即为镀金基层是购买的成品,金是通过真空磁溅射、电镀、丝网印刷等方式与基层连接的;所述基层为柔性基层,基层是PET、PP、PE、ABS等材料;其中PET具有硬度抗弯折能力强,表面平整可以涂层;采用柔性基层在其表面镀金,可以使基层具有导电性,金纳米或者非金纳米层具有良好的导电性,且较强的生物亲和性和一定程度上能保持蛋白活性,从而增加免疫电极的导电性和稳定性;其中多孔保护层即为对抗体层的表面进行多孔修饰处理。

[0053] 作为本发明的优选技术方案,所述下层芯片、中层芯片与上层芯片通过是通过中层芯片双面胶合的方式粘合成一体。

[0054] 作为本发明的优选技术方案,所述中层芯片为双面胶,所述上层芯片和/或所述下层芯片的材料为PMMA、PP、PE、PET中的任一种,且所述上层芯片和所述下层芯片的表面均具有亲水膜,使样本快速通过所述进样口流动进入微流道,再流入各个腔室。其中中层芯片优选压敏胶带,采用此技术方案,材料易得,且压敏胶带的制作工艺可以精度的控制其厚度,所以采用此技术方案,可以精确的控制微流道的深度和大小,同时也便于控制腔室的深度,使得微流体检测芯片的各个腔室的厚度偏差小,一致性高,提高了检测的准确度;上层芯片和下层芯片的表面均设置亲水膜,可以使样品更快速地通过进样口流入微流道和各个腔室,这样加快流动速度,可以提高检测效率。

[0055] 作为本发明的优选技术方案,所述中层芯片的厚度为0.1~1.0mm;所述下层芯片的表面是平的,所述下层芯片、中层芯片与上层芯片相配合界定出封闭的微流道的深度为0.1~1.0mm,相配合界定出的所述腔室的宽度为1.0~2.0mm。

[0056] 与现有技术相比,本发明具有的有益效果为:本发明的技术方案提出的一种基于聚吡咯材料的电化学免疫电极的构建与应用;将聚吡咯材料用于固定生物识别元件抗体,将其固载在电极上,由于聚吡咯具有卓越的导电能力,能够加速电极表面电子转移,提高免疫电极的灵敏度;从而实现将聚吡咯(导电聚合物)引入到免疫电极的制备当中,制备包含聚吡咯材料的电化学免疫电极体系,该免疫电极体系,操作简单、简化了检测步骤,更利于大量检测;采用该免疫电极体系内的介电常数变化实现检测目的;该采用免疫电极的微流体检测芯片提高了检测结果的准确性;同时通过设计特定结构形式的反应腔室、废液腔、清洗液腔、缓冲液腔,使得在一个微流体检测芯片中完成检测反应,得到反应结果;芯片结构简单,操作方便,提高了检测效率和精度,并大大减少了资源的消耗;实现快速检测,降低了成本。

附图说明

[0057] 图1是本发明采用免疫电极的微流体检测芯片的整体正面的透视结构示意图;

[0058] 图2是本发明采用免疫电极的微流体检测芯片的三层爆炸结构示意图;

[0059] 图3是本发明采用免疫电极的微流体检测芯片的上层芯片的正面结构示意图;

[0060] 图4是本发明采用免疫电极的微流体检测芯片的上层芯片的背面结构示意图;

[0061] 图5是本发明采用免疫电极的微流体检测芯片的中层芯片的正面结构示意图;

[0062] 图6是本发明采用免疫电极的微流体检测芯片的中层芯片的反面结构示意图;

[0063] 图7是本发明采用免疫电极的微流体检测芯片的下层芯片的正面的结构示意图;

[0064] 图8是本发明采用免疫电极的微流体检测芯片的下层芯片的反面的结构示意图;

[0065] 图9为本发明的免疫电极的结构图；

[0066] 其中：1-下层芯片；101-下层连通孔；2-中层芯片；201-中层连通孔；202-接液口；3-上层芯片；301-上层连通孔；4-上层免疫电极；5-下层免疫电极；6-微流道；601-流道一；602-流道二；603-流道三；604-分流道；605-分流道一；7-排气孔；8-进样口；901-反应腔一；902-反应腔二；903-废液腔；904-缓冲液腔；905-清洗液腔；10-基层；11-金层；12-导电聚合物层；13-抗体层；14-多孔保护层。

具体实施方式

[0067] 实施例1：如图9所示，该免疫电极包括基层10、金层11、导电聚合物层12、抗体层13和多孔保护层14，所述基层10、金层11、导电聚合物层12、抗体层13和多孔保护层14从下至上依次贴合，所述基层10为PET柔性基层；所述导电聚合物层12为聚吡咯层。

[0068] 实施例2：实施例1的基于聚吡咯免疫电极的制备方法，其包括以下步骤：(1) 合成聚吡咯层(导电聚合物层)：在镀金后的镀金基层上制备聚吡咯层，获得聚吡咯/镀金基层；

[0069] S11依次用乙醇、超纯水对镀金PET基层进行超声清洗，晾干备用；

[0070] S12将晾干备用的镀金PET基层固定在1000mL烧杯底部，然后向烧杯中加入反应液，所述反应液包括纯水、盐酸、三氯化铁和吡咯；先向烧杯中加入400mL纯水和6.4mL 1mol/L盐酸，搅拌均匀后缓慢加入0.88g三氯化铁，再搅拌均匀后将烧杯置于冰浴条件下，在氮气氛围下缓慢加入400μL吡咯，再在冰浴氮气氛围下进行过夜无光照反应，过夜反应的时间为10~16h；后用纯水反复洗涤，在氮气氛围下进行干燥，可在镀金PET基层表面得到一层黑色的聚吡咯层，获得聚吡咯/镀金基层；

[0071] (2) 制备免疫电极：在所述聚吡咯层上制备抗体层13，获得抗体/聚吡咯/镀金基层；

[0072] S21向步骤(1)得到的聚吡咯/镀金基层的表面滴加15μL 0.024mg/mL的无标记D-Dimer抗体溶液，37℃静置孵育1.5h，用0.1%的吐温-20溶液冲洗，得到抗体/聚吡咯/镀金基层；

[0073] S22在抗体/聚吡咯/镀金基层免疫电极的表面滴加BSA封闭液，于37℃静置1h，封闭非活性位点，得到D-Dimer抗体/聚吡咯/镀金PET免疫电极，待用；

[0074] (3) 表面多孔修饰：对抗体/导电聚合物/镀金基层的抗体层13表面进行多孔修饰，采用聚苯乙烯或聚苯胺或聚丙烯酸叔丁酯或聚碳酸酯或聚乙烯醇为成膜试剂材料，氯仿或四氢呋喃或苯或CS₂为溶剂，将成膜试剂材料与溶剂混合均匀后滴加至抗体/导电聚合物/镀金基层的表面，使得抗体/导电聚合物/镀金基层的抗体层表面获得多孔保护层14；所述步骤(3)中所述成膜试剂材料在所述溶剂中的质量分数为15%，将成膜试剂材料与溶剂混合均匀后在25℃和相对湿度为65~75%条件下滴加至抗体/导电聚合物/镀金基层的表面，待所述溶剂挥发完后，则在抗体/导电聚合物/镀金基层的抗体层13表面形成了一层多孔保护层14；

[0075] (4) 形成免疫电极体系：将镀金基层与多孔保护层14/D-Dimer抗体/聚吡咯/镀金基层的外侧进行固定，反应槽面积为0.56cm*0.3cm，得到免疫电极体系；

[0076] (5) 制作免疫电极工作曲线，将所述免疫电极体系连接在电化学工作站上，获得免疫电极工作曲线，便于实现检测目的；

[0077] S51将所述免疫电极体系连接在电化学工作站上；

[0078] S52将pH 7.6的PBS缓冲液作为底液，采用循环伏安法测定免疫电极的背景CV曲线面积；所述PBS缓冲液中含有0.15mol/L NaCl作支持电解质；

[0079] S53将不同浓度的D-Dimer抗原与标记PS微球的抗体溶液进行混合后，注入免疫电极体系内使其与包被的抗体结合，形成镀金基层-聚吡咯-抗体-多孔保护层-抗原-抗体微球，反应完成后用缓冲液冲洗去掉未结合的蛋白样品，再将所述缓冲液为底液，采用循环伏安法测定不同抗原浓度下免疫电极的CV曲线面积，绘制免疫电极工作曲线，便于实现检测目的。

[0080] 实施例3：与实施例2的不同之处在于，该免疫电极中的导电聚合物层采用的是十二烷基磺酸钠掺杂的聚吡咯；该基于聚吡咯免疫电极的制备方法，其包括以下步骤：

[0081] (1) 制备导电聚合物层：在镀金基层上制备聚吡咯层，获得聚吡咯/镀金基层；

[0082] S11依次用乙醇、超纯水对镀金PET基层进行超声清洗，晾干备用；

[0083] S12将晾干备用的镀金PET基层固定在1000mL烧杯底部，然后向烧杯中加入反应液，所述反应液包括纯水、盐酸、三氯化铁、吡咯和十二烷基磺酸钠(SDS)；先向烧杯中加入400mL纯水和6.4mL 1mol/L盐酸，搅拌均匀后缓慢加入0.88g三氯化铁和0.17g十二烷基磺酸钠(SDS)，再搅拌均匀后将烧杯置于冰浴条件下，在氮气氛围下缓慢加入400μL吡咯，再在冰浴氮气氛围下进行过夜无光照反应，过夜反应的时间为10~16h；后用纯水反复洗涤，在氮气氛围下进行干燥，可在镀金PET表面得到一层SDS掺杂的聚吡咯层，获得掺杂聚吡咯/镀金基层；

[0084] (2) 制备免疫电极：在所述SDS掺杂的聚吡咯层上制备抗体层13，获得抗体/掺杂聚吡咯/镀金基层；

[0085] S21向步骤(1)得到的聚吡咯/镀金基层的表面滴加15μL 0.024mg/mL的无标记D-Dimer抗体溶液，37℃静置孵育1.5h，用0.1%的吐温-20溶液冲洗，得到抗体/SDS掺杂聚吡咯/镀金基层；

[0086] S22在抗体/SDS掺杂聚吡咯/镀金基层免疫电极的表面滴加BSA封闭液，于37℃静置1h，封闭非活性位点，得到D-Dimer抗体/SDS掺杂聚吡咯/镀金PET免疫电极，待用；

[0087] (3) 表面多孔修饰：对抗体/导电聚合物/镀金基层的抗体层13表面进行多孔修饰，采用聚苯乙烯或聚苯胺或聚丙烯酸叔丁酯或聚碳酸酯或聚乙烯醇为成膜试剂材料，氯仿或四氢呋喃或苯或CS₂为溶剂，将成膜试剂材料与溶剂混合均匀后滴加至抗体/导电聚合物/镀金基层的表面，使得抗体/导电聚合物/镀金基层的抗体层表面获得多孔保护层14；所述步骤(3)中所述成膜试剂材料在所述溶剂中的质量分数为15%，将成膜试剂材料与溶剂混合均匀后在25℃和相对湿度为65~75%条件下滴加至抗体/导电聚合物/镀金基层的表面，待所述溶剂挥发完后，则在抗体/导电聚合物/镀金基层的抗体层13表面形成了一层多孔保护层14；

[0088] (4) 形成免疫电极体系：将镀金基层与多孔保护层/D-Dimer抗体/聚吡咯/镀金基层的外侧进行固定，反应槽面积为0.56cm*0.3cm，得到免疫电极体系；

[0089] (5) 制作免疫电极工作曲线，将所述免疫电极体系连接在电化学工作站上，获得免疫电极工作曲线，便于实现检测目的；

[0090] S51将所述免疫电极体系连接在电化学工作站上；

[0091] S52将pH 7.6的PBS缓冲液作为底液,采用循环伏安法测定免疫电极的背景CV曲线面积;所述PBS缓冲液中含有0.15mol/L NaCl作支持电解质;

[0092] S53将不同浓度的D-Dimer抗原与标记PS微球的抗体溶液进行混合后,注入免疫电极体系内使其与包被的抗体结合,形成镀金基层-聚吡咯-抗体-多孔保护层-抗原-抗体微球,反应完成后用缓冲液冲洗去掉未结合的蛋白样品,再将所述缓冲液为底液,采用循环伏安法测定不同抗原浓度下免疫电极的CV曲线面积,绘制免疫电极工作曲线,便于实现检测目的;

[0093] 其中,所述步骤S53中所使用的标记PS微球的抗体溶液的制备步骤为:

[0094] S531包被:将5%P0112微球(型号为P0112,生产厂家为赛默飞)与5.1mg/mL D-Dimer抗体(抗体型号为A8D04M,生产厂家:苏州岚轩生物科技有限公司)以1/3的比例溶解于0.5mL (pH6.0) Mes缓冲液中,后置于37℃振荡器中震荡30min进行包被;

[0095] S532活化:取16μL 10mg/mL EDC溶液加入步骤S531包被后的溶液中,置于37℃振荡器中震荡1h进行活化;

[0096] S533封闭:取87μL 100mg/mL BSA溶液加入步骤S532活化后的溶液中,置于37℃振荡器中震荡2h进行封闭;

[0097] S534清洗保存:将所述步骤S533封闭后的溶液进行离心清洗,后置于胶乳保存液中放于4℃冰箱中备用。

[0098] 实施例4:采用实施例3的免疫电极体系对D-Dimer抗原进行检测的方法,具体包括以下步骤:

[0099] 1) 免疫检测采用三电极体系(分别是工作电极、参比电极、对电极,其中参比电极和对电极为两者的复合电极),D-Dimer抗体/SDS掺杂聚吡咯/镀金PET为工作电极,裸镀金PET为参比电极与对电极的复合电极;向检测体系加入含150mM NaCl的PBS缓冲溶液对免疫电极进行连续CV扫描记录其CV曲线,计算并记录相应的CV曲线面积;扫描范围为0~1V,电位扫描速度为50mV/s;

[0100] 2) 首先将制备好的免疫电极正确连接在电化学工作站上,向免疫电极体系加入PBS缓冲溶液进行CV曲线扫描,记录稳定扫描得到的CV曲线,并计算其CV面积;

[0101] 3) 记录之后将D-Dimer抗原与标记PS微球的抗体混合后加入免疫电极,于室温下反应10min后用PBS缓冲溶液冲洗去除未结合蛋白样品,后在PBS缓冲溶液环境下再次进行CV曲线扫描,记录并计算其相应的CV曲线面积;

[0102] 4) 免疫电极电化学信号的检测基于双抗夹心反应模式,样品溶液中的抗原与标记PS微球的抗体结合后,与固载在电极表面的抗体发生免疫反应。

[0103] 实施例5:如图1~8所示,该采用实施例1或2或3的免疫电极的微流体检测芯片,从下往上依次包括下层芯片1、中层芯片2和上层芯片3;所述下层芯片1、中层芯片2与上层芯片3相配合界定出封闭的微流道和多个相互独立的腔室;所述微流道6和腔室均贯穿设置在所述中层芯片2上;所述上层芯片3上设有进样口8,所述进样口8通过所述微流道6与所述腔室相连通;该微流体检测芯片还包括免疫电极,所述免疫电极包括标准电极和工作电极,所述标准电极包括镀金基层,所述工作电极包括镀金基层、导电聚合物层12和抗体层13,所述镀金基层包括基层10和金层11,所述基层10、金层11、导电聚合物层12和抗体层13从下至上依次贴合,所述基层10为PET柔性基层;所述腔室包括反应腔和废液腔903,所述反应腔与所

述废液腔903均设置在所述中层芯片2上,所述微流道6包括流道一601,所述反应腔与所述废液腔903之间的所述流道一601上设有截制阀位点二,所述免疫电极分为设置在所述上层芯片3的背面的上层免疫电极4和设置在所述下层芯片1的背面的下层免疫电极5;所述上层免疫电极4和所述下层免疫电极5之间有间隙;所述上层免疫电极4在所述上层芯片3的背面和所述下层免疫电极5在所述下层芯片1的正面均与所述中层芯片2的所述反应腔所在的位置相对应地设置,所述上层免疫电极4和所述下层免疫电极5通过所述反应腔相连通;所述上层免疫电极4为标准电极,所述下层免疫电极5为工作电极;反应腔内预先包埋有检测试剂,当待测血液流入反应腔后,上层免疫电极4和下层免疫电极5均与反应腔中血液相接触,从而通过血液导电连通;所述反应腔包括反应腔一901和反应腔二902,所述微流道还包括流道二602,所述反应腔一901与所述反应腔二902之间的所述流道二602设有截制阀位点一,所述上层免疫电极4在所述上层芯片3的背面和所述下层免疫电极5在所述下层芯片1的正面均与所述中层芯片2的所述反应腔二902所在的位置相对应地设置,所述上层免疫电极4和所述下层免疫电极5通过所述反应腔二902相连通;所述腔室还包括清洗液腔905,所述微流道6还包括分流道604,所述流道二602在所述反应腔二902与所述截制阀位点一之间向与所述流道二602外侧方向向外延伸设有所述分流道604,所述分流道604连接有所述清洗液腔905;所述反应腔二902通过所述流道一601与所述废液腔903相连通;所述上层芯片3上设有上层连通孔301,所述下层芯片1上设有下层连通孔101,所述上层免疫电极4通过所述下层连通孔101与配套的检测仪器接触连接;所述下层免疫电极5通过所述上层连通孔301与配套的所述检测仪器接触连接;所述中层芯片2设有接液口202,所述接液口202与所述进样口8的位置相对应设置,所述微流道6还包括流道三603,所述反应腔一901通过所述流道三603与所述接液口202相连通;所述腔室还包括有缓冲液腔904,所述分流道604沿与所述分流道604外侧的方向向外延伸设有分流道一605,所述分流道一605连接有所述缓冲液腔904;所述上层芯片3上还设有至少一个排气孔7,所述排气孔7设置在所述上层芯片3的一端且设置在与所述废液腔903相对应的位置处;排气孔7的设置有利于样本的流动,方便进样;所述进样口8上设置有进样盖,待加样后盖住所述进样口8,使样品流动;所述免疫电极还包括多孔保护层,所述多孔保护层制备在所述抗体层的表面。

[0104] 实施例6:采用实施例1或2或3的免疫电极的微流体检测芯片,从下往上依次包括下层芯片1、中层芯片2和上层芯片3;所述下层芯片1、中层芯片2与上层芯片3相配合界定出封闭的微流道和多个相互独立的腔室;所述微流道6和腔室均贯穿设置在所述中层芯片2上;所述上层芯片3上设有进样口8,所述进样口8通过所述微流道6与所述腔室相连通;该微流体检测芯片还包括免疫电极体系,所述免疫电极体系包括标准电极和工作电极,所述标准电极包括镀金基层,所述工作电极包括镀金基层、导电聚合物层12、抗体层13和多孔保护层14,所述镀金基层包括基层10和金层11,所述基层10、金层11、导电聚合物层12、抗体层13和多孔保护层14从下至上依次贴合,所述基层10为PET柔性基层;所述腔室包括反应腔和废液腔903,所述反应腔与所述废液腔903均设置在所述中层芯片2上,所述微流道6包括流道一601,所述反应腔与所述废液腔903之间的所述流道一601上设有截制阀位点二,所述免疫电极分为设置在所述上层芯片3的背面的上层免疫电极4和设置在所述下层芯片1的背面的下层免疫电极5;所述上层免疫电极4和所述下层免疫电极5之间有间隙;所述上层免疫电极4在所述上层芯片3的背面和所述下层免疫电极5在所述下层芯片1的正面均与所述中层芯

片2的所述反应腔所在的位置相对应地设置,所述上层免疫电极4和所述下层免疫电极5通过所述反应腔相连通;所述上层免疫电极4为标准电极,所述下层免疫电极5为工作电极;反应腔内预先包埋有检测试剂,当待测血液流入反应腔后,上层免疫电极4和下层免疫电极5均与反应腔中血液相接触,从而通过血液导电连通;所述反应腔包括反应腔一901和反应腔二902,所述微流道还包括流道二602,所述反应腔一901与所述反应腔二902之间的所述流道二602设有截制阀位点一,所述上层免疫电极4在所述上层芯片3的背面和所述下层免疫电极5在所述下层芯片1的正面均与所述中层芯片2的所述反应腔二902所在的位置相对应地设置,所述上层免疫电极4和所述下层免疫电极5通过所述反应腔二902相连通;所述腔室还包括清洗液腔905,所述微流道6还包括分流道604,所述流道二602在所述反应腔二902与所述截制阀位点一之间向与所述流道二602外侧方向向外延伸设有所述分流道604,所述分流道604连接有所述清洗液腔905;所述反应腔二902通过所述流道一601与所述废液腔903相连通;所述上层芯片3上设有上层连通孔301,所述下层芯片1上设有下层连通孔101,所述上层免疫电极4通过所述下层连通孔101与配套的检测仪器接触连接;所述下层免疫电极5通过所述上层连通孔301与配套的所述检测仪器接触连接;所述中层芯片2设有接液口202,所述接液口202与所述进样口8的位置相对应设置,所述微流道6还包括流道三603,所述反应腔一901通过所述流道三603与所述接液口202相连通;所述腔室还包括有缓冲液腔904,所述分流道604沿与所述分流道604外侧的方向向外延伸设有分流道一605,所述分流道一605连接有所述缓冲液腔904;所述上层芯片3上还设有至少一个排气孔7,所述排气孔7设置在所述上层芯片3的一端且设置在与所述废液腔903相对应的位置处;排气孔7的设置有利于样本的流动,方便进样;所述进样口8上设置有进样盖,待加样后盖住所述进样口8,使样品流动;所述免疫电极还包括多孔保护层,所述多孔保护层制备在所述抗体层的表面;所述下层芯片1、中层芯片2与上层芯片3通过是通过中层芯片2双面胶合的方式粘合成一体;所述中层芯片2为双面胶,所述上层芯片3和/或所述下层芯片1的材料为PMMA、PP、PE、PET中的任一种,且所述上层芯片3和所述下层芯片1的表面均具有亲水膜,使样本快速通过所述进样口8流动进入微流道6,再流入各个腔室。其中中层芯片2优选压敏胶带,采用此技术方案,材料易得,且压敏胶带的制作工艺可以精度的控制其厚度,所以采用此技术方案,可以精确的控制微流道的深度和大小,同时也便于控制腔室的深度,使得微流体检测芯片的各个腔室的厚度偏差小,一致性高,提高了检测的准确度;上层芯片3和下层芯片1的表面均设置亲水膜;所述中层芯片2的厚度为0.1~1.0mm;所述下层芯片1的表面是平的,所述下层芯片1、中层芯片2与上层芯片3相配合界定出封闭的微流道6的深度为0.1~1.0mm,相配合界定出的所述腔室的宽度为1.0~2.0mm。

[0105] 具体使用时:先关闭截制阀位点一,配套检测仪器的动力杆装置的作用使缓冲液腔904中的缓冲液囊破裂,动力杆起到液体驱动作用使液囊内部的缓冲液进入反应腔二902,再关闭截制阀位点二,30秒内读取检测仪器上的数据,打开截制阀位点二,使反应腔二902的液体进入废液腔903;向进样口8注入血液样本,盖上进样盖,样本由接液口202通过流道三603流向反应腔一901,与内部的固定抗体反应1-5分钟,反应完成后打开截制阀位点一,样本进入反应腔二902,关闭截制阀位点一,并确保截制阀位点二处于关闭状态,反应1-5分钟,打开截制阀位点二;配套检测仪器的动力杆装置的作用使清洗液腔905中的清洗液囊破裂,内部清洗液进入反应腔二902,清洗免疫电极,清洗废液进入废液腔,仪器接收反应

腔内电信号,仪器软件进行计算得出样本指标含量。

[0106] 以上显示和描述了本发明的基本原理、主要特征及优点。本行业的技术人员应该了解,本发明不受上述实施例的限制,上述实施例和说明书中描述的只是说明本发明的原理,在不脱离本发明精神和范围的前提下,本发明还会有各种变化和改进,例如各腔室的布局结构、免疫电极的设置(如免疫电极还可以只设置不同层芯片上)和免疫电极的形状等做一些其它微略的调整,这些变化和改进都落入要求保护的本发明范围内。本发明要求保护范围由所附的权利要求书及其等效物界定。

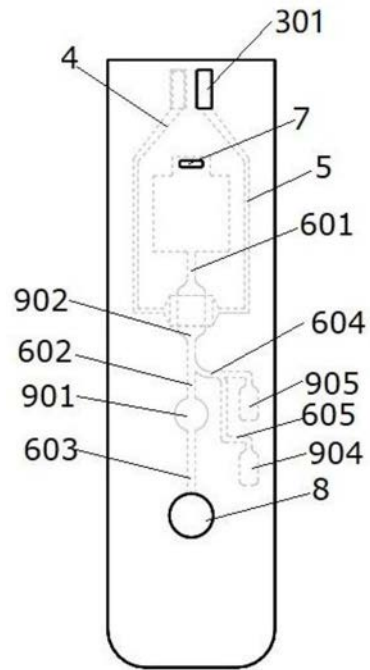


图1

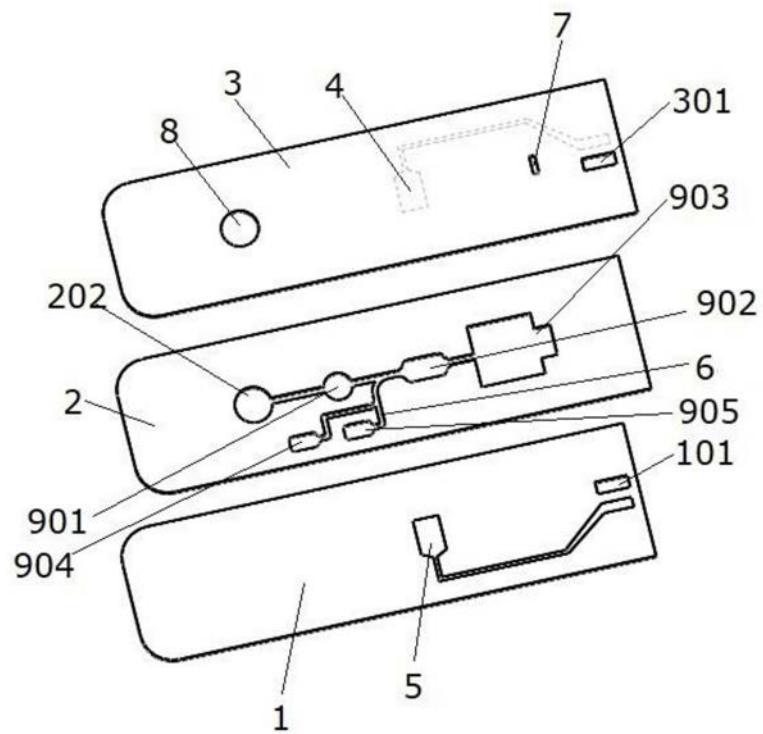


图2

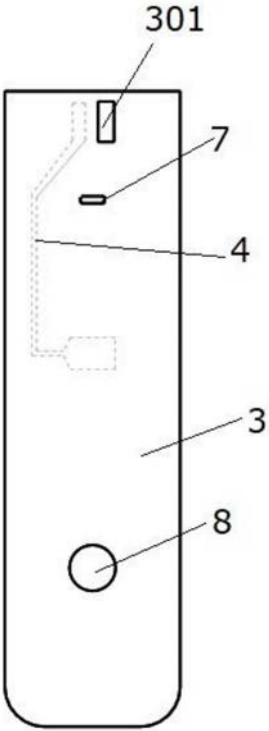


图3

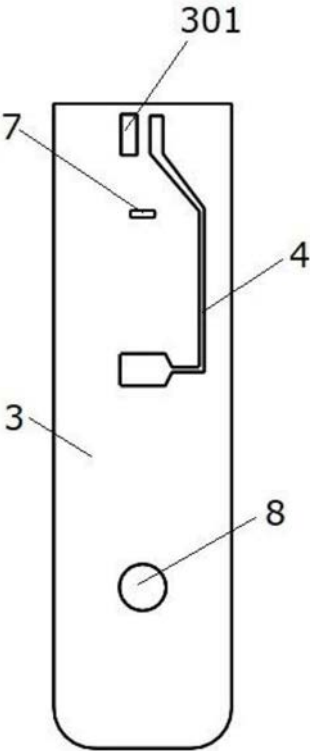


图4

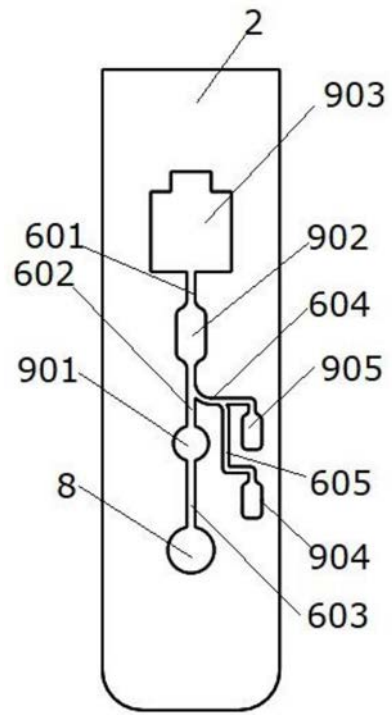


图5

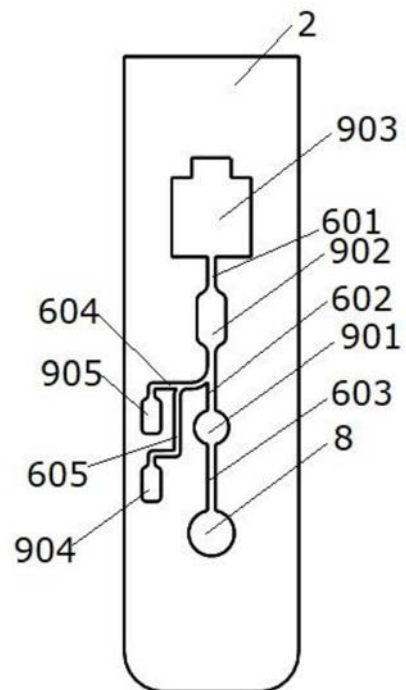


图6

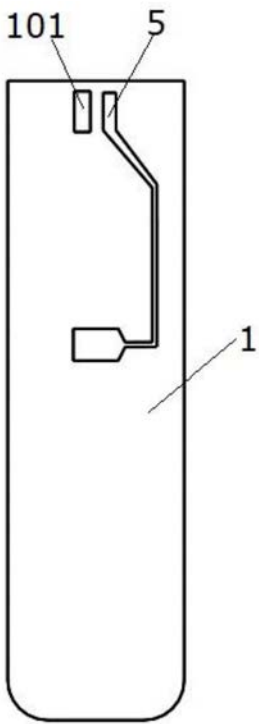


图7

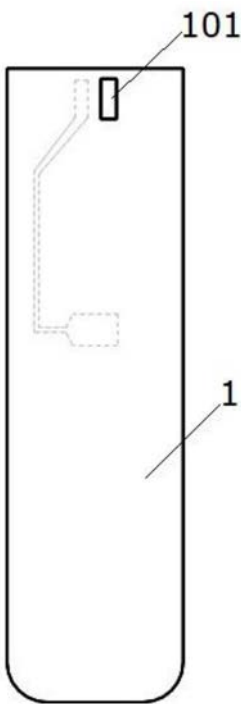


图8

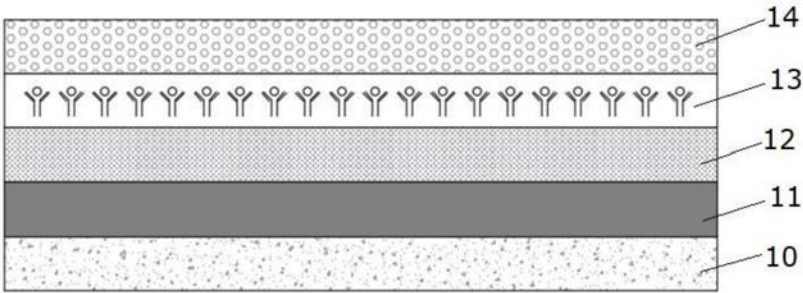


图9