



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110632168 A

(43)申请公布日 2019.12.31

(21)申请号 201910878101.1

(22)申请日 2019.09.17

(71)申请人 西安交通大学

地址 710049 陕西省西安市咸宁西路28号

(72)发明人 彭年才 张航 胡飞 李治鹏

郭晓牛

(74)专利代理机构 西安通大专利代理有限责任
公司 61200

代理人 张海平

(51) Int. Cl.

G01N 27/74(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 27/06(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

一种基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置及其使用方法

(57)摘要

本发明一种基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置及其使用方法,微流控磁敏免疫装置中,上盖上设置超顺磁珠存储区和抗体存储区,微流控芯片上设置第一生化反应腔和第一微流控通道,使用时,生物素化的超顺磁珠和生物素化的抗体依次在第一生化反应腔和第一微流控通道中进行混合反应,反应后的标记抗体的超顺磁珠再与待测样品反应,生成标记超顺磁珠的免疫蛋白,然后与磁传感器阵列中的捕获抗体反应结合,从而将超顺磁珠固定在磁传感器阵列中的传感器上进行后续的检测过程。本发明将磁敏免疫分析中超顺磁珠与生物素化的抗体的结合整合到芯片中完成,提高了集成度,简化了生化反应的操作步骤,提高了生化反应效率。

1. 一种基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置,其特征在于,包括固定连接的底板(4)与上盖(1),底板(4)与上盖(1)之间设有微流控芯片(2);

上盖(1)上设置有超顺磁珠存储区(12)、抗体存储区(13)、待测样品存储区(14)和洗涤液存储区(15);微流控芯片(2)上设置有第一生化反应腔(213)、第二生化反应腔(205)、检测区(208)和废液腔(207);第一生化反应腔(213)的进样口与超顺磁珠存储区(12)和抗体存储区(13)均连通,出样口通过第一微流控通道(203)与第二生化反应腔(205)进样口连通,第二生化反应腔(205)进样口还与待测样品存储区(14)连通,第二生化反应腔(205)出样口通过第二微流控通道(206)与检测区(208)进样口连通,检测区(208)进样口还与洗涤液存储区(15)连通;检测区(208)出样口与废液腔(207)连通;

微流控芯片(2)上还设有凹槽(215),凹槽(215)与检测区(208)上下位置对应且两者相连通,凹槽(215)中嵌设有能结合免疫蛋白的磁传感器阵列(3),凹槽(215)开口处密封。

2. 根据权利要求1所述的基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置,其特征在于,上盖(1)上设有排气孔(16),排气孔(16)与废液腔(207)连通。

3. 根据权利要求2所述的基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置,其特征在于,微流控芯片(2)上设置有废液孔(209),废液孔(209)与排气孔(16)位置上下对应,废液腔(207)通过废液孔(209)与排气孔(16)连通。

4. 根据权利要求1所述的基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置,其特征在于,微流控芯片(2)包括基底(201)和固定在基底(201)上的薄膜(202),薄膜(202)与基底(201)之间围成第一生化反应腔(213)、第二生化反应腔(205)、检测区(208)和废液腔(207)。

5. 根据权利要求4所述的基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置,其特征在于,薄膜(202)采用PDMS薄膜,基底采用PMMA基底。

6. 根据权利要求1所述的基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置,其特征在于,微流控芯片(2)上设置有第一加样孔(212)、第二加样孔(211)、第三加样孔(204)和第四加样孔(214);第一生化反应腔(213)通过第一加样孔(212)与超顺磁珠存储区(12)连通,第一生化反应腔(213)通过第二加样孔(211)与抗体存储区(13)连通,第二生化反应腔(205)通过第三加样孔(204)与待测样品存储区(14)连通,检测区(208)通过第四加样孔(214)与洗涤液存储区(15)连通;超顺磁珠存储区(12)、抗体存储区(13)、待测样品存储区(14)和洗涤液存储区(15)分别与第一加样孔(212)、第二加样孔(211)、第三加样孔(204)和第四加样孔(214)位置上下对应。

7. 根据权利要求1所述的基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置,其特征在于,第一微流控通道(203)为蛇形流道,第二微流控通道(206)为S形流道。

8. 根据权利要求1所述的基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置,其特征在于,磁传感器阵列(3)包括基底(31)、多个传感器(33)和多个电极(32);传感器(33)和电极(32)设置在基底(31)上,传感器(33)的电源接口通过一电极(32)与外部电源连接,传感器(33)的信号输出接口通过一电极(32)与外部PCB板连接,和电极(32)通过引线(34)相连,电极(32)通过引线连接外部的PCB板;传感器(33)上设有一层SiO₂保护膜,SiO₂保护膜上设有一层金膜,金膜上标记有捕获抗体。

9. 根据权利要求1所述的基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置,其特征在于,底板(4)上表面设置有线圈(44)和加热片(43),线圈(44)通过第一导线(45)与外界电连接,加

热片(43)通过第二导线(42)与外界电连接;线圈(44)中心位于检测区(208)的正下方;加热片(43)位于第二生化反应腔(205)、第一生化反应腔(213)下方。

10. 权利要求1-9任一项所述的基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置的使用方法,其特征在于,包括如下步骤:

(1) 在超顺磁珠存储区(12)加入超顺磁珠,在抗体存储区(13)加入生物素化的抗体,在待测样品存储区(14)加入待测样品,在洗涤液存储区(15)加入洗涤液;

(2) 施加压力,将超顺磁珠和生物素化的抗体先压入第一生化反应腔(213),再压入第一微流控通道(206),反应形成标记抗体的超顺磁珠;继续施加压力,将标记抗体的超顺磁珠压入第二生化反应腔(205),同时,将待测样品压入第二生化反应腔(205),继续施加压力,标记抗体的超顺磁珠和待测样品进入第二微流控流道(206),反应形成标记超顺磁珠的免疫蛋白;

(3) 继续施加压力,将标记超顺磁珠的免疫蛋白压入检测区(208)并被磁传感器阵列(3)结合固定;施加压力将洗涤液注入检测区(208),进行冲洗;

(4) 施加垂直于磁传感器阵列(3)的磁场,磁化超顺磁珠,通过外部检测系统采集磁传感器阵列(3)的电阻信号,根据免疫蛋白浓度与电阻率变化的标准曲线,推算待测样品中免疫蛋白的浓度。

一种基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置及其使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及磁敏免疫分析,具体为一种基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置及其使用方法。

背景技术

[0002] 磁敏免疫分析是即荧光免疫分析、化学发光、电化学发光、电化学、表面拉曼增强后出现的新的免疫分析方法,是通过检测、分析磁珠标记的抗原的磁信号间接定量待测标志物的方法,相比较于其他免疫分析方法,磁敏免疫分析操作简便,成本较低,且具有极高的灵敏度。磁传感器是磁敏免疫分析的重要器件,常用的有霍尔传感器、磁阻传感器(AMR)、巨磁电阻传感器(GMR)、遂穿磁阻传感器(TMR)和巨磁阻抗传感器(GMI)等。因工艺步骤简单、性能稳定、灵敏度高、背景噪声低、热稳定性好,巨磁电阻传感器(GMR)被更广泛的应用于免疫分析在内的生物医学检测中。

[0003] 微流控芯片又被称为片上实验室,可以将一系列复杂繁琐的生化反应操作、生物医学检测等多种功能集成到一张几平方厘米大小的芯片中,具有需要样品更少,操作更加简便,避免样品污染、系统微型化等诸多优点。但目前将微流控芯片和磁敏免疫分析技术结合的实例很少。

[0004] 中国专利CN 109917139 A提出了一种基于GMR传感器阵和微流控芯片的磁敏免疫检测卡。该发明将传感阵列和底板固定,利用PDMS膜制备微流控芯片。其设计的微流控装置将待测样品、免疫磁珠和洗涤液分步注入反应区,使用的免疫磁珠需要预先做生物标记才能使用,导致步骤繁琐、操作复杂。因此,设计一种能够在芯片内部完成磁珠生物标记的微流控具有重要意义。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置,提高了芯片的集成度,简化了生化反应的操作步骤,缩短分析时间。

[0006] 本发明是通过以下技术方案来实现:

[0007] 一种基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置,包括固定连接的底板与上盖,底板与上盖之间设有微流控芯片;

[0008] 上盖上设置有超顺磁珠存储区、抗体存储区、待测样品存储区和洗涤液存储区;微流控芯片上设置有第一生化反应腔、第二生化反应腔、检测区和废液腔;第一生化反应腔的进样口与超顺磁珠存储区和抗体存储区均连通,出样口通过第一微流控通道与第二生化反应腔进样口连通,第二生化反应腔进样口还与待测样品存储区连通,第二生化反应腔出样口通过第二微流控通道与检测区进样口连通,检测区进样口还与洗涤液存储区连通;检测区出样口与废液腔连通;

[0009] 微流控芯片上还设有凹槽,凹槽与检测区上下位置对应且两者相连通,凹槽中嵌

设有能结合免疫蛋白的磁传感器阵列,凹槽开口处密封。

[0010] 优选的,上盖上设有排气孔,排气孔与废液腔连通。

[0011] 进一步的,微流控芯片上设置有废液孔,废液孔与排气孔位置上下对应,废液腔通过废液孔与排气孔连通。

[0012] 优选的,微流控芯片包括基底和固定在基底上的薄膜,薄膜与基底之间围成第一生化反应腔、第二生化反应腔、检测区和废液腔。

[0013] 进一步的,薄膜采用PDMS薄膜,基底采用PMMA基底。

[0014] 优选的,微流控芯片上设置有第一加样孔、第二加样孔、第三加样孔和第四加样孔;第一生化反应腔通过第一加样孔与超顺磁珠存储区连通,第一生化反应腔通过第二加样孔与抗体存储区连通,第二生化反应腔通过第三加样孔与待测样品存储区连通,检测区通过第四加样孔与洗涤液存储区连通;超顺磁珠存储区、抗体存储区、待测样品存储区和洗涤液存储区分别与第一加样孔、第二加样孔、第三加样孔和第四加样孔位置上下对应。

[0015] 优选的,第一微流控通道为蛇形流道,第二微流控通道为S形流道。

[0016] 优选的,磁传感器阵列包括基底、多个传感器和多个电极;传感器和电极设置在基底上,传感器的电源接口通过一电极与外部电源连接,传感器的信号输出接口通过一电极与外部PCB板连接,和电极通过引线相连,电极通过引线连接外部的PCB板;传感器上设有一层SiO₂保护膜,SiO₂保护膜上设有一层金膜,金膜上标记有捕获抗体。

[0017] 优选的,底板上表面设置有线圈和加热片,线圈通过第一导线与外界电连接,加热片通过第二导线与外界电连接;线圈中心位于检测区的正下方;加热片位于第二生化反应腔、第一生化反应腔下方。

[0018] 所述的基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置的使用方法,包括如下步骤:

[0019] (1) 在超顺磁珠存储区加入超顺磁珠,在抗体存储区加入生物素化的抗体,在待测样品存储区加入待测样品,在洗涤液存储区加入洗涤液;

[0020] (2) 施加压力,将超顺磁珠和生物素化的抗体先压入第一生化反应腔,再压入第一微流控通道,反应形成标记抗体的超顺磁珠;继续施加压力,将标记抗体的超顺磁珠压入第二生化反应腔,同时,将待测样品压入第二生化反应腔,继续施加压力,标记抗体的超顺磁珠和待测样品进入第二微流控流道,反应形成标记超顺磁珠的免疫蛋白;

[0021] (3) 继续施加压力,将标记超顺磁珠的免疫蛋白压入检测区并被磁传感器阵列结合固定;施加压力将洗涤液注入检测区,进行冲洗;

[0022] (4) 施加垂直于磁传感器阵列的磁场,磁化超顺磁珠,通过外部检测系统采集磁传感器阵列的电阻信号,根据免疫蛋白浓度与电阻率变化的标准曲线,推算待测样品中免疫蛋白的浓度。

[0023] 与现有技术相比,本发明具有以下有益的技术效果:

[0024] 本发明微流控磁敏免疫装置中,上盖上设置超顺磁珠存储区和抗体存储区,微流控芯片上设置第一生化反应腔和第一微流控通道,使用时,生物素化的超顺磁珠和生物素化的抗体依次在第一生化反应腔和第一微流控通道中进行混合反应,反应后的标记抗体的超顺磁珠再与待测样品反应,生成标记超顺磁珠的免疫蛋白,然后与磁传感器阵列中的捕获抗体反应结合,从而将超顺磁珠固定在磁传感器阵列中的传感器上进行后续的检测过程。本发明将磁敏免疫分析中超顺磁珠与生物素化的抗体的结合整合到芯片中完成,提高

了集成度,超顺磁珠的生物标记在芯片中进行,简化了生化反应的操作步骤,提高了生化反应效率。

[0025] 进一步的,设置排气孔,在微流控芯片加样时排出气体使加样顺利进行,检测完成后,从该排气孔中抽取反应后的废液,回收磁珠,节省试剂。

[0026] 进一步的,薄膜采用PDMS薄膜,由于PDMS具有极强的疏水性,薄膜结构中的流道具有毛细管效应,可以有效避免各试剂存储区的试剂提前流入微流控芯片中。

[0027] 进一步的,现有设计的微流控装置流道多为直流道,直接将样品注入反应区的方式容易造成混合不均匀,本发明第一微流控通道为蛇形流道,第二微流控通道为S形流道,有利于反应的充分进行,并缩短检测所需要的时间。

[0028] 进一步的,现有的磁敏微流控装置还需要复杂的外部驱动装置,如温度控制、外磁场发生、流体驱动等,导致整个系统过于复杂、庞大。本发明在底板放置线圈提供检测所需磁场,提高了集成度,避免了复杂庞大的外部磁场发生装置。由于需要的反应温度通常高于室温,在底板放置加热片提供反应所需的温度,使反应充分发生,提高速率,提高了集成度,避免了复杂庞大的外部加热装置。

[0029] 本发明方法,超顺磁珠和生物素化的抗体直接送入芯片进行反应,实现反应的自动化,简化了免疫分析的繁琐步骤,解决免疫分析步骤繁琐、操作复杂、分析周期长等问题。

附图说明

[0030] 图1是本发明的结构示意图。

[0031] 图2是上盖结构示意图。

[0032] 图3是微流控芯片上表面的结构示意图。

[0033] 图4是微流控芯片下表面的结构示意图。

[0034] 图5是磁传感器阵列的结构示意图。

[0035] 图6是底板的结构示意图。

[0036] 其中:1-上盖,11-壳体,12-超顺磁珠存储区,13-抗体存储区,14-待测样品存储区,15-洗涤液存储区,16-排气孔;2-微流控芯片,201-基底,202-薄膜,203-第一微流控通道,204-第三加样孔,205-第二生化反应腔,206-第二微流控通道,207-废液腔,208-检测区,209-废液孔,210-直流道,211-第二加样孔,212-第一加样孔,213-第一生化反应腔213,214-第四加样孔,215-凹槽;3-磁传感器阵列,31-基底,32-电极,33-传感器,34-引线;4-底板,41-底壳,42-导线,43-加热片,44-线圈,45-导线。

具体实施方式

[0037] 下面结合具体的实施例对本发明做进一步的详细说明,所述是对本发明的解释而不是限定。

[0038] 参照图1,本发明提出一种基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置,包括上盖1、微流控芯片2、磁传感器阵列3和底板4。上盖1扣于微流控芯片2上,通过胶合或机械固定的方式使两者连接。

[0039] 参见图2,上盖1包括壳体11,壳体11上设置有4个试剂存储区,分别为超顺磁珠存储区12、抗体存储区13、待测样品存储区14和洗涤液存储区15。超顺磁珠存储区12、抗体存

储区13、待测样品存储区14和洗涤液存储区15均为台阶孔，小孔径孔段位于壳体11下表面，大孔径孔段位于壳体11上表面。超顺磁珠存储区12、抗体存储区13分别用于存储超顺磁珠和生物素化的抗体，待测样品存储区14用于存储待测样品，洗涤液存储区15用于存储洗涤液。各试剂存储区的容积为10-40微升。存储区上方可以采用PDMS薄膜或塑料薄膜密封。壳体11上设计有一个排气孔16。在微流控芯片2加样时排出气体使加样顺利进行，检测完成后，从该排气孔16中抽取反应后的废液。

[0040] 上盖1采用硬质塑料或陶瓷材质，3D打印方式制造。

[0041] 参见图3，本发明一个实施例中，微流控芯片2包括基底201和固定在基底201上的薄膜202，薄膜202上设置有包括第一加样孔212、第二加样孔211、第三加样孔204、第四加样孔214、第一生化反应腔213、第二生化反应腔205、检测区208、废液腔207和废液孔209的微结构。第一加样孔212的进样口与超顺磁珠存储区12的小孔径孔段连通，第二加样孔211的进样口与抗体存储区13的小孔径孔段连通，第三加样孔204的进样口与待测样品存储区14的小孔径孔段连通，第四加样孔214的进样口与洗涤液存储区15的小孔径孔段连通，从而第一加样孔212、第二加样孔211、第三加样孔204和第四加样孔214分别用于向微流控芯片2内注入待测样品、超顺磁珠、生物素化的抗体和洗涤液。

[0042] 第一生化反应腔213与第二生化反应腔205通过第一微流控流道203连通，第二生化反应腔205与检测区208通过第二微流控流道206连通，检测区208与废液腔207连通。第一加样孔212和第二加样孔211的出样口与生化反应腔213连通，第三加样孔204的出样口与第二生化反应腔205连通，第四加样孔214的出样口通过直流道210与检测区208连通。第一生化反应腔213为磁珠的生物标记提供反应空间，第一微流控流道203使试剂混合更均匀，反应更充分。第二生化反应腔205为待测样品中免疫蛋白和超顺磁珠的结合提供反应空间，后方相连的第二微流控流道206用于进行免疫蛋白和超顺磁珠的反应。检测区208下方对应磁传感器阵列3，用于检测超顺磁珠标记的免疫蛋白。废液孔209上部与排气孔连通，废液孔209与废液腔207连通，废液腔207存放被洗涤液洗涤后排出的杂质、未反应的超顺磁珠等，并通过废液孔209和排气孔将废液排出。废液孔209兼有排气和回收废液的作用。

[0043] 本实施例中，超顺磁珠存储区12、抗体存储区13、待测样品存储区14和洗涤液存储区15分别与第一加样孔212、第二加样孔211、第三加样孔204和第四加样孔214位置上下对应。排气孔16与废液孔209位置上下对应。

[0044] 薄膜202采用PDMS薄膜，基底采用PMMA基底，微流控芯片2具体采用将PDMS薄膜202通过胶粘接键合在PMMA基底201上的方式制作。由于PDMS具有极强的疏水性，薄膜结构中的流道具有毛细管效应，可以有效避免各试剂存储区的试剂提前流入微流控芯片2中。生化反应腔213容积为10-20微升。检测区208的容积为30-40微升。

[0045] 参见图4，微流控芯片2的下表面，即基底201下表面上设有凹槽215，凹槽215中嵌设磁传感器阵列3，磁传感器阵列3与检测区208位置上下对应。

[0046] 微流控芯片2的制备方法为：(1)通过光刻工艺。在硅片上刻蚀出需要的图案作为模具；(2)在硅片上均匀涂抹一层PDMS，通过倒模的方式制作所需的微结构；(3)清洗PMMA基片并用激光切割机切割至需要的形状，在PMMA基片下表面切割出嵌入传感器阵列所需的凹槽215；(4)通过胶粘接键合的方式将包含微结构的PDMS薄膜固定在PMMA基片上表面上。

[0047] 参见图5，磁传感器阵列3位于检测区208的正下方，包括基底31、多个传感器33和

多个电极32。传感器33和电极32设置在基底31上,每个传感器33电源接口和信号输出接口分别通过引线34连接一电极32,其中一个电极32通过外部引线连接PCB板中的电源接口,另一个电极32通过外部引线连接PCB板中的采样和放大电路接口,实现对信号的采集。传感器33上溅射一层SiO₂保护膜,SiO₂保护膜上溅射一层金膜,金膜用于生物标记(标记捕获抗体),通过金膜上修饰的捕获抗体和检测区208中待测样品中的免疫蛋白结合,进而将超顺磁珠固定在传感器33表面,并检测超顺磁珠产生的磁场,产生相应的电信号。在传感器33表面修饰不同类型的捕获抗体即可以实现同一个磁传感器阵列3同时检测多种免疫蛋白。每个传感器33宽为100-120微米,长120-200微米,阵列中可以包含4-20个传感器33,以直线或棋盘方式排布。磁传感器阵列3通过胶粘接结合的方式嵌入PMMA基底201背面的凹槽215中。基底31采用Si基底或SiO₂基底。传感器33采用GMR。

[0048] 采用光刻和磁控溅射的方法制作磁传感器阵列3,制作方法如下:(1)使用多靶标磁控溅射机在硅基底上沉积具有GMR效应的薄膜;(2)利用光刻机和干法刻蚀工艺将薄膜制作成需要的图形,作为传感器33;(3)利用光刻机和磁控溅射的方法制作电极32;(4)使用磁控溅射机在传感器33上溅射一层200-300nm厚的SiO₂保护膜;(5)使用磁控溅射机在SiO₂保护膜上溅射一层100-250nm厚的金膜;(6)将磁传感器阵列33通过胶粘接键合的方式固定在微流控芯片2下表面的凹槽215中。

[0049] 参见图6,底板4材质为塑料或陶瓷材质,底板4包括底壳41,底壳41上表面通过机械固定或胶合方式置有线圈44和加热片43,线圈44通过第一导线45与外界电连接,加热片43通过第二导线42与外界电连接。线圈44中心位于微流控芯片2的检测区208的正下方,由铜丝或铝导线缠绕而成,其面积远大于传感阵列3。给第一导线45通电产生200oe-350oe的磁场,用于将吸附在传感器33表面的超顺磁珠磁化,产生磁场供传感器33检测。采用GMR传感器时,由于GMR传感器对垂直磁场具有退磁性,线圈44产生的磁场只会短暂改变传感器33的电阻,待退磁完成后测到的信号即超顺磁珠产生的杂散磁场信号。加热片43位于第二生化反应腔205、第一生化反应腔213下方,通过第二导线42供电使加热片43发热,提供37-63摄氏度的温度,使生化反应能够顺利进行。加热片43为硅胶加热片。底板4通过胶粘接键合或机械固定的方式与上盖1连接。底板4可以重复使用。

[0050] 下面,以检测前列腺特异抗原PSA为例,描述微流控磁敏免疫装置的工作流程:

[0051] (1)对磁传感器阵列3进行生物处理:首先分别使用NaOH、盐酸、乙醇、去离子水对磁传感器阵列3进行超声波清洗,使传感器33表面的金膜形成自组装层;然后在MPA溶液中孵育3小时,将硫醇滴加到Au膜的表面上,用乙醇和去离子水冲洗Au膜;在25摄氏度环境下用一定浓度的EDC和NHS溶液处理,40分钟后用PBS(盐水)洗涤金膜,静置在空气中干燥。

[0052] (2)在传感器33表面修饰捕获抗体:在传感器33表面滴加浓度为0.8-1.5mg/mL⁻¹的PSA抗体溶液,并在37℃下静置45-65分钟;然后用含有0.5%-1.2%牛血清蛋白(BSA)的磷酸盐缓冲盐水(PBS)反复洗涤;接下来,为了避免金膜对免疫蛋白的非特异性吸附,用浓度为1%的BSA处理金膜,在4摄氏度的低温下静置2-3小时;最后,用PBS洗涤传感器33。其中,需要修饰捕获抗体的传感器33只为一部分,称为实验组传感器,其余传感器33作为对照组只做生物处理,称为对照组传感器。处理完成的磁传感器阵列3嵌入微流控芯片2背面的凹槽215中。

[0053] (3)将试剂加入上盖1中,具体为在超顺磁珠存储区12加入10微升左右链霉抗生物

素蛋白功能化、浓度为 $75-100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、直径为 $100-200\text{nm}$ 的超顺磁珠；在抗体存储区13加入10微升左右浓度为 $0.8-1.2\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 生物素化的PSA抗体；在待测样品存储区14加入待测样品数十微升；在洗涤液存储区15加入数十微升含有牛血清蛋白的磷酸盐缓冲盐水作为洗涤液。用PDMS膜密封好试剂，如不立即开始检测，需将装置置于4摄氏度的低温环境中保存。

[0054] (4) 利用外部的泵送装置，如注射泵，首先将超顺磁珠和生物素化的PSA抗体通过加样孔212和加样孔211压入生化反应腔213，进行超顺磁珠和生物素化的PSA抗体的初步混合反应。同时，底板4上的加热片43通电，使微流控芯片2内的温度达到并维持在37摄氏度，满足反应要求。进一步施加压力，将混合后的试剂压入第一微流控流道203使其充分混合和反应。继续施加压力，通过加样孔204加入待测样品，使其和表面固定有生物素化的PSA抗体的超顺磁珠进入第二生化反应腔205进行初步混合，然后进入第二微流控流道206，充分反应使超顺磁珠上固定的生物素化的PSA抗体和待测样品中的免疫蛋白PSA结合，形成标记有超顺磁珠的免疫蛋白。

[0055] (5) 通过外部泵送装置施加压力将标记有超顺磁珠的免疫蛋白压入检测区208，表面修饰了捕获抗体的传感器33会与标记有超顺磁珠的免疫蛋白结合，同时吸附超顺磁珠。施加压力将洗涤液通过第四加样孔214注入检测区208，洗去杂质和未参与反应剩余的超顺磁珠，减少其他成分的干扰和磁场的背景噪声。待检测完成后，通过泵送装置经废液孔209吸去废液，回收磁珠。

[0056] (6) 通过外部电路为底板4上的线圈44通电，产生垂直于传感器33的磁场，控制电流使磁场强度保持在 $200-300\text{oe}$ 之间的某一定值，用来磁化吸附在传感器33表面的超顺磁珠。同时外部电路通过电极32向传感器33提供 $0.01-0.1\text{mA}$ 的激励电流。当采用GMR传感器时，考虑到GMR传感器的退磁性，即垂直磁场作用下，传感器33电阻发生变化又快速恢复的特性，需要等待传感器33退磁后，即排除垂直磁场产生的信号后，再通过外部PCB板(检测系统)采集信号。对比修饰有捕获抗体的实验组传感器和对照组传感器信号，分析超顺磁珠产生的磁场对传感器33电阻的影响，根据电阻变化率推算待测免疫蛋白的浓度。

[0057] 在此之前，需要用某一浓度梯度、已知浓度的样品对系统进行测试，测定研究抗原浓度变化与GMR生物传感器电阻率变化的关系，绘制抗原浓度与电阻率变化的标准曲线，检测未知浓度的抗原样本，通过比较检测到的信号与标准曲线对比分析得出待测样品的抗原浓度。

[0058] 本发明设计一种能够在芯片内部完成磁珠生物标记、磁珠与抗体结合、集成有加热功能和外部磁场发生装置的微流控磁敏免疫装置可以很好地解决上述问题，可实现磁敏免疫分析的快速、集成化、自动化以及微型化，大大提高磁敏免疫分析系统的性能，具有重要意义。

[0059] 以上所述仅为本申请的实施方式，并非因此限制本申请的专利范围，凡是利用本申请说明书及附图内容所作的等效结构或等效流程变换，或直接或间接运用在其他相关的技术领域，均同理包括在本申请的专利保护范围内。

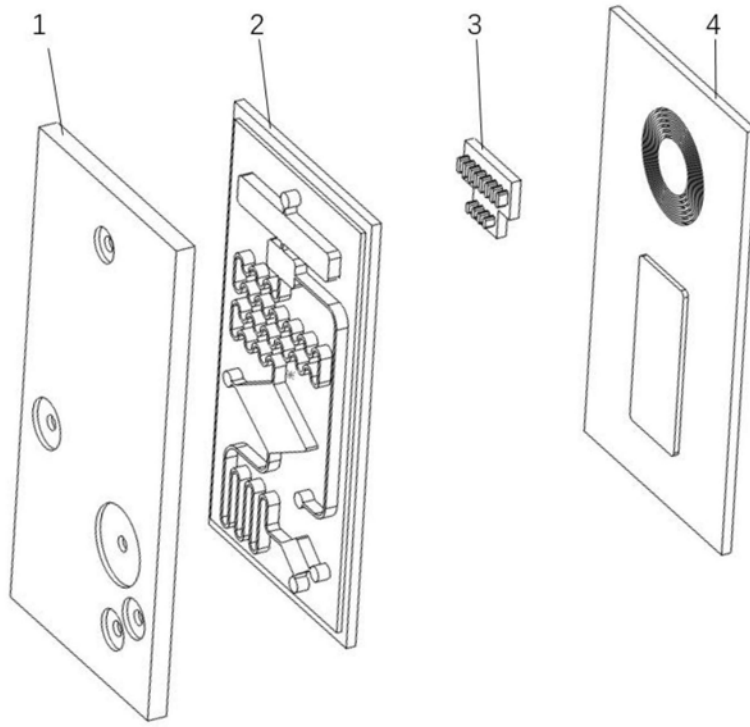


图1

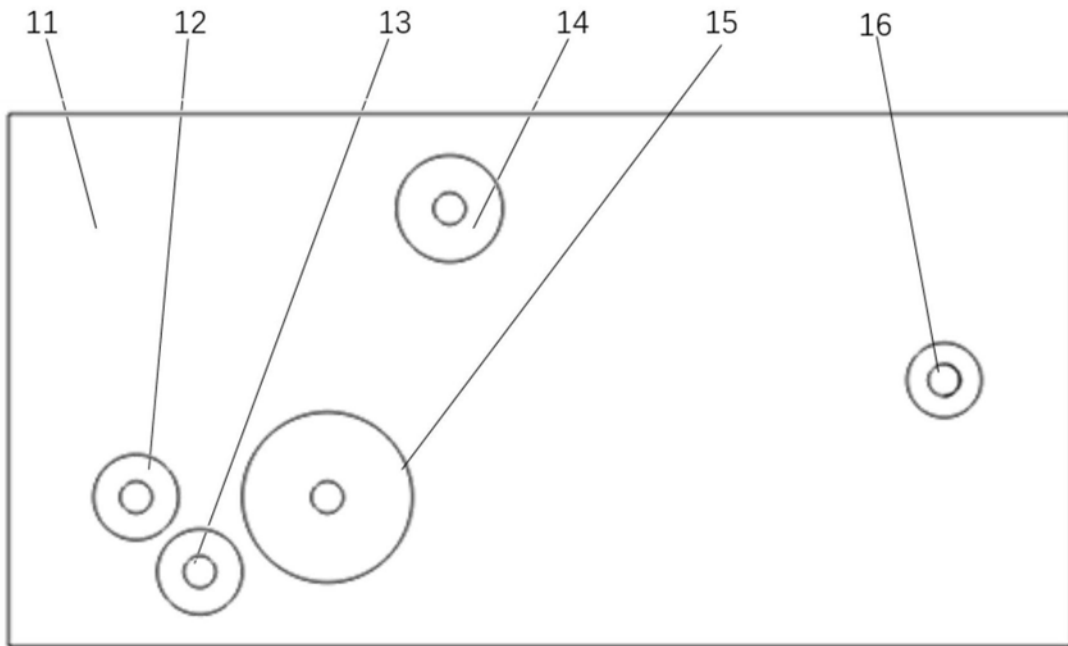


图2

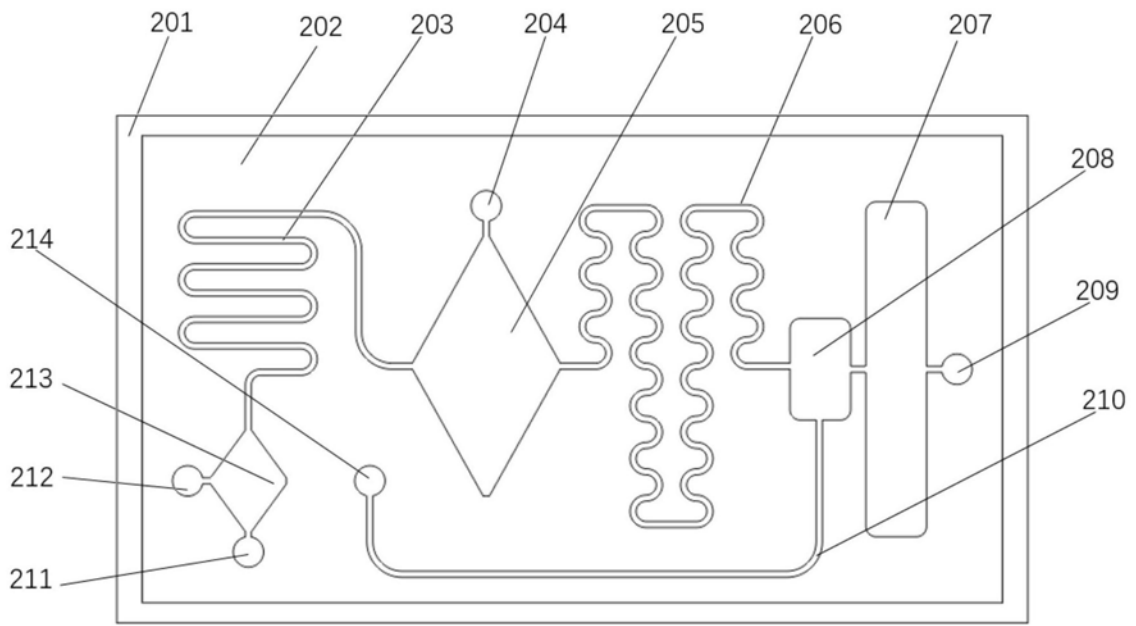


图3

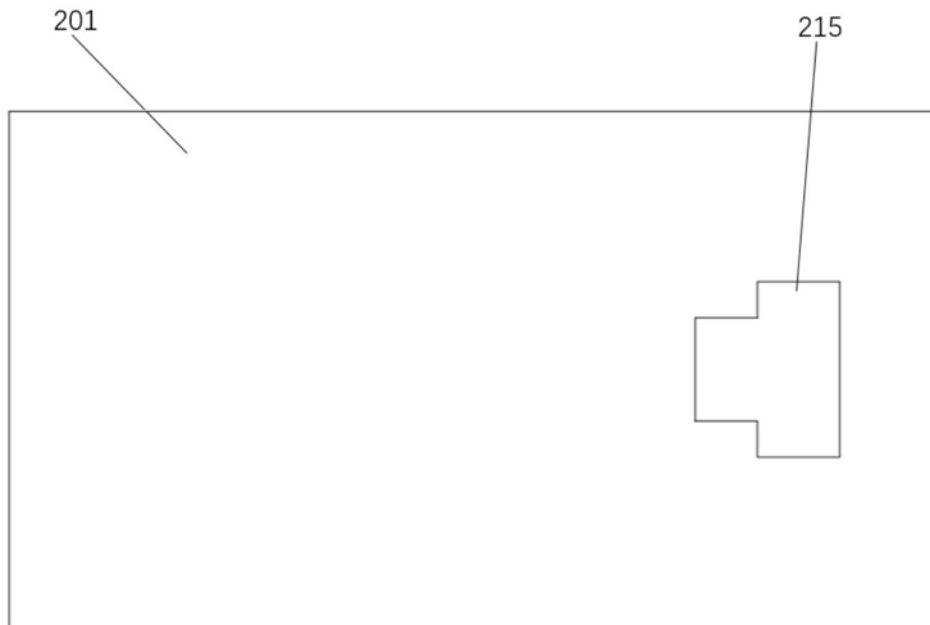


图4

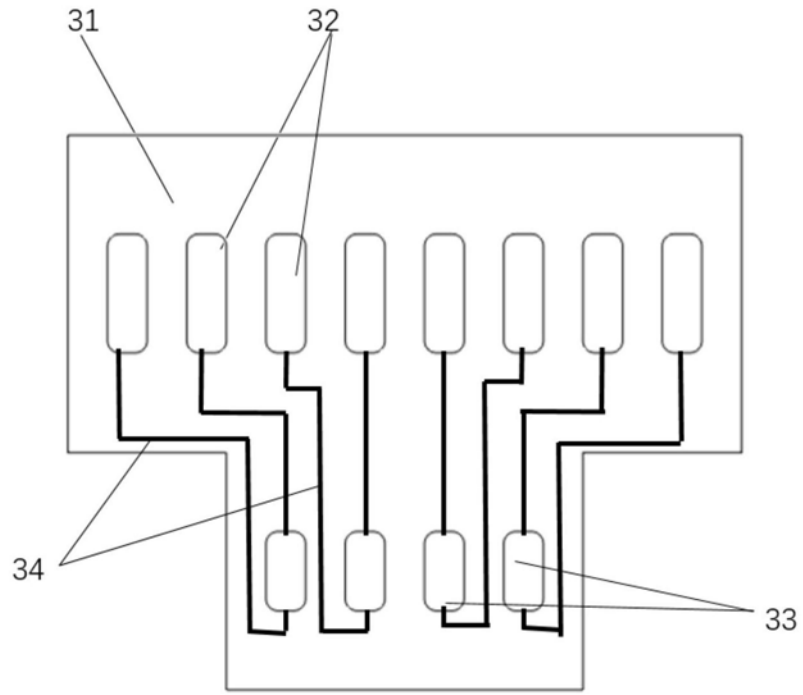


图5

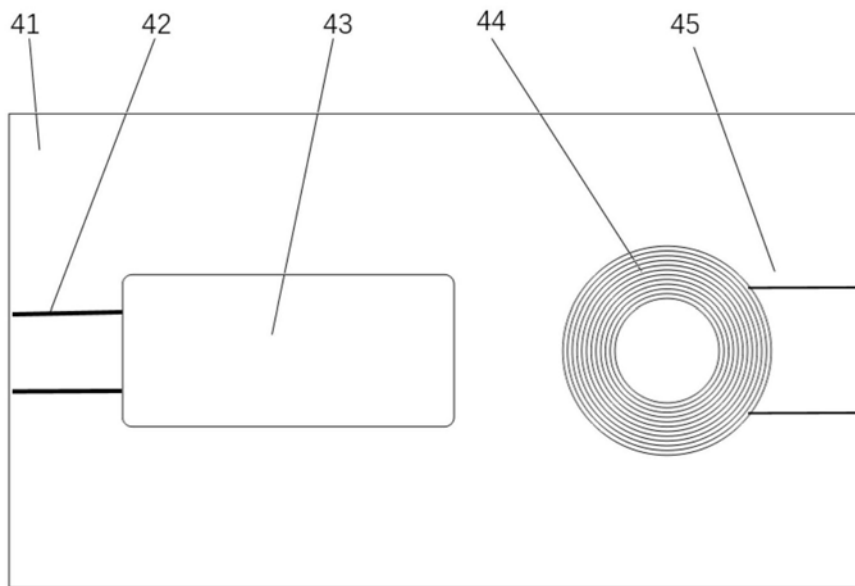


图6

专利名称(译)	一种基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置及其使用方法		
公开(公告)号	CN110632168A	公开(公告)日	2019-12-31
申请号	CN201910878101.1	申请日	2019-09-17
[标]申请(专利权)人(译)	西安交通大学		
申请(专利权)人(译)	西安交通大学		
当前申请(专利权)人(译)	西安交通大学		
[标]发明人	彭年才 张航 胡飞 李治鹏		
发明人	彭年才 张航 胡飞 李治鹏 郭晓牛		
IPC分类号	G01N27/74 G01N33/53 G01N33/532 G01N33/543 G01N27/06		
CPC分类号	G01N27/06 G01N27/745 G01N33/5304 G01N33/532 G01N33/54326		
代理人(译)	张海平		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明一种基于磁阻生物传感器的微流控磁敏免疫装置及其使用方法，微流控磁敏免疫装置中，上盖上设置超顺磁珠存储区和抗体存储区，微流控芯片上设置第一生化反应腔和第一微流控通道，使用时，生物素化的超顺磁珠和生物素化的抗体依次在第一生化反应腔和第一微流控通道中进行混合反应，反应后的标记抗体的超顺磁珠再与待测样品反应，生成标记超顺磁珠的免疫蛋白，然后与磁传感器阵列中的捕获抗体反应结合，从而将超顺磁珠固定在磁传感器阵列中的传感器上进行后续的检测过程。本发明将磁敏免疫分析中超顺磁珠与生物素化的抗体的结合整合到芯片中完成，提高了集成度，简化了生化反应的操作步骤，提高了生化反应效率。

