



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103616417 B

(45) 授权公告日 2015. 07. 15

(21) 申请号 201310542743. 7

(22) 申请日 2013. 11. 05

(73) 专利权人 刘军

地址 310000 浙江省杭州市余杭区闲林镇岸上蓝山小区星河苑 15-901

(72) 发明人 刘军

(74) 专利代理机构 杭州求是专利事务有限公司 33200

代理人 杜军

(51) Int. Cl.

G01N 27/26(2006. 01)

G01N 33/53(2006. 01)

审查员 许珊萍

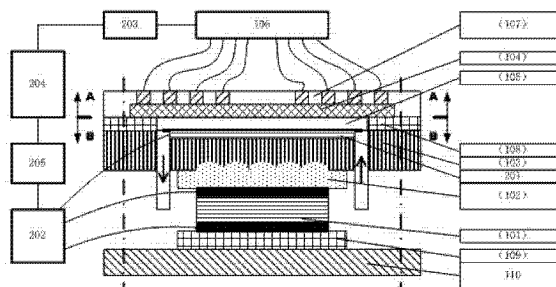
权利要求书2页 说明书8页 附图2页

(54) 发明名称

一种电化学免疫生物传感器检测装置及检测分析方法

(57) 摘要

本发明公开一种电化学免疫生物传感器检测装置及检测分析方法。该装置包括声能传输与电化学免疫反应检测装置部分、控制检测部分。电化学免疫反应检测装置部分包括超声换能器、超声耦合胶体、声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板、可更换电化学免疫生物敏感膜基片、高分子金膜电极基板、多通道微弱电信号检测电路；控制检测部分包括超声传感器、PID 超声能量模式控制模块、微弱电信号处理模块、数据分析及反馈控制模块、能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库。该方法是调节超声波换能器的辐射能量场；进行微流动注射分析，同时进行超声发射能量智能测控。本发明表现出优越的检测低限、灵敏度、精确性、重复性和稳定性，制备方法成熟简单。



1. 一种电化学免疫生物传感器检测装置，其特征在于包括声能传输与电化学免疫反应检测装置部分、控制检测部分；

所述的声能传输与电化学免疫反应检测装置部分从下至上依次包括换能器固定基板(110)、声能量阻尼衰减片(109)、高频超声换能器(101)、高分子超声耦合胶体(102)、声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板(103)、突触点硅橡胶密封圈(108)、可更换电化学免疫生物敏感膜基片(104)、高分子金膜电极基板(107)、多通道微弱电信号检测电路(106)；

由声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板(103)、突触点硅橡胶密封圈(108)、高分子金膜电极基板(107)从下至上依次设置构成流动注射反应池/注射装置；

高频超声换能器(101)放置在高分子超声耦合胶体(102)与声能量阻尼衰减片(109)之间，通过PID超声能量模式控制模块(202)来控制高频超声换能器(101)超声能量的辐射强度；

高分子超声耦合胶体(102)由超声耦合剂与高分子薄膜构成；其中高分子薄膜的声阻抗特性与所选超声耦合剂的声阻抗特性相近；

高分子超声耦合胶体(102)上表面设有声透镜阵列，用于聚焦超声能量，高分子超声耦合胶体(102)通过声透镜阵列与声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板(103)紧贴；声透镜的凹球面尺寸由焦距而定，焦距为透镜表面到超声束聚焦的焦点的距离；通过调整声透镜的凹球面尺寸，控制焦点到可更换电化学免疫生物敏感膜基片(104)表面的垂直距离为1~2mm；

声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板(103)开有两个通道作为流体传输的进出口，且两通道分别设于高分子超声耦合胶体(102)的两侧；声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板(103)上表面开有凹槽，用于放置超声传感器(201)；该凹槽与两通道构成倒置的U型结构，使得流体从一个通道流向另一个通道；

在声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板(103)边沿设有突触点硅橡胶密封圈(108)，用于密封流动注射反应池/注射装置，调节流动注射反应池/注射装置的流动反应室(105)的高度，并与高分子金膜电极基板(107)形成封闭结构；

所述的流动注射反应池/注射装置的流动反应室(105)的高度为1~3mm；

所述的高分子金膜电极基板(107)的材质为聚甲基丙烯酸甲酯PMMA或聚二甲基硅氧烷PDMS；

高分子金膜电极基板(107)上开有多个厚度为2mm的凹槽，用于嵌入电极，电极与可更换电化学免疫生物敏感膜基片(104)表面导通，将可更换电化学免疫生物敏感膜基片(104)采集到电信号通过电极传递到多通道微弱电信号检测电路(106)；

所述的电极为双通道微间距三电极结构；

所述的可更换电化学免疫生物敏感膜基片(104)是由硅烷、戊二醛或壳聚糖通过交联方法进行电极表面修饰，形成基膜；然后在基膜上固定抗原分子或抗体分子和催化酶，其中催化酶用以催化氧化还原反应，产生电活性物质而引起电流变化；

所述的控制检测部分包括超声传感器(201)、PID超声能量模式控制模块(202)、微弱电信号处理检测模块(203)、数据分析及反馈控制模块(204)、能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库(205)；

PID超声能量模式控制模块(202)作为控制处理单元，接收超声传感器(201)的超声

能量信号以及能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 (205) 的反馈信号, PID 超声能量模式控制模块 (202) 驱动高频超声换能器 (101) 启动工作模式; 微弱电信号处理检测模块 (203) 接收多通道微弱电信号检测电路 (106) 的采集信号, 能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 (205) 通过数据分析及反馈控制模块 (204) 分析处理微弱电信号处理检测模块 (203) 的信号, 然后将识别后的信号传递 PID 超声能量模式控制模块 (202), 最终调节高频超声换能器 (101) 的超声发射模式。

2. 利用如权利要求 1 所述的一种电化学免疫生物传感器检测装置进行电化学免疫生物反应测定的分析方法, 其特征在于该方法包括以下步骤:

步骤 (1). 调节高频超声换能器 (101) 的辐射能量场:

通过高分子超声耦合胶体 (102) 上声透镜的凹球面尺寸来调节焦距, 使焦点到电化学免疫生物敏感膜基片 (104) 表面的垂直距离为 1 ~ 2mm;

步骤 (2). 进行微流动注射分析:

将待测溶液、载流经一通道恒速注入至流动注射反应池 / 注射装置的流动反应室 (105) 达到二者的混合, 最终经另一通道流出;

在进行微流动注射分析过程中, 可更换电化学免疫生物敏感膜基片 (104) 上若固定有抗原分子, 则使得待测溶液中的相应抗体发生特异性结合反应;

所述的流动注射反应池 / 注射装置的流动反应室 (105) 通过光刻或蚀刻的方法实现了反应池的微型化;

步骤 (3). 超声发射能量智能测控过程:

在进行步骤 (2) 的过程中, 同时进行超声发射能量智能测控; 所述的智能测控过程包括两条反馈信号通路, 分别是超声能量的反馈信号通路、检测反馈通路;

所述的超声能量的反馈信号通路是由超声传感器 (201) 来检测超声辐射能量的强度, 该超声传感器 (201) 与高频超声换能器 (101) 以及 PID 超声能量模式控制模块 (202) 构成一条闭环测控系统;

PID 超声能量模式控制模块 (202) 接收超声传感器 (201) 的超声能量信号, PID 超声能量模式控制模块 (202) 驱动高频超声换能器 (101) 启动工作模式;

所述的检测反馈通路是由 PID 超声能量模式控制模块 (202)、微弱电信号处理检测模块 (203)、数据分析及反馈控制模块 (204)、能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 (205) 构成闭环测控系统;

微弱电信号处理检测模块 (203) 处理多通道微弱电信号检测电路 (106) 获得的电化学信号, 通过超声能量模式控制模块 (202) 调节高频超声换能器的辐射能量来确定较优的免疫反应效果, 数据分析及反馈控制模块 (204) 将对不同免疫反应体系的参数集合进行整合, 形成能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 (205), 这些数据库的内容将为不同免疫检测分析体系的应用提供必要的 PID 控制参数; 进一步地, 利用标准质控免疫反应溶液和超声传感器 (201) 所测量的超声能量反馈参数, 来获得超声辐射能量的控制参数对电化学免疫反应的动态效果, 通过对反应效果参数与超声能量控制参数之间动力学数据进行拟合, 获得用于控制的优化参数, 这些优化参数与 PID 控制参数进行信息融合, 获得待测溶液中目标抗体或抗原的浓度。

一种电化学免疫生物传感器检测装置及检测分析方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物传感器技术领域,涉及一种电化学免疫生物传感器检测装置及检测分析方法,具体是基于超声化学原理的电化学免疫传感器检测装置及电化学免疫生物反应测定的分析方法。

背景技术

[0002] 作为一种免疫分析方法与电化学检测相结合的一种免疫分析方法,电化学免疫生物传感器由于其选择性好,分析速度快,操作简易,容易构成具有电化学分析的高灵敏度,又具有免疫分析的高选择性和专一性的、高性能价格比的测试仪器的特点,而正大量的应用在医疗健康,食品安全,环境监测等各个领域。但是它的应用过程中也存在一些问题,例如对一致性问题、检测限、灵敏度和检测速度等性能有更高要求的应用中则表现出性能受限制的一面。如何开发出性能卓越,差异性小,一致性高的电化学免疫生物传感器或者检测系统就成为当前研发中一个极其关键的热点主题。近几十年来,免疫分析技术结合了抗体-抗原间的特异性识别反应和电化学、光化学、光谱学、声表面波等技术的灵敏和方便等特性,例如对肿瘤标志物、疾病标志蛋白质、重金属离子、有机毒性物质等目标分析物的高选择性和高灵敏性,成为临床、生物化学、环境分析等各个领域重要的分析手段之一。相对于放射免疫分析法、酶联免疫分析法、荧光免疫分析法和化学发光分析法等分析检测方法而言,电化学免疫生物传感器检测具有无放射污染、所需仪器相当简单灵活、检测限低、灵敏度高和动力学范围宽以及能够易于多种不同的模式灵活地集成等优点,与基于化学发光的光化学免疫生物传感检测一道成为重要的具有更大发展前景的检测手段而备受推崇。

[0003] 微流动注射分析方法不但具有操作简便灵活、分析速度快、易于自动化和准确度高优点,而且具有应用面广阔的特点。可以应用于异相免疫反应也可以适用于均相免疫反应。相对于一些常规分析方法操作步骤的繁琐,分析时间较长,样品消耗量大,测定成本高等问题,微流动注射技术与免疫分析和电化学检测方法相结合而发展起来的微流动注射免疫分析技术已被证明为一种有力的检测分析方法,相对应的分析检测仪器装置也已经被广泛地应用于环境监测、药物分析、食品检验和临床分析的众多关键领域。但是由于常规的免疫反应受限于其对反应条件和反应体系的严格要求,而影响了反应的效率,导致分析时间与分析性能依然成为一个不容忽视的重要问题。如何有效解决这一重要问题,也就是在尽量缩短分析时间的同时保证和提高分析性能的重要问题,成为本发明的重要特征。而针对不同电化学免疫生物反应体系的特点,从系统整体的角度考虑,将超声化学效应的测控参数与电化学免疫生物传感器性能参数技术相结合并形成可操作的质控过程信息也是本发明具有广泛适用性的重要关键特征。

[0004] 电化学免疫生物传感器具有选择性好,分析速度快,操作简易,构成测试仪器具有高性能价格比等特点,但是传感器固相表面所存在的反应效率问题还是在一定程度上制约了其更为广泛的应用前景。那么从检测系统整体的角度考虑,引入新的方法和技术手段有效地解决传感器固相表面免疫反应效率的问题将会进一步有力地推动电化学免疫生物传

传感器技术的发展,扩大应用范围和应用深度。

[0005] 首先免疫生物传感器固相载体上的抗体(抗原)以及催化反应的酶蛋白与被检测液中相应的抗原(抗体)之间存在两相间的能量壁垒——Nernst 层,如何克服这种壁垒限制提高反应效率是一个重要的问题。其次即使已经跨越这一能量壁垒的抗体/抗原发生有效反应尺度内的碰撞或者结合,也还存在着一定非特异性结合的概率,这种现象会带来背景噪声和干扰,导致检测限、灵敏度和重复一致性等性能的降低。因此如何促进非特异性结合向特异性结合转变,并提高转变的效率,也将是如何提高免疫反应效率的重要问题之一。

[0006] 根据超声化学的原理,在化学反应中,超声能量带来两个基本效应,一是振荡效应,二是能量扩散效应。根据对免疫反应中所存在问题的分析发现,可以利用超声能量的这些作用促进免疫反应的成分穿越不同相面之间的 Nernst 层而有效地发生反应。这种作用的效果也已经为许多实验工作所证实。另外,针对抗体/抗原之间的特异性结合力远远大于非特异性的结合力,超声效应也能够加速实现非特异性结合向特异性结合的转变,也就是促进结合蛋白构形的重新选择性排列。通过控制超声能量强度在一定范围内来减少能量扰动对特异性结合的影响,保障其有效特异性结合的转变速率。这些作用的效果在一定程度上通过物理方式促进反应速率,增加特异性免疫反应效率而在系统的水平上提高电化学免疫生物传感检测的检测低限、灵敏度和重复一致性等性能。

发明内容

[0007] 超声辐射能量加速电化学免疫生物反应,特别是以微流动注射技术和电化学免疫生物传感器技术为基础构成面向免疫生物反应的分析测定方法及装置。与典型的免疫生物传感器的固相表面效应一样,电化学免疫生物传感器的固相表面也对免疫反应存在着多方面的重要影响,而免疫生物传感检测过程中抗体与抗原或者其他酶标记物之间的扩散效应限制是其中一个重要的负面影响因素。这种因素的存在不但影响检测分析过程中反应速度,同时也影响着结果的所体现的灵敏度,最终限制了检测分析的效果。本发明针对这一重要问题,针对电化学免疫生物传感检测系统的工作特点,根据超声化学的原理引入了可控的超声能量辐射功能,通过对传感器固相表面区域适度的能量扰动来提高免疫生物传感器敏感膜上免疫反应的速度,获得均匀反应的效果,促进深度免疫反应,提高电化学免疫生物传感检测的灵敏度和一致重复性。免疫生物传感检测过程中的质量控制也是一个非常重要的问题,根据超声化学的原理引入的可控的超声能量辐射技术可以成为质控过程的基础技术内容。通过与质控过程紧密结合,可以规范地获得必要的测控参数与性能参数而形成关系信息数据库。这一信息数据库是构成整个可控超声能量辐射电化学免疫生物传感器检测装置系统的关键组成部分。

[0008] 本发明的特征是从系统整体水平上出发,将超声能量辐射功能和电化学免疫生物传感器检测分析相结合,且在系统整体的水平上,结合微流动注射技术,最终形成基于超声化学原理的电化学免疫传感器检测装置及电化学免疫生物反应测定的分析方法,来提高检测分析系统的检测低限、灵敏度和重复一致性等性能指标。并且针对不同电化学免疫生物反应体系的特点,在系统整体水平上,将超声化学效应的测控参数与电化学免疫生物传感器技术的性能参数相结合,并形成可操作的质控过程信息以备广泛的应用之需。这些是本发明的重要关键特征。

[0009] 本发明的一个目的是针对现有技术的不足,提供一种电化学免疫生物传感器检测装置。

[0010] 本发明装置包括声能传输与电化学免疫反应检测装置部分、控制检测部分。

[0011] 所述的电化学免疫反应检测装置部分从下至上依次包括换能器固定基板 110、声能量阻尼衰减片 109、超声换能器 101、超声耦合胶体 102、声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板 103、突触点硅橡胶密封圈 108、可更换电化学免疫生物敏感膜基片 104、高分子金膜电极基板 107、多通道微弱电信号检测电路 106;

[0012] 由声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板 103、突触点硅橡胶密封圈 108、高分子金膜电极基板 107 从下至上依次设置构成流动注射反应池 / 注射装置;

[0013] 高频超声换能器 101 放置在高分子超声耦合胶体 102 与声能量阻尼衰减片 109 之间,通过 PID 超声能量模式控制模块 202 来控制高频超声换能器 101 超声能量的辐射强度。

[0014] 超声耦合胶体 102 由超声耦合剂与高分子薄膜构成;其中高分子薄膜的声阻抗特性与所选超声耦合剂的声阻抗特性相近。

[0015] 超声耦合胶体 102 上表面设有声透镜阵列,用于聚焦超声能量,超声耦合胶体 102 通过声透镜阵列与声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板 103 紧贴;声透镜的凹球面尺寸由焦距而定,焦距为透镜表面到超声束聚焦的焦点的距离。通过调整声透镜的凹球面尺寸,控制焦点到电化学免疫生物敏感膜基片 104 表面的垂直距离为 1 ~ 2mm。

[0016] 声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板 103 开有两个通道作为流体传输的进出口,且两通道分别设于超声耦合胶体 102 的两侧;声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板 103 上表面开有凹槽,用于放置超声传感器 201。该凹槽与两通道构成倒置的 U 型结构,使得流体从一个通道流向另一个通道。

[0017] 在声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板 103 边沿设有突触点硅橡胶密封圈 108,用于密封流动注射反应池 / 注射装置,调节流动注射反应池 / 注射装置的流动反应室 105 的高度,并与高分子金膜电极基板 107 形成封闭结构。

[0018] 所述的流动注射反应池 / 注射装置的流动反应室 105 的高度为 1 ~ 3mm。

[0019] 所述的高分子金膜电极基板 107 的材质为聚甲基丙烯酸甲酯 PMMA 或聚二甲基硅氧烷 PDMS;

[0020] 高分子金膜电极基板 107 上开有多个厚度为 2mm 的凹槽,用于嵌入电极,电极与可更换电化学免疫生物敏感膜基片 104 表面导通,将可更换电化学免疫生物敏感膜基片 104 采集到电信号通过电极传递到多通道微弱电信号检测电路 106;

[0021] 所述的电极为双通道微间距三电极结构;

[0022] 所述的可更换电化学免疫生物敏感膜基片 104 是由硅烷、戊二醛或壳聚糖通过交联方法进行电极表面修饰,形成基膜;然后在基膜上固定抗原分子(或抗体分子)和催化酶,其中催化酶用以催化氧化还原反应,产生电活性物质而引起电流变化,常用催化酶的种类为碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶等。

[0023] 所述的控制检测部分包括超声传感器 201、PID 超声能量模式控制模块 202、微弱电信号处理模块 203、数据分析及反馈控制模块 204、能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 205;

[0024] PID 超声能量模式控制模块 202 作为控制处理单元,接收超声传感器 201 的超声能

量信号以及能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 205 的反馈信号, PID 超声能量模式控制模块 202 驱动超声换能器 101 启动工作模式;微弱电信号处理模块 203 接收多通道微弱电信号检测电路 106 的采集信号,能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 205 通过数据分析及反馈控制模块 204 分析处理微弱电信号处理模块 203 的信号,然后将识别后的信号传递 PID 超声能量模式控制模块 202,最终调节超声换能器 101 的超声发射模式(频率与强度)。

[0025] 本发明的另一个目的是提供电化学免疫生物反应测定的分析方法,具体是利用可控超声辐射能量来提升电化学免疫反应效率的微流动注射电化学免疫生物检测分析方法。

[0026] 步骤(1). 调节超声波换能器 101 的辐射能量场

[0027] 通过超声耦合胶体 102 上声透镜的凹球面尺寸来调节焦距,使焦点到可更换电化学免疫生物敏感膜基片 104 表面的垂直距离为 1 ~ 2mm。

[0028] 所述的超声耦合胶体 102 上声透镜的凹球面的特征尺寸由超声频率、聚焦的能量大小、高分子金膜电极基板 107 材料与厚度以及流动注射反应池 / 注射装置的流动反应室 105 的特征尺寸等具体参数决定。

[0029] 总体的原则是:①调节超声波换能器 101 强度使流动注射反应池 / 注射装置的流动反应室 105 内待测溶液能够产生机械与温度的扰动,促进扩散效应,克服反应的能量壁垒,提高了反应效率;②调节到适当强度,可促进待测溶液中抗体 / 抗原间的非特异性结合分子分离发生重排,并向特异性结合转变,使得待测溶液反应充分。

[0030] 步骤(2). 进行微流动注射分析

[0031] 将待测溶液、载流经一通道恒速注入至流动注射反应池 / 注射装置的流动反应室 105 达到二者的混合,最终经另一通道流出。

[0032] 在进行微流动注射分析过程中,可更换电化学免疫生物敏感膜基片 104 上若固定有抗原分子,则使得待测溶液中的相应抗体发生特异性结合反应。

[0033] 所述的流动注射反应池 / 注射装置的流动反应室 105 通过光刻或蚀刻的方法实现了反应池的微型化。

[0034] 步骤(3). 超声发射能量智能测控过程

[0035] 在进行步骤(2)的过程中,本发明同时进行超声发射能量智能测控。所述的智能控制过程包括两条反馈信号通路,分别是超声能量的反馈信号通路、检测反馈通路。

[0036] 所述的超声能量的反馈信号由超声传感器 201 来检测超声辐射能量的强度,其与超声换能器 101 以及 PID 超声能量模式控制模块 202 构成一条闭环测控系统。

[0037] PID 超声能量模式控制模块 202 接收超声传感器 201 的超声能量信号, PID 超声能量模式控制模块 202 驱动超声换能器 101 启动工作模式。

[0038] 所述的检测反馈通路是由 PID 超声能量模式控制模块 202、微弱电信号处理检测模块 203、数据分析及反馈控制模块 204、能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 205 构成闭环测控系统。

[0039] 微弱电信号处理检测模块 203 处理多通道微弱电信号检测电路 106 获得的电化学信号,通过超声能量模式控制模块 202 调节超声换能器的辐射能量来确定较优的免疫反应效果,数据分析及反馈控制模块 204 将对不同免疫反应体系的参数集合进行整合,形成能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 205,这些数据库的内容将为不同免疫检测分析

体系的应用提供必要的PID控制参数。进一步地,利用标准质控免疫反应溶液和超声传感器201所测量的超声能量反馈参数,来获得超声辐射能量的控制参数对电化学免疫反应的动态效果,通过对反应效果参数与超声能量控制参数之间动力学数据进行拟合,获得用于控制的优化参数,这些优化参数与PID控制参数进行信息融合,获得待测溶液中目标抗体或抗原的浓度。

[0040] 所述的智能测控方法依据事先得到的标准电化学反应强度的特征动力学曲线,获得超声辐射能量的控制参数,控制电化学免疫反应。

[0041] 本发明的有益效果是:

[0042] 基于超声化学原理,在系统整体的水平上,结合微流动注射技术,整合控制检测部分与交联型电化学免疫生物传感器,提供一种全新的利用可控物理辐射能量来提升电化学免疫反应效率,来提高检测分析系统的检测低限、灵敏度和重复一致性等性能指标。并且针对不同电化学免疫生物反应体系的特点,在系统整体水平上,将超声化学效应的测控参数与电化学免疫生物传感器技术的性能参数相结合,并形成可操作的质控过程信息以备广泛的应用之需。使之成功地适应于临床、生物化学、环境分析等各个领域的更高水平检测分析要求。

[0043] A)优越的一致重现性。样品与敏感物质的反应的各个阶段由于超声能量聚焦在反应面附近产生的微搅拌和反应能量传递效应,使得反应界面的均匀化得到了较大提升,较好地保证了一致重现性。

[0044] B)加快了反应样品以及实际反应进程,极大地缩短了反应时间,提高检测效率,非常适合于临床、环境监测、食品安全等多个领域的在线快速检测应用。

[0045] C)利用硅烷、戊二醛、壳聚糖等交联固定抗原、抗体分子或者催化酶,具有耗材成本低,技术成熟等特征。

[0046] 本发明表现出优越的检测低限、灵敏度、精确性、重复性和稳定性,制备方法成熟简单,有利于发展成极具市场实际应用价值的产品进行推广。

[0047] 说明书附图

[0048] 图1为本发明装置的结构示意图;

[0049] 图2为本发明装置的A-A截面部分结构示意图;

[0050] 图3为本发明装置的B-B截面部分结构示意图。

具体实施方式

[0051] 下面结合附图对本发明做进一步的分析。

[0052] 实施例1.如图1、图2、图3所示,本发明装置包括声能传输与电化学免疫反应检测装置部分、控制检测部分。

[0053] 电化学免疫反应检测装置部分从下至上依次包括换能器固定基板110、声能量阻尼衰减片109、超声换能器101、超声耦合胶体102、声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板103、突触点硅橡胶密封圈108、可更换电化学免疫生物敏感膜基片104、高分子金膜电极基板107、多通道微弱电信号检测电路106;

[0054] 由声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板103、突触点硅橡胶密封圈108、高分子金膜电极基板107从下至上依次设置构成流动注射反应池/注射装置;

[0055] 高频超声换能器 101 放置在高分子超声耦合胶体 102 与声能量阻尼衰减片 109 之间,通过 PID 超声能量模式控制模块 202 来控制高频超声换能器 101 超声能量的辐射强度。

[0056] 超声耦合胶体 102 由超声耦合剂与高分子薄膜构成;其中高分子薄膜的声阻抗特性与所选超声耦合剂的声阻抗特性相近。

[0057] 超声耦合胶体 102 上表面设有声透镜阵列,用于聚焦超声能量,超声耦合胶体 102 通过声透镜阵列与声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板 103 紧贴;声透镜的凹球面尺寸由焦距而定,焦距为透镜表面到超声束聚焦的焦点的距离。通过调整声透镜的凹球面尺寸,控制焦点到电化学免疫生物敏感膜基片 104 表面的垂直距离为 1 ~ 2mm。

[0058] 声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板 103 开有两个通道作为流体传输的进出口,且两通道分别设于超声耦合胶体 102 的两侧;声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板 103 上表面开有凹槽,用于放置超声传感器 201。该凹槽与两通道构成倒置的 U 型结构,使得流体从一个通道流向另一个通道。

[0059] 在声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板 103 边沿设有突触点硅橡胶密封圈 108,用于密封流动注射反应池/注射装置,调节流动注射反应池/注射装置的流动反应室 105 的高度,并与高分子金膜电极基板 107 形成封闭结构。

[0060] 所述的流动注射反应池/注射装置的流动反应室 105 的高度为 1 ~ 3mm。

[0061] 所述的高分子金膜电极基板 107 的材质为聚甲基丙烯酸甲酯 PMMA 或聚二甲基硅氧烷 PDMS;

[0062] 高分子金膜电极基板 107 上开有多个厚度为 2mm 的凹槽,用于嵌入电极,电极与可更换电化学免疫生物敏感膜基片 104 表面导通,将可更换电化学免疫生物敏感膜基片 104 采集到电信号通过电极传递到多通道微弱电信号检测电路 106;

[0063] 所述的电极为双通道微间距三电极结构;

[0064] 所述的可更换电化学免疫生物敏感膜基片 104 是由硅烷、戊二醛或壳聚糖通过交联方法进行电极表面修饰,形成基膜;然后在基膜上固定抗原分子(或抗体分子)和催化酶,其中催化酶用以催化氧化还原反应,产生电活性物质而引起电流变化,常用催化酶的种类为碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶等。

[0065] 所述的控制检测部分包括超声传感器 201、PID 超声能量模式控制模块 202、微弱电信号处理模块 203、数据分析及反馈控制模块 204、能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 205;

[0066] PID 超声能量模式控制模块 202 作为控制处理单元,接收超声传感器 201 的超声能量信号以及能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 205 的反馈信号,PID 超声能量模式控制模块 202 驱动超声换能器 101 启动工作模式;微弱电信号处理模块 203 接收多通道微弱电信号检测电路 106 的采集信号,能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 205 通过数据分析及反馈控制模块 204 分析处理微弱电信号处理模块 203 的信号,然后将识别后的信号传递 PID 超声能量模式控制模块 202,最终调节超声换能器 101 的超声发射模式(频率与强度)。

[0067] 实施例 2. 一种电化学免疫生物反应测定的分析方法,具体是利用可控超声辐射能量来提升电化学免疫反应效率的微流动注射电化学免疫生物检测分析方法。

[0068] 步骤 (1). 调节超声波换能器 101 的辐射能量场

[0069] 通过超声耦合胶体 102 上声透镜的凹球面尺寸来调节焦距,使焦点到可更换电化学免疫生物敏感膜基片 104 表面的垂直距离为 1 ~ 2mm。

[0070] 所述的超声耦合胶体 102 上声透镜的凹球面的特征尺寸由超声频率、聚焦的能量大小、高分子金膜电极基板 107 材料与厚度以及流动注射反应池 / 注射装置的流动反应室 105 的特征尺寸等具体参数决定。

[0071] 总体的原则是:①调节超声波换能器 101 强度使流动注射反应池 / 注射装置的流动反应室 105 内待测溶液能够产生机械与温度的扰动,促进扩散效应,克服反应的能量壁垒,提高了反应效率;②调节到适当强度,可促进待测溶液中抗体 / 抗原间的非特异性结合分子分离发生重排,并向特异性结合转变,使得待测溶液反应充分。

[0072] 步骤 (2). 进行微流动注射分析

[0073] 将待测溶液、载流经一通道恒速注入至流动注射反应池 / 注射装置的流动反应室 105 达到二者的混合,最终经另一通道流出。

[0074] 在进行微流动注射分析过程中,可更换电化学免疫生物敏感膜基片 104 上若固定有抗原分子,则使得待测溶液中的相应抗体发生特异性结合反应。

[0075] 所述的流动注射反应池 / 注射装置的流动反应室 105 通过光刻或蚀刻的方法实现了反应池的微型化。

[0076] 步骤 (3). 超声发射能量智能测控过程

[0077] 在进行步骤 (2) 的过程中,本发明同时进行超声发射能量智能测控。所述的智能控制过程包括两条反馈信号通路,分别是超声能量的反馈信号通路、检测反馈通路。

[0078] 所述的超声能量的反馈信号由超声传感器 201 来检测超声辐射能量的强度,其与超声换能器 101 以及 PID 超声能量模式控制模块 202 构成一条闭环测控系统。

[0079] PID 超声能量模式控制模块 202 接收超声传感器 201 的超声能量信号,PID 超声能量模式控制模块 202 驱动超声换能器 101 启动工作模式。

[0080] 所述的检测反馈通路是由 PID 超声能量模式控制模块 202、微弱电信号处理检测模块 203、数据分析及反馈控制模块 204、能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 205 构成闭环测控系统。

[0081] 微弱电信号处理检测模块 203 处理多通道微弱电信号检测电路 106 获得的电化学信号,通过超声能量模式控制模块 202 调节超声换能器的辐射能量来确定较优的免疫反应效果,数据分析及反馈控制模块 204 将对不同免疫反应体系的参数集合进行整合,形成能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库 205,这些数据库的内容将为不同免疫检测分析体系的应用提供必要的 PID 控制参数。进一步地,利用标准质控免疫反应溶液和超声传感器 201 所测量的超声能量反馈参数,来获得超声辐射能量的控制参数对电化学免疫反应的动态效果,通过对反应效果参数与超声能量控制参数之间动力学数据进行拟合,获得用于控制的优化参数,这些优化参数与 PID 控制参数进行信息融合,获得待测溶液中目标抗体或抗原的浓度。

[0082] 所述的智能测控方法依据事先得到的标准电化学反应强度的特征动力学曲线,获得超声辐射能量的控制参数,控制电化学免疫反应。

[0083] 实施例 3. 可更换电化学免疫生物敏感膜基片 104 的典型制备流程:① 将待测抗原溶解于缓冲溶液,所选择的缓冲溶液因抗原种类而异,原则是使免疫反应的活性和化学

发光信号响应达到最大。② 对传感器载体表面进行预处理得到平整,干净,亲水性的表面。③ 配置一定浓度环氧丙烷基三甲基硅烷溶液,放置 60 分钟使其充分水解,然后移取 50 微升溶液滴于载体表面,在 90℃左右加热 60 分钟。滴 50 微升 1% 壳聚糖醋酸溶液于 GPS 硅烷化处理过的玻片上,再置于烘箱中以 105℃的条件下加热 60 分钟,得到硅烷交联戊二醛基膜。④ 将 50 微升抗原溶液滴于硅烷交联戊二醛(壳聚糖)基膜上,在 4℃冰箱中缓慢挥发 8 小时。⑤ 用 50 微升牛血清白蛋白溶液滴于(4)步骤所得基膜上,封闭活性点,得到免疫功能膜。⑥ 影响所获得免疫生物功能基膜和免疫传感器性能的主要因素存在三个方面:(a) 足够的时间和适宜的温度使环氧丙烷基三甲基硅烷充分水解反应;(b) 免疫生物传感器的制备受到交联戊二醛(壳聚糖)表面形貌结构的影响,这主要取决于制备过程中环氧丙烷基三甲基硅烷和戊二醛(壳聚糖)的用量,只有用量配比合适,才能获得规则、均匀、一致性好、呈现网孔状结构的交联基膜,从而制备出稳定性高,性能好的免疫功能膜;(c) 缓冲溶液的 pH 值:只有在一定酸度下,抗原才具有最佳活性。如果酸度偏离这一数值,将影响免疫功能基膜和传感器的性能。

[0084] 实施例 4. 待测抗原的测定:(1) 针对异相酶标记电化学免疫反应、异相非酶标记电化学免疫反应、均相酶标记电化学免疫反应、异相非酶标记电化学免疫反应等不同的免疫反应体系,确定免疫测定的优化条件是保证抗体、抗原和标记酶的有效活性,以及电活性的活性条件。(2) 针对异相酶标记电化学免疫反应、异相非酶标记电化学免疫反应、均相酶标记电化学免疫反应、异相非酶标记电化学免疫反应等不同的免疫反应体系,确定不同的,但是各自典型的微流动注射方式和流程注入电化学免疫反应池中,对被检测溶液进行电化学检测分析。根据质控过程中测定的标准曲线进行分析识别,通过多参数信息融合的方式获得样品中目标抗体 / 抗原的浓度。

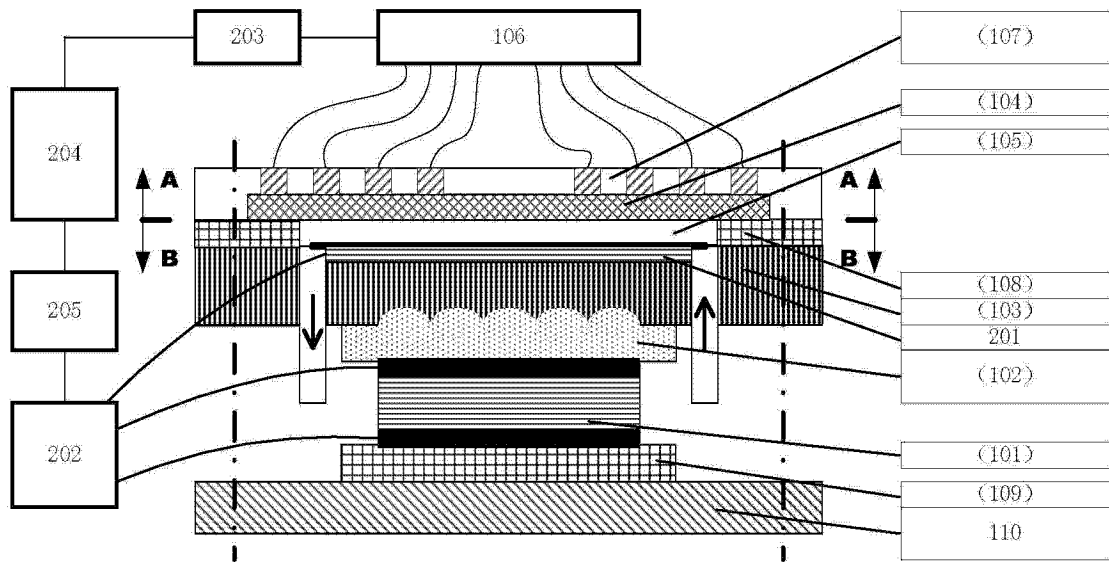


图 1

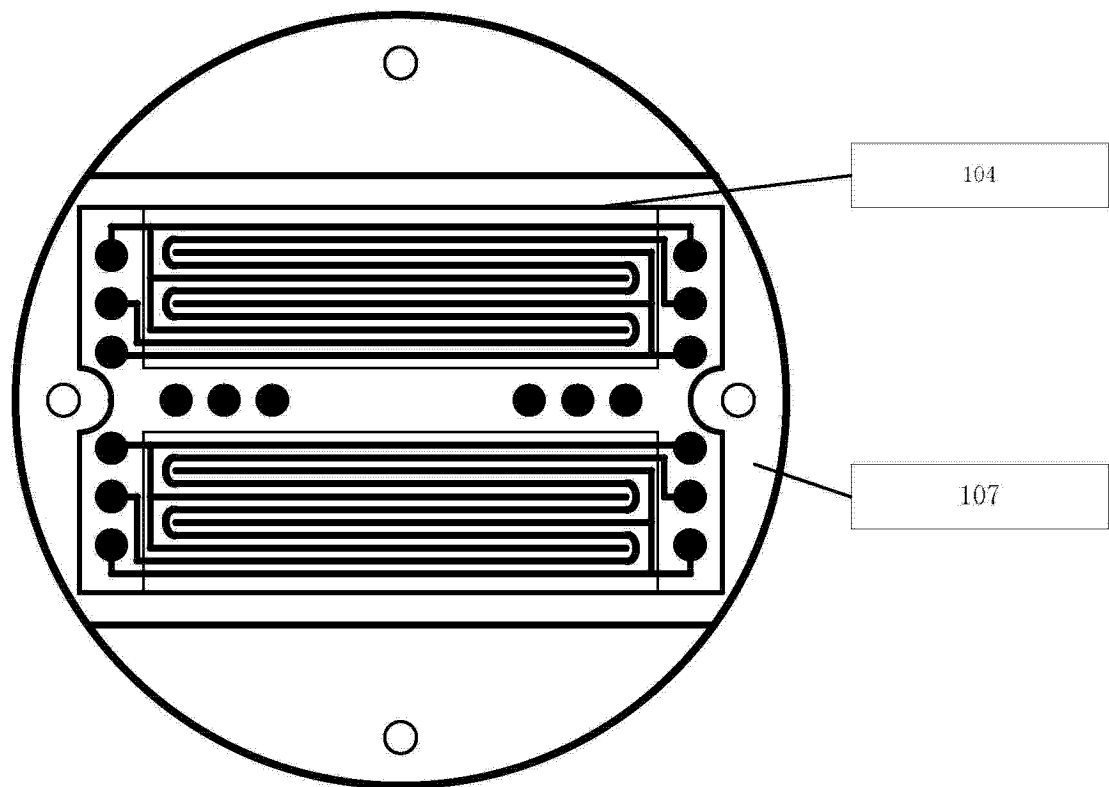


图 2

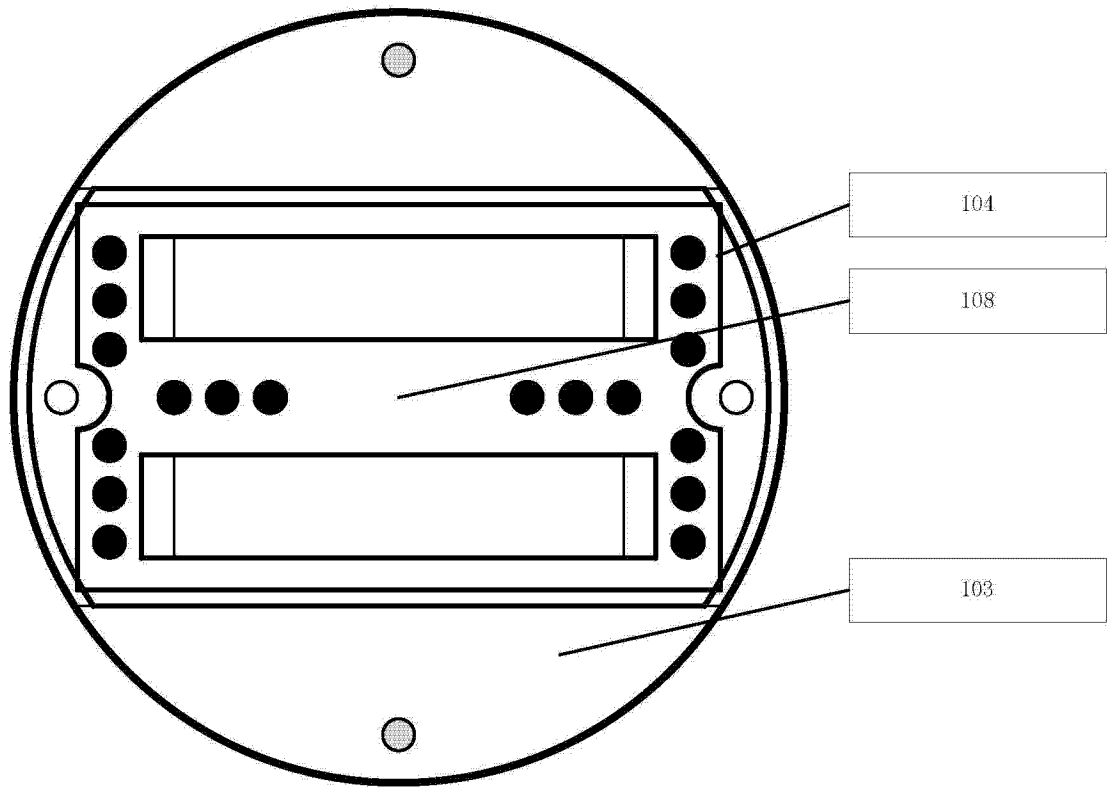


图 3

专利名称(译)	一种电化学免疫生物传感器检测装置及检测分析方法		
公开(公告)号	CN103616417B	公开(公告)日	2015-07-15
申请号	CN201310542743.7	申请日	2013-11-05
[标]申请(专利权)人(译)	刘军		
申请(专利权)人(译)	刘军		
[标]发明人	刘军		
发明人	刘军		
IPC分类号	G01N27/26 G01N33/53		
代理人(译)	杜军		
其他公开文献	CN103616417A		
外部链接	Espacenet	SIPO	

摘要(译)

本发明公开一种电化学免疫生物传感器检测装置及检测分析方法。该装置包括声能传输与电化学免疫反应检测装置部分、控制检测部分。电化学免疫反应检测装置部分包括超声换能器、超声耦合胶体、声聚焦透镜阵列一体化玻璃基板、可更换电化学免疫生物敏感膜基片、高分子金膜电极基板、多通道微弱电信号检测电路；控制检测部分包括超声传感器、PID超声能量模式控制模块、微弱电信号处理模块、数据分析及反馈控制模块、能量控制模式与免疫电化学反应体系数据库。该方法是调节超声波换能器的辐射能量场；进行微流动注射分析，同时进行超声发射能量智能测控。本发明表现出优越的检测低限、灵敏度、精确性、重复性和稳定性，制备方法成熟简单。

