

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200310105072.4

G01N 33/53

G01N 33/543

G01N 33/533

G01N 33/561

G01N 33/558

G01N 21/64

[43] 公开日 2005 年 5 月 18 日

[11] 公开号 CN 1616967A

[22] 申请日 2003. 11. 11

[21] 申请号 200310105072.4

[71] 申请人 中国科学院大连化学物理研究所  
地址 116023 辽宁省大连市中山路 457 号

[72] 发明人 罗勇 林炳承

[74] 专利代理机构 沈阳晨创科技专利代理有限责任  
公司  
代理人 张晨

权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 1 页

[54] 发明名称 一种免疫分析用微流控芯片及其在免疫分析中的应用

## [57] 摘要

一种免疫分析用微流控芯片，其特征在于：该芯片由四个基本单元顺序连接构成，每上一个基本单元的出样端与下一个基本单元的进样端相接；第一个基本单元为进样单元；第二个基本单元为抗体抗原反应单元，微通道全部或部分内壁键合特异性抗体或填充带有特异性抗体的填料；第三个基本单元为柱后荧光标记单元；第四个基本单元为抗原分离检测单元。本发明芯片对目标抗原进行分析能够在短的时间内获取信息，并且操作简单。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、一种免疫分析用微流控芯片,其特征在于:该芯片由四个基本单元顺序连接构成,每上一个基本单元的出样端与下一个基本单元的进样端相接;

第一个基本单元为进样单元;

第二个基本单元为抗体抗原反应单元,微通道全部或部分内壁键合特异性抗体或填充带有特异性抗体的填料;

第三个基本单元为柱后荧光标记单元;

第四个基本单元为抗原分离检测单元。

2、按照权利要求1所述免疫分析用微流控芯片,其特征在于:所述特异性抗体为抗蛋白抗体,抗核酸抗体,抗激素小分子抗体。

3、按照权利要求1所述免疫分析用微流控芯片,其特征在于:所述芯片材料为石英、玻璃、或者PMMA、PDMS聚合物。

4、按照权利要求1所述免疫分析用微流控芯片,其特征在于:抗体抗原反应单元填料为硅胶填充柱,有机聚合物整体柱,硅胶整体柱,硅胶填充整体柱。

5、按照权利要求1所述免疫分析用微流控芯片,其特征在于:所用荧光染料为有机染料,量子点染料,稀土金属染料。

6、按照权利要求1所述免疫分析用微流控芯片,其特征在于:所述进样单元为十字交叉结构,抗体抗原反应单元与柱后荧光标记单元为T字形结构,检测单元为直线结构。

7、权利要求1所述免疫分析用微流控芯片用于核酸分析、细胞表面蛋白质分析、人体内激素分析。

## 一种免疫分析用微流控芯片及其在免疫分析中的应用

### 技术领域:

本发明涉及免疫分析技术，特别提供了一种专门用于免疫分析的微流控芯片。

### 背景技术:

免疫分析是以抗体为分析试剂的分析方法。它具有高选择性、低检测限和应用范围广等特点，是临床、生物制药和环境化学中一种强有力的分析工具。抗体的高度专一性使免疫分析在大量结构类似物存在的前提下能分析出样品中痕量被分析物，各种各样的标记手段，如放射性标记、酶标记、化学发光标记和荧光标记等，使免疫分析又具有极高的选择性。因此，免疫分析特别适合于血液、尿液等复杂样品中低浓度的被分析物的检测。

最常规的免疫分析是将抗体（或抗原）固定在孔板的表面，加入样品孵育30分钟到两个小时，将免疫络合物与游离组分分离后，通过检测免疫络合物的量来确定样品中被分析物的含量。其存在操作烦琐、反应缓慢、重复性较差，并且经常伴随着非特异性吸附等诸多缺点。A. Manz 在1990年提出了微全分析系统（Micro Total Analysis Systems,  $\mu$ -TAS）的概念，为上述问题的解决提供了一种全新的思路。

微全分析系统是一个跨学科的新领域，它利用微机电加工（MEMS）技术与生物技术的结合，把分析实验室的功能集成到一张芯片上。因此，微全分析系统也称为“芯片实验室”（Lab-on-a-Chip）。据芯片结构及工作机理可将微全分析系统分为两大类：微阵列芯片（Microarray chip）和微流控芯片（Microfluidic

chip)。微阵列芯片技术已非常成熟，国外已深度产业化，不是当前科研的重点，而微流控芯片因其分析快速、耗样量极低、操作简单和易于实现自动化等诸多鲜明特点迅速成为分析科学的前沿领域。

相对于传统免疫分析，微流控免疫分析有以下几点优势：(1) 耗样量极少；(2) 操作简单；(3) 可以同时分析多个样品；(4) 可以直接观察抗体和抗原之间的平衡过程，便于实验结果的解析；(5) 检测手段更为丰富；(6) 实验方案设计更灵活；(7) 易于实现高通量。

整体柱又称棒柱、连续床层、无塞柱，它是由单体、引发剂、致孔剂等混合物通过原位制备而成的一个棒状整体，具有制备方法简单、内部结构均匀、重现性好、较高的柱效和可进行快速分离等优点，已在反相色谱、离子交换色谱、疏水作用色谱、亲和色谱、体积排阻色谱中获得了应用，并成功分离了肽、氨基酸、蛋白质、寡核苷酸、芳烃、聚合物等物质。

整体柱按其制备方法来看可以分为4类，分别为硅胶填充柱，有机聚合物整体柱，硅胶整体柱，硅胶填充整体柱。

#### 发明内容：

本发明的目的在于提供一种免疫分析用微流控芯片，用该芯片对目标抗原进行分析能够在短的时间内获取信息，并且操作简单。

本发明提供了一种免疫分析用微流控芯片，其特征在于：该芯片由四个基本单元顺序连接构成，每上一个基本单元的出样端与下一个基本单元的进样端相接；

第一个基本单元为进样单元；

第二个基本单元为抗体抗原反应单元，微通道全部或部分内壁键合特异性抗体或填充带有特异性抗体的填料；

第三个基本单元为柱后荧光标记单元；

第四个基本单元为抗原分离检测单元。

本发明免疫分析用微流控芯片中,特异性抗体可以为抗蛋白抗体,抗核酸抗体,抗激素小分子抗体。

本发明蛋白质分析用微流控芯片材料为可以石英、玻璃、或者 PMMA、PDMS 聚合物。

本发明免疫分析用微流控芯片中,抗体抗原反应单元最好采用整体柱结构,填料可以为硅胶填充柱,有机聚合物整体柱,硅胶整体柱,硅胶填充整体柱。

应该指出,免疫分析技术、整体柱技术都已经是较为成熟的技术,本发明将两者有机地结合于一块微流控芯片上,由于微流控芯片众所周知的优点,使免疫的分析更为快速便捷、准确可靠。

#### 附图说明:

图 1 为一种结构的免疫分析用微流控芯片原理示意;

图 2 为母鸡卵白蛋白的芯片电泳图谱。

#### 具体实施方式:

芯片设计如图 1 所示,材料为石英、玻璃、任何有机材料如 PMMA、PDMS 等等。整个芯片集成了四个基本单元,第一个基本单元为抗原进样单元,由进样通道和主微通道构成的十字交叉结构组成,进行样品进样;第二个基本单元为抗体抗原反应单元,由洗脱剂输运通道与填充带有抗体的填料的主微通道组成,进行抗体抗原反应与洗脱,其填料可以为硅胶填充柱,有机聚合物整体柱,硅胶整体柱,硅胶填充整体柱;第三个基本单元为柱后荧光标记单元,由荧光标记物输运通道与主微通道的一段组成,进行目标检测物的荧光标记;第四个

基本单元为抗原检测单元，由主微通道的最后一段构成，进行目标检测物的激光诱导荧光检测。

#### 实施例 1:

以母鸡卵白蛋白为例，该蛋白质的分子量为 43kDa，由 386 个氨基酸组成。使用的芯片为按图 1 设计的芯片，材料为石英，通道尺寸为  $50\mu\text{m} \times 20\mu\text{m}$ ，第二单元中的通道中，采用聚丙烯酰胺填料。100mg/mL 的母鸡卵蛋白质在进行第一单元的进样，进样通道为 0.5 厘米，分离通道为 2 厘米，选用的缓冲液为 20mmol/L 氢氧化钠和 4% 甲基纤维素溶液为阴极电解质，100mmol/L 磷酸作为阳极电解质，进样中进样电场为 200V/cm，分离电场为 260V/cm，时间大约需要 60 秒；然后在电场作用下部分样品进入第二单元，第二单元中主微通道为 3 厘米，洗脱剂输运通道为 1cm，洗脱剂为 8M 的尿素，缓冲液为 20mmol/L 的硼砂，反应时间为 350 秒，洗脱时间为 80 秒；样品在电场的作用下进入第三单元，第三单元的主微通道为 2 厘米，荧光标记物输运通道为 1 厘米，标记时间为 30 秒，，缓冲液为磷酸盐溶液（67mmol/L、pH 7.6），标记物为 1mmol/L FITC。第四单元为分离检测单元，激光诱导荧光检测，得到的芯片电泳图谱如图 2 所示。

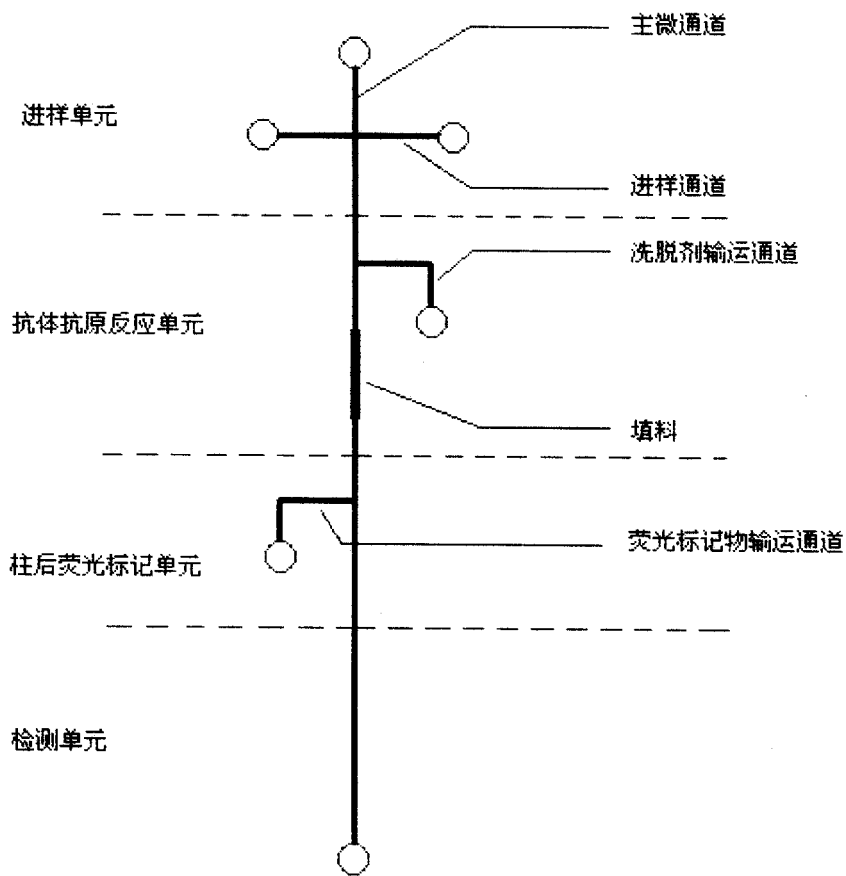


图 1

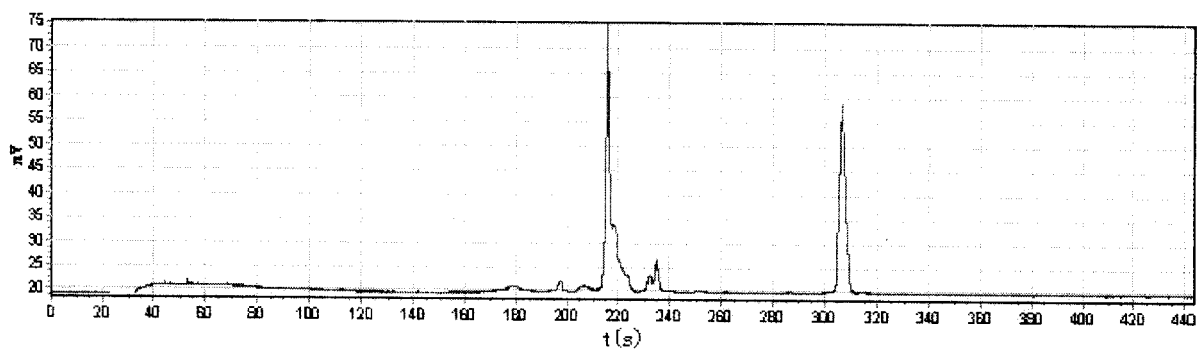


图 2

专利名称(译)	一种免疫分析用微流控芯片及其在免疫分析中的应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN1616967A</a>	公开(公告)日	2005-05-18
申请号	CN200310105072.4	申请日	2003-11-11
[标]申请(专利权)人(译)	中国科学院大连化学物理研究所		
申请(专利权)人(译)	中国科学院大连化学物理研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国科学院大连化学物理研究所		
[标]发明人	罗勇 林炳承		
发明人	罗勇 林炳承		
IPC分类号	G01N21/64 G01N33/53 G01N33/533 G01N33/543 G01N33/558 G01N33/561		
代理人(译)	张晨		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

一种免疫分析用微流控芯片，其特征在于：该芯片由四个基本单元顺序连接构成，每上一个基本单元的出样端与下一个基本单元的进样端相接；第一个基本单元为进样单元；第二个基本单元为抗体抗原反应单元，微通道全部或部分内壁键合特异性抗体或填充带有特异性抗体的填料；第三个基本单元为柱后荧光标记单元；第四个基本单元为抗原分离检测单元。本发明芯片对目标抗原进行分析能够在短的时间内获取信息，并且操作简单。

