



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102933968 B

(45) 授权公告日 2016. 07. 06

(21) 申请号 201180026676. 2

G01N 33/53(2006. 01)

(22) 申请日 2011. 04. 12

G01N 33/58(2006. 01)

(30) 优先权数据

10-2010-0040370 2010. 04. 29 KR

(56) 对比文件

US 2006/0263818 A1, 2006. 11. 23,

WO 2007/102783 A1, 2007. 09. 13,

WO 2008/002462 A2, 2008. 01. 03,

US 2008/0013092 A, 2008. 01. 17,

JP 特开 2008-58302 A, 2008. 03. 13,

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012. 11. 29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2011/002563 2011. 04. 12

审查员 金伟华

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/136485 EN 2011. 11. 03

(73) 专利权人 三星电子株式会社

地址 韩国京畿道

(72) 发明人 金仁煜

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 过晓东

(51) Int. Cl.

G01N 35/02(2006. 01)

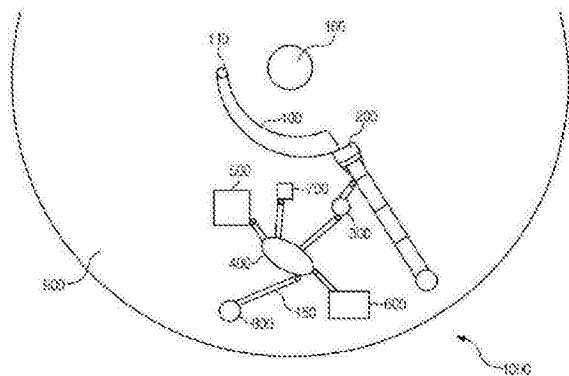
权利要求书2页 说明书9页 附图5页

(54) 发明名称

离心微流体装置和用于免疫测定的方法

(57) 摘要

提供了一种离心微流体装置和使用所述装置的免疫测定方法。所述离心微流体装置包括至少一个微流体结构,所述微流体结构包括:接收流体样本的样本室;与所述样本室相连且包含至少一种标记缀合物的第一反应室;与所述第一反应室相连并且包含捕捉结合剂的第二反应室;与所述第二反应室相连并且包含洗脱缓冲液的缓冲液室;与所述第二反应室相连并且接收所述至少一种标记缀合物的检测室;第一反应室、第二反应室、缓冲液室和检测室穿过其互连的多个通道;以及位于所述多个通道中的至少一个通道中并且打开和关闭所述通道的至少一个阀。



1. 一种离心微流体装置,包括至少一个微流体结构,所述微流体结构包括:
样本室,其接收流体样本;
其特征在于,所述微流体结构进一步包括:
第一反应室,其与所述样本室相连并且包含至少一种标记缀合物,所述标记缀合物能够结合包含在流体样本中的被分析物,以形成第一免疫复合物;
第二反应室,其与所述第一反应室相连并且包含捕捉结合剂,所述捕捉结合剂能够结合所述第一免疫复合物以形成第二免疫复合物;
缓冲液室,其与所述第二反应室相连并且包含洗脱缓冲液,其中借助离心力作为驱动力,所述洗脱缓冲液被从所述缓冲液室传送至所述第二反应室,以从所述第二免疫复合物中离解所述标记缀合物;
检测室,其与所述第二反应室相连并且接收所述至少一种标记缀合物;
多个通道,所述第一反应室、所述第二反应室、所述缓冲液室和所述检测室通过所述多个通道互连;以及
至少一个阀,其位于所述多个通道中的至少一个通道中并且打开和关闭所述通道;
其中所述标记缀合物包括至少一个镧系元素或包含镧系元素的纳米颗粒作为标记;且
其中所述微流体装置进一步包括位于所述微流体结构外部的检测单元,以使用时间分辨荧光测定法测定所述标记缀合物的荧光性。
2. 根据权利要求1的微流体装置,其中所述镧系元素选自Eu、Sm、Dy和Tb。
3. 根据权利要求1的微流体装置,其中所述标记缀合物处于干燥的固态。
4. 根据权利要求1的微流体装置,其中所述标记缀合物包括促使所述流体样本中至少一种被分析物发出光信号的标记,所述标记与所述至少一种被分析物结合。
5. 根据权利要求1的微流体装置,其中所述标记缀合物为包含单个标记物质的不同标记缀合物中的至少一种。
6. 根据权利要求1的微流体装置,其中所述标记缀合物包括结合剂和标记,所述结合剂选自以下组中:抗体、抗原、受体、配体、寡核苷酸、半抗原和适体。
7. 根据权利要求1的微流体装置,其中所述捕捉结合剂结合至所述流体样本中被分析物的反应位点,所述位点不同于所述标记缀合物与所述被分析物起反应的另一反应位点。
8. 根据权利要求1的微流体装置,其中所述捕捉结合剂选自以下组中:抗体、抗原、受体、配体、寡核苷酸、半抗原或适体。
9. 根据权利要求1的微流体装置,其中所述第二反应室包括检测区域,所述捕捉结合剂固定于所述检测区域中。
10. 根据权利要求1的微流体装置,其中所述微流体结构还包括与所述第一反应室相连接的分离室,其中所述分离室将包含被分析物的上层清液与所述流体样本分离。
11. 根据权利要求1的微流体装置,进一步包括位于所述微流体结构外部的检测单元,所述检测单元包括:
发光单元,向所述微流体结构的所述检测室发射光;
光接收单元,接收从所述发光单元发出并穿过所述检测室的光;以及
分析单元,分析由所述光接收单元接收的光的至少一种光学特征并计算所述流体样本中的至少一种被分析物的浓度。

12. 一种使用离心微流体装置的免疫测定方法,其特征在于,所述免疫测定方法包括:
将流体样本注入到所述微流体装置内,离心所述流体样本以获得上层清液,并且将所述上层清液转移至所述微流体装置的第一反应室内;
将所述上层清液中包含的被分析物与所述第一反应室中包含的标记缀合物结合,形成第一免疫复合物;
将所述第一免疫复合物与第二反应室中包含的捕捉结合剂结合,形成第二免疫复合物;
将所述第二免疫复合物转移至所述微流体装置的检测室内;
使用从所述微流体装置的缓冲液室接收的洗脱缓冲液从所述第二免疫复合物中离解所述标记缀合物;以及
利用位于所述微流体装置外部的检测单元和时间分辨荧光测定法来测定标记缀合物的荧光性,所述时间分辨荧光测定法在分辨时间期间测量由所述检测单元的光接收单元接收的光的荧光性,从而计算出所述被分析物的浓度;
其中所述标记缀合物包括至少一个镧系元素或包含镧系元素的纳米颗粒作为标记。
13. 根据权利要求12的免疫测定方法,其中所述镧系元素选自Eu、Sm、Dy和Tb。
14. 根据权利要求12的免疫测定方法,其中所述标记缀合物处于干燥的固态。
15. 根据权利要求12的免疫测定方法,其中所述标记缀合物包括促使所述流体样本中至少一种被分析物发出光信号的标记,所述标记与所述至少一种被分析物结合。
16. 根据权利要求12的免疫测定方法,其中所述标记缀合物为包含单个标记物质的不同标记缀合物中的至少一种。
17. 根据权利要求12的免疫测定方法,其中所述标记缀合物包括结合剂和标记,所述结合剂选自以下组中:抗体、抗原、受体、配体、寡核苷酸、半抗原或适体。
18. 根据权利要求12的免疫测定方法,其中所述捕捉结合剂结合至所述被分析物的反应位点,所述位点不同于所述标记缀合物与所述被分析物起反应的另一反应位点。
19. 根据权利要求12的免疫测定方法,其中所述捕捉结合剂选自以下组中:抗体、抗原、受体、配体、寡核苷酸、半抗原和适体。
20. 根据权利要求12的免疫测定方法,其中所述第二反应室包括检测区域,所述捕捉结合剂固定于所述检测区域中。
21. 根据权利要求12的免疫测定方法,其中所述流体样本、所述上层清液或者所述缓冲液被由所述微流体结构旋转产生的离心力所转移。
22. 根据权利要求12的免疫测定方法,进一步包括使用时间分辨荧光测定法来测定标记缀合物的荧光性,所述时间分辨荧光测定法在分辨时间期间测量由所述检测单元的光接收单元接收的光的荧光性。
23. 根据权利要求22的免疫测定方法,其中在预定的时间延迟之后测定由所述光接收单元接收的光的荧光性。

离心微流体装置和用于免疫测定的方法

技术领域

[0001] 与实施例一致的设备和方法一般涉及离心微流体装置和使用该装置的免疫测定方法,更特别地,涉及使用荧光纳米颗粒在流体样本中检测被分析物的微流体装置以及使用该装置的免疫测定方法。

背景技术

[0002] 微流体装置指的是使用少量流体进行生物或化学反应的装置。

[0003] 通常,微流体装置的结构具有至少一个独立的功能并且包括其内容纳有流体的腔室、流体穿过其流动的通道以及用于控制流体流动的阀门。可通过以不同方式组合这些部件来制造微流体结构。特别地,被称为“芯片上的实验室”的装置包括安装在芯片状平台中的基板上的微流体结构。有了芯片上的实验室,可在很小的芯片上进行一些涉及生物或者化学反应的实验,从而在所述结构上执行若干试验步骤和/或操作。为了在微流体结构内移动流体,通常需要驱动压力。驱动压力可为毛细管压力或者使用额外的泵产生的压力。近年来,已经提出了被称为“实验室CD”(光盘)或“磁盘上的实验室”的磁盘型微流体装置。磁盘上的实验室包括安装在磁盘型旋转平台上的微流体结构,其利用离心力移动微流体结构中的流体以执行一系列任务。还在努力研发能够快速和精确地在磁盘型平台内利用离心力进行所需操作的各种磁盘型微流体装置。

[0004] 但是,对于在一般的临床实验室中使用常规磁盘型微流体装置进行的免疫测定,实验步骤通常很复杂并且需要相对较长的测试时间。

发明内容

[0005] 技术问题

[0006] 示例性实施方式提供了一种用于使用荧光纳米颗粒在流体样本(如液体样本)中检测被分析物的微流体装置以及使用该装置的免疫测定方法。

[0007] 技术方案

[0008] 示例性实施方式提供了一种用于使用荧光纳米颗粒在流体样本(如液体样本)中检测被分析物的微流体装置以及使用该装置的免疫测定方法。

[0009] 根据示例性实施方式的一个方面,提供了一种在流体样本中检测被分析物的微流体装置,包括:具有多个腔室的至少一个微流体结构;接收流体样本的样本室;与所述样本室相连的第一反应室,其中第一反应室包含至少一种标记缀合物;与所述第一反应室相连的第二反应室,其中第二反应室包含捕捉结合剂;与所述第二反应室相连的缓冲液室,其中所述缓冲液室包含洗脱缓冲液;与所述第二反应室相连的检测室,其中所述检测室接收所述至少一种标记缀合物;多个通道,其中所述第一反应室、所述第二反应室、所述缓冲液室和所述检测室通过所述多个通道互连;以及设置在所述多个通道的至少一个通道中的至少一个阀,其中所述至少一个阀打开和关闭所述通道。

[0010] 标记缀合物可包括选自以下组中的至少一个标记:镧系元素(III)螯合物或包含

镧系元素(III)螯合物的纳米颗粒;有色聚合纳米颗粒;荧光材料或包含荧光材料的纳米颗粒;磷光材料或包含磷光材料的纳米颗粒;包含染料的脂质体;酶(HRP,ALP等);超顺磁性材料或包含超顺磁性材料的纳米颗粒;金属纳米颗粒;碳纳米颗粒,等等。

[0011] 标记缀合物可处于干燥的固态。

[0012] 标记缀合物可包括标记,该标记促使流体样本中至少一种被分析物发出光学信号,其中所述标记与所述至少一种被分析物结合。

[0013] 标记缀合物可包含具有单个标记物质的不同标记缀合物中的至少一种,以便同时检测不同的被分析物。

[0014] 标记缀合物可包括结合剂和标记,其中结合剂选自以下组中:抗体、抗原、受体、配体、寡核苷酸、半抗原或者适体。

[0015] 捕捉结合剂可结合至被分析物的反应位点,所述位点不同于标记缀合物与被分析物起反应的另一反应位点。

[0016] 捕捉结合剂可选自以下组中:抗体、抗原、受体、配体、寡核苷酸、半抗原或适体。

[0017] 第二反应室可具有检测区域,在所述区域中捕捉结合剂被固定于此。

[0018] 微流体装置也可具有与第一反应室相连接的分离室,其中所述分离室将包含被分析物的上层清液与流体样本分离。

[0019] 检测单元可位于微流体结构外部,其中所述检测单元包括:朝微流体结构的检测室发射光的发光单元;接收从发光单元发出并穿过检测室的光的光接收单元;以及分析由光接收单元所接收的光的至少一种光学特征并且计算流体样本中的至少一种被分析物的浓度的分析单元。

[0020] 根据另一示例性实施方式的一个方面,提供了一种使用离心微流体装置的免疫测定方法,该方法包括如下步骤:将流体样本注入到微流体装置内,离心流体样本以获得上层清液,并且将上层清液转移至微流体装置的第一反应室内;使上层清液中包含的被分析物与第一反应室中包含的标记缀合物结合,以形成第一免疫复合物;使该第一免疫复合物与第二反应室中包含的捕捉结合剂结合以形成第二免疫复合物;将该第二免疫复合物转移至检测室内;使用从缓冲液室接收的洗脱缓冲液从第二免疫复合物中离解标记缀合物;以及利用位于微流体装置外部的检测单元测定标记缀合物的荧光性,从而计算出被分析物的浓度。

[0021] 标记缀合物可包括选自以下组中的至少一个标记:镧系元素(III)螯合物或包含镧系元素(III)螯合物的纳米颗粒;有色聚合纳米颗粒;荧光材料或包含荧光材料的纳米颗粒;磷光材料或包含磷光材料的纳米颗粒;包含染料的脂质体;酶(辣根过氧化物酶HRP,碱性磷酸酶ALP等);超顺磁性材料或包含超顺磁性材料的纳米颗粒;金属纳米颗粒;碳纳米颗粒,等等。

[0022] 标记缀合物可处于干燥的固态。

[0023] 标记缀合物可包括标记,该标记促使流体样本中至少一种被分析物发出光学信号,其中所述标记与所述至少一种被分析物特定地结合。

[0024] 标记缀合物可包含具有单个标记物质的不同标记缀合物中的至少一种,以便同时检测不同的被分析物。

[0025] 标记缀合物可包括结合剂和标记,其中结合剂可选自以下组中:抗体、抗原、受体、

配体、寡核苷酸、半抗原或者适体。

[0026] 捕捉结合剂可结合至被分析物的反应位点,所述位点不同于标记缀合物与被分析物起反应的另一反应位点。

[0027] 捕捉结合剂可选自以下组中:抗体、抗原、受体、配体、寡核苷酸、半抗原或适体。

[0028] 第二反应室还可包括检测区域,在所述区域中捕捉结合剂被固定于此。

[0029] 流体样本、上层清液或者缓冲液可由驱动压力如微流体结构旋转产生的离心力所转移。

[0030] 可通过时间分辨荧光测定法对标记缀合物的荧光性进行测定,所述荧光测定法在分辨时间期间能够精细地划分(即分辨)时间并且测定由光接收单元接收的光的荧光性。

[0031] 在预定的时间延迟之后测定由光接收单元接收的光的荧光性。

[0032] 本发明的有益效果

[0033] 根据示例性实施方式的微流体装置和免疫测定方法具有的特性在于:i)包含单个标记物质的多种标记缀合物能够同时进行多种被分析物的检测;ii)使用处于干燥固态并且能在在室温下储存而无需冷藏的标记缀合物,从而提高了对实际临床环境的适用性;iii)减少了洗涤的次数以及缓冲液和用于打开、关闭通道的阀的数目,因此比常规的试验步骤更简单;iv)使用在激发波长与发射波长之间具有很大差异的包含镧系元素(III)螯合物的纳米颗粒作为标记物质,并且通过时间分辨荧光测定法来测定发射光的荧光性,以此显著地提高了标记物质的荧光测定的精度和灵敏度。因此,根据示例性实施方式的微流体装置和使用所述装置的免疫测定方法可用作现场快速检验技术。

附图说明

[0034] 结合附图,从根据示例性实施方式的以下描述,上述和/或其它方面将更为清楚并容易理解,其中:

[0035] 图1为示出根据示例性实施方式的微流体结构的构造的示意图;

[0036] 图2-5为示出根据示例性实施方式将具有标记缀合物的被分析物与捕捉结合剂结合方法的示意图;

[0037] 图6为示出根据示例性实施方式的免疫测定方法的流程图;

[0038] 图7为示出根据示例性实施方式的检测单元的框图;

[0039] 图8为描述根据示例性实施方式的标记物质的光学特征的曲线图;

[0040] 图9为示出根据示例性实施方式的时间分辨荧光测定法的曲线图;以及

[0041] 图10为描述根据示例性实施方式的标准曲线的曲线图。

具体实施方式

[0042] 下面,将参照附图描述根据示例性实施方式的离心微流体装置及使用所述装置的免疫测定方法。

[0043] 附图中相同的数字标记指的是基本相同的构成元件。单独的结构如腔室、通道等等仅为示例性的,其尺寸比例可能与真实比例不同,可被放大或缩小。术语“微流体装置”、“微粒子”等中的“微”不能受限地解释为尺寸单位而是用来与“大”形成对比。

[0044] 图1是示出根据示例性实施方式的微流体结构的构造的示意图。

[0045] 根据图1的示例性实施方式,提供一种离心微流体装置,其包括:旋转主体900和至少一个微流体结构1000。所述至少一个微流体结构1000进一步包括:用于接收流体样本的样本室100;用于离心流体样本以分离包含被分析物的上层清液的分离室200;包含至少一种标记缀合物的第一反应室300;包含捕捉结合剂的第二反应室400;包含洗脱缓冲液的缓冲液室500;用于接收杂质的废液室600,所述杂质包括过量的第一免疫复合物和被分析物;包含洗涤液的洗涤室700;以及用于最后接收标记缀合物的检测室800。微流体结构还包括:多个通道120,多个腔室通过多个通道120相互连接;至少一个用于打开和关闭所述多个通道的阀(未示出);以及至少一个检测单元10(参见图4)。

[0046] 参见图1,应用于示例性实施方式的旋转主体900可包括圆盘型平台。但是,平台的形状不是特别地局限于这种圆盘样式。也就是说,旋转主体可以是能够自转的完整圆形或者置于旋转框架上的可旋转扇形。可使用丙烯酸酯或其它塑料材料形成该平台,前述材料均易于成形并且具有生物非活性的表面。但是,用于制造旋转主体的原料不是特别地受限制,而可以包括具有化学或生物稳定性、光学透明性和/或机械可加工性的任何材料。

[0047] 可使用从多种材料如塑料、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、玻璃、云母、硅石或者硅晶片材料中选择的至少一种材料来制造所述平台。鉴于其经济性或简单可加工性可以选择塑性材料。通常可用的塑性材料包括聚丙烯、聚丙烯酸酯、聚乙烯醇、聚乙烯、PMMA、聚碳酸酯等等。

[0048] 可在平台上设置一个或多个微流体结构。例如,在将平台划分为若干部段后,各微流体结构可以彼此独立地分别设置在各个部段上。

[0049] 此外,所述平台可包括多层板(未示出)。如果与腔室或者通道对应的浮凸结构(reLief structure)形成于两块板彼此面对的和两个或更多浮凸结构组合处的侧面上,可在该平台内部设置空区和/或通道。使用结合剂、双面胶带、超声波焊接等可实现板的这种组合。

[0050] 与具体的结构化物质相反,此处使用的术语“微流体结构”指的是由多个腔室、通道和阀组成的被设计成引导流体流动的通用结构。因此,根据腔室、通道和/或阀的布置以及/或者结构中包含的材料种类,“微流体结构”可形成具有不同功能或性能的特定单元。

[0051] 因此,微流体装置具有各种各样的应用,例如对各种化合物和环境有害物质的检测、血液分析、尿液检测、基于抗原-抗体反应的免疫测定、基于配体-受体结合的新药候选调查、DNA/RNA分析等。此外,微流体装置可同时检测和分析至少两种被分析物。

[0052] 使用由旋转主体900旋转产生的离心力作为驱动压力可将流体样本如血样、流体样本的上层清液、缓冲溶液等输送到独立的腔室内。

[0053] 当流体样本穿过样本导入口110被送入微流体结构1000时,该流体样本实质上由样本室100接收。

[0054] 样本室100可提供其中包含流体样本如血样的空间。样本室100具有样本导入口110和样本接收部(未示出),样本穿过该导入口110被供给微流体结构1000。样本接收部还具有连接至分离室200的出口。尽管未在附图中示出,该出口可具有被设计成产生防止流体样本在不施加离心力时朝分离室200移动的毛细管压力的所需形状。可选地,出口可具有安装于其上以控制流体样本流动的阀。此外,样本室100被制造为具有从样本导入口100朝出口逐渐增加的横截面直径,其能够使样本接收部中包含的样本借助离心力容易地朝分离室

200流动。为便于样本借助样本的喷射压力穿过样本导入口110流入样本接收部,可在样本导入口110与样本接收部之间放置产生毛细管压力的可选结构。该可选结构可为仅在施加所需压力时才穿过其传递样本的毛细管阀类型的结构,而且它也可用来阻止样本从样本接收部朝样本导入口110的逆流。

[0055] 使用由旋转主体900的旋转所产生的离心力作为驱动压力来朝分离室200输送流体样本。分离室200位于从样本室100径向向外处;也就是说,与距离样本室100相比离旋转主体900的中心160更远。样本分离室200可使流体样本离心分离成上层清液(血清、血浆等)和沉淀物(血细胞)。利用离心力将分离室200内的流体样本分离为包含被分析物的上层清液和包含其它材料的沉淀物。

[0056] 用于离心分离流体样本的分离室200可被构造为不同形式。最特别地,分离室200可包括上层清液收集器(未示出)和沉淀物收集器(未示出),沉淀物收集器作为形成于上层清液收集器末端处的空间用于收集具有相对较高比重的沉淀物。上层清液收集器具有用于将离心的上层清液分配至第一反应室300内的通道。阀可控制穿过该通道的样本的流动。这种阀可为从不同类型的微流体阀中选择的任意类型的阀。例如,阀可包括所谓的“常闭阀”,其中阀位于其内的通道被关闭以阻止流体流动,除非阀借助外力打开。

[0057] 上层清液计量室(未示出)可被放置在分离室200上以测定上层清液量。上层清液计量室可设计成具有足以携带检测所需的上层清液量的容积。

[0058] 利用由旋转主体900的旋转所产生的离心力作为驱动压力将包含被分析物的上层清液从分离室200穿过通道150运输至第一反应室300。如图2中第一反应室300的示意分解图310所示,第一反应室300包含标记缀合物,下面将对其进行进一步描述。

[0059] 第一反应室300是用于检测上层清液中包含的特异蛋白、葡萄糖、胆固醇、尿酸、肌酸酐、酒精等的结构。可通过抗原-抗体反应、配体-受体结合等完成该检测。

[0060] 标记缀合物由标记和结合剂组成。标记缀合物的标记可包括例如乳胶珠;金属胶体如金胶体、银胶体等;酶(酶,HRP,ALP等);有色材料;荧光材料或包含荧光材料的纳米颗粒;磷光材料或包含磷光材料的纳米颗粒;发光材料;光发射材料;包含染料的脂质体;金属纳米颗粒;碳纳米颗粒;有色聚合纳米颗粒;超顺磁性材料或包含超顺磁性材料的纳米颗粒;镧系元素(III)螯合物或包含镧系元素螯合物的纳米颗粒;放射性同位素;等等。但是,标记并不特别地限定于这些。根据示例性实施方式,包含镧系元素(III)螯合物的纳米颗粒被用作标记物质。镧系元素(III)螯合物的非限定性示例包括铕(Eu)、钐(Sm)、镝(Dy)、铽(Tb)等等。结合剂可包括抗体、抗原、配体、受体、寡核苷酸、半抗原或者适体,其中每一个均特定地结合至上层清液中的被分析物。

[0061] 根据示例性实施方式,微流体装置的第一反应室300可包含包含一种标记物质的单个标记缀合物以检测一种被分析物;但是,第一反应室300也可包含包含不同标记物质的若干标记缀合物以同时检测多种被分析物。例如,为了同时检测四种不同类型的被分析物,包含作为单独标记物质的四种不同镧系元素(III)螯合物(如Eu、Sm、Dy和Tb)的四种类型的标记缀合物可以一起包含于第一反应室300中。

[0062] 上述构型的优点在于单个微流体结构1000可用于检测多种被分析物。通过使用仅一个其内构建有若干微流体结构的微流体装置也可同时检测多种被分析物。在需要将其用于检测多种被分析物时,这种构型相比常规微流体装置更优。

[0063] 如上所述,根据示例性实施方式的微流体装置可同时检测多种被分析物,这就提供了快速检验和经济上的优势,因此适用于需要现场快速检验的情形。

[0064] 标记缀合物可能以液相或干燥的固相存在。因为标记缀合物的液相要求冷藏运输和存储以便保持其稳定性,这些要求使得液态的标记缀合物在实际临床环境中可用性更低。因此标记缀合物优选存在于干燥的固相中。

[0065] 当处于固相的标记缀合物存在于反应室300中时,标记缀合物可被暂时固定至反应室300的内壁或其内的多孔载体(未示出)上。如图2所示,通过渗入上层清液来溶解固定至反应室300的标记缀合物,之后溶解的缀合物与上层清液中包含的被分析物结合形成第一免疫复合物170。第一免疫复合物170变为可移动的产品。在这种情况下,为了便于标记缀合物与上层清液中的被分析物结合,旋转主体900优选被左右晃动若干次。

[0066] 由旋转主体900旋转产生的离心力被用作驱动压力从而使包含第一免疫复合物170的上层清液穿过通道150朝第二反应室400运输。

[0067] 第二反应室400为用于检测上层清液中包含的某些材料(包括例如特异蛋白、葡萄糖、胆固醇、尿酸、肌酸酐、酒精等)的结构。可利用抗原-抗体反应、配体-受体结合等等检测该材料。

[0068] 第二反应室400可包含固定于检测区域中的捕捉结合剂,其中捕捉结合剂特定地与自第一反应室300进给的上层清液中包含的被分析物结合。

[0069] 自第一反应室300运输的上层清液中的第一免疫复合物与被置于检测区域中的捕捉结合剂结合形成第二免疫复合物180,如图3中第二反应室400的示意分解图410所示。在这种情况下,为了便于第一免疫复合物170与捕捉结合剂的结合,旋转主体900可被左右晃动若干次。反应溶液中未反应的标记缀合物以及反应残余物与自洗涤室700进给的洗涤液一起被传送至废液室600,而第二免疫复合物180仍留在第二反应室400内,如图4中第二反应室的示意分解图410所示。

[0070] 在洗涤过程之后第二免疫复合物180残存时,借助离心力作为驱动压力,洗脱缓冲液从位于第二反应室400上方的缓冲液室500被传送至第二反应室400。传送的洗脱缓冲液使固定于第二反应室400中的检测区域的第二免疫复合物的抗原-抗体结合或配体-受体结合离解,从而能够从固定的捕捉结合剂离解(或降解)标记缀合物和被分析物。换句话说,标记缀合物和捕捉结合剂都相对被分析物而被离解,如图5中第二反应室的示意分解图410所示。

[0071] 常规技术一般i)直接确定标记物质的光学特征而不从免疫复合物可选地离解标记缀合物;或ii)在离解标记物质后测定标记物质的荧光性。

[0072] 然而,此处描述的示例性实施方式提供了使用缓冲液室500的洗脱缓冲液使标记物质和捕捉结合剂相对第二免疫复合物中的被分析物从第二免疫复合物离解(参见图5)。

[0073] 此处示例性实施方式提出的这种步骤可提高标记物质测定的灵敏度和精度。其它离解标记物质的方法通常包括将对应于标记物质的至少一种化学材料连接至标记缀合物并且使其离解。这些步骤可能会遇到技术性困难,与一组不同标记物质的测定相比可能无法提高标记物质测定的精度和灵敏度。

[0074] 与在去除标记缀合物之后测定标记物质的光学特征的常规方法相比,用于直接测定免疫复合物中包含的标记物质的光学特征而不是可选地将标记缀合物从免疫复合物分

离的处理势必引起光学特征测定的精度和灵敏度的降低。例如,因为免疫复合物附着于其的机械结构(即珠粒)可反射入射光来确定标记物质的光学特征,该结构可能会不利地影响标记物质的光学特征的测定。

[0075] 因此,与常规方法相比,如示例性实施方式所述的用于在将标记缀合物和捕捉结合剂与被分析物分离之后测定标记缀合物中标记物质的光学特征的方法很容易实施。标记物质可包括包含纳米颗粒的镧系元素(III)螯合物(即Eu)作为标记物质。该方法在测定的精度和灵敏度上都获得改善。

[0076] 使用由旋转主体900旋转所产生的离心力作为驱动压力,包含从第二免疫复合物离解的标记缀合物的上层清液被运输至在第二反应室400下方的检测室800内。对于被进给至检测室800内的标记缀合物,其光学特征由放置于微流体结构1000外部的检测单元10(参见图7)来确定。通过以下对使用根据示例性实施方式的微流体装置的免疫测定方法的描述,这一过程将更为清楚。

[0077] 图6是示出使用根据示例性实施方式的微流体装置的免疫测定方法的流程图。在该示例性实施方式中,例示了用于血液分析的过程。

[0078] 例如,全血注入到样本室100内(S10),旋转微流体结构以便朝分离室200传送全血。使用由旋转主体900旋转所产生的离心力作为驱动压力将全血从样本室100运输至分离室200。

[0079] 进给至分离室200内的全血被高速旋转而分离(S20)成包含血清或者血浆的上层清液和包含血细胞的沉淀物。在这方面,比血清或者血浆更厚(或更重)的血细胞可沉淀并进入沉淀物收集器中,而比血细胞轻的上层清液仍然留在上层清液收集器中。

[0080] 当打开阀时,分离的上层清液穿过通道由驱动压力即旋转主体900旋转产生的离心力传送至第一反应室300。包含于第一反应室300中的干燥固态的标记缀合物被流入的上层清液再次溶解,并且特定地与上层清液中包含的被分析物结合形成第一免疫复合物(S30)。在该过程中,为了便于被分析物和标记缀合物的结合,旋转主体900可被左右晃动若干次。

[0081] 当打开阀时,使用由旋转主体900旋转所产生的离心力作为驱动压力将包含第一免疫复合物170的上层清液传送至第二反应室400。捕捉结合剂被包含于第二反应室400内并且可被固定至第二反应室400的检测区域。捕捉结合剂特定地与被分析物结合形成第二免疫复合物(S40)。在该过程中,为便于第一免疫复合物和捕捉结合剂的结合,旋转主体900可被左右晃动若干次。

[0082] 为将未反应的标记缀合物和反应残余物转移至位于第二反应室400下游的废液室600,打开连接至第二反应室400上游的洗涤室700的阀,并且使用由旋转主体900旋转所产生的离心力作为驱动压力将洗涤液穿过通道进给至第二反应室400(S50)。

[0083] 在洗涤过程之后,连接至位于第二反应室400上游的缓冲液室500的另一阀打开,并且使用由旋转主体900旋转所产生的离心力作为驱动压力,将缓冲液室的洗脱缓冲液穿过通道进给至第二反应室400。洗脱缓冲液使得标记缀合物相对于第二免疫复合物中包含的被分析物从第二免疫复合物离解(S60)。

[0084] 在由洗脱缓冲液离解标记缀合物之后,阀打开,并且使用由旋转主体900旋转所产生的离心力作为驱动压力,将包含标记缀合物的上层清液穿过通道运输至检测室800内

(S70)。

[0085] 在包含标记缀合物的上层清液被进给至检测室800后,被置于微流体结构1000外部的检测单元10开始测量和分析标记缀合物的标记物质的光学特征(S80)。

[0086] 通过用在所需波长范围的光照射标记物质,测定处在特定波长范围的从标记物质发出的光的荧光性,分析该测定值并且基于该分析结果计算被分析物的浓度,来进行标记物质的光学特征的这种测定和分析。

[0087] 如图7所示,可使用被置于微流体结构1000外部的检测单元10来进行标记物质的光学特征的测定和分析。

[0088] 检测单元10大致被置于微流体结构1000外部,并且可存在多个单元。这种检测单元可包括将光辐射至微流体结构1000的检测室800的发光单元11、接收从检测室800(其吸收从光接收部12发出的光)发出的光的光接收单元12以及分析从光接收部12接收的光的光学特征并基于该分析结果计算被分析物的浓度的分析部。

[0089] 发光部11可为在特定频率下闪烁的光源,包括例如半导体发光装置,如LED或激光二极管LD,气体放电灯,如卤素灯或者氙气灯等。

[0090] 光接收部12根据从检测室800发出的光的强度产生电信号并且可包括例如耗尽层光电二极管、雪崩光电二极管(APD)、光电倍增管(PMT)等等。

[0091] 在本示例性实施方式中,发光部11位于微流体结构1000上方,而光接收部12定位在微流体结构1000下方,但是这些部分的位置可被互换。此外,使用反射镜或者光导元件可以调整光路。

[0092] 分析部13测定从光接收部接收的光的荧光性并且利用预定的标准曲线来计算被分析物的浓度,所述标准曲线鉴定所测定的接收的光的荧光性。

[0093] 在示例性实施方式中,包含纳米颗粒的镧系元素(III)螯合物被用作标记物质。给出的如下描述采用Eu作为镧系元素(III)螯合物的例子。Eu呈现出特有的光学特征,如图8的曲线图所示,在激发波长和发射波长之间具有相当大的差异。

[0094] Eu的这种光学特征,即在特定波长下被光激发并且在明显不同于激发波长的另一波长下发光,可显著地提高发射光的荧光性测定的精度。

[0095] 除了将Eu作为标记物质外,检测室800包含的异物也吸收和发出入射光。因此,Eu的光学特征即在明显不同于入射光波长的波长下发光的特征可防止异物在测定从标记物质发出的光时干扰发射的光。因此,可以更精确地测定从标记物质发出的光的荧光性。

[0096] 基于Eu的这种特征,由异物发出的光的影响能被消除并且通过时间分辨荧光测定法来测定发射光的荧光性,从而提高了荧光性测定的精度。

[0097] 此处,“时间分辨荧光测定法”指的是一种精细地分辨恒定时间段并且在每一段分辨的时间内测定荧光性的方法。例如,关于在1秒内发出的光的荧光性测定,可以在每毫秒测定荧光性。因此,每秒可重复1000次相同的循环(参见图9)。

[0098] 参照图9,可以看到在400微秒(μs)至800 μs 的范围内进行荧光性测定。亦即在恒定的延迟时间后进行荧光性测定,而非直接测定。实际上,因为包含标记物质的检测室800和/或可能被进给至检测室800内的除标记物质外的异物也会吸收入射光并发射所吸收的光,需要上述延迟时间来消除异物和/或检测室的影响。

[0099] 通过荧光测定法,可消除除标记物质外的某些材料发射的光的影响,从而提高了

荧光性测定的精度和灵敏度。

[0100] 示例性实施方式提出了一种通过以下方式显著地提高标记物质荧光性测定的精度和灵敏度的方法：i)采用包含纳米颗粒的镧系元素(III)螯合物(即Eu)作为标记物质；以及ii)应用时间分辨荧光测定法。简言之，示例性实施方式描述了被分析物的免疫测定方法，与在流体样品中测定被分析物的常规方法相比，该方法通过组合上述步骤具有更高的精度和灵敏度。

[0101] 基于根据上述方法测定的标记物质的荧光性，利用预定的标准曲线可计算出被分析物的浓度(如图10所示)，该标准曲线示出被分析物的浓度与标记物质的荧光性的相对关系。

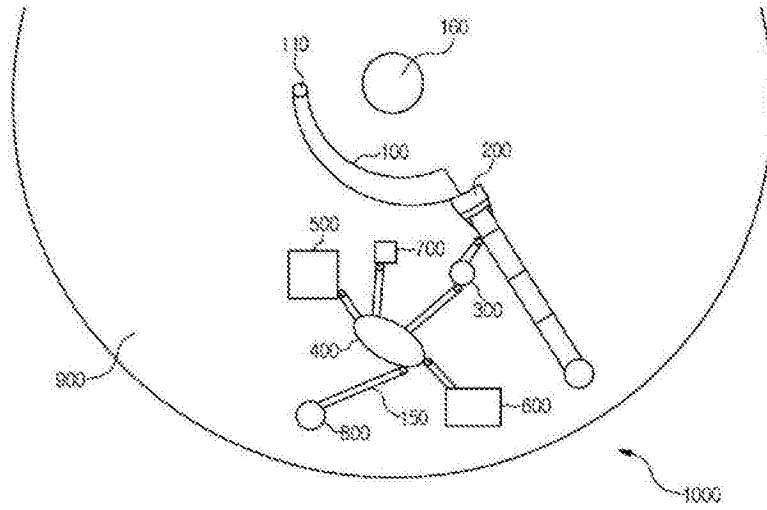


图1

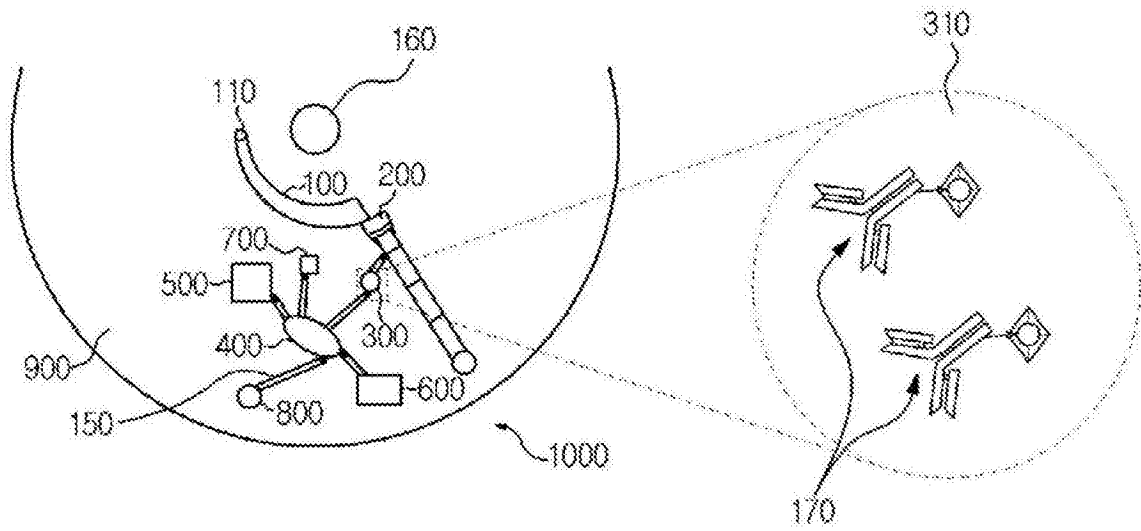


图2

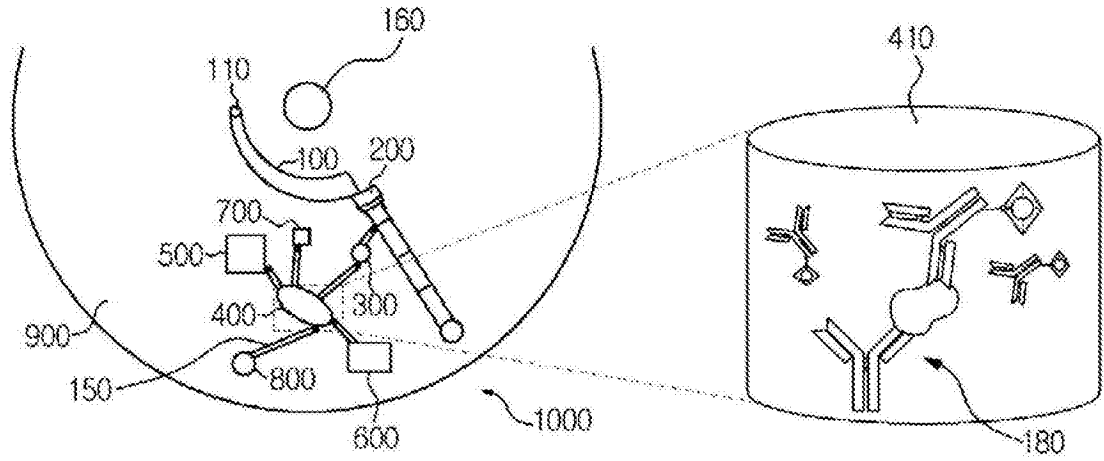


图3

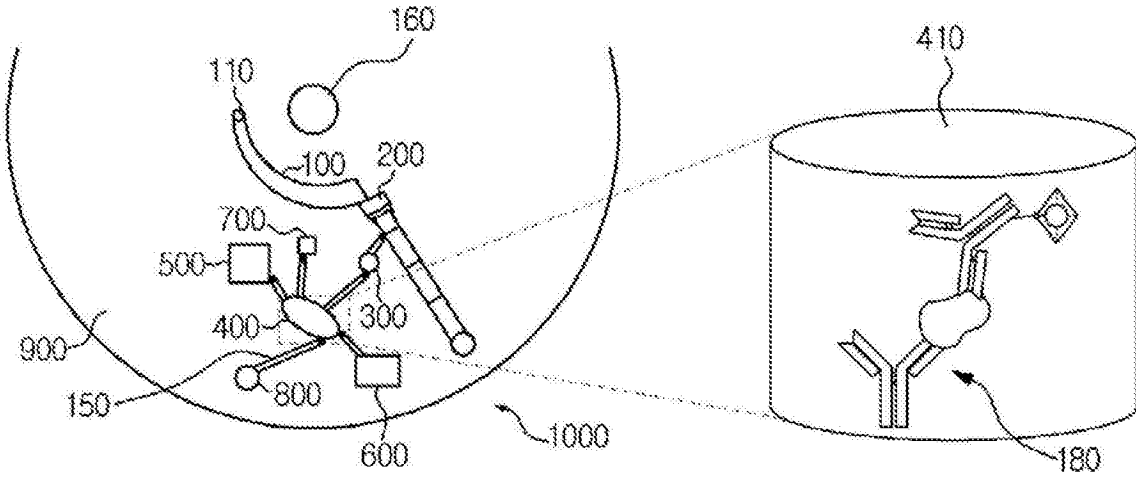


图4

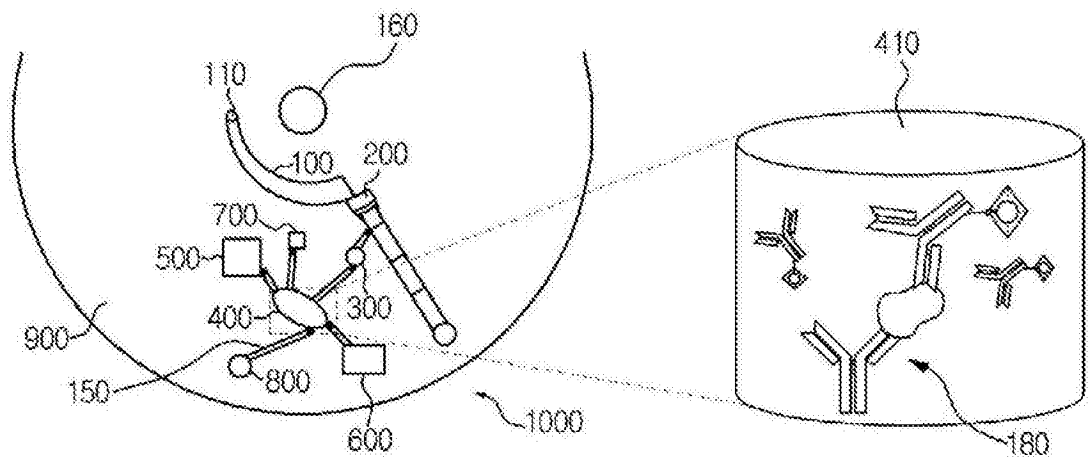


图5

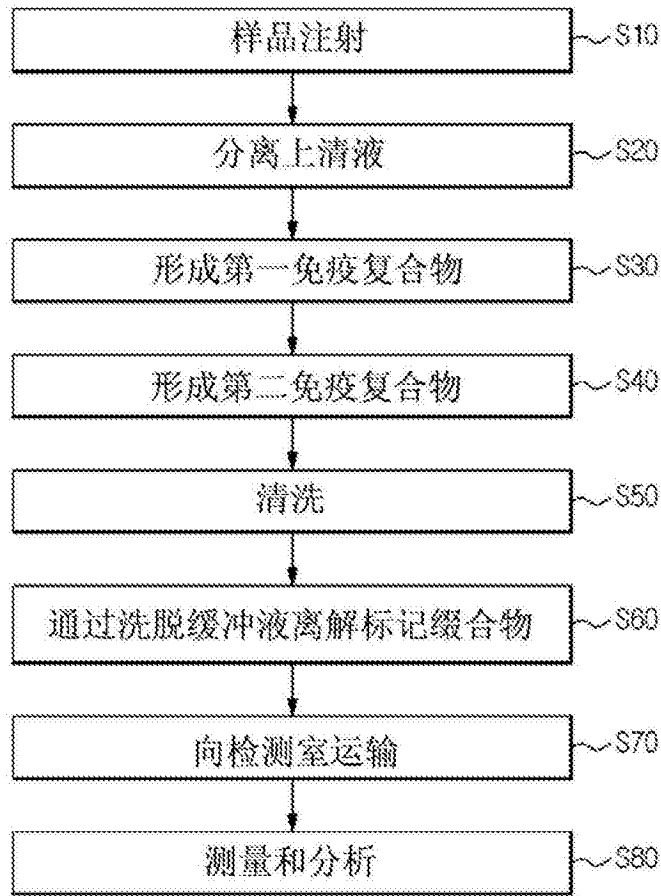


图6

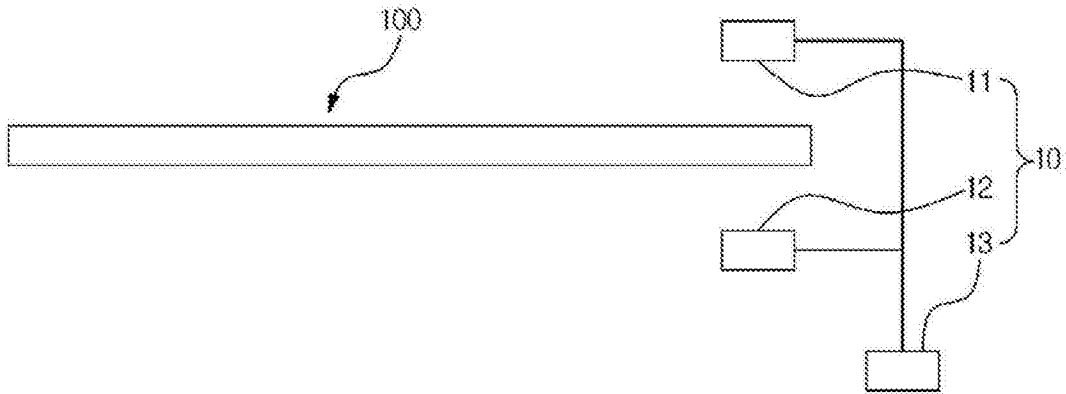


图7

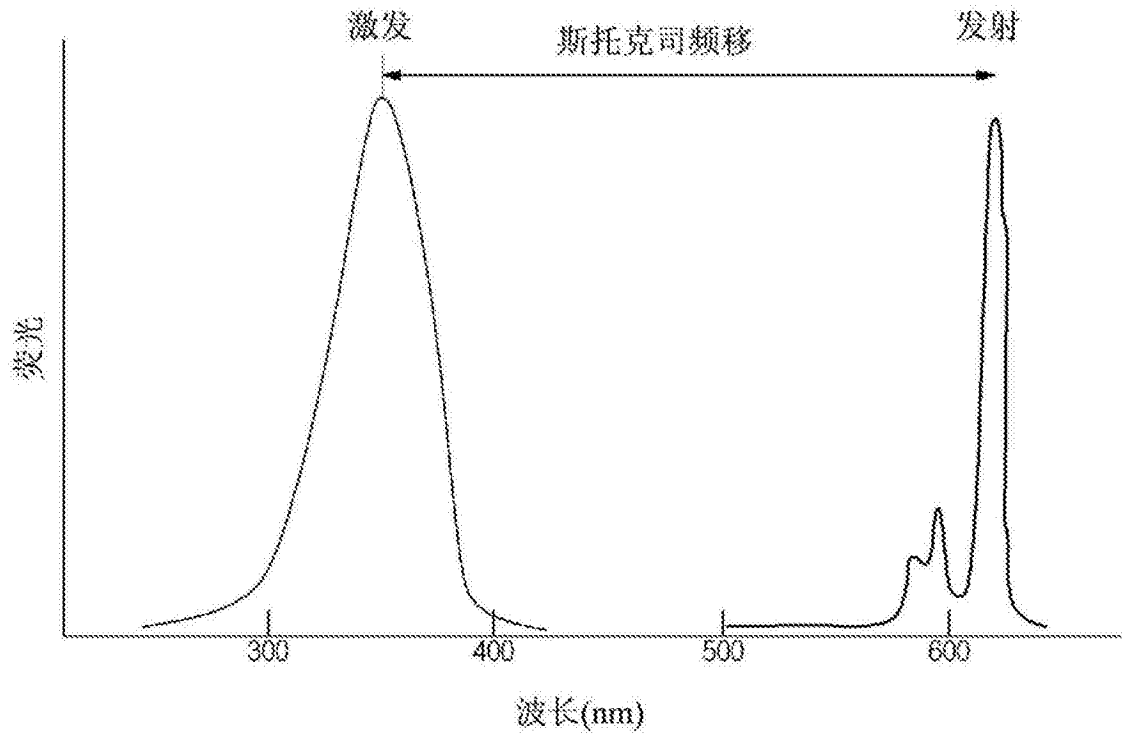


图8

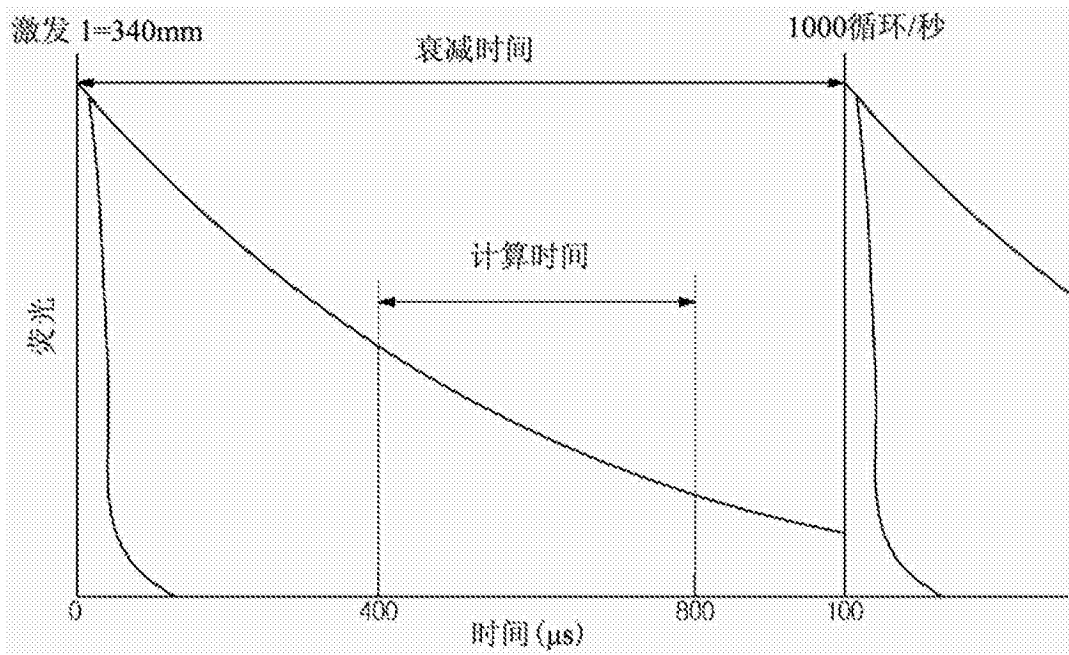


图9

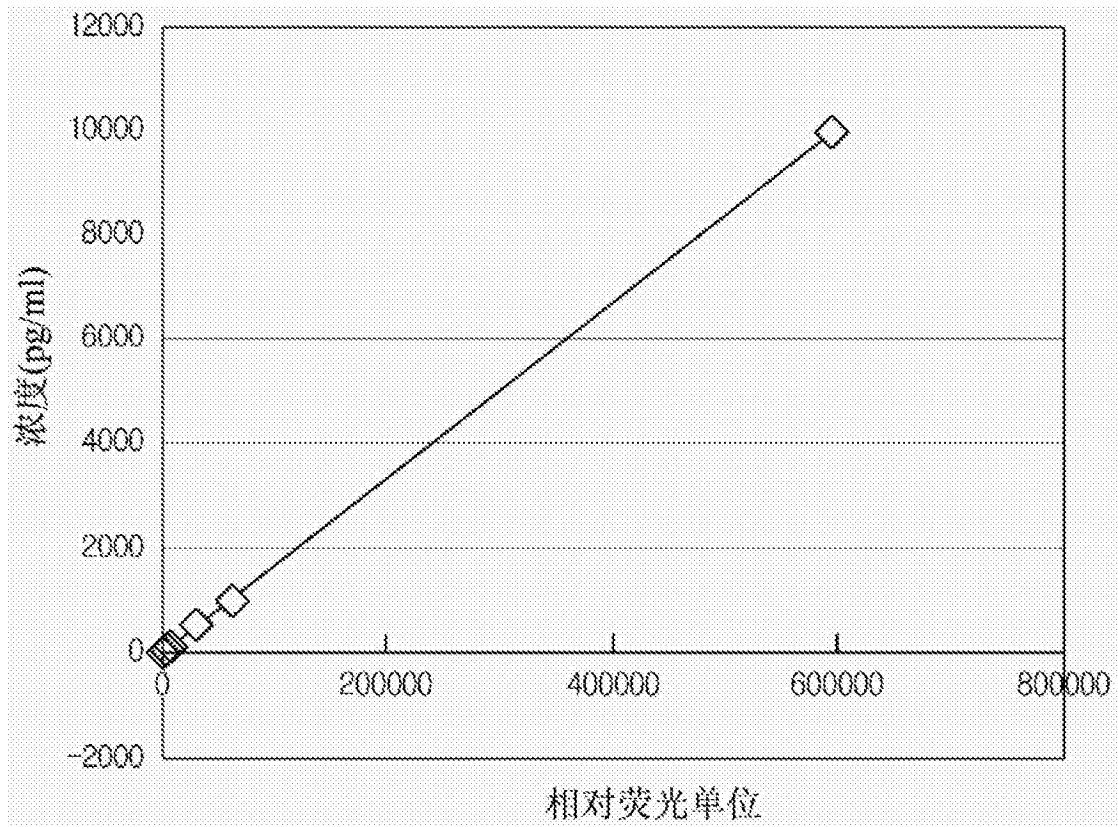


图10

专利名称(译)	离心微流体装置和用于免疫测定的方法		
公开(公告)号	CN102933968B	公开(公告)日	2016-07-06
申请号	CN201180026676.2	申请日	2011-04-12
[标]申请(专利权)人(译)	三星电子株式会社		
申请(专利权)人(译)	三星电子株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	三星电子株式会社		
[标]发明人	金仁煜		
发明人	金仁煜		
IPC分类号	G01N35/02 G01N33/53 G01N33/58		
CPC分类号	B82Y15/00 G01N21/07 G01N21/6428 G01N33/54366		
审查员(译)	金伟华		
优先权	1020100040370 2010-04-29 KR		
其他公开文献	CN102933968A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

提供了一种离心微流体装置和使用所述装置的免疫测定方法。所述离心微流体装置包括至少一个微流体结构，所述微流体结构包括：接收流体样本的样本室；与所述样本室相连且包含至少一种标记缀合物的第一反应室；与所述第一反应室相连并且包含捕捉结合剂的第二反应室；与所述第二反应室相连并且包含洗脱缓冲液的缓冲液室；与所述第二反应室相连并且接收所述至少一种标记缀合物的检测室；第一反应室、第二反应室、缓冲液室和检测室穿过其互连的多个通道；以及位于所述多个通道中的至少一个通道中并且打开和关闭所述通道的至少一个阀。

