



(12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 207036692 U

(45)授权公告日 2018.02.23

(21)申请号 201720592465.X

G01N 33/576(2006.01)

(22)申请日 2017.05.25

G01N 33/571(2006.01)

G01N 33/569(2006.01)

(73)专利权人 沈阳微流控生物科技有限公司
地址 110000 辽宁省沈阳市自由贸易试验区沈阳片区全运路109-1号

(ESM)同样的发明创造已同日申请发明专利

(72)发明人 李祝华 白众瑜 黄雪莹 孙颖
孙秒 吕辉 高占岩

(74)专利代理机构 沈阳亚泰专利商标代理有限公司 21107

代理人 史力伏

(51)Int.Cl.

G01N 21/64(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

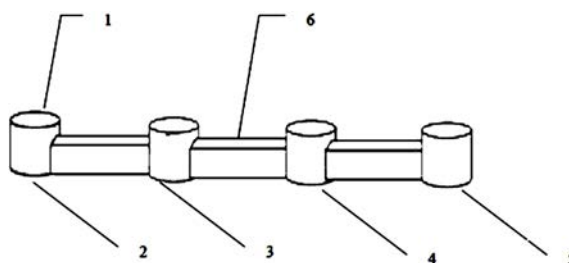
权利要求书1页 说明书4页 附图3页

(54)实用新型名称

一种微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒

(57)摘要

一种微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒，该试剂盒含有微流控芯片，所述微流控芯片包括一条或多条检测单元，所述检测单元位于微流控芯片的半径轴上，以微流控芯片中心点发散排列，所述检测单元自芯片中心点向边缘依次排列有加样槽、荧光探针槽、反应检测槽和废液槽，以及相互连接的微通道。使用该试剂盒，试剂用量少，集成化高，反应体系为均相，所有试剂均事先固化于芯片中，可在相对闭合的空间内进行抗原抗体反应，无交叉污染，不污染环境，具有高效率、高通量、高灵敏度、快速、敏感、稳定等优点。



1. 一种微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒, 其特征在于: 该试剂盒含有微流控芯片, 所述微流控芯片包括一条或多条检测单元, 所述检测单元位于微流控芯片的半径轴上, 以微流控芯片中心点发散排列, 所述检测单元自芯片中心点向边缘依次排列有加样槽、荧光探针槽、反应检测槽和废液槽, 以及相互连接的微通道; 所述荧光探针槽底部固化有荧光探针, 该荧光探针是聚苯乙烯荧光微球偶联抗体或抗原或二抗的复合物; 所述反应检测槽中固化有捕获磁珠微球, 该捕获磁珠微球是聚苯乙烯磁珠微球偶联抗体或抗原或二抗的复合物。

2. 根据权利要求1所述的微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒, 其特征在于所述微流控芯片只有加样槽通过加样孔与外界相通, 其余槽均是封闭的。

3. 根据权利要求1所述的微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒, 其特征在于所述加样槽、荧光探针槽、反应检测槽和废液槽的容积相等或不相等, 相邻两个槽的间距相等或不相等。

4. 根据权利要求1所述的微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒, 其特征在于所述微流控芯片中心位置有一与离心机转轴相匹配的固定孔。

5. 根据权利要求1所述的微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒, 其特征在于所述微流控芯片的驱动力为离心力。

6. 根据权利要求1所述的微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒, 其特征在于所述的聚苯乙烯荧光微球的直径为10~300nm; 聚苯乙烯荧光微球内包裹荧光物质, 所述荧光物质包括罗丹明、异硫氰酸荧光素、藻红蛋白、镧系元素、量子点; 所述聚苯乙烯磁珠微球的直径为1~10um, 微球内包裹超顺磁四氧化三铁微粒, 微粒平均直径10nm。

7. 根据权利要求1所述的微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒, 其特征在于所述的聚苯乙烯荧光微球的直径为50~200nm, 所述聚苯乙烯磁珠微球的直径为2um~5um。

8. 根据权利要求1所述的微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒, 其特征在于所述微流控芯片材料为石英、玻璃或PDMS、PMMA、PS、PC、COC、COP。

9. 根据权利要求1所述的微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒, 其特征在于所述微流控芯片的形状为圆形或外接圆的多边形。

10. 根据权利要求1所述的微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒, 其特征在于所述微流控芯片的厚度为4mm~10mm, 直径为50~200mm。

11. 根据权利要求1所述的微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒, 其特征在于所述微流控芯片的直径为80~100mm。

12. 根据权利要求1所述的微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒, 其特征在于所述加样槽、荧光探针槽、反应检测槽或废液槽表面可以是圆形、椭圆形、水滴形或不规则形, 加样槽、荧光探针槽、反应检测槽或废液槽的容积为5~200ul。

一种微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒

技术领域

[0001] 本实用新型涉属于免疫检测领域,具体涉及一种微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒。

背景技术

[0002] 近年来微流控芯片 (microfluidic chips) 技术发展迅速,在医学、生命科学等领域的应用得到不断扩展。微流控芯片是指采用微细加工技术,将微通道网络结构及其他功能元件集成在数平方厘米的基片上,通过对微通道中的流体进行控制,以实现进样、稀释、混合、反应、分离、检测等多种功能的微全分析系统,具有微型化、集成化、分析速度快、试剂消耗少等显著优点。

[0003] 免疫标记技术是以抗原抗体特异性反应为基本原理,采用荧光素、同位素或酶等示踪物质标记抗体(或抗原)进行抗原-抗体反应,通过对免疫复合物中的标记物的测定,达到对免疫反应进行检测的目的。

[0004] 现有技术基本上采用微孔板(或滤纸或反应管)做固相载体将捕获抗体固化在微孔板(或滤纸或反应管)底部,或将微磁珠加入到微孔板(或反应管)中,然后通过外加标记抗体的方法进行检测。这些技术操作复杂、反应步骤多,耗时时间长,试剂和样品用量大,检测费用高。

发明内容

[0005] 为了解决以上问题,本实用新型提供一种微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒,该试剂盒以荧光物质为标记物,以磁性微球为捕获物,试剂用量少,集成化高,所有试剂均事先固化于芯片中;标记荧光微球和捕获磁珠固化简便、易复溶、易悬浮;可在相对闭合的空间内进行抗原抗体反应,无交叉污染,不污染环境。具有高效率、高通量、高灵敏度、快速、灵敏、稳定等优点。

[0006] 本实用新型的目的是这样实现的:一种微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒,其特征在于该试剂盒含有微流控芯片,所述微流控芯片包括一条或多条检测单元,所述检测单元位于微流控芯片的半径轴上,以微流控芯片中心点发散排列,所述检测单元自芯片中心点向边缘依次排列有加样槽、荧光探针槽、反应检测槽和废液槽,以及相互连接的微通道;所述荧光探针槽底部固化有荧光探针,该荧光探针是聚苯乙烯荧光(Flu)微球偶联抗体(或抗原或二抗)的复合物;所述反应检测槽中固化有捕获磁珠微球,该捕获磁珠微球是聚苯乙烯磁珠微球偶联抗体(或抗原或二抗)的复合物。

[0007] 所述微流控芯片只有加样槽通过加样孔与外界相通,其余槽均是封闭的。

[0008] 所述加样槽、荧光探针槽、反应检测槽和废液槽的容积相等或不相等,相邻两个槽的间距相等或不相等。

[0009] 所述微流控芯片中心位置有一与离心机转轴相匹配的固定孔。

[0010] 所述微流控芯片的驱动力为离心力。

- [0011] 所述的聚苯乙烯荧光微球的直径为10~300nm,优选50~200nm;聚苯乙烯荧光微球内包裹荧光物质,所述荧光物质包括罗丹明、异硫氰酸荧光素、藻红蛋白、镧系元素(钐Sm、铕Eu、钆Gd、铽Tb等)、量子点等。
- [0012] 所述聚苯乙烯磁珠微球的直径为1~10 μ m,优选2 μ m~5 μ m,微球内包裹超顺磁四氧化三铁微粒(Mag),微粒平均直径10nm。
- [0013] 微流控芯片材料为石英、玻璃或PDMS、PMMA、PS、PC、COC、COP等高聚物。
- [0014] 微流控芯片的形状为圆形或外接圆的多边形。
- [0015] 微流控芯片的厚度为4mm~10mm;直径为50~200mm,优选80~100mm。
- [0016] 所述加样槽、荧光探针槽、反应检测槽或废液槽表面可以是圆形、椭圆形、水滴形或不规则形,加样槽、荧光探针槽、反应检测槽或废液槽的容积为为5~200 μ l。
- [0017] 与现有技术相比,本实用新型具有以下优点。
- [0018] (1)以荧光物质为标记物,以磁性微球为捕获物,试剂用量少,集成化高。
- [0019] (2)所有试剂均事先固化于芯片中,省却传统试剂盒大量试管的使用,并省却反复取样操作。
- [0020] (3)固化的聚苯乙烯荧光微球和聚苯乙烯磁珠微球当样品溶液或清洗缓冲液流经时易复溶并悬浮于液体中。
- [0021] (4)样品需样量极少,单个指标仅需要10 μ l。
- [0022] (5)检测时间短,操作简单。加入样品后,放入检测仪,5~10分钟即可完成全部自动检测。
- [0023] (6)全封闭系统,可以进行最少1个样本的检测,不污染其余的检测单元。
- [0024] (7)可以进行多样本或多因子同时检测,实现检测的高通量。
- [0025] (8)均相反应体系使检测结果灵敏度高(10^{-15} mol/ml)、精密度高(CV<5%)、重复性更高(CV<5%)。

附图说明

- [0026] 附图1为微流控芯片荧光免疫试剂盒的检测单元结构示意图。
- [0027] 图中,1:加样孔,2:加样槽,3: 荧光探针槽,4: 反应检测槽,5:废液槽,
- [0028] 6:微通道。
- [0029] 附图2为多样本、单因子微流控芯片荧光免疫试剂盒的微流控芯片结构示意图。
- [0030] 附图3为3样本、4因子微流控芯片荧光免疫试剂盒的微流控芯片结构示意图。
- [0031] 附图4为微流控芯片荧光免疫试剂盒的荧光免疫检测原理示意图。
- [0032] 附图5为本实用新型与罗氏磁微粒电化学发光试剂盒一致性的比较结果图。

具体实施方式

- [0033] 以下是对本实用新型的进一步说明,而不是对本实用新型的限制。
- [0034] 实施例1:N端脑钠肽前体(NT-proBNP)微流控芯片荧光免疫试剂盒试剂(多种样本,1项指标)检测。
- [0035] 如图2所示:该试剂盒微流控芯片具有12条检测单元,每条检测单元含有加样槽2、荧光探针槽3、反应检测槽4和废液槽5,只有加样槽2通过加样孔1与外界相通,其余槽均是

封闭的。

[0036] 荧光探针槽3底部固化有荧光探针,该荧光探针是聚苯乙烯荧光(Flu)微球偶联N端脑钠肽前体(NT-proBNP)单克隆抗体1的复合物;反应检测槽4中固化有捕获磁珠微球,该捕获磁珠微球是聚苯乙烯磁珠微球偶联N端脑钠肽前体(NT-proBNP)单克隆抗体2的复合物。

[0037] (1)待测物质溶液加入到加样孔1中,落入加样槽2中,通过离心驱动待测溶液到达至荧光探针槽3并溶解探针微球,待测物质与相应的抗体1特异性结合,形成抗原-抗体1-荧光微球(Flu -Ab1- Ag)复合物。

[0038] (2)在离心驱动下,继续将荧光探针槽中的复合物等溶液全部输送至反应检测槽4中,并溶解反应检测槽中捕获抗体磁珠微球,溶液中的抗原-抗体1-荧光微球(Flu -Ab1-Ag)复合物与捕获抗体2-磁性微球发生特异性免疫反应,形成“荧光微球-抗体1-抗原-抗体2-磁珠微球”的双抗体夹心磁性复合物(Flu -Ab1- Ag -Ab2-Mag),并悬浮在溶液中。

[0039] (3)在外加磁场的作用下,磁性复合物被吸附在反应检测槽4的底部,在离心驱动下,将不含磁性微球的溶液输送到废液槽5,磁性荧光复合物则留在检测槽4的底部。

[0040] (4)通过加样孔1加入清洗缓冲液,离心,清洗反应检测槽中的磁性荧光复合物,加入外磁场,离心去除清洗液,反复操作。

[0041] (5)通过荧光检测仪检测,以一定波长的光照射反应检测槽中的磁性荧光复合物,检测荧光微球的发光强度,荧光强度与待测物浓度呈相关性。

[0042] 8、检测结果与重复,见表1:

[0043] 表1 检测结果与重复

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Cv%
a	100.3	92.4	98.3	89.3	101.2	98.6	97.5	99.2	89.2	95.7	96.3	92.6	4.13
b	98.6	92.4	95.2	91.3	93.8	97.7	100.5	93.6	88.4	96.5	91.7	94.3	3.98
c	97.4	90.3	88.6	96.3	92.6	101.7	92.4	95.8	93.7	96.9	99.5	88.7	4.29

[0044] 检测结果与罗氏磁微粒电化学发光试剂盒一致性的比较结果。

[0045] 对两种方法的检测结果进行线性回归分析,建立线性回归方程: $Y=a+bX$ 。相关系数r值> 0.90。由结果可知,两种方法的检测结果有很好的相关性,见图5。

[0046] 实施例2:术前4项(乙肝表面抗原 /丙肝抗体/人类免疫缺陷病毒抗体/梅毒螺旋体抗体)联检试剂盒(3份样本、4项指标联检试剂盒)。

[0047] 如图3所示:该试剂盒微流控芯片具有12条检测单元,每条检测单元含有加样槽2、荧光探针槽3、反应检测槽4和废液槽5,只有加样槽2通过加样孔1与外界相通,其余槽均是封闭的。

[0048] 将上述12条检测单元人工分为3等份,每份4条检测单元,对三个样本同时进行乙肝、丙肝、人类免疫缺陷病毒和梅毒螺旋体的检测。

[0049] 在每个样本的检测单元荧光探针槽3底部,分别固定有①乙肝表面抗体1②丙肝重组抗原1③人类免疫缺陷病毒重组抗原1④梅毒螺旋体重组抗原1荧光微球。

[0050] 在每个样本的检测单元反应检测槽4底部,分别固定有①乙肝表面抗体2②丙肝重组抗原2③人类免疫缺陷病毒重组抗原2④梅毒螺旋体重组抗原2捕获磁珠微球。

[0051] 同时加入三个样本进行检测,反应步骤同实施实例1中(1)、(2)、(3)、(4)、(5)步

骤。

[0052] 检测结果比较 :本试剂盒与雅培ARCHITECT-i2000SYSTEM微粒子化学发光试剂盒(乙肝表面抗原、丙肝抗体、人类免疫缺陷病毒抗体、梅毒螺旋体抗体4种)比较,见表2。

[0053] 表2 荧光免疫法和化学发光法检测检测结果比较。

	乙 肝 表 面 抗 原		丙 肝 抗 体		人 类 免 疫 缺 陷 病 毒 抗 体		梅 毒 螺 旋 体 抗 体	
	+	-	+	-	+	-	+	-
[0054] 化学发光 法	55	45	50	50	40	60	50	50
本法	55	45	50	50	40	60	50	50

[0055] 由结果可知,HBsAg、Anti-TP 、Anti-HIV 、Anti-HCV比对结果为阳性符合率为100%,阴性符合率为100%,K=1。两种方法检测结果具有高度的一致性。

[0056] 可以理解的是,以上关于本实用新型的具体描述,仅用于说明本实用新型而并非受限于本实用新型实施例所描述的技术方案,本领域的普通技术人员应当理解,仍然可以对本实用新型进行修改或等同替换,以达到相同的技术效果;只要满足使用需要,都在本实用新型的保护范围之内。

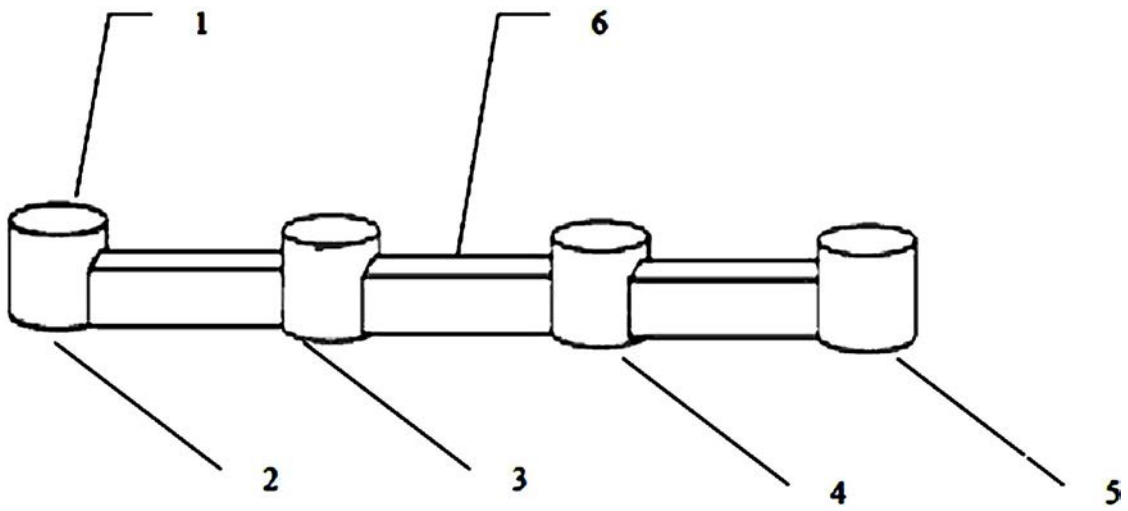


图1

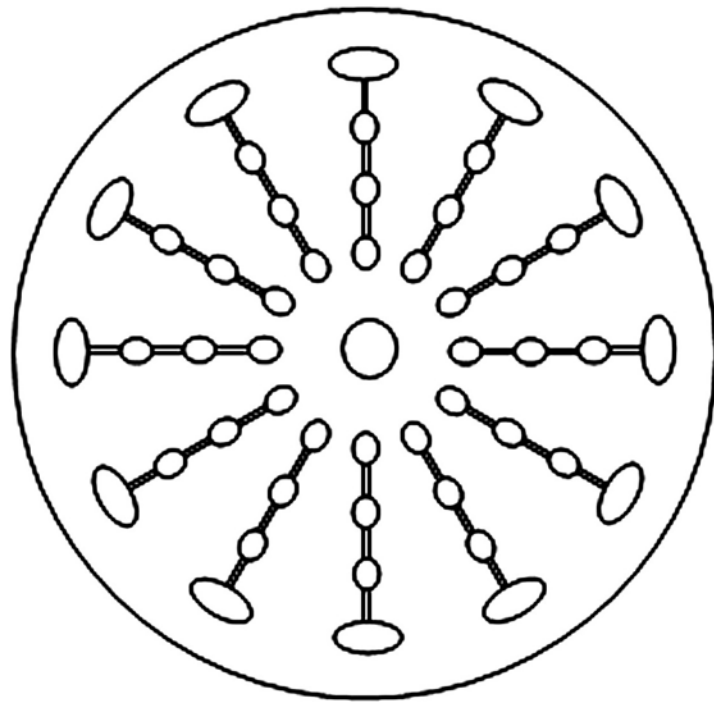


图2

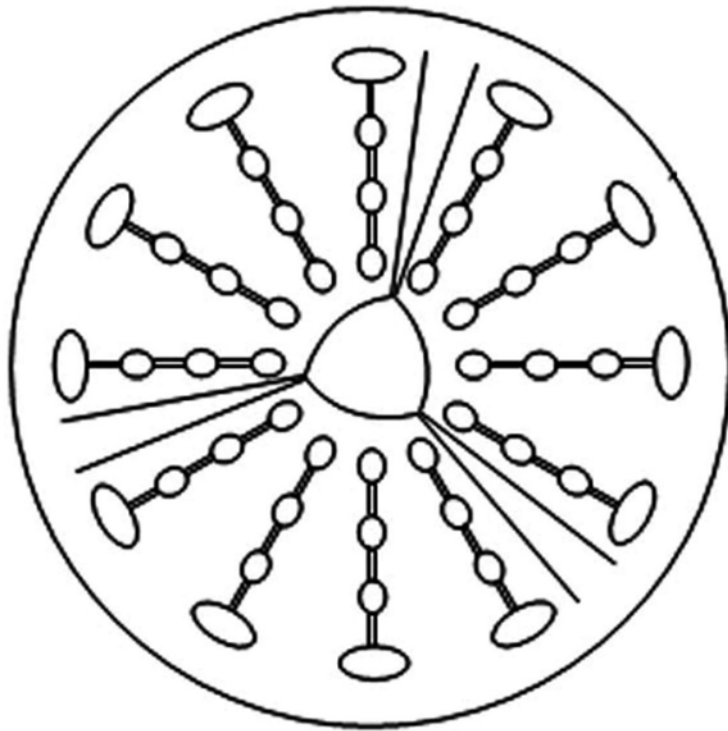


图3

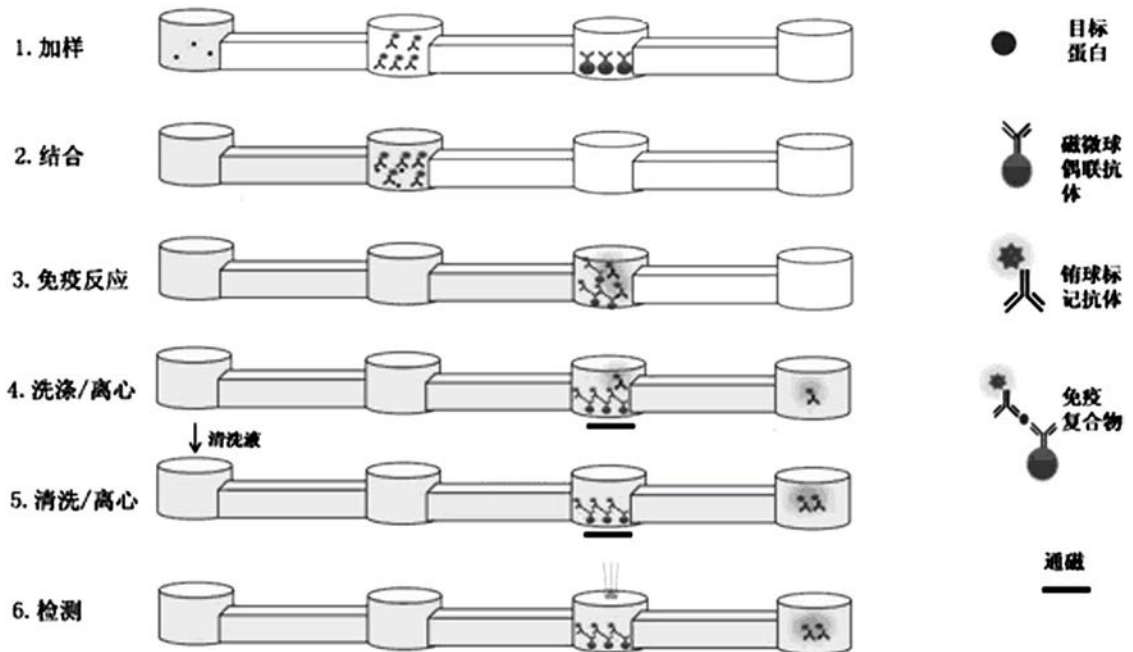


图4

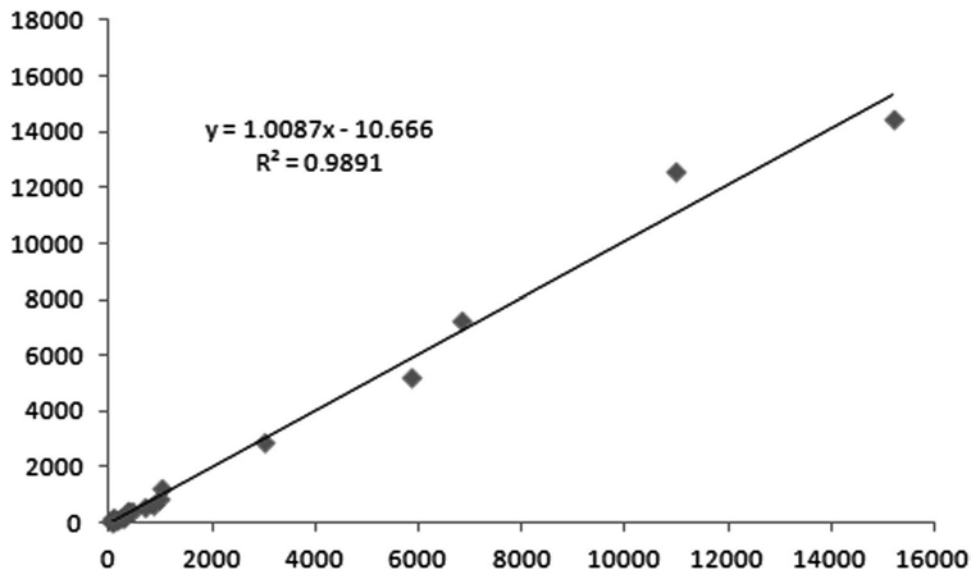


图5

专利名称(译)	一种微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒		
公开(公告)号	CN207036692U	公开(公告)日	2018-02-23
申请号	CN201720592465.X	申请日	2017-05-25
当前申请(专利权)人(译)	沈阳优宁生物科技有限公司		
[标]发明人	李祝华 白众瑜 黄雪莹 孙颖 孙秒 吕辉 高占岩		
发明人	李祝华 白众瑜 黄雪莹 孙颖 孙秒 吕辉 高占岩		
IPC分类号	G01N21/64 G01N33/533 G01N33/577 G01N33/543 G01N33/576 G01N33/571 G01N33/569		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种微流控芯片荧光免疫快速检测试剂盒，该试剂盒含有微流控芯片，所述微流控芯片包括一条或多条检测单元，所述检测单元位于微流控芯片的半径轴上，以微流控芯片中心点发散排列，所述检测单元自芯片中心点向边缘依次排列有加样槽、荧光探针槽、反应检测槽和废液槽，以及相互连接的微通道。使用该试剂盒，试剂用量少，集成化高，反应体系为均相，所有试剂均事先固化于芯片中，可在相对闭合的空间内进行抗原抗体反应，无交叉污染，不污染环境，具有高效率、高通量、高灵敏度、快速、敏感、稳定等优点。

