



(12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 209927857 U

(45)授权公告日 2020.01.10

(21)申请号 201920321661.2

G01N 33/533(2006.01)

(22)申请日 2019.03.14

G01N 21/64(2006.01)

B01L 3/00(2006.01)

(73)专利权人 迪亚莱博(张家港)生物科技有限公司

地址 215634 江苏省苏州市张家港保税区
新兴产业育成中心A栋211室(迪亚莱博)

(72)发明人 顾悦 蒋理国

(74)专利代理机构 苏州创元专利商标事务所有
限公司 32103

代理人 孙仿卫

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

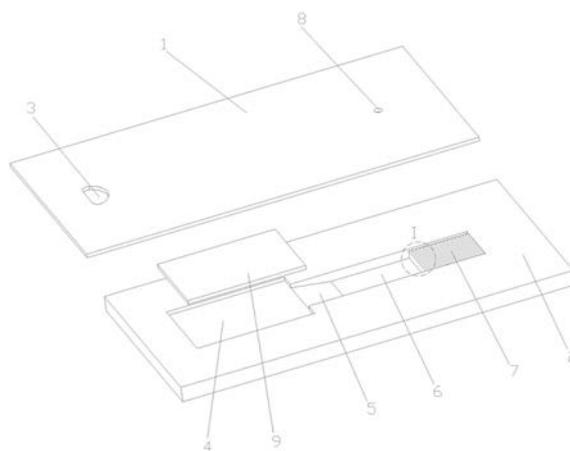
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54)实用新型名称

匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片

(57)摘要

本实用新型公开了一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,包括芯片底板和芯片盖板,所述芯片盖板上开设有用于添加检测样本的加样口,微流控芯片对应所述加样口具有滤血垫片,所述芯片底板上依次开设有用于容纳所述滤血垫片的滤血垫腔、与所述滤血垫腔相连通的反应腔以及超疏水阀道,所述芯片盖板对应所述超疏水阀道开设有排气孔,所述滤血垫片上封闭有抗人红细胞抗体,所述反应腔中包被有Eu标记单克隆抗体和XL665标记单克隆抗体。本实用新型的微流控芯片采用HTRF检测技术,适合快速床旁检测,且微流控芯片实现全血一步加样检测功能,大大缩短检测时间,操作简便,检测时间短,成本低,灵敏度高,线性范围宽,体积小,便于携带,可批量生产。



1. 一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,包括芯片底板和芯片盖板,所述芯片盖板上开设有用于添加检测样本的加样口,其特征在于,微流控芯片对应所述加样口具有滤血垫片,所述芯片底板上依次开设有用于容纳所述滤血垫片的滤血垫腔、与所述滤血垫腔相连通的反应腔以及位于所述反应腔尾部的超疏水阀道,所述芯片盖板对应所述超疏水阀道开设有排气孔,所述滤血垫片上封闭有抗人红细胞抗体,所述反应腔中包被有Eu标记单克隆抗体和XL665标记单克隆抗体。

2. 根据权利要求1所述的一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,其特征在于,所述反应腔的宽度小于或等于所述滤血垫腔的宽度。

3. 根据权利要求1所述的一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,其特征在于,所述反应腔的深度大于所述滤血垫腔的深度。

4. 根据权利要求1所述的一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,其特征在于,所述反应腔和所述滤血垫腔之间还设置有过渡通道。

5. 根据权利要求4所述的一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,其特征在于,所述过渡通道的深度由靠近所述滤血垫腔的一侧向靠近所述反应腔的一侧逐渐增大。

6. 根据权利要求1所述的一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,其特征在于,所述超疏水阀道包括凹槽微结构,所述凹槽微结构的表面具有超疏水试剂。

7. 根据权利要求6所述的一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,其特征在于,所述凹槽微结构中每个凹槽的深度为50-200 μm 、宽度为100-2000 μm 。

8. 根据权利要求7所述的一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,其特征在于,所述凹槽为弧形凹槽。

9. 根据权利要求1-8任意一项所述的一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,其特征在于,所述芯片盖板为透明材质。

10. 根据权利要求1-8任意一项所述的一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,其特征在于,所述芯片盖板和芯片底板通过超声波、激光或压力胶的方式键合。

匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片

技术领域

[0001] 本实用新型属于医疗器械体外诊断技术领域,具体涉及一种利用液相时间分辨荧光能量共振转移技术实现快速定量检测生物标志物的匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片。

背景技术

[0002] 液相时间分辨荧光能量共振转移技术(HTRF)结合了荧光共振能量转移(FRET)技术和时间分辨荧光(TRF)技术。该技术利用了具有穴状结构的铕(Eu)元素的螯和标记物作为供体(Donor)和XL665荧光分子作为受体(Acceptor),实现Eu穴状化合物的供体与XL665受体之间的荧光共振能量转移(FRET)。在荧光共振能量转移中,受体发射荧光的波长等同与供体的激发荧光的波长。因为Eu的荧光衰减周期较长,所以含Eu的供体会诱导XL665受体长时间地发射荧光,受体激发后产生的荧光便能持续较长时间,这样通过时间分辨就可以区分那些短寿命的自身散射的荧光背景,分离出FRET信号。

[0003] 利用HTRF技术实现生物标志物检测有诸多优势。HTRF做为匀相检测技术,只有发生免疫反应的复合物才能被检测到。因此,HTRF技术在整个检测过程中都不需要繁琐的清洗工序,操作简单,容易实现微型化检测。其次,HTRF技术能轻松消除背景干扰信号,使得检测信号背景低,干扰小,检测灵敏度高。

[0004] 微流控芯片床旁诊断检测技术是近十年发展起来的快速检测技术。由于微流控技术拥有样本流动控制、芯片封闭、管道微小、可控性强等特点,使得微流控芯片POCT检测技术的检测灵敏度和检测重复性相比于层析POCT检测技术均有不同程度提升,因此微流控芯片POCT检测技术越来越受到市场的青睐。

[0005] 目前的HTRF检测方法主要采用酶标孔板形式实现。孔板检测方式适合样本批量检测,且需要使用血清或血浆做为检测样本。全血样本需要先将样本离心十分钟处理再做检测。因此,孔板检测形式并不适用于对单一样本的快速检测需求。且现有HTRF检测技术不能实现全血检测,不适合单一样本进行检测。

发明内容

[0006] 有鉴于此,为了克服现有技术中的缺陷,本实用新型的目的是提供了一种能够实现现场快速、准确、高灵敏定量检测的一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片。

[0007] 为了达到上述目的,本实用新型采用以下的技术方案:

[0008] 一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,包括芯片底板和芯片盖板,所述芯片盖板上开设有用于添加检测样本的加样口,微流控芯片对应所述加样口具有滤血垫片,所述芯片底板上依次开设有用于容纳所述滤血垫片的滤血垫腔、与所述滤血垫腔相连通的反应腔以及位于所述反应腔尾部的超疏水阀道,所述芯片盖板对应所述超疏水阀道开设有排气孔,所述滤血垫片上封闭有抗人红细胞抗体,所述反应腔中包被有Eu标记单克隆抗体和XL665标记单克隆抗体。

- [0009] 封闭有滤血垫片的抗人红细胞抗体的作用是将全血样本中的红细胞拦截在滤血垫片中;反应腔的作用是提供免疫反应场所。
- [0010] 优选地,所述反应腔的宽度小于或等于所述滤血垫腔的宽度。
- [0011] 优选地,所述反应腔的深度大于所述滤血垫腔的深度。
- [0012] 优选地,所述反应腔和所述滤血垫腔之间还设置有过渡通道。
- [0013] 更加优选地,所述过渡通道的深度由所述靠近所述滤血垫腔的一侧向靠近所述反应腔的一侧逐渐增大。
- [0014] 优选地,所述超疏水阀道包括凹槽微结构,所述凹槽微结构的表面具有超疏水试剂。超疏水试剂为溶解在电子氟化液中的氟硅烷。超疏水阀道表面由超疏水试剂进行修饰,阻止样本流动,固定免疫反应体积。
- [0015] 超疏水阀道由凹槽微结构以及覆盖在凹槽微结构表面的超疏水试剂组成,超疏水试剂以及凹槽微结构形成的超疏水表面能够实现被动式流动阻断阀,当检测样本流动至该超疏水表面时,能有效阻挡液体继续流动,从而固定免疫反应体积。
- [0016] 更加优选地,所述凹槽微结构中每个凹槽的深度为50-200 μm 、宽度为100-2000 μm 。
- [0017] 进一步优选地,所述凹槽为弧形凹槽。
- [0018] 优选地,所述芯片盖板为透明材质,如玻璃或PET、PBT等透明高分子材料。
- [0019] 优选地,所述芯片盖板和芯片底板通过超声波、激光或压力胶的方式键合。
- [0020] 由于以上技术方案的实施,本实用新型的一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片与现有技术相比具有如下优点:本实用新型的微流控芯片采用HTRF检测技术,与常规的HTRF技术孔板检测方式不同,本实用新型的微流控芯片适合单人份快速床旁检测。另一方面,微流控芯片实现全血一步加样检测功能,大大缩短检测时间。本实用新型的微流控芯片操作简便,检测时间短,成本低,灵敏度高,线性范围宽,体积小,便于携带,可批量生产。

附图说明

[0021] 为了更清楚地说明本实用新型实施例中的技术方案,下面将对实施例描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本实用新型的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0022] 图1为本实用新型优选实施例1中的匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片的爆炸图;

[0023] 图2为图1中I部的放大图;

[0024] 附图中:芯片盖板-1,芯片底板-2,加样口-3,滤血垫腔-4,过渡通道-5,反应腔-6,超疏水阀道-7,凹槽-71,排气孔-8,滤血垫片-9。

具体实施方式

[0025] 为了使本技术领域的人员更好地理解本实用新型的技术方案,下面将结合本实用新型实施例中的附图,对本实用新型实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本实用新型一部分的实施例,而不是全部的实施例。基于本实用新型

中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都应当属于本实用新型保护的范围。

[0026] 实施例1 匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片

[0027] 参见附图1-2所示,本实施例中的一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片,包括芯片底板2和芯片盖板1,芯片盖板1上开设有用于添加检测样本的加样口3,微流控芯片对应加样口3具有滤血垫片9,芯片底板2上依次开设有用于容纳滤血垫片9的滤血垫腔4、与滤血垫腔4相连通的反应腔6以及超疏水阀道7以及连通滤血垫腔4和反应腔6的过渡通道5,芯片盖板1对应超疏水阀道7开设有排气孔8,滤血垫片9上封闭有抗人红细胞抗体,反应腔6中包被有Eu标记单克隆抗体和XL665标记单克隆抗体。封闭有滤血垫片9的抗人红细胞抗体的作用是将全血样本中的红细胞拦截在滤血垫片9中;反应腔6的作用是提供免疫反应场所。

[0028] 如图1所示,本实施例中的反应腔6的宽度小于滤血垫腔4的宽度,反应腔6的深度大于滤血垫腔4的深度,且过渡通道5的深度由靠近滤血垫腔4的一侧向靠近反应腔6一侧逐渐增大。

[0029] 如图1-2所示,本实施例中的超疏水阀道7包括凹槽微结构,凹槽微结构的表面具有超疏水试剂。凹槽微结构中每个凹槽71的深度为50-200 μm 、宽度为100-2000 μm 。凹槽71为弧形凹槽71。超疏水试剂为溶解在电子氟化液中的氟硅烷。超疏水阀道7表面由超疏水试剂进行修饰,可阻止样本流动,固定免疫反应体积。

[0030] 超疏水试剂以及凹槽微结构形成的超疏水表面能够实现被动式流动阻断阀,当检测样本流动至该超疏水表面时,能有效阻挡液体继续流动,从而固定免疫反应体积。

[0031] 芯片盖板1和芯片底板2通过超声波、激光或压力胶的方式键合。且传统层析技术中所使用的硝酸纤维素膜材质不透明,检测信号集中表现在膜表面。而本实施例中的微流控芯片的芯片盖板1和芯片底板2为透明材质制成,如玻璃或PET、PBT等透明高分子材料,整个管道通透,使得所有荧光检测信号都能被荧光分析仪探测到,从而极大地提高了检测灵敏度。在其他一些实施例中,芯片底板2可为透明或不透明材质。

[0032] 实施例2 微流控芯片生产工艺

[0033] 如实施例1所述的微流控芯片的具体生产工艺如下:

[0034] 以降钙素原(PCT)检测为例,具体生产工艺如下:

[0035] (一)Eu标记单克隆抗体和XL665标记单克隆抗体

[0036] 1、配制20mg/ml EDC、10mM PBS溶液。

[0037] 2、分别取90 μl 10mM PBS缓冲液于两支离心管中,一支离心管加入10 μl 的Eu标记物,另一支加入10 μL 的XL665标记物,震荡混匀。

[0038] 3、分别取5 μl 的EDC活化溶液加入到步骤2的溶液中两支离心管中,震荡混匀,置于摇床15min(室温或20 $^{\circ}\text{C}$, 250rpm)。

[0039] 4、配制100 μl 标记抗体:用10mM PBS缓冲液,分别配制PCT单克隆抗体一溶液和PCT单克隆抗体二溶液,终浓度为0.1mg/ml。

[0040] 5、将活化后的标记物溶液与抗体溶液混匀,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育两小时。

[0041] 6、将步骤5的溶液置于30KD超滤管中,15000rpm,离心15min,弃管底清液。

[0042] 7、将500 μl 10mM PBS缓冲液加入至步骤6的溶液中,复溶标记抗体,震荡混匀后置

于离心机,15000rpm,离心15min,弃管底清液。

[0043] 8、加入200ul标记抗体保存液(0.1%BSA、10mM PBS)至步骤7的溶液中,震荡混匀,置于2-8℃保存。

[0044] (二)Eu标记单克隆抗体和XL665标记单克隆抗体包被于微流控芯片反应腔

[0045] 1、配制Eu标记抗体溶液:使用10mM PBS缓冲液配制,终浓度为0.05mg/ml。

[0046] 2、配制XL665标记抗体溶液:使用10mM PBS缓冲液配制,终浓度为0.05mg/ml。

[0047] 3、使用点样仪,将步骤1和2中的溶液以0.2ul的体积包被于芯片反应腔中,37℃烘烤2小时。

[0048] (三)超疏水阀道表面修饰

[0049] 1、配制超疏水试剂:用电子氟化液配制0.1%氟硅烷溶液。

[0050] 2、使用点样仪,将步骤1中的溶液以0.5uL的体积滴加与芯片超疏水阀道上,37℃烘烤2小时。

[0051] (四)滤血垫封闭

[0052] 1、配制封闭液:配制1mg/mL抗红细胞抗体、0.1%BSA、0.5%Tween20、1%蔗糖、50 mM Tris缓冲液。

[0053] 2、将上述封闭液均匀涂于滤血垫,37℃烘烤2小时。

[0054] (五)滤血垫裁切

[0055] 使用气动打孔器,将滤血垫裁切成所需形状,形成滤血垫片。

[0056] (六)微流控芯片封装

[0057] 将裁切好的滤血垫片装载于微流控芯片底板中,并将芯片盖板与芯片底板进行组装并键合,得到微流控芯片。芯片底板与所述盖板通过压力胶、超声波、激光等方式键合在一起,形成封闭地床旁诊断的微流控芯片。

[0058] (七)本实施例制备的微流控芯片使用的具体步骤如下:

[0059] 吸取100ul待测样本,滴加至加样口,并开始计时。计时10-30分钟完成后,使用荧光分析仪,读取检测结果。

[0060] 本微流控试剂盒操作简便,检测时间短,成本低,灵敏度高,线性范围宽,体积小,便于携带,可批量生产,能够实现全血一步加样检测和实时床旁检测。

[0061] 上述实施例只为说明本实用新型的技术构思及特点,其目的在于让熟悉此项技术的人士能够了解本实用新型的内容并据以实施,并不能以此限制本实用新型的保护范围,凡根据本实用新型精神实质所作的等效变化或修饰,都应涵盖在本实用新型的保护范围之内。

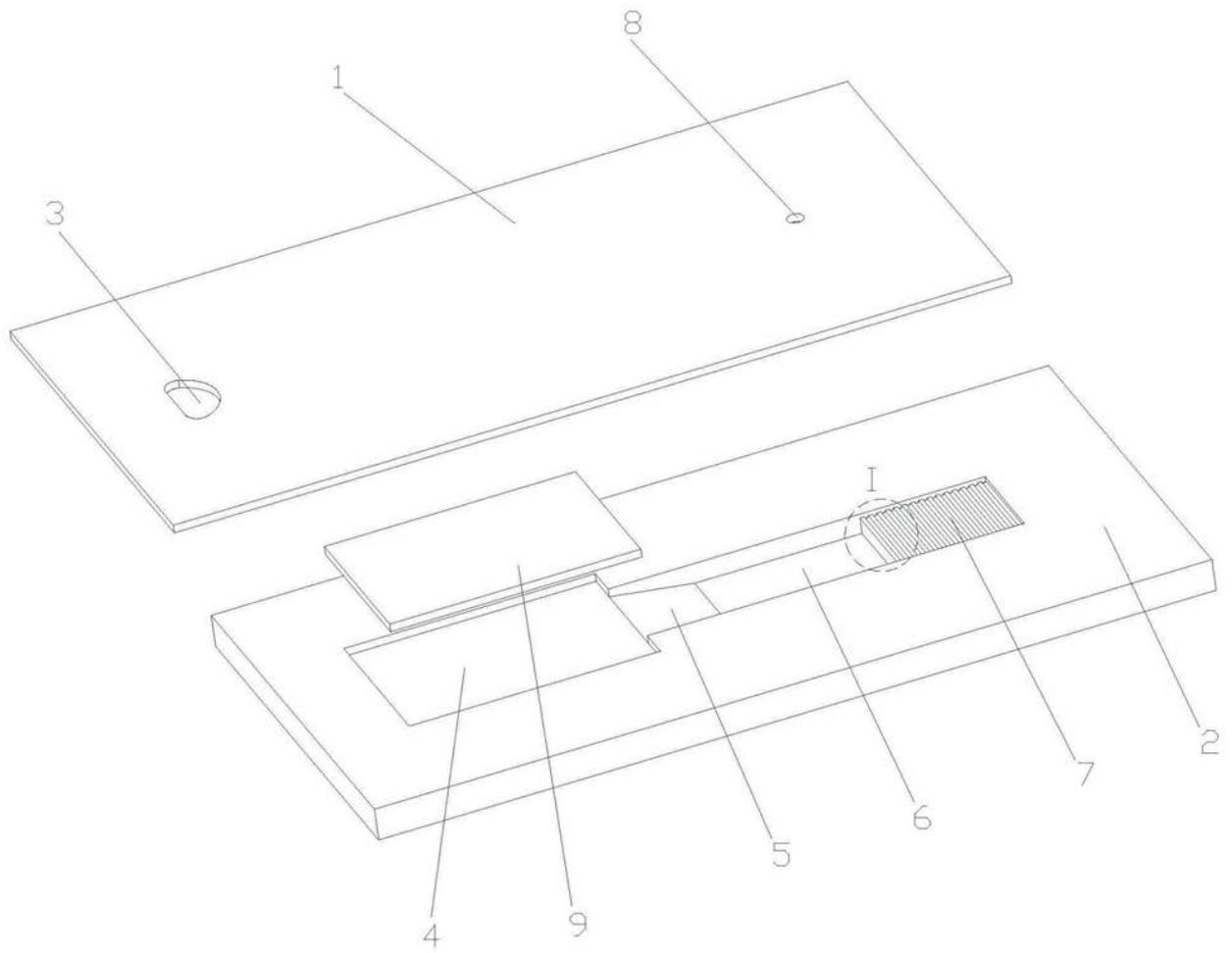


图1

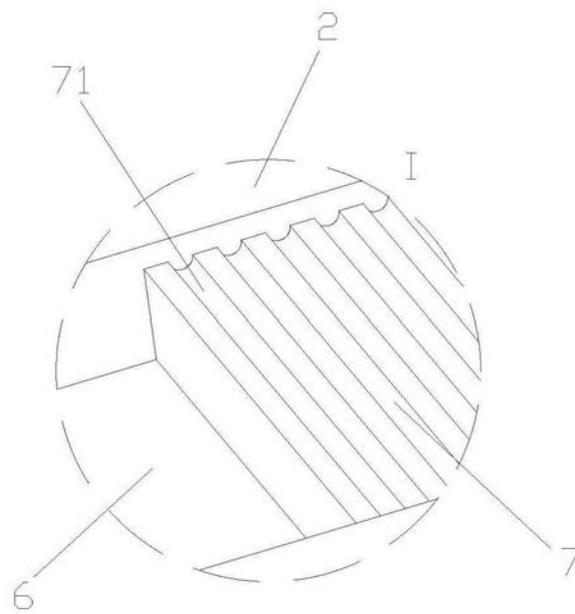


图2

专利名称(译)	匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片		
公开(公告)号	CN209927857U	公开(公告)日	2020-01-10
申请号	CN201920321661.2	申请日	2019-03-14
[标]发明人	顾悦 蒋理国		
发明人	顾悦 蒋理国		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/58 G01N33/577 G01N33/533 G01N21/64 B01L3/00		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型公开了一种匀相时间分辨免疫荧光床旁诊断微流控芯片，包括芯片底板和芯片盖板，所述芯片盖板上开设有用于添加检测样本的加样口，微流控芯片对应所述加样口具有滤血垫片，所述芯片底板上依次开设有用于容纳所述滤血垫片的滤血垫腔、与所述滤血垫腔相连通的反应腔以及超疏水阀道，所述芯片盖板对应所述超疏水阀道开设有排气孔，所述滤血垫片上封闭有抗人红细胞抗体，所述反应腔中包被有Eu标记单克隆抗体和XL665标记单克隆抗体。本实用新型的微流控芯片采用HTRF检测技术，适合快速床旁检测，且微流控芯片实现全血一步加样检测功能，大大缩短检测时间，操作简便，检测时间短，成本低，灵敏度高，线性范围宽，体积小，便于携带，可批量生产。

