



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105738615 A

(43)申请公布日 2016.07.06

(21)申请号 201610237983.X

(22)申请日 2016.04.15

(71)申请人 张红

地址 300191 天津市南开区红旗南路251号

(72)发明人 张红

(74)专利代理机构 天津市北洋有限责任专利代理事务所 12201

代理人 陆艺

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 27/26(2006.01)

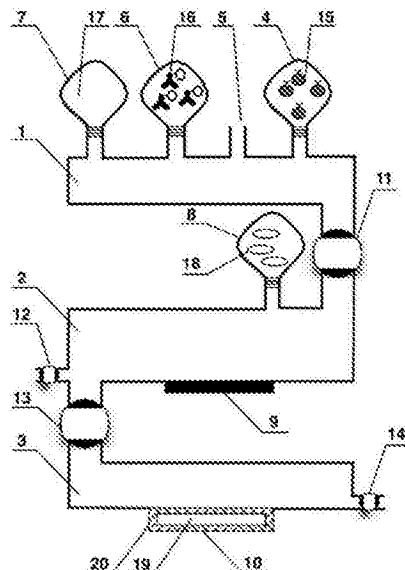
权利要求书2页 说明书11页 附图2页

(54)发明名称

基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置及方法

(57)摘要

本发明公开了基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置及方法,装置包括管道,管道分别被分隔为反应腔室1、磁分离腔室2和电学状态测量腔室3,在反应腔室1上设置有磁颗粒试剂包4、样品进口5、酶标生物探针试剂包6和洗液包7;在磁分离腔室2上设置有底物试剂包8;在磁分离腔室2的外表面设置有电磁铁9;在电学状态测量腔室3管道壁上镶嵌有由敏感电极19与惰性层20构成的非修饰惰性电极10。本发明的非修饰惰性电极的使用提升了通用性、持久性,使其可以成为传感器的一个固定组建,由此解决了传感器一体化/自动化、检测成本的问题;而基于非修饰惰性电极的反应溶液稳态电学特性测量,则为检测精密性、检测稳定性奠定了坚实基础。



1. 一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置,包括管道,其特征是:管道分别被第一阀门(11)和第三阀门(13)分隔为反应腔室(1)、磁分离腔室(2)和电学状态测量腔室(3),在反应腔室(1)上设置有磁颗粒试剂包(4)、样品进口(5)、酶标生物探针试剂包(6)和洗液包(7);在磁颗粒试剂包(4)内设置有磁颗粒-生物探针偶联物(15);酶标生物探针试剂包(6)内设置有酶标生物探针(16);在洗液包(7)内设置有洗液(17);在磁分离腔室(2)上设置有底物试剂包(8)和连接有第二阀门(12)的液体出口;在磁分离腔室(2)的外表面设置有电磁铁(9);在底物试剂包(8)内设置有底物(18);在电学状态测量腔室(3)管道壁上镶嵌有由敏感电极(19)与惰性层(20)构成的非修饰惰性电极(10),和连接有第四阀门(14)的液体出口。

2. 根据权利要求1所述的一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置,其特征是所述管道呈“S”形,第一阀门(11)和第三阀门(13)分别设置在S的转弯处。

3. 根据权利要求1或2所述的一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置,其特征是磁颗粒试剂包(4)与反应腔室(1)活动连接、酶标生物探针试剂包(6)与反应腔室(1)活动连接、洗液包(7)与反应腔室(1)活动连接、底物试剂包(8)与磁分离腔室(2)活动连接。

4. 根据权利要求1或2所述的一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置,其特征是磁颗粒-生物探针偶联物(15)中生物探针为抗体或抗原。

5. 根据权利要求1或2所述的一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置,其特征是所述酶标生物探针(16)中的生物探针为抗体或抗原;所述酶为碱性磷酸酶或辣根过氧化物酶。

6. 根据权利要求1或2所述的一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置,其特征是所述底物(18)为与碱性磷酸酶配对的对硝基苯磷酸二钠或与辣根过氧化物酶配对的3,3',5,5'-四甲基苯胺。

7. 根据权利要求1或2所述的一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置,其特征是所述惰性层(20)为金层,铂层或碳层。

8. 一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测方法,其特征是包括如下步骤:

1) 使用权利要求1-7之一的装置;

2) 关闭第一阀门(11)、第二阀门(12)、第三阀门(13)和第四阀门(14);

通过样品进口(5)将含有靶标(21)的液体样品注入反应腔室(1),随后将磁颗粒试剂包(4)中的磁颗粒-生物探针偶联物(15)注入反应腔室(1),磁颗粒-生物探针偶联物(15)对靶标(21)进行捕获,形成磁颗粒-生物探针偶联物/靶标复合物(22);

3) 将酶标生物探针试剂包(6)中的酶标生物探针(16)注入反应腔室(1),磁颗粒-生物探针偶联物/靶标复合物(22)与酶标生物探针(16)发生特异性的识别反应,形成磁颗粒-酶复合物(23);

4) 打开第一阀门(11)和第二阀门(12),将洗液(17)注入反应腔室(1),将磁颗粒-酶复合物(23)冲入磁分离腔室(2)并被电磁铁(9)捕获,样品中的其它基质经连接有第二阀门(12)的液体出口流出;

5) 将第一阀门(11)和第二阀门(12)关闭,将底物试剂包(8)中的底物(18)注入磁分离腔室(2),底物(18)被磁颗粒-酶复合物(23)中的酶催化形成催化产物(24),从而造成反应溶液稳态电学状态的改变;

6) 打开第三阀门(13), 将含有催化产物(24)的反应溶液注入电学状态测量腔室(3), 由非修饰惰性电极(10)对反应溶液稳态电学状态中的电阻抗、电阻和/或介电常数进行测量。

## 基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置及方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于体外诊断技术领域,涉及一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置及基于该装置进行免疫检测的方法。

### 背景技术

[0002] 在诊断方面,电学免疫生物传感器具有优势。免疫生物传感的核心是,采用光、电、磁等可以精准测量的物理参数,对微观免疫特异识别予以直观、量化的表征。根据测量物理信号的不同可以分为光学免疫生物传感器、电学免疫生物传感器、磁学免疫生物传感器等。其中,电学免疫生物传感器与光学免疫生物传感器相比,由于没有光信号激发、接收过程中对角度和光径的限制,因而可以大幅减小体积为便携化奠定基础;电学免疫生物传感器与磁学免疫生物传感器相比,一般对电位、电流、电阻抗等进行测量,不存在电磁干扰,因而敏感性、稳定性更高。

[0003] 表面修饰、表面电化学反应使电极不具有通用性、持久性,由此为电学免疫检测带来了传感器一体化/自动化、检测成本、检测精密性、检测稳定性方面的问题。电学免疫生物传感(见图1)的核心器件是活泼电极51,其是电学测量与生物识别的交界面,现有基于电极的电学免疫生物传感通常都具有如下的特征:

[0004] [1]电极表面修饰:电极作为生物传感的交界面,通常在其表面修饰某一种特异抗体52,根据抗体捕获靶标53的自身特性(非标记法)或抗体捕获靶标后产生的电化学敏感产物54(标记法,例如酶标二抗55催化底物56),实现对免疫检测的识别。这种特定抗体修饰的电极,大幅降低了电极对于不同靶标、不同次检测的通用性,使得针对不同靶标、每次检测都要替换电极,导致检测成本高。

[0005] [2]电极表面电化学反应:电阻抗、电位、电流等电学信号测量,都是基于电化学敏感产物在活泼电极表面发生电化学反应,从而产生可以检测的信号。电化学过程对电极表面造成了不可逆的改变,并在测量结果中逐步积累,影响其使用的持久性。

[0006] 上述特征在电学免疫生物传感的实际应用中造成了如下问题:传感器无法一体化集成/自动化操作,电极作为传感器的核心部件,在每次检测中都要替换;增加了检测成本;每次检测都需替换电极、电极检测中会发生损耗,由此电极之间的差异、电极损耗过程中的差异大幅降低了检测的精密性与稳定性。

### 发明内容

[0007] 本发明的目的是克服现有技术的不足,提供基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置。

[0008] 本发明的第二个目的是提供基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测方法。

[0009] 本发明的技术方案概述如下:

[0010] 一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置,包括管道,管道分别被第一阀门11和第三阀门13分隔为反应腔室1、磁分离腔室2和电学状态测量腔室3,在反应腔室

1上设置有磁颗粒试剂包4、样品进口5、酶标生物探针试剂包6和洗液包7；在磁颗粒试剂包4内设置有磁颗粒-生物探针偶联物15；酶标生物探针试剂包6内设置有酶标生物探针16；在洗液包7内设置有洗液17；在磁分离腔室2上设置有底物试剂包8和连接有第二阀门12的液体出口；在磁分离腔室2的外表面设置有电磁铁9；在底物试剂包8内设置有底物18；在电学状态测量腔室3管道壁上镶嵌有由敏感电极19与惰性层20构成的非修饰惰性电极10，和连接有第四阀门14的液体出口。

[0011] 优选的是，管道呈“S”形，第一阀门11和第三阀门13分别设置在S的转弯处。

[0012] 磁颗粒试剂包4与反应腔室1活动连接、酶标生物探针试剂包6与反应腔室1活动连接、洗液包7与反应腔室1活动连接、底物试剂包8与磁分离腔室2活动连接。

[0013] 磁颗粒-生物探针偶联物15中生物探针为抗体或抗原。

[0014] 酶标生物探针16中的生物探针为抗体或抗原；所述酶为碱性磷酸酶或辣根过氧化物酶。

[0015] 底物18为与碱性磷酸酶配对的对硝基苯磷酸二钠或与辣根过氧化物酶配对的3,3',5,5'-四甲基联苯胺。

[0016] 惰性层20为金层，铂层或碳层。

[0017] 洗液17为磷酸盐洗液、碳酸盐洗液或Tris洗液，依据磁颗粒-生物探针偶联物15和酶标生物探针16中生物探针不同而不同。

[0018] 一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测方法，包括如下步骤：

[0019] 1) 使用一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置；

[0020] 2) 关闭第一阀门11、第二阀门12、第三阀门13和第四阀门14；

[0021] 通过样品进口5将含有靶标21的液体样品注入反应腔室1，随后将磁颗粒试剂包4中的磁颗粒-生物探针偶联物15注入反应腔室1，磁颗粒-生物探针偶联物对靶标21进行捕获，形成磁颗粒-生物探针偶联物/靶标复合物22；

[0022] 3) 将酶标生物探针试剂包6中的酶标生物探针16注入反应腔室1，磁颗粒-生物探针偶联物/靶标复合物22与酶标生物探针16发生特异性的识别反应，形成磁颗粒-酶复合物23；

[0023] 4) 打开第一阀门11和第二阀门12，将洗液17注入反应腔室1，将磁颗粒-酶复合物23冲入磁分离腔室2并被电磁铁9捕获，样品中的其它基质经连接有第二阀门12的液体出口流出；

[0024] 5) 将第一阀门11和第二阀门12关闭，将底物试剂包8中的底物18注入磁分离腔室2，底物18被磁颗粒-酶复合物23中的酶催化形成催化产物24，从而造成反应溶液稳态电学状态的改变；

[0025] 6) 打开第三阀门13，将含催化产物24的反应溶液注入电学状态测量腔室3，由非修饰惰性电极10对反应溶液稳态电学状态中的电阻抗、电阻和/或介电常数进行测量。

[0026] 本发明的装置所具有的优点为，采用非修饰惰性电极作为装置的固定组建，极大降低了装置与利用装置进行检测的成本；优选采用“S”形管道设计时，极大减小了装置的体积，提升了集成度；实现了磁颗粒免疫捕获与电学生物传感的集成，而反应腔室、磁分离腔室和电学状态测量腔室的分隔式设计以及管道、阀门、液体出口的设置最大限度排除了液体样本基质对检测结果的影响，为检测结果的准确奠定了基础。

[0027] 利用本发明的装置进行检测的优点为,非修饰惰性电极的使用提升了通用性、持久性,使其可以成为传感器的一个固定组建,由此解决了传感器一体化/自动化、检测成本的问题;而基于非修饰惰性电极的反应溶液稳态电学特性测量,则为检测精密性、检测稳定性奠定了坚实基础。

## 附图说明

[0028] 图1为现有技术示意图。

[0029] 图2为本发明结构示意图。

[0030] 图3为在本发明的装置中,磁颗粒-生物探针偶联物15对靶标21进行捕获,形成磁颗粒-生物探针偶联物/靶标复合物22示意图;

[0031] 图4为在本发明的装置中,磁颗粒-生物探针偶联物/靶标复合物22与酶标生物探针16发生特异性的识别反应,形成磁颗粒-酶复合物23示意图;

[0032] 图5为在本发明的装置中,磁颗粒-酶复合物23冲入磁分离腔室2并被电磁铁9捕获示意图;

[0033] 图6为在本发明的装置中,底物18被磁颗粒-酶复合物23中的酶催化形成具有稳态电学状态的产物24示意图。

[0034] 图7为在本发明的装置中,将含有催化产物24的反应溶液注入电学状态测量腔室3,由非修饰惰性电极10对稳态电学状态进行测量示意图。

## 具体实施方式

[0035] 当酶标生物探针16与磁颗粒-生物探针偶联物15中的生物探针均是抗体时,可以构建双抗体夹心检测模式;当酶标生物探针16与磁颗粒-生物探针偶联物15中的生物探针均是抗原时,可以构建双抗原夹心检测模式;当酶标生物探针16与磁颗粒-生物探针偶联物15中的生物探针分别是抗原、抗体时,可以构建竞争检测模式;当酶标生物探针16与磁颗粒-生物探针偶联物15中的生物探针分别是二抗、抗原时,可以构建间接检测模式。

[0036] 碱性磷酸酶(磁颗粒-酶复合物23中的酶)催化对硝基苯磷酸二钠(底物18),形成含有对硝基苯酚(催化产物24)的反应溶液,造成反应溶液稳态电学状态的改变,这种改变与针对靶标的免疫反应发生与否、发生强度具有相关性。由非修饰惰性电极10对反应溶液稳态电学状态中的电阻抗、电阻和/或介电常数进行测量,从而可以推算出液体样本中靶标21的浓度。

[0037] 辣根过氧化物酶(磁颗粒-酶复合物23中的酶)催化3,3',5,5'-四甲基联苯胺(底物18),形成含有偶氮化合物(催化产物24)的反应溶液,从而造成反应溶液稳态电学状态的改变,这种改变与针对靶标的免疫反应发生与否、发生强度具有相关性。由非修饰惰性电极10对反应溶液稳态电学状态中的电阻抗、电阻和/或介电常数进行测量,从而可以推算出液体样本中靶标21的浓度。

[0038] 下面结合附图和具体实施例对本发明作进一步的说明。

[0039] 一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置(见图2),包括管道,管道分别被第一阀门11和第三阀门13分隔为反应腔室1、磁分离腔室2和电学状态测量腔室3,在反应腔室1上设置有磁颗粒试剂包4、样品进口5、酶标生物探针试剂包6和洗液包7;在磁颗粒

试剂包4内设置有磁颗粒-生物探针偶联物15；酶标生物探针试剂包6内设置有酶标生物探针16；在洗液包7内设置有洗液17；在磁分离腔室2上设置有底物试剂包8和连接有第二阀门12的液体出口；在磁分离腔室2的外表面设置有电磁铁9；在底物试剂包8内设置有底物18；在电学状态测量腔室3管道壁上镶嵌有由敏感电极19与惰性层20构成的非修饰惰性电极10，和连接有第四阀门14的液体出口。

[0040] 优选的是，管道呈“S”形，第一阀门11和第三阀门13分别设置在S的转弯处。

[0041] 磁颗粒试剂包4与反应腔室1活动连接、酶标生物探针试剂包6与反应腔室1活动连接、洗液包7与反应腔室1活动连接、底物试剂包8与磁分离腔室2活动连接。

[0042] 磁颗粒-生物探针偶联物15中生物探针为抗体或抗原。

[0043] 酶标生物探针16中的生物探针为抗体或抗原；所述酶为碱性磷酸酶或辣根过氧化物酶。

[0044] 底物18为与碱性磷酸酶配对的对硝基苯磷酸二钠或与辣根过氧化物酶配对的3,3',5,5'-四甲基联苯胺。

[0045] 惰性层20为金层、铂层或碳层。

[0046] 一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测方法，包括如下步骤：

[0047] 1) 使用一种基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置(见图2)

[0048] 2)(见图3)关闭第一阀门11、第二阀门12、第三阀门13和第四阀门14；

[0049] 通过样品进口5将含有靶标21的液体样品注入反应腔室1，随后将磁颗粒试剂包4中的磁颗粒-生物探针偶联物15注入反应腔室1，磁颗粒-生物探针偶联物15对靶标21进行捕获，形成磁颗粒-生物探针偶联物/靶标复合物22；

[0050] 3)(见图4)将酶标生物探针试剂包6中的酶标生物探针16注入反应腔室1，磁颗粒-生物探针偶联物/靶标复合物22与酶标生物探针16发生特异性的识别反应，形成磁颗粒-酶复合物23；

[0051] 4)(见图5)打开第一阀门11和第二阀门12，将洗液17注入反应腔室1，将磁颗粒-酶复合物23冲入磁分离腔室2并被电磁铁9捕获，样品中的其它基质经连接有第二阀门12的液体出口流出；

[0052] 5)(见图6)将第一阀门11和第二阀门12关闭，将底物试剂包8中的底物18注入磁分离腔室2，底物18被磁颗粒-酶复合物23中的酶催化形成催化产物24，从而造成反应溶液稳态电学状态的改变；

[0053] 6)(见图7)打开第三阀门13，将含有催化产物24的反应溶液注入电学状态测量腔室3，由非修饰惰性电极10对稳态电学状态中的电阻抗、电阻和/或介电常数进行测量。

[0054] 实施例1-实施例8见表1。

实验例 编号	实验 装置	实验生物 材料	实验生物 材料	试剂	试剂	试剂	试剂
实验例 1	大肠杆菌 悬液	碱性过氧化物 悬液	碱性过氧化物-大肠杆菌 悬液	对硝基苯酚 二钠	磷酸盐缓冲液 (pH=7.2, 0.03M 含 2% Triton X-100)	金属 电极液	溴酚蓝 电极液
实验例 2	酵母悬液	碱性过氧化物 悬液	碱性过氧化物-酵母悬液 悬液	对硝基苯酚 二钠	磷酸盐缓冲液 (pH=8.5, 0.02M 含 1.5% NP40)	金属 电极液	溴酚蓝 电极液
实验例 3	鸡卵	碱性过氧化物 悬液	碱性过氧化物-鸡卵 悬液	对硝基苯酚 二钠	Tris 缓冲液 (pH=7.2, 0.01M 含 2% Triton X-100)	介电 电极液	介电 电极液
实验例 4	酵母悬液	碱性过氧化物 悬液	碱性过氧化物-加入 IgG 悬液	对硝基苯酚 二钠	磷酸盐缓冲液 (pH=7.2, 0.03M 含 1% NP40)	金属 电极液	金属 电极液
实验例 5	大肠杆菌 悬液	碱性过氧化物 悬液	碱性过氧化物-大 肠杆菌悬液 悬液	3, 3', 5, 5'-四 甲基联苯酚 单硝基苯酚 悬液	磷酸盐缓冲液 (pH=7.2, 0.03M 含 2% Triton X-100)	金属 电极液	金属 电极液
实验例 6	酵母悬液	碱性过氧化物 悬液	碱性过氧化物-酵母 悬液	3, 3', 5, 5'-四 甲基联苯酚 单硝基苯酚 悬液	磷酸盐缓冲液 (pH=8.5, 0.02M 含 1.5% NP40)	金属 电极液	金属 电极液
实验例 7	鸡卵	碱性过氧化物 悬液	碱性过氧化物-鸡 卵悬液	3, 3', 5, 5'-四 甲基联苯酚 单硝基苯酚 悬液	Tris 缓冲液 (pH=7.2, 0.01M 含 2% Triton X-100)	介电 电极液	介电 电极液
实验例 8	酵母悬液	碱性过氧化物 悬液	碱性过氧化物-酵母 悬液	3, 3', 5, 5'-四 甲基联苯酚 单硝基苯酚 悬液	磷酸盐缓冲液 (pH=7.2, 0.03M 含 1% NP40)	金属 电极液	金属 电极液

[0055]

表 1

[0056] 利用各实施例的装置所进行的实验例如下：

[0057] 实验例1：

[0058] 利用实施例1的检测装置进行大肠杆菌的检测,用LB培养基将纯培养的大肠杆菌(大肠杆菌0157:H7[CICC编号21530]购自中国工业微生物菌种保藏管理中心)系列稀释至0、 $10^1$ 、 $10^2$ 、 $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$ 、 $10^7$ 、 $10^8$ cfu/ml,每个浓度的样品分别测量3次,结果见表2:

[0059] 表2:

[0060]

靶标类型	靶标浓度 (cfu/ml)	电阻抗测量值 (欧姆)			均值	标准偏差	变异系数 (%)
		测量 1	测量 2	测量 3			
大肠杆菌	0	153721	151532	153121	152791	1131	0.7%
大肠杆菌	$10^1$	151324	152134	153211	152223	947	0.6%
大肠杆菌	$10^2$	145176	148653	144521	146117	2221	1.5%
大肠杆菌	$10^3$	141421	143910	139231	141521	2341	1.7%
大肠杆菌	$10^4$	135231	137983	134006	135740	2037	1.5%
大肠杆菌	$10^5$	130894	131462	128604	130320	1513	1.2%
大肠杆菌	$10^6$	124184	121284	126452	123973	2590	2.1%
大肠杆菌	$10^7$	120085	119472	118421	119326	842	0.7%
大肠杆菌	$10^8$	110387	113189	108673	110750	2280	2.1%

Cutoff 阈值(阴性样品[0cfu/ml]均值-3SD): 149398 欧姆, 测量值小于 Cutoff 阈值为阳性  
敏感性:  $10^2$ cfu/ml  
定量范围:  $10^2$ - $10^8$ cfu/ml ( $R^2=0.99433$ )  
精密性(变异系数): 0.6%-2.1%

[0061] 实验例2:

[0062] 利用实施例2的检测装置描述进行梅毒抗体的检测,用正常人血清将纯化的人梅毒总IgG(购自中科质检标准物质网)系列稀释至0、25、50、100、500、1000、5000、10000ng/ml,每个浓度的样品分别测量3次,结果见表3:

[0063] 表3:

[0064]

靶标类型	靶标浓度 (ng/ml)	电阻测量值 (欧姆)			均值	标准偏差 (%)	变异系数 (%)
		测量 1	测量 2	测量 3			
梅毒抗体	0	431	432	457	440	15	3.3%
梅毒抗体	25	435	442	429	435	7	1.5%
梅毒抗体	50	381	395	392	389	7	1.9%
梅毒抗体	100	362	359	341	354	11	3.2%
梅毒抗体	500	312	303	294	303	9	3.0%
梅毒抗体	1000	204	218	208	210	7	3.4%
梅毒抗体	5000	102	103	106	104	2	2.0%
梅毒抗体	10000	13	12	13	13	1	4.6%

Cutoff 阈值 (阴性样品[0ng/ml]均值-3SD) : 395 欧姆, 测量值小于 Cutoff 阈值为阳性  
 敏感性: 50ng/ml  
 定量范围: 50-10000ng/ml ( $R^2=0.97607$ )  
 精密性 (变异系数) : 1.5%-4.6%

[0065] 实验例3:

[0066] 利用实施例3的检测装置描述进行吗啡的检测,用正常人尿液将吗啡标准品(购自公安部物证鉴定中心)稀释至0、0.5、1、5、10、50、100、500、1000ng/ml,每个浓度的样品分别测量3次,结果见表4:

[0067] 表4:

[0068]

靶标类型	靶标浓度 (ng/ml)	介电常数测量值			均值	标准偏差 (%)	变异系数 (%)
		测量 1	测量 2	测量 3			
吗啡	0	70.32	69.21	71.23	70.25	1.01	1.4%
吗啡	0.5	71.19	70.65	70.12	70.65	0.54	0.8%
吗啡	1	65.23	64.12	63.21	64.19	1.01	1.6%
吗啡	5	59.45	58.23	57.56	58.41	0.96	1.6%
吗啡	10	50.28	52.43	51.89	51.53	1.12	2.2%
吗啡	50	41.22	41.89	40.32	41.14	0.79	1.9%
吗啡	100	28.21	29.05	30.89	29.38	1.37	4.7%
吗啡	500	19.45	18.32	19.78	19.18	0.77	4.0%
吗啡	1000	8.45	7.34	8.32	8.04	0.61	7.6%

Cutoff 阈值 (阴性样品[0ng/ml]均值-3SD) : 67.22, 测量值小于 Cutoff 阈值为阳性  
 敏感性: 1ng/ml  
 定量范围: 1-1000ng/ml ( $R^2=0.93251$ )  
 精密性 (变异系数) : 0.8%-7.6%

[0069] 实验例4:

[0070] 利用实施例4的检测装置描述进行梅毒抗体的检测,用正常人血清将纯化的人梅毒总IgG(购自中科质检标准物质网)系列稀释至0、25、50、100、500、1000、5000、10000ng/ml,每个浓度的样品分别测量3次,结果见表5:

[0071] 表5:

[0072]

靶标类型	靶标浓度 (ng/ml)	电阻抗测量值 (欧姆)			均值	标准偏差 (%)	变异系数 (%)
		测量 1	测量 2	测量 3			
梅毒抗体	0	149475	148375	147654	148501	917	0.6%
梅毒抗体	25	148325	149754	148735	148938	736	0.5%
梅毒抗体	50	142847	141846	139756	141483	1577	1.1%
梅毒抗体	100	127465	128476	125998	127313	1246	1.0%
梅毒抗体	500	116224	117980	116874	117026	888	0.8%
梅毒抗体	1000	103890	101987	104765	103547	1420	1.4%
梅毒抗体	5000	93576	92784	90233	92198	1747	1.9%
梅毒抗体	10000	78456	77342	75632	77143	1422	1.8%
Cutoff 阈值(阴性样品[0ng/ml]均值-3SD): 145750 欧姆, 测量值小于 Cutoff 阈值为阳性							
敏感性: 50ng/ml							
定量范围: 50-10000ng/ml ( $R^2=0.97674$ )							
精密度(变异系数): 0.5%-1.9%							

[0073] 实验例5:

[0074] 利用实施例5的检测装置描述进行大肠杆菌的检测,用LB培养基将纯培养的大肠杆菌(大肠杆菌0157:H7[CICC编号21530]购自中国工业微生物菌种保藏管理中心)系列稀释至0、 $10^1$ 、 $10^2$ 、 $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$ 、 $10^7$ 、 $10^8$ cfu/ml,每个浓度的样品分别测量3次,结果见表6:

[0075] 表6:

[0076]

靶标类型	靶标浓度 (cfu/ml)	电阻抗测量值 (欧姆)			均值	标准偏差 (%)	变异系数 (%)
		测量 1	测量 2	测量 3			
大肠杆菌	0	142103	140234	140579	140972	995	0.7%
大肠杆菌	$10^1$	142896	141365	143908	142723	1280	0.9%
大肠杆菌	$10^2$	135668	134219	132897	134261	1386	1.0%
大肠杆菌	$10^3$	129875	128601	130552	129676	991	0.8%
大肠杆菌	$10^4$	121897	122309	120659	121622	859	0.7%
大肠杆菌	$10^5$	109901	107561	108904	108789	1174	1.1%
大肠杆菌	$10^6$	99211	98766	98620	98866	308	0.3%
大肠杆菌	$10^7$	87654	85741	83679	85691	1988	2.3%
大肠杆菌	$10^8$	76332	71325	76900	74852	3068	4.1%

Cutoff 阈值 (阴性样品[0cfu/ml]均值-3SD) : 137988 欧姆, 测量值小于 Cutoff 阈值为阳性  
 敏感性:  $10^2$ cfu/ml  
 定量范围:  $10^2$ - $10^8$ cfu/ml ( $R^2=0.98018$ )  
 精密性 (变异系数) : 0.7%-4.1%

[0077] 实验例6:

[0078] 利用实施例6的检测装置描述进行梅毒抗体的检测,用正常人血清将纯化的人梅毒总IgG(购自中科质检标准物质网)系列稀释至0、25、50、100、500、1000、5000、10000ng/ml,每个浓度的样品分别测量3次,结果见表7:

[0079] 表7:

[0080]

靶标类型	靶标浓度 (ng/ml)	电阻测量值 (欧姆)			均值	标准偏差 (%)	变异系数 (%)
		测量 1	测量 2	测量 3			
梅毒抗体	0	412	411	409	411	2	0.4%
梅毒抗体	25	413	419	420	417	4	0.9%
梅毒抗体	50	367	359	364	363	4	1.1%
梅毒抗体	100	321	319	323	321	2	0.6%
梅毒抗体	500	265	261	259	262	3	1.2%
梅毒抗体	1000	213	211	209	211	2	0.9%
梅毒抗体	5000	123	119	121	121	2	1.7%
梅毒抗体	10000	54	51	53	53	2	2.9%

Cutoff 阈值 (阴性样品[0ng/ml]均值-3SD) : 406 欧姆, 测量值小于 Cutoff 阈值为阳性  
 敏感性: 50ng/ml  
 定量范围: 50-10000ng/ml ( $R^2=0.96678$ )  
 精密性 (变异系数) : 0.6%-2.9%

[0081] 实验例7:

[0082] 利用实施例7的检测装置描述进行吗啡的检测,用正常人尿液将吗啡标准品(购自公安部物证鉴定中心)稀释至0、0.5、1、5、10、50、100、500、1000ng/ml,每个浓度的样品分别测量3次,结果见表8:

[0083] 表8:

[0084]

靶标类型	靶标浓度 (ng/ml)	介电常数测量值			均值	标准偏差 (%)	变异系数 (%)
		测量 1	测量 2	测量 3			
吗啡	0	69.11	68.79	68.92	68.94	0.16	0.2%
吗啡	0.5	68.77	69.01	69.12	68.97	0.18	0.3%
吗啡	1	63.11	62.19	63.21	62.84	0.56	0.9%
吗啡	5	54.11	53.89	54.78	54.26	0.46	0.9%
吗啡	10	42.01	41.99	43.12	42.37	0.65	1.5%
吗啡	50	30.32	33.23	34.59	32.71	2.18	6.7%
吗啡	100	21.89	20.99	23.54	22.14	1.29	5.8%
吗啡	500	16.66	15.23	15.81	15.90	0.72	4.5%
吗啡	1000	6.45	6.79	5.99	6.41	0.40	6.3%

Cutoff 阈值 (阴性样品[0ng/ml]均值-3SD) : 68.46, 测量值小于 Cutoff 阈值为阳性  
 敏感性: 1ng/ml  
 定量范围: 1-1000ng/ml ( $R^2=0.98327$ )  
 精密性 (变异系数) : 0.2%-6.7%

[0085] 实验例8:

[0086] 利用实施例8的检测装置描述进行梅毒抗体的检测,用正常人血清将纯化的人梅毒总IgG(购自中科质检标准物质网)系列稀释至0、25、50、100、500、1000、5000、10000ng/ml,每个浓度的样品分别测量3次,结果见表9:

[0087] 表9:

[0088]

靶标类型	靶标浓度 (ng/ml)	电阻抗测量值 (欧姆)			均值	标准偏差	变异系数 (%)
		测量 1	测量 2	测量 3			
梅毒抗体	0	139980	138979	137960	138973	1010	0.7%
梅毒抗体	25	139749	140912	139741	140134	674	0.5%
梅毒抗体	50	132119	131936	130864	131640	678	0.5%
梅毒抗体	100	123894	122783	124079	123585	701	0.6%
梅毒抗体	500	114008	112111	113908	113342	1068	0.9%
梅毒抗体	1000	101891	104004	105998	103964	2054	2.0%
梅毒抗体	5000	90235	89006	88704	89315	811	0.9%
梅毒抗体	10000	65998	66493	68475	66989	1311	2.0%
Cutoff 阈值(阴性样品[0ng/ml]均值-3SD): 135942 欧姆, 测量值小于 Cutoff 阈值为阳性							
敏感性: 50ng/ml							
定量范围: 50-10000ng/ml ( $R^2=0.94612$ )							
精密性(变异系数): 0.5%-2.0%							

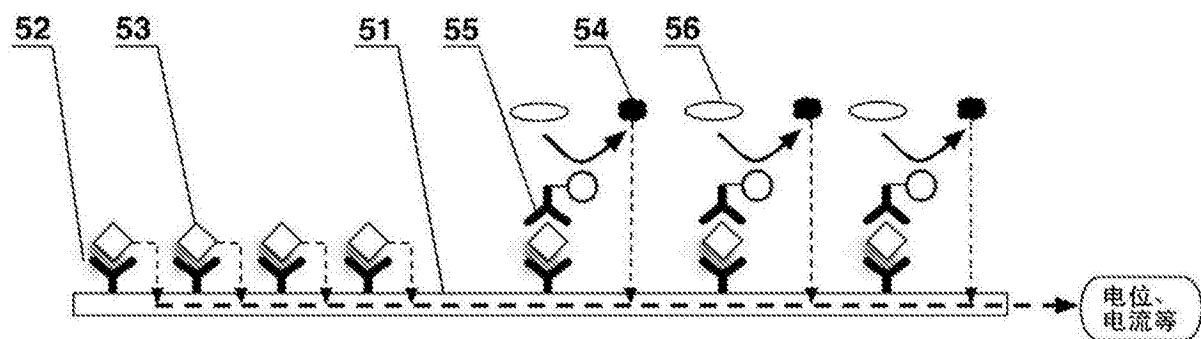


图1

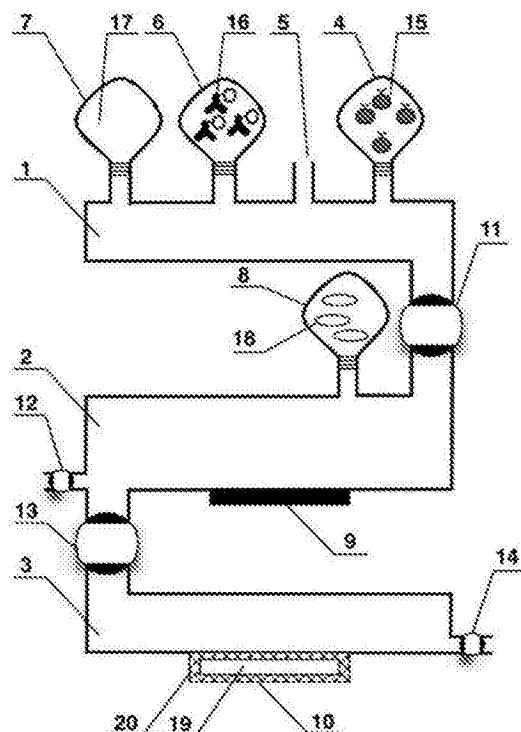


图2

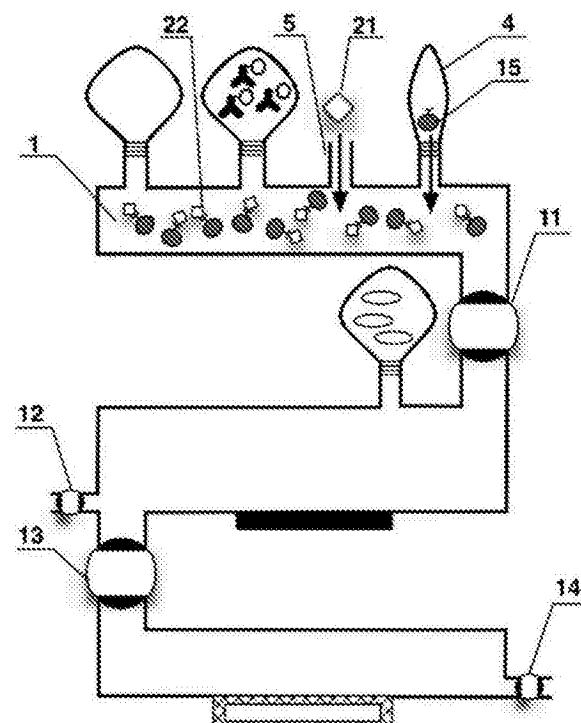


图3

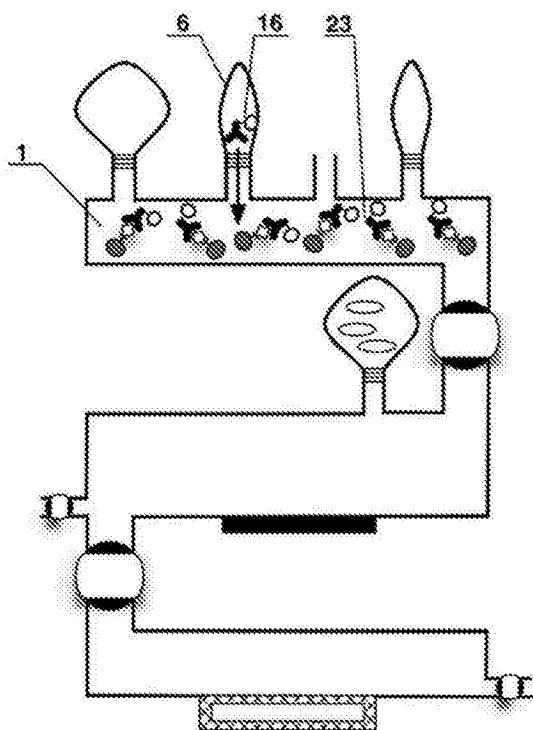


图4

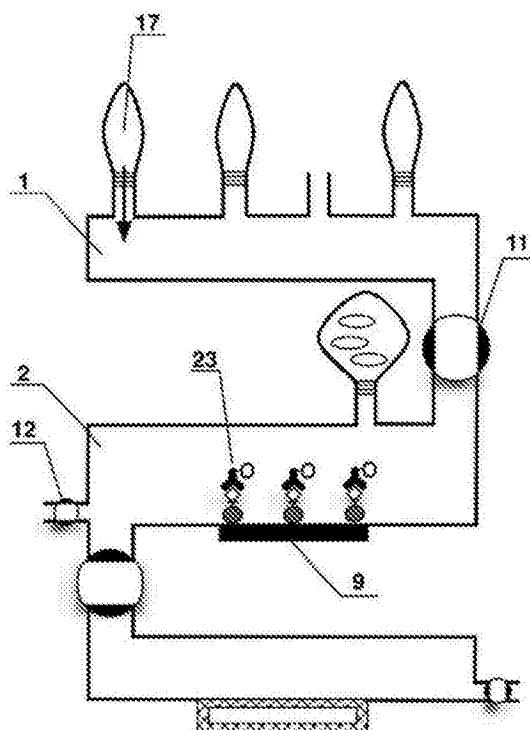


图5

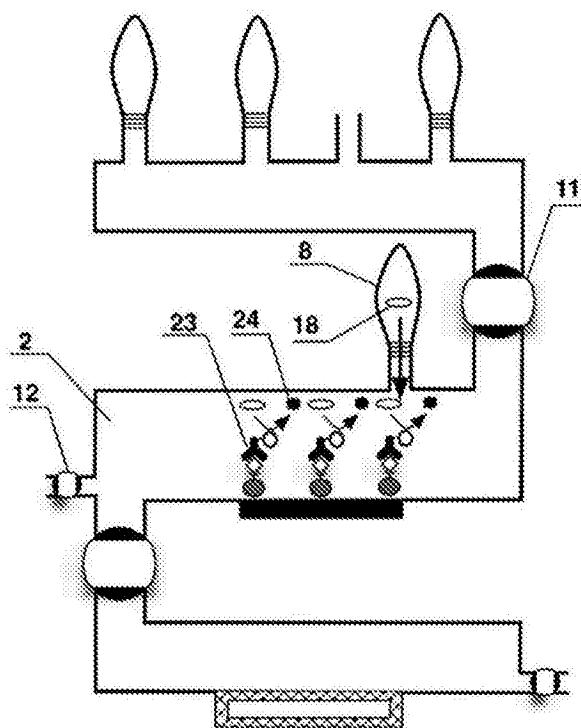


图6

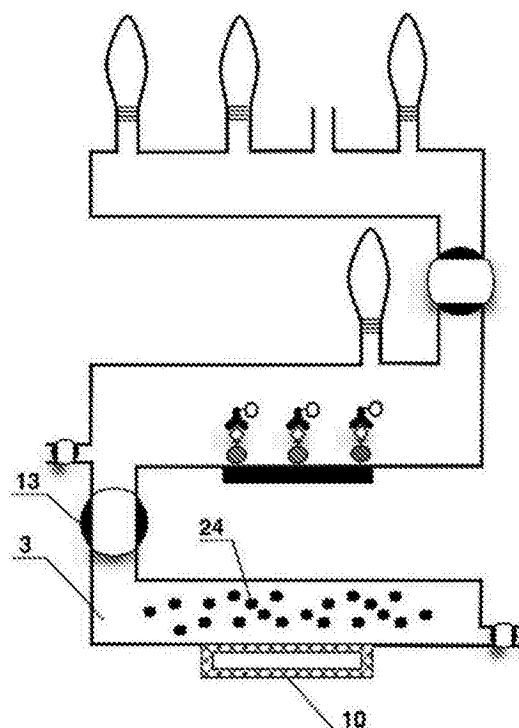


图7

专利名称(译)	基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置及方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN105738615A</a>	公开(公告)日	2016-07-06
申请号	CN201610237983.X	申请日	2016-04-15
[标]申请(专利权)人(译)	张宏		
申请(专利权)人(译)	张红		
当前申请(专利权)人(译)	张红		
[标]发明人	张红		
发明人	张红		
IPC分类号	G01N33/53 G01N27/26		
CPC分类号	G01N33/53 G01N27/26		
代理人(译)	陆艺		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">Sipo</a>		

## 摘要(译)

本发明公开了基于惰性电极稳态电学状态测量的免疫检测装置及方法，装置包括管道，管道分别被分隔为反应腔室1、磁分离腔室2和电学状态测量腔室3，在反应腔室1上设置有磁颗粒试剂包4、样品进口5、酶标生物探针试剂包6和洗液包7；在磁分离腔室2上设置有底物试剂包8；在磁分离腔室2的外表面设置有电磁铁9；在电学状态测量腔室3管道壁上镶嵌有由敏感电极19与惰性层20构成的非修饰惰性电极10。本发明的非修饰惰性电极的使用提升了通用性、持久性，使其可以成为传感器的一个固定组建，由此解决了传感器一体化/自动化、检测成本的问题；而基于非修饰惰性电极的反应溶液稳态电学特性测量，则为检测精密性、检测稳定性奠定了坚实基础。

