



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110187092 A

(43)申请公布日 2019.08.30

(21)申请号 201910508498.5

G01N 21/78(2006.01)

(22)申请日 2019.06.12

(71)申请人 南京海珀生物科技有限公司

地址 210000 江苏省南京市栖霞区仙林街道仙林大道仙林大学城纬地路9号D6栋310室

(72)发明人 邓盛元

(74)专利代理机构 深圳市科吉华烽知识产权事务所(普通合伙) 44248

代理人 谢肖雄

(51)Int.Cl.

G01N 33/50(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

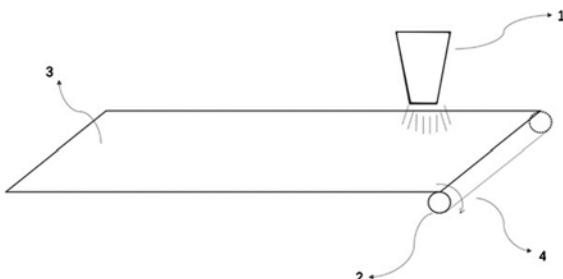
权利要求书1页 说明书7页 附图5页

(54)发明名称

一种润湿各向异性的网筛及其制备方法和应用

(57)摘要

本发明公开了一种表面润湿行为呈各向异性的网筛以及制备方法,在纵深方向上具有不同亲水性质,该网筛经过等离子体由表及里的改性,面向等离子体加工的一侧表面具有强亲水性,背向等离子体加工的一侧具有弱亲水性,存在亲水性梯度。本发明还公开了网筛的应用,用于制备生化与免疫指标同时测试的试剂条。采用各向异性润湿的多层网格状立体浸透构造,其直接接触液体的表面具有很强的亲水性,使样品得以迅速铺展散布;而伴随溶液逐渐向底部渗透,材质的毛细现象愈弱、反而疏水性愈强,延缓了A₄渗透迁移,如此确保样品能在采样区内充分铺散至足够大的面积,继而使各检测域均匀分摊得试样,实现多项目、多类型方法学的集成与检测应用。



1. 一种润湿各向异性的网筛，其特征在于：在纵深方向上具有不同亲水性质，该网筛经过等离子体由表及里的改性，面向等离子体加工的一侧表面具有强亲水性，背向等离子体加工的一侧具有弱亲水性，存在亲水性梯度。

2. 根据权利要求1所述的一种润湿各向异性的网筛，其特征在于：网筛厚度为20-500 μ m。

3. 根据权利要求1所述的一种润湿各向异性的网筛，其特征在于：当向网筛滴加体积为100 μ L的血清试样时，其可散布达5-8cm直径的圆面。

4. 一种润湿各向异性的网筛制备方法，其特征在于：用等离子轰击强憎水的网筛表面，对其表面化学改性，通过改变轰击时间，形成网筛由表及里纵深向的亲水梯度。

5. 一种生化与免疫指标同时测试的试剂条，其特征在于：所述试剂条由免疫测试段和干化学测试段两个区域连接组成；

 免疫测试段，其主体包含一条层析膜，层析膜两端分别用尺寸匹配的吸水纸和荧光或胶体金垫覆盖，其中荧光或胶体金垫置于干化学测试段的一端；

 干化学测试段，从上到下包括抗干扰层、生化反应层和光反射层；

 干化学测试段与免疫测试段通过表面覆盖的等离子处理的网筛相连。

6. 根据权利要求5所述的一种生化与免疫指标同时测试的试剂条，其特征在于：所述荧光和胶体金垫，含有相应免疫项目中特异性抗体包被的荧光微球和金纳米颗粒。

7. 根据权利要求5所述的一种生化与免疫指标同时测试的试剂条，其特征在于：所述抗干扰层内含有稀释液和相关抗干扰试剂，抗干扰层中的稀释液由缓冲溶液、表面活性剂、铁氰化钾、磷钨酸和钨酸钠组成。

8. 根据权利要求5所述的一种生化与免疫指标同时测试的试剂条，其特征在于：所述生化反应层内含有稀释液和相关反应试剂，反应层中的稀释液由缓冲液、表面活性剂、稳定剂、粘合剂、辅酶因子、防腐剂、生化反应酶、显色剂组成。

9. 根据权利要求5所述的一种生化与免疫指标同时测试的试剂条，其特征在于：光扩散层经等离子体处理后形成液体润湿的各向异性特征。

一种润湿各向异性的网筛及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种表面润湿行为呈各向异性的网筛以及制备方法,本发明还涉及网筛的应用,用于制备生化与免疫指标同时测试的试剂条。

背景技术

[0002] 临床诊断结论的得出需同时参考生化与免疫两套测试指标的结果来加以判断。由于二者依赖的方法学不同,故对应不同的检测平台,导致成本较高、耗时、操作繁琐。虽然自动化流程能够解决该关键问题,但却又提升了成本、且占用空间,因而倾向在大型三甲医院中推广,对中小医院及社区式诊所则不适用。后者作为时下流行的即时检验 (Point-of-Care Testing, 简称POCT) 的主要施用场所,更需求的是生化试纸条和免疫层析试剂条的联合使用。

[0003] 典型的案例是在糖尿病诊断时,同时分析血糖与糖化血红蛋白,可避免血糖作为单一受试指标受饮食波动的影响;比如,借助电化学血糖仪完成其临床POCT监测,同步通过免疫/硼酸亲和层析仪开展血红蛋白的POCT。同理,在肾功能常规体检中,需测试尿微量白蛋白的水平,鉴于其绝对含量与尿液体积、食物摄入等有关,测量尿肌酐浓度,再用二者比率作为临床判断的依据,能抵消上述干扰的影响。但是,目前临床尿肌酐检测均用生化直检仪,无专门POCT法;而尿微量白蛋白则采取免疫层析。因而,也都不能在同一载体上实现两种指标的同时化验。不仅是这两个体系,关于心肌、肝功能等生化、免疫多项指标的POCT,其实都有必要同时分析,相对于较完备的各指标量化手段/技术,目前唯独欠缺的是针对少/微量实际样品的载样、输运设计。

[0004] 一次性无菌网筛在体外诊断中有着广泛应用。主要体现在:[1]体外诊断用试剂条的制备中,网筛模型可用于过滤去除样本中的杂质;[2]纵向渗滤的干化学过程中,网筛构造可使样品呈现扁平化的铺展姿态,从而均匀下渗,避免了球型液滴直接润湿色层所致的“咖啡环效应”。然而,普通网筛对生物试样的润湿作用方式单一:一方面,网筛的亲水性很强,其上的液滴来不及铺展至目标面积,就已经开始迅速下渗;另一方面,网筛的疏水性过强,液滴的表面张力变大,其反而不能有效润湿界面并铺展开来。

发明内容

[0005] 为解决上述技术问题,本发明提供一种基于等离子体处理的表面润湿各向异性的网筛以及制备方法。

[0006] 本发明还提供一种网筛的应用,利用网筛制造可普遍用于同时测量生化与免疫指标的试剂条。该试剂条可广泛用于各种类的生化指标和免疫指标的组合测试。

[0007] 本发明的一种润湿各向异性的网筛,在纵深方向上具有不同亲水性质,该网筛经过等离子体由表及里的改性,面向等离子体加工的一侧表面具有强亲水性,背向等离子体加工的一侧具有弱亲水性,存在亲水性梯度。

[0008] 优选的,网筛厚度为20-500μm。

[0009] 优选的,当向网筛滴加体积为100 μ L的血清试样时,其可散布达5-8cm直径的圆面。该网筛具有良好地使液体铺展并均匀下渗的性能。

[0010] 本发明的一种润湿各向异性的网筛制备方法,用等离子轰击强憎水的网筛表面,对其表面化学改性,通过改变轰击时间,形成网筛由表及里纵深向的亲水梯度。

[0011] 等离子体中富含活性高能粒子,当它们作用于疏水网筛表面时,断裂憎水官能团的化学键,并将其氧化为高表面能的基团,从而转变成亲水性的界面。

[0012] 通过控制等离子体的表面溅射时间,调节网筛在不同纵深的亲水程度,即亲水性能梯度:作用时间越长,网筛亲水性越强,其润湿各项异性越弱。实际应用中,可按需调整溅射时长,加工出由表及里呈现润湿各向异性的网筛。

[0013] 本发明的网筛应用,制备一种生化与免疫指标同时测试的试剂条,所述试剂条由免疫测试段和干化学测试段两个区域连接组成;

[0014] 免疫测试段,其主体包含一条层析膜,层析膜两端分别用尺寸匹配的吸水纸和荧光或胶体金垫覆盖,其中荧光或胶体金垫置于干化学测试段的一端;

[0015] 干化学测试段,从上到下包括抗干扰层、生化反应层和光反射层;

[0016] 干化学测试段与免疫测试段通过表面覆盖的等离子处理的网筛相连。

[0017] 本发明的应用,优选的,所述荧光和胶体金垫,含有相应免疫项目中特异性抗体包被的荧光微球和金纳米颗粒;

[0018] 本发明的应用,优选的,所述抗干扰层内含有稀释液和相关抗干扰试剂,抗干扰层中的稀释液由缓冲溶液、表面活性剂、铁氰化钾、磷钨酸和钨酸钠组成。

[0019] 本发明的应用,优选的,所述生化反应层内含有稀释液和相关反应试剂,反应层中的稀释液由缓冲液、表面活性剂、稳定剂、粘合剂、辅酶因子、防腐剂、生化反应酶、显色剂组成。

[0020] 本发明的应用,优选的,光扩散层经等离子体处理后形成液体润湿的各向异性特征。

[0021] 在本发明的一个实例中,该网筛用于制备一种干化学阵列试剂条,将少量样本均匀铺散到各检测区域之中。

[0022] 在本发明的一个实例中,该网筛用于制备一种免疫层析阵列试剂条,将少量样本均匀铺散到各检测区域中。

[0023] 在本发明的一个实例中,该网筛用于制备一种干化学阵列与免疫层析结合的试剂条,将少量样本均匀铺散到各检测区域中。

[0024] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:采用各向异性润湿的多层网格状立体浸透构造,其直接接触液体的表面具有很强的亲水性,使样品得以迅速铺展散布;而伴随溶液逐渐向底部渗透,材质的毛细现象愈弱、反而疏水性愈强,延缓了渗透迁移,如此确保样品能在采样区内充分铺散至足够大的面积,继而使各检测域均匀分摊得试样,实现多项目、多类型方法学的集成与检测应用。

附图说明

[0025] 图1为本发明的一种润湿各向异性的网筛制备方法的示意图。

[0026] 图2为本发明不同润湿各向异性的网筛在滴加液态试样时的示意图。

- [0027] 图2a为样品滴加在未经等离子处理的网筛上的效果图。
- [0028] 图2b为样品滴加在经等离子浅表处理的网筛上的效果图。
- [0029] 图2c为样品滴加在经等离子深度处理的网筛上的效果图。
- [0030] 图3为本发明一种润湿各向异性的网筛应用于多项目干化学阵列检测的示意图。
- [0031] 图4为本发明一种润湿各向异性的网筛应用于多项目免疫层析法测试的示意图。
- [0032] 图5为本发明一种润湿各向异性的网筛应用于多项目干化学阵列与免疫层析法联合分析的示意图。
- [0033] 图中:1、等离子喷嘴,2、网筛滚轴,3、网筛,4、传动方向,5、第一样本,5'、第二样本5',5"第三样本5"；
- [0034] 7、未经等离子处理的网筛,8、经等离子浅表处理的网筛,9、经等离子深度处理的网筛；
- [0035] 10、样品处理垫,11、干化学试纸显色层,12、CCD相机检测器；
- [0036] 13、第一样品垫,13'、第二样品垫,13"、第三样品垫,14、第一检测线,14'、第二检测线,14"、第三检测线,15、第一控制线,15'、第二控制线,15"、第三控制线,16、第一吸水垫,16'、第二吸水垫,16"、第三吸水垫,17、第一醋酸纤维素膜,17'、第二醋酸纤维素膜,17"、第三醋酸纤维素膜；
- [0037] 18、经等离子浅表处理的网筛。

具体实施方式

[0038] 下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明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发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,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,都属于本发明保护的范围。

[0039] 本发明的一种润湿各向异性的网筛,在纵深方向上具有不同亲水性质,该网筛经过等离子体由表及里的改性,面向等离子体加工的一侧表面具有强亲水性,背向等离子体加工的一侧具有弱亲水性,存在亲水性梯度。

[0040] 网筛厚度为20-500 μm 。目数不受限制。网筛通过滚轴在等离子喷头下运行,滚轴传动速率越慢,网筛表面等离子处理的时间越长,表面含氧基团愈丰富,就愈发亲水。因此,由滚轴传动速率来控制等离子处理程度,进而影响网筛的表面化学性质。

[0041] 该网筛具有良好地使液体铺展并均匀下渗的性能;当滴加体积为100 μL 的血清试样时,其可散布达5-8cm直径的圆面。

[0042] 本发明的一种润湿各向异性的网筛制备方法,用等离子轰击强憎水的网筛表面,对其表面化学改性,通过改变轰击时间,形成网筛由表及里纵深向的亲水梯度。

[0043] 请参阅图1,一种润湿各向异性的网筛制备方法,包括如下步骤:

[0044] 将一卷原本憎水的网筛3平铺在等离子喷嘴1的正下方,此处提及的疏水特性网筛包括但不限于由聚烯烃、聚碳酸酯、聚酰胺、聚丙烯腈、聚酯类等聚合物织构成的网筛膜材料。网筛下置真空泵并营造减压真空氛围,确保网筛在等离子喷嘴1下方平整铺陈。等离子喷嘴1可以在真空中喷射氧等离子体,使原网筛表面基团被氧化、羟基化,完成亲水性向的转变;也可用纯惰性气体的等离子体轰击,使网筛表面的化学键断裂、生成自由基,与空

气中的氧气结合为亲水官能团。

[0045] 通过调节等离子体轰击的时间20秒至30分钟和压强0.1-10MPa,可获得在厚度(深度)方向上亲水性能梯度分布的网筛。卷轴2通过传动方向4来控制网筛在等离子喷嘴1下的处理时间,同时完成网筛的收卷。本工艺可处理网筛的厚度范围为20-500μm,目数不受限制。显而易见,等离子体处理网筛的时长与其厚度密切相关,专业人员可根据网筛的实际应用调整网筛的等离子化参数条件。

[0046] 请参阅图2,不同润湿各向异性的网筛在滴加液态试样时的示意图。

[0047] 第一样本5、第二样本5'、第三样本5",可以为常规人体样品,如全血、血清、血浆、尿液、唾液及其它人体分泌物,也可为其它动物样品,如猫类、犬类等的分泌物。当样品滴加在表面完全疏水,即未经等离子处理的网筛7表面时,会形成一个近球状的液滴(图2a),下渗缓慢且无法铺散开;当样品滴加在经等离子深度处理的网筛(整体亲水的网筛)9表面时,由于内在吸附和自重,样品来不及在表面润湿到足够大的面积就完全浸透了体相(图2c);当样品滴加在经等离子浅表处理的网筛(梯度亲水的网筛)8上时,样品首先接触网筛的亲水表面、迅速外散,接着向下渗透,但下渗率被逐渐憎水的网筛内层减缓,使样本在网筛表面有足够时间充分铺展,整体以一个扁平液面的形态下渗(图2b)。在实际使用中,该网筛可使100μL的血清试样外散形成一个直径为5-8cm的近圆形区域,远大于普通网筛所能呈现的2-3cm。

[0048] 请参阅图3,一种润湿各向异性的网筛应用在多项目干化学阵列检测的示意图。其铺展面积可以满足多项目阵列式的检测。

[0049] 该具有梯度亲水性的网筛可以用在干化学阵列传感器上,当样品滴加在具有润湿各向异性的网筛8表面时,样品充分铺展、浸润更大面积的干化学检测区域。10为抗干扰层。具体地,抗干扰层材质可以是尼龙膜、醋酸纤维素膜、聚醚砜树脂膜等;孔径可从100nm-10μm不等;抗干扰层可用常规手段处理,如浸泡血红蛋白抗体用于除去全血中的红细胞;也可通过优选合适的膜孔径,并用含5%山梨醇的1M NaCl溶液处理,增强红细胞的滤除效果,同时亦防止红细胞的破裂。还可依据具体检测项目在方法学方面的实际需求来处理部分反应物质。

[0050] 11为干化学反应膜,其材质可与抗干扰层10类似,但建议选孔径更加致密的膜,一般优选径宽50nm-1μm;孔径窄且分布密集可使显色更明亮。干化学反应膜通常包含酶、显色底物、缓冲体系、保护剂等;一种可能的成分如下:

	柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液 (pH = 7.5-8.0)	50 mmol/L;
	MgCl ₂	0.5 g/L;
	BSA	10 g/L;
	苯甲酸钠	0.5 g/L;
	羟丙基纤维素	0.1-0.5 wt. %;
[0051]	Triton X-100	0.05-0.1 wt. %;
	CHAPS	0.1-0.5 g/L;
	10% Gantrez	0.01-0.05 wt. %;
	无水 CaCl ₂	0.05-0.1 g/L;
	蔗糖	5-10 g/L;
[0052]	反应试剂包含以下组分：	
	肌酐酶	10-100 kU/L;
	肌酸酶	5-30 kU/L;
	肌氨酸氧化酶	10-30 kU/L;
[0053]	过氧化物酶	50-250 kU/L;
	4-氨基安替比林 (4-AAP)	0.5-2.5 g/L;
	<i>N</i> -乙基- <i>N</i> (2-羟基-3-丙磺基)-3,5-二甲基苯胺 (MAOS)	1.0-5.0 g/L。
[0054]	该组成成分可用于处理反应膜11, 实现对肌酐水平的显色反应基测定。显然, 本发明不限于该特定物种, 本领域专业人士可以尝试其他各种生化类型的指标作为待测对象, 如葡萄糖、胆固醇等。	
[0055]	12为CCD摄像机, 可以对放置于其上的显色反应膜进行成像; 反应膜的颜色深浅可参照、比对预先储存在计算机程序中的色度, 进行定量分析。	
[0056]	请参阅图4, 一种润湿各向异性的网筛应用在多项目免疫层析方法检测的示意图。其铺展面积可保证多个免疫层析试纸条的样品垫采集足够多的样品。	
[0057]	将作为基质的醋酸纤维素膜联合在一起, 实现多个免疫项目的同时检测。利用具备润湿各向异性的网筛8, 达到将样本分散到各层析试制条样品垫(第一样品垫13、第二样品垫13'、第三样品垫13'')上的目的。各免疫层析试纸条为常规设置, 如图所示14、14'、14''为第一检测线、第二检测线和第三检测线(T线), 15、15'、15''分别为第一控制线、第二控制线和第三控制线(控制线即为C线), 16、16'、16''为第一吸水垫、第二吸水垫和第三吸水垫, 17、17'、17''分别为第一醋酸纤维素层析膜、第二醋酸纤维素层析膜和第三醋酸纤维素层析膜。	

膜。免疫层析试纸条为常见免疫检测方法,本领域专业人员会熟悉其构筑方式。

[0058] 请参阅图5,一种润湿各向异性的网筛应用在多项目干化学阵列与免疫层析方法检测的示意图。

[0059] 利用具有润湿各向异性的网筛18,该网筛具有足够大的液滴扩展能力,可以将样品沿网筛水平传播至干化学检测区与免疫层析检测区,达成免疫指标与生化指标的同时检测。

[0060] 一种生化与免疫指标同时测试的试剂条,试剂条由免疫测试段和干化学测试段两个区域连接组成。

[0061] 免疫测试段,其主体包含一条层析膜,层析膜两端分别用尺寸匹配的吸水纸和荧光或胶体金垫覆盖,其中荧光或胶体金垫置于干化学测试段的一端。

[0062] 干化学测试段,从上到下包括抗干扰层、生化反应层(这两层都可根据实际需要,铺设一至多层),和光反射层。

[0063] 干化学测试段与免疫测试段通过表面覆盖的等离子处理网筛相连。

[0064] 荧光和胶体金垫,含有相应免疫项目中特异性抗体包被的荧光微球和金纳米颗粒;所指免疫项目的对象包括但不限于:糖化血红蛋白、尿微量白蛋白、心肌肌钙蛋白、肌红蛋白等。

[0065] 抗干扰层,含有稀释液和相关抗干扰试剂,抗干扰层中的稀释液包括缓冲溶液、表面活性剂、铁氰化钾、磷钨酸和钨酸钠。

[0066] 生化反应层,含有稀释液和相关反应试剂,反应层中的稀释液包括缓冲液、表面活性剂、稳定剂、粘合剂、辅酶因子、防腐剂、生化反应酶、显色剂。

[0067] 光扩散层经等离子体处理后,具备液体润湿的各向异性特征。具体而言,用等离子轰击强憎水的网筛表面,对其表面化学改性。通过改变轰击时间,形成网筛由表及里纵深向的亲水梯度。

[0068] 具体地,首先接触并承接样品的网筛表面完全亲水,使滴加于其上的样品迅速且均匀地铺展;由于靠近抗干扰层的是疏水性渐强的网筛内体,保证了液体试样不会由于抗干扰层的吸附和重力等作用而过快下渗,其有充足时间先分散扩张、覆盖完全,再向下渗透到抗干扰层履行后续的测试历程。

[0069] 该网筛采用各向异性润湿的多层网格状立体浸透构造,其直接接触液体的表面具有很强的亲水性,使样品得以迅速铺展散布;而伴随溶液逐渐向底部渗透,材质的毛细现象愈弱、反而疏水性愈强,延缓了渗透迁移,如此确保样品能在采样区内充分铺散至足够大的面积,继而使各检测域均匀分摊得试样,实现多项目、多类型方法学的集成与检测应用。

[0070] 该网筛的亲水特性由表及里随纵深改变而不同。这一各向异性特征可用于调节液滴在网筛膜表面的润湿速度及筛膜体内的下渗速率。拥有该特性的网筛在体外诊断试剂条中具有广泛的应用。

[0071] 应注意的是,本领域专业人员可不拘泥于本发明图例所示的概括性基本模型。可通过更改干化学试纸条或免疫层析试纸条的尺寸,增减待测的具体条目。按照不同的分析流程,各检测域的起始端可用仪器或试剂卡建立隔板、间隙,防止串联干扰。

[0072] 尽管已经示出和描述了本发明的实施例,对于本领域的普通技术人员而言,可以理解在不脱离本发明的原理和精神的情况下可以对这些实施例进行多种变化、修改、替换

和变型，本发明的范围由所附权利要求及其等同物限定。

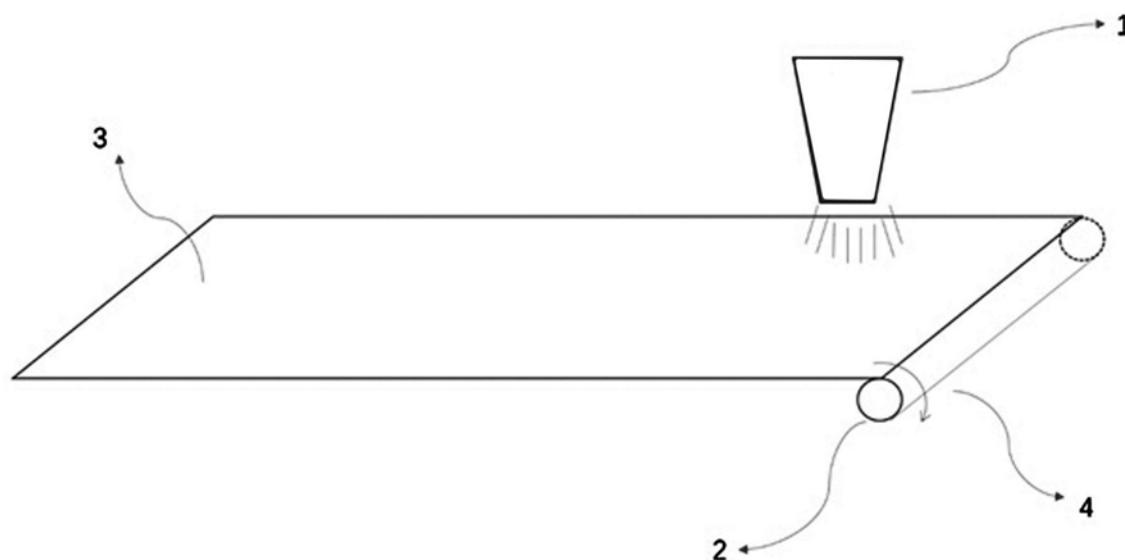


图1

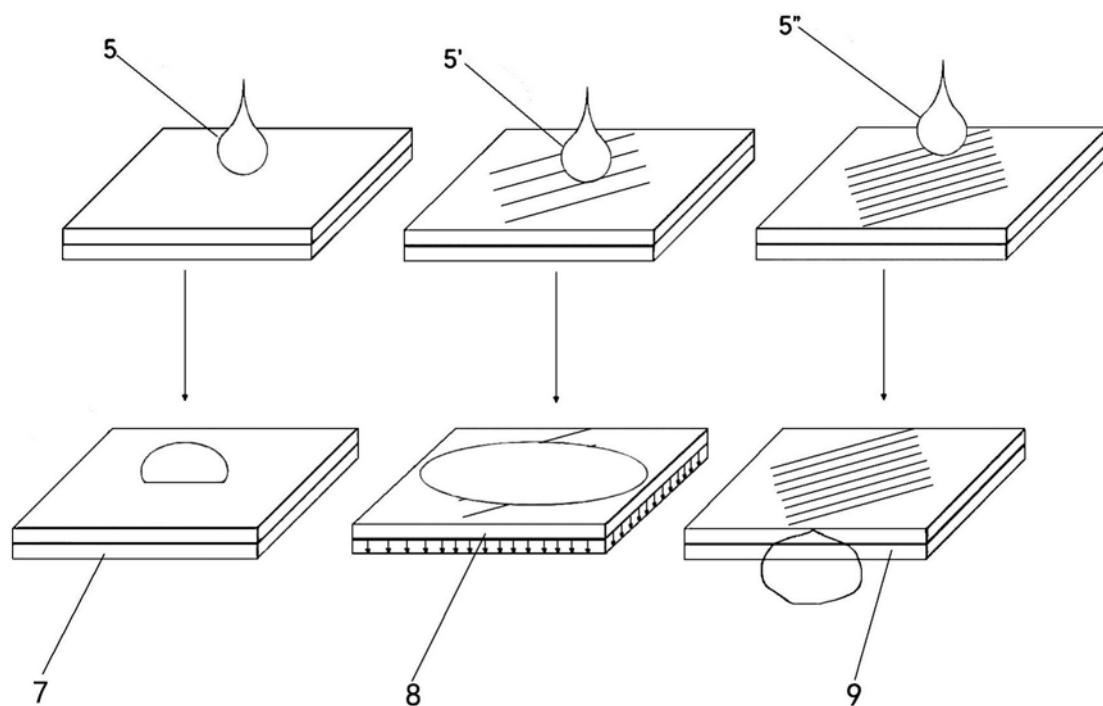


图2

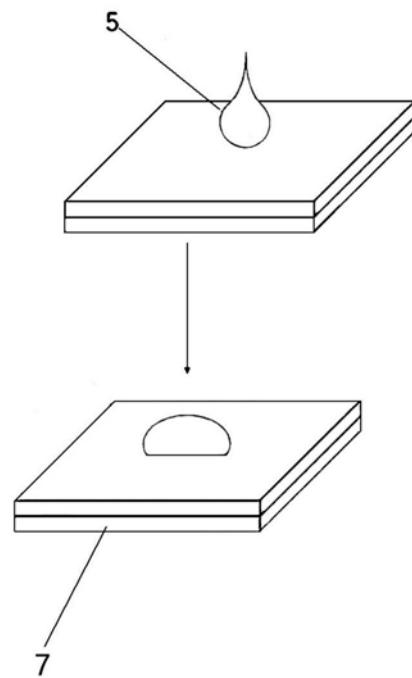


图2a

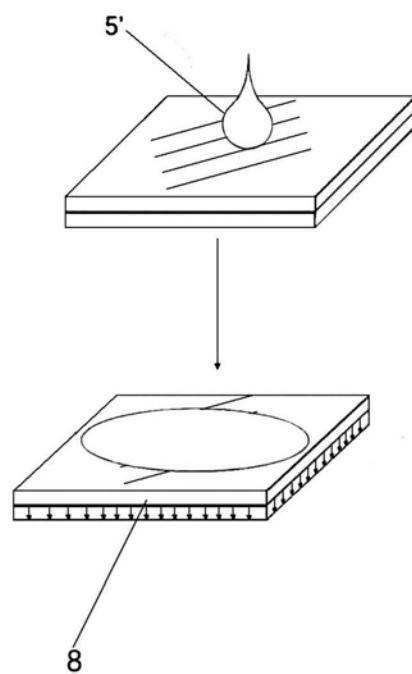


图2b

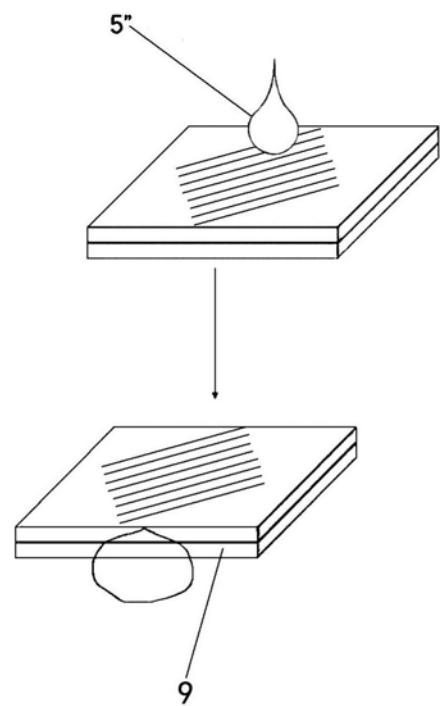


图2c

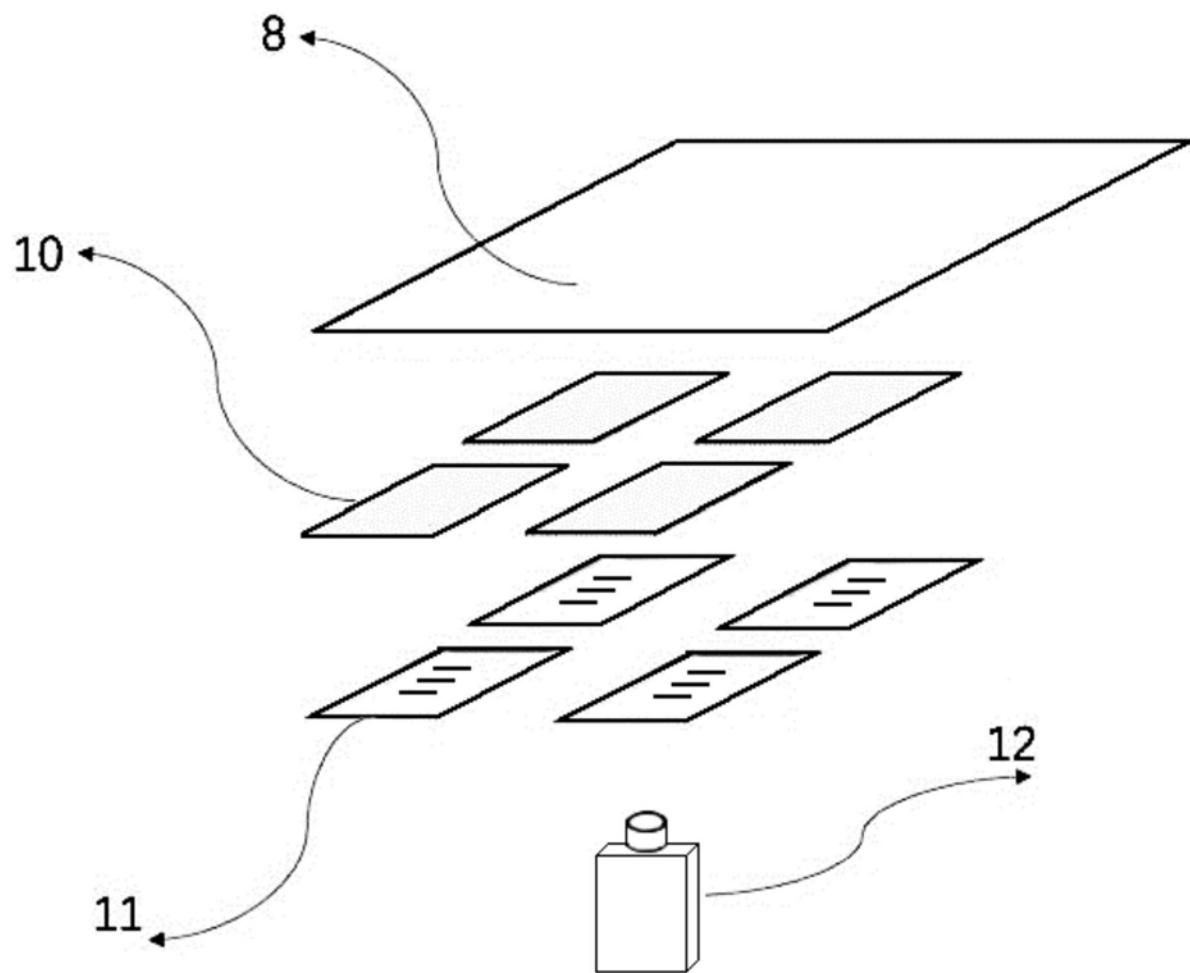


图3

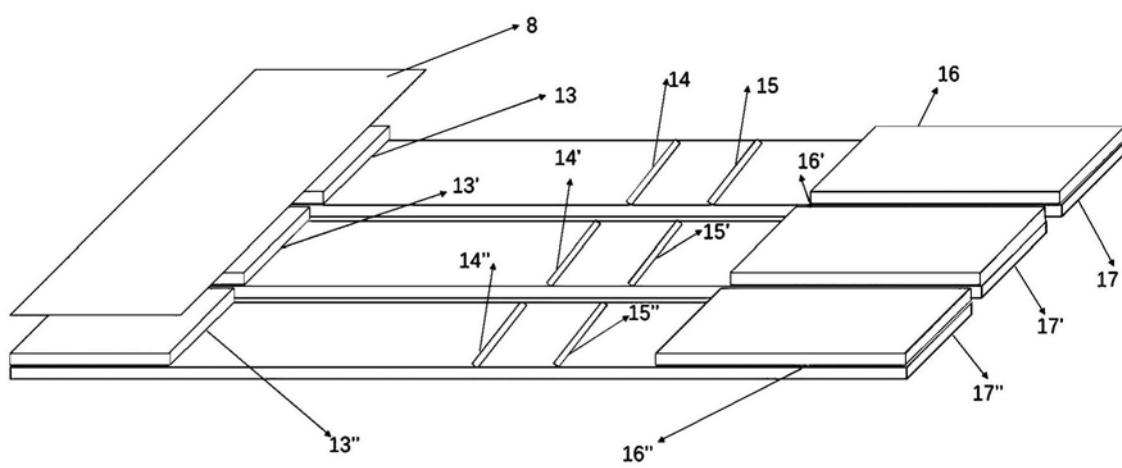


图4

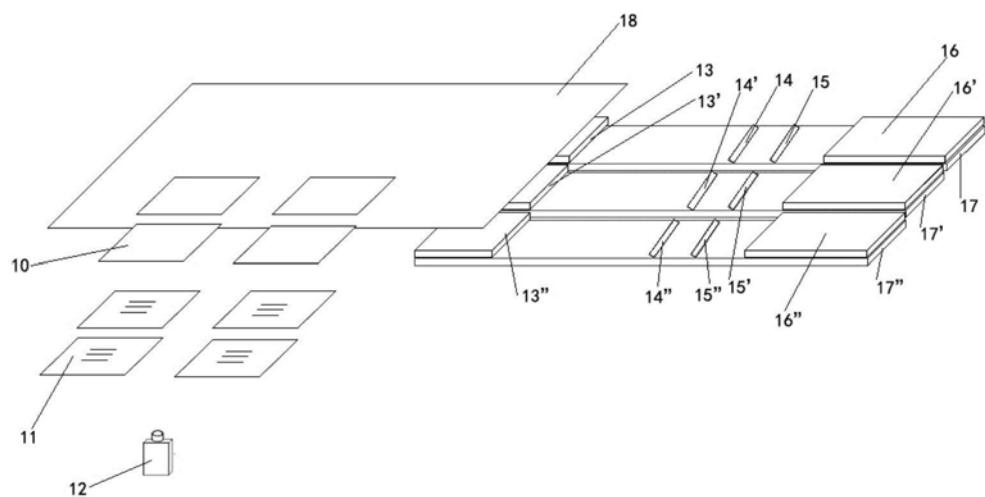


图5

专利名称(译)	一种润湿各向异性的网筛及其制备方法和应用		
公开(公告)号	CN110187092A	公开(公告)日	2019-08-30
申请号	CN201910508498.5	申请日	2019-06-12
[标]发明人	邓盛元		
发明人	邓盛元		
IPC分类号	G01N33/50 G01N33/531 G01N33/533 G01N33/558 G01N21/78		
CPC分类号	G01N21/78 G01N33/50 G01N33/531 G01N33/533 G01N33/558 G01N2021/7759		
外部链接	Espacenet	Sipo	

摘要(译)

本发明公开了一种表面润湿行为呈各向异性的网筛以及制备方法，在纵深方向上具有不同亲水性质，该网筛经过等离子体由表及里的改性，面向等离子体加工的一侧表面具有强亲水性，背向等离子体加工的一侧具有弱亲水性，存在亲水性梯度。本发明还公开了网筛的应用，用于制备生化与免疫指标同时测试的试剂条。采用各向异性润湿的多层网格状立体浸透构造，其直接接触液体的表面具有很强的亲水性，使样品得以迅速铺展散布；而伴随溶液逐渐向底部渗透，材质的毛细现象愈弱、反而疏水性愈强，延缓了渗透迁移，如此确保样品能在采样区内充分铺散至足够大的面积，继而使各检测域均匀分摊得试样，实现多项目、多类型方法学的集成与检测应用。

