



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106501500 A

(43)申请公布日 2017.03.15

(21)申请号 201610827578.3

(22)申请日 2016.09.14

(71)申请人 北京化工大学

地址 100029 北京市朝阳区北三环东路号

(72)发明人 徐福建 王安治 丁小康

(74)专利代理机构 北京思海天达知识产权代理有限公司 11203

代理人 张立改

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/76(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页 附图2页

### (54)发明名称

一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器及其检测方法

### (57)摘要

一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器及其检测方法,属于传感器技术领域。首先在芯片表面构建样品环。然后将一抗固定在样品环区域内。之后,将芯片浸入待检测体液样本,并在上述样本液中加入抗体探针,反应30分钟后,体液样本中的抗原分别与一抗、抗体探针特异性结合,形成“三明治”夹心免疫结构。冲洗后晾干,滴入液晶,并将芯片放入观察盒。该观察盒上、下两个面为偏振方向互相垂直的偏振片。由于抗原、抗体的特异性结合会导致芯片上液晶取向发生改变,可以观察到样品环中的液晶图像发生从“暗”到“亮”的变化,从而判断出该尿液样本中是否含有HCG。该方法操作简便,无需对抗体进行标记,无需借助复杂仪器,适用于床边检测。

1. 一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器,其特征在于,包括观察盒和芯片,观察盒上、下相对的两个面贴有两个偏振方向互相垂直的偏振片作为观察窗口,观察盒相对的两个侧面设有槽口,用于插入芯片;芯片为透明的玻璃芯片,在玻璃芯片上构建有样品环槽,样品环槽底部固定有待检测蛋白质生物标志物抗原的一种抗体作为第一抗体。

2. 按照权利要求1所述的一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器,其特征在于,检测方法为,使用时,将待检测可能含有蛋白质生物标志物的体液作为中间层和将待检测蛋白质生物标志物抗原的另一种抗体作为抗体探针加入到样品环槽内,进行反应,体液中的待检测蛋白质生物标志物抗原会与第一抗体和抗体探针同时特异性结合,形成“三明治”夹心免疫结构,洗净晾干,加入液晶;最后,将芯片放入观察盒,抗体与抗原的特异性结合会导致芯片上液晶取向发生改变,进而在光背景下观察到样品环中的液晶图像发生从“暗”到“亮”的变化,从而判断出该体液样本中是否含有待检测蛋白质生物标志物。

3. 按照权利要求1或2所述的一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器,其特征在于,检测尿液样本中的人绒毛膜促性腺激素(HCG)为例,首先在芯片表面构建样品环槽,然后将HCG单克隆抗体固定在样品环槽内;之后,将上述芯片浸入待检测尿液样本,并加入另一种抗HCG探针,反应30分钟后,尿液样本中的HCG抗原会与芯片上抗HCG第一抗体和加入的抗HCG探针同时特异性结合;洗净晾干,加入液晶;最后,将芯片放入观察盒,该观察盒上、下两个面为偏振方向互相垂直的偏振片,由于抗体与抗原的特异性结合会导致芯片上液晶取向发生改变,观察到样品环槽中的液晶图像发生从“暗”到“亮”的变化,从而判断出该尿液样本中是否含有HCG。

4. 按照权利要求1或2所述的一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器,其特征在于,芯片表面通过光掩模法与光聚合单体制备样品环槽阵列,用于抗体固定与样品检测。

5. 按照权利要求2所述的一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器,其特征在于,在一个芯片上含有多个相同的样品环槽阵列,装有相同抗原的第一抗体和使用对应相同的抗体探针,可以同时测定不同的体液;

或在一个芯片上含有多个相同的样品环槽阵列,装有不同抗原的第一抗体和使用对应的抗体探针,可以测定同一体液的不同项目或不同待检测蛋白质生物标志物。

6. 按照权利要求1或2所述的一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器,其特征在于,在芯片样品环槽底部固定第一抗体前,氧等离子处理芯片样品环槽底部表面,然后在芯片样品环槽底部表面固定DMOAP,利用紫外光活化的方法对惰性DMOAP修饰的芯片表面进行预处理,然后用于第一抗体的固定。

7. 按照权利要求1或2所述的一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器,其特征在于,液晶材料优选为向列相液晶。

8. 按照权利要求1或2所述的一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器,其特征在于,以智能手机的屏幕为光源,将插入芯片的观察盒置于手机屏幕上方,从垂直于观察盒的正上方观察样品环区域内液晶的图像。

## 一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器及其检测方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种液晶传感器的构建及其在检测蛋白质生物标志物中的应用,属于传感器技术领域。

### 背景技术

[0002] 人绒毛膜促性腺激素 (HCG) 是由受孕妇女体内胎盘产生的一种糖蛋白类激素,在孕妇的尿液中大量存在。而在非妊娠妇女尿液中几乎不含有HCG。正常人尿HCG为阴性, $< 312\text{U/L}$ 。尿HCG浓度 $> 2500\text{U/L}$ 即为妊娠阳性,见于:(1) 妊娠:尿中HCG在受孕后10天即能检出阳性,受孕后35-40天HCG可达 $2500\text{U/L}$ 以上,60-70天出现高峰,达10万-20万 $\text{U/L}$ 。(2) 宫外孕:尿妊娠试验有60%的阳性率。(3) 不完全流产:子宫内尚有胎盘组织残存,HCG定性为阳性。(4) 某些肿瘤如葡萄胎、绒癌、男性睾丸畸胎瘤等。(5) 某些内分泌代谢性疾病:如脑垂体病、甲亢、更年期综合症。(6) 某些妇科疾病:如卵巢囊肿、子宫内膜增生等。(7) 服用氯丙嗪、吩噻嗪等药物后。

[0003] 现在的早孕诊断技术有:(1) 早孕层流免疫试纸,是人们设计出来的一种方便女性检测自己是否怀孕的产品。层流免疫早孕试纸检测:将尿液滴在试纸上的检测孔中,如仅在试纸的对照区出现一条有色带(有的试纸显红色,有的试纸显蓝色),表示阴性,说明未怀孕;反之,如在检测区和对照区都出现明显的色带,则表示阳性,说明已经妊娠。层流免疫早孕试纸通常只能检测一种蛋白质标志物分子,作为一种初筛检查,会出现假阳性或假阴性。(2) B型超声波检查,用B超诊断是最正确可靠的方法。最早在妊娠周,亦就是月经周期过期一周,在B型超声波屏上就可以显示出子宫内有圆形的光环,又称妊娠环,环内的暗区为羊水,其中还可见有节律的胎心搏动。然而这一方法的成本就相对较高。(3) 基础体温测定法,正常育龄妇女的基础体温与月经周期一样,呈周期性变化,这种体温变化与排卵有关。如果持续两周以上较高的基础体温,就要考虑去医院检查一下,因为你有可能是怀孕了。若 $\geq 20$ 日可确定为早孕。在孕早期BBT曲线渐渐下降,表示黄体功能不足或胎盘功能不良,有流产倾向。这一方法很明显耗时长,繁琐,且充满不确定性。

[0004] 现有的早孕诊断技术都有它的优缺点,我们的发明也具备可肉眼直接观察,可同时实现多种蛋白质标志物的检测。该方法还具有方便、环保、试剂消耗少等优点,且检测过程不需要借助复杂的仪器,用户自己借助智能手机就可以完成。

### 发明内容

[0005] 本发明涉及一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器及其检测方法。

[0006] 一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器,其特征在于,包括观察盒和芯片,观察盒上、下相对的两个面贴有两个偏振方向互相垂直的偏振片作为观察窗口,观察盒相对的两个侧面设有槽口,用于插入芯片;芯片为透明的玻璃芯片,在玻璃芯片上构建有样品环槽,样品环槽底部固定有待检测蛋白质生物标志物抗原的一种抗体作为第一抗体。使

用时,将待检测可能含有蛋白质生物标志物的体液作为中间层和将待检测蛋白质生物标志物抗原的另一种抗体作为抗体探针加入到样品环槽内,进行反应,体液中的待检测蛋白质生物标志物抗原会与第一抗体和抗体探针同时特异性结合,形成“三明治”夹心免疫结构,洗净晾干,加入液晶;最后,将芯片放入观察盒,抗体与抗原的特异性结合会导致芯片上液晶取向发生改变,进而在光背景下观察到样品环中的液晶图像发生从“暗”到“亮”的变化,从而判断出该尿液样本中是否含有待检测蛋白质生物标志物。

[0007] 本发明以检测尿液样本中的人绒毛膜促性腺激素(HCG)为例,首先在芯片表面构建样品环槽,然后将HCG单克隆抗体固定在样品环槽内;之后,将上述芯片浸入待检测尿液样本,并加入另一种抗HCG探针,反应30分钟后,尿液样本中的HCG抗原会与芯片上抗HCG第一抗体和加入的抗HCG探针同时特异性结合。洗净晾干,加入液晶。最后,将芯片放入观察盒,该观察盒上、下两个面为偏振方向互相垂直的偏振片,由于抗体与抗原的特异性结合会导致芯片上液晶取向发生改变,可以观察到样品环中的液晶图像发生从“暗”到“亮”的变化,从而判断出该尿液样本中是否含有HCG。

[0008] 芯片表面通过光掩模法与光聚合单体(如聚乙二醇二丙烯酸酯)制备样品环槽阵列,用于抗体固定与样品检测。优选每个样品环槽的内径2mm,外径2.4mm,高度0.15mm。通过在上述样品环阵列中固定不同抗体,该芯片可应用于同时检测样品中的多种生物标志物分子。

[0009] 在一个芯片上含有多个相同的样品环槽阵列,装有相同抗原的第一抗体和使用对应相同的抗体探针,可以同时测定不同的体液。

[0010] 或进一步在一个芯片上含有多个相同的样品环槽阵列,装有不同抗原的第一抗体和使用对应的抗体探针,可以测定同一体液的不同项目或不同待检测蛋白质生物标志物。

[0011] 进一步在芯片样品环槽底部固定第一抗体前,氧等离子处理芯片样品环槽底部表面,然后在芯片样品环槽底部表面固定DMOAP,利用紫外光活化的方法对惰性DMOAP修饰的芯片表面进行预处理,然后用于抗体的固定。利用紫外光活化的方法对惰性DMOAP修饰的芯片表面进行预处理,用于抗体的固定。DMOAP修饰的芯片被254nm的紫外光照射后,DMOAP烷基链末端会产生一定量的醛基,可以利用席夫碱反应将第一抗体分子固定于芯片表面的样品环槽内。

[0012] 分别利用二甲基十八烷基[3-(三甲氧基硅基)丙基]氯化铵(DMOAP)和空气对液晶分子进行垂直预取向。

[0013] 观察盒材质为工程塑料(如ABS树脂),可通过注塑、3D打印等技术制备;观察窗口上、下两个表面贴有偏振方向互相垂直的偏振片,盒内两个侧面设计成凹槽,适合芯片的插入与固定。

[0014] 液晶材料优选为向列相液晶,如4'-正戊基-[1,1'-联二苯]-4-腈(5CB)、E7、SLC 7011等。

[0015] 以智能手机的屏幕为光源,将插入芯片的观察盒置于手机屏幕上方,从垂直于观察盒的正上方观察样品环区域内液晶的图像。

[0016] 该方法操作简便,无需借助复杂仪器,适用于床边检测。通过设计抗体阵列该方法具有同时检测多种蛋白质标志物的潜力,可用于早孕检测及多种疾病的早期诊断。

## 附图说明

- [0017] 图1.观察盒实物图。  
[0018] 图2.芯片实物图(白色圆环为样品环槽)。  
[0019] 图3.阳性与阴性结果对照实物图(背景颜色:黄色与白色)。  
[0020] 图4.手机为背景观察实物图。  
[0021] 图5.光掩模法制备样品环槽示意图。  
[0022] 图6为可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器及其可视化监测方法示意图。

## 具体实施方式

[0023] 下面结合实施例对本发明作进一步说明,但本发明并不限于以下实施例。

[0024] 实施例1

[0025] 本发明构建可视化液晶传感器的步骤及其检测方法如下:

[0026] (1)清洗玻璃片:优选的清洗过程是:①将玻璃片浸泡在5%v/v的Decon90溶液中2-12h;②超声清洗15分钟,倒掉洗液;③用去离子水冲洗5遍,在去离子水中超声15分钟;④重复③,然后将玻片浸泡在去离子水中备用。

[0027] (2)玻璃片表面制备样品环:①活化玻璃片表面羟基。优选的活化过程是:将玻璃片放在体积比为3:1的氨水/双氧水的混合溶液中浸泡30分钟,用去离子水冲洗后用N<sub>2</sub>吹干;②玻璃片表面修饰3-(三氯甲硅烷基)丙基甲基丙烯酸酯(TPM)。优选的修饰方法是:将玻璃片放入含有5mM的TPM的庚烷/氯仿溶液(体积比4:1)中浸泡2h,再之后用正己烷清洗5分钟,再用去离子水清洗3-5遍,然后用N<sub>2</sub>吹干;③将样品环掩模板与TPM修饰的玻璃片做成夹层结构(图5),间隔片厚度约为0.15mm;④优选的样品环制备方法是配制3%w/w的安息香双甲醚(DMPA)的聚乙二醇二丙烯酸酯(PEG575)溶液,注入上述夹层结构中,在光功率密度为13.0mW/cm<sup>2</sup>的紫外灯(365nm)下照射6秒,用乙醇洗净,然后用N<sub>2</sub>吹干,见图5。

[0028] (3)芯片表面固定DMOAP:①氧等离子处理玻片表面:优选的条件是:90W,处理时间2分钟。②芯片表面固定DMOAP:优选的条件是:0.1%v/v的DMOAP水溶液中反应5分钟,用去离子水洗净后用N<sub>2</sub>吹干,最后在100℃真空烘箱中交联20分钟。DMOAP上的烷基链(C-18)和空气界面能诱导液晶分子的垂直取向。

[0029] (4)芯片表面固定抗HCG抗体(一抗):首先在光功率密度为3.5mW/cm<sup>2</sup>紫外光(254nm)下照射芯片100秒;其次,配制抗HCG抗体(一抗)溶液,优选的抗体浓度8μg/mL,每个样品环中加入的抗体溶液为2.5μL。洗净后,用N<sub>2</sub>吹干,4℃保存备用。

[0030] (5)优选的芯片的尺寸:长25mm,宽20mm,厚1.2mm;优选的观察盒的尺寸:长30mm,宽20mm,高6.0mm;偏振片中视野大小:长22mm,宽13mm;观察盒内部两侧中凹槽的设计能保证芯片可以顺利插入即可。

[0031] (6)将芯片浸入尿液样本中,优选的反应时间是30分钟,反应温度是常温。

[0032] (7)步骤(6)中的尿液样本中,加入了另一种HCG抗体(二抗),优选的浓度是10μg/mL。

[0033] (8)芯片洗净之后,加入液晶,优选的每个样品环中加入的液晶量是0.3μL。

[0034] (9)将芯片插入观察盒中,垂直观察测量结果。

[0035] 观察盒实物图件图1, 芯片实物图(白色圆环为样品环)见图2。阳性与阴性结果对照实物图(背景颜色:黄色与白色)见图3, 手机为背景观察实物图件图4, 为可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器及其可视化监测方法见图6。

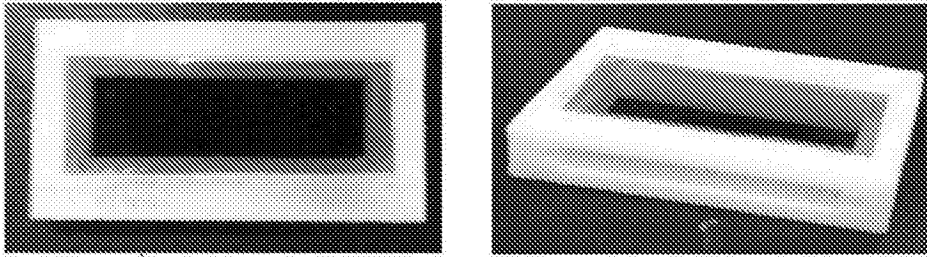


图1

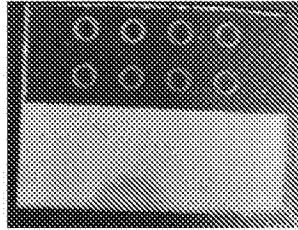


图2

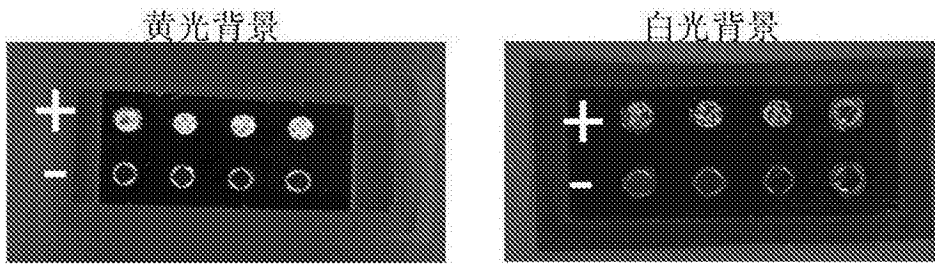


图3

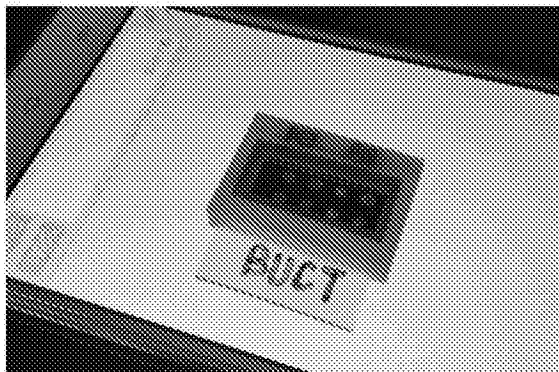


图4

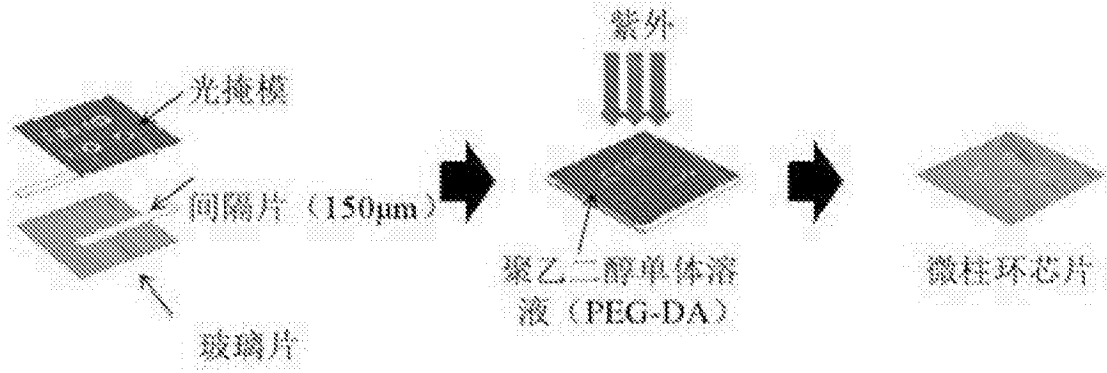


图5

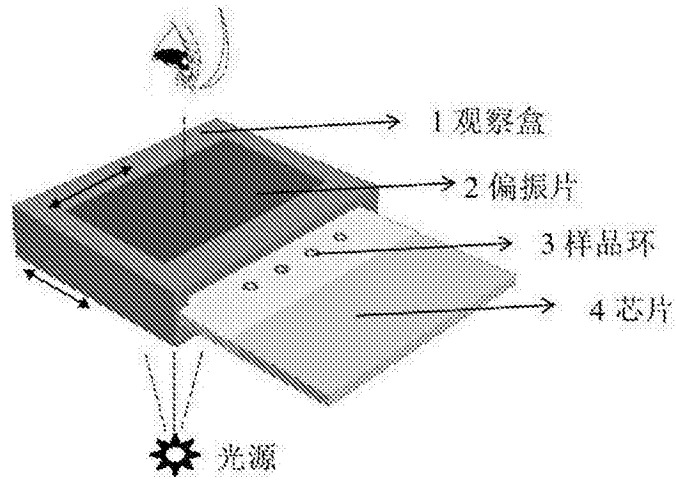


图6

专利名称(译)	一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器及其检测方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN106501500A</a>	公开(公告)日	2017-03-15
申请号	CN201610827578.3	申请日	2016-09-14
[标]申请(专利权)人(译)	北京化工大学		
申请(专利权)人(译)	北京化工大学		
当前申请(专利权)人(译)	北京化工大学		
[标]发明人	徐福建 王安治 丁小康		
发明人	徐福建 王安治 丁小康		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/577 G01N33/76		
CPC分类号	G01N33/5302 G01N33/577 G01N33/76 G01N2333/59		
代理人(译)	张立改		
其他公开文献	CN106501500B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

一种可视化检测蛋白质生物标志物的液晶传感器及其检测方法，属于传感器技术领域。首先在芯片表面构建样品环。然后将一抗固定在样品环区域内。之后，将芯片浸入待检测体液样本，并在上述样本液中加入抗体探针，反应30分钟后，体液样本中的抗原分别与一抗、抗体探针特异性结合，形成“三明治”夹心免疫结构。冲洗后晾干，滴入液晶，并将芯片放入观察盒。该观察盒上、下两个面为偏振方向互相垂直的偏振片。由于抗原、抗体的特异性结合会导致芯片上液晶取向发生改变，可以观察到样品环中的液晶图像发生从“暗”到“亮”的变化，从而判断出该尿液样本中是否含有HCG。该方法操作简便，无需对抗体进行标记，无需借助复杂仪器，适用于床边检测。

