



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108686721 B

(45) 授权公告日 2021.04.20

(21) 申请号 201710219876.9

G01N 33/53 (2006.01)

(22) 申请日 2017.04.06

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108686721 A

CN 205650214 U, 2016.10.19

CN 106102787 A, 2016.11.09

CN 101852800 A, 2010.10.06

(43) 申请公布日 2018.10.23

US 2017003270 A1, 2017.01.05

US 2004019300 A1, 2004.01.29

(73) 专利权人 美康生物科技股份有限公司
地址 315104 浙江省宁波市鄞州区下应街
道启明南路299号

审查员 张倍铭

(72) 发明人 陈强 邹炳德 邹继华 汤腾
孙安吉

(74) 专利代理机构 宁波甬致专利代理有限公司
33228

代理人 徐亚芬

(51) Int. Cl.

B01L 3/00 (2006.01)

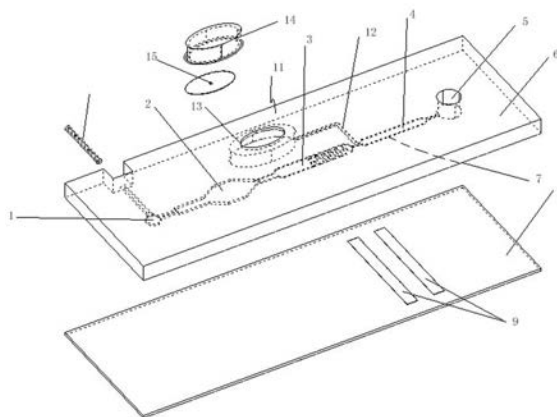
权利要求书2页 说明书5页 附图3页

(54) 发明名称

用于全血样品分离检测的微流控芯片及其检测方法

(57) 摘要

本发明提供一种用于全血样品分离检测的微流控芯片,包括芯片主体,所述的芯片主体上设有样品流道;所述的样品流道包括依次连接的进样区、沉降区、混合区、检测区及废液区;所述的沉降区包括进样部及沉降部,所述的沉降部的最大宽度与所述的进样部的最大宽度之比为2-10;所述的沉降部为两边窄中间宽的结构;所述的沉降部的两端部的前后侧壁均为斜面,所述的前后侧壁的延长线相交形成夹角;所述的沉降部的中部的侧壁为相互平行的平行面。该微流控芯片能将全血中血浆的分离、检测结合为一体,不需要复杂的全血样品预处理过程,可快速定量检测出全血中的单个或者多个蛋白或其他指标。



1. 一种用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法,包括以下步骤:

步骤1、在微流控芯片的进样区接上定量加样管,定量加样管接触全血样品,全血样品在毛细作用下完成定量进样;

步骤2、在微流控芯片的废液区(5)接口加上负压驱动,样本进入微流控芯片的沉降区(2)与沉降区(2)内挥干的促沉降剂混合并反应,样本中的血细胞快速沉降,经过一段时间后,空气从定量加样管进入将血细胞与血浆隔开,血浆流入微流控芯片的混合区(3),血细胞全部停留在微流控芯片的沉降区(2);

步骤3、血浆在混合区复溶混合区内挥干的荧光一抗,配合混合区(3)的流道结构,两者混合均匀且发生反应,形成抗原-荧光一抗免疫复合物进入微流控芯片的检测区(4);

步骤4、在检测区(4)抗原-荧光一抗免疫复合物与固定在微流控芯片的检测条(9)上的二抗发生特异性反应,形成二抗-抗原-荧光一抗的夹心结构;

步骤5、待血浆混合物全部流过检测区(4)之后,开启微流控芯片的清洗液分支通道,清洗液流入检测区(4),将未结合的荧光一抗冲洗带入废液区(5);

步骤6、通过检测检测条(9)的荧光强度,实现样品中抗原的定量检测。

2. 根据权利要求1所述的用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法,其特征在于:所述的沉降区(2)包括进样部(2.1)及沉降部(2.2),所述的进样部(2.1)的一端与所述的进样区(1)连接,所述的进样部(2.1)的另一端与所述的沉降部(2.2)的一端连接;所述的沉降部(2.2)的最大宽度与所述的进样部(2.1)的最大宽度之比为2-10;所述的沉降部(2.2)为两边窄中间宽的结构;所述的沉降部(2.2)的两端部的前后侧壁均为斜面,所述的前后侧壁的延长线相交形成夹角;所述的沉降部(2.2)的中部的前后侧壁为相互平行的平行面。

3. 根据权利要求2所述的用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法,其特征在于:所述的进样部(2.1)为直管。

4. 根据权利要求2所述的用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法,其特征在于:所述的样品流道的进样区(1)、沉降区(2)、混合区(3)、检测区(4)及废液区(5)的深度一致。

5. 根据权利要求2所述的用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法,其特征在于:所述的样品流道的进样区(1)的深度等于沉降区(2)的深度等于第一深度;所述的样品流道的混合区(3)的深度等于检测区的深度等于废液区(5)的深度等于第二深度;所述的第一深度大于所述的第二深度,所述的沉降区(2)的底壁与所述的混合区(3)的底壁相平。

6. 根据权利要求2所述的用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法,其特征在于:所述的芯片主体上还包括清洗液储存区(11),所述的清洗液储存区(11)的清洗液管道(12)出口连接在所述的混合区(3)与检测区(4)之间。

7. 根据权利要求6所述的用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法,其特征在于:所述的清洗液储存区(11)包括与大气隔绝的清洗液槽(13),所述的清洗液管道(12)入口与所述的清洗液槽(13)相连通;所述的清洗液槽(13)内设有带清洗液的清洗液杯(14),所述的清洗液槽(13)的槽底设有用于刺破清洗液杯(14)的底壁的刺破件(15)。

8. 根据权利要求2所述的用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法,其特征在于:所述的芯片主体包括盖片(6)和底片(8);所述的进样区(1)、沉降区(2)、混合区(3)、检

测区(4)及废液区(5)均设于所述的盖片(6)上,所述的检测区(4)的底部设有开口,所述的底片(8)连接在所述的盖片(6)的下侧,所述的底片(8)与所述的开口(7)相对应的位置处设有检测条(9)。

9.根据权利要求2所述的用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法,其特征在于:所述的混合区(3)内设有折线形流道(16)或“S”形流道。

用于全血样品分离检测的微流控芯片及其检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及流体样品检测技术领域,更确切地说涉及一种用于全血样品分离检测的微流控芯片及其检测方法。

背景技术

[0002] 分析血液中的成分以及其含量是现代医学检测中最基础的项目。全血是由液态血浆和血细胞组成由于血细胞或者血红素对光谱分析造成很大的干扰,通常需要把血浆从血液样品中分离出来,然后用于生化或免疫诊断分析。目前,临床上最常用的分离血浆方法有离心法和过滤法,但两种方法都有一定的不足之处。离心法设备体积庞大,操作复杂;过滤法分离效率低,样品易污染。

[0003] 目前,POCT(Point Of Care Testing,即时检测)技术得到越来越广泛的应用。POCT要求在采样现场进行快速检测分析,省去样品在实验室中的复杂耗时的处理程序,检测设备和试剂方便携带、操作简单。近年来,微全分析系统(uTAS)因微型化、集成化和智能化的特点而备受关注,尤其是分析速度快、样品消耗低等优势,微全分析系统为医学检测提供了更好的检测平台。微流控芯片作为微全分析系统的核心技术,可以将样品分离、混合、反应、检测等操作集成在数平方厘米的面积上,非常适合用于POCT中。因此,如何在微流控芯片上实现血浆的分离与其中成分的定量检测,是本领域亟待解决的技术问题。

发明内容

[0004] 本发明要解决的技术问题是,提供一种用于全血样品分离检测的微流控芯片,该微流控芯片能将全血中血浆的分离、检测结合为一体,不需要复杂的全血样品预处理过程,可快速定量检测出全血中的单个或者多个蛋白或其他指标。

[0005] 本发明的技术解决方案是,提供一种具有以下结构的用于全血样品分离检测的微流控芯片,包括芯片主体,所述的芯片主体上设有样品流道;所述的样品流道包括依次连接的进样区、沉降区、混合区、检测区及废液区;所述的沉降区包括进样部及沉降部,所述的进样部的一端与所述的进样区连接,所述的进样部的另一端与所述的沉降部的一端连接;所述的沉降部的最大宽度与所述的进样部的最大宽度之比为2-10;所述的沉降部为两边窄中间宽的结构;所述的沉降部的两端部的前后侧壁均为斜面,所述的前后侧壁的延长线相交形成夹角;所述的沉降部的中部的侧壁为相互平行的平行面。

[0006] 采用以上结构后,本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片,与现有技术相比,具有以下优点:

[0007] 由于本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片的沉降区的沉降部的最大宽度与所述的进样部的最大宽度之比为2-10,采用此种结构后样本进入沉降区后速度控制较适中,同时产生的空气泡也较适中,血浆与血细胞分离效果较好。沉降部的最大宽度与所述的进样部的最大宽度之比小于2时,样本进入沉降区后速度变化过小不利于血细胞沉降,同时产生的空气泡过大使得血细胞可能被重新混入分离后血浆中导致分离失败;沉降部的最

大宽度与所述的进样部的最大宽度之比大于2时,产生的空气泡会变得细小且分散,无法实现血细胞与血浆的分隔导致分离不彻底。

[0008] 作为改进,所述的进样部为直管。所述的沉降部为两边窄中间宽的结构。采用此种结构后,样本进入沉降区后速度变化较大,有助于血细胞与血浆的分离。

[0009] 作为改进,所述的样品流道的进样区、沉降区、混合区、检测区及废液区的深度一致。采用此种结构后,芯片制作工艺较简单,制造成本较低。

[0010] 作为改进,所述的样品流道的进样区的深度等于沉降区的深度等于第一深度;所述的样品流道的混合区的深度等于检测区的深度等于废液区的深度等于第二深度;所述的第一深度大于所述的第二深度,所述的沉降区的底壁与所述的混合区的底壁相平。采用此种结构后,混合区的深度小于沉降区的深度,可以较快混合区的血浆的流速,能够使血浆与反应物的混合效果较好。

[0011] 作为改进,所述的芯片主体上还包括清洗液储存区,所述的清洗液储存区的清洗液管道出口连接在所述的混合区与检测区之间。采用此种结构后,待血浆混合物全部流过检测区之后,清洗液管道被开启,清洗液储存区内的清洗液流入检测区,将未结合的反应物冲洗带入废液区,检测效果更好。

[0012] 作为改进,所述的清洗液储存区包括与大气隔绝的清洗液槽,所述的清洗液管道入口与所述的清洗液槽相通;所述的清洗液槽内设有带清洗液的清洗液杯,所述的清洗液槽的槽底设有用于刺破清洗液杯的底壁的刺破件。采用此种结构后,使用清洗液时,通过仪器或者人为地将清洗液杯向下压使刺破件刺破清洗液杯的底壁,使清洗液杯内的清洗液流入清洗液槽;同时通过仪器或者人为地破坏清洗液槽的密封结构使清洗液槽与大气相通,再在泵的作用下将清洗液抽入检测区,结构简单,使用方便。

[0013] 作为改进,所述的芯片主体包括盖片和底片;所述的进样区、沉降区、混合区、检测区及废液区均设于所述的盖片上,所述的检测区的底部设有开口,所述的底片连接在所述的盖片的下侧,所述的底片与所述的开口相对应的位置处设有检测条。采用此种结构后,芯片结构简单,制作方便。

[0014] 作为改进,所说的混合区内设有折线形流道或“S”形流道或“W”形流道。采用此种结构后,血浆与反应物混合效果较好。

[0015] 本发明要解决的技术问题是,提供一种用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法,该检测方法能将全血中血浆的分离、检测结合为一体,不需要复杂的全血样品预处理过程,可快速定量检测出全血中的单个或者多个蛋白或其他指标。

[0016] 本发明的技术解决方案是,提供一种具有以下步骤的用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法:

[0017] 步骤1、在微流控芯片的进样区接上定量加样管,定量加样管接触全血样品,全血样品在毛细作用下完成定量进样;

[0018] 步骤2、在微流控芯片的废液区接口加上负压驱动,样本进入微流控芯片的沉降区与沉降区内挥干的促沉降剂混合并反应,样本中的血细胞快速沉降,经过一段时间后,空气从加样管进入将血细胞与血浆隔开,血浆流入微流控芯片的混合区,血细胞全部停留在微流控芯片的沉降区;

[0019] 步骤3、血浆在混合区复溶混合区内挥干的荧光一抗,配合混合区的流道结构,两

者混合均匀且发生反应,形成抗原-荧光一抗免疫复合物进入微流控芯片的检测区;

[0020] 步骤4、在检测区抗原-荧光一抗免疫复合物与固定在微流控芯片的检测条上的二抗发生特异性反应,形成二抗-抗原-荧光一抗的夹心结构;

[0021] 步骤5、待血浆混合物全部流过检测区之后,开启微流控芯片的清洗液分支通道,清洗液流入检测区,将未结合的荧光一抗冲洗带入废液区;

[0022] 步骤6、通过检测检测条的荧光强度,实现样品中抗原的定量检测。

[0023] 采用以上步骤后,本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法,与现有技术相比,具有以下优点:

[0024] 在本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法中通过负压将全血样品吸入微流控芯片,在沉降区通过空气将血细胞与血浆隔开,血浆流入混合区,在混合区与荧光一抗复溶形成抗原-荧光一抗免疫复合物进入微流控芯片的检测区,在检测区抗原-荧光一抗免疫复合物与固定在微流控芯片的检测条上的二抗发生特异性反应,形成二抗-抗原-荧光一抗的夹心结构,开启微流控芯片的清洗液分支通道,清洗液流入检测区,将未结合的荧光一抗冲洗带入废液区,这样,检测方法简单且检测效果较好。

[0025] 作为改进,所述的沉降区包括进样部及沉降部,所述的进样部的一端与所述的进样区连接,所述的进样部的另一端与所述的沉降部的一端连接;所述的沉降部的最大宽度与所述的进样部的最大宽度之比为2-10;所述的沉降部为两边窄中间宽的结构;所述的沉降部的两端部的前后侧壁均为斜面,所述的前后侧壁的延长线相交形成夹角;所述的沉降部的中部的侧壁为相互平行的平行面。采用此种结构后,样本进入沉降区后速度控制较适中,同时产生的空气泡也较适中,血浆与血细胞分离效果较好。沉降部的最大宽度与所述的进样部的最大宽度之比小于2时,样本进入沉降区后速度变化过小不利于血细胞沉降,同时产生的空气泡过大使得血细胞可能被重新混入分离后血浆中导致分离失败;沉降部的最大宽度与所述的进样部的最大宽度之比大于10时,产生的空气泡会变得细小且分散,无法实现血细胞与血浆的分隔导致分离不彻底。

附图说明

[0026] 图1为本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片的爆炸结构示意图。

[0027] 图2为本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片的流道的结构示意图。

[0028] 图3为本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片的清洗液杯和刺破件的结构示意图。

[0029] 图4为本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片的分离过程图。

[0030] 图5为本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片分离效果与离心机分离效果的比较图。

[0031] 图中所示:1、进样区,2、沉降区,2.1、进样部,2.2、沉降部,3、混合区,4、检测区,5、废液区,6、盖片,7、开口,8、底片,9、检测条,11、清洗液储存区,12、清洗液管道,13、清洗液槽,14、清洗液杯,15、刺破件,16、折线形流道。

具体实施方式

[0032] 下面结合具体实施例和附图对本发明作进一步说明。

[0033] 如图1至图3所示,本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片包括芯片主体,所述的芯片主体上设有样品流道。所述的样品流道包括依次连接的进样区1、沉降区2、混合区3、检测区4及废液区5。本具体实施例中,所述的芯片主体包括盖片6和底片8。所述的进样区1、沉降区2、混合区3、检测区4及废液区5均设于所述的盖片6上,所述的检测区4的底部设有开口7,所述的底片8连接在所述的盖片6的下侧,所述的底片8与所述的开口7相对应的位置处设有检测条9。所述的检测区4沿盖片6长度方向设置,所述的检测条9沿底片8宽度方向设置。所述的检测条9设有两条,该两条检测条9相互平行设置。所述的盖片6的底部设有用于容置所述的检测条9的凹槽。所述的盖片6与所述的底片8组装后,所述的检测条9容置在所述的凹槽内。本具体实施例中,所述的检测条9的长度为10-30mm,宽度为1-10mm。

[0034] 所述的盖片6的微通道和微结构的加工工艺包括模塑法、热压法、激光刻蚀法和软光刻法等,本发明的实施例中优选软光刻法来制作微流控芯片。即以抛光硅片为基底材料,以SU-8光刻胶为掩膜层,经曝光显影等加工流程制作出盖片的模具;将PDMS(Sylgard 184)浇注在模具上,加热固化,从模具上剥离得到PDMS芯片;在加样口和废液区位置打孔,即得到盖片。

[0035] 所述的沉降区2包括进样部2.1及沉降部2.2,所述的进样部的一端与所述的进样区连接,所述的进样部的另一端与所述的沉降部的一端连接;所述的沉降部的最大宽度a与所述的进样部的最大宽度b之比为2-10。本具体实施例中,所述的沉降部的最大宽度a与所述的进样部的最大宽度b之比为3.125,在3-3.5的范围内效果也较佳。所述的沉降区的长度为1-50mm,宽度为0.5-10mm。

[0036] 所述的进样部2.1为直管。所述的沉降部2.2为两边窄中间宽的结构。所述的沉降部2.2的两端部的前后侧壁均为斜面,所述的前后侧壁的延长线相交形成夹角;所述的沉降部2.2的中部的前后侧壁为相互平行的平行面。所述的沉降部2.2的每个端部的前后侧壁的长度相等,所述的沉降部2.2的每个端部的前后侧壁的长度相等且所述的沉降部2.2的每个端部的前后侧壁与进样部2.1之间形成的夹角的度数相等。

[0037] 所述的芯片主体上还包括清洗液储存区11,所述的清洗液储存区11的清洗液管道12出口连接在所述的混合区3与检测区4之间。所述的清洗液储存区11包括与大气隔绝的清洗液槽13,所述的清洗液管道12入口与所述的清洗液槽13相通;所述的清洗液槽13的上端开口,所述的清洗液槽13的上端开口处设有隔绝膜,使用清洗液时,可以通过仪器或者人为地将隔绝膜刺破,使清洗液槽13与大气连通。所述的清洗液槽13内设有带清洗液的清洗液杯14,所述的清洗液槽13的槽底设有用于刺破清洗液杯的底壁的刺破件15。所述地清洗液杯14的底部为薄膜,较容易被刺破件15刺破。

[0038] 所说的混合区3内设有折线形流道16或“S”形流道或“W”形流道。所述的折线形流道16或“S”形流道或“W”形流道的长度小于所述的所述的折线形流道或“S”形流道或“W”形流道的长度,所述的折线形流道或“S”形流道或“W”形流道设于所述的混合区3靠近所述的检测区4的一端。所述的混合区3宽度为0.5-5mm。

[0039] 所述的样品流道的进样区1、沉降区2、混合区3、检测区4及废液区5的深度一致,所述的深度为0.5-10mm。

[0040] 另一实施例中,所述的样品流道的进样区1的深度等于沉降区2的深度等于第一深度;所述的样品流道的混合区3的深度等于检测区4的深度等于废液区5的深度等于第二深

度;所述的第一深度大于所述的第二深度,所述的沉降区2的底壁与所述的混合区3的底壁相平。所述的第一深度为0.5-10mm,所述的第二深度为10-300um。

[0041] 本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片还包括定量加样管。定量加样管7为容积一定的玻璃毛细管。使用时,定量加样管连接微流控芯片的进样区1,全血样品在定量加样管7的作用下完成定量进样。

[0042] 本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片使用前,所述的沉降区2预先挥干促沉降试剂,即预先在沉降区2放入促沉降试剂,静置一段时间,使促沉降试剂的水分挥发掉;所述的混合区3中预先挥干带荧光标记的一抗试剂,即预先在混合区3放入带荧光标记的一抗试剂,静置一段时间,使带荧光标记的一抗试剂的水分挥发掉;在检测区4的检测条上预先固定检测二抗,具体方法为:在醛基片上T线和C线位置分别涂上2mg/mL的包被抗体和兔IgG,在37℃下固定2小时;用清洗液(pH7.4 10mM PBS+0.05% Tween20)清洗3次,纯水清洗1次;将醛基片浸泡到封闭液(pH7.4 10mM PBS+0.375% Gly + 1%BSA + 0.1% NaN₃)中,室温下封闭2小时;用清洗液清洗3次,纯水清洗1次,置于低湿度环境中干燥过夜。

[0043] 使用时,在所述微流控芯片的废液区5外接负压泵或蠕动泵,通过空气压力差驱动样本流过整个芯片。

[0044] 本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片的检测方法,包括如下步骤:

[0045] 步骤1、定量加样管接触全血样品,全血样品在毛细作用下完成定量进样。

[0046] 步骤2、将微流控芯片放入配套仪器中,在废液区接口加上负压驱动,样本进入沉降区与挥干的促沉降剂混合并反应,样本中的血细胞快速沉降,经过一段时间后,空气从加样管进入将血细胞与血浆隔开,血浆流入混合区,血细胞全部停留在沉降区。

[0047] 步骤3、血浆在混合区复溶挥干的荧光一抗,配合混合区的流道结构,二者混合均匀且发生反应,形成抗原-荧光一抗免疫复合物进入检测区。

[0048] 步骤4、在检测区免疫复合物与固定在检测条上的二抗发生特异性反应,形成二抗-抗原-荧光一抗的夹心结构。

[0049] 步骤5、待血浆混合物全部流过检测区之后,清洗液分支通道开启,清洗液流入检测区,将未结合的荧光一抗冲洗带入废液区。

[0050] 步骤6、通过检测荧光强度,实现样品中抗原的定量检测。

[0051] 图4为本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片的分离过程图。血液在负压驱动下流入沉降区域,由较窄的直管道进入较宽的沉降部之后,流动速度迅速降低,配合沉降剂的作用,血细胞聚团在重力下沉降,血浆在整个流体的前部分离出来。血样全部进入沉降部后,空气随之进入,将血细胞与血浆隔离成完全分开的两部分,血浆继续流动进行后续的反应,血细胞留在沉降区停止前进。

[0052] 图5为本发明的用于全血样品分离检测的微流控芯片分离效果与离心机分离效果的比较图。本图为多次对同一血样进行重复性测试得到的数据统计。使用本芯片与传统离心机两种方法对同一血样进行血浆分离,测量分离出的血浆体积,测试次数为15次。数据显示本芯片的稳定性较为接近大型的传统离心机分离方法。

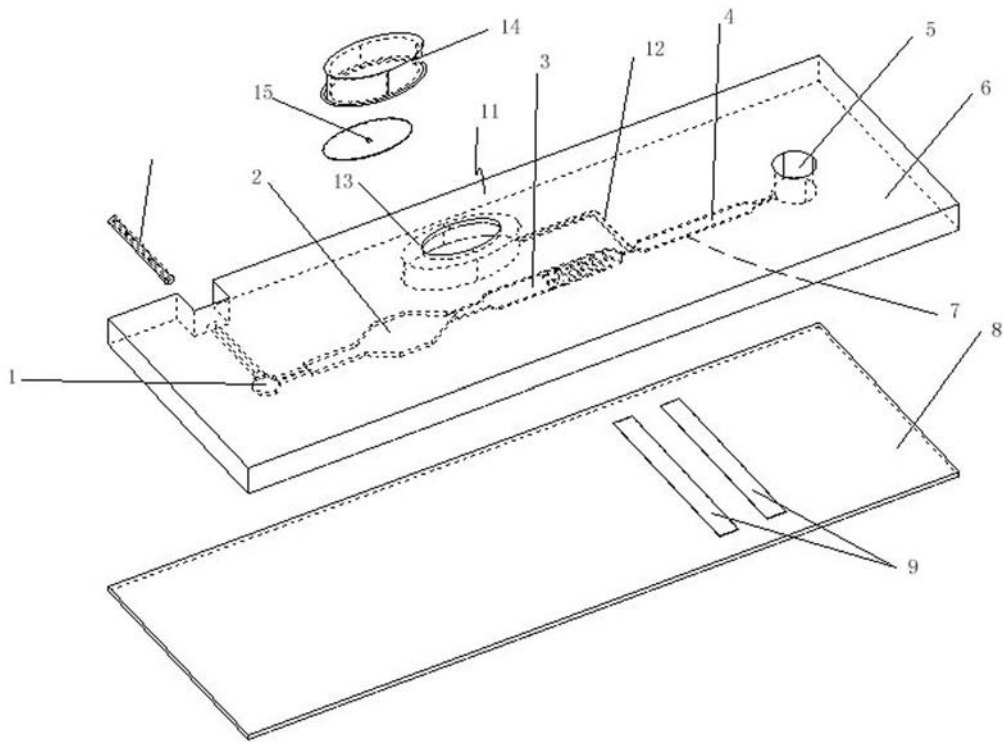


图1

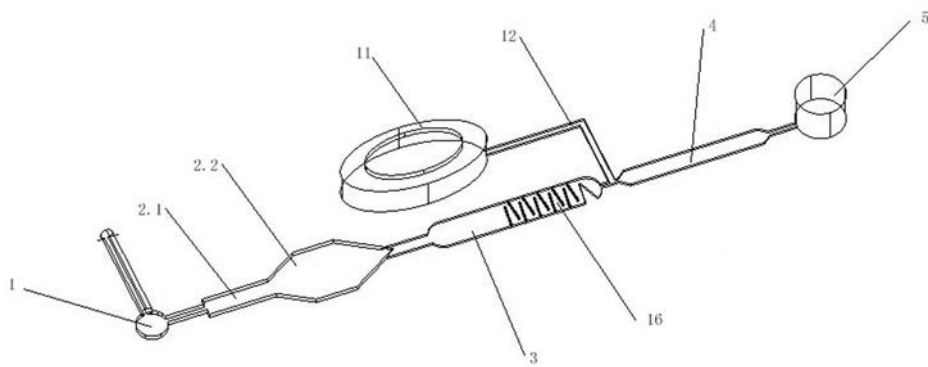


图2

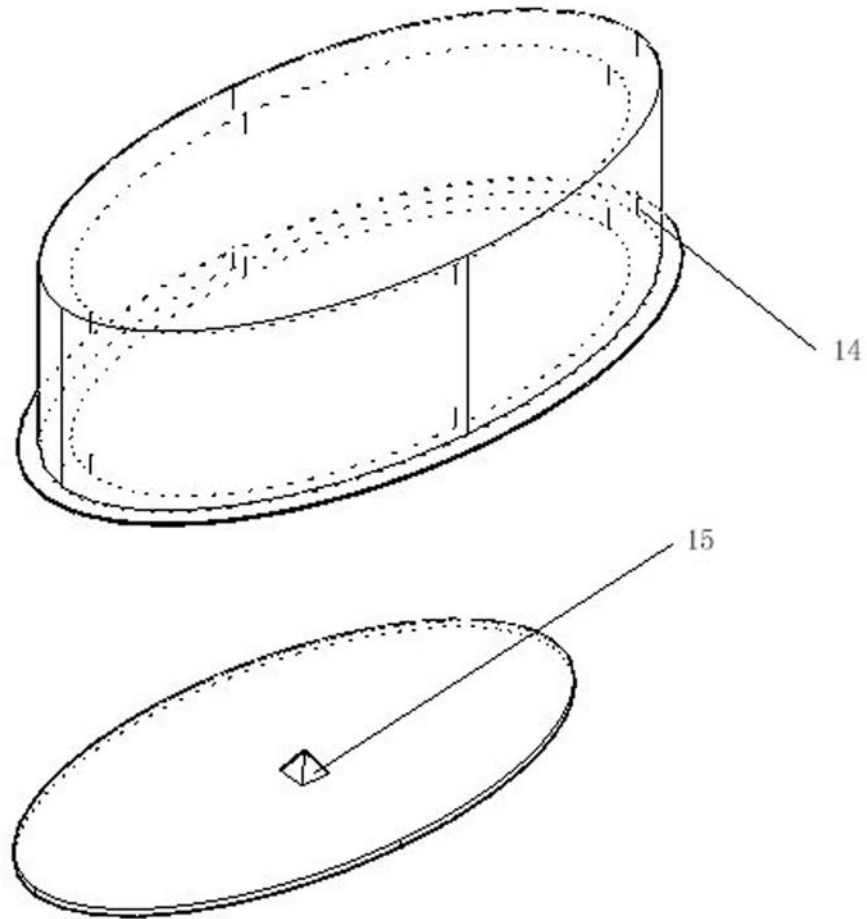


图3

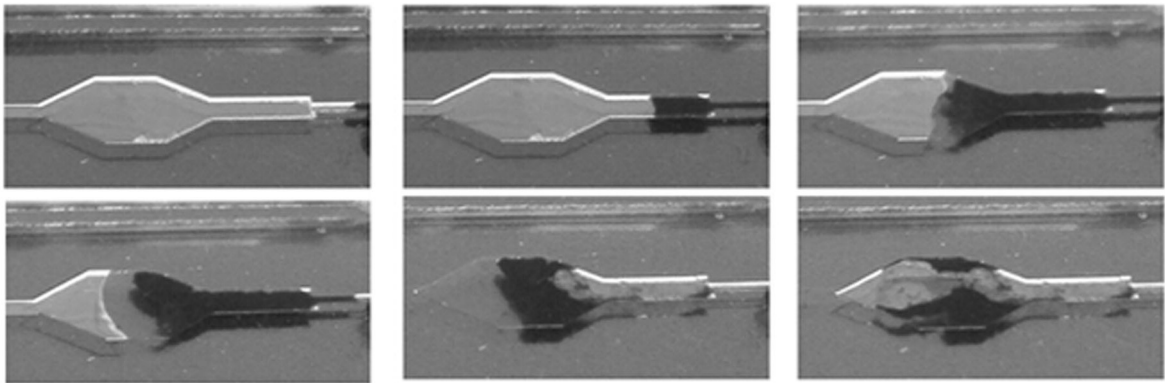


图4

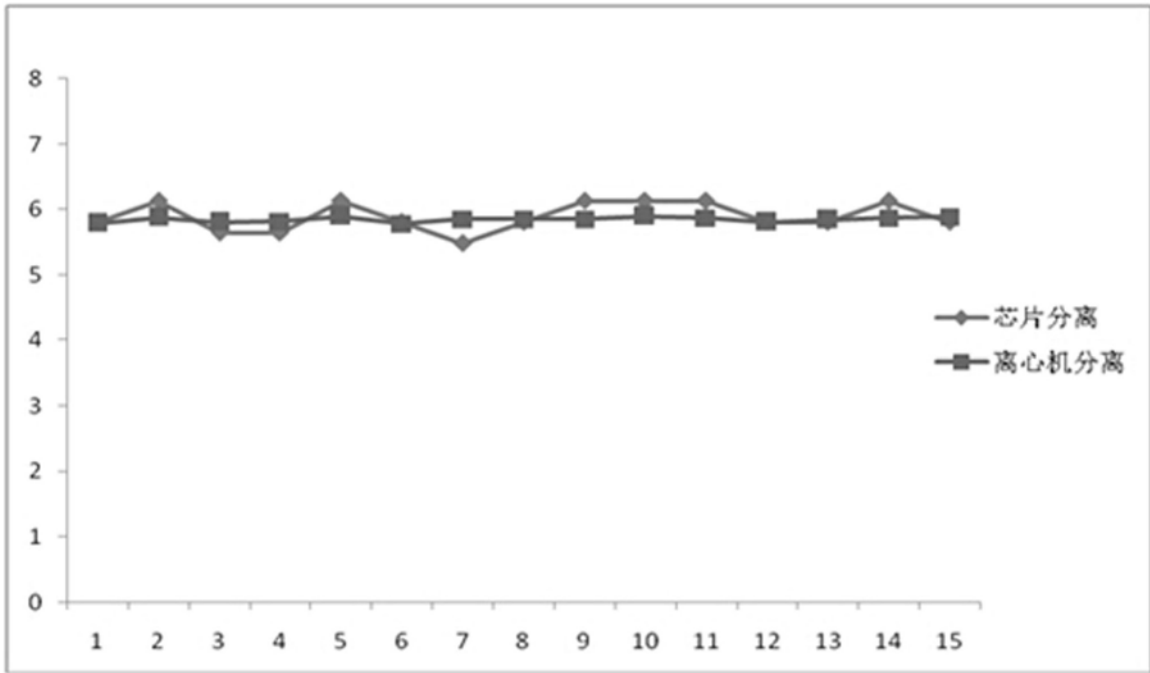


图5