(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 110055354 B
(45)授权公告日 2023.11.03

(21)申请号 201910328223.3

(22)申请日 2019.04.23

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110055354 A

(43)申请公布日 2019.07.26

(73)专利权人 深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司
地址 518116 广东省深圳市龙岗区宝龙街道宝龙二路亚辉龙生物科技厂区1栋

(72)发明人 周密 刘笔锋 吴力强 钱纯亘 胡鹃辉

(74)专利代理机构 华进联合专利商标代理有限公司 44224
专利代理师 林青中 罗佳龙

(51)Int.Cl.
C12Q 1/70(2006.01)
C12Q 1/686(2018.01)
C12N 15/11(2006.01)
C12M 1/34(2006.01)
C12M 1/00(2006.01)

(56)对比文件
CN 109504805 A,2019.03.22
CN 109609689 A,2019.04.12
CN 108034762 A,2018.05.15
CN 102586476 A,2012.07.18
CN 103642936 A,2014.03.19
CN 101633910 A,2010.01.27
CN 105087829 A,2015.11.25
CN 104962554 A,2015.10.07
CN 104946791 A,2015.09.30
CN 108265127 A,2018.07.10
CN 101638693 A,2010.02.03
WO 2010143761 A1,2010.12.16
CN 109504801 A,2019.03.22
US 2017014818 A1,2017.01.19
CN 105112407 A,2015.12.02
刘晓青.一步法荧光RT-PCR检测肠道病毒EV71的研究.《现代医院》.2018,第18卷(第9期),
Jingfang Chen 等.Primers and probe design and precision assessment of the real time RT-PCR assay in Coxsackievirus A10 and enterovirus detection.《Data Brief》.2017,

审查员 颜泉梅

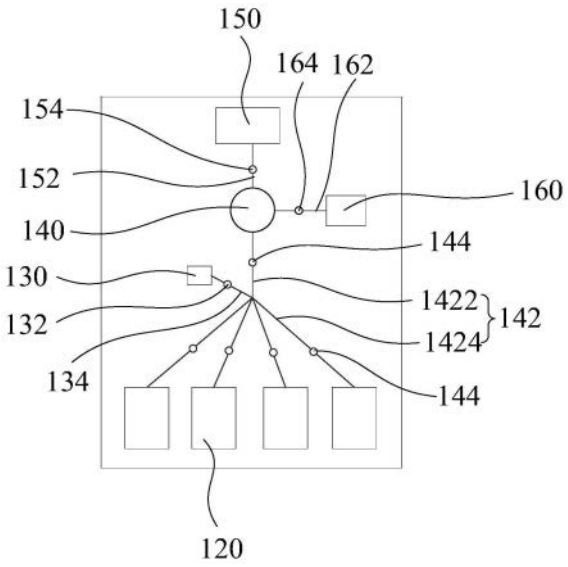
权利要求书1页 说明书15页
序列表5页 附图2页

(54)发明名称

核酸组合物、检测单元、微流控芯片及检测装置

(57)摘要

本发明涉及一种核酸组合物、检测单元、微流控芯片及检测装置。该核酸组合物包括检测引物对,所述检测引物对包括如下引物对中的至少两种:腺病毒引物对、轮状病毒引物对、诺如病毒引物对、肠道病毒71型引物对、A组柯萨奇病毒引物对、埃可病毒引物对、B组柯萨奇病毒引物对和脊髓灰质炎病毒引物对。上述核酸组合物能够用于同时检测至少两种肠道病毒且检测灵敏度高。



CN 110055354 B

1.一种检测单元,其特征在于,包括反应池,所述反应池内设有核酸组合物;

还包括处理池,所述处理池与所述反应池间隔且连通,所述处理池用于存储待测样品,且能够向所述反应池中输送所述待测样品中的核酸;

所述核酸组合物包括检测引物对;

所述检测引物对包括如下引物对:

序列如SEQ ID No.1及SEQ ID No.2所示的腺病毒引物对、序列如SEQ ID No.3及SEQ ID No.4所示的轮状病毒引物对、序列如SEQ ID No.5及SEQ ID No.6所示的诺如病毒引物对、序列如SEQ ID No.7及SEQ ID No.8所示的肠道病毒71型引物对、序列如SEQ ID No.9及SEQ ID No.10所示的A组柯萨奇病毒引物对、序列如SEQ ID No.11及SEQ ID No.12所示的埃可病毒引物对、序列如SEQ ID No.13及SEQ ID No.14所示的B组柯萨奇病毒引物对、和序列如SEQ ID No.15及SEQ ID No.16所示的脊髓灰质炎病毒引物对;

所述核酸组合物还包括与所述检测引物对对应的检测探针,所述检测探针的序列或其互补序列分别如SEQ ID No.17~SEQ ID No.24所示;与所述检测引物对对应的检测探针上连接有荧光基团;

所述反应池为四个,所述腺病毒引物对和所述轮状病毒引物对设置于同一所述反应池中;所述诺如病毒引物对和所述肠道病毒71型引物对设置于同一所述反应池中;所述A组柯萨奇病毒引物对和所述埃可病毒引物对设置于同一所述反应池中;所述B组柯萨奇病毒引物对和所述脊髓灰质炎病毒引物对设置于同一所述反应池中。

2.根据权利要求1所述的检测单元,其特征在于,还包括储物腔,所述储物腔与所述处理池连通,所述储物腔能够向所述处理池输送吸附物,所述吸附物用于吸附所述核酸;及/或

还包括洗液池,所述洗液池与所述处理池连通,所述洗液池能够向所述处理池输送清洗液;及/或

所述核酸组合物为干粉,所述检测单元还包括与所述反应池连通的储液池,所述储液池能够向所述反应池输送溶剂,以溶解所述反应池中的核酸组合物。

3.一种微流控芯片,其特征在于,包括权利要求1~2任一项所述的检测单元。

4.根据权利要求3所述的微流控芯片,其特征在于,还包括壳体,所述检测单元收容于所述壳体中;

进一步地,所述壳体设有加样口,所述加样口与所述处理池相通;

更进一步地,所述壳体包括壳本体和盖体,所述壳本体和所述盖体相对设置,且围成收容腔,所述检测单元收容于所述收容腔中,所述加样口设于所述盖体上。

5.一种检测装置,其特征在于,包括:

权利要求1~2任一项所述的检测单元;

或者,权利要求3~4任一项所述的微流控芯片。

核酸组合物、检测单元、微流控芯片及检测装置

技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术领域，特别是涉及核酸组合物、检测单元、微流控芯片及检测装置。

背景技术

[0002] 肠道病毒(enterovirus，EV)属于小RNA病毒科肠道病毒属，包括埃可病毒(Echovirus，EchoV)，新型肠道病毒，柯萨奇病毒(Coxsackievirus，Cox)、肠道病毒(Enteroviruses，EV)、脊髓灰质炎病毒(Polio-virus，PV)、腺病毒(Adenovirus，AdV)、轮状病毒(Rotavirus，RV)等。

[0003] 一般地，检测肠道病毒的方法包括病毒分离培养、免疫学检验和PCR。病毒分离培养和免疫学的检测周期长，检测敏感度较低，不能满足实际需求。而PCR的通量低，一次只能检测一种肠道病毒。

发明内容

[0004] 基于此，有必要提供一种能够用于同时检测至少两种肠道病毒且检测灵敏度高的核酸组合物。

[0005] 此外，还提供一种检测单元、检测单元、微流控芯片及检测装置。

[0006] 一种核酸组合物，包括检测引物对，所述检测引物对包括如下引物对中的至少两种：

[0007] 序列如SEQ ID No.1及SEQ ID No.2所示的腺病毒引物对、序列如SEQ ID No.3及SEQ ID No.4所示的轮状病毒引物对、序列如SEQ ID No.5及SEQ ID No.6所示的诺如病毒引物对、序列如SEQ ID No.7及SEQ ID No.8所示的肠道病毒71型引物对、序列如SEQ ID No.9及SEQ ID No.10所示的A组柯萨奇病毒引物对、序列如SEQ ID No.11及SEQ ID No.12所示的埃可病毒引物对、序列如SEQ ID No.13及SEQ ID No.14所示的B组柯萨奇病毒引物对、和序列如SEQ ID No.15及SEQ ID No.16所示的脊髓灰质炎病毒引物对。

[0008] 上述核酸组合物，通过检测引物对及检测探针的巧妙设计，至少能同时检测检测腺病毒、轮状病毒、诺如病毒、71型肠道病毒、A组柯萨奇病毒、埃可病毒、B组柯萨奇病毒和脊髓灰质炎病毒中的两种。使用上述核酸组合物检测时特异性好，各个检测引物对及检测探针之间的相互影响小，灵敏度高。经试验验证，上述核酸组合物能够对一管标本同时检测上述至少两种肠道病毒，节省检测时间，灵敏度达91％。

[0009] 在其中一个实施例中，还包括与所述检测引物对对应的检测探针，所述检测探针的序列或其互补序列分别如SEQ ID No.17～SEQ ID No.24所示；与所述检测引物对对应的检测探针上连接有荧光基团。

[0010] 在其中一个实施例中，所述检测引物对包括所述腺病毒引物对、所述轮状病毒引物对、所述诺如病毒引物对、所述肠道病毒71型引物对、所述A组柯萨奇病毒引物对、所述埃可病毒引物对、所述B组柯萨奇病毒引物对和所述脊髓灰质炎病毒引物对；所述检测引物对

分为多组，同一组内的不同检测引物对对应的检测探针上连接的荧光基团不同。

[0011] 在其中一个实施例中，所述检测引物对为四组；第一组包括所述腺病毒引物对和所述轮状病毒引物对；第二组包括所述诺如病毒引物对和所述肠道病毒71型引物对；第三组包括所述A组柯萨奇病毒引物对和所述埃可病毒引物对，第四组包括所述B组柯萨奇病毒引物对和所述脊髓灰质炎病毒引物对。

[0012] 在其中一个实施例中，各组内的所述检测探针上连接的荧光基团选自FAM、HEX、VIC、CY5、ROX、Texsa Red及Quasar 705中的一种。

[0013] 一种检测单元，包括反应池，所述反应池内设有上述核酸组合物。

[0014] 在其中一个实施例中，还包括处理池，所述处理池与所述反应池间隔且连通，所述处理池用于存储待测样品，且能够向所述反应池中输送所述待测样品中的核酸。

[0015] 在其中一个实施例中，所述反应池至少有两个，相邻的所述反应池间隔设置，每个所述反应池设置有所述核酸组合物，不同的所述反应池中的所述核酸组合物不同。

[0016] 在其中一个实施例中，所述反应池为四个，所述腺病毒引物对和所述轮状病毒引物对设置于同一所述反应池中；所述诺如病毒引物对和所述肠道病毒71型引物对设置于同一所述反应池中；所述A组柯萨奇病毒引物对和所述埃可病毒引物对设置于同一所述反应池中；所述B组柯萨奇病毒引物对和所述脊髓灰质炎病毒引物对设置于同一所述反应池中。

[0017] 在其中一个实施例中，所述处理池为一个，所述处理池与各所述反应池均连通，并且能够向各所述反应池输送所述核酸。

[0018] 在其中一个实施例中，还包括储物腔，所述储物腔与所述处理池连通，所述储物腔能够向所述处理池输送吸附物，所述吸附物用于吸附所述核酸。

[0019] 在其中一个实施例中，还包括洗液池，所述洗液池与所述处理池连通，所述洗液池能够向所述处理池输送清洗液。

[0020] 在其中一个实施例中，所述核酸组合物为干粉，所述检测单元还包括与所述反应池连通的储液池，所述储液池能够向所述反应池输送溶剂，以溶解所述反应池中的核酸组合物。

[0021] 一种微流控芯片，上述的检测单元。

[0022] 在其中一个实施例中，还包括壳体，所述检测单元收容于所述壳体中。

[0023] 在其中一个实施例中，所述壳体设有加样口，所述加样口与所述处理池相通。

[0024] 在其中一个实施例中，所述壳体包括壳本体和盖体，所述壳本体和所述盖体相对设置，且围成收容腔，所述检测单元收容于所述收容腔中，所述加样口设于所述盖体上。

[0025] 一种检测装置，包括：

[0026] 上述核酸组合物；

[0027] 或者，上述检测单元；

[0028] 或者，上述微流控芯片。

附图说明

[0029] 图1为一实施方式的检测装置的结构示意图；

[0030] 图2为图1所示的检测装置中微流控芯片的结构示意图；

[0031] 图3为图2所示的微流控芯片省略盖体后的结构示意图。

具体实施方式

[0032] 为了便于理解本发明，下面将参照相关附图对本发明进行更全面的描述。附图中给出了本发明的部分实施例。但是，本发明可以以许多不同的形式来实现，并不限于本文所描述的实施例。相反地，提供这些实施例的目的是使本发明公开内容更加透彻全面。

[0033] 除非另有定义，本文所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域的技术人员通常理解的含义相同。本文中在本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具体的实施例的目的，不是旨在于限制本发明。

[0034] 一实施方式的核酸组合物，能够用于检测待测样品中至少两种肠道病毒，且检测灵敏度较高，能够用于制备微流控芯片或者检测装置。

[0035] 在其中一个实施例中，待测样品为咽拭子或鼻咽抽吸物。

[0036] 在其中一个实施例中，核酸组合物包括检测引物对，检测引物对包括如下引物对中的至少两种：

[0037] 序列如SEQ ID No.1及SEQ ID No.2所示的腺病毒引物对、序列如SEQ ID No.3及SEQ ID No.4所示的轮状病毒引物对、序列如SEQ ID No.5及SEQ ID No.6所示的诺如病毒引物对、序列如SEQ ID No.7及SEQ ID No.8所示的肠道病毒71型引物对、序列如SEQ ID No.9及SEQ ID No.10所示的A组柯萨奇病毒引物对、序列如SEQ ID No.11及SEQ ID No.12所示的埃可病毒引物对、序列如SEQ ID No.13及SEQ ID No.14所示的B组柯萨奇病毒引物对、和序列如SEQ ID No.15及SEQ ID No.16所示的脊髓灰质炎病毒引物对。其中，腺病毒引物对、轮状病毒引物对、诺如病毒引物对、肠道病毒71型引物对、A组柯萨奇病毒引物对、埃可病毒引物对、B组柯萨奇病毒引物对和脊髓灰质炎病毒引物对分别用于检测腺病毒(Adenovirus，AdV)、轮状病毒(Rotavirus，RV)、诺如病毒(Norwalk viruses，NV)、71型肠道病毒、A组柯萨奇病毒、埃可病毒(Echovirus，EchoV)、B组柯萨奇病毒和脊髓灰质炎病毒(Polio-virus，PV)。

[0038] 具体地，如SEQ ID No.1所示的序列为：5’-CAGGATGCTTCGGAGTACCT-3’。如SEQ ID No.2所示的序列为：5’-ACTGTGGGGTTTCTAAACTTG-3’。如SEQ ID No.3所示的序列为：5’-GGCTTTTAAAGCGTCTCAGTCG-3’。如SEQ ID No.4所示的序列为：5’-TGACCCTTACCATGTGTGATTACAG-3’。如SEQ ID No.5所示的序列为：5’-GCACTTCAAAACCACCTGCATAAC-3’。如SEQ ID No.6所示的序列为：5’-CGGCCCAGCATTCTACAGCA-3’。如SEQ ID No.7所示的序列为：5’-AGCGTCATCAAATGCTAGTGATGAG-3’。如SEQ ID No.8所示的序列为：5’-TATATTGGAGCAGCTGCGGGAC-3’。如SEQ ID No.9所示的序列为：5’-TTCTGTTTCCCCGGTGAAGTTAC-3’。如SEQ ID No.10所示的序列为：5’-TTCAAACACGATGTCGTTGTTACTTG-3’。如SEQ ID No.11所示的序列为：5’-ATGGGAGCTCAGGTGTCAACTC-3’。如SEQ ID No.12所示的序列为：5’-GAACCTACATGTTGCAACGTCTG-3’。如SEQ ID No.13所示的序列为：5’-TTAAAACAGCCTGTGGGTTGATC-3’。如SEQ ID No.14所示的序列为：5’-GCGGTGACTCATCGACCTGATC-3’。如SEQ ID No.15所示的序列为：5’-CCTTCCCGTAACTTAGACGCAC-3’。如SEQ ID No.16所示的序列为：5’-TGATTGTCACCATAAGCAGCCAC-3’。

[0039] 在其中一个实施例中，核酸组合物包括序列如SEQ ID No.1及SEQ ID No.2所示的腺病毒引物对、序列如SEQ ID No.3及SEQ ID No.4所示的轮状病毒引物对、序列如SEQ ID No.5及SEQ ID No.6所示的诺如病毒引物对、序列如SEQ ID No.7及SEQ ID No.8所示的肠道病毒71型引物对、序列如SEQ ID No.9及SEQ ID No.10所示的A组柯萨奇病毒引物对、序列如SEQ ID No.11及SEQ ID No.12所示的埃可病毒引物对、序列如SEQ ID No.13及SEQ ID No.14所示的B组柯萨奇病毒引物对、和序列如SEQ ID No.15及SEQ ID No.16所示的脊髓灰质炎病毒引物对。

[0040] 在其中一个实施例中，核酸组合物还包括与检测引物对对应的检测探针，检测探针上连接也有荧光基团。进一步地，与检测引物对对应的检测探针的序列或其互补序列分别如SEQ ID No.17～SEQ ID No.24所示。

[0041] 具体地，与腺病毒引物对对应的检测探针的序列或其互补序列如SEQ ID No.17所示，如SEQ ID No.17所示的序列为：5'-TGCAGTTCGCCCGTGC-3'。与轮状病毒引物对对应的检测探针的序列或其互补序列如SEQ ID No.18所示，如SEQ ID No.18所示的序列为：5'-CTACACCGCAAGGCTCAAACGGC-3'。与诺如病毒引物对对应的检测探针的序列或其互补序列如SEQ ID No.19所示，如SEQ ID No.19所示的序列为：5'-AAGTCCATGCCACCTTCCTTCAACTCTGC-3'。与肠道病毒71型引物对对应的检测探针的序列或其互补序列如SEQ ID No.20所示，如SEQ ID No.20所示的序列为：5'-CCTCCCTCTTGAAGGCACAACCAACCCGAA-3'。与A组柯萨奇病毒引物对对应的检测探针的序列或其互补序列如SEQ ID No.21所示，如SEQ ID No.21所示的序列为：5'-CCTGAATGCGGCTAATCCCAACCAC-3'。与埃可病毒引物对对应的检测探针的序列或其互补序列如SEQ ID No.22所示，如SEQ ID No.22所示的序列为：5'-CTTCACACAAGACCCGAGCAAGTTTACAGAA-3'。与B组柯萨奇病毒引物对对应的检测探针的序列或其互补序列如SEQ ID No.23所示，如SEQ ID No.23所示的序列为：5'-CACACACCGATCAACAGTCAGCGTGGCAC-3'。与脊髓灰质炎病毒引物对对应的检测探针的序列或其互补序列如SEQ ID No.24所示。如SEQ ID No.24所示的序列为：5'-CGCAGCCTGGACCACCGTCACC-3'。

[0042] 在其中一个实施例中，与检测引物对对应的检测探针的两端分别连接有荧光基团和淬灭基团。优选地，荧光基团位于检测探针的5'端，淬灭基团位于检测探针的3'端。在其中一个实施例中，检测探针上连接的荧光基团选自FAM、HEX、VIC、CY5、ROX、Texsa Red及Quasar 705中的一种。需要说明的是，荧光基团不限于上述指出的荧光基团，也可以为其他荧光基团。优选地，检测探针上连接的荧光基团选自FAM、HEX、CY5及ROX中的一种。

[0043] 在其中一个实施例中，检测引物对包括序列如SEQ ID No.1及SEQ ID No.2所示的腺病毒引物对、序列如SEQ ID No.3及SEQ ID No.4所示的轮状病毒引物对、序列如SEQ ID No.5及SEQ ID No.6所示的诺如病毒引物对、序列如SEQ ID No.7及SEQ ID No.8所示的肠道病毒71型引物对、序列如SEQ ID No.9及SEQ ID No.10所示的A组柯萨奇病毒引物对、序列如SEQ ID No.11及SEQ ID No.12所示的埃可病毒引物对、序列如SEQ ID No.13及SEQ ID No.14所示的B组柯萨奇病毒引物对、和序列如SEQ ID No.15及SEQ ID No.16所示的脊髓灰质炎病毒引物对；检测引物对分为多组，同一组内的不同检测引物对对应的检测探针上连接的荧光基团不同。

[0044] 进一步地，检测引物对为四组；第一组包括腺病毒引物对和轮状病毒引物对；第二

组包括诺如病毒引物对和肠道病毒71型引物对;第三组包括A组柯萨奇病毒引物对和埃可病毒引物对,第四组包括B组柯萨奇病毒引物对和脊髓灰质炎病毒引物对。各组内的检测探针上连接的荧光基团选自FAM、HEX、VIC、CY5、ROX、Texsa Red及Quasar 705中的一种。

[0045] 上述核酸组合物通过检测引物对及检测探针的巧妙设计,避免了多个检测引物对及对应的检测探针之间的相互干扰,能够实现一次性同时检测至少两种肠道病毒。并且经证实,使用上述核酸组合物检测时特异性好,各检测引物对之间互不干扰,检测结果准确性高,灵敏度达到91%。

[0046] 上述核酸组合物能够同时检测至少两种肠道病毒,且具有灵敏度较高,能够应用于制备微流控芯片或者检测装置。

[0047] 请参阅图1,本发明一实施方式提供了一种检测装置10,检测装置10包括微流控芯片100。该微流控芯片100的检测敏感度较高且能够同时检测至少两种肠道病毒。

[0048] 微流控芯片100是将生物和化学领域所涉及的基本操作单位集成在一块几平方厘米的芯片上,由微通道网络连接而成,能够极大地缩短样本处理了时间,并通过精密控制液体流动,实现低试剂损耗、低样本量。微流控技术具有高度自动化、高度集成化、消耗样本和试剂量少、污染小等优点。

[0049] 请一并参阅图2～3,微流控芯片100包括壳体110和检测单元,检测单元收容于壳体110中。

[0050] 壳体110为微流控芯片100的外壳。在其中一个实施例中,壳体110包括壳本体112和盖体114。壳本体112和盖体114相对设置,且围成收容腔。检测单元收容于收容腔中。在图示实施例中,壳本体112大致为板状,检测单元收容于壳本体112中。盖体114大致为板状。盖体114盖设于壳本体112上,且围成收容腔。

[0051] 进一步地,壳本体112和盖体114为密封连接。更进一步地,壳本体112和盖体114为可拆卸地固接且密封连接。在图示实施例中,壳本体112和盖体114密封粘接。需要说明的是,壳本体112和盖体114不限于上述连接方式,也可以为一体成型结构。

[0052] 在其中一个实施例中,壳体110的材质为PDMS(聚二甲基硅氧烷)、PDMA(聚N,N-二甲基丙烯酰胺)或玻璃。进一步地,壳体110的材质为PDMS。

[0053] 在其中一个实施例中,壳体110采用加工成型方法制备。进一步地,壳体110采用如下方法制备:模具注塑法、模具热压法、激光刻蚀法或软光刻蚀法等。进一步地,壳体110采用模具注塑法制备。采用模具注塑法加工制备,能够得到结构稳定、精密度高且成本低的微流控芯片100。需要说明的是,壳体110的制备方法不限于上述指出的方法,还可以为其他的常见的制备方法。

[0054] 检测单元包括反应池120,反应池120内设有上述实施方式的核酸组合物。进一步地,反应池120中,核酸组合物中,每种病毒的检测引物对的上游引物和下游引物的浓度均为35nmol/L～55nmol/L,每种病毒的检测探针的浓度为15nmol/L～25nmol/L。

[0055] 在其中一个实施例中,反应池120为长方体、正方体或者圆柱体。更进一步地,反应池120的体积为50μL～500μL。优选地,反应池130的体积为100μL～200μL。

[0056] 在其中一个实施例中,反应池120的材质为亲水性材质。此种设置,使得能够促进反应池120中液体的流动性,以更好地控制反应池120内的反应。进一步地,反应池材质由基础材料经过表面处理物预处理得到。其中,基础材料为PMMA、PDMS或玻璃。表面处理物为

SDS、紫外臭氧辐射或者聚乙二醇。经过表面预处理的反应池能够使反应池具有良好的亲水性。

[0057] 在其中一个实施例中，反应池120还包埋有PCR反应试剂。进一步地，PCR反应试剂包括PCR buffer、氯化镁、dNTPs、DNA聚合酶、反转录酶及荧光染料中的至少一种。进一步地，每个PCR反应试剂的工作浓度为:0.01M～0.02M的PCR buffer、12.5mmol/L～30mmol/L氯化镁、100μmol/L～200μmol/L dNTPs;混合酶包括DNA聚合酶和反转录酶，其中，DNA聚合酶的工作浓度为0.5U/μL～1.0U/μL、反转录酶的工作浓度为0.5U/μL～3.0U/μL。

[0058] 在其中一个实施例中，微流控芯片100还设置控温组件。控温组件用于控制处理池140和反应池120的温度，以能够干燥处理池140，并能够向反应池120提供PCR反应所需的温度条件。

[0059] 在其中一个实施例中，核酸组合物为干粉。PCR反应试剂为冻干粉。采用在反应池120中设置干粉状的试剂能够提高微流控芯片100的保存期和使用寿命。

[0060] 进一步地，反应池120为至少两个。相邻两个反应池120间隔设置。每个反应池120设置有核酸组合物。且每个反应池120中的核酸组合物不同。同一个反应池120中检测探针的荧光基团不同。

[0061] 在图示实施例中，反应池120为四个。四个反应池120间隔设置。每个反应池120设置有检测引物对和检测探针。腺病毒引物对和轮状病毒引物对设置于同一反应池中;诺如病毒引物对和肠道病毒71型引物对设置于同一反应池中;A组柯萨奇病毒引物对和埃可病毒引物对设置于同一反应池中;B组柯萨奇病毒引物对和脊髓灰质炎病毒引物对设置于同一反应池中。

[0062] 进一步地，检测单元还包括与反应池120连通的储液池130。储液池130能够向反应池120输送溶剂，以溶解反应池120中的核酸组合物和PCR反应试剂。

[0063] 在其中一个实施例中，溶剂为去离子水或纯水。

[0064] 在其中一个实施例中，储液池130为长方体、正方体或者圆柱体。进一步地，储液池130的体积为100μL～1000μL。优选地，储液池130的体积为100μL～300μL。

[0065] 进一步地，检测单元还包括第一微通道132。第一微通道132两端分别连通反应池120和储液池130。在其中一个实施例中，第一微通道132为折线、曲线或直线。进一步地，第一微通道132的宽度为10μm～300μm，高度为10μm～200μm。更进一步地，第一微通道132的宽度为50μm～100μm，高度为20μm～100μm。具体地，第一微通道132为折线，宽度为50μm～100μm，高度为20μm～100μm。

[0066] 进一步地，检测单元还包括第一微阀134。第一微阀134设置于第一微通道132上，以能够控制第一微通道132的开启和关闭，而控制第一微通道132中液体的流动。更进一步地，第一微阀134为电磁阀。

[0067] 在图示实施例中，第一微通道132为一条。第一微通道132与四个反应池120连通，以能够向四个反应池120输送溶剂。第一微阀134为一个。

[0068] 在其中一个实施例中，检测单元还设有驱动器。驱动器收容于壳本体112中，且与反应池120连接。驱动器能够提供动力，以向各腔室中输送物体。进一步地，驱动器能够提供动力，以将储液池130中的液体经第一微通道132输送至反应池120中。更进一步地，驱动器为气泵。气泵能够提供净化的压缩气体，以避免动力气体在与试剂和样本接触过程中对试

剂和样本产生干扰。在其中一个实施例中，驱动器为负压泵。驱动器为一个。

[0069] 检测单元还包括处理池140。处理池140与反应池120间隔且连通。处理池140能够向反应池120中输送核酸。

[0070] 在其中一个实施例中，处理池140为长方体、正方体或者圆柱体。进一步地，处理池140的体积为50μL～500μL。优选地，处理池140的体积为100μL～200μL。

[0071] 进一步地，检测单元还包括第二微通道142。第二微通道142的两端分别连通处理池140和反应池120。在其中一个实施例中，第二微通道142为折线、曲线或直线。进一步地，第二微通道142的宽度为10μm～300μm，高度为10μm～200μm。更进一步地，第二微通道142的宽度为50μm～100μm，高度为20μm～100μm。具体地，第二微通道142为折线，宽度为50μm～100μm，高度为20μm～100μm。在图示实施例中，驱动器能够提供动力，以使处理池140中的物体经第二微通道142输送至反应池120中。

[0072] 进一步地，检测单元还包括第二微阀144。第二微阀144设置于第二微通道142上，以控制第二微通道142的开启和关闭，而控制第二微通道142中物体的流动。进一步地，第二微阀144为电磁阀。

[0073] 在其中一个实施例中，处理池140为一个。处理池140与至少两个反应池120均连通，并且能够向至少两个反应池120输送核酸。通过设置一个处理池140与至少两个反应池120连通，使得同一份待测样品的核酸能够经处理池140转移至多个反应池120中进行不同项目的检测，即能够实现对同一份样品中的多种病毒进行同时检测，更加节省检测时间。

[0074] 在图示实施例中，处理池140为一个，处理池140与四个反应池120均连通，能够向四个反应池120输送核酸。第二微通道142包括一条第一支管1422和四条第二支管1424。第一支管1422的一端与处理池140连通，另一端与四条第二支管1424均连通。四个第二支管1424的另一端分别与四个反应池120连通。第二微阀144为五个。第一支管1422和每条第二支管1424均设置有第二微阀144，以控制第一支管1422和四个第二支管1424的开启与关闭。每条第二支管1424也均与第一微通道132连通，以使能够溶剂能够通过第一微通道132流经每条第二支管1424而向每个反应池120输送溶剂。

[0075] 检测单元还包括储物腔150。储物腔150与处理池140间隔且连接。储物腔150能够向处理池140输送吸附物，以使能够在处理池140中吸附核酸。

[0076] 在其中一个实施例中，吸附物为磁微粒。进一步地，吸附物为超顺磁性核壳结构。吸附物的磁核为Fe_3O_4或γ-Fe_3O_4。吸附物的外壳为硅。吸附物的粒径为0.1μm～10μm。进一步地，吸附物的直径为0.5μm～10μm。更进一步地，吸附物的直径为0.5μm～5μm。具体地，吸附物为顺磁性的Fe_3O_4磁微粒。吸附物的直径为0.5μm～5μm。需要说明的是，吸附物不限于为磁微粒，还可以为其他能够吸附核酸的吸附物。磁微粒依靠磁场进行运动，所需配套部件容易满足，在制备上述微流控芯片100时成本更低。

[0077] 进一步地，检测装置10还包括磁场发生器200。磁场发生器200能够向微流控芯片100提供磁场，以吸附吸附物。在其中一个实施例中，磁场发生器200为磁铁。需要说明的是，磁场发生器200不限于为磁铁，还可以为磁性线圈。

[0078] 在其中一个实施例中，储物腔150还能够用于存储裂解液，并向处理池140输送裂解液。此种设置，使得需采用裂解液裂解待测样品的病毒裂解，以释放核酸，且释放的核酸能够被吸附物吸附。

[0079] 进一步地，裂解液包括0.045M～0.055M的Tris-HCl、0.015mg/mL～0.025mg/mL的蛋白酶K和18mM～22mM的EDTA，0.05％-0.15％SDS。此种设置能够有效地裂解病毒，以释放核酸，且能够保证核酸的完整性。更进一步地，裂解液包括0.05M的Tris-HCl、0.02mg/mL的蛋白酶K和20mM的EDTA，0.05％-0.15％SDS。需要说明的是，若待测样品不需裂解就可以直接释放核酸，则储物腔150则不用向处理池140输送裂解液。

[0080] 在其中一个实施例中，储物腔150为长方体、正方体或者圆柱体。进一步地，储物腔150的体积为100μL～1000μL。优选地，储物腔150的体积为500μL～1000μL

[0081] 进一步地，检测单元还包括第三微通道152。第三微通道152两端分别连通处理池140和储物腔150。在其中一个实施例中，第三微通道152为折线、曲线或直线。进一步地，第三微通道152的宽度为10μm～300μm，高度为10μm～200μm。更进一步地，第三微通道152的宽度为50μm～100μm，高度为20μm～100μm。具体地，第三微通道152为折线，宽度为50μm～100μm，高度为20μm～100μm。

[0082] 在其中一个实施中，储物腔150中的裂解液和吸附物能够在驱动器的作用下输送至处理池140中，并且处理池140中裂解待测样品后得到的废液还能在驱动器的作用下输送至储物腔150。

[0083] 进一步地，检测单元还包括第三微阀154。第三微阀154设置于第三微通道152上，以控制第三微通道152的开启和关闭，而控制第三微通道152中液体的流动。更进一步地，第三微阀154为电磁阀。

[0084] 检测单元还包括洗液池160。洗液池160与处理池140间隔且连通。洗液池160能够向处理池140输送清洗液。通过洗液池160向处理池140中输送清洗液，既能够清洗处理池140，也能够清洗吸附有核酸的吸附物。

[0085] 在其中一个实施例中，清洗液含有0.045M～0.055M的Tris-HCl和0.2M～0.2M的NaCl。此种设置的清洗液能够较好地清洗吸附有核酸的吸附物，以保证后续检测的准确性。进一步地，清洗液含有0.05M的Tris-HCl和0.15M的NaCl。

[0086] 在其中一个实施例中，洗液池160为长方体、正方体或者圆柱体。进一步地，洗液池160的体积为100μL～1000μL。优选地，洗液池160的体积为500μL～1000μL。

[0087] 进一步地，检测单元还包括第四微通道162。第四微通道162两端分别连通处理池140和洗液池160。在其中一个实施例中，第四微通道162为折线、曲线或直线。进一步地，第四微通道162的宽度为10μm～300μm，高度为10μm～200μm。更进一步地，第四微通道162的宽度为50μm～100μm，高度为20μm～100μm。具体地，第四微通道162为折线，宽度为50μm～100μm，高度为20μm～100μm。

[0088] 在其中一个实施例中，洗液池160中的清洗液能够在驱动器的作用下经第四微通道162输送至处理池140中，并且处理池140中清洗后的废液能够在驱动器的作用下输送至储物腔150。

[0089] 进一步地，检测单元还包括第四微阀164。第四微阀164设置于第四微通道162上，以能够控制第四微通道162的开启和关闭，而控制第四微通道162中液体的流动。更进一步地，第四微阀164为电磁阀。

[0090] 壳体110设有加样口170。加样口170与处理池140相通。能够通过加样口170向处理池140中加入待测样品。进一步地，加样口170开设于盖体114上。进一步地，加样口170为孔

状。在图示实施例中，加样口170为圆形孔。需要说明的是，加样口170不限于为圆形孔，还可以为其他形状的孔，例如方形孔。

[0091] 进一步地，加样口170的孔径为3mm～8mm。更进一步地，加样口170的孔径为4mm～6mm。

[0092] 进一步地，检测单元还包括第五微通道。第五微通道的两端分别与加样口170、处理池140连通。在其中一个实施例中，第五微通道为折线、曲线或直线。进一步地，第五微通道的宽度为10μm～300μm，高度为10μm～200μm。更进一步地，第五微通道的宽度为50μm～100μm，高度为20μm～100μm。具体地，第五微通道为折线，宽度为50μm～100μm，高度为20μm～100μm。

[0093] 在其中一个实施例中，加样口170加入的待测样品能够在驱动器的作用下经第五微通道输送至处理池140中。进一步地，检测单元还包括第五微阀。第五微阀设置于第五微通道上，以控制第五微通道的开启和关闭，而控制第五微通道中液体的流动。更进一步地，第五微阀为电磁阀。

[0094] 在其中一个实施例中，微流控芯片100的组装过程如下：将核酸组合物和PCR反应试剂置于反应池120中；将含有吸附物的裂解液、清洗液、溶剂分别置于储物腔150、洗液池160、储液池130中；及将壳本体112与盖体114固接，得到微流控芯片100。其中，固接的方式为胶水粘接。

[0095] 在图示实施例中，检测单元为一个。需要说明的是，检测单元不限于一个，还可以为多个。检测单元为多个时，多个检测单元均收容于壳体中，且相邻的检测单元间隔设置。

[0096] 检测装置10还包括样品处理器300。样品处理器300与样品口连通。样品处理器300用于容置样品处理液，并能够向样品口中输送含有待测样品的样品处理液。样品处理液用于稀释或分散待测样品中的病毒。

[0097] 进一步地，样本处理液包括0.045M～0.055M的Tris、质量百分含量为0.8％～1.2％的SDS、0.35M～0.45M的NaCl和18mM～22mM的EDTA。进一步地，样本处理液包括0.05MTris、质量百分含量为1％的SDS、0.4M的NaCl和20mM的EDTA。

[0098] 检测装置10还包括固液分离组件400。固液分离组件400能够将含有待测样品的处理液进行固液分离，以得到含有病毒的清液。在其中一个实施例中，固液分离组件400为离心机。需要说明的是，固液分离组件400不限于为离心机，还可以是本领域常见的其他固液分离组件，例如过滤组件。

[0099] 检测装置10还包括检测组件500。检测组件500能够检测反应池120中的荧光强度的变化，并根据荧光强度得到待测样品的扩增曲线和循环阈值(即Ct)，从而对待测样品中的病毒进行定性检测。进一步地，检测组件500为荧光检测器。

[0100] 检测装置10还包括分析组件600。分析组件600与检测组件500电连接。分析组件600能够接收检测组件500中的荧光强度信号，以分析该信号，而对待测样品中的病毒进行定量分析。

[0101] 上述检测装置10的操作过程至少包括如下步骤：

[0102] 将待测样品加入样品处理器300中，以使待测样品与样品处理液混合。开启驱动器，在驱动器的作用下，将含有待测样品的样品处理液输送至加样口170，并流入处理池140中。开启第三微阀154，储物腔150中含有吸附物的裂解液在驱动器的作用下流入处理池140

中，以使吸附有核酸的吸附物和裂解液混匀，释放病毒的核酸，并使该核酸释放而吸附于吸附物上。

[0103] 裂解结束后，开启磁场发生器200，以使吸附有核酸的吸附物固定于处理池140中。开启第四微阀164，洗液池160中的清洗液在驱动器的作用下输送至处理池140中，以对吸附有核酸的吸附物进行清洗。清洗结束后，关闭第四微阀164。调节驱动器，处理池140中的废液在驱动器的作用下输送至储物腔150中，关闭第三微阀154。需要说明的是，可以重复此步骤，以使较为彻底地清洗吸附有核酸的吸附物。

[0104] 待清洗结束后，开启控温组件，以干燥处理池140中吸附有核酸的吸附物，其中，干燥温度为60℃～70℃。干燥后，向处理池140中输送清洗液，以稀释吸附有核酸的吸附物，得到含有吸附物的溶液。开启第一微阀134，在驱动器的作用下将储液池130中的溶剂输送至各反应池120中。开启各反应池120对应的第二微阀144，在驱动器的作用下将处理池140中含有吸附物的溶液输送至每个反应池120中。开启控温组件，以使反应池120中达到PCR反应温度，进行PCR反应。反应结束后，通过检测组件500检测反应池120中的荧光强度的变化，并根据荧光强度得到待测样品的扩增曲线和循环阈值(即Ct)，以检测待测样本中是否存在上述病毒，从而对待测样品中的病毒进行定性检测。需要说明的是，还可以通过分析组件600接收检测组件500中的荧光强度信号，以分析该信号，而对待测样品中的病毒进行定量分析。

[0105] 一般地，肠道病毒的检测方法包括病毒分离培养、免疫学检验和PCR。病毒分离培养的诊断周期较长(2天～10天)，诊断灵敏度较低，不利于临床应用。免疫学检验包括胶体金法检测和ELISA。胶体金法检测是采用胶体金标记技术，将抗体与胶体金结合形成肉眼可见的复合物，通过免疫层析法进行检测。该方法的灵敏度较低，并且受操作者影响较大，容易产生假阳性与假阴性。而ELISA是利用双抗体夹心法进行检测，在酶标板上设置抗体，与样本中的抗原结合后，与酶标记的抗体结合形成抗体-抗原-抗体偶合物，随后加入显色剂显色。该方法进行检测时样本之间容易交叉污染，出现假阳性结果，并且容易受到病毒变异影响而无法检测，出现假阴性结果。而PCR检测的通量较低，只能检测一种病毒，并且灵敏度和特异性均较低，容易出现二聚体。

[0106] 上述检测装置10中的微流控芯片100将微流控技术和核酸分子检测技术结合，结构简单，操作方便，无交叉污染，且避免了核酸产生的气溶胶的影响，具有准确性高、灵敏度高、特异性强、诊断窗口期短、假阳性率和假阳性率低，填补了早期免疫检测窗口期的检测空白，为早期诊断、早期治疗提供了有效的帮助。

[0107] 具体实施例

[0108] 以下结合具体实施例进行详细说明。实施例中采用药物和仪器如非特别说明，均为本领域常规选择。实施例中未注明具体条件的实验方法，按照常规条件，例如文献、书本中所述的条件或者生产厂家推荐的方法实现。

[0109] 如无特别说明，以下实施例中，DNA聚合酶为生工生物工程(上海)股份有限公司。反转录酶为生工生物工程(上海)股份有限公司，反转录酶的型号为RNase A/T1 Mix。

[0110] 实施例1

[0111] 提供检测装置，其结构如图1所示。检测装置包括样品处理器、微流控芯片和检测组件。其中，样品处理器设置有样本处理液，样本处理液包括0.05MTris、质量百分含量为

1％的SDS、0.4M的NaCl和20mM的EDTA。

[0112] 微流控芯片的结构如图2所示。微流控芯片中：

[0113] 处理池容置有含有吸附物的裂解液，吸附物为西宝生物科技(上海)股份有限公司的携带硅基的磁微粒，裂解液包括0.05M的Tris-HCl、0.02mg/mL的蛋白酶K和20mM的EDTA；

[0114] 反应池为四个，四个反应池分别编号为1、2、3、4，每个反应池中均设置有核酸组合物和PCR反应试剂。其中，每个反应池具体的核酸组合物如表1所示。其中，序列SEQ ID No.17的5’端、序列SEQ ID No.19的5’端、序列SEQ ID No.21的5’端及序列SEQ ID No.23的5’端均连接有FAM；序列SEQ ID No.18的5’端、序列SEQ ID No.20的5’端、序列SEQ ID No.22的5’端及序列SEQ ID No.24的5’端均连接有HEX；序列SEQ ID No.17～序列SEQ ID No.24的3’端均连接有MGB。

[0115] 表1

[0116]

反应池编号	序列编号	核苷酸序列
1	SEQ ID No.1	5’-CAGGATGCTTCGGAGTACCT-3’
	SEQ ID No.2	5’-ACTGTGGGGTTTCTAAACTTG-3’
	SEQ ID No.17	5’-TGCAGTTCGCCCGTGC-3’
	SEQ ID No.3	5’-GGCTTTTAAAGCGTCTCAGTCG-3’
	SEQ ID No.4	5’-TGACCCTTACCATGTGTGATTACAG-3’
	SEQ ID No.18	5’-CTACACCGCAAGGCTCAAACGGC-3’
2	SEQ ID No.5	5’-GCACTTCAAAACCACCTGCATAAC-3’
	SEQ ID No.6	5’-CGGCCCAGCATTCTACAGCA-3’
	SEQ ID No.19	5’-AAGTCCATGCCACCTTCCTTCAACTCTGC-3’
	SEQ ID No.7	5’-AGCGTCATCAAATGCTAGTGATGAG-3’
	SEQ ID No.8	5’-TATATTGGAGCAGCTGCGGGAC-3’
	SEQ ID No.20	5’-CCTCCCTCTTGAAGGCACAACCAACCCGAA-3’

[0117]

3	SEQ ID No.9	5’-TTCTGTTTCCCCGGTGAAGTTAC-3’
	SEQ ID No.10	5’-TTCAAACACGATGTCGTTGTTACTTG-3’
	SEQ ID No.21	5’-CCTGAATGCGGCTAATCCCAACCAC-3’
	SEQ ID No.11	5’-ATGGGAGCTCAGGTGTCAACTC-3’
	SEQ ID No.12	5’-GAACCTACATGTTGCAACGTCTG-3’
	SEQ ID No.22	5’-CTTCACACAAGACCCGAGCAAGTTTACAGAA-3’
4	SEQ ID No.13	5’-TTAAAACAGCCTGTGGGTTGATC-3’
	SEQ ID No.14	5’-GCGGTGACTCATCGACCTGATC-3’
	SEQ ID No.23	5’-CACACACCGATCAACAGTCAGCGTGGCAC-3’
	SEQ ID No.15	5’-CCTTCCCGTAACTTAGACGCAC-3’
	SEQ ID No.16	5’-TGATTGTCACCATAAGCAGCCAC-3’
	SEQ ID No.24	5’-CGCAGCCTGGACCACCGTCACC-3’

[0118] 每个反应池中，每种病毒的检测引物对的上游引物及下游引物的量均为0.001nmol，每个反应池中的检测探针的浓度均为0.0005nmol；PCR反应试剂包括PCR buffer(含0.02M、pH8.9的Tris-HCl，0.04mol/L质量百分含量为0.02％Gelatin，质量百分含量为0.2％的Tritonx-100)、500nmol氯化镁、0.5nmol dNTPs、混合酶(Enzyme mix)由

18.75U的DNA聚合酶及12.5U的反转录酶组成。

[0119] 洗液池中含有清洗液，清洗液由0.05M的Tris-HCl和0.15M的NaCl组成。

[0120] 检测组件为荧光检测器。

[0121] 实施例2

[0122] (1)提供待测样品。待测样品含有$1x10^3$FPU的腺病毒、$2x10^3$FPU的轮状病毒、$1x10^3$FPU的诺如病毒、$5x10^3$FPU的肠道病毒71型、$4x10^3$FPU的A组柯萨奇病毒、$2x10^3$FPU的埃可病毒、$1x10^3$FPU的B组柯萨奇病毒、$2x10^3$FPU的脊髓灰质炎病毒。

[0123] (2)采用样品处理液将待测样品分别稀释0倍、4倍、8倍，得到编号为1、2、3的待测液。采用实施例1的检测装置对每份待测液进行检测，具体步骤如下：

[0124] 1)将200μL的待测液加入至样本口流入处理池中。开启第三微阀，储物腔中含有吸附物的裂解液在驱动器的作用下流入处理池中。并使吸附有核酸的吸附物和裂解液混匀，以对待测样品中的病毒进行裂解，以使核酸释放而吸附于吸附物上。含有吸附物的裂解液与待测液的体积比为1:1。裂解时间为30min。

[0125] 2)裂解结束后，开启磁场发生器，以使吸附有核酸的吸附物固定于处理池中。开启第四微阀，洗液池中的清洗液在驱动器的作用下输送至处理池中，并调节磁场发生器以吸附有核酸的吸附物和清洗液，以对吸附有核酸的吸附物进行清洗。清洗结束后，关闭第四微阀。调节驱动器，处理池中的废液在驱动器的作用下输送至储物腔中，关闭第三微阀。重复清洗两次。

[0126] 3)清洗结束后，开启控温组件，以干燥处理池中吸附有核酸的吸附物，干燥温度为65℃。干燥后，向处理池中输送150μL的清洗液，以稀释吸附有核酸的吸附物，得到含有吸附物的溶液。开启第一微阀，在驱动器的作用下将储液池中的纯水输送至各反应池中，并开启各反应池对应的第二微阀，在驱动器的作用下将处理池中含有吸附物的溶液输送至每个反应池中，以得到各反应池的PCR反应体系，各反应池的PCR反应体系详见表2。

[0127] 表2

[0128]

PCR buffer	0.02mol/L
氯化镁	20mmol/L
每种病毒检测引物对的上游引物	40nmol/L

[0129]

每种病毒检测引物对的下游引物	40nmol/L
Enzyme mix	0.75U/μL
dNTPs	200μmol/L
每种病毒的检测探针	20nmol/L
总体积	25μL

[0130] 4)开启控温组件，以使反应池中达到PCR反应温度，进行PCR反应，PCR反应的程序如表3所示。

[0131] 表3

[0132]

过程		温度	时间	循环数
PCR 反应过程	预变性	95℃	10min	/
	变性	95℃	15s	45
	退火延伸	58℃	1min	
结果分析过程	/	35℃	2min	1
	曲线分析	45℃~75℃	0.2℃/s	1

[0133] 其中，表3中，“/”表示PCR反应过程结束后将温度冷却至35℃的过程。“曲线分析，45℃～75℃，0.2℃/s”是指将反应温度从45℃以每秒升高0.2℃的速度升高至75℃，在升温的过程中得到对应的溶解曲线。

[0134] 5)反应结束后，通过检测组件检测反应池中的荧光强度的变化，并根据荧光强度得到待测样品的扩增曲线和循环阈值(即Ct)，从而对待测样品中的病毒进行定性检测。以检测待测样本中是否存在上述肠道病毒，从而对待测样品中的肠道病毒进行定性检测。其中，是否有病毒的判断标准为：扩增曲线为S形，且Ct值为23～30，则检出该病毒。测定结果详见表4。表4中“+”表示检出该病毒，“-”表示未检出该病毒。

[0135] (3)按照步骤(2)的操作，采用1号对比微流控芯片、2号对比微流控芯片、3号对比微流控芯片及4号对比微流控芯片分别对1号待测液进行检测。测定结果详见表4。其中：

[0136] 1号对比微流控芯片与实施例1的微流控芯片大致相同，不同之处在于，腺病毒引物对的上游引物的序列为：5’-CTAGGACTGGCGGATAGGT-3’(即SEQ ID No.25)，含有该上游引物的腺病毒引物对单独对1号待测液进行检测时的扩增曲线为S形，且Ct值为25。

[0137] 2号对比微流控芯片与实施例1的微流控芯片大致相同，不同之处在于，诺如病毒引物对的下游引物的序列为：5’-GTACGTTAATGCGTTCAACGT-3’(即SEQ ID No.26)，含有该下游引物的诺如病毒引物对单独对1号待测液进行检测时的扩增曲线为S形，且Ct值为29。

[0138] 3号对比微流控芯片与实施例1的微流控芯片大致相同，不同之处在于，埃可病毒引物对的上游引物的序列为：5’-ACGTACGGGTGTCCTAATCG-3’(即SEQ ID No.27)，含有该上游引物的埃可病毒引物对单独对1号待测液进行检测时的扩增曲线为S形，且Ct值为25。

[0139] 4号对比微流控芯片与实施例1的微流控芯片大致相同，不同之处在于，脊髓灰质炎病毒引物对的下游引物的序列为：5’-CCTAGTCGGATCCGCGTAG-3’(即SEQ ID No.28)，含有该下游引物的脊髓灰质炎病毒引物对单独对1号待测液进行检测时的扩增曲线为S形，且Ct值为25。

[0140] 表4

[0141]

	实施例 1 的微流控芯片			1 号对比微流控芯片	2 号对比微流控芯片	3 号对比微流控芯片	4 号对比微流控芯片
	1 号待测液	2 号待测液	3 号待测液				

[0142]

腺病毒	+	+	+	-	+	+	+
轮状病毒	+	+	+	+	+	+	+
诺如病毒	+	+	+	+	-	+	+
肠道病毒 71 型	+	+	+	+	-	+	+
A 组柯萨奇病毒	+	+	+	+	+	-	+
埃可病毒	+	+	+	+	+	-	+
B 组柯萨奇病毒	+	+	+	+	+	+	-
脊髓灰质炎病毒	+	+	+	+	+	+	+

[0143] 从表4可以看出，上述微流控芯片能够检测待测样品中的上述8种病毒，且将待测样品稀释8倍后，仍然能够检出上述8种病毒，检测的灵敏度较高。

[0144] 对比微流控芯片在进行上游引物更换后，发现存在漏检现象。也即是，可由表4看出，1号对比微流控芯片未能检测到腺病毒，用含有序列如SEQ ID No.25所示的腺病毒引物对单独扩增时能够检测到腺病毒，而含有序列如SEQ ID No.25所示的腺病毒引物对与轮状病毒的检测引物对及检测探针混合扩增时，该反应池未能检测到腺病毒，说明序列如SEQ ID No.25所示的腺病毒引物对的上游引物对该反应池中的其他引物和探针产生干扰。

[0145] 2号对比微流控芯片未能检测到诺如病毒和肠道病毒71型，而用含有序列如SEQ ID No.26所示的诺如病毒引物对单独扩增时能够检测到诺如病毒，说明序列如SEQ ID No.26所示的诺如病毒下游引物与该反应池中的其他引物和探针产生干扰，导致该反应池未能检测上述两种病毒。

[0146] 3号对比微流控芯片未能检测到A组柯萨奇病毒和埃可病毒，而用含有序列如SEQ ID No.27所示的埃可病毒引物单独扩增时能够检测到埃可病毒，说明序列如SEQ ID No.27所示的埃可病毒上游引物与该反应池中的其他引物和探针产生干扰，导致该反应池未能检测上述两种病毒。

[0147] 4号对比微流控芯片未能检测到B组柯萨奇病毒，说明序列如SEQ ID No.28所示的脊髓灰质炎病毒下游引物与该反应池中的其他引物和探针产生干扰，导致该反应池未能检测B组柯萨奇病毒。

[0148] 实施例3

[0149] 1、采取105位志愿者的咽拭子样本。采用实施例1的检测装置对咽拭子样本进行检测。

[0150] 具体步骤如下：

[0151] (1)将每份咽拭子样本分别放入样本处理管中，样本处理管中含有200μL的样本处理液。震荡混匀10min，在8000rpm离心2min，收集上清液，即为待测液。

[0152] (2)按照实施例2的步骤(1)～(5)对每份咽拭子样本的待测液进行检测，即实验组。同时，以单项目荧光PCR方式(单项目荧光PCR是指一个反应体系只含有针对一种病毒的检测引物及对应检测探针的荧光定量PCR)对待测液进行检测，即对照组。同时，计算敏感

度、特异性、假阳性率和和假阴性率。检测结果详见表5。

[0153] 其中，敏感度＝检测结果为阳性的样本数/携带肠道病毒的总样本数；

[0154] 特异性＝检测结果为阴性的样本数/未携带肠道病毒的总样本数；

[0155] 假阳性率＝检测结果为假阳性的样本数/未携带肠道病毒的总样本数；

[0156] 假阴性率＝检测结果为假阴性的样本数/携带肠道病毒的总样本数。

[0157] 表5

[0158]

	实验组	对照组
灵敏度(%)	91	90
特异性(%)	93	95
假阳率性(%)	7	5
假阴率性(%)	9	10

[0159] 从表5可以看出，微流控芯片的灵敏度好于单项目荧光PCR，并且操作简单方便，能够同时检测8种不同的病毒。

[0160] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合，为使描述简洁，未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述，然而，只要这些技术特征的组合不存在矛盾，都应当认为是本说明书记载的范围。

[0161] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

[0001] 序列表

[0002] <110> 深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司

[0003] <120> 核酸组合物、检测单元、微流控芯片及检测装置

[0004] <160> 28

[0005] <170> SIPOSequenceListing 1.0

[0006] <210> 1

[0007] <211> 20

[0008] <212> DNA

[0009] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0010] <400> 1

[0011] caggatgctt cggagtacct 20

[0012] <210> 2

[0013] <211> 21

[0014] <212> DNA

[0015] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0016] <400> 2

[0017] actgtggggt ttctaaactt g 21

[0018] <210> 3

[0019] <211> 22

[0020] <212> DNA

[0021] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0022] <400> 3

[0023] ggcttttaaa gcgtctcagt cg 22

[0024] <210> 4

[0025] <211> 25

[0026] <212> DNA

[0027] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0028] <400> 4

[0029] tgacccttac catgtgtgat tacag 25

[0030] <210> 5

[0031] <211> 24

[0032] <212> DNA

[0033] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0034] <400> 5

[0035] gcacttcaaa accacctgca taac 24

[0036] <210> 6

[0037] <211> 20

[0038] <212> DNA

[0039] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0040] <400> 6

[0041] cggcccagca ttctacagca 20

[0042] <210> 7

[0043] <211> 25

[0044] <212> DNA

[0045] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0046] <400> 7

[0047] agcgtcatca aatgctagtg atgag 25

[0048] <210> 8

[0049] <211> 22

[0050] <212> DNA

[0051] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0052] <400> 8

[0053] tatattggag cagctgcggg ac 22

[0054] <210> 9

[0055] <211> 23

[0056] <212> DNA

[0057] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0058] <400> 9

[0059] ttctgtttcc ccggtgaagt tac 23

[0060] <210> 10

[0061] <211> 26

[0062] <212> DNA

[0063] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0064] <400> 10

[0065] ttcaaacacg atgtcgttgt tacttg 26

[0066] <210> 11

[0067] <211> 22

[0068] <212> DNA

[0069] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0070] <400> 11

[0071] atgggagctc aggtgtcaac tc 22

[0072] <210> 12

[0073] <211> 23

[0074] <212> DNA

[0075] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0076] <400> 12

[0077] gaacctacat gttgcaacgt ctg 23

[0078] <210> 13

[0079] <211> 23

[0080] <212> DNA

[0081] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0082] <400> 13

[0083] ttaaaacagc ctgtgggttg atc 23

[0084] <210> 14

[0085] <211> 22

[0086] <212> DNA

[0087] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0088] <400> 14

[0089] gcggtgactc atcgacctga tc 22

[0090] <210> 15

[0091] <211> 22

[0092] <212> DNA

[0093] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0094] <400> 15

[0095] ccttcccgta acttagacgc ac 22

[0096] <210> 16

[0097] <211> 23

[0098] <212> DNA

[0099] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0100] <400> 16

[0101] tgattgtcac cataagcagc cac 23

[0102] <210> 17

[0103] <211> 16

[0104] <212> DNA

[0105] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0106] <400> 17

[0107] tgcagttcgc ccgtgc 16

[0108] <210> 18

[0109] <211> 23

[0110] <212> DNA

[0111] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0112] <400> 18

[0113] ctacaccgca aggctcaaac ggc 23

[0114] <210> 19

[0115] <211> 29

[0116] <212> DNA

[0117] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0118] <400> 19

[0119] aagtccatgc caccttcctt caactctgc 29

[0120] <210> 20

[0121] <211> 30

[0122] <212> DNA

[0123] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0124] <400> 20

[0125] cctccctctt gaaggcacaa ccaacccgaa 30

[0126] <210> 21

[0127] <211> 25

[0128] <212> DNA

[0129] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0130] <400> 21

[0131] cctgaatgcg gctaatccca accac 25

[0132] <210> 22

[0133] <211> 31

[0134] <212> DNA

[0135] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0136] <400> 22

[0137] cttcacacaa gacccgagca agtttacaga a 31

[0138] <210> 23

[0139] <211> 29

[0140] <212> DNA

[0141] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0142] <400> 23

[0143] cacacaccga tcaacagtca gcgtggcac 29

[0144] <210> 24

[0145] <211> 22

[0146] <212> DNA

[0147] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0148] <400> 24

[0149] cgcagcctgg accaccgtca cc 22

[0150] <210> 25

[0151] <211> 19

[0152] <212> DNA

[0153] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0154] <400> 25

[0155] ctaggactgg cggataggt 19

[0156] <210> 26

[0157] <211> 21

[0158] <212> DNA

[0159] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0160] <400> 26

[0161] gtacgttaat gcgttcaacg t 21

[0162] <210> 27

[0163] <211> 20

[0164] <212> DNA

[0165] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0166] <400> 27

[0167] acgtacgggt gtcctaatcg 20

[0168] <210> 28

[0169] <211> 19

[0170] <212> DNA

[0171] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0172] <400> 28

[0173] cctagtcgga tccgcgtag 19

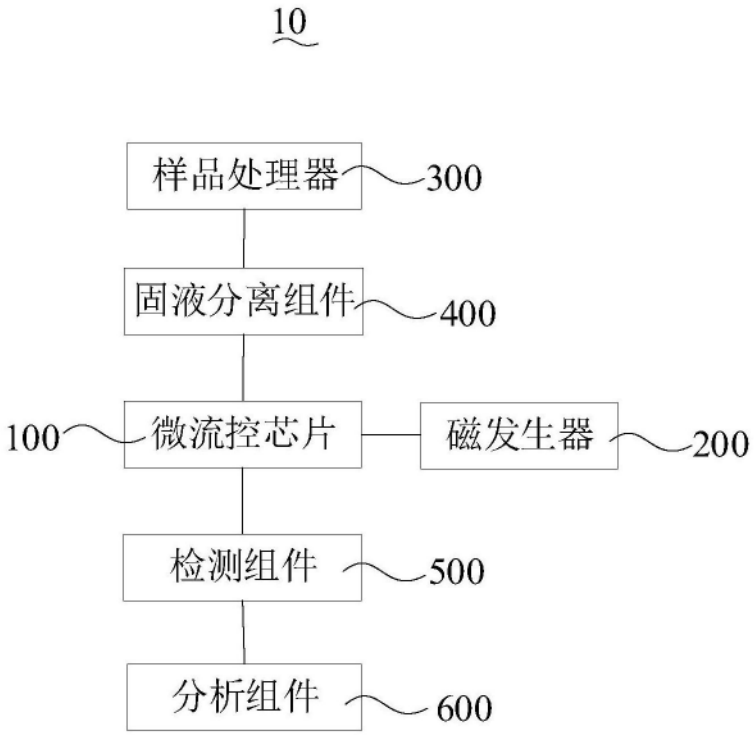

10
样品处理器
300
固液分离组件
400
100
微流控芯片
磁发生器
200
检测组件
500
分析组件
600

图1

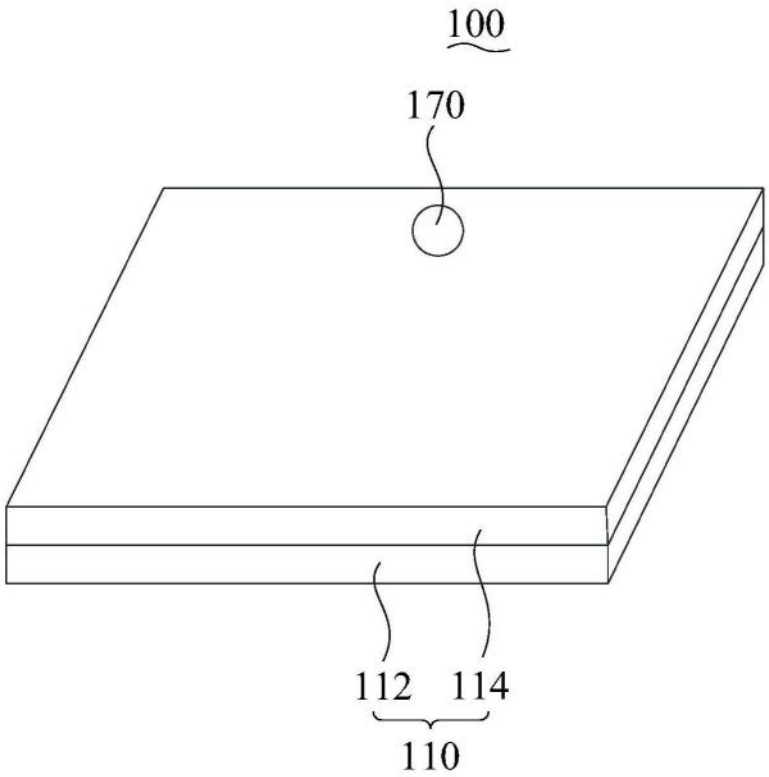

100
170
112
114
110

图2

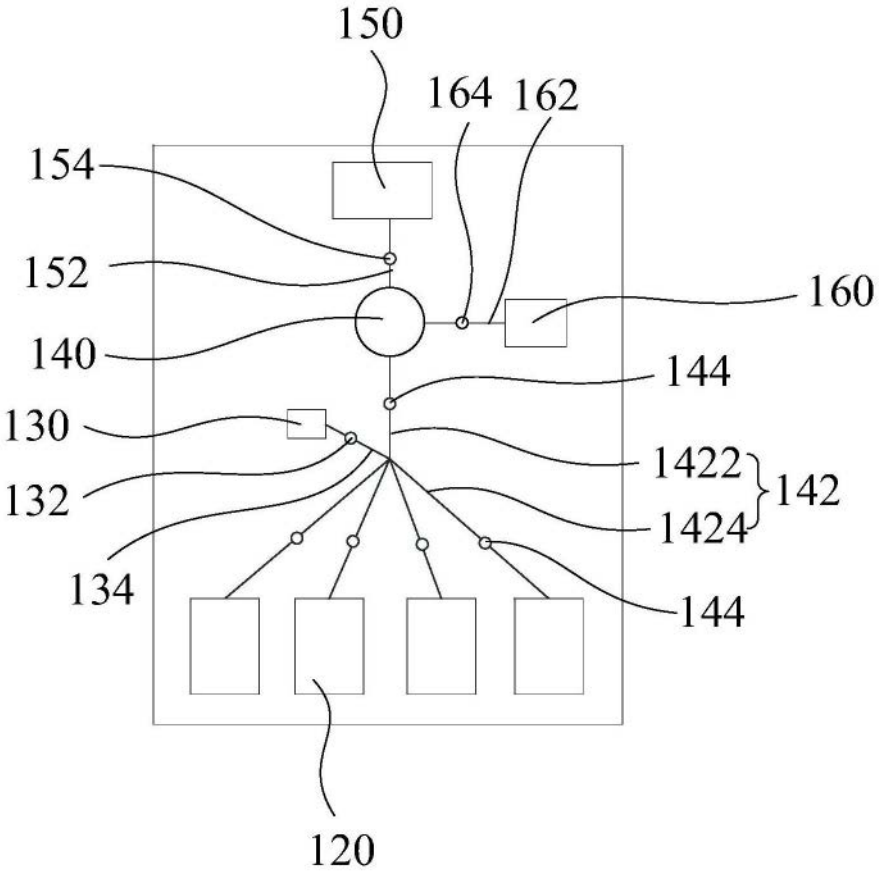

150
164
162
154
152
160
140
144
130
1422
142
132
1424
134
144
120

图3