

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2021 年 9 月 23 日 (23.09.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/184494 A1

- (51) 国际专利分类号:
G01N 29/036 (2006.01) **G01N 29/22** (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2020/087123
- (22) 国际申请日: 2020 年 4 月 27 日 (27.04.2020)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
202010196266.3 2020年3月19日 (19.03.2020) CN
- (71) 申请人: 山东科技大学(SHANGDONG UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) [CN/CN]; 中国山东省青岛市黄岛区前湾港路 579 号, Shandong 266590 (CN)。
- (72) 发明人: 陈达(CHEN, Da); 中国山东省青岛市黄岛区前湾港路 579 号, Shandong 266590 (CN)。王璟璟(WANG, Jingjing); 中国山东省青岛市黄岛区前湾港路 579 号, Shandong 266590 (CN)。王

鸿飞(WANG, Hongfei); 中国山东省青岛市黄岛区前湾港路 579 号, Shandong 266590 (CN)。张文斌(ZHANG, Wenbin); 中国山东省青岛市黄岛区前湾港路 579 号, Shandong 266590 (CN)。宋戈(SONG, Ge); 中国山东省青岛市黄岛区前湾港路 579 号, Shandong 266590 (CN)。刘运时(LIU, Yunshi); 中国山东省青岛市黄岛区前湾港路 579 号, Shandong 266590 (CN)。

(74) 代理人: 青岛锦佳专利代理事务所(普通合伙)(QINGDAO JINJIA PATENT AGENCY (GENERAL PARTNERSHIP)); 中国山东省青岛市黄岛区香江路 713-1 号拓谱产教园 H 座 115 室(联系人: 朱玉建), Shandong 266555 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS,

(54) Title: MANUFACTURING METHOD OF SENSOR, SENSOR, AND DETECTION METHOD OF SENSOR

(54) 发明名称: 一种传感器的制备方法、传感器以及传感器的检测方法

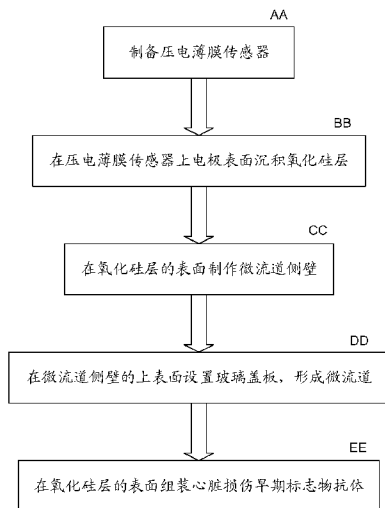


图 1

- AA Manufacture a piezoelectric film sensor
BB Deposit a silicon oxide layer on a surface of an upper electrode of the piezoelectric film sensor
CC Form microfluidic channel sidewalls at a surface of the silicon oxide layer
DD Provide a glass cover plate on upper surfaces of the microfluidic channel sidewalls, and form a microfluidic channel
EE Attach an early marker antibody for a cardiac injury at the surface of the silicon oxide layer

(57) Abstract: A manufacturing method of a sensor for detecting an early marker for a cardiac injury, a sensor manufactured by using the manufacturing method, and a detection method of the sensor. The manufacturing method comprises: I. manufacturing a piezoelectric film sensor; II. depositing a silicon oxide layer on a surface of an upper electrode of the piezoelectric film sensor; III. forming microfluidic channel sidewalls at a surface of the silicon oxide layer; IV. providing a glass cover plate on upper surfaces of the microfluidic channel sidewalls, and forming a microfluidic channel; and V. attaching an early marker antibody for a cardiac injury at the surface of the silicon oxide layer in the microfluidic channel. The manufactured sensor performs detection on the basis of the mass sensitive principle, thereby reducing interference, and enhancing detection accuracy. Moreover, the sensor has a smaller size.

(57) 摘要: 一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的制备方法、通过该制备方法制得的传感器以及该传感器的检测方法。该制备方法包括: I. 制备压电薄膜传感器; II. 在压电薄膜传感器的上电极表面沉积氧化硅层; III. 在氧化硅层的表面制作微流道侧壁; IV. 在微流道侧壁的上表面设置玻璃盖板, 形成微流道; V. 在微流道内氧化硅层的表面组装心脏损伤早期标志物抗体。该制得的传感器, 基于质量敏感原理进行检测, 降低了干扰, 利于提高检测的精度, 且尺寸较小。

JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,
PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

说明书

发明名称：一种传感器的制备方法、传感器以及传感器的检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于即时检验技术领域，特别涉及一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的制备方法、通过所述制备方法制得的传感器以及所述传感器的检测方法。

背景技术

[0002] 心血管疾病是危害人类健康及生命的最严重疾病之一。其中，急性心肌梗死最常见、最危险。尽早诊断和治疗急性心肌梗死是降低其死亡率和改善患者预后的关键。心脏损伤早期标志物是临床诊断心肌梗死、心肌缺血、心衰等心脏疾病的重要检测指标。

[0003] 心脏损伤早期标志物主要包括肌酸激酶MB同工酶(CK-MB)、心肌肌钙蛋白(cTn)、心型脂肪酸结合蛋白(h-FABP)、B型尿钠肽(BNP)等。目前，大多数常规实验室检测的心脏损伤早期标志物是基于化学发光、酶联免疫吸附法(ELISA)和免疫比浊法。虽然这些方法能够提供精确、可靠和质量控制的结果，但需要复杂的设备、毫升体积的样品和专业操作。

[0004] 近年来，随着即时检验(point-of-care testing, 简称POCT)技术的兴起，医学行为发生了革命性的变化。POCT设备的分析时间短，样品消耗量低，对急性心肌梗死等危急重大疾病的诊断具有重要意义。目前，已经开发出多种有希望用于检测心脏生物标志物的POCT心脏损伤早期标志物传感器，包括电化学、磁学、荧光等多种原理。例如：

[0005] 专利文献1公开了一种用于心肌五项标志物检测的生物芯片、检测方法，包括生物传感器，为晶元平台以及晶元平台上包被的点样抗体，点样抗体能够与磁珠偶联抗体和标志物蛋白形成免疫复合物，通过测定生物传感器上复合物上磁阻信号强弱判断标志物蛋白浓度。

[0006] 专利文献2公开了一种心梗心衰磁微粒微流控生物芯片、检测方法，包括具有微流通道的PCB板，微流通道内设置有生物传感器，点样抗体能够与磁珠偶联抗

体和标志物蛋白形成免疫复合物，通过测定晶元平台上复合物磁阻信号强弱判断标志物蛋白浓度。

[0007] 专利文献3公开了一种心肌肌钙蛋白I的免标记电化学传感器制备方法及对cTnI的检测方法，通过现场制备具有电化学活性的物质与生物免疫反应相结合构建了新型的免标记型的传感器，将传感器与目标分子（心脏标志物cTnI）进行特异性反应，得到心脏标志物抗原-抗体结合层，从而引起电化学活性扰动，使输出的电化学信号产生规律性变化。

[0008] 专利文献4公开了一种二茂铁基共价有机框架修饰电极的制备方法及其电化学检测肌钙蛋白的方法，该发明专利申请提供一种选择性高、检测灵敏度较高的二茂铁基共价有机框架修饰电极的制备方法及其在电化学传感器上的应用。

[0009] 现有技术文献

[0010] 专利文献

[0011] 专利文献1：公开号为：CN 108845146 A，公开日期：2018年11月20日；

[0012] 专利文献2：公开号为：CN 108663525 A，公开日期：2018年10月16日；

[0013] 专利文献3：公开号为：CN 110161100 A，公开日期：2019年08月23日；

[0014] 专利文献4：公开号为：CN 110044987 A，公开日期：2019年07月23日。

发明概述

技术问题

[0015] 然而，以上基于电化学、磁学或荧光等原理的技术方案存在如下缺陷：

[0016] (1)、器件尺寸较大，且很难形成微型集成测试系统；(2)、磁阻或电化学检测原理的测试容易受到液体测试样品本身的介电性和磁学性质影响，导致最终的检测结果不准确。

问题的解决方案

技术解决方案

[0017] 本发明的目的之一在于提出一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的制备方法，以便制得能够进行心脏损伤早期标志物检测的传感器。

[0018] 本发明为了实现上述目的，采用如下技术方案：

[0019] 一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的制备方法，包括如下步骤：

- [0020] I. 制备压电薄膜传感器；
- [0021] II. 在压电薄膜传感器的上电极表面沉积氧化硅层；
- [0022] III. 在氧化硅层的表面制作微流道侧壁；
- [0023] IV. 在微流道侧壁的上表面设置玻璃盖板，形成微流道；
- [0024] V. 在微流道内氧化硅层的表面组装心脏损伤早期标志物抗体。
- [0025] 优选地，步骤I中，压电薄膜传感器包括横隔膜型压电薄膜传感器、具有声反射层的固体装配型压电薄膜传感器、或空气隙型结构压电薄膜传感器。
- [0026] 优选地，步骤II中，氧化硅层采用磁控溅射沉积的方法得到。
- [0027] 优选地，步骤III中，微流道侧壁选用SU8负胶、聚二甲基硅氧烷或聚酰亚胺材料，并采用普通光刻、软光刻或纳米压印方法制作而成；微流道侧壁的高度为1-5毫米。
- [0028] 优选地，步骤IV中，在设置玻璃盖板之前将玻璃盖板和微流道侧壁表面使用氧等粒子处理。
- [0029] 优选地，步骤V中，心脏损伤早期标志物抗体的组装过程如下：
- [0030] 首先在微流道中通入去离子水和乙醇清洗表面；
- [0031] 然后通入氨丙基三乙氧基硅烷的乙醇溶液，与氧化硅层的羟基相互作用形成氨基表面；
- [0032] 进一步通入戊二醛水溶液进行醛基改性；
- [0033] 再通入心脏损伤早期标志物抗体的磷酸盐缓冲液溶液，进行抗体的共价结合；
- [0034] 最后通入牛血清蛋白的磷酸盐缓冲液溶液阻断未结合的醛基。
- [0035] 优选地，步骤V中，在微流道内氧化硅层的表面组装的心脏损伤早期标志物抗体包括肌酸激酶MB同工酶、心肌肌钙蛋白、心型脂肪酸结合蛋白或B型尿钠肽抗体。
- [0036] 本发明的目的之二在于提出一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器，该传感器的尺寸较小，利用该传感器能够有效提高心脏损伤早期标志物浓度的检测精度。
- [0037] 本发明为了实现上述目的，采用如下技术方案：
- [0038] 一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器，其是通过上述传感器的制备方法

制得的。

[0039] 本发明的目的之三在于提出一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的检测方法，以便实现对心脏损伤早期标志物浓度的实时测量。

[0040] 本发明为了实现上述目的，采用如下技术方案：

[0041] 一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的检测方法，基于上面提到的传感器；

[0042] 该传感器的检测方法包括如下步骤：

[0043] s1. 在微流道中通入纯血清样品，测量压电薄膜谐振器的谐振频率；

[0044] 将谐振器处于稳定状态时的谐振频率作为测量的频率基线；

[0045] s2. 在微流道中依次通入含有不同浓度心脏损伤早期标志物的血清标准溶液，并持续测量压电薄膜谐振器在不同浓度心脏损伤早期标志物的血清标准溶液下的谐振频率；

[0046] 通过以上过程依次得到多个谐振频率随时间的变化曲线；

[0047] s3. 取各个变化曲线中谐振频率的稳定值，然后分别与频率基线进行比较，将频率移动值作为传感器的响应，得到该传感器对心脏损伤早期标志物的浓度校正曲线；

[0048] 其中，频率移动值=频率基线值-谐振频率的稳定值；

[0049] s4. 在微流道中通入待测血清样品；

[0050] s5. 持续测量压电薄膜谐振器的谐振频率，得到谐振频率随时间的变化曲线，取该变化曲线上的频率稳定值，并与频率基线比较，以频率移动值作为传感器响应；

[0051] s6. 对照步骤s3中的浓度校正曲线，获得传感器响应对应的心脏损伤早期标志物浓度。

[0052] 优选地，步骤s2中，在每次通入不同浓度心脏损伤早期标志物的血清标准溶液之后，均需要使用十二烷基硫酸钠恢复心脏损伤早期标志物抗体吸附后的传感器。

发明的有益效果

有益效果

[0053] 如上所述，本发明提出了一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的制备方法，通过该方法制得的传感器（由于压电薄膜谐振器尺寸较小，仅为毫米量级）尺寸较小，利于采用半导体工艺进行大规模及低成本制造，可集成于可穿戴电子设备或其他小型电子设备中。通过上述方法制得的传感器，基于质量敏感原理进行心脏损伤早期标志物检测，降低了液体样品本身的干扰，利于提高心脏损伤早期标志物检测的精度；此外，本发明还提出了一种基于上述方法制得的传感器的检测方法，利于实现对心脏损伤早期标志物的实时测量。

对附图的简要说明

附图说明

- [0054] 图1为本发明实施例1中用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的制备方法的流程图；
- [0055] 图2为本发明实施例1中压电薄膜传感器的结构示意图；
- [0056] 图3为本发明实施例1中用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的组装示意图；
- [0057] 图4为本发明实施例2中用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的结构示意图；
- [0058] 图5为本发明实施例3中用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的检测方法的流程图；
- [0059] 图6为本发明实施例3中用于心脏损伤早期标志物检测的传感器对纯血清和心脏损伤早期标志物心肌肌钙蛋白(cTnI)的血清标准溶液的频率-时间曲线图；
- [0060] 图7为本发明实施例3中对心肌肌钙蛋白(cTnI)的浓度校正曲线图。
- [0061] 图8为采用本发明实施例3中的检测方法与常规化学发光法进行测量对照的结果示意图。
- [0062] 其中，101-压电层，102-上电极，103-下电极，104-支撑层，105-硅衬底，106-氧化硅层，107-微流道侧壁，108-玻璃盖板；
- [0063] 109-心脏损伤早期标志物抗体，110-声反射层，111-空气隙，112-微流道。

发明实施例

本发明的实施方式

- [0064] 下面结合附图以及具体实施方式对本发明作进一步详细说明：
- [0065] 实施例1

[0066] 本实施例1述及了一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的制备方法。

[0067] 如图1所示，该传感器的制备方法包括如下步骤：

[0068] I. 制备压电薄膜传感器。

[0069] 本实施例1制得的压电薄膜传感器例如是横膈膜型压电薄膜传感器，如图2(a)所示。

[0070] 该传感器采用氮化铝薄膜为压电层101，c轴与垂直方向具有倾角24度，厚度为1微米。上电极102为金材料，下电极103为钨材料，厚度均为100纳米。

[0071] 支撑层104为氮化硅薄膜，厚度为800纳米。

[0072] 声波震荡区域下方的硅衬底105被完全刻蚀形成横膈膜结构。

[0073] 当然，本实施例1制得的压电薄膜传感器还可以是具有声反射层的固体装配型压电薄膜传感器，如图2(b)所示，或空气隙型结构压电薄膜传感器，如图2(c)所示。

[0074] 其中，图2(b)中，标记110表示声反射层，图2(c)中，标记111表示空气隙。

[0075] 下面以横膈膜型压电薄膜传感器为例具体说明本实施例1中传感器的制备过程。

[0076] II. 在制得的压电薄膜传感器（如图3(a)中示出了一种横膈膜型压电薄膜传感器）的上电极表面沉积氧化硅层106，如图3(b)所示。

[0077] 该氧化硅层106是采用磁控溅射沉积的方法得到的，沉积厚度为200纳米。

[0078] 氧化硅层106的作用是为组装敏感抗体提供羟基表面，同时隔离测试液体与电极。

[0079] III. 在氧化硅层106的表面制作微流道侧壁107，如图3(c)所示。由图3(c)可知，本实施例1制得的微流道侧壁107有两个，且均位于氧化硅层106的表面。

[0080] 微流道侧壁107优选采用聚二甲基硅氧烷（PDMS），采用普通光刻胶为模板，软光刻法制作而成。当然，微流道侧壁107还可以选用SU8负胶或聚酰亚胺（PI）材料等。

[0081] 微流道侧壁107的制作工艺例如还包括普通光刻或纳米压印方法等。

[0082] 微流道侧壁107的高度1-5毫米，例如可以取值为2毫米。

[0083] IV. 在微流道侧壁107的上表面设置玻璃盖板108，形成微流道，如图3(d)所示

。

[0084] 其中，在设置玻璃盖板108之前，需要将玻璃盖板和微流道侧壁表面使用氧等粒子处理，处理功率密度为1瓦/平方厘米，氧气的气氛压强为20Pa，处理时间10分钟。

[0085] 氧等粒子表面处理的作用在于，保证微流道侧壁107与玻璃盖板108之间的连接效果，保证微流道的使用可靠性，同时避免微流道中的溶液出现泄漏。

[0086] 本实施例1在压电薄膜传感器上设计微流道的作用在于：使得该方法制得的传感器，能够基于质量敏感原理对通入到微流道内的待测样品溶液进行实时的连续性测量，利于保证测量结果的精确性，同时利于更换溶液，实现样品的快速测量（不需要等干燥）。

[0087] V.

在微流道内氧化硅层106的表面组装心脏损伤早期标志物抗体109，如图3(e)所示。

[0088] 以心肌肌钙蛋白为例说明心脏损伤早期标志物抗体的组装过程，具体如下：

[0089] 首先在微流道112中通入去离子水和乙醇清洗表面。

[0090] 然后通入氨丙基三乙氧基硅烷（APTES）浓度2%的乙醇溶液并浸泡60分钟。由于APTES的硅烷基团与氧化硅层的羟基相互作用，形成氨基表面。

[0091] 进一步通入戊二醛5%的水溶液30分钟，对氨基表面进行醛基改性。

[0092] 再通入10微克/毫升的心肌肌钙蛋白（cTnI）的磷酸盐缓冲液（PBS）溶液2小时，进行抗体的共价结合。

[0093] 最后通入0.1%牛血清蛋白（BSA）的PBS溶液阻断未结合的醛基30分钟，使得非特异性结合效应最小化。通过以上过程，实现了心肌肌钙蛋白抗体的组装过程。

。

[0094] 组装肌酸激酶MB同工酶（CK-MB）、心型脂肪酸结合蛋白（h-FABP）、以及B型尿钠肽（BNP）等其他心脏损伤早期标志物抗体的方法与上述方法相同，此处不再赘述。

[0095] 通过本实施例1中制备方法能够制得用于心脏损伤早期标志物检测的传感器。

[0096] 由于本实施例1制得的传感器尺寸较小，因而利于采用半导体工艺进行大规模

及低成本制造，可集成于可穿戴电子设备或其他小型电子设备中。

[0097] 此外，本实施例1制得的传感器，基于质量敏感原理进行心脏损伤早期标志物检测，利于降低液体样品本身的干扰，从而提高心脏损伤早期标志物检测的精度。

[0098] 实施例2

[0099] 本实施例2述及了一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器，该传感器基于上述实施例1中用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的制备方法制得的。

[0100] 如图4所示，该传感器包括压电薄膜传感器、氧化硅层106、微流道侧壁107、玻璃盖板108以及心脏损伤早期标志物抗体109。

[0101] 其中，氧化硅层106位于压电薄膜传感器的上电极102表面。

[0102] 微流道侧壁107设置于氧化硅层106表面。

[0103] 玻璃盖板108覆盖于微流道侧壁107的上表面并与微流道侧壁107连接，形成微流道112。

[0104] 心脏损伤早期标志物抗体109组装于微流道内氧化硅层106的表面。

[0105] 本实施例2中的心脏损伤早期标志物抗体109包括肌酸激酶MB同工酶(CK-MB)、心肌肌钙蛋白(cTnI)、心型脂肪酸结合蛋白(h-FABP)或B型尿钠肽(BNP)等抗体。

[0106] 在实施例1中已对本实施例2中传感器的优点做了比较详细的描述，此处不再赘述。

[0107] 本实施例2还可以针对不同的传感器分别组装不同的敏感(即心脏损伤早期标志物)抗体，组成传感器阵列，能够同时对多种心脏损伤早期标志物进行联合检测。

[0108] 实施例3

[0109] 本实施例3述及了一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的检测方法，该检测方法基于上述实施例2中述及的用于心脏损伤早期标志物检测的传感器实现。

[0110] 下面以心肌肌钙蛋白为例说明心脏损伤早期标志物的检测过程。

[0111] 如图5所示，用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的检测方法，包括如下步

骤：

[0112] s1. 在微流道112中通入纯血清样品，测量压电薄膜谐振器的谐振频率。

[0113] 其中，微流道112的进口和出口分别使用注射针头进行液体样品的输入和输出，并通过注射泵、流动泵注入液体样品，使用网络分析仪或频率测量电路测量谐振器频率。

[0114] 由于质量和阻尼负载，通入液体（此处是指上面提到的纯血清样品）后，薄膜传感器的谐振器频率有明显下降，应取稳定状态的谐振频率为频率基线，如图6所示。

[0115] s2. 在微流道112中依次通入含有不同浓度心肌肌钙蛋白（cTnI）的血清标准溶液，由于抗体和抗原发生反应，因此，谐振器的谐振频率会逐渐下降并稳定，如图6所示。

[0116] 持续测量谐振器在不同浓度心脏损伤早期标志物的血清标准溶液下的谐振频率。

[0117] 由于每次通入一定浓度的心肌肌钙蛋白（cTnI）的血清标准溶液，均会得到一组频率随时间的变化曲线，因此通过以上过程能够依次得到多个谐振频率随时间的变化曲线。

[0118] 在图6中示出的心肌肌钙蛋白（cTnI）的血清标准溶液浓度为0.1ng/ml。

[0119] 在每次通入不同浓度心肌肌钙蛋白（cTnI）的血清标准溶液之后，均需要使用1%的十二烷基硫酸钠（SDS）恢复心脏损伤早期标志物抗体吸附后的传感器，使传感器可重复使用。

[0120] 当然，本实施例3也并不局限于使用SDS，还可以采用其他与SDS有相同或相近功能的液体恢复心脏损伤早期标志物抗体吸附后的传感器，使传感器可重复使用。

[0121] s3. 取各个变化曲线中谐振频率的稳定值，然后分别与频率基线比较，将频率移动值作为传感器的响应，得到该传感器对心脏损伤早期标志物的浓度校正曲线，如图7所示。

[0122] 其中，方块表示实际测试获得的数据点（方块上下的线表示为5次测量的标准差），虚线表示对测试结果的线性拟合。由图7可知，在对数坐标系下，心肌肌

钙蛋白（cTnI）的浓度与其频率移动值呈近似线性关系。其中，频率移动值=频率基线值-谐振频率的稳定值。

[0123] s4. 在微流道中通入待测血清样品。

[0124] 本实施例3中的待测血清样品为通过标准采血过程获得的人血样本。

[0125] s5. 持续测量压电薄膜谐振器的谐振频率，得到谐振频率随时间的变化曲线，取该变化曲线上的频率稳定值，并与频率基线比较，以频率移动值作为传感器响应。

[0126] s6.

对照步骤s3中的浓度校正曲线，获得传感器响应对应的心肌肌钙蛋白（cTnI）浓度。

[0127] 以上过程为心肌肌钙蛋白（cTnI）浓度的检测方法。

[0128] 对于肌酸激酶MB同工酶（CK-MB）、心型脂肪酸结合蛋白（h-FABP）、以及B型尿钠肽（BNP）等其他心脏损伤早期标志物的检测过程与上述方法相同，此处不再赘述。

[0129] 本实施例3利于实现对心脏损伤早期标志物的实时动态检测，且检测结果精确可靠，具体原理分析如下：测试中流动的液体能够将没有结合在传感器表面抗体的物质冲走，从而降低传感器表面的非特异性吸附，从而提高准确性。另外，微流道具有固定的通道和腔体体积，从而能够精确控制进入传感器敏感区的样品体积，使测试的可靠性和重复性提高。

[0130] 由于压电薄膜谐振器采用硅半导体工艺制造，可以集成于微型集成测试系统中，流动液体动态测量能够实现与其他组件（如血液分离、离心等）的连续性、自动化测量，并且一次测量完成后，可通入新的液体（例如SDS）清除表面后，实现多次自动化反复测量。

[0131] 此外，本实施例3还对采用本发明方法进行检测结果与常规化学发光法结果进行了对照，对照结果如图8所示。其中，方块表示实际测试获得的数据点的检测结果，虚线表示对测试结果的线性拟合的结果。通过将本发明方法检测的结果与常规化学发光法得到的结果进行对照，结果呈现一致性，表明本发明实施例3中的检测方法的检测准确性较好。

[0132] 当然，以上说明仅仅为本发明的较佳实施例，本发明并不限于列举上述实施例，应当说明的是，任何熟悉本领域的技术人员在本说明书的教导下，所做出的所有等同替代、明显变形形式，均落在本说明书的实质范围之内，理应受到本发明的保护。

权利要求书

- [权利要求 1] 一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的制备方法，其特征在于，
，
包括如下步骤：
I. 制备压电薄膜传感器；
II. 在所述压电薄膜传感器的上电极表面沉积氧化硅层；
III. 在所述氧化硅层的表面制作微流道侧壁；
IV. 在所述微流道侧壁的上表面设置玻璃盖板，形成微流道；
V. 在所述微流道内氧化硅层的表面组装心脏损伤早期标志物抗体。
- [权利要求 2] 根据权利要求1所述的传感器的制备方法，其特征在于，
所述步骤I中，压电薄膜传感器包括横膈膜型压电薄膜传感器、具有声反射层的固体装配型压电薄膜传感器、或空气隙型结构压电薄膜传感器。
- [权利要求 3] 根据权利要求1所述的传感器的制备方法，其特征在于，
所述步骤II中，氧化硅层采用磁控溅射沉积的方法得到。
- [权利要求 4] 根据权利要求1所述的传感器的制备方法，其特征在于，
所述步骤III中，微流道侧壁选用SU8负胶、聚二甲基硅氧烷或聚酰亚胺材料，并采用普通光刻、软光刻或纳米压印方法制作而成；微流道侧壁的高度为1-5毫米。
- [权利要求 5] 根据权利要求1所述的传感器的制备方法，其特征在于，
所述步骤IV中，在设置玻璃盖板之前，将玻璃盖板和微流道侧壁表面使用氧等离子处理。
- [权利要求 6] 根据权利要求1所述的传感器的制备方法，其特征在于，
所述步骤V中，心脏损伤早期标志物抗体的组装过程如下：
首先在所述微流道中通入去离子水和乙醇清洗表面；
然后通入氨丙基三乙氧基硅烷的乙醇溶液，与氧化硅层的羟基相互作用形成氨基表面；
进一步通入戊二醛水溶液进行醛基改性；

再通入心脏损伤早期标志物抗体的磷酸盐缓冲液溶液，进行抗体的共价结合；

最后通入牛血清蛋白的磷酸盐缓冲液溶液阻断未结合的醛基。

[权利要求 7] 根据权利要求1所述的传感器的制备方法，其特征在于，
所述步骤V中，在微流道内氧化硅层的表面组装的心脏损伤早期标志物抗体包括肌酸激酶MB同工酶、心肌肌钙蛋白、心型脂肪酸结合蛋白或B型尿钠肽抗体。

[权利要求 8] 一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器，其特征在于，
所述传感器是采用上述权利要求1至7中任一项所述的传感器的制备方法制得的。

[权利要求 9] 一种用于心脏损伤早期标志物检测的传感器的检测方法，基于上述权利要求8所述的用于心脏损伤早期标志物检测的传感器，其特征在于，
，

所述传感器的检测方法包括如下步骤：

s1. 在所述微流道中通入纯血清样品，测量压电薄膜谐振器的谐振频率；

将谐振器处于稳定状态时的谐振频率作为测量的频率基线；

s2. 在微流道中依次通入含有不同浓度心脏损伤早期标志物的血清标准溶液，并持续测量压电薄膜谐振器在不同浓度心脏损伤早期标志物的血清标准溶液下的谐振频率；

通过以上过程依次得到多个谐振频率随时间的变化曲线；

s3. 取各个变化曲线中谐振频率的稳定值，然后分别与频率基线进行比较，将频率移动值作为传感器的响应，得到该传感器对心脏损伤早期标志物的浓度校正曲线；

其中，频率移动值=频率基线值-谐振频率的稳定值；

s4. 在微流道中通入待测血清样品；

s5. 持续测量压电薄膜谐振器的谐振频率，得到谐振频率随时间的变化曲线，取该变化曲线上的频率稳定值，并与频率基线比较，以频率

移动值作为传感器响应；

s6. 对照步骤s3中的浓度校正曲线，获得传感器响应对应的的心脏损伤早期标志物浓度。

[权利要求 10] 根据权利要求9所述的传感器的检测方法，其特征在于，
所述步骤s2中，在每次通入不同浓度心脏损伤早期标志物的血清标准溶液之后，均需要使用十二烷基硫酸钠恢复心脏损伤早期标志物抗体吸附后的传感器。

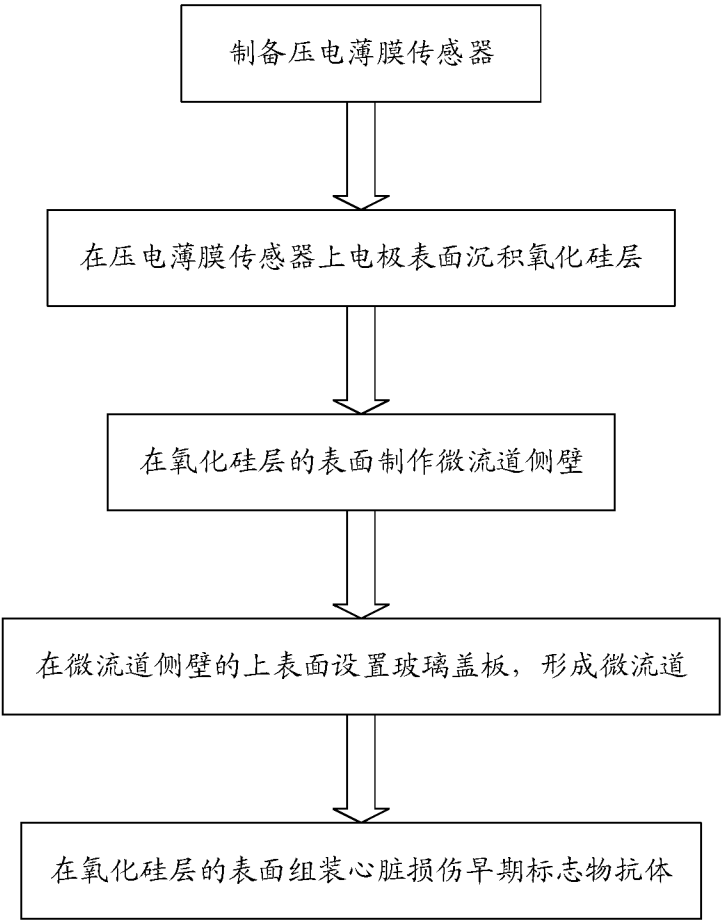
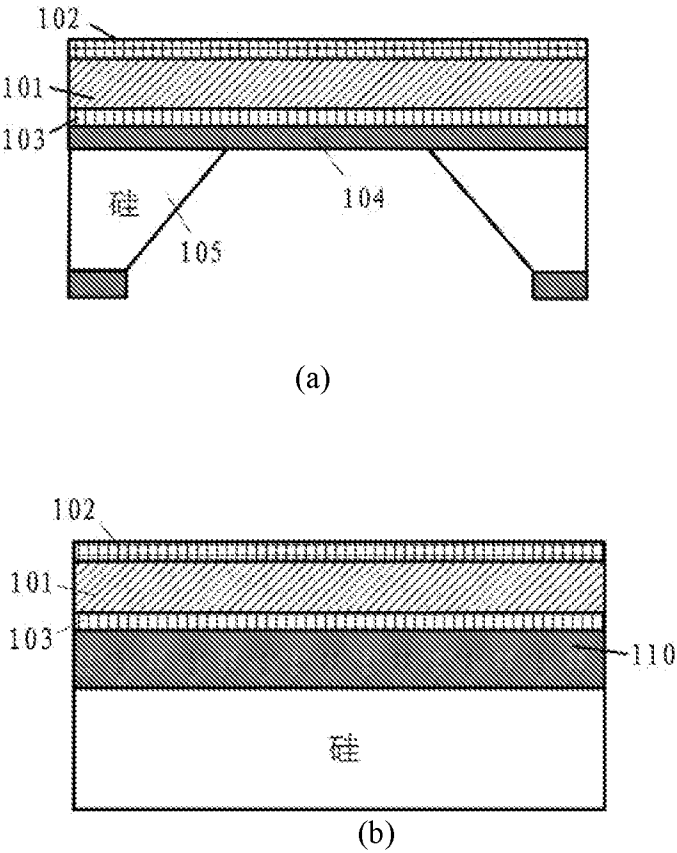
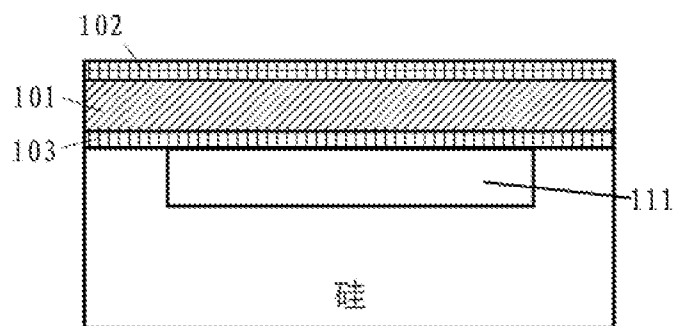


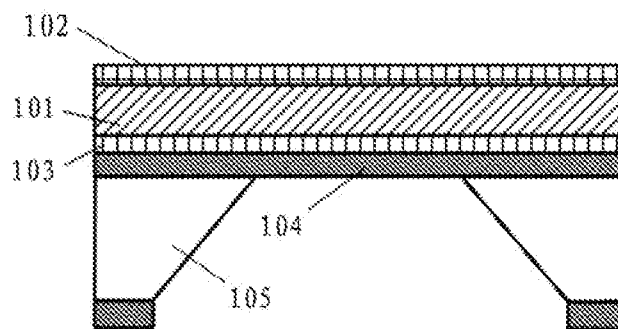
图 1



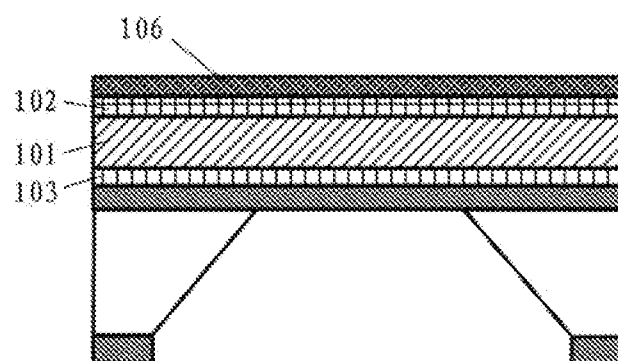


(c)

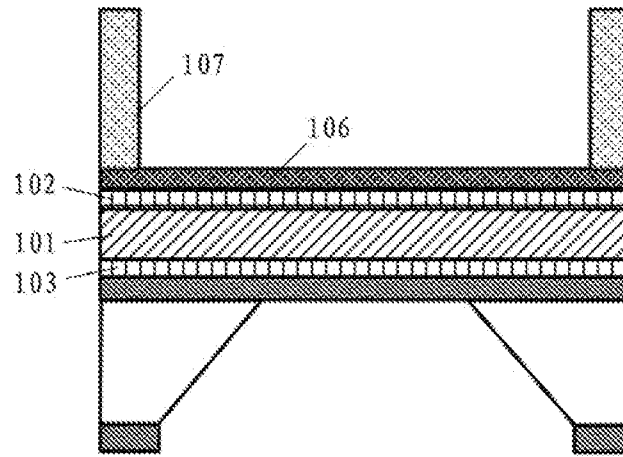
图 2



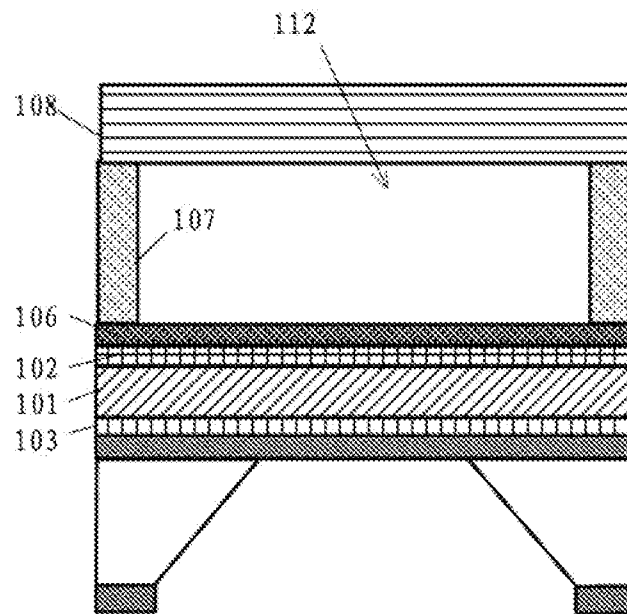
(a)



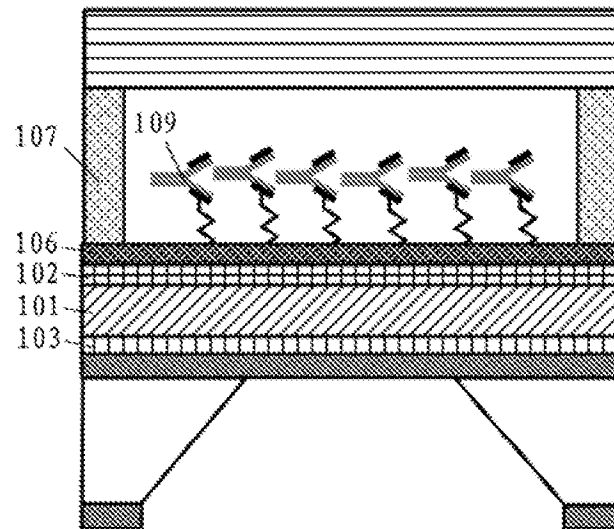
(b)



(c)



(d)



(e)

图 3

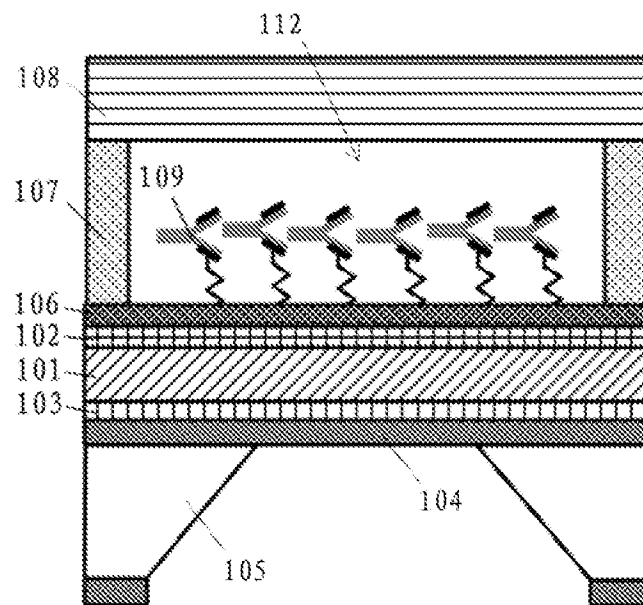


图 4

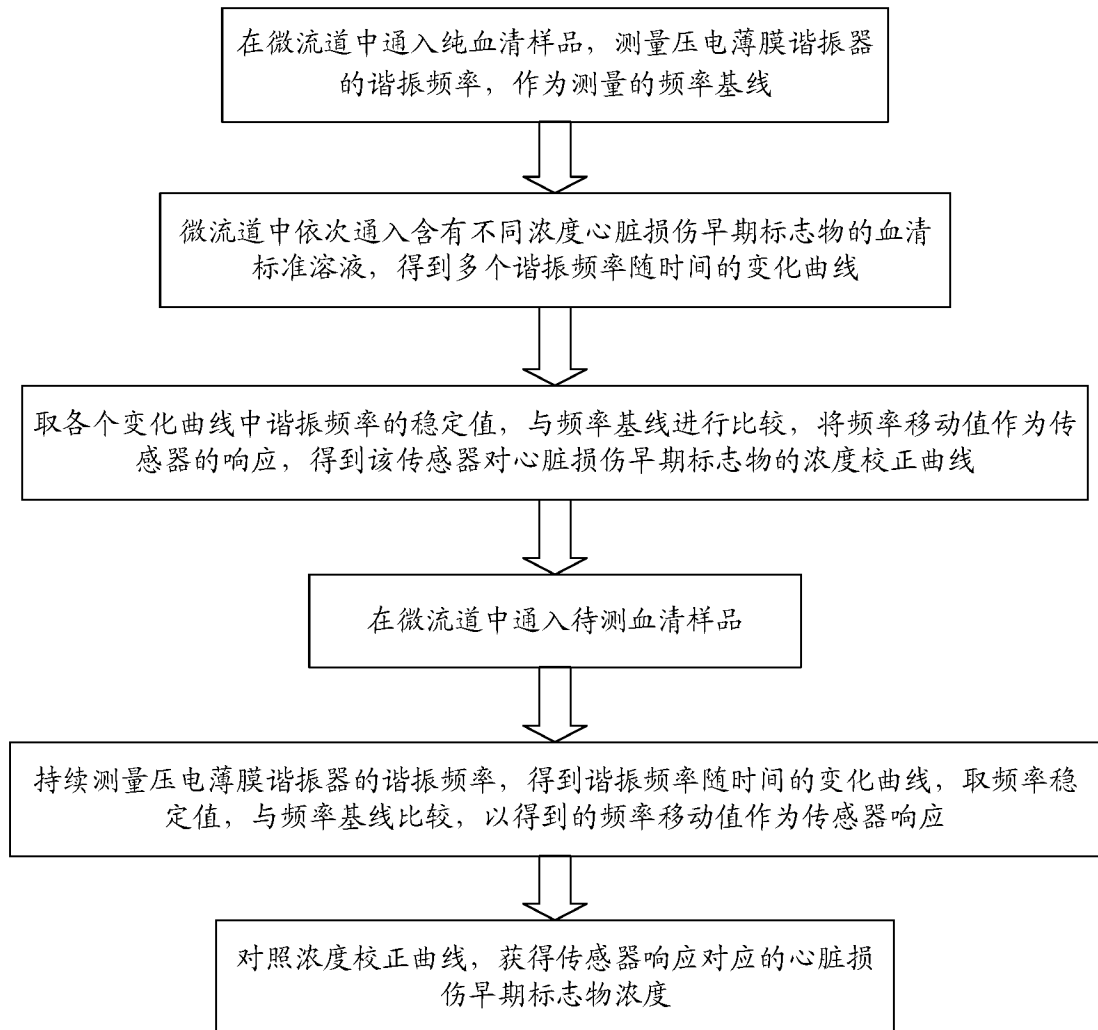


图 5

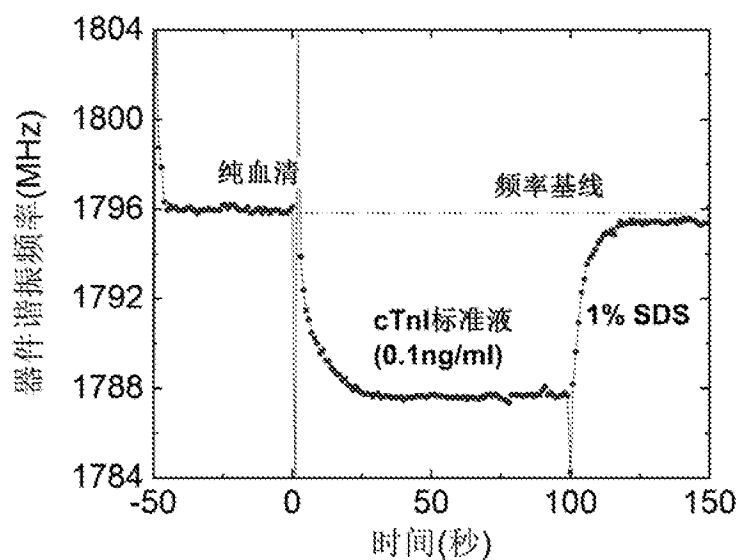


图 6

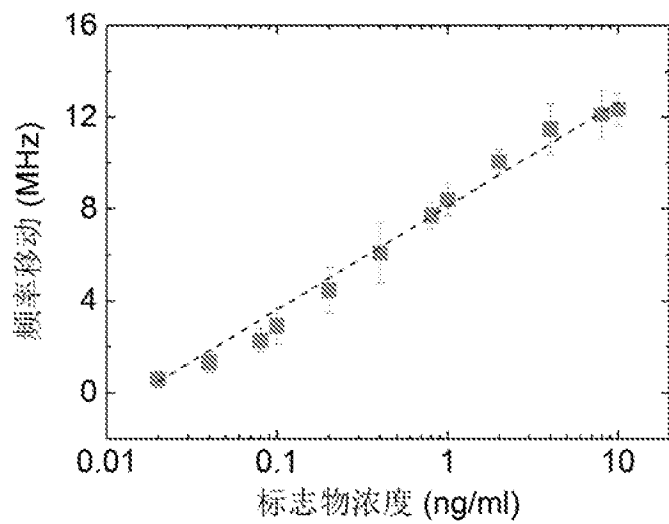


图 7

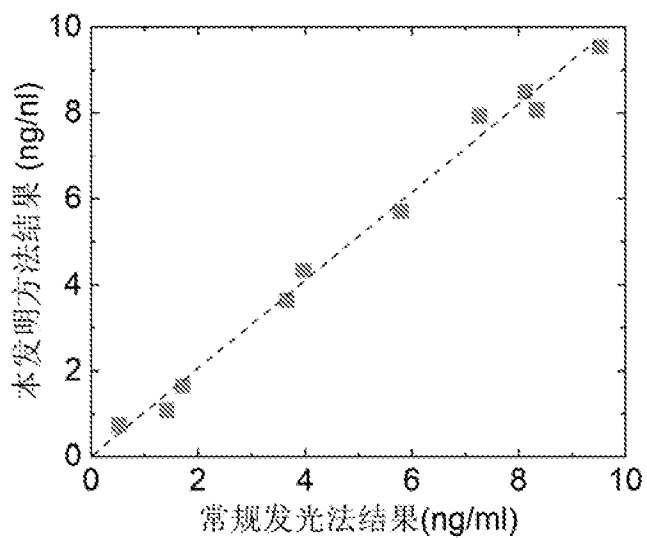


图 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/087123

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 29/036(2006.01)i; G01N 29/22(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS; CNTXT; VEN: 压电, 微流道, 标志物, 抗体, 氧化硅, 声反射, 传感器, piezoelectric, microchannel, sensor, detector, silicon oxide, antibody

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 108474764 A (QORVO US, INC.) 31 August 2018 (2018-08-31) description, paragraphs [0050]-[0064], and figures 1-6	1-8
Y	CN 108474764 A (QORVO US, INC.) 31 August 2018 (2018-08-31) description, paragraphs [0050]-[0064], and figures 1-6	9-10
Y	CN 107727845 A (SUZHOU INSTITUTE OF BIOMEDICAL ENGINEERING AND TECHNOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 23 February 2018 (2018-02-23) description, paragraphs [0089]-[0141], and figures 1-4	9-10
X	US 10352904 B2 (QORVO US INC.) 16 July 2019 (2019-07-16) description, columns 10-22, figures 1-18	1-8
Y	US 10352904 B2 (QORVO US INC.) 16 July 2019 (2019-07-16) description, columns 10-22, figures 1-18	9-10
X	CN 109073601 A (QORVO US, INC.) 21 December 2018 (2018-12-21) description, paragraphs [0066]-[0108], and figures 1-13	1-8
Y	CN 109073601 A (QORVO US, INC.) 21 December 2018 (2018-12-21) description, paragraphs [0066]-[0108], and figures 1-13	9-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 December 2020

Date of mailing of the international search report

28 December 2020

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/087123**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 102628802 A (WANG, Libing et al.) 08 August 2012 (2012-08-08) description, paragraph [0008]	9-10
A	CN 110161100 A (MINNAN NORMAL UNIVERSITY) 23 August 2019 (2019-08-23) entire document	1-10
A	CN 104977353 A (TEXAS INSTRUMENTS INC.) 14 October 2015 (2015-10-14) entire document	1-10
A	CN 102435747 A (NANCHANG RESEARCH INSTITUTE, SUZHOU INSTITUTE OF NANO-TECH AND NANO-BIONICS(SINANO), CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 02 May 2012 (2012-05-02) entire document	1-10
A	CN 1894583 A (INTEL CORPORATION) 10 January 2007 (2007-01-10) entire document	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/087123

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	108474764	A	31 August 2018	US	10302595	B2	28 May 2019
				EP	3371583	A1	12 September 2018
				JP	2018533310	A	08 November 2018
				WO	2017078992	A1	11 May 2017
				US	2017134001	A1	11 May 2017
CN	107727845	A	23 February 2018	CN	107727845	B	10 September 2019
				WO	2019061795	A1	04 April 2019
US	10352904	B2	16 July 2019	US	2017117871	A1	27 April 2017
CN	109073601	A	21 December 2018	US	10578614	B2	03 March 2020
				WO	2017156127	A1	14 September 2017
				US	2017261503	A1	14 September 2017
				EP	3427043	A1	16 January 2019
				JP	2019509488	A	04 April 2019
CN	102628802	A	08 August 2012	CN	102628802	B	18 December 2013
CN	110161100	A	23 August 2019	None			
CN	104977353	A	14 October 2015	US	2015293060	A1	15 October 2015
				US	9910015	B2	06 March 2018
CN	102435747	A	02 May 2012	None			
CN	1894583	A	10 January 2007	US	2006133953	A1	22 June 2006
				US	7914740	B2	29 March 2011
				US	8940234	B2	27 January 2015
				US	9267944	B2	23 February 2016
				US	2006133952	A1	22 June 2006
				TW	200523546	A	16 July 2005
				US	2005148065	A1	07 July 2005
				HK	1093553	A1	28 December 2012
				US	2015125965	A1	07 May 2015
				CN	1894583	B	02 April 2014
				US	7871569	B2	18 January 2011
				CN	102830161	A	19 December 2012
				EP	1700125	B1	11 April 2012
				US	2012196384	A1	02 August 2012
				CN	102830161	B	14 December 2016
				US	2011086438	A1	14 April 2011
				TW	1285267	B	11 August 2007
				US	8173436	B2	08 May 2012
				AT	553380	T	15 April 2012
				WO	2005066635	A1	21 July 2005
				EP	1700125	A1	13 September 2006

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/087123

A. 主题的分类 G01N 29/036(2006.01)i; G01N 29/22(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) G01N 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS;CNTXT;VEN:压电, 微流道, 标志物, 抗体, 氧化硅, 声反射, 传感器, piezoelectric, microchannel, sensor, detector, silicon oxide, antibody		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 108474764 A (QORVO美国公司) 2018年 8月 31日 (2018 - 08 - 31) 说明书[0050]-[0064]段, 图1-6	1-8
Y	CN 108474764 A (QORVO美国公司) 2018年 8月 31日 (2018 - 08 - 31) 说明书[0050]-[0064]段, 图1-6	9-10
Y	CN 107727845 A (中国科学院苏州生物医学工程技术研究所) 2018年 2月 23日 (2018 - 02 - 23) 说明书[0089]-[0141]段, 图1-4	9-10
X	US 10352904 B2 (QORVO US INC) 2019年 7月 16日 (2019 - 07 - 16) 说明书第10-22栏, 图1-18	1-8
Y	US 10352904 B2 (QORVO US INC) 2019年 7月 16日 (2019 - 07 - 16) 说明书第10-22栏, 图1-18	9-10
X	CN 109073601 A (QORVO美国公司) 2018年 12月 21日 (2018 - 12 - 21) 说明书[0066]-[0108]段, 图1-13	1-8
Y	CN 109073601 A (QORVO美国公司) 2018年 12月 21日 (2018 - 12 - 21) 说明书[0066]-[0108]段, 图1-13	9-10
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期 2020年 12月 17日		国际检索报告邮寄日期 2020年 12月 28日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 刘梅 电话号码 (86-10)62084122

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 102628802 A (王利兵等) 2012年 8月 8日 (2012 - 08 - 08) 说明书[0008]段	9-10
A	CN 110161100 A (闽南师范大学) 2019年 8月 23日 (2019 - 08 - 23) 全文	1-10
A	CN 104977353 A (德克萨斯仪器股份有限公司) 2015年 10月 14日 (2015 - 10 - 14) 全文	1-10
A	CN 102435747 A (中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所) 2012年 5月 2日 (2012 - 05 - 02) 全文	1-10
A	CN 1894583 A (英特尔公司) 2007年 1月 10日 (2007 - 01 - 10) 全文	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/087123

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	108474764	A	2018年 8月 31日	US	10302595	B2	2019年 5月 28日
				EP	3371583	A1	2018年 9月 12日
				JP	2018533310	A	2018年 11月 8日
				WO	2017078992	A1	2017年 5月 11日
				US	2017134001	A1	2017年 5月 11日
CN	107727845	A	2018年 2月 23日	CN	107727845	B	2019年 9月 10日
				WO	2019061795	A1	2019年 4月 4日
US	10352904	B2	2019年 7月 16日	US	2017117871	A1	2017年 4月 27日
CN	109073601	A	2018年 12月 21日	US	10578614	B2	2020年 3月 3日
				WO	2017156127	A1	2017年 9月 14日
				US	2017261503	A1	2017年 9月 14日
				EP	3427043	A1	2019年 1月 16日
				JP	2019509488	A	2019年 4月 4日
CN	102628802	A	2012年 8月 8日	CN	102628802	B	2013年 12月 18日
CN	110161100	A	2019年 8月 23日	无			
CN	104977353	A	2015年 10月 14日	US	2015293060	A1	2015年 10月 15日
				US	9910015	B2	2018年 3月 6日
CN	102435747	A	2012年 5月 2日	无			
CN	1894583	A	2007年 1月 10日	US	2006133953	A1	2006年 6月 22日
				US	7914740	B2	2011年 3月 29日
				US	8940234	B2	2015年 1月 27日
				US	9267944	B2	2016年 2月 23日
				US	2006133952	A1	2006年 6月 22日
				TW	200523546	A	2005年 7月 16日
				US	2005148065	A1	2005年 7月 7日
				HK	1093553	A1	2012年 12月 28日
				US	2015125965	A1	2015年 5月 7日
				CN	1894583	B	2014年 4月 2日
				US	7871569	B2	2011年 1月 18日
				CN	102830161	A	2012年 12月 19日
				EP	1700125	B1	2012年 4月 11日
				US	2012196384	A1	2012年 8月 2日
				CN	102830161	B	2016年 12月 14日
				US	2011086438	A1	2011年 4月 14日
				TW	1285267	B	2007年 8月 11日
				US	8173436	B2	2012年 5月 8日
				AT	553380	T	2012年 4月 15日
				WO	2005066635	A1	2005年 7月 21日
				EP	1700125	A1	2006年 9月 13日