



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111715313 B

(45) 授权公告日 2022. 03. 11

(21) 申请号	202010601786.8	G01N 35/00 (2006.01)
(22) 申请日	2020.06.28	(56) 对比文件
(65) 同一申请的已公布的文献号		CN 108686721 A, 2018.10.23
申请公布号	CN 111715313 A	CN 108704677 A, 2018.10.26
(43) 申请公布日	2020.09.29	CN 209549518 U, 2019.10.29
(73) 专利权人	上海艾瑞德生物科技有限公司	审查员 贾向碧
地址	201114 上海市闵行区新骏环路188号 5号楼301室	
(72) 发明人	孔梦奇 丁磊 郭灵霞 于坤宏 樊菲 吴筱杰	
(74) 专利代理机构	上海一平知识产权代理有限公司	
	31266	
代理人	徐迅 马莉华	
(51) Int. Cl.	B01L 3/00 (2006.01)	权利要求书3页 说明书12页 附图7页

(54) 发明名称
集成侧向流层析技术的微流控芯片

(57) 摘要
本发明提供了集成侧向流层析的微流控芯片。具体地,本发明提供了一种检测芯片,该检测芯片包括:储液模块(1);微阀模块(2);释放模块(4);检测模块(5);以及任选的(e)混匀模块(6)。

1. 一种检测芯片,其特征在于,

所述检测芯片用于检测蛋白类目标物质;并且

所述的检测芯片包括:

(a) 储液模块(1);所述储液模块包括:储液腔和接入口;且所述的接入口与所述储液腔内部是流体连通的;

(b) 微阀模块(2);其中,所述的微阀模块具有第一状态和第二状态;当所述微阀模块处于第一状态时,流体被所述的微阀模块阻断;当所述的微阀模块处于第二状态时,流体能够通过所述的微阀模块;

(c) 释放模块(4),所述释放模块设置有能够与待测样本中可能存在的标志物特异性结合的标记物;并且

所述释放模块(4)包括:

释放腔室,所述释放腔室内填充有能够释放所述标记物的材料;

释放腔室入口,所述释放腔室入口设置于所述释放腔室上游侧并且与所述释放腔室内部流体连通;和

释放腔室出口(401),所述释放腔室出口(401)设置于所述释放腔室下游侧并且与所述释放腔室内部流体连通;

(d) 检测模块(5);所述检测模块包括:检测入口、检测通道、设置于所述检测通道的侧向流结构,和用于观察和/或读取检测结果的检测窗口(505);其中,所述侧向流结构包括纤维膜和吸水垫(503),且所述纤维膜上设置有检测线(501)和质控线(502);以及

任选的(e)混匀模块(6),所述混匀模块位于微阀模块的下游,且所述混匀模块包括:混匀腔室(601)和加样入口(602);其中所述混匀腔室的内部填充有玻璃纤维,所述加样入口与所述混匀腔室的内部连通;以及

所述的检测芯片还包括:(f)滤血模块(3);所述滤血模块用于过滤样本,且所述滤血模块位于释放模块(4)上游;并且,

所述滤血模块包括:

滤血腔室(305),所述滤血腔室由上部腔室(3051)和下部腔室(3052)组成;并且所述滤血腔室的下部腔室设置用于过滤待测样本的滤血材料(302);

滤血入口(301),所述滤血入口与所述上部腔室流体连通;和

滤血出口(303),所述滤血出口设置于所述下部腔室的侧面并与所述下部腔室流体连通;

所述下部腔室的横截面积由下部腔室的上游侧向下游侧逐渐减小并且所述下部腔室(3052)为扁平状腔室;

所述上部腔室(3051)的横截面积<所述下部腔室(3052)横截面积;

并且,所述储液模块、微阀模块、任选的混匀模块、滤血模块、释放模块、检测模块沿待测样本流动方向依次设置;

所述释放腔室出口(401)与所述检测入口(504)之间的流动距离为15~30mm。

2. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,所述检测线与纤维膜的上游侧边缘的距离为5~11mm;和/或所述检测线(501)和质控线(502)之间的间距为3~7mm。

3. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,所述微阀模块包括微阀结构;其中所述微阀结构 为转动式微阀结构或按压式微阀结构。

4. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,所述用于过滤血液的材料充满所述下部腔室(3052)。

5. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,待测样本通过滤血入口进入上部腔室(3051),进而从设置于下部腔室(3052)的滤血材料上方流入滤血材料,再从所述滤血材料的侧面通过设于下部腔室侧边的滤血出口流出。

6. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,所述滤血材料为玻纤材料。

7. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,所述滤血材料选自下组:玻璃纤维、聚乙烯醇、棉纤,或其组合。

8. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,所述检测线与纤维膜的上游侧边缘的距离为7~9mm;和/或所述检测线(501)和质控线(502)之间的间距为4~6mm。

9. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,所述的下部腔室(3052)高1mm~1.5mm,和所述下部腔室的横截面积为 $60\text{mm}^2 \sim 80\text{mm}^2$ 。

10. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,所述上部腔室(3051)高1 mm~1.5mm。

11. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,所述蛋白类目标物质包括抗体、或抗原。

12. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,所述下部腔室(3052)的横截面为或基本为梯形。

13. 如权利要求12所述的检测芯片,其特征在于,所述上部腔室的横截面积为所述下部腔室横截面积的50~90%。

14. 如权利要求13所述的检测芯片,其特征在于,对于下部腔室(3052)的横截面,梯形的较长底边的边长为 $L_{\text{底1}}$ 且较短底边的边长为 $L_{\text{底2}}$;其中, $L_{\text{底1}}=9 \sim 11\text{mm}$, $L_{\text{底2}}=3 \sim 5\text{mm}$ 。

15. 如权利要求14所述的检测芯片,其特征在于, $L_{\text{底1}}/L_{\text{底2}}=2 \sim 3$ 。

16. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,所述检测线与纤维膜的上游侧边缘的距离为 $8 \pm 0.5\text{mm}$;和/或所述检测线(501)和质控线(502)之间的间距为 $5 \pm 0.5\text{mm}$ 。

17. 如权利要求1所述的检测芯片,其特征在于,所述释放腔室出口(401)与所述检测入口(504)之间的流动距离为15~20mm。

18. 一种检测系统,其特征在于,所述检测系统包括如权利要求1所述的检测芯片。

19. 一种检测方法,包括步骤:

1) 提供如权利要求1所述的检测芯片,其中所述储液腔包含稀释液并且微阀模块处于第一状态;

2) 通过储液模块的接入口注入待测样本并手动吹打;或者通过混匀模块的加样入口加入待测样本;

3) 将驱动机构与储液模块的接入口连接;

4) 使微阀模块由第一状态变为第二状态,并调节所述驱动机构使流速为 v_1 ;

5) 经过2.5min~3min后或者待测样本到达释放模块时,调节所述驱动机构使流速为 v_2 ;

6) 经过1.3min~1.6min后或者待测样本到达纤维膜时,调节所述驱动机构使流速为 v_3 ;和

7) 经过5min~6min后或者待测样本通过纤维膜到达吸收垫端后用检测仪器通过检测

窗口读取检测模块的纤维膜的信号值；

其中， $v_3 < v_2 < v_1$ 。

集成侧向流层析技术的微流控芯片

技术领域

[0001] 本发明属于检测领域,具体涉及一种集成侧向流层析技术的微流控芯片检测技术。

背景技术

[0002] 从全球市场规模来看,近年来全球体外诊断市场保持平稳发展态势。2016全球体外诊断市场规模达到了605亿美元,预计2016年到2024年,将以4%的年度复合增长率平稳增长,到2021年预计可以达到725亿美元。全球较高的人口基数,加上传染病的高发、多发、不断增加的慢性病人数和技术的不断进步,成为了体外诊断市场发展的主要驱动力。

[0003] 目前国内体外诊断市场主要分为:生化分析、免疫诊断、分子诊断、微生物及药敏分析系统以及血液学检测等五类。其中免疫诊断是我国规模最大的体外诊断子行业并仍处于快速发展之中,目前来看,侧向流层析和化学发光仍是免疫诊断中最常见的两种技术平台。侧向流层析因其使用方便,检测速度快,高通量仪器小巧等优势在特定的使用环境下受到青睐,例如医院急诊等,但其检测性能相较于化学发光而言,仍处于劣势。化学发光由于其卓越性能(灵敏度高,速度快,重复性好且能实现自动化)在免疫诊断应用中处于技术领先地位,但由于其检测成本高,且对检测仪器要求较高,也一直限制了它的应用范围。

[0004] 微流控作为一种近年来涌现出的新检测技术,是指把生物、化学、医学分析过程的样品制备、分离、反应、检测等基本单元集成在一块小型的芯片上,自动完成全过程分析的一种技术。微阀是微流控芯片中用于控制流体运动最重要的功能单元之一,其作用是实现通道的导通及隔断进而控制流体在通道中的流动时间及方向。集成微阀结构,能够精确地控制芯片中样本的初始位置,实现芯片中储存试剂的功能以及控制试剂的先后加入顺序。由于其具有控制精确、操作简单、检测时间短、自动化和便携式等特点,近年来广泛地应用于生化分析、疾病诊断以及人体健康检测等领域。但是在蛋白检测中,如何有效地将抗体固定在材料表面,一直制约着微流控技术在蛋白检测领域的发展。

[0005] 另一方面,侧向层析技术虽然具有操作简单以及反应速度快等优点,但侧流层析技术检测精确度和灵敏度不足,无法满足检测的需要。

[0006] 综上所述,本领域迫切需要一种检测成本更低、对检测仪器要求低、易于控制、精确度和灵敏度更高的新的检测方法或装置。

发明内容

[0007] 本发明的目的就是提供一种检测成本更低、对检测仪器要求低、易于控制、精确度和灵敏度更高的新的检测方法或装置。

[0008] 在本发明的第一方面,提供了一种检测芯片,所述的检测芯片包括:

[0009] (a) 储液模块(1);所述储液模块包括:储液腔和接入口;且所述的接入口与所述的储液腔内部是流体连通的;

[0010] (b) 微阀模块(2);其中,所述的微阀模块具有第一状态和第二状态;当所述的微阀

模块处于第一状态时,流体被所述的微阀模块阻断;当所述微阀模块处于第二状态时,流体能够通过所述的微阀模块;

[0011] (c) 释放模块(4),所述释放模块设置有能够与待测样本中可能存在的标志物结合(较佳地特异性结合)的标记物;

[0012] (d) 检测模块(5);所述检测模块包括:检测入口、检测通道、设置于所述检测通道的侧向流结构,和用于观察和/或读取检测结果的检测窗口(505);其中,所述侧向流结构包括纤维膜和吸水垫(503),且所述纤维膜上设置有检测线(501)和质控线(502);以及,

[0013] 任选的(e)混匀模块(6),所述混匀模块位于微阀模块的下游,且所述混匀模块包括:混匀腔室(601)和加样入口(602);其中所述混匀腔室的内部填充有玻璃纤维,所述加样入口与所述混匀腔室的内部连通;

[0014] 并且,所述储液模块、微阀模块、任选的混匀模块、释放模块、检测模块沿待测样本流动方向依次设置。

[0015] 在另一优选例中,所述的侧向流结构还包括设置于纤维膜下游端的吸收垫(503)。

[0016] 在另一优选例中,所述检测窗口(505)位于所述纤维膜的上方并可通过该检测窗口读取或观察纤维膜上检测线(501)和质控线(502)所捕获的标记物的量。

[0017] 在另一优选例中,所述待测样本是经处理(如稀释和/或过滤)的或未经处理的。

[0018] 在另一优选例中,所述待测样本是未经过滤和稀释处理的。

[0019] 在另一优选例中,所述的检测芯片是用于检测蛋白(较佳地,抗体或抗原)的检测芯片。

[0020] 在另一优选例中,所述标记物为标记了第一抗体的信号物质。

[0021] 在另一优选例中,所述的信号物质选自下组:荧光微球、量子点、荧光素、上转化材料,或其组合。

[0022] 在另一优选例中,所述信号物质为荧光微球或胶体金。

[0023] 在另一优选例中,所述第一抗体为能够与待测样本中可能存在的标志物结合(较佳地特异性结合)的抗体。

[0024] 在另一优选例中,所述芯片还包括连接各个模块的微通道。

[0025] 在另一优选例中,当微阀模块处于第二状态时,各个模块是流体连通的。

[0026] 在另一优选例中,所述释放模块(4)包括:

[0027] 释放腔室,所述释放腔室内填充有负载有所述标记物的纤维材料;

[0028] 释放腔室入口,所述释放腔室入口设置于所述释放腔室上游侧并且与所述释放腔室内部流体连通;和

[0029] 释放腔室出口,所述释放腔室出口设置于所述释放腔室下游侧并且与所述释放腔室内部流体连通。

[0030] 在另一优选例中,储液模块的储液腔用于储存稀释液。

[0031] 在另一优选例中,所述储液腔还能用于使实现样本与稀释液的混匀。

[0032] 在另一优选例中,所述储液腔的容积为 $V_{\text{储}}$,且 $V_{\text{储}}=30\sim 1000\text{mm}^3$;较佳地, $V_{\text{储}}=50\sim 500\text{mm}^3$;更佳地, $V_{\text{储}}=60\sim 100\text{mm}^3$;最佳地, $V_{\text{储}}=80\sim 90\text{mm}^3$ 。

[0033] 在另一优选例中,所述储液腔为圆柱形的储液腔。

[0034] 在另一优选例中,所述圆柱形的储液腔的底部直径为 $D_{\text{储}}$,且 $D_{\text{储}}=3\sim 15\text{mm}$;较佳地,

$D_{\text{储}}=5\sim 10\text{mm}$;更佳地, $D_{\text{储}}=6\pm 1\text{mm}$;最佳地, $D_{\text{储}}=6\pm 0.2\text{mm}$ 。

[0035] 在另一优选例中,储液模块的接入口用于使驱动机构能够向在检测芯片的内部的本样本提供驱动气流。

[0036] 在另一优选例中,当所述的芯片不包括混匀模块时,所述接入口还可用于向芯片中添加待测样本,和/或用于使待测样本与稀释液混匀。

[0037] 在另一优选例中,所述微阀模块包括微阀结构。

[0038] 在另一优选例中,所述微阀机构为机械微阀结构。

[0039] 在另一优选例中,所述微阀机构为转动式微阀结构或按压式微阀结构。

[0040] 在另一优选例中,所述微阀结构包括:阀主体(202,208)、设置于阀主体并贯通所述阀主体的通孔(203,209),用于容纳所述阀主体的腔室,和用于控制所述阀主体的把手(205,211);

[0041] 并且用于容纳所述阀主体的腔室的腔室壁上具有与检测芯片中芯片通道(201,207)连通口;当微阀模块处于第二状态时,所述通孔与所述连通口流体连通。

[0042] 在另一优选例中,所述微阀机构还包括:套于所述阀主体(202,208)外的橡胶套(204,210),且所述橡胶套上设有对应于所述通孔的开口。

[0043] 在另一优选例中,所述阀主体为金属阀主体。

[0044] 在另一优选例中,所述的检测芯片还包括:(f)滤血模块(3);所述滤血模块用于过滤样本,且所述滤血模块位于释放模块(4)上游。

[0045] 在另一优选例中,所述滤血模块包括:

[0046] 滤血腔室(305),所述滤血腔室由上部腔室(3051)和下部腔室(3052)组成;并且所述滤血腔室的下部腔室设置有用过滤待测样本的滤血材料(302);

[0047] 滤血入口(301),所述滤血入口与所述上部腔室流体连通;和

[0048] 滤血出口(303),所述滤血出口设置于所述下部腔室的侧面并与所述下部腔室流体连通。

[0049] 在另一优选例中,所述用于过滤血液的材料充满所述下部腔室(3052)。

[0050] 在另一优选例中,待测样本通过滤血入口进入上部腔室(3051),进而从设置于下部腔室(3052)的滤血材料上方流入滤血材料,再从所述滤血材料的侧面通过设于下部腔室侧边的滤血出口流出。

[0051] 在另一优选例中,所述滤血材料为玻纤材料。

[0052] 在另一优选例中,所述滤血垫的大小与所述下部腔室(3052)相契合,或者所述玻纤材料完全填充满所述下部腔室(3052),从而使得血液几乎无法从滤血垫与下部腔室(3052)的侧面交界处流过。

[0053] 在另一优选例中,所述滤血材料选自下组:玻璃纤维(玻纤)、聚乙烯醇(PVA)、棉纤,或其组合。

[0054] 在另一优选例中,所述下部腔室(3052)为扁平状腔室。

[0055] 在另一优选例中,所述的下部腔室(3052)高 $1\text{mm}\sim 1.5\text{mm}$,和/或所述下部腔室的横截面积为 $60\text{mm}^2\sim 80\text{mm}^2$ 。

[0056] 在另一优选例中,所述上部腔室(3051)高 $1\text{mm}\sim 1.5\text{mm}$ 。

[0057] 在另一优选例中,所述下部腔室(3052)的横截面积由下部腔室的上游侧向下游侧

逐渐减小。

[0058] 在另一优选例中,所述上部腔室(3051)的横截面积由上部腔室的上游侧向下游侧逐渐减小。

[0059] 在另一优选例中,所述下部腔室(3052)的横截面为或基本为梯形。

[0060] 在另一优选例中,所述上部腔室(3051)的横截面为或基本为梯形。

[0061] 在另一优选例中,所述上部腔室(3051)和下部腔室(3052)的横截面的形状是相同的。

[0062] 在另一优选例中,所述上部腔室(3051)的横截面积<所述下部腔室(3052)横截面积。

[0063] 在另一优选例中,所述上部腔室的横截面积为所述下部腔室横截面积的50~90%。

[0064] 在另一优选例中,对于下部腔室(3052)的横截面,梯形的较长底边(即上游侧底边)的边长为 $L_{底1}$ 且较短底边(即下游侧底边)的边长为 $L_{底2}$;其中, $L_{底1}=9\sim 11\text{mm}$, $L_{底2}=3\sim 5\text{mm}$ 。

[0065] 在另一优选例中, $L_{底1}/L_{底2}=2\sim 3$;最佳地, $L_{底1}/L_{底2}=2.5\pm 0.1$ 。

[0066] 在另一优选例中,所述的滤血出口(303)的出口宽度为 $L_{出}$,且 $0.5L_{底2}\leq L_{出}\leq L_{底2}$ (较佳地,且 $0.8L_{底2}\leq L_{出}<L_{底2}$)。

[0067] 在另一优选例中,所述的滤血出口(303)的出口高度与下部腔室(3052)的高度相同。

[0068] 在另一优选例中,所述检测线与纤维膜的上游侧边缘的距离为5~11mm;较佳地,为7~9mm;最佳地为 $8\pm 0.5\text{mm}$ 。

[0069] 在另一优选例中,所述检测线(501)和质控线(502)之间的间距为3~7mm;较佳地,4~6mm;最佳地, $5\pm 0.5\text{mm}$ 。

[0070] 在另一优选例中,所述释放腔室出口(401)与所述检测入口(504)之间的流动距离(即待测样本自释放腔室的出口到检测入口所需经过的距离或长度)为10~40mm;较佳地,15~30mm;更佳地,15~20mm。

[0071] 在另一优选例中,所述释放模块和所述检测模块通过第一微通道(71)连接,且所述第一微通道的长度(沿微通道)为10~40mm;较佳地,15~30mm;更佳地,15~20mm。

[0072] 在另一优选例中,所述检测通道的宽度为与所述侧流结构的宽度比为1:0.9~1.1;较佳地, $1:1\pm 0.05$ 。

[0073] 在另一优选例中,所述检测入口的宽度与所述检测通道的宽度相同。

[0074] 在另一优选例中,所述纤维膜为硝酸纤维膜。

[0075] 在另一优选例中,所述侧向流结构还包括底板,所述底板上沿流动方向依次设置有所述纤维膜和所述吸收垫。

[0076] 在另一优选例中,所述检测窗口为透明薄膜。

[0077] 在另一优选例中,所述透明薄膜的厚度为0.3~0.5mm。

[0078] 在另一优选例中,所述检测线(T线)包括第二抗体,所述第二抗体为能够与待测样本中可能存在的标志物结合(较佳地特异性结合)的抗体。

[0079] 在另一优选例中,所述检测线是由第二抗体浓度为1~8mg/mL(较佳地为1~4mg/

mL)的划膜液划线所得的检测线。

[0080] 在另一优选例中,所述质控线(C线)包括第三抗体,所述第三抗体为能够与所述第一抗体结合的抗体。

[0081] 在另一优选例中,所述质控线是由第三抗体浓度为1~2mg/mL的划膜液划线所得的质控线。

[0082] 在另一优选例中,所述的检测芯片包括:沿样本流动方向依次设置的储液模块(1)、微阀模块(2)、混匀模块(6)、滤血模块(3)、释放模块(4)、检测模块(5);以及连接各模块的通道。

[0083] 在另一优选例中,所述的检测芯片包括:沿样本流动方向依次设置的储液模块(1)、微阀模块(2)、滤血模块(3)、释放模块(4)、检测模块(5);以及连接各模块的通道。

[0084] 在本发明的第二方面,提供了一种检测系统,所述检测系统包括如权利要求1所述的检测芯片。

[0085] 在另一优选例中,所述检测系统还包括驱动机构,所述驱动机构用于向储液模块的储液腔提供驱动气流。

[0086] 在另一优选例中,所述驱动机构通过储液模块的接入口向储液腔提供驱动气流。

[0087] 在另一优选例中,所述检测系统还包括用于读取检测模块的信号值的检测仪器。

[0088] 在本发明的第三方面,提供了一种检测方法,包括步骤:

[0089] 1) 提供如第一方面所述的检测芯片,其中所述储液腔包含稀释液并且微阀模块处于第一状态;

[0090] 2) 通过储液模块的接入口注入待测样本并手动吹打(较佳地3~5次);或者通过混匀模块的加样入口加入待测样本;

[0091] 3) 将驱动机构与储液模块的接入口连接;

[0092] 4) 使微阀模块由第一状态变为第二状态,并调节所述驱动机构使流速为 v_1 ;

[0093] 5) 经过2.5min~3min后或者待测样本到达释放模块时,调节所述驱动机构使流速为 v_2 ;

[0094] 6) 经过1.3min~1.6min后或者待测样本到达纤维膜时,调节所述驱动机构使流速为 v_3 ;和

[0095] 7) 经过5min~6min后或者待测样本通过纤维膜到达吸收垫端后用所述检测仪器通过检测窗口读取检测模块的纤维膜的信号值;

[0096] 其中, $v_3 < v_2 < v_1$ 。

[0097] 在另一优选例中,反应时间为5~15min;更佳地,为 10 ± 1 min。

[0098] 在另一优选例中, $v_1 = 80 \sim 100 \mu\text{L}/\text{min}$, $v_2 = 20 \sim 40 \mu\text{L}/\text{min}$ 且 $v_3 = 3 \sim 5 \mu\text{L}/\text{min}$ 。

[0099] 在另一优选例中, $v_1 = 85 \sim 95 \mu\text{L}/\text{min}$;较佳地, $v_1 = 90 \pm 3 \mu\text{L}/\text{min}$;更佳地, $v_1 = 90 \pm 1 \mu\text{L}/\text{min}$ 。

[0100] 在另一优选例中, $v_2 = 25 \sim 35 \mu\text{L}/\text{min}$;较佳地, $v_2 = 30 \pm 2 \mu\text{L}/\text{min}$;更佳地, $v_2 = 30 \pm 1 \mu\text{L}/\text{min}$ 。

[0101] 在另一优选例中, $v_3 = 3.5 \sim 4.5 \mu\text{L}/\text{min}$;较佳地, $v_3 = 4 \pm 0.3 \mu\text{L}/\text{min}$;更佳地, $v_3 = 4 \pm 0.1 \mu\text{L}/\text{min}$ 。

[0102] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具

体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

附图说明

[0103] 图1显示了根据本发明的一个实施例的检测芯片的的立体结构示意图。

[0104] 图2A显示了根据本发明的一个具体实施方案即基于吹打混匀方式的的检测芯片的示意图。

[0105] 图2B显示了根据本发明的一个具体实施方案即基于玻纤辅助混匀方式的的检测芯片的示意图。

[0106] 图2C显示了本发明检测芯片中释放模块、检测模块、C/T之间的距离关系。

[0107] 图3显示了本发明芯片所用的旋转式机械微阀的结构示意图;其中,3A显示了该旋转式机械微阀立体结构示意图;3B显示了处于第二状态时(流体可流过)该旋转式机械微阀的剖面示意图;3C显示了处于第一状态时(流体被阻断)该旋转式机械微阀的剖面示意图。

[0108] 图4显示了本发明芯片所用的按压式机械微阀的结构示意图;其中,4A显示了该按压式机械微阀立体结构示意图;4B显示了处于第二状态时(流体可流过)按压式机械微阀的剖面示意图;4C显示了处于第一状态时(流体被阻断)按压式机械微阀的剖面示意图。

[0109] 图5A显示了放置(左图)或未放置(右图)滤血垫时本发明一个具体实施例的检测芯片中的滤血结构的立体示意图。

[0110] 图5B显示了放置(左图)或未放置(右图)滤血垫时如图5A所示的检测芯片中的滤血结构的俯视示意图。

[0111] 图5C显示了如图5A所示的检测芯片中的滤血结构的剖面示意图(未滤血垫未示出)。

[0112] 图中各标识如下:

[0113] 1表示储液模块;

[0114] 2表示微阀模块;201表示芯片通道;202表示旋转式机械微阀中的金属阀;203表示旋转式机械微阀中的通孔(如圆形通孔);204表示旋转式机械微阀中的橡胶圈;205表示旋转式把手;207表示芯片中的微通道;208表示按压式机械微阀中的金属阀;209表示按压式机械微阀中的通孔;210表示按压式机械微阀中的橡胶圈;211表示按压式把手;

[0115] 3表示滤血模块;301表示滤血入口;302表示滤血垫;303表示滤血出口;305表示滤血腔室;3051表示上部腔室;3052表示下部腔室;

[0116] 4表示释放模块;401表示释放腔室出口;

[0117] 5表示检测模块;501表示检测线(T线);502表示质控线(C线);503表示吸收垫;504表示检测入口;505表示检测窗口。

[0118] 6表示混匀模块;601表示混匀腔室;602表示加样入口。

[0119] 图6显示了BNP校准品测试结果。

[0120] 图7显示了D-Dimer校准品测试结果。

[0121] 图8显示了D-Dimer临床测试结果。

[0122] 图9显示了释放模块与检测模块不同距离时的检测结果。

具体实施方式

[0123] 发明人经过长期而深入地研究。首次集成了具有侧流试剂条功能的检测模块以及具有混匀功能模块的从而提供了一种具有新颖结构且十分适合于检测蛋白类目标物质(如抗体、抗原等)且仪器要求低、易于控制、准确度灵敏度高的微流控芯片。特别地,发明人还在本发明的芯片中采用了具有特殊结构的滤血模块从而在提高滤血效率的同时使过滤后的血液能够顺利进入后续模块中。基于此,发明人完成了本发明。

[0124] 术语

[0125] 除非特别说明,在本文中,上游和下游表示沿流体或待测样本流动方向上的上游和下游。

[0126] 在本文中,“上”和“下”,“前”和“后”仅出于表述更清楚目的,而非对本申请结构的限定,应当理解它们仅代表了相对关系。

[0127] 检测芯片

[0128] 本发明首次通过微阀的微流控芯片结合层析技术,层析材料的使用避免了微流控芯片中的表面改性、全血过滤等复杂过程,并通过微流控技术控制侧向层析中的液体流动速度,最终实现提高检测的精度与灵敏度,缩短检测时间及样本用量的目的。

[0129] 典型地,本发明提供了一种结合侧向层析技术与微流控技术的检测芯片,该芯片集成了微阀结构,能够缩短检测时间,提高检测集成度与灵敏度。

[0130] 如图1、图2A和图2B所示,本发明中所涉及到的微流控芯片涉及到微流控技术及侧向流层析技术,其中包括储液模块1、任选的混匀模块6、微阀模块2(较佳地包括机械微阀结构)、任选的滤血模块3、释放模块4以及检测模块5。

[0131] 本发明的提供的芯片可采用两种将稀释液与样本混匀的方式,即吹打混匀和玻纤辅助混匀两种方式。

[0132] 在一个具体实施方案中,本发明的芯片通过吹打混匀方式来混匀稀释液与样本,这种方式下本发明的芯片可不包括混匀模块6,吹打混匀直接在储液模块中进行,储液模块的结构包括存储有一定体积稀释液的储液腔(如圆形储液槽),进口处使用铝箔纸密封(该进口处可以与接入口相同或不同),通过移液枪在进口处加入待测样本后通过手动吹打混匀或仪器进样针吹打混匀的方式混合样本与稀释液。

[0133] 在另一个具体实施方案中,本发明的芯片通过玻纤辅助混匀方式来混匀稀释液与待测样本,在该方式下,本发明的芯片包括混匀模块6。所述玻纤辅助混匀方式通过储液模块1(如包括圆形储液槽的储液模块)和设置于微阀模块2后面或下游的混匀模块6实现,所述混匀模块6包括含有或填充有玻纤(玻璃纤维)材料的混匀腔室601(如矩形腔室)。典型地,在玻纤辅助混匀方式下,待测样本通过加样入口602被加入至混匀腔室601中的玻纤后被玻纤吸收,通过驱动机构如微流泵将预置于储液模块1的稀释液注入玻纤材料中,通过冲洗作用将玻纤上的待测样本冲洗出来,最终可以从混匀模块6的出口处得到样本和稀释液的混合物。较佳地,混匀腔室如矩形腔室与玻纤的间隔小于1mm,以防止样本从两侧流出。

[0134] 在另一个具体实施方案中,如图3和图4所示,所述的微阀模块包括微阀结构如机械微阀结构。较佳地,所述机械微阀结构包括设于芯片中层的用于容纳阀主体的腔室(如圆形腔室)、阀主体(202或208)(如金属阀)和设于阀主体与用于容纳阀主体的腔室之间的橡胶圈。所述金属阀为开有通孔的圆柱形金属,该圆柱形金属阀的圆心位置伸出一个长圆柱

形的把手(205或211),该把手用于控制金属阀(202或208)的运动;所述橡胶圈包裹在金属阀的外侧,并在通孔两端开有与通孔相对应的小孔。为了保证密封性,橡胶圈的内径略小于金属阀的外径,套有金属阀的橡胶圈尺寸应稍微大于圆形腔室的尺寸。较佳地,所述机械微阀的控制方式有两种,分别为“转动式”和“按压式”。所述“转动式”指旋转金属阀的把手,当通孔位置与通道重合时,微阀打开,流体通过,当通孔与通道不对齐时,微阀关闭,流体被阻断。所述“按压式”指可上下按动微阀,当通孔位置与通道重合时微阀打开,流体通过,当通孔与通道位置不对齐时,微阀关闭,流体被阻断。

[0135] 在另一具体实施方案中,如图5A、5B和5C所示,所述滤血模块主要由分为上下2个腔室(即上部腔室3051和下部腔室3052)的中空腔室(即滤血腔室305),以及下部腔室中间填充的用于过滤样本的滤血材料302(如玻纤材料或滤血垫)构成,样本通过与上部腔室上游侧流体连通的滤血入口301从用于过滤血液的材料的上表面(上表面)进入该材料,经过滤的样本从该材料如玻纤的侧面通过滤血出口303流出并进入后续通道,在该过程中血细胞等杂质被玻纤吸附。较佳地,上部腔室的横截面积略小于下部腔室的横截面积。较佳地,滤血材料如玻纤材料的横截面积与滤血体积有关。在本发明的滤血模块中用于过滤血液的材料与上顶板之间存在一定间距(即上部腔室的存在)以便血液由用于过滤血液的材料的上表面进入用于过滤血液的材料从而被过滤,较佳地,玻纤材料的顶部与上顶板的间距(即上部腔室的高度)大概为1-1.5mm左右。

[0136] 在另一个具体实施例中,如图1和图2A-C所示,所述的释放模块4在滤血模块与检测模块中间。较佳地,所述释放模块主要包含包括释放腔室(如芯片中的矩形腔室)以及其中填充的玻纤(玻璃纤维),所述玻纤负载有标记物(较佳地,所述标记物为标记过抗体或抗原的荧光微球、量子点、荧光素、上转化材料等信号物质且该抗体或抗原能够与样本中可能存在的待测目标特异性结合。较佳地,所述标记物通过干燥工艺被固定在所述玻纤中。

[0137] 在另一个具体实施方案中,如图1和图2A-C所示,所述的检测模块包含检测通道以及集成在设置于其中的侧向流结构。较佳地,所述的检测通道的宽度与侧向流试剂片的宽度相同,以尽量减少缝隙。所述的侧向流结构包含有纤维膜如硝酸纤维素膜(NC膜)、任选的吸收垫503以及任选的PVC底板,所述的纤维膜如NC膜上划有检测线(T线)501和质控线(C线)502。较佳地,所述检测线(T线)501和质控线(C线)502之间的距离为3~7mm;较佳地,5±0.5mm。

[0138] 在另一个具体实施方案中,在检测模块的NC膜上方设有一检测窗口505,较佳地,该检测窗口可以由透明的薄膜材料制成的窗口,更佳地,该材料厚度在0.3-0.5mm,且透光性较好,因此不会产生例如荧光干扰信号。

[0139] 在另一个具体实施方案中,本发明的检测芯片中,释放模块4与检测模块5之间的距离(即待测样本自释放模块4的释放出口401到检测模块5的检测如口504所需流过的距离,或者连接释放模块4与检测模块5的通道71的长度)为10~40mm;较佳地,15~30mm;更佳地,15~20mm。

[0140] 检测芯片的工作原理

[0141] 在一个具体实施例中,如图1、图2A和2C所示,本发明基于吹打混匀方式对样本和稀释液进行混匀的检测芯片(即不包括混匀模块)的工作过程为:

[0142] 先将所需的稀释液预存于储液模块1的储液腔(如圆形储液槽)中;

[0143] 从储液模块1的进口处加入待测样本后抽打混匀3~7次(如5次)后,使用驱动机构如注射泵以一恒定速度推入气体如空气,通过手动或仪器控制微阀模块(例如图3和4所示的通过按压或旋转控制的微阀模块)进入打开状态(即由第一状态转变为第二状态),从而使与稀释液混合后的待测样本进入滤血模块3被过滤之后流出该模块到达释放模块4(如果是全血样本,则过滤完后的血浆及稀释液流出后到达释放模块4);

[0144] 在释放模块4中,经过滤混匀的样本(如已被稀释的血浆)中可能存在的待测目标与标记物(如标记所需抗体的荧光微球)结合后,标记物(如微球)被带出释放模块4并进入检测模块5的侧向流结构的纤维膜(如NC膜)后,可能存在的待测目标和标记物与膜上的C和/或T线结合,多余的液体被吸收垫吸收;最终通过观察、分析或检测C、T线上的信号强度(荧光强度)来确定或定量样本中待检目标的有无或含量。

[0145] 在另一个具体实施方案中,如图2B所示,本发明基于玻纤辅助混匀方式的检测芯片(即包括混匀模块的检测芯片),其工作过程为:

[0146] 先将所需的稀释液预存于储液模块1的储液腔(如圆形储液槽)中,在微阀模块处于关闭状态(即第一状态)下,从混匀模块6的加样入口602加入待测样本,使待测样本负载于混匀腔室(601)中的玻璃纤维上;使用驱动机构如注射泵以一恒定速度推入气体如空气,通过手动或仪器控制微阀模块(例如图3和4所示的通过按压或旋转控制的微阀模块)进入打开状态(即由第一状态转变为第二状态),预存于储液模块1的储液腔中的稀释液进入混匀模块6的混匀腔室601中,并在冲洗作用以及玻璃纤维的帮助下,稀释液与负载于混匀腔室601中的玻璃纤维上的待测样本混合,与稀释液混合后的待测样本继续进入滤血模块3被过滤之后流出该模块到达释放模块4(如果是全血样本,则过滤完后的血浆及稀释液流出后到达释放模块4);

[0147] 在释放模块4中,经过滤的稀释样本(如已被稀释的血浆)中可能存在的待测目标与标记物(如标记所需抗体的荧光微球)结合后,标记物(如微球)被带出释放模块4并进入检测模块5的侧向流结构的纤维膜(如NC膜)后,可能存在的待测目标和标记物与膜上的C和/或T线结合,多余的液体被吸收垫吸收;最终通过观察、分析或检测C、T线上的信号强度(荧光强度)来确定或定量样本中待检目标的有无或含量。

[0148] 整个过程通过动机构如注射泵控制样本在芯片中不同位置的不同流动速度,使侧向流反应过程可控。

[0149] 检测系统

[0150] 本发明还提供了一种检测系统,所述的系统包括如本发明第一方面所述的检测芯片。

[0151] 在另一优选例中,所述检测系统还包括驱动机构,所述驱动机构用于向储液模块的储液腔提供驱动气流。较佳地,所述驱动机构为可调流速的注射泵。

[0152] 在另一优选例中,所述驱动机构通过接入口向储液模块的储液腔提供驱动气流。

[0153] 在另一优选例中,所述检测系统还包括用于读取检测模块的信号值的检测仪器。

[0154] 检测方法

[0155] 本发明还提供了一种检测方法,所述的检测方法如本发明第三方面所述。

[0156] 本发明的主要优点包括:

[0157] 对比传统的侧向流层析,本发明芯片能够控制样本在不同反应阶段使用不同的最

佳速度,从而控制反应的动力学,使不可控的侧向流过程可控;此外在芯片中增加了储液模块和任选地混匀模块,从而避免了混匀仪器的液路管路及必须的清洗过程,不仅简化仪器的结构更降低了交叉污染的可能性。本发明具有提高检测精密度、减少样本用量以及缩短检测时间等优点。

[0158] 本发明芯片具有样本储存、阀门控制并结合有滤血、释放及检测等模块,可以实现对血液样本直接检测,不需要预处理的过程,整个过程操作简单,操作人员要求较低,且通过外加驱动机构,控制样本的流动速度,让不可控的侧向流层析过程可控,且具有检测时间短,检测灵敏度高等优点。

[0159] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则百分比和份数是重量百分比和重量份数。

[0160] 实施例1

[0161] 如图1和图2A和C所示,所述微流控芯片包括:储液模块1,机械微阀模块2,滤血模块3,释放模块4,以及检测模块5。其中储液模块1用于混匀样本与稀释液,机械微阀模块2用于固定稀释液在芯片中的位置,滤血模块3用于滤出样本中的血细胞等杂质,释放模块4用于储存荧光微球,检测模块5包含NC膜及吸收垫,用于捕获结合有抗原的荧光微球。

[0162] 在不包括混匀模块的芯片中,通过手动吹打进行混匀。其中储液模块包括直径6mm的圆形腔室,腔室高度为3mm,可用于储存75 μ L的稀释液,当微阀关闭时,稀释液固定在圆形腔室口中,使用移液枪加入25 μ L样本后,连续抽打混匀五次,即可实现在腔室中对样本进行稀释,在腔室上方接入注射泵,控制样本进入通道中的流速。

[0163] 所述机械微阀模块包括旋转式机械微阀,且所述的旋转式机械微阀如图3所示。其中金属阀202的直径为12mm,橡胶圈204的内径与金属阀202相同,厚度为1.5mm,金属阀上的圆形通孔203的宽度为2mm,贯穿整个金属阀的圆环底部,橡胶圈上设有直径是2mm的圆形开孔,芯片中用于容纳该金属阀的圆形腔室直径为15mm,所述金属阀202上还设有用于旋转该金属阀的把手205。将金属阀202套上橡胶圈204后置于芯片的圆形腔室中,使橡胶圈开孔与芯片通道201对齐,金属阀202(包括套于其外的橡胶圈)可自由转动。可通过转动金属阀的把手205,调整通孔203的位置,当通孔203的位置与通道201位置不对齐时(如图2A所示),此时阀门关闭,样本不能进入后续通道中,当通孔203的位置与通道201位置对齐时(如图2B所示),此时阀门打开,样本可以进入后续的通道中。

[0164] 滤血模块如图5A和5B所示,该模块包括样本进入管道301,滤血垫302,样本流出管道303组成。其中滤血垫使用的玻纤材料为fusion 5,结构为梯形结构(上底宽度为10mm,下底宽度为4mm)。前端(上游侧)横截面积较大从而增大了入口处血样与滤血垫的接触面积,提高过滤效果,后端(下游侧)横截面积较小从而使过滤后的样本更好地进入后续的通道中。滤血垫尺寸与下端凹槽对齐,稍大于上部凹槽结构,目的使滤血垫三边压紧,提高过滤效果。样本进入管道301在滤血垫302的上方,保证样本从上方进入样品垫,流出管道303在滤血垫的侧边,以保证样本从滤血垫的侧边流出。此结构设计可确保样本中的红细胞被滤血垫截留。

[0165] 释放模块为芯片通道中包含有释放垫。所述释放垫中固定有标记好的荧光微球,释放垫材质为玻纤材料(Glass 33),尺寸为宽3.3mm,长10mm,通过真空干燥工艺将0.24 μ L

标记好的荧光微球储存在释放垫中。当样本进入释放垫后,一部分样本浸润释放垫,多余的样本带动微球流出释放垫,此过程中样本中的抗原与微球中标记的抗体相结合,微球与样本混合起来,进入检测区域。

[0166] 所述的检测模块使用NC膜结合吸收垫的方式。NC膜贴在PVC底板上,NC膜上划有T、C线两种抗体,吸收垫贴在C线端。当样本进入检测模块后,样本进入NC膜上缓慢扩散,其中吸收垫的吸收作用会牵引样本流过NC膜上T、C线,并最终到达吸收垫。结合有样本的荧光微球与T线结合,不含有样本的荧光微球流经T线后与C线结合,最终通过读取T、C线的荧光强度,并计算TAP ($TAP = T / (T + C) \times 5000$),判断样本含量。

[0167] 实施例2

[0168] 如图2B所示,芯片结构基本同实施例1中芯片,除了微阀模块2和滤血模块3之间还包括混匀模块6,所述混匀模块包括矩形腔室601 (10*5mm) 组成,矩形腔室301中设置有尺寸大小相同的样品垫-Fusion 5。

[0169] 移液枪将样本直接加入Fusion 5上,打开微阀,储液模块的腔室上方接入的注射泵推动储液模块中的稀释液以90 μ L/min的流速经过Fusion 5,稀释液可以将Fusion 5上的样本冲出,实现样本与稀释液混匀的目的。

[0170] 实施例3

[0171] 芯片结构基本同实施例1中芯片,除了所述机械微阀模块包括按压式机械微阀,所述的按压式机械微阀如图4所示。其中金属阀208的直径是12mm,橡胶圈210的内径与金属阀相同,厚度也为1.5mm,金属阀208中间部位开的通孔209的直径是1.5mm,贯穿整个金属阀208,橡胶圈上的开孔位置与通孔209位置重合,金属阀208可在芯片中上下自由移动。当金属阀208贴合到芯片底部时(如图4B所示),通孔209的与芯片通道207相重合,此时阀门打开,样本可进入后续的通道中。将金属阀相上移动时,通孔209与芯片通道207不对齐时(如图4C所示),此时阀门关闭,样本不能进入通道中。

[0172] 测试例

[0173] 测试例1

[0174] 使用实施例1的芯片检测B型钠尿肽(BNP)校准品的含量,其中T/C线的位置为原初始位置(即T线距NC膜边缘8mm,且TC线之间距离5mm),释放垫与NC膜的距离为20mm。

[0175] 本测试例使用微流控芯片检测BNP校准品的含量。其中芯片设计如实施例1中所述,其中储液模块中存有稀释液,体积共75 μ L,释放垫储存的微球为标记有人抗鼠的BNP抗体的荧光微球。

[0176] 所述实施例具体过程为移液枪添加不同浓度的BNP校准品25 μ L,手动吹打五次混匀样本与稀释液,手动旋转机械微阀,打开开关,设置注射泵流速为90 μ L/min,经过微阀开关、滤血模块后到达释放模块,更改注射泵流速为30 μ L/min,到达NC膜的瞬间将流速改为4 μ L/min,液体上膜7min后使用半自动检测仪器检测产生的荧光信号。

[0177] 所述的BNP浓度包括:0、25、100、400、1600、3200、6400pg/mL,检测时间总共为10分钟左右,少于侧向流检测时间(15min)。

[0178] 检测结果如图6所示,与侧向流检测结果基本相同。相比侧向流层析,此系统可直接加样,加样后其余过程可通过仪器控制,自动化程度更高,检测时间也较短。

[0179] 测试例2 T/C线的位置以及不同T/C线抗体浓度对检测结果的影响

[0180] 使用实施例1中的芯片检测D-二聚体(D-Dimer)校准品及样本的含量。

[0181] 芯片结构与实施例1中相同,所使用的释放垫与NC膜上分别结合有D-Dimer抗体,其中划膜T线使用鼠抗人D-Dimer抗体,划膜浓度为4mg/mL,C线使用羊抗鼠IgG,划膜浓度为1.5mg/mL。释放垫含有标记人抗鼠D-Dimer抗体的荧光微球。

[0182] 所使用的稀释液及体积同测试例1,测试过程与测试例1相同,检测不同浓度的D-Dimer校准品,校准品浓度分别为:0,0.05,0.2,0.8,1.6,3.2,6.4,12.8 μ g/mL。上膜七分钟后通过半自动检测产生的荧光信号,根据对应的浓度可建立标准曲线。

[0183] 本实施例中还调整了NC膜上不同T/C线的位置以及不同T/C线抗体浓度对检测结果的影响,结果如图7所示。正常T线距膜上测边缘8mm $\pm$ 0.5mm,T/C线之间的间距为5mm $\pm$ 0.5mm,前后移动T/C线位置(TC线之间的距离不变)能够改变样本与微球抗体的反应时间,从而提高检测效率。测试结果显示T/C线后移2mm(即T线距离膜边缘10 $\pm$ 0.5mm)的信号更高,但高值区分度较差,T/2C后移2mm(即TC线整体后移2mm,且C线所用划线浓度为初始状态的2倍)的信号在T/C线后移2mm和侧向流结果之间,具有较好的线性以及高值等优点。

[0184] 测试例3

[0185] 另利用测试例2中所用的初始检测芯片测试新鲜的全血和血浆样本。具体操作过程同测试例2中校准品测试过程一致。测试结果如图8所示,共测试全血样本10例,血浆样本33例,与医院的靶值相比,全血的相关性达到了0.96,斜率为1.37,血浆的相关性为0.975,斜率为1.12。

[0186] 测试例4

[0187] 使用实施例1中芯片结构,并使用BNP校准品评估释放垫与NC膜不同间距时的检测效率。

[0188] 本测试例中使用的芯片结构与测试例1基本相同,改变了释放垫的位置,制作了不同位置的释放垫结构,设计释放垫与NC膜之间的距离分别是15mm,20mm,25mm,30mm和35mm六种不同的位置,适当的调整样本与微球的反应时间。通过测试浓度为100pg/mL的BNP校准品,来评估不同位置的检测效果。操作流程与实施例1相同。

[0189] 检测结果如图9所示,不同位置的释放垫检测结果有一定的差异,释放垫与NC膜距离20mm时检测信号最佳,TAP为224,距离减小到15mm时,TAP降至186,距离增加到25mm、30mm和35mm时,TAP分别下降到203、179和152,出现明显的下降趋势。因此释放垫与NC膜距离20mm为最佳检测位置。

[0190] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

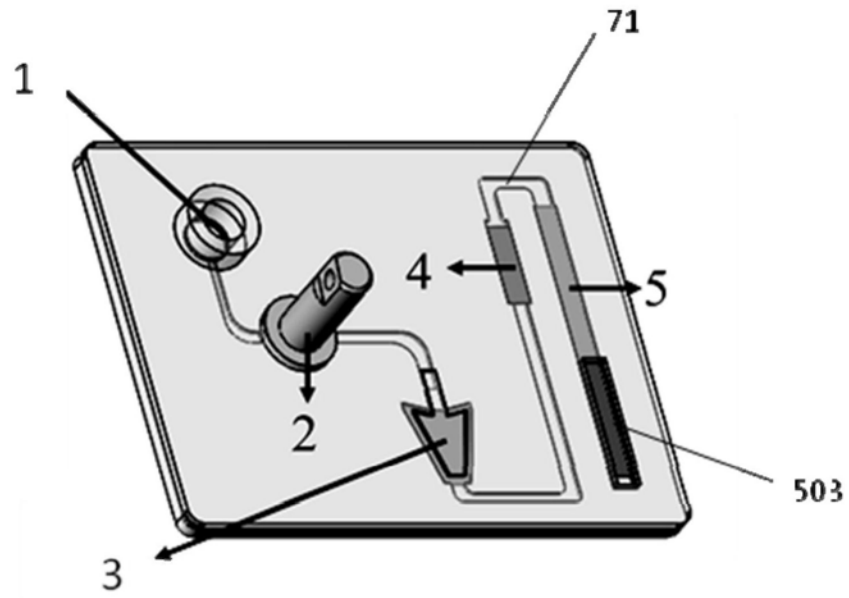


图1

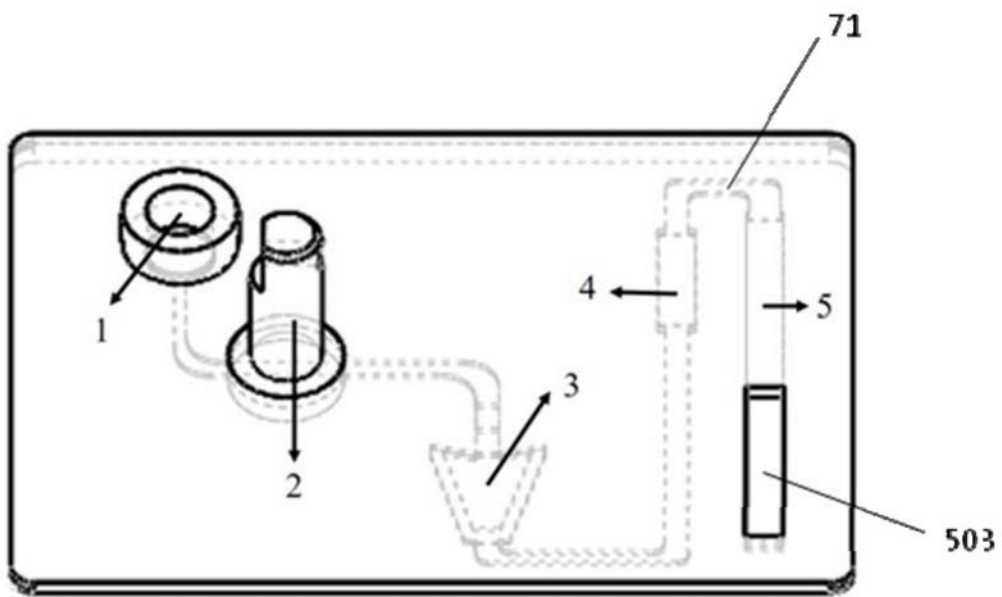


图2A

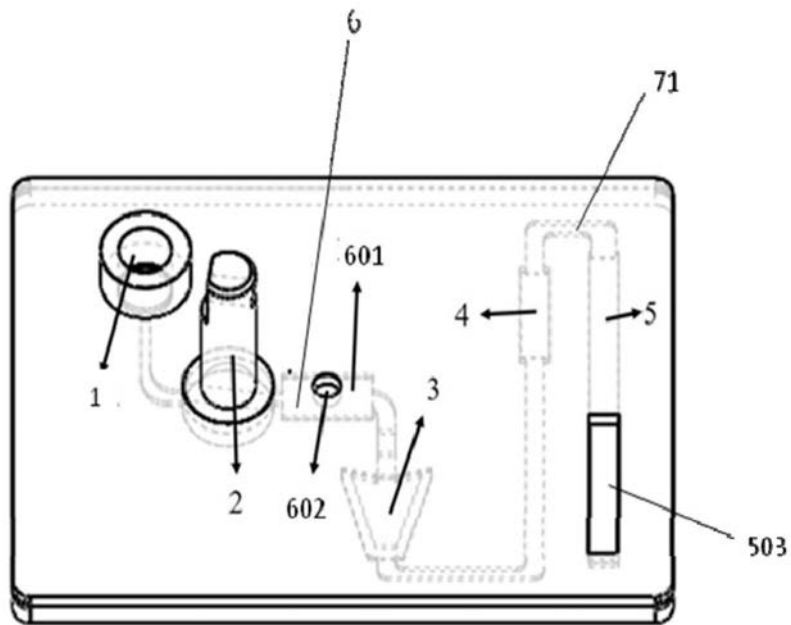


图2B

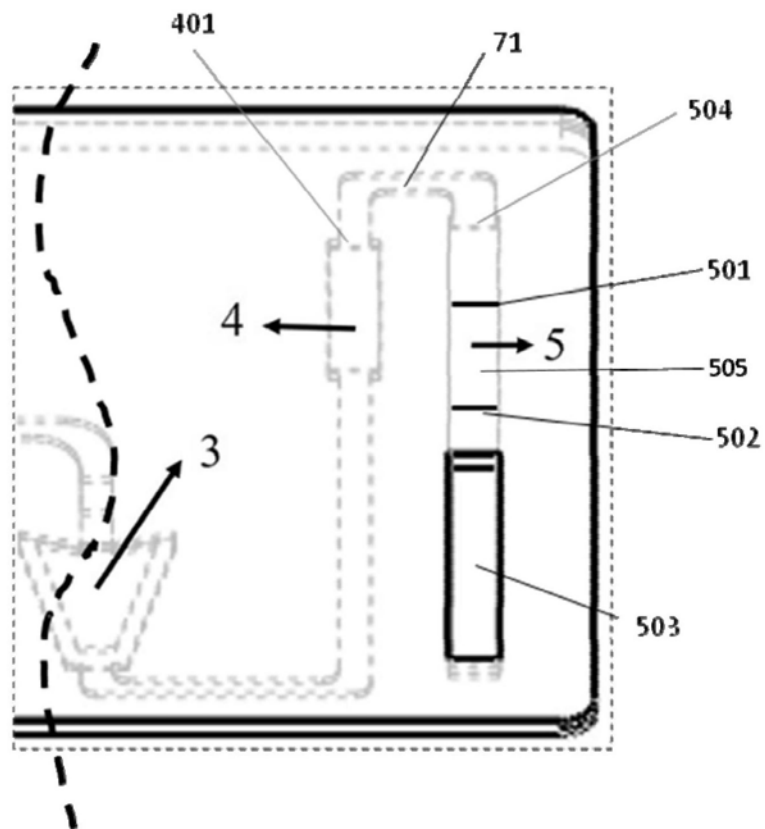


图2C

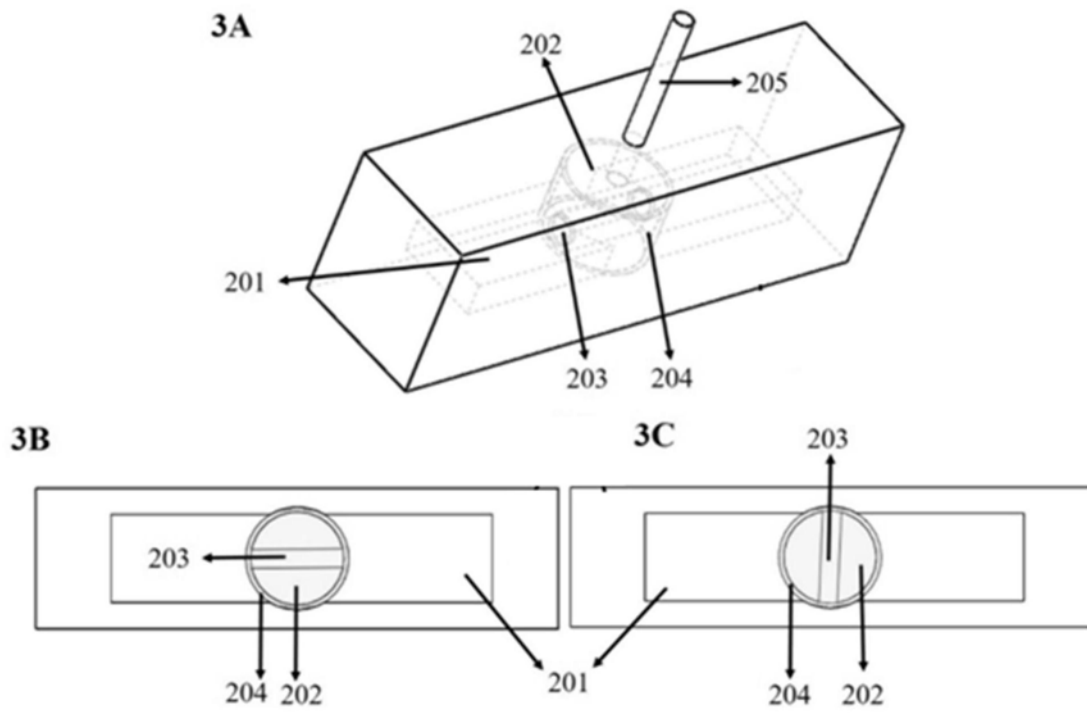


图3

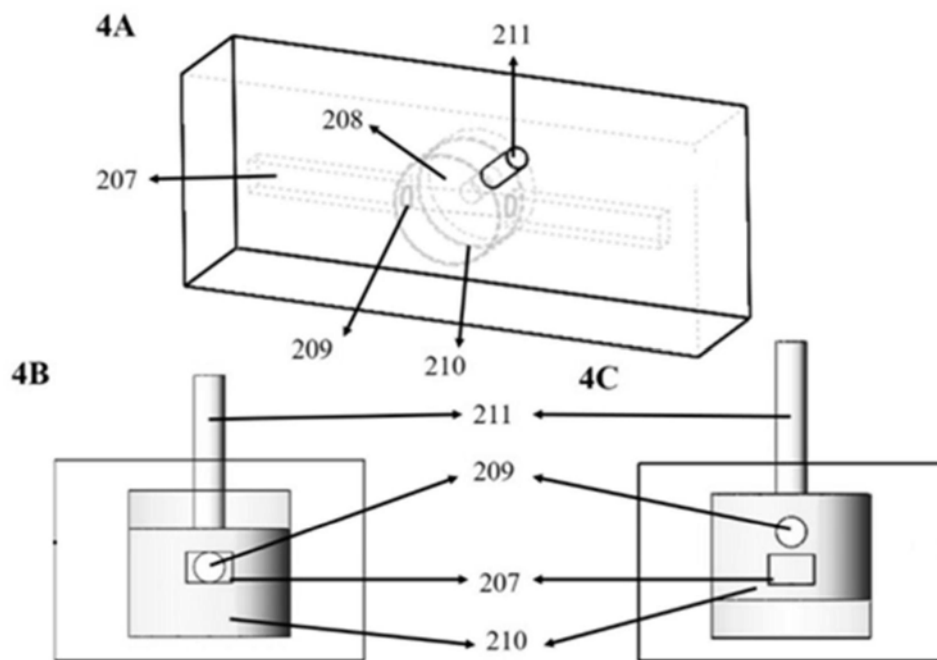


图4

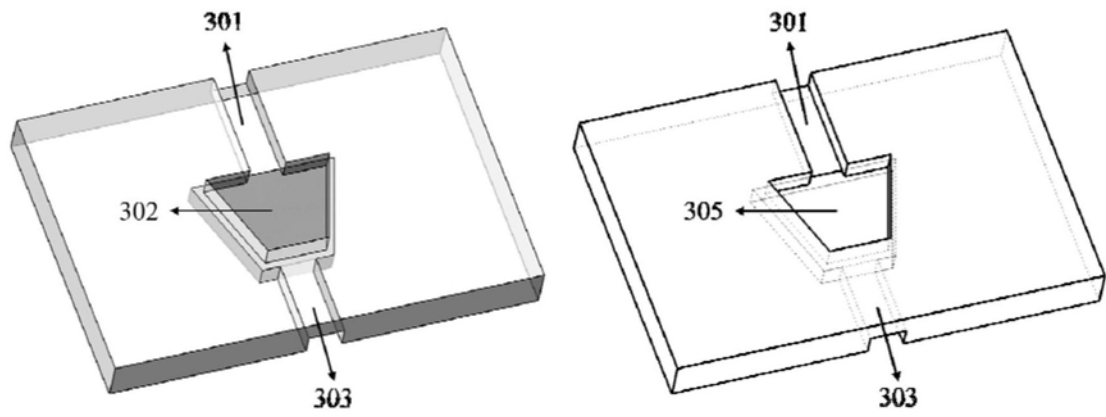


图5A

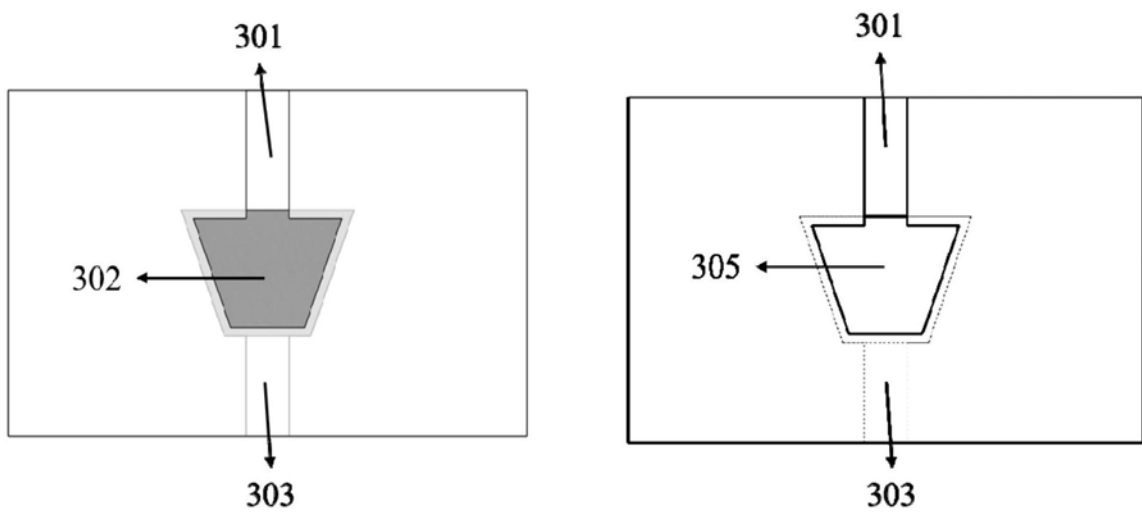


图5B

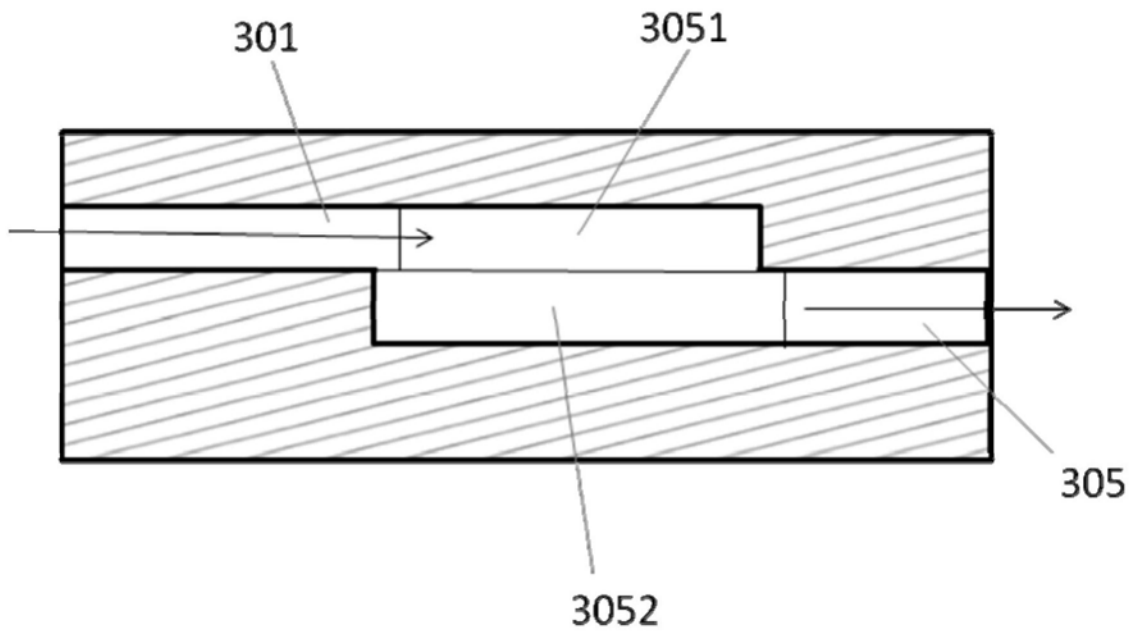


图5C

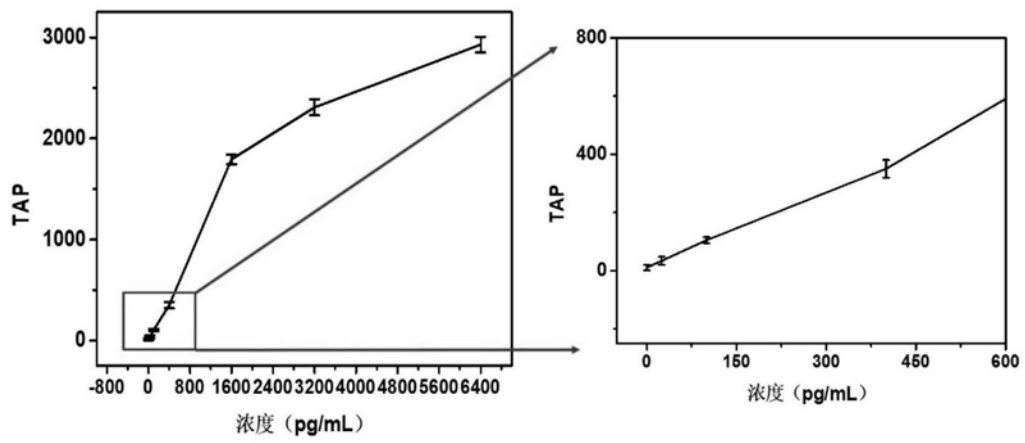


图6

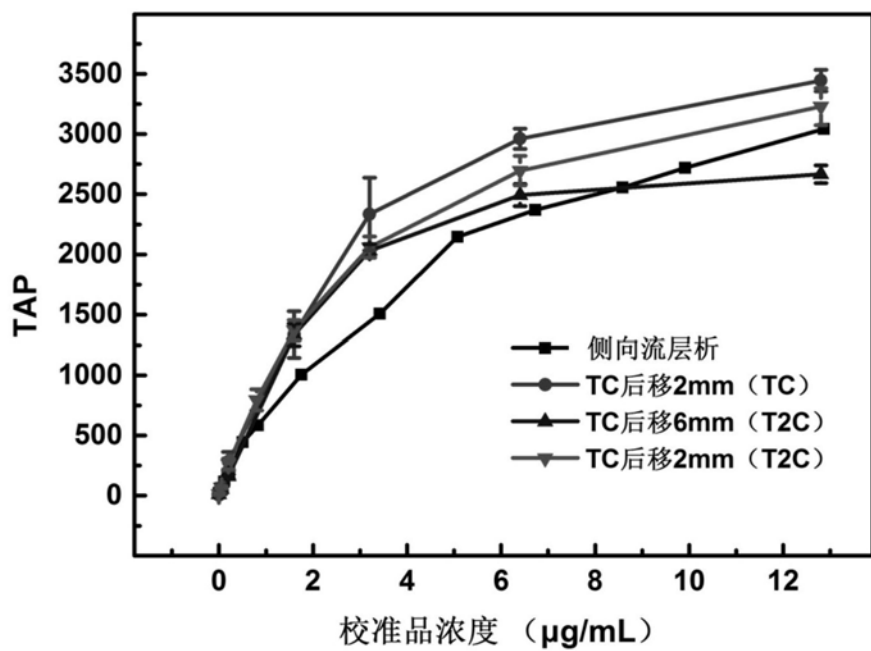


图7

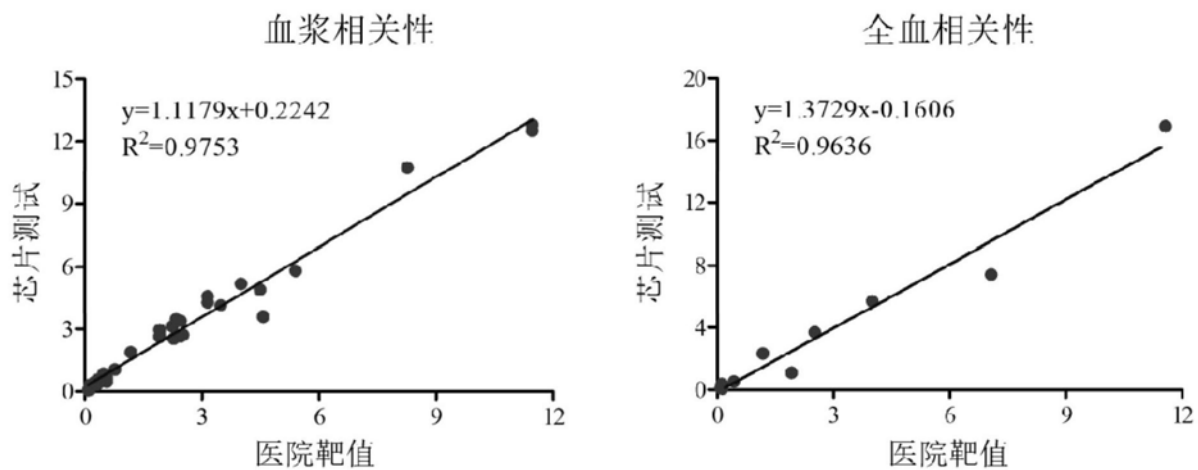


图8

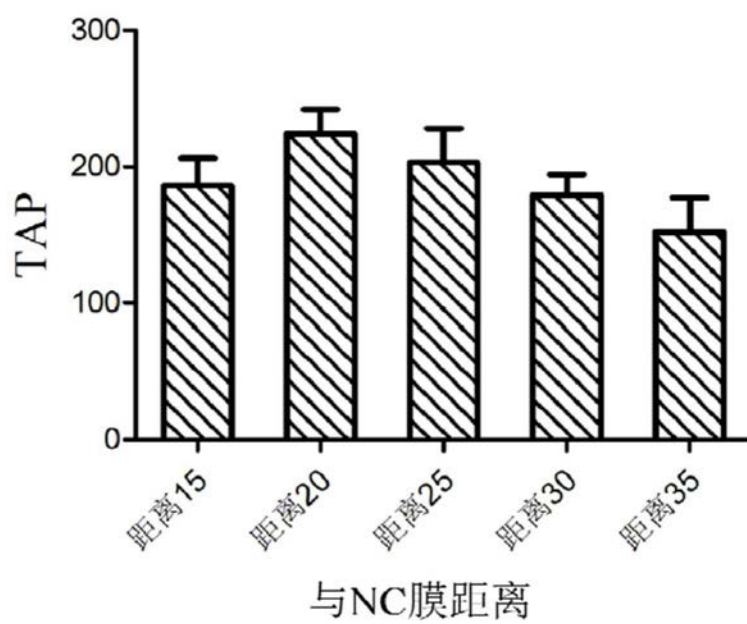


图9