



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113198552 B

(45) 授权公告日 2023. 01. 10

(21) 申请号 202110334805.X

C12M 1/00 (2006.01)

(22) 申请日 2021.03.29

审查员 朱芳萍

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 113198552 A

(43) 申请公布日 2021.08.03

(73) 专利权人 苏州深得源健康科技有限公司

地址 215163 江苏省苏州市高新区锦峰路8
号15号楼406室

(72) 发明人 梅茜 董文飞 李力 葛明锋

常智敏 咎明辉 从瑛哥

(74) 专利代理机构 北京三聚阳光知识产权代理

有限公司 11250

专利代理师 项凯

(51) Int. Cl.

B01L 3/00 (2006.01)

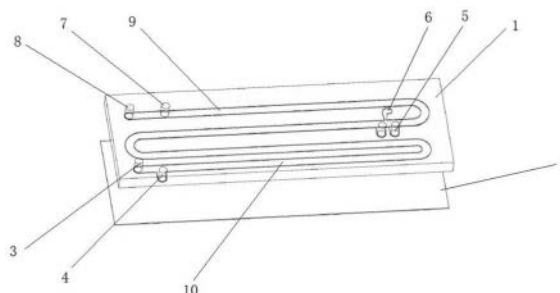
权利要求书2页 说明书5页 附图3页

(54) 发明名称

一种用于提取核酸的微流控芯片及其制备
方法和使用方法

(57) 摘要

本发明涉及医疗器械技术领域,具体涉及一种用于提取核酸的微流控芯片及其制备方法和使用方法,微流控芯片包括芯片主体,其上设有提取通道和样品通道,提取通道的一端设有前导液孔,另一端与样品通道连通,提取通道上靠近前导液孔处设置有提取孔;样品通道的一端设有尾随液孔,样品通道上靠近尾随液孔处设置有加样孔;铁蜡阀设置在提取通道与样品通道的连通位置,提取通道和样品通道靠近铁蜡阀处各设有一个排气孔;尾随液孔连接电源设备的正极;前导液孔连接电源设备的负极。本发明使用等速电泳的方式在微流控芯片上对核酸进行提取和浓缩,步骤简单,不易被污染,在相对较短的时间内获得高纯度的核酸。



1. 一种用于提取核酸的微流控芯片,包括:

芯片主体(1);

提取通道(9),设置在所述芯片主体(1)上,所述提取通道(9)的一端设有前导液孔(8),另一端与样品通道(10)连通,所述提取通道(9)上靠近所述前导液孔(8)处设置有提取孔(7);

所述样品通道(10),设置在所述芯片主体(1)上,所述样品通道(10)的一端设置有尾随液孔(3),所述样品通道(10)上靠近所述尾随液孔(3)处设置有加样孔(4);

铁蜡阀(6)设置在所述提取通道(9)与所述样品通道(10)的连通位置,所述提取通道(9)和所述样品通道(10)靠近所述铁蜡阀(6)处各设有一个排气孔(5);

其中,所述尾随液孔(3)设置有第一电极,用于连接电源设备的正极;所述前导液孔(8)设置有第二电极,用于连接所述电源设备的负极;

所述微流控芯片,还包括:底片(2),所述底片(2)与所述芯片主体(1)的底部密封连接;

所述样品通道(10)为S型结构,长度为190mm,进样体积为80 μ L,所述提取通道(9)长度为75mm;

所述芯片主体(1)的厚度为2.0mm-4.0mm,所述底片(2)的厚度为0.15mm-0.35mm,所述芯片主体(1)和所述底片(2)的长度和宽度分别为75mm和25mm;

所述尾随液孔(3)、所述加样孔(4)、所述提取孔(7)和所述前导液孔(8)的内径为1.5mm-2mm;所述排气孔(5)的内径为2mm-3mm。

2. 根据权利要求1所述的一种用于提取核酸的微流控芯片的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

使用高精度微铣床制造金属模具,通过注塑机或者液压机制造所述芯片主体(1);

将所述芯片主体(1)用含有0.5%Alconox的溶液超声清洗15min,用氮气将水吹干,放入温度设置为70℃的烘箱中干燥30min;

对所述芯片主体(1)的设有所述提取通道(9)和所述样品通道(10)的一侧做表面等离子体处理;

将所述芯片主体(1)和底片(2)通过热压键合法进行封装。

3. 根据权利要求1所述的一种用于提取核酸的微流控芯片的使用方法,其特征在于,包括以下步骤:

用铁蜡将所述提取通道(9)和所述样品通道(10)隔离,并密封所述铁蜡阀(6);

将前导液加入所述前导液孔(8),注满所述提取通道(9);

用压敏胶膜密封所述尾随液孔(3),将样品和裂解液加入所述加样孔(4),注满所述样品通道(10);

解封所述尾随液孔(3),从所述尾随液孔(3)处加入尾随液;

加热所述铁蜡,使所述铁蜡流入铁蜡阀(6),使所述提取通道(9)和所述样品通道(10)连通,在所述提取通道(9)和所述样品通道(10)连接处形成不同电泳淌度电解质的分界面;

所述尾随液孔(3)的第一电极连接电源设备的正极,所述前导液孔(8)的第二电极连接所述电源设备的负极;

通过所述电源设备供电使得带负电荷的核酸向所述前导液孔(8)方向移动,在所述提取孔(7)中收集所述核酸。

4. 根据权利要求3所述的一种用于提取核酸的微流控芯片的使用方法,其特征在于,所述前导液由盐酸和咪唑组成;
所述尾随液含有HEPES和咪唑。
5. 根据权利要求3所述的一种用于提取核酸的微流控芯片的使用方法,其特征在于,所述电源设备提供的电流为200uA-400uA。

一种用于提取核酸的微流控芯片及其制备方法和使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及医疗器械技术领域,具体涉及一种用于提取核酸的微流控芯片及其制备方法和使用方法。

背景技术

[0002] 核酸是生命的基本物质之一,而核酸提取是核酸检测的必要步骤。常见核酸提取纯化方法有液相萃取技术如苯酚-氯仿萃取技术和固相提取方法,包括离心柱法和磁珠法。固相提取方法需要在裂解过程中添加离液盐以破坏蛋白质(包括核酸酶)的稳定性,并解离核酸,从而使得核酸能够结合到硅胶柱或者磁珠表面,然后用缓冲液以去除未结合的分子,最后使用溶剂将结合的核酸从固体表面释放到溶液中。在最后的洗脱步骤中,磁珠或离心柱必须不含乙醇,残留乙醇将抑制后续核酸分析。因此,固相提取方法步骤繁琐耗时,并且在洗脱的过程中容易引入污染物。

发明内容

[0003] 因此,本发明要解决的技术问题在于克服现有技术中的提取核酸的方法步骤繁琐且耗时的缺陷,从而提供一种用于提取核酸的微流控芯片及其制备方法和使用方法。

[0004] 本发明的上述技术目的是通过以下技术方案得以实现的:

[0005] 一种用于提取核酸的微流控芯片,包括:

[0006] 芯片主体;

[0007] 提取通道,设置在所述芯片主体上,所述提取通道的一端设有前导液孔,另一端与样品通道连通,所述提取通道上靠近所述前导液孔处设置有提取孔;

[0008] 所述样品通道,设置在所述芯片主体上,所述样品通道的一端设置有尾随液孔,所述样品通道上靠近所述尾随液孔处设置有加样孔;

[0009] 铁蜡阀设置在所述提取通道与所述样品通道的连通位置,所述提取通道和所述样品通道靠近所述铁蜡阀处各设有一个排气孔;

[0010] 其中,所述尾随液孔设置有第一电极,用于连接电源设备的正极;所述前导液孔设置有第二电极,用于连接所述电源设备的负极。

[0011] 进一步的,一种用于提取核酸的微流控芯片还包括:底片,所述底片与所述芯片主体的底部密封连接。

[0012] 进一步的,所述样品通道为S型结构,长度为190mm,进样体积为80 μ L,所述提取通道长度为75mm。

[0013] 进一步的,所述芯片主体的厚度为2.0mm-4.0mm,所述底片的厚度为0.15mm-0.35mm,所述芯片主体和所述底片的长度和宽度分别为75mm和25mm。

[0014] 进一步的,所述尾随液孔、所述加样孔、所述提取孔和所述前导液孔的内径为1.5mm-2mm;所述排气孔的内径为2mm-3mm。

[0015] 一种用于提取核酸的微流控芯片的制备方法,包括以下步骤:

- [0016] 使用高精度微铣床制造金属模具,通过注塑机或者液压机制造所述芯片主体;
- [0017] 将所述芯片主体用含有0.5%Alconox的溶液超声清洗15min,用氮气将水吹干,放入温度设置为70℃的烘箱中干燥30min;
- [0018] 对所述芯片主体的设有所述提取通道和所述样品通道的一侧做表面等离子体处理;
- [0019] 将所述芯片主体和底片通过热压键合法进行封装。
- [0020] 一种用于提取核酸的微流控芯片的使用方法,包括以下步骤:
- [0021] 用铁蜡将所述提取通道和所述样品通道隔离,并密封所述铁蜡阀;
- [0022] 将前导液加入所述前导液孔,注满所述提取通道;
- [0023] 用压敏胶膜密封所述尾随液孔,将样品和裂解液加入所述加样孔,注满所述样品通道;
- [0024] 解封所述尾随液孔,从所述尾随液孔处加入尾随液;
- [0025] 加热所述铁蜡,使所述铁蜡流入铁蜡阀,使所述提取通道和所述样品通道连通,在所述提取通道和所述样品通道连接处形成不同电泳淌度电解质的分界面;
- [0026] 所述尾随液孔的第一电极连接电源设备的正极,所述前导液孔的第二电极连接所述电源设备的负极;
- [0027] 通过所述电源设备供电使得带负电荷的核酸向所述前导液孔方向移动,在所述提取孔中收集所述核酸。
- [0028] 进一步的,所述前导液由盐酸和咪唑组成;
- [0029] 所述尾随液含有HEPES和咪唑。
- [0030] 进一步的,所述电源设备提供的电流为200uA-400uA。
- [0031] 本发明技术方案,具有如下优点:
- [0032] 1、本发明在提取通道和样品通道的连通处设置铁蜡阀,控制不同电泳淌度电解质的分界面的形成,防止样品和裂解液与前导液在加入尾随液之前就混合在一起,保证核酸的提取量和纯度;在尾随液孔里设置第一电极,在前导液孔设置第二电极,并将第一电极连接在电源设备的正极,将第二电极连接在电源设备的负极,采用等速电泳的方式提取核酸,无需核酸和固相结合后的洗脱,避免从固相引入的污染物和结合物质不能洗脱的风险,从而可快速获得较高的核酸产量,使分析器件小型化,操作方便,提高自动化能力并缩短提取时间。
- [0033] 2、本发明在提取通道与样品通道的连通处设置铁蜡阀,用铁蜡以固体阻挡的方式将提取通道和样品通道隔离,待尾随液注入完成后,只需加热铁蜡使其液化并流入铁蜡阀即可进行核酸的提取,铁蜡阀的结构简单,相比于毛细阀等具有便于制造的显著优势。样品通道进样体积为80μL,可以一次性提取较多的核酸;样品通道长度190mm,足够长的通道便于在等速电泳过程时核酸的集中,便于核酸的提取;样品通道呈S型,既可以保证样品通道的长度和进样体积,还可以缩小芯片的体积,节约材料。
- [0034] 3、本发明的提取通道与样品通道在芯片主体和底片未封装时,实际上是以凹槽的形态存在于芯片主体上的,对芯片主体的设有提取通道和样品通道的一侧做表面等离子体处理,改变材料表面的特性即使其疏水性变为亲水性,在使用中,各种溶液可以在流道内顺利流动,以实现核酸的提取。

附图说明

[0035] 为了更清楚地说明本发明具体实施方式或现有技术中的技术方案,下面将对具体实施方式或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图是本发明的一些实施方式,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0036] 图1为本发明的整体结构示意图;

[0037] 图2为注入前导液的示意图;

[0038] 图3为注入样品液和裂解液的示意图;

[0039] 图4为注入尾随液的示意图;

[0040] 图5为核酸向前导液孔移动的示意图;

[0041] 图6为从提取孔提取核酸的示意图;

[0042] 附图标记说明:

[0043] 1-芯片主体;2-底片;3-尾随液孔;4-加样孔;5-排气孔;6-铁蜡阀;7-提取孔;8-前导液孔;9-提取通道;10-样品通道。

具体实施方式

[0044] 下面将结合附图对本发明的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0045] 在本发明的描述中,需要说明的是,术语“中心”、“上”、“下”、“左”、“右”、“竖直”、“水平”、“内”、“外”等指示的方位或位置关系为基于附图所示的方位或位置关系,仅是为了便于描述本发明和简化描述,而不是指示或暗示所指的装置或元件必须具有特定的方位、以特定的方位构造和操作,因此不能理解为对本发明的限制。此外,术语“第一”、“第二”、“第三”仅用于描述目的,而不能理解为指示或暗示相对重要性。

[0046] 在本发明的描述中,需要说明的是,除非另有明确的规定和限定,术语“安装”、“相连”、“连接”应做广义理解,例如,可以是固定连接,也可以是可拆卸连接,或一体地连接;可以是机械连接,也可以是电连接;可以是直接相连,也可以通过中间媒介间接相连,可以是两个元件内部的连通。对于本领域的普通技术人员而言,可以根据具体情况理解上述术语在本发明中的具体含义。

[0047] 此外,下面所描述的本发明不同实施方式中所涉及的技术特征只要彼此之间未构成冲突就可以相互结合。

[0048] 实施例1:

[0049] 如图1和图2所示,一种用于提取核酸的微流控芯片,包括:芯片主体1;提取通道9,设置在所述芯片主体1上,所述提取通道9的一端设有前导液孔8,另一端与样品通道10连通,所述提取通道9上靠近所述前导液孔8处设置有提取孔7;所述样品通道10,设置在所述芯片主体1上,所述样品通道10的一端设置有尾随液孔3,所述样品通道10上靠近所述尾随液孔3处设置有加样孔4;铁蜡阀6设置在所述提取通道9与所述样品通道10的连通位置,所述提取通道9和所述样品通道10靠近所述铁蜡阀6处各设有一个排气孔5;其中,所述尾随液孔3设置有第一电极,用于连接电源设备的正极;所述前导液孔8设置有第二电极,用于连接

所述电源设备的负极。

[0050] 芯片主体1上设有流道,流道包括提取通道9和样品通道10,流道是一个整体连通的液体通道,在提取通道9与样品通道10的连接处设置有铁蜡阀6,用铁蜡将连接处的流道密封,防止样品和裂解液与前导液在加入尾随液之前就混合在一起,保证在等速电泳过程中,大部分的带负电的核酸移动到提取孔7处,保证核酸的提取量和纯度;铁蜡同时密封铁蜡阀6,避免溶液在融化铁蜡之前流进铁蜡阀6。铁蜡阀6的结构简单,便于制模,相比于毛细阀等具有便于制造的显著优势。为了使溶液能流进流道并充满流道,在提取通道9与样品通道10靠近铁蜡阀6处各设有一个排气孔5,使流道内气压与外界相同;在提取通道9的另一端上设有前导液孔8,用于向提取通道9内注入前导液,在距前导液孔8的10—15mm处设有提取孔7,用来提取核酸;样品通道10的另一端上设有尾随液孔3,加样孔4设在距尾随液孔3的10—15mm处,在尾随液孔3里设置有第一电极,用于连接电源设备的正极;在前导液孔8设置有第二电极,用于连接电源设备的负极,电源。使用时,先从加样孔4处加入样品液和裂解液,再从尾随液孔3处加入尾随液,在提取通道9和样品通道10的连接处形成不同电泳淌度电解质的分界面;启动电源设备,电源设备供电,样品中的核酸带负电,在电极的作用下,带负电荷的核酸与带正电荷、不带电荷和较低电泳迁移率的带负电荷的杂质分离,向前导液孔8方向移动;最后在提取孔7处收集核酸。本发明设置提取通道9、样品通道10和铁蜡阀6,控制不同电泳淌度电解质的分界面的形成,防止样品和裂解液与前导液在加入尾随液之前就混合在一起,保证核酸的提取量和纯度;在尾随液孔3里设置第一电极,在前导液孔8设置第二电极,并将第一电极连接在电源设备的正极,将第二电极连接在电源设备的负极,采用等速电泳的方式提取核酸,无需核酸和固相结合后的洗脱,避免从固相引入的污染物和结合物质不能洗脱的风险,从而可快速获得较高的核酸产量,使分析器件小型化,操作方便,提高自动化能力并缩短提取时间。

[0051] 如图1所示,一种用于提取核酸的微流控芯片还包括:底片2,所述底片2与所述芯片主体1的底部密封连接。底片2和芯片主体1通过热压键合法进行封装,保证密封性。

[0052] 如图1和图2所示,所述样品通道10为S型结构,长度为190mm,进样体积为80 μ L,所述提取通道9长度为75mm。所述芯片主体1的厚度为2.0mm-4.0mm,所述底片2的厚度为0.15mm-0.35mm,所述芯片主体1和所述底片2的长度和宽度分别为75mm和25mm。所述尾随液孔3、所述加样孔4、所述提取孔7和所述前导液孔8的内径为1.5mm-2mm;所述排气孔5的内径为2mm-3mm。

[0053] 样品通道10的进样体积为80 μ L,可以一次性提取较多的核酸;样品通道10的长度190mm,足够长的通道便于在等速电泳过程时核酸的集中,便于核酸的提取;样品通道10呈S型,既可以保证样品通道10的长度和进样体积,还可以缩小芯片的体积,节约材料。除此之外,提取通道9长度为75mm,芯片主体1的厚度为2.0mm-4.0mm,所述底片2的厚度为0.15mm-0.35mm,芯片主体1和底片2的长度和宽度分别为75mm和25mm,尾随液孔3、加样孔4、提取孔7和所述前导液孔8的内径为1.5mm-2mm;排气孔5的内径为2mm-3mm,保证内外气压一致。

[0054] 一种用于提取核酸的微流控芯片的制备方法,包括以下步骤:

[0055] 使用高精度微铣床制造金属模具,通过注塑机或者液压机制造所述芯片主体1;

[0056] 将芯片主体1用含有0.5%Alconox的溶液超声清洗芯片主体1,时间为15min,再用氮气将水吹干,放入温度设置为70℃的烘箱中干燥30min;

[0057] 提取通道9与样品通道10在芯片主体1和底片2未封装时,实际上是以凹槽的形态存在于芯片主体1上的,对芯片主体1的设有提取通道9和样品通道10的一侧做表面等离子体处理,改变材料表面的特性,即使其疏水性变为亲水性,在使用中,各种溶液可以在流道内顺利流动,以实现核酸的提取;

[0058] 将芯片主体1和底片2通过热压键合法进行封装,保证密封性。

[0059] 如图1和图2所示,一种用于提取核酸的微流控芯片的使用方法,包括以下步骤:

[0060] 用铁蜡将提取通道9和样品通道10隔离,并密封所述铁蜡阀6,防止溶液进入铁蜡阀6;接着将前导液加入前导液孔8,使前导液注满提取通道9,前导液中离子的迁移率需要比带负电荷核酸的迁移率大,通常由盐酸和咪唑组成;

[0061] 如图3所示,将样品和裂解液加入加样孔4,使样品和裂解液注满样品通道10,加入样品和裂解液的过程中,用压敏胶膜密封尾随液孔3,防止样品和裂解液流入尾随液孔3和加样孔4之间的流道;

[0062] 如图4所示,解封尾随液孔3,并从尾随液孔3处加入尾随液;尾随液中离子的迁移率需要比带负电荷核酸的迁移率小,使用HEPES和咪唑配置;在核酸的提取和纯化中,HEPES的重复性比硼酸盐更好,有利于核酸的提取和纯化。

[0063] 如图5所示,加热铁蜡,使铁蜡流入铁蜡阀6,使提取通道9和样品通道10连通,在前导液和尾随液的作用下,在提取通道9和样品通道10的连接处形成不同电泳淌度电解质的分界面;

[0064] 如图5所示,使用等速电泳的方式对核酸进行提取和浓缩,尾随液孔3和前导液孔8通过铂丝电极分别接入电源设备的负极和正极,样品中的核酸带负电,在电极的作用下,带负电荷的核酸与带正电荷、不带电荷和较低电泳迁移率的带负电荷的杂质分离,向前导液孔8方向移动;

[0065] 如图6所示,使用等速电泳的方式对核酸进行提取和浓缩,电源设备提供的电流为200uA-400uA,当电流为200uA时,核酸在35分钟左右到达提取孔7处;当电流为300uA时,核酸在25分钟左右到达提取孔7处;当电流为400uA时,核酸在18分钟左右到达提取孔7处;因此电流为200uA-400uA时,核酸到达提取孔7处所需要的时间在18分钟-35分钟左右;当核酸到达提取孔7处时,关闭电流,在提取孔7中收集核酸,无需核酸和固相结合后的洗脱,避免从固相引入的污染物和结合物质不能洗脱的风险,从而可快速获得较高的核酸产量,使分析器件小型化,操作方便,提高自动化能力并缩短提取时间。

[0066] 显然,上述实施例仅仅是为清楚地说明所作的举例,而并非对实施方式的限定。对于所属领域的普通技术人员来说,在上述说明的基础上还可以做出其它不同形式的变化或变动。这里无需也无法对所有的实施方式予以穷举。而由此所引伸出的显而易见的变化或变动仍处于本发明的保护范围之内。

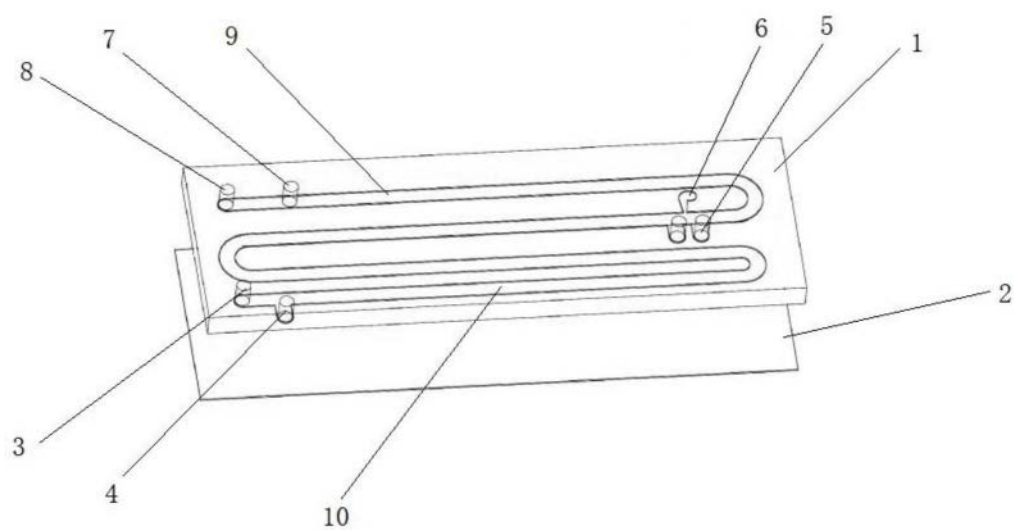


图1



图2

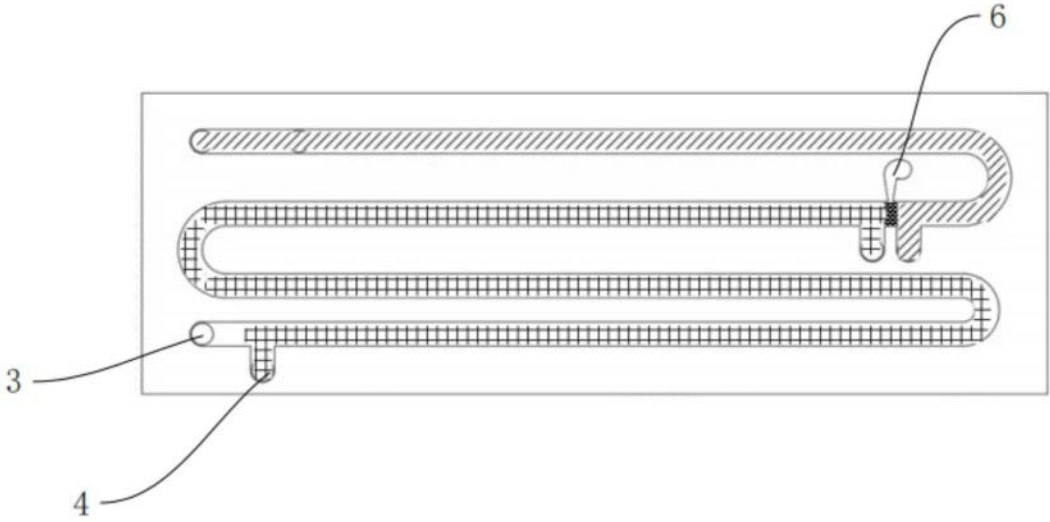


图3



图4

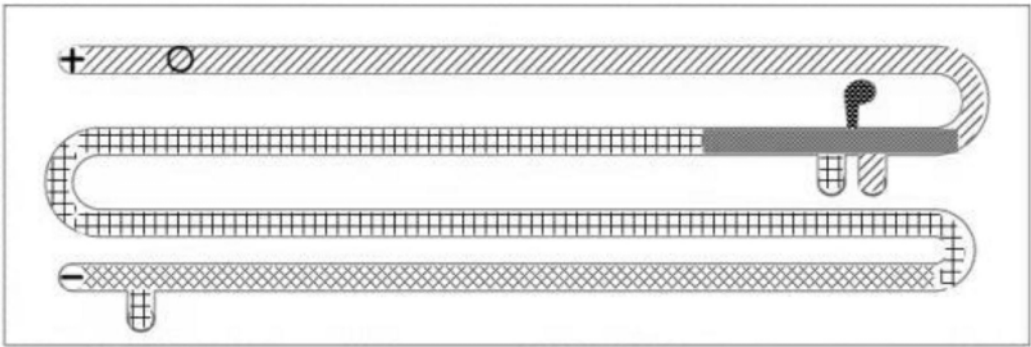


图5

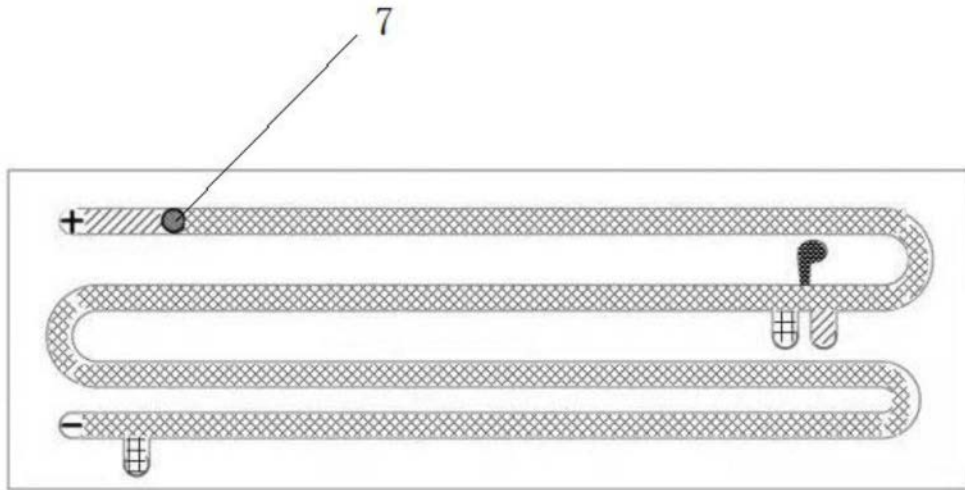


图6