(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 104704357 A
(43)申请公布日 2015.06.10

(21)申请号 201380050515.6
(22)申请日 2013.07.30
(30)优先权数据
61/677,368 2012.07.30 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.03.27
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2013/052764 2013.07.30
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2014/022422 EN 2014.02.06
(71)申请人 加利福尼亚大学董事会
地址 美国加利福尼亚
(72)发明人 徐志安
(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 11038
代理人 申发振
(51)Int.Cl.
G01N 27/414(2006.01)
G01N 27/30(2006.01)
G01N 33/483(2006.01)

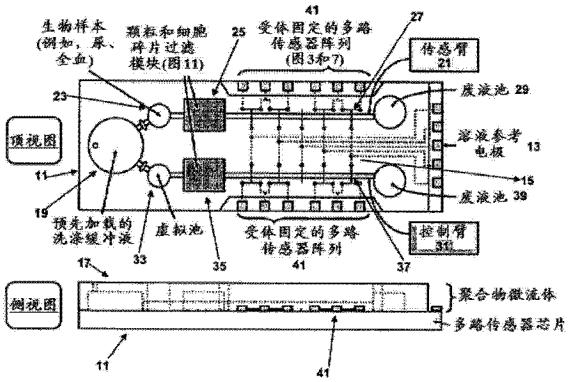
权利要求书3页 说明书14页 附图10页

(54)发明名称

生物分子检测的测试条设计

(57)摘要

本文描述了一种装置以及使用所述装置检测生物标志物的存在的方法，其中所述装置包括(a)基板，其包括多个电极；(b)多个纳米线场效应晶体管传感器，其在所述基板上集成或组装并且连接至所述电极；以及(c)微流体组件，其安置在所述基板上并且适于与nwFET传感器流体连通。



CN 104704357 A

1. 一种装置，其包括：

(a) 基板，其包括多个电极；

(b) 多个电子传感器，其在所述基板上集成或组装并且连接至所述电极；以及

(c) 微流体组件，其安置在所述基板上并且适于与所述电子传感器流体连通。

2. 如权利要求 1 所述的装置，其中所述微流体组件包括至少一个缓冲液池和连接至所述缓冲液池的至少一个传感臂，其中所述传感臂包括样品池、样品过滤模块以及适于与所述电子传感器中的至少一者流体连通的样品传感区域。

3. 如权利要求 2 所述的装置，其中所述缓冲液池包含离子强度小于 200mM 的至少一种缓冲液。

4. 如权利要求 2 所述的装置，其中所述样品过滤模块适于惯性过滤。

5. 如权利要求 2 所述的装置，其中所述微流体组件进一步包括连接至所述至少一个缓冲液池的至少一个控制臂，其中所述控制臂包括控制过滤模块、适于与所述电子传感器中的至少一者流体连通的控制传感区域以及任选的控制池。

6. 如权利要求 5 所述的装置，其中所述微流体组件进一步包括连接至所述传感臂和所述控制臂的至少一个废液池。

7. 如权利要求 1 所述的装置，其中所述基板包含至少一种选自由聚合物和半导体组成的群组的材料。

8. 如权利要求 1 所述的装置，其中所述电子传感器中的至少一者在所述基板上集成。

9. 如权利要求 1 所述的装置，其中所述电子传感器中的至少一者是在所述基板上组装的芯片的一部分。

10. 如权利要求 1 所述的装置，其中所述传感器中的至少一者是包括 T 形结构的纳米线场效应晶体管 (nwFET) 传感器，所述 T 形结构包括横向纳米线 FET 放大器和连接至所述横向纳米线 FET 放大器的纵向传感纳米线。

11. 如权利要求 10 所述的装置，其中所述传感纳米线和任选的连接所述传感纳米线与纳米线 FET 放大器的节点包含固定在上面的适于结合至生物标志物的受体。

12. 一种装置，其包括：

(a) 基板，其包括多个电极；

(b) 多个纳米线场效应晶体管 (nwFET) 传感器，其嵌入或安置在所述基板上并且连接至所述电极，其中所述 nwFET 传感器中的每一者包括 T 形结构，所述 T 形结构包括横向纳米线 FET 放大器和连接至所述横向纳米线 FET 放大器的纵向传感纳米线，其中所述传感纳米线和任选的连接所述传感纳米线与纳米线 FET 放大器的节点包含固定在上面的受体，并且其中所述纳米线 FET 放大器被钝化；以及

(c) 微流体组件，其安置在所述基板上并且适于与所述 nwFET 传感器流体连通，所述微流体组件包括：

(i) 至少一个缓冲液池，其包含至少一种缓冲液；

(ii) 至少一个传感臂，其连接至所述至少一个缓冲液池，所述传感臂包括样品池、包括尺寸大于待过滤的细胞的至少一个通道的惯性样品过滤模块以及适于与所述 nwFET 传感器中的至少一者流体连通的样品传感区域；

(iii) 至少一个控制臂，其连接至所述至少一个缓冲液池，所述控制臂包括惯性控制过

滤模块、适于与所述 nwFET 传感器中的至少一者流体连通的控制传感区域以及任选的控制池 ;以及

(iv) 至少一个废液池,其连接至所述传感臂和所述控制臂,并且其中所述微流体组件界定 (i) 至 (iv) 的流程方向。

13. 一种检测生物标志物的存在的方法,其包括 :

提供包括以下的装置 :(a) 基板,其包括多个电极 ;(b) 多个电子传感器,其在所述基板上集成或组装并且连接至所述电极 ;以及 (c) 微流体组件,其安置在所述基板上并且适于与所述电子传感器流体连通 ;以及

将生物样品引入所述微流体组件中,其中所述微流体组件引导所述生物样品的流接触所述电子传感器中的至少一者,并且其中所述生物标志物的存在在所述电子传感器中的所述至少一者处引起信号变化。

14. 如权利要求 13 所述的方法,其中所述微流体组件包括连接至至少一个缓冲液池的至少一个传感臂,所述缓冲液池包含至少一种缓冲液 ;其中所述传感臂包括样品池、样品过滤模块以及适于与所述电子传感器中的至少一者流体连通的样品传感区域 ;并且

其中将所述生物样品引入所述样品池中以接触从所述缓冲液池流出的所述缓冲液的液流。

15. 如权利要求 14 所述的方法,其进一步包括在引入所述生物样品之前从所述缓冲液池释放所述缓冲液。

16. 如权利要求 14 所述的方法,其中所述样品过滤模块适于惯性过滤,并且其中与所述缓冲液混合的所述生物样品在进入所述样品传感区域之前经所述过滤模块过滤。

17. 如权利要求 14 所述的方法,其中所述微流体组件进一步包括连接至所述至少一个缓冲液池的至少一个控制臂 ;其中所述控制臂包括控制过滤模块、适于与所述电子传感器中的至少一者流体连通的控制传感区域以及任选的控制池 ;并且

其中不将所述生物样品引入所述控制臂中。

18. 如权利要求 13 所述的方法,其中所述传感器中的至少一者是包括 T 形结构的纳米线场效应晶体管 (nwFET) 传感器,所述 T 形结构包括横向纳米线 FET 放大器和连接至所述横向纳米线 FET 放大器的纵向传感纳米线,并且其中所述传感纳米线和任选的连接所述传感纳米线与纳米线 FET 放大器的节点包含固定在上面的适于结合至所述生物标志物的受体。

19. 一种固定受体的方法,其包括

将微流体层安置在包括多个电极和连接至所述电极的多个纳米线场效应晶体管 (nwFET) 传感器的基板上,其中所述微流体层包括适于与所述 nwFET 传感器流体连通的单个或多个通道 ;以及

将所述受体的溶液添加至所述通道中的至少一者中,其中所述受体接触并结合至所述 nwFET 传感器中的至少一者。

20. 如权利要求 13 所述的方法,其进一步包括使所述电子传感器中的至少一者与包含浓度低于所述生物样品的所述生物标志物的至少一种第一参考溶液接触,这在所述电子传感器中的至少一者中引起至少一个第一信号变化,所述第一信号变化充当用于定量所述生物样品中的所述生物标志物的至少一个第一参考点 ;以及任选地,使所述电子传感器中的

至少一者与包含浓度高于所述生物样品的所述生物标志物的至少一种第二参考溶液接触，这在所述电子传感器中的至少一者中引起至少一个第二信号变化，所述第二信号变化充当用于定量所述生物样品中的所述生物标志物的至少一个第二参考点。

21. 如权利要求 20 所述的方法，其包括将所述至少一种第一参考溶液引入所述微流体组件中，所述微流体组件引导所述第一参考溶液的流接触所述电子传感器中的至少一者；以及任选地，将所述至少一种第二参考溶液引入所述微流体组件中，所述微流体组件引导所述第二参考溶液的流接触所述电子传感器中的至少一者。

生物分子检测的测试条设计

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2012年7月30日提交的美国临时申请序列号61/677,368的权益，这个临时申请特此以全文引用的方式并入。

背景技术

[0003] 酶联免疫吸附试验(ELISA)是基于实验室的体外诊断(IVD)工具和临床黄金标准，其检测生物样本中如抗原或抗体的靶蛋白的存在。这种检测方法可以提供定量或定性结果。这种方法高度灵敏，但需要重大的资本设备和受过培训的技术人员来操作，因为其通常需要多个处理步骤。ELISA因此不可便携并且花费大量时间来产生结果。这些限制集合起来要求新的IVD技术，这些新技术允许更便宜、更高频率并且更灵敏的诊断来改进临床诊断的成本效益和治疗结果。

发明内容

[0004] 本发明的许多实施方案涉及一种用于生物分子检测的半导体电子无标记试验(Semiconductor Electronic Label-Free Assay；SELFA)测试条装置，其包括：(a)基板，其包括多个电极；(b)多个电子传感器，如场效应晶体管(FET)传感器或纳米线场效应晶体管(nwFET)传感器，其在基板上集成或组装并且连接至电极；以及(c)微流体组件，其安置在基板上并且适于与电子传感器流体连通。

[0005] 在一个实施方案中，微流体组件包括传感臂。在一个实施方案中，微流体组件进一步包括在传感臂上游的缓冲液池。在一个实施方案中，传感臂包括样品池、在样品池下游的样品过滤模块以及在样品过滤模块下游的样品传感区域。样品传感区域可以适于与电子传感器中的至少一者流体连通。

[0006] 在一个实施方案中，微流体组件进一步包括控制臂。在一个实施方案中，控制臂连接至在传感臂上游的相同缓冲液池。在另一个实施方案中，控制臂连接至独立的缓冲液池。在一个实施方案中，控制臂包括任选的控制池、在任选的控制池下游的控制过滤模块以及在控制过滤模块下游的控制传感区域。控制传感区域可以适于与电子传感器中的至少一者流体连通。

[0007] 在一个实施方案中，缓冲液池包含至少一种缓冲液。缓冲液的离子强度可以例如小于200mM，或小于100mM，或小于50mM，或小于20mM。缓冲液可以从缓冲液池释放至传感臂和/或控制臂中以接触电子传感器。

[0008] 适于从生物样品过滤细胞/碎片的任何过滤模块可以用作样品过滤模块。在一个实施方案中，样品过滤模块是惯性过滤模块。惯性过滤模块可以包括例如尺寸大于待过滤的细胞/碎片的通道。惯性过滤模块可以包括例如扩大的微通道。惯性过滤模块可以包括例如(i)聚焦的微通道，其尺寸小于上游通道以提供惯性升力；(ii)扩大的微通道，其在聚焦的微通道下游用于指引细胞/碎片沿着扩大的通道壁经受所述惯性升力；以及(iii)收集模块，其在扩大的微通道下游用于使细胞/碎片绕道进入一个或多个旁通道中，同时允

许其余生物样品流过并进入传感区域。

[0009] 适于从生物样品过滤细胞 / 碎片的任何过滤模块可以用作控制过滤模块。在一个实施方案中，控制过滤模块也是惯性过滤模块。

[0010] 在一个实施方案中，微流体组件进一步包括至少一个废液池。废液池可以连接至传感臂和 / 或控制臂。一个实施方案包括在样品传感区域下游的第一废液池和在控制传感区域下游的第二废液池。另一个实施方案包括在样品传感区域与控制传感区域下游的单个废液池。

[0011] 在一个实施方案中，微流体组件进一步包括至少一个参考池。参考池可以连接至传感臂和 / 或控制臂。一个实施方案包括在样品传感区域上游的第一参考池和在控制传感区域上游的第二参考池。另一个实施方案包括在样品传感区域与控制传感区域上游的单个参考池。参考池可以例如放置在传感臂和 / 或控制臂的过滤模块下游。参考池可以包含例如已知浓度的至少一种参考溶液。

[0012] 在一个实施方案中，微流体组件进一步包括毛细泵。

[0013] 在一个实施方案中，测试条装置的基板包含至少一种聚合物材料。在另一个实施方案中，基板包含至少一种半导体材料。

[0014] 在一个实施方案中，电子传感器中的至少一者在基板上集成。在另一个实施方案中，电子传感器中的至少一者是在基板上组装的芯片的一部分。测试条装置可以包括在基板上集成或组装的至少 2 个、至少 4 个、至少 6 个、至少 12 个或至少 48 个电子传感器。

[0015] 在一个实施方案中，测试条装置进一步包括在基板顶上的钝化层和安置在上面并且在微流体通道下面的电子传感器。钝化层可能仅暴露内部的传感纳米线区域和边缘处的电衬垫。

[0016] 在一个实施方案中，电子传感器中的至少一者是包括 T 形结构的 nwFET 传感器，这种 T 形结构包括横向纳米线 FET 放大器和连接至横向纳米线 FET 放大器的纵向传感纳米线。横向纳米线 FET 放大器可以具有连接至源极电极的第一末端和连接至漏极电极的第二末端。纵向传感纳米线可以具有连接至横向纳米线 FET 放大器以形成节点的第一末端和连接至基极电极的第二末端。

[0017] 在一个实施方案中，传感纳米线的第一末端以介于约 10° 与 170° 之间、40° 与 140° 之间或 70° 与 110° 之间的角连接至纳米线 FET 放大器以形成节点。传感线与纳米线 FET 放大器之间的角可以约为小于约或大于约 10°、40°、70°、80°、90°、110°、140° 或 170°。在另一个实施方案中，传感纳米线基本上与纳米线 FET 放大器正交。在一个实施方案中，传感纳米线与纳米线 FET 放大器形成锐角或钝角。本文所提及的角可以是在传感纳米线与纳米线 FET 放大器之间形成的两个角之一。两个角可能互为补角，以使得第一角与第二角的和为 180°。或者，两个角可能不互为补角。两个角可以相等或不相等。举例来说，两个角都可以为约 45°，或一个角可以为约 45° 并且另一个可以为约 90°。

[0018] 在一个实施方案中，传感纳米线和纳米线 FET 放大器具有大约相同的尺寸。在另一个实施方案中，传感纳米线和纳米线 FET 放大器的宽度独立地各自处于约 10nm 至约 3000nm 的范围内，或处于约 50nm 至约 1000nm 的范围内，或处于约 100nm 至约 500nm 的范围内。

[0019] 在一个实施方案中，nwFET 传感器进一步包括具有第一末端和第二末端的第二传

感纳米线，其中第二传感纳米线的第一末端连接至纳米线 FET 放大器以形成节点，并且第二传感纳米线的第二末端连接至第二基极电极。在一个实施方案中，第一传感纳米线和第二传感纳米线在相同节点处连接至纳米线 FET 放大器。

[0020] 在一个实施方案中，nwFET 传感器进一步包括具有第一末端和第二末端的第三传感纳米线，其中第三传感纳米线的第一末端连接至纳米线 FET 放大器以形成节点，并且第三传感纳米线的第二末端连接至第三基极电极。

[0021] 在一个实施方案中，nwFET 传感器可以经由钝化与周围环境隔绝，但传感纳米线表面和任选的在连接传感纳米线与纳米线 FET 放大器的节点处和节点附近的表面除外。

[0022] 在一个实施方案中，传感纳米线表面和任选的在连接所述传感纳米线与纳米线 FET 放大器的节点处和节点附近的表面用多个固定的受体进行衍生处理。固定的受体可以包含游离氨基、游离羧基、游离羟基或其组合。

[0023] 在一个实施方案中，传感纳米线表面和任选的在连接所述传感纳米线与纳米线 FET 放大器的节点处和节点附近的表面包含固定在上面的适于结合至生物标志物的受体。可以靶向适用于临床诊断应用的任何生物标志物。

[0024] 在一个实施方案中，受体可以结合至与骨髓移植中的免疫调节和抑制相关的生物标志物，如 CD4、CD14、CD25、叉头框蛋白 P3(FoxP3)、颗粒酶 B、核因子 κB 激酶亚单位 β 的抑制剂 (IKKβ)、干扰素 α (IFN-α)、IFN-γ、白介素 2(IL-2)、IL-4、IL-6、IL-10、IL-12、IL-17、单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)、髓性分化初级应答基因 88(MyD88)、核因子 κB(NFκB)、穿孔素、含 TIR 结构域接头诱导干扰素 β (TRIF)、toll 样受体 4(TLR4)、转化生长因子 β (TGF-β) 以及肿瘤坏死因子 α (TNF-α)。

[0025] 在另一个实施方案中，受体可以结合至与骨髓细胞的同种异体排斥中的先天免疫相关的生物标志物，如 FoxP3、热休克蛋白 (HSP)、高迁移率族 1 框 1 蛋白 (HMGB1)、透明质酸 (hyaluronan)、I 型 IFN、IFN-α、IFN-β、IFN-γ、干扰素 γ 诱导的蛋白 10(IP-10)、具有三十四肽重复的干扰素诱导蛋白 1(Ifit1)、Ifit2、IL-1β、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-12、IL-17、IL-21、IL-23、MCP-1、MyD88、活化后调控的正常 T 细胞表达和分泌因子 (RANTES)、TLR4、TRIF 以及 TNF-α。

[0026] 在另一个实施方案中，受体可以结合至与骨骼肌损伤和再生相关的生物标志物，如肌酸激酶、脂肪酸结合蛋白 (FABP)、肌肌钙蛋白、肌红蛋白和肌球蛋白轻链 1(MLC-1)。在另一个实施方案中，受体可以结合至与血管损伤和再生相关的生物标志物，如 C 反应蛋白 (CRP)、E 选择素、细胞间粘附分子 1(ICAM-1)、ICAM-3、P 选择素、血清淀粉样蛋白 A(SAA)、血栓调节蛋白以及血管细胞粘附分子 1(VCAM-1)。在另一个实施方案中，受体可以结合至与脊髓损伤和再生相关的生物标志物，如 CRP、促红细胞生成素 (EPO)、IL-2、IL-2 受体 (IL-2R)、IL-8、瘦素、基质金属蛋白酶 9(MMP-9)、MCP-1、神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、磷酸化神经丝 H(pNFH)、S100 钙结合蛋白 B(S100B) 以及 TNF-α。在另一个实施方案中，受体可以结合至与脊神经根损伤和再生相关的生物标志物，如胱抑素 C、维生素 D 结合蛋白 (DBP)、透明质酸、MMP-9、神经丝轻亚单位 (NFL)、痛敏肽 (nociceptin)、S100、可溶性 TNF 受体 1(sTNFR1)、四连接素 (tetranectin) 以及 TNF-α。

[0027] 在一个实施方案中，装置的多个 nwFET 传感器可以结合至至少 2 种、至少 4 种、至少 6 种或至少 12 种不同生物标志物以同时检测其在样品中的存在。

[0028] 在一个实施方案中，装置包括：(a) 基板，其包括多个电极；(b) 多个纳米线场效应晶体管 (nwFET) 传感器，其嵌入或安置在基板上并且连接至电极，其中 nwFET 传感器中的每一者包括 T 形结构，这种 T 形结构包括横向纳米线 FET 放大器和连接至横向纳米线 FET 放大器的纵向传感纳米线，其中传感纳米线以及任选的连接所述传感纳米线与纳米线 FET 放大器的节点包含固定在上面的受体，并且其中纳米线 FET 放大器被钝化；以及 (c) 微流体组件，其安置在基板上并且适于与 nwFET 传感器流体连通，这种微流体组件包括：(i) 至少一个缓冲液池，其包含至少一种缓冲液；(ii) 至少一个传感臂，其连接至至少一个缓冲液池，所述传感臂包括样品池、包括尺寸大于待过滤的细胞的至少一个通道的样品过滤模块以及适于与 nwFET 传感器中的至少一者流体连通的样品传感区域；(iii) 至少一个控制臂，其连接至至少一个缓冲液池，所述控制臂包括控制过滤模块、适于与 nwFET 传感器中的至少一者流体连通的控制传感区域以及任选的控制池；以及 (iv) 至少一个废液池，其连接至传感臂和控制臂，并且其中微流体组件界定 (i) 至 (iv) 的流程方向。

[0029] 在一个实施方案中，测试条装置的输出可经由接口装置下载至电子装置。

[0030] 本发明的其它实施方案涉及一种检测生物标志物的存在的方法，其包括：(A) 提供包括以下的装置：(a) 基板，其包括多个电极；(b) 多个电子传感器，如场效应晶体管 (FET) 传感器或纳米线场效应晶体管 (nwFET) 传感器，其在基板上集成或组装并且连接至电极；以及 (c) 微流体组件，其安置在基板上并且适于与电子传感器流体连通；以及 (B) 将生物样品引入微流体组件中，其中这种微流体组件引导生物样品的流接触电子传感器中的至少一者，并且其中生物标志物的存在在电子传感器中的至少一者处引起信号变化。

[0031] 在一个实施方案中，微流体组件包括连接至至少一个缓冲液池的至少一个传感臂，所述缓冲液池包含至少一种缓冲液；其中传感臂包括用于接收生物样品的样品池、样品过滤模块以及适于与电子传感器中的至少一者流体连通的样品传感区域；并且其中将生物样品引入样品池中以接触从缓冲液池流出的缓冲液的液流。

[0032] 在一个实施方案中，这种方法进一步包括在引入生物样品之前从缓冲液池释放缓冲液。

[0033] 在一个实施方案中，样品过滤模块适于惯性过滤，并且其中与缓冲液混合的生物样品在进入样品传感区域之前经过滤模块过滤。

[0034] 在一个实施方案中，微流体组件进一步包括连接至至少一个缓冲液池的至少一个控制臂；其中控制臂包括控制过滤模块、适于与 nwFET 传感器中的至少一者流体连通的控制传感区域以及任选的控制池；并且其中不将生物样品引入控制池中。

[0035] 在一个实施方案中，电子传感器中的至少一者是包括 T 形结构的 nwFET 传感器，这种 T 形结构包括横向纳米线 FET 放大器和连接至横向纳米线 FET 放大器的纵向传感纳米线，并且其中传感纳米线包含固定在上面的适于结合至生物标志物的至少一种受体。

[0036] 在一个实施方案中，这种方法进一步包括使电子传感器中的至少一者与包含浓度低于生物样品的生物标志物的第一参考溶液接触，这在电子传感器中的至少一者中引起第一信号变化，所述第一信号变化充当用于定量生物样品中的生物标志物的第一参考点。在一个实施方案中，使用包含较低浓度的生物标志物的至少两种、至少三种或至少四种不同参考溶液来产生用于定量生物样品中的生物标志物的参考点。

[0037] 在一个实施方案中，这种方法进一步包括使电子传感器中的至少一者与包含浓度

高于生物样品的生物标志物的第二参考溶液接触，这在电子传感器中的至少一者中引起第二信号变化，所述第二信号变化充当用于定量生物样品中的生物标志物的第二参考点。在一个实施方案中，使用包含较高浓度的生物标志物的至少两种、至少三种或至少四种不同参考溶液来产生用于定量生物样品中的生物标志物的参考点。

[0038] 在一个实施方案中，将第一和 / 或第二参考溶液引入微流体组件中，这种微流体组件引导第一和第二参考溶液的流接触电子传感器。在一个实施方案中，将第一和 / 或第二参考溶液预先加载至在传感臂的样品传感区域上游和 / 或在控制臂的控制传感区域上游的一个或多个参考池中，其中所述参考池适于在引入生物样品之前和 / 或之后进入传感区域。

[0039] 在一个实施方案中，这种方法包括 (A) 提供包括以下的装置 :(a) 基板，其包括多个电极 ;(b) 多个纳米线场效应晶体管 (nwFET) 传感器，其嵌入或安置在基板上并且连接至电极，其中 nwFET 传感器中的每一者包括 T 形结构，这种 T 形结构包括连接至横向纳米线 FET 放大器的纵向传感纳米线，其中传感纳米线以及任选的连接所述传感纳米线与纳米线 FET 放大器的节点包含固定在上面的适于结合至生物标志物的受体，并且其中纳米线 FET 放大器被钝化 ;以及 (c) 微流体组件，其安置在基板上并且适于与 nwFET 传感器流体连通，这种微流体组件包括 :(i) 至少一个缓冲液池，其包含至少一种缓冲液 ;(ii) 至少一个传感臂，其连接至至少一个缓冲液池，所述传感臂包括样品池、包括尺寸大于待过滤的细胞的至少一个通道的样品过滤模块以及适于与 nwFET 传感器中的至少一者流体连通的样品传感区域 ;(iii) 至少一个控制臂，其连接至至少一个缓冲液池，所述控制臂包括任选的控制池、控制过滤模块以及适于与 nwFET 传感器中的至少一者流体连通的控制传感区域 ;以及 (iv) 一个或多个废液池，其连接至传感臂和控制臂，并且其中微流体组件界定 (i) 至 (iv) 的流程方向 ;(B) 从缓冲液池释放缓冲液 ;以及 (C) 将生物样品添加至样品池中以接触从缓冲液池流出的缓冲液的液流 ;其中与缓冲液混合的生物样品在进入传感区域之前经样品过滤模块过滤 ;并且其中与缓冲液混合的生物样品在样品传感区域处接触 nwFET 传感器的传感纳米线，并且其中生物标志物与固定在传感纳米线上的受体之间的结合在 nwFET 传感器中的至少一者处引起信号变化。

[0040] 本发明的额外实施方案涉及一种固定受体的方法，其包括 (A) 将微流体层安置在包括多个电极和连接至这些电极的多个电子传感器的基板上，这些电子传感器如场效应晶体管 (FET) 传感器或纳米线场效应晶体管 (nwFET) 传感器，其中微流体层包括适于与电子传感器流体连通的多个通道 ;以及 (B) 将受体的溶液添加至这些通道中的至少一者中，其中这种受体接触并结合至电子传感器中的至少一者。在一个实施方案中，至少 2 种、至少 4 种、至少 6 种或至少 12 种不同受体同时并选择性地固定在多个电子传感器上。

[0041] 本文所描述的至少一些实施方案的至少一个优点在于由于无成像的传感形态而不需要庞大的光学基础结构。与所选的光学试验相比，可以排除对荧光标记的需要，并且因此可以排除额外试剂和偶联步骤。

[0042] 本文所描述的至少一些实施方案的至少另一个优点在于涉及很少的或不涉及基于酶的电化学放大，使得酶试剂和其偶联不再是必需的。因此，对于床边施用预期到极快速的周转时间 (TAT)。

[0043] 本文所描述的至少一些实施方案的至少另一个优点在于测试条平台可以直接与

读出电子学对接，从而不需要技术人员，这与临床 ELISA 测试形成对比。

[0044] 本文所描述的至少一些实施方案的至少另一个优点是处理简便的微流体，其可以用缓冲溶液预先加载并且基于惯性过滤过滤出细胞 / 碎片。它是稳固的并且抗堵塞，这是因为惯性过滤是用尺寸大于待去除的细胞 - 碎片的通道来操作。

[0045] 本文所描述的至少一些实施方案的至少另一个优点是稳固的检测程序，其包括在生理流体中的目标分析物结合作为第一步骤以及在经过纯化的低离子强度缓冲液中的生物分子至电信号的转导作为第二步骤。这减少了其它基于 FET 的传感溶液所禁止的电荷屏蔽问题，并且同时减轻了与干扰分析物的非特异性竞争结合问题。

[0046] 本文所描述的至少一些实施方案的至少另一个优点是自参考的数据采集平台。测试条双臂设计允许在具有目标分析物和干扰物的传感臂与基本上仅具有经过纯化的缓冲液的控制臂之间进行差动测量。这种设计可以有效地抑制任何系统和 / 或环境波动诱导的测量误差，并且可以提高总体检测信噪 (SNR) 比。

附图说明

[0047] 图 1 示出了包括顶视图与侧视图的半导体电子无标记试验 (SELFA) 测试条构造的一个实例。其包括在多路传感器半导体（或聚合物）芯片上方组装的聚合物处理微流体。电极可从 SELFA 接口触点的顶部接取。

[0048] 图 2 示出了 SELFA 测试条的一个实例的 (A) 设计图和 (B) 芯片照片，这种测试条能够进行多路体外诊断用于临床诊断应用，如移植后免疫评估和损伤生物标志物板块。

[0049] 图 3 示出了具有高灵敏度的 T-nwFET 传感器的一个实例的扫描电子显微照片 (SEM)。

[0050] 图 4 示出了 T-nwFET 传感器的一个实例的等效电路。

[0051] 图 5 示出了使用 T-nwFET 传感器的一个实例的 PSA(A) 和 cTnI(B) 的高灵敏度检测。

[0052] 图 6 示出了在使用商业的 ELISA 试剂盒和 T-nwFET LOC 传感器的一个实例的细胞因子 (IL-1β) 检测中的并排比较。T-nwFET 传感器展现比 ELISA 约低 2 个数量级的检测限 (LOD)（以及比 I-nwFET 传感器对照约低 10 倍的 LOD)。

[0053] 图 7 示出了测试条基板配置的一个实例。(A) 图像是示出在相同刚性硅晶片平台（棕色）上的集成的多路 nwFET 生物传感器阵列和电互连的远景图的一个实例。在顶上的透明层是仅暴露内部的传感纳米线区域（见图 3) 和外围的接触衬垫的钝化层。(B) 图像是测试条的多路生物传感器阵列部分的所制造的示例性装置的纳米制造布局和芯片照片。

[0054] 图 8 示出了同时和选择性的受体固定方案的一个实例。在测试条的表面上方附着的具有平行并隔开的入口、通道和出口的微流体层有助于特异性受体（例如，针对 IFN-γ、IL-2、FoxP3、TNF-α 的抗体）同时并选择性地固定至多路阵列内的每个个别的 nwFET 生物传感器。

[0055] 图 9 示出了预先制造的 nwFET 生物传感器芯片的组装的一个实例，其中不同和独立的受体（例如，针对 IFN-γ、IL-2、FoxP3、TNF-α 的抗体）固定至单个聚合物基板平台中。在组装后形成电互连。

[0056] 图 10 示出了 SELFA 测试条的示例性远景图。这种配置具有上面嵌入有受体预先

固定的 nwFET 生物传感器芯片的阵列的聚合物基板。简单处理微流体附着在顶部表面上。

[0057] 图 11 示出了使用具有已知浓度的参考溶液执行运行时间自校准方案的示例性程序。

[0058] 图 12 示出了示例性自校准结果。黑色正方形是来自已知浓度的目标分析物参考溶液。红色三角形是来自盲分析物样品。

具体实施方式

[0059] 本文所引用的所有参考文献特此以全文引用的方式并入。

[0060] 虽然本文中指定了某些条件和准则，但应了解，这些条件和准则适用于本公开的一些实施方案，并且这些条件和准则可以被放宽或以其它方式加以修改用于本公开的其它实施方案。

[0061] 虽然本发明已经参考其特定的实施方案加以描述，但本领域的技术人员应了解，在不脱离如随附权利要求书所界定的本发明的真正精神和范围的情况下可以作出各种改变并且可以取代等效物。另外，可以作出许多修改以使特定情形、材料、物质的组合物、方法、操作适于本发明的目的、精神和范围。所有此类修改都打算处于本发明随附的权利要求书的范围内。具体地说，虽然某些方法已经参考以特定次序进行的特定操作加以描述，但应了解，在不脱离本发明的教义的情况下这些操作可以组合、细分或重新排序以形成等效方法。因此，除非本文中有特定指示，否则操作的次序和分组不是本发明的限制。

[0062] 测试条装置

[0063] 如图 1 中所示，本文所描述的 SELFA 测试条装置可以包括在测试条基板 (11) 顶上组装的微流体组件 (17)，这个基板上面嵌入有用相应的特异性受体预先固定的多路电子传感器，如 nwFET 生物传感器 (41)。测试条基板可以是例如具有集成的电子传感器的刚性硅晶片或用于小传感器芯片组装的可弯曲聚合物。处理简便的微流体组件可以允许无缝的样品制备以及在最少的使用者操作并且没有庞大的机械化泵下移动通过系统。

[0064] 基板 (11) 可以包括例如多个电极 (13)。电子传感器 (41) 与电极 (13) 可以经由电互连 (15) 连接。

[0065] 微流体组件 (17) 可以包括例如用于容纳缓冲液的缓冲液池 (19)，以及在缓冲液池 (19) 下游的传感臂 (21) 和控制臂 (31)。传感臂 (21) 可以包括例如用于接收生物样品的样品池 (23)、样品过滤模块 (25) 以及适于与电子传感器中的至少一者流体连通的样品传感区域 (27)。控制臂 (31) 可以包括例如任选的控制池 (33) 或虚拟池、控制过滤模块 (35) 以及适于与电子传感器中的至少一者流体连通的控制传感区域 (37)。微流体组件可以进一步包括例如在传感臂 (21) 和控制臂 (31) 下游的一个或多个废液池 (29、39)。

[0066] SELFA 测试条装置可以用最必需的试剂预先加载，以使得最终使用者除了生物样品或生物样本之外不需要引入额外试剂或需要引入最少的额外试剂。新颖的纳米电子生物传感器的独特组合、在低盐控制缓冲液中的数据采集以及针对内置控制的差动测量可以得到高的检测灵敏度。“缓冲液中传感”程序还可以产生高的检测特异性，这是由于基本上不存在交叉反应的干扰物以及预先结合的干扰物的快速解吸动力学。在取样之后，可以将 SELFA 测试条装置插入通用接口 (例如，USB) 中用于经由使用者的电脑或智能电话读出。SELFA 测试条装置出于卫生原因可以是一次性的，而装置本身不含生物有害的材料并且可

以通过适当再收集而再循环。SELFA 测试条装置可以通过一步或多步测试程序来操作，这种程序不需要受过培训的人员来执行或将生物样本运输回中心实验室。此外，SELFA 测试条装置允许在小于 20 分钟的 TAT 下从 <100 μL 的使用者血清或体液进行多种生物标志物浓度的同时定量。

[0067] 本文所描述的 SELFA 测试条装置的创新而独特的特征包括如下：(I) 新颖的纳米电子生物传感器：创新的 nwFET 传感器结构内部无缝地集成传感纳米线和纳米线 FET 放大器（图 3）。在传感器前端发生的经过转导的电信号的生物分子检测和低噪声放大可以基本上提高传感器级灵敏度，继而可以降低检测限 (LOD) 与定量限 (LOQ)。此外，灵敏度和动态范围 (DR) 属性必要时在运行时间下是电调谐的。(II) 简单处理微流体：创新的流体构造使用细胞 / 碎片的惯性过滤依序组合程序化的毛细流。这种独特的组合可以在加载样品以供分析之后提供简单的致动，可能需要很少的或不需要额外动力，并且可以是稳固的并且抗堵塞，这是因为惯性过滤是用尺寸大于待去除的细胞 / 碎片的通道来操作。(III) 稳固的检测程序：这种程序包括在生理流体中的目标分析物结合作为第一步骤以及在经过纯化的低离子强度缓冲液中的生物分子至电信号的转导作为第二步骤。这可以减少其它基于 FET 的传感溶液所禁止的电荷屏蔽问题，而同时减轻与干扰分析物的非特异性竞争结合问题。(iv) 自参考数据采集平台：SELFA 测试条双臂设计允许在具有目标分析物和干扰物的传感臂与基本上仅具有经过纯化的缓冲液的控制臂之间进行差动测量（图 2）。这种设计可以有效地抑制系统和 / 或环境波动诱导的测量误差，并且因此可以提高总体检测信噪 (SNR) 比。可以在最后添加任选的步骤以从样品传感区域和 / 或控制传感区域上游的一个或多个预先加载的参考池引入已知浓度的一种或多种参考溶液，来改善定量性能。

[0068] 纳米线场效应晶体管传感器

[0069] 在基板上集成或组装的本文所描述的 nwFET 传感器可以包括 T 形结构，这种 T 形结构包括横向纳米线 FET 放大器和连接至所述横向纳米线 FET 放大器的纵向传感纳米线（用 T-nwFET 表示）。在一些实施方案中，T-nwFET 可以如 WO 2012/075445 中详细描述来实施，这个文献特此以全文引用的方式并入。

[0070] 在一个实施方案中，nwFET 传感器包括具有第一末端和第二末端的至少一个传感纳米线。传感纳米线的第一末端与纳米线 FET 连接以形成节点，并且传感纳米线的第二末端连接至基极电极。至少一个传感纳米线和纳米线 FET 各自包含至少一种半导体材料。在一个实施方案中，至少一个传感纳米线是直纳米线、弯曲纳米线、蜿蜒纳米线或呈“L”形。可以使用 nwFET 传感器的各种构造。在一个实施方案中，本发明的装置包括至少两个传感纳米线，并且两个传感纳米线在相同节点处连接至 nwFET。在另一个实施方案中，本发明的装置包括至少两个传感纳米线，并且两个传感纳米线在不同节点处连接至 nwFET。

[0071] 在一些实施方案中，替代 T 形 nwFET 传感器或除了 T 形 nwFET 传感器以外可以使用 Y 形 nwFET 传感器。除了直纳米线之外，本文所描述的纳米线 FET 也可以是弯曲纳米线、蜿蜒纳米线、呈“L”形或呈“V”形。传感纳米线可以连接至沿着纳米线 FET 的任何位置，并且成任何可能的角，这个角可以超出 0 至 180 的范围。如果纳米线 FET 具有“L”形或“V”形，那么传感纳米线可以连接至“L”或“V”的拐角或沿着纳米线 FET 的其它任何地方以形成节点，并且成任何可能的角，这个角可以超出 0 至 180 的范围。

[0072] 这种创新的传感器结构涵盖大的表面积 / 体积比的优点，同时提供如下文所解释

的具有低寄生效应的近场信号放大。整个传感器可以经由钝化与周围环境隔绝，但传感纳米线表面除外。特异性受体可以仅固定至传感纳米线表面上。存在于样品溶液中的生物标志物可以以高特异性结合至受体。从所结合的分析物电荷发出的电场然后可以耦合以调节传感纳米线的电导。可以用内置的正交纳米线 FET 放大器以最低的寄生效应放大所产生的信号变化来获得高灵敏度，然后以电子方式读出。

[0073] 这种 T-nwFET 传感器中的固有信号转导和放大机制可以借助于图 4 中图解的等效电路来理解。在交叉点处的节点电位用 V_n 标记，并且从这个节点至相应电极的每个纳米线区段用具有理想的肖特基二极管 (Schottky diode)(D_x) 的串联纳米线电阻 (R_x) 表示。传感纳米线和 FET 漏极电流分别通过下式与电极电位（例如，V_B 和 V_D）关联起来

[0074] $$I_B = I_0\left[\exp\left(\frac{q\left(\left(V_B - V_n\right) - I_B\left(R_B + \Delta R_B\right)\right)}{k_B T}\right) - 1\right] \quad (1)$$

[0075] $$I_D = I_0\left[\exp\left(\frac{q\left(\left(V_D - V_n\right) - I_D R_D\right)}{k_B T}\right) - 1\right] \quad (2)$$

[0076] $$I_0 = AA^{**}T^2\exp\left(-\frac{q\phi_{Bp}}{k_B T}\right) \quad (3)$$

[0077] 因为图 4 中描绘了相同的肖特基接触 (Schottky contact)，所以放大率 (dI_D/dI_B) 可以在很大程度上由纳米线电阻 R_B 和 R_D 以及外部施加的电位 V_D 和 V_B 来决定。在传感操作期间，漏极 (V_D) 与基极 (V_B) 接触可以正向偏离源极接触。由于目标分析物的特异性结合对传感纳米线电导的调节可以得到非零 ΔR_B 值，并且因此可以根据等式 1 改变 I_B。这继而可以改变电位 V_n 并且修改源极接触与漏极接触之间的半导体能带型态。所产生的电压差 (V_D-V_n) 变化可以引起 I_D 的指数变化，从而可以实现所检测的信号的放大。

[0078] 基板与传感器配置

[0079] 存在 nwFET 传感器可以安置在测试条基板上的至少两个配置。在第一配置中，如图 7A 中所示，多路 nwFET 生物传感器的阵列连同电互连一起可以同时制造在刚性晶片平台上，如硅基晶片。图 7B 示出了测试条的多路 nwFET 生物传感器阵列部分的纳米制造布局以及所制造的原型的芯片照片。测试条的芯片表面可以通过仅暴露内部的传感纳米线区域和边缘处的电衬垫而用钝化层封盖（图 7A）以防止电短路。为了将特异性受体同时并选择性地固定至多路阵列内的每个个别的 nwFET 生物传感器上，如图 8 中所示，具有平行的入口、通道和出口的微流体结构可以粘着在测试条表面上，接下来引入试剂。这个微流体层可以在受体固定步骤之后从表面剥去。

[0080] 在第二配置中，预先制造和受体预先固定的 nwFET 生物传感器芯片的阵列可以组装至测试条基板上，这个基板可以是聚合物基板。举例来说，图 9 示出了用不同受体预先固定的几个 nwFET 生物传感器芯片的组装。可以随后形成组装的 nwFET 生物传感器与边缘衬垫之间的电互连，接下来合成表面钝化层。与第一配置相比，用受体固定的 nwFET 生物传感器组装的第二配置中的基板尺寸可以更小。第二配置也不需要如图 8 中所描绘的微流体辅助的受体固定。另一方面，与第一配置相比，第二配置可能涉及更多的制造工程用于条上电

互连至组装的 nwFET 生物传感器芯片。

[0081] 受体固定

[0082] 本文所描述的SELFA测试条装置是通用的并且可以允许在传感纳米线表面(图3)上鉴别和最佳固定特异性受体分子后进行多种生物标志物(无论是抗原还是抗体)的同时多路检测。可以采用商业的ELISA试剂盒中所用的抗体或抗原受体。为了将其固定至nwFET生物传感器表面上,可以经由例如3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APTES)官能化将硅纳米线表面上的羟基封端转化成胺封端。可以使用例如戊二醛官能化将胺封端进一步转化成醛封端用于后续抗体固定。采用上述交联剂组合来产生工作实施例1中所示的无标记PSA、cTnI和IL-1β检测数据。然而,还可以使用本领域中已知的其它交联剂,如N-马来酰亚胺基丁酰氧基琥珀酰亚胺酯(GMBS)偶联剂。

[0083] 微流体组件

[0084] 本文所描述的SELFA测试条装置的微流体组件创新地使用细胞和碎片的惯性过滤组合依序驱动的毛细流。这种独特的组合可以在加载样品以供分析之后提供致动,可能不需要额外动力,并且可以是稳固的并且抗堵塞,这是因为惯性过滤可以用尺寸大于待去除的细胞/碎片的通道来操作。

[0085] 系统的操作可以分为三个部分:(i)致动以起始洗涤缓冲液流动,(ii)样品加载,以及(iii)样品流动。筒或池将具有在膜结合胶囊中的预先加载的低离子强度的洗涤缓冲液。在一些实施方案中,操作试验中的第一步骤是刺穿这个胶囊并且去除刺穿按钮。或者,可以通过去除缓冲液池下游的阀门来释放缓冲液。

[0086] 这种致动作用可以起始毛细流通过一个或多个微流体通道(其可以是亲水的),这是通过(a)允许通气到大气压以及(b)提供通过通道的流径来实现。在洗涤缓冲液到达样品池之后,可以引入生物样品(例如,一滴体液或血液)。可以通过过滤模块的狭窄微通道引出用洗涤缓冲液稀释的生物样品,在这个过滤模块中惯性和变形性诱导的升力推动细胞和更大的粒子远离通道壁和中心线。不含颗粒的经过稀释的生物样品的液流然后可用于流过传感区域以接触nwFET传感器。由下游的大容量毛细泵驱动的洗涤缓冲液的连续流可以洗涤将要被低电导率的缓冲液占据的传感区域以供测量。可以优化毛细管的容量以允许取样约100μL或更少或更多的样品,接下来取样约2mL或更少或更多的洗涤缓冲液。可以平行地洗涤传感臂和控制臂以获得差动测量(见图1)。

[0087] 缓冲液

[0088] 因为生理流体中的高离子强度可能由于电荷屏蔽而对实际的基于FET的传感是禁止的,所以将传感溶液变为低盐缓冲液可以是有效的解决方案。此外,跨越两个平行的分析臂(图1,传感臂和控制臂)的差动测量,一个用于目标分析物捕获并且另一个仅用于洗涤缓冲液流动,可以产生高保真度的信号转导,同时抑制由系统和/或环境波动引起的误差。缓冲液的盐浓度可以例如小于200mM,或小于100mM,或小于50mM,或小于20mM。

[0089] 同时,可以用相同的"缓冲液中传感"程序实现高的检测选择性。当传感溶液从已过滤血清(或其它体液)变为经过纯化的缓冲液时,许多非特异性干扰物基本上不存在,借此避免了竞争非特异性结合。使用流动的而非静止的缓冲液连同聚乙二醇(PEG)钝化层一起可以进一步抑制随机的生物淤积和传感表面上的非特异性表面吸附。由此可以实现增强的总体检测特异性。

[0090] 额外实施方案

[0091] 实施方案 1- 一种装置，其包括 :(a) 基板，其包括多个电极 ;(b) 多个电子传感器，其在所述基板上集成或组装并且连接至所述电极 ;以及 (c) 微流体组件，其安置在所述基板上并且适于与所述电子传感器流体连通。

[0092] 实施方案 2- 如实施方案 1 所述的装置，其中所述微流体组件包括至少一个缓冲液池和连接至所述缓冲液池的至少一个传感臂，其中所述传感臂包括样品池、样品过滤模块以及适于与所述电子传感器中的至少一者流体连通的样品传感区域。

[0093] 实施方案 3- 如实施方案 2 所述的装置，其中所述缓冲液池包含至少一种缓冲液。

[0094] 实施方案 4- 如实施方案 2 至 3 中任一项所述的装置，其中所述传感臂进一步包括在所述样品传感区域上游的参考池，其中任选地，所述参考池用参考溶液预先加载。

[0095] 实施方案 5- 如实施方案 2 至 4 中任一项所述的装置，其中所述微流体组件进一步包括连接至所述至少一个缓冲液池的至少一个控制臂，其中所述控制臂包括控制过滤模块、适于与所述电子传感器中的至少一者流体连通的控制传感区域以及任选的控制池。

[0096] 实施方案 6- 如实施方案 2 至 5 中任一项所述的装置，其中所述微流体组件进一步包括连接至所述传感臂和所述控制臂的至少一个废液池。

[0097] 实施方案 7- 如实施方案 1 至 6 中任一项所述的装置，其中所述基板包含至少一种选自由聚合物和半导体组成的群组的材料。

[0098] 实施方案 8- 如实施方案 1 至 7 中任一项所述的装置，其中所述 nwFET 传感器中的至少一者在所述基板上集成。

[0099] 实施方案 9- 如实施方案 1 至 7 中任一项所述的装置，其中所述 nwFET 传感器中的至少一者是在所述基板上组装的芯片的一部分。

[0100] 实施方案 10- 如实施方案 1 至 9 中任一项所述的装置，其中所述电子传感器中的至少一者是包括 T 形结构的 nwFET 传感器，所述 T 形结构包括横向纳米线 FET 放大器和连接至所述横向纳米线 FET 放大器的纵向传感纳米线。

[0101] 实施方案 11- 如实施方案 10 所述的装置，其中所述传感纳米线和任选的连接所述传感纳米线与纳米线 FET 放大器的节点包含固定在上面的适于结合至生物标志物的受体。

[0102] 实施方案 12- 一种装置，其包括 :(a) 基板，其包括多个电极 ;(b) 多个纳米线场效应晶体管 (nwFET) 传感器，其嵌入或安置在所述基板上并且连接至所述电极，其中所述 nwFET 传感器中的每一者包括 T 形结构，所述 T 形结构包括横向纳米线 FET 放大器和连接至所述横向纳米线 FET 放大器的纵向传感纳米线，其中所述传感纳米线和任选的连接所述传感纳米线与纳米线 FET 放大器的节点包含固定在上面的受体，并且其中所述纳米线 FET 放大器被钝化 ;以及 (c) 微流体组件，其安置在所述基板上并且适于与所述 nwFET 传感器流体连通，所述微流体组件包括 :(i) 至少一个缓冲液池，其包含至少一种缓冲液 ;(ii) 至少一个传感臂，其连接至所述至少一个缓冲液池，所述传感臂包括样品池、包括尺寸大于待过滤的细胞的至少一个通道的惯性样品过滤模块以及适于与所述 nwFET 传感器中的至少一者流体连通的样品传感区域 ;(iii) 至少一个控制臂，其连接至所述至少一个缓冲液池，所述控制臂包括惯性控制过滤模块、适于与所述 nwFET 传感器中的至少一者流体连通的控制传感区域以及任选的控制池 ;以及 (iv) 至少一个废液池，其连接至所述传感臂和所述控制臂，并且其中所述微流体组件界定 (i) 至 (iv) 的流程方向。

[0103] 实施方案 13- 一种检测生物标志物的存在的方法，其包括 :(A) 提供包括以下的装置 :(a) 基板，其包括多个电极 ;(b) 多个电子传感器，其在所述基板上集成或组装并且连接至所述电极 ;以及 (c) 微流体组件，其安置在所述基板上并且适于与所述电子传感器流体连通 ;以及 (B) 将生物样品引入所述微流体组件中，其中所述微流体组件引导所述生物样品的流接触所述电子传感器中的至少一者，并且其中所述生物标志物的存在在所述电子传感器中的所述至少一者处引起信号变化。

[0104] 实施方案 14- 如实施方案 13 所述的方法，其中所述微流体组件包括连接至至少一个缓冲液池的至少一个传感臂，所述缓冲液池包含至少一种缓冲液 ;其中所述传感臂包括样品池、样品过滤模块以及适于与所述电子传感器中的至少一者流体连通的样品传感区域 ;并且其中将所述生物样品引入所述样品池中以接触从所述缓冲液池流出的所述缓冲液的液流。

[0105] 实施方案 15- 如实施方案 14 所述的方法，其进一步包括在引入所述生物样品之前从所述缓冲液池释放所述缓冲液。

[0106] 实施方案 16- 如实施方案 14 至 15 中任一项所述的方法，其中所述样品过滤模块适于惯性过滤，并且其中与所述缓冲液混合的所述生物样品在进入所述样品传感区域之前经所述过滤模块过滤。

[0107] 实施方案 17- 如实施方案 14 至 16 中任一项所述的方法，其中所述微流体组件进一步包括连接至所述至少一个缓冲液池的至少一个控制臂 ;其中所述控制臂包括控制过滤模块、适于与所述电子传感器中的至少一者流体连通的控制传感区域以及任选的控制池 ;并且其中不将所述生物样品引入所述控制池中。

[0108] 实施方案 18- 如实施方案 13 至 17 中任一项所述的方法，其中所述电子传感器中的至少一者是是包括 T 形结构的 nwFET 传感器，所述 T 形结构包括横向纳米线 FET 放大器和连接至所述横向纳米线 FET 放大器的纵向传感纳米线，并且其中所述传感纳米线包含固定在上面的适于结合至所述生物标志物的受体。

[0109] 实施方案 19- 一种方法，其包括 :(A) 提供包括以下的装置 :(a) 基板，其包括多个电极 ;(b) 多个纳米线场效应晶体管 (nwFET) 传感器，其嵌入或安置在所述基板上并且连接至所述电极，其中所述 nwFET 传感器中的每一者包括 T 形结构，所述 T 形结构包括连接至横向纳米线 FET 放大器的纵向传感纳米线，其中所述传感纳米线和任选的连接所述传感纳米线与纳米线 FET 放大器的节点包含固定在上面的适于结合至所述生物标志物的受体，并且其中所述纳米线 FET 放大器被钝化 ;以及 (c) 微流体组件，其安置在所述基板上并且适于与所述 nwFET 传感器流体连通，所述微流体组件包括 :(i) 至少一个缓冲液池，其包含至少一种缓冲液 ;(ii) 至少一个传感臂，其连接至所述至少一个缓冲液池，所述传感臂包括样品池、包括尺寸大于待过滤的细胞的至少一个通道的惯性样品过滤模块以及适于与所述 nwFET 传感器中的至少一者流体连通的样品传感区域 ;(iii) 至少一个控制臂，其连接至所述至少一个缓冲液池，所述控制臂包括控制池、惯性控制过滤模块以及适于与所述 nwFET 传感器中的至少一者流体连通的控制传感区域 ;以及 (iv) 一个或多个废液池，其连接至所述传感臂和所述控制臂，并且其中所述微流体组件界定 (i) 至 (iv) 的流程方向 ;(B) 从所述缓冲液池释放所述缓冲液 ;以及 (C) 将生物样品引入所述样品池中以接触从所述缓冲液池流出的所述缓冲液的液流 ;其中与所述缓冲液混合的所述生物样品在进入所述传感区域

之前经所述样品过滤模块过滤；并且其中与所述缓冲液混合的所述生物样品在所述传感区域处接触所述 nwFET 传感器的所述传感纳米线，并且其中所述生物标志物与固定在所述传感纳米线上的所述受体之间的结合在所述 nwFET 传感器中的所述至少一者处引起信号变化。

[0110] 实施方案 20- 一种固定受体的方法，其包括将微流体层安置在包括多个电极和连接至所述电极的多个纳米线场效应晶体管 (nwFET) 传感器的基板上，其中所述微流体层包括适于与所述 nwFET 传感器流体连通的多个通道；以及将所述受体的溶液添加至所述通道中的至少一者中，其中所述受体接触并结合至所述 nwFET 传感器中的至少一者。

[0111] 实施方案 21- 如实施方案 1 至 12 中任一项所述的装置，其进一步包括用于连接至如膝上型电脑或智能电话的电子装置的接口。

[0112] 实施方案 22- 如实施方案 13 至 19 中任一项所述的方法，其进一步包括将所述测试装置与如膝上型电脑或智能电话的电子装置经由接口连接以获取测试结果。

[0113] 工作实施例

[0114] 实施例 1

[0115] 使用标准集成电路制造工艺在绝缘体上硅 (SOI) 晶片基板上制造如图 3 中所示的 T-nwFET 传感器。首先，将 SOI 层打薄至 50nm，并且使用电子束光刻图案化成宽度在 50nm 至 3μm 范围内的 T 形纳米线结构。接下来，通过溅镀的镀铂钛双层的光刻胶剥离来形成源极、漏极和基极金属电极。最后，除了传感纳米线表面上方以外将所有制造的传感器用一层氮化硅覆盖，以使其钝化以免在检测测量期间与分析物溶液发生任何相互作用。共同制造正好具有相同宽度和长度的 I 形传感纳米线通道（用 I-nwFET 表示）的普通 FET 传感器用于对照目的。

[0116] 首先验证的是所制造的 T-nwFET 传感器的可接受的基线电特征。在将相应的特异性单克隆抗体受体固定在传感纳米线表面上之后，在低盐缓冲液中进行前列腺特异性抗原 (PSA) 和心肌肌钙蛋白 I(cTnI) 的初步无标记和实时免疫检测。

[0117] 如图 5A 和 5B 中所示，预先优化的 T-nwFET LOC 传感器相比普通的 I-nwFET 传感器展现几 pM 的更低 LOD（具有实际上高的当前水平）以及约 32-75 倍的灵敏度提升。必要时在运行时间下可以经由结构设计和 / 或电压偏置来调整 T-nwFET 传感器的灵敏度和 DR 用于定制的多路应用。

[0118] 另外，在新颖的 T-nwFET LOC 传感器与商业的 ELISA 试剂盒之间进行并排比较用于细胞因子检测。对于白介素 1β（IL-1β）的特异性检测，将人类抗 IL-1β 单克隆抗体固定至传感纳米线上，接下来引入具有渐增浓度的分析物。如图 6 中所示，商业的 ELISA 试剂盒展示经由光密度提取的约 0.9pM 的 LOD。相比之下，T-nwFET 传感器传递约 7fM 的 LOD（用 C15 表示），这好于 ELISA 约 2 个数量级。还注意到，如图 6 中所示，T-nwFET 传感器的 LOD 比 I-nwFET 对照约低 10 倍。

[0119] 实施例 2

[0120] 除了灵敏和稳固的传感平台硬件以外，开发了运行时间校准方案用于在固有的装置变化性存在下进行可靠的试验操作。所用的方案是基于曲线拟合的方法，其涉及具有已知浓度的多种输入参考溶液以及盲样 - 将参考溶液和样品以递增的浓度次序依序引入相同生物传感器中用于内推盲样的真正浓度。

[0121] 参考溶液的浓度略低于（和高于）样品的预期浓度；将这些溶液以递增的浓度次序并且在样品引入之前（和之后）引入相同生物传感器中，得到比所述高度特异性的抗原－抗体免疫反应中的缔合强得多的平衡结合。在这方面，T-nwFET 生物传感器的低 100 倍的检测限独特地允许检测更低的参考点。而且，所述多种溶液引入并结合至相同传感表面上在大多数基于标记的试验中可能不切实际。

[0122] 图 11 中示出了用于实施所提议的运行时间自校准方案的程序。在每个受体预先固定的 T-nwFET 生物传感器上，首先引入 PBS 缓冲溶液以建立基线输出信号水平。然后，依序引入更低已知浓度的目标分析物参考溶液，接下来引入实际样品。因为这些参考浓度略低于预期样品浓度，所以不应存在任何结合竞争来干扰定量过程。作为一个选项，引入相比预期样品浓度具有更高的已知目标分析物浓度的额外参考溶液以建立上参考点。在平衡状态下基于可逆的结合反应模型经由内推法来定量真正的样品浓度。拟合参数用来处理上文所提及的所有实际变化，这些值是从更低和更高的已知浓度参考推导出。图 12 中示出了在无标记无光学 T-nwFET 生物传感器上验证原始运行时间自校准方案的示范性的拟合结果。

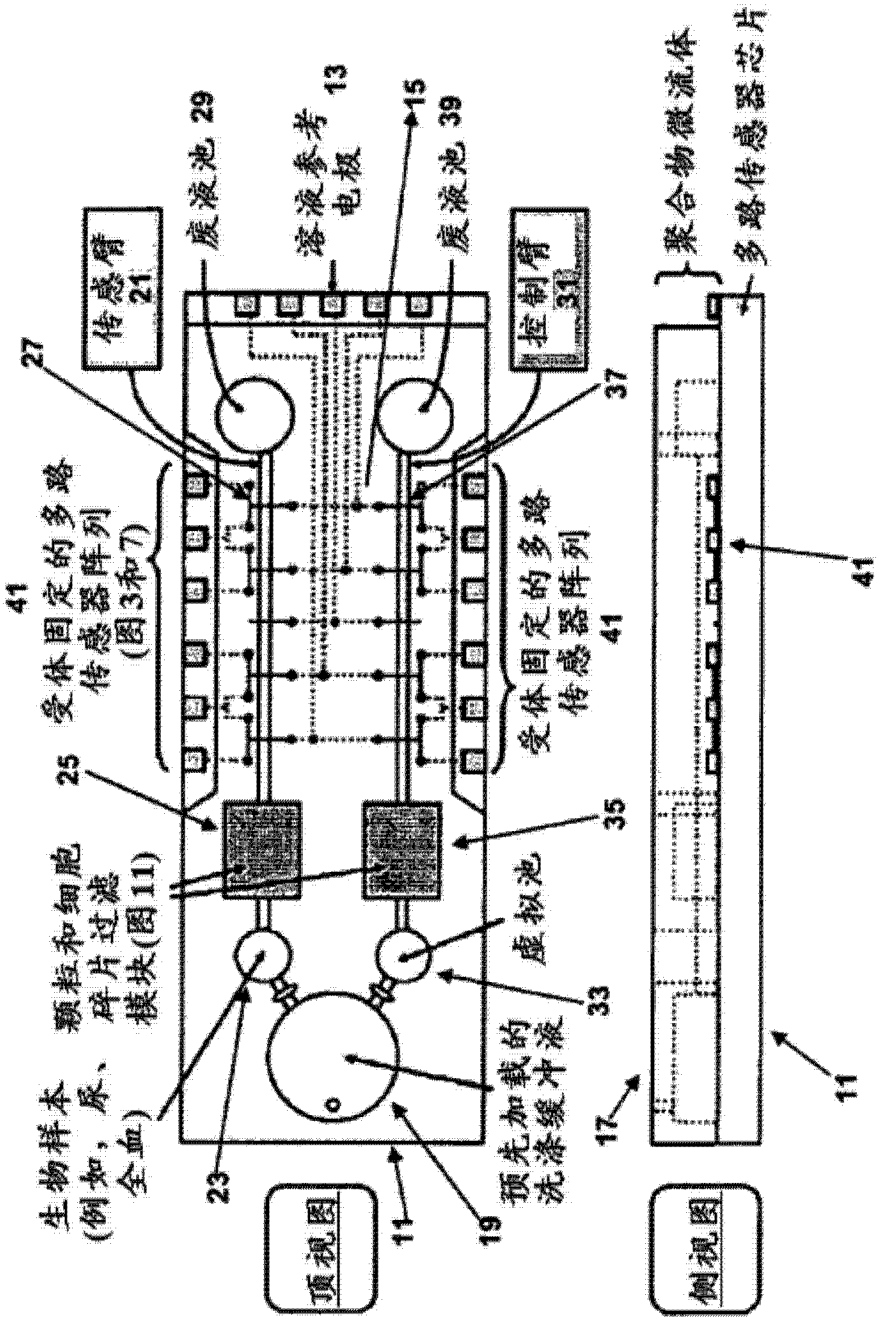

传感臂 21
废液池 29
溶液参考 电极 13
15
废液池 39
控制臂 31
聚合物微流体
多路传感器芯片
27
37
41
受体固定的多路 传感器阵列 (图3和7)
25
颗粒和细胞 碎片过滤 模块(图11)
35
虚拟池
33
生物样本 (例如，尿、 全血)
23
预先加载的 洗涤缓冲液
19
11
17
顶视图
侧视图

图 1

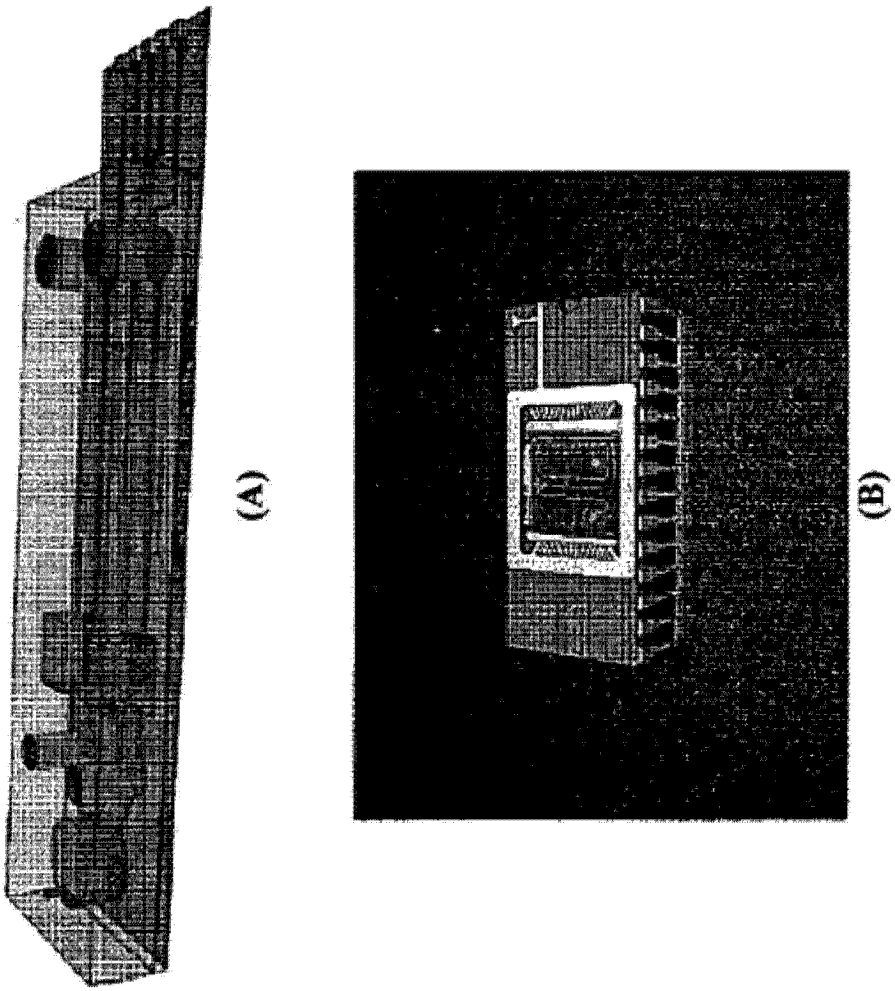


图 2

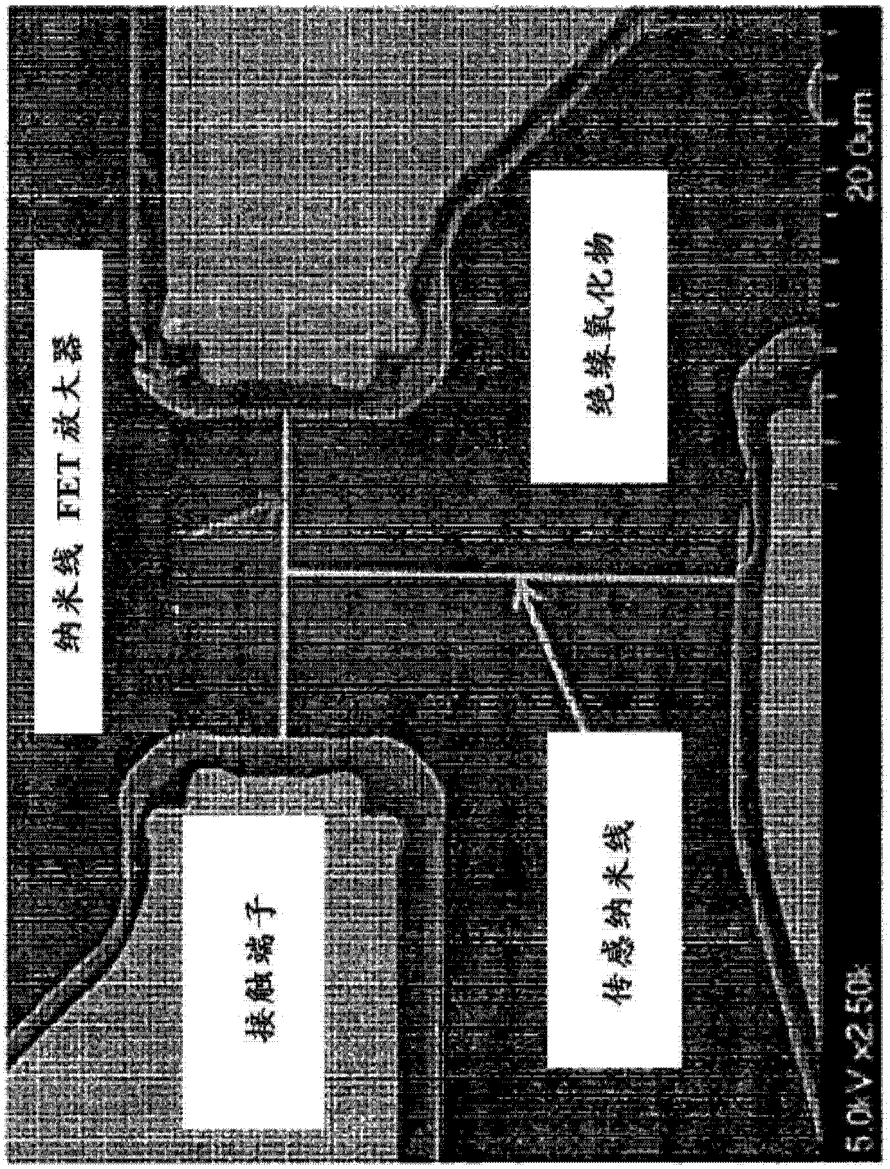


图 3

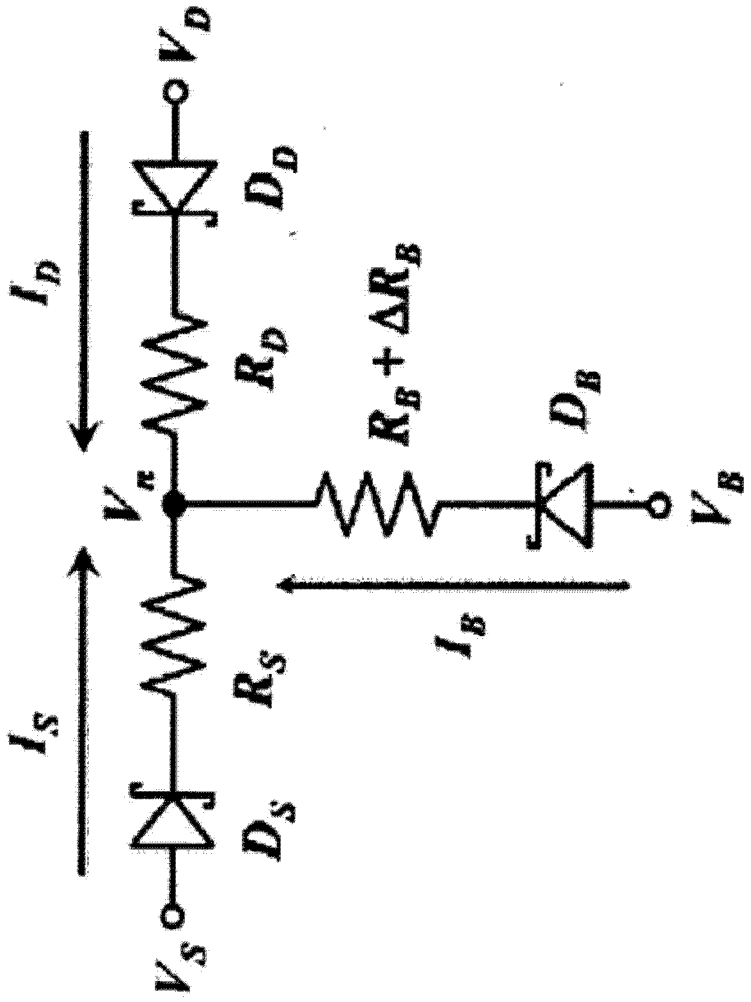


图 4

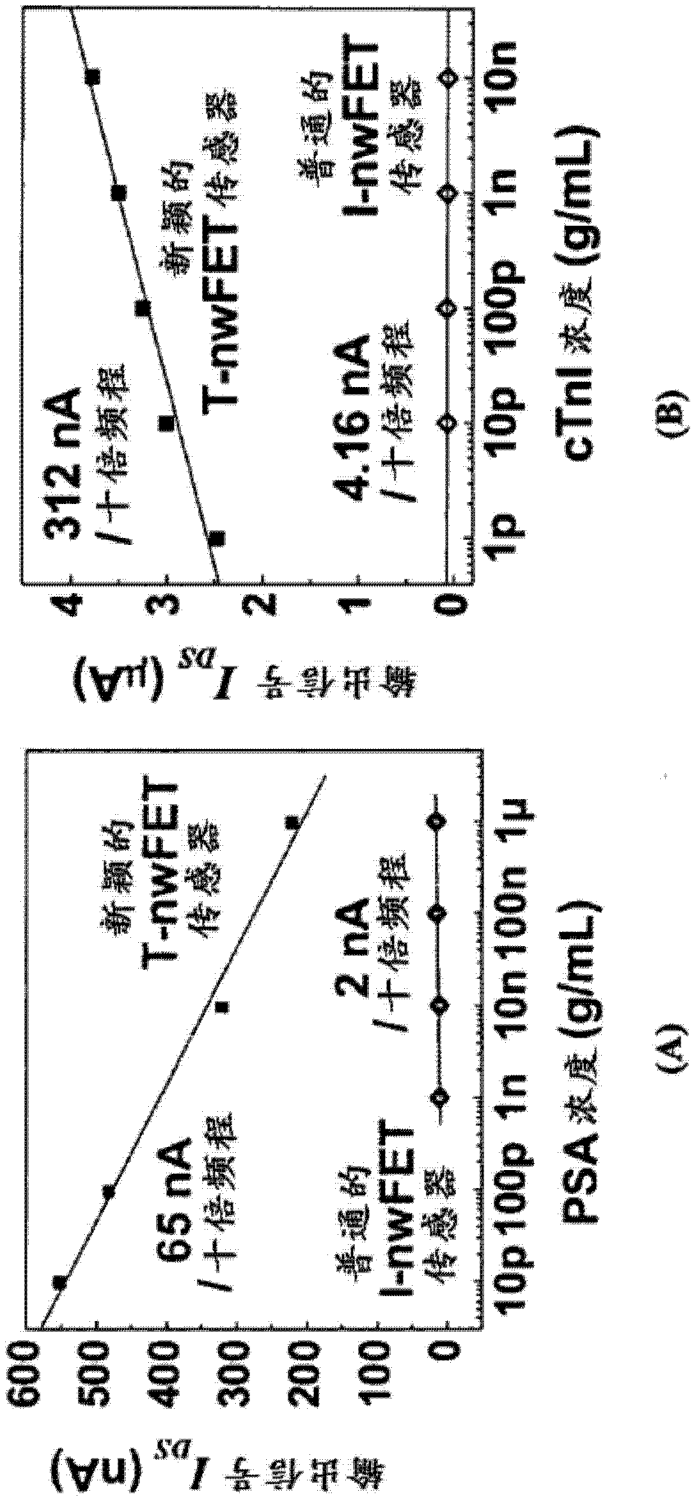

输出信号 I_{DS} (μA)
4
3
2
1
0
312 nA
/十倍频程
新颖的
T-nwFET传感器
4.16 nA
/十倍频程
普通的
I-nwFET
传感器
1p 10p 100p 1n 10n
cTnI 浓度 (g/mL)
(B)
输出信号 I_{DS} (nA)
600
500
400
300
200
100
0
新颖的
T-nwFET
传感器
65 nA
/十倍频程
普通的
I-nwFET
传感器
2 nA
/十倍频程
10p 100p 1n 10n 100n 1μ
PSA 浓度 (g/mL)
(A)

图 5

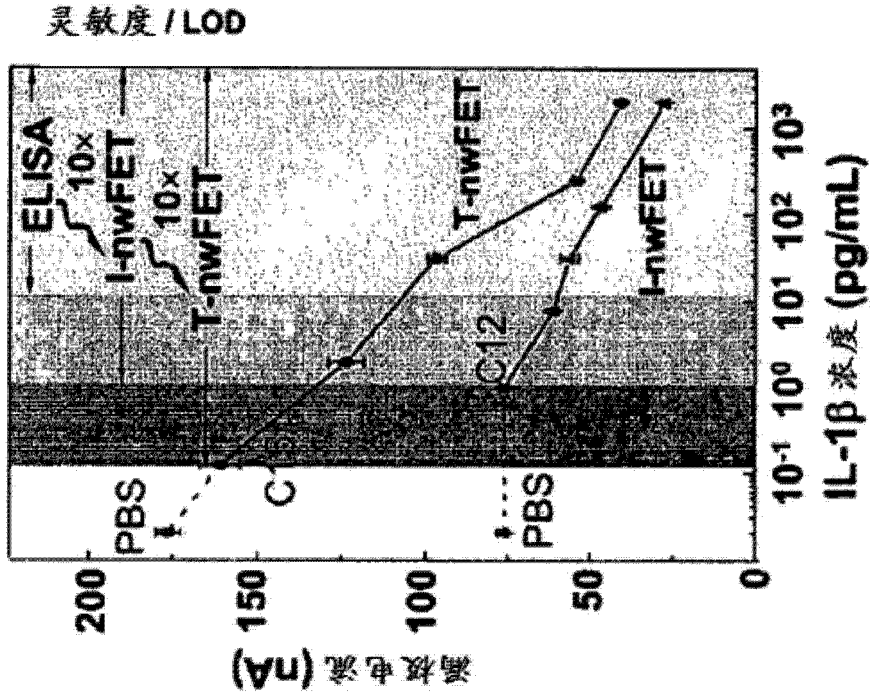

灵敏度 / LOD
ELISA
10×
I-nwFET
10×
T-nwFET
T-nwFET
I-nwFET
C12
C
PBS
PBS
200
150
100
50
0
漏极电流 (nA)
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3}
IL-1β 浓度 (pg/mL)

图 6

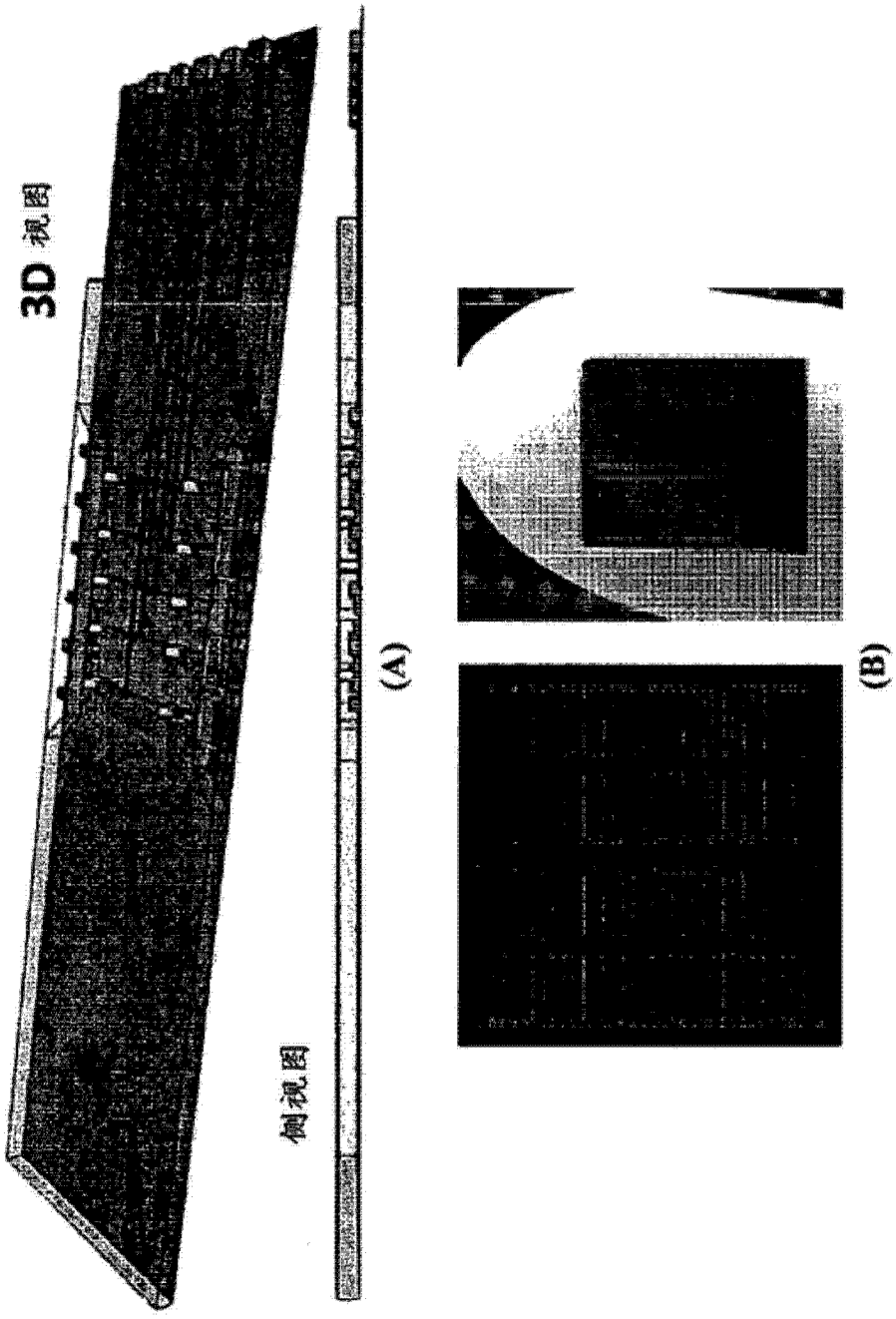


图 7

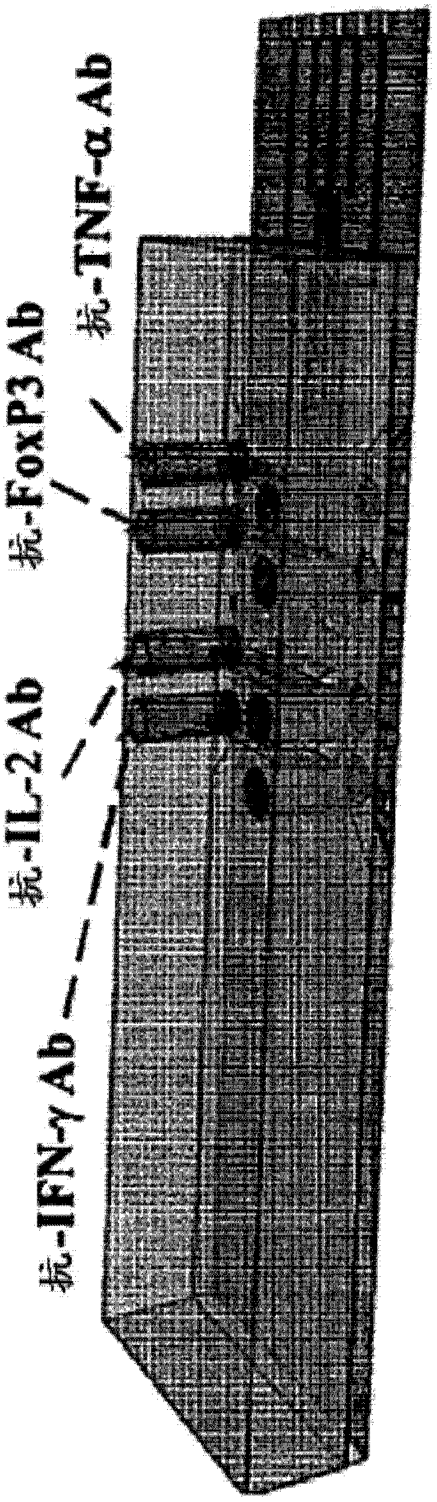

抗-TNF-α Ab
抗-FoxP3 Ab
抗-IL-2 Ab
抗-IFN-γ Ab

图 8

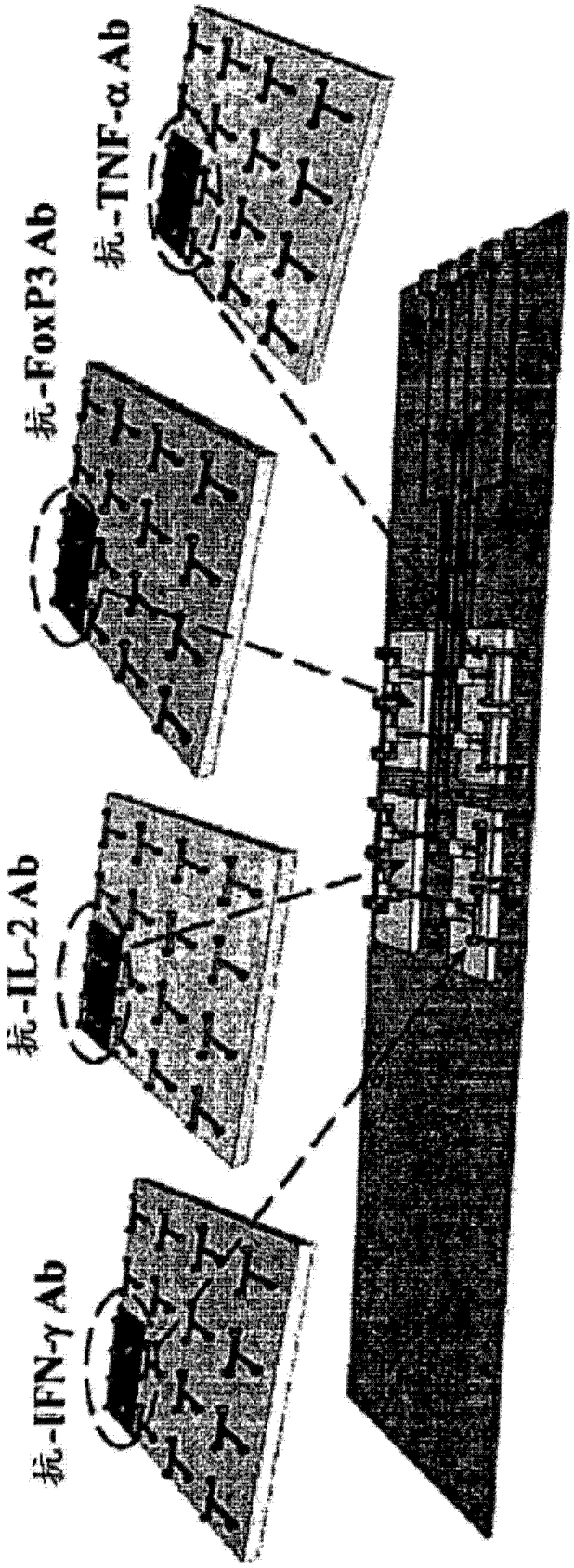

抗-TNF-α Ab
抗-FoxP3 Ab
抗-IL-2 Ab
抗-IFN-γ Ab

图 9

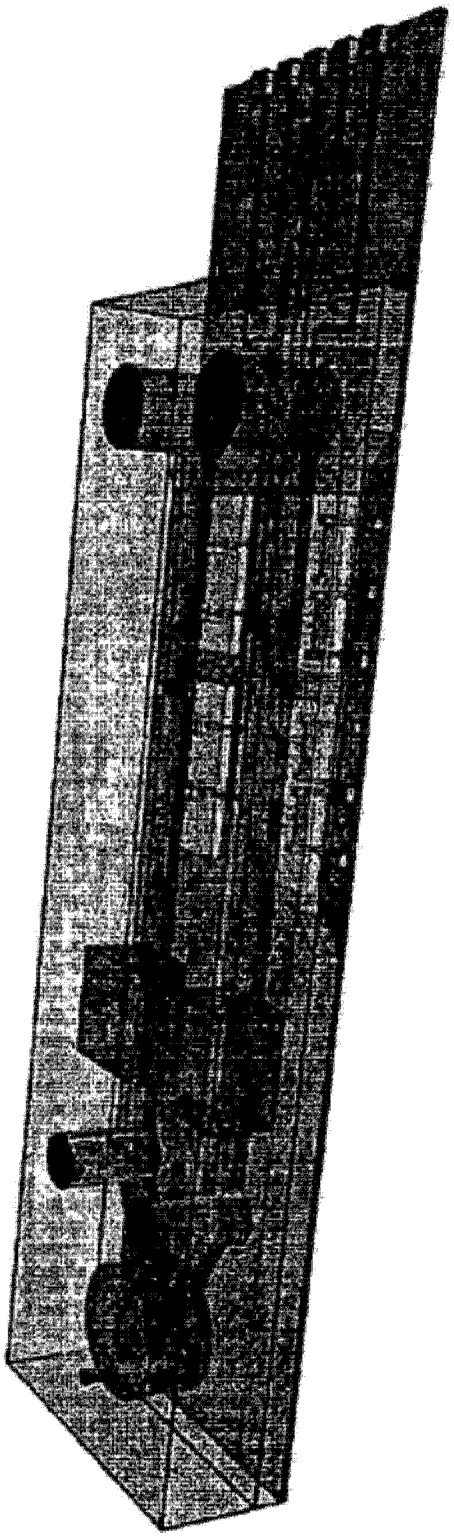


图 10

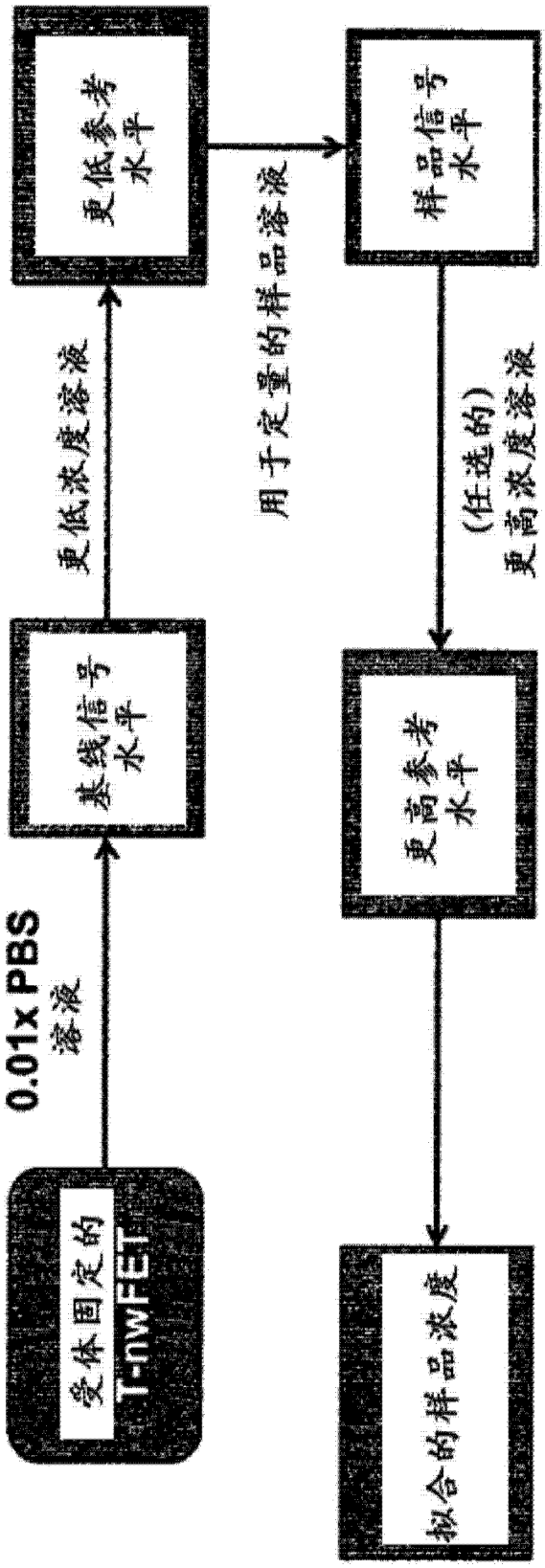

受体固定的
T-nwFET
0.01x PBS
溶液
基线信号
水平
更低浓度溶液
更低参考
水平
用于定量的样品溶液
样品信号
水平
(任选的)
更高浓度溶液
更高参考
水平
拟合的样品浓度

图 11

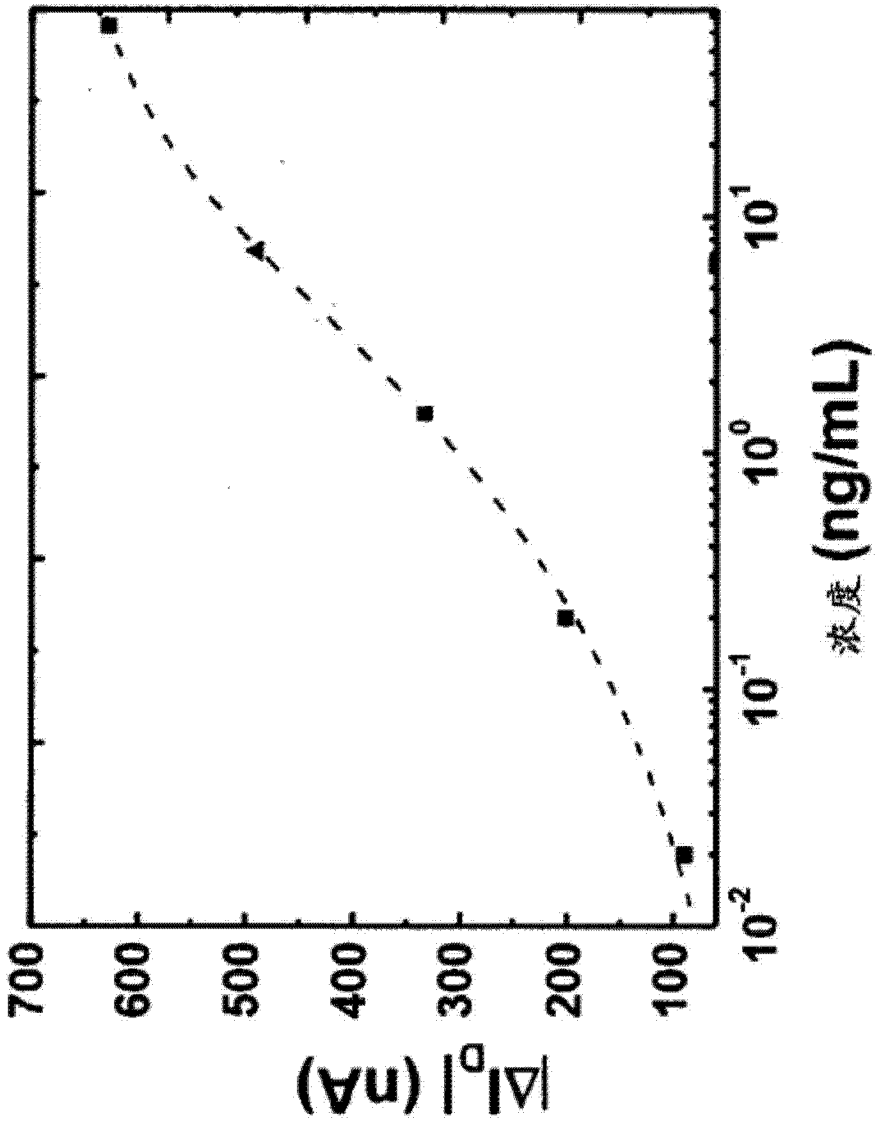


图 12