



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107643415 A

(43)申请公布日 2018.01.30

(21)申请号 201710965882.9

(22)申请日 2017.10.17

(71)申请人 绍兴普施康生物科技有限公司  
地址 312073 浙江省绍兴市滨海新城沥海  
镇马欢路398号科研楼C楼408室

(72)发明人 程林 金烨琦 章诗校 余波

(51)Int.Cl.

G01N 35/00(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

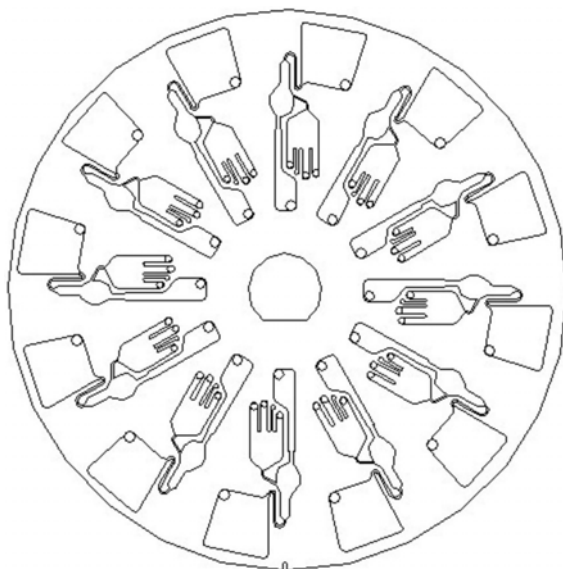
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54)发明名称

基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片及其工作方法

(57)摘要

本发明提供了一种基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片及其工作方法,所述基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片包括加样口、第一试剂口、检测槽和废液槽;阀,所述阀控制所述检测槽和废液槽之间的连通与否;所述阀包括形成在所述盘片内的曲折的通道,所述通道的最小旋转半径 $R_1$ 与所述检测槽的最大旋转半径 $R_2$ 间的关系是: $R_1-R_2 < 0$ 。本发明具有稳定、可靠、高效、快捷等优点。



1. 一种基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片,所述基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片包括加样口、第一试剂口、检测槽和废液槽;其特征在于:所述基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片进一步包括:

阀,所述阀控制所述检测槽和废液槽之间的连通与否;所述阀包括形成在所述盘片内的曲折的通道,所述通道的最小旋转半径 $R_1$ 与所述检测槽的最大旋转半径 $R_2$ 间的关系是: $R_1-R_2<0$ 。

2. 根据权利要求1所述的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片,其特征在于:所述通道的一端与所述检测槽的最大旋转半径处连通。

3. 根据权利要求1所述的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片,其特征在于:所述废液槽的最小旋转半径 $R_3$ 与所述检测槽的最大旋转半径 $R_2$ 间的关系是: $R_3-R_2<0$ 。

4. 根据权利要求3所述的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片,其特征在于:所述废液槽的最小旋转半径 $R_3$ 和所述通道的最小旋转半径 $R_1$ 间的关系是: $R_3-R_1>0$ 。

5. 根据权利要求1所述的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片,其特征在于:所述检测槽的体积为10-400 $\mu$ L,所述废液槽的体积为200-3000 $\mu$ L。

6. 根据权利要求1所述的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片,其特征在于:所述通道的宽度为50-1000 $\mu$ m。

7. 根据权利要求1所述的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片,其特征在于:所述基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片进一步包括:

孵育槽,所述孵育槽形成在所述盘片内,并与所述加样口、试剂口以及检测槽连通;所述孵育槽的最大旋转半径 $R_5$ 与所述通道的最小旋转半径 $R_1$ 间的关系是: $R_5-R_1<0$ ,所述孵育槽的体积为50-500 $\mu$ L。

8. 根据权利要求1所述的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片,其特征在于:所述基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片进一步包括:

试剂槽,所述试剂槽形成在所述盘片内,并具有第二试剂口和连通检测槽;所述试剂槽的最大旋转半径 $R_6$ 小于所述通道的最小旋转半径 $R_1$ 间的关系是: $R_6-R_1<0$ ;所述试剂槽的体积为10-400 $\mu$ L。

9. 应用权利要求1-8任一所述的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片的工作方法,所述工作方法包括以下步骤:

(A1) 通过第一试剂口加入洁净液体;

(A2) 盘片旋转,所述洁净液体进入所述检测槽内,检测槽内的液面的旋转半径 $R_4$ 和所述通道的最小旋转半径 $R_1$ 间的关系是: $R_1-R_4>0$ ;

(A3) 盘片继续旋转,检测槽内底部的液体突破阀,从而进入废液槽内,使得检测槽内的液面的旋转半径 $R_4$ 逐渐变大,直到所述旋转半径 $R_4$ 和所述旋转半径 $R_1$ 间的关系是: $R_1-R_4=0$ ,之后所述旋转半径 $R_4$ 不再变化。

10. 根据权利要求9所述的工作方法,其特征在于:所述洁净液体是对检测无影响的液体。

## 基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片及其工作方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及微流控,特别涉及基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片及其工作方法。

### 背景技术

[0002] 化学发光免疫分析,是化学发光试剂直接标记抗体或抗原的一类免疫测定的方法,具有灵敏度高、特异性强、无辐射、标记物有效长期并可实现全自动等优点。化学发光免疫分析方法多样,适用面比较宽,已经应用于抗原、半抗原和抗体的免疫测定,快速有效,其线性范围比较宽,符合临床检测的需要。

[0003] 目前,流行的全自动管式发光检测的流程为:1、在检测管内完成样本、磁珠抗体、酶标抗体的混合孵育;2、用磁铁将磁珠吸附在管壁后将液体吸走;3、移开磁场,加入清洗液后混匀磁珠,用磁铁将磁珠吸附在管壁后将液体吸走;4、重复步骤3两次;5、移开磁场,加入底物混匀后进行发光检测。

[0004] 现有的管式化学发光的试剂用量比较大,对于试剂成本较高的化学发光来说减少试剂使用量可以显著降低用户的检测成本,特别是对于基层的医疗机构,他们需要小型化、简单化的检验设备。

[0005] 近年来,生物分析技术领域得到了快速的发展,出现了很多重要的研究方向。微流控分析技术是其中最活跃的一个分支,在科研和实际应用领域都获得了广泛的重视。微流控技术是指使用数十到数百微米的管道处理或操纵微流体的系统所涉及的科学和技术,是一门涉及化学、流体物理、微电子、新材料、生物学和生物医学工程的新兴交叉学科。目前在体外诊断领域应用甚广,近几年国内外出现很多基于微流控技术的新产品。

[0006] 本领域的基于离心微流控技术的化学发光免疫检测,是通过磁场来控制磁颗粒来实现。在清洗环节通过上下磁场控制磁珠移动达到清洗目的。申请号CN201410669355.X的专利提供了一种离心式磁性粒子操纵与检测装置及其运作方法。

[0007] 基于离心微流控技术的化学发光免疫检测盘片,其配套设备体积小,价格相对于大型全自动仪器大大降低,设备没有废液排放,对于环境的保护和用户的安全都起到非常良好的作用。同时,微流控技术使得样本和检测试剂用量大大减少,因而能减少检测费用。

### 发明内容

[0008] 为解决上述现有技术方案中的不足,本发明提供了一种基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片,实现了后续检测中试剂消耗量小、清洗效果好、收光效率高。

[0009] 本发明的目的是通过以下技术方案实现的:

[0010] 一种基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片,所述盘片包括加样口、第一试剂口、检测槽和废液槽;所述盘片进一步包括:

[0011] 阀,所述阀控制所述检测槽和废液槽之间的连通与否;所述阀包括形成在所述盘片内的曲折的通道,所述通道的最小旋转半径 $R_1$ 与所述检测槽的最大旋转半径 $R_2$ 间的关系

是： $R_1-R_2 < 0$ 。所述阀需要经过严格的疏水改性，阀5与阀11均需要进行疏水改性，通过改变通道表面的浸润湿性来达到疏水的效果。界面阀5与虹吸阀11均通过物理吸附原理进行改性，在阀的界面吸附疏水材料。

[0012] 本发明的目的还在于提供了一种试剂消耗量小、清洗效果好、收光效率高的应用上述基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片的工作方法，该发明目的是通过以下技术方案得以实现的：

[0013] 应用上述的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片的工作方法，所述工作方法包括以下步骤：

[0014] (A1) 通过第一试剂口加入洁净液体；

[0015] (A2) 盘片旋转，所述洁净液体进入所述检测槽内，检测槽内的液面的旋转半径 $R_4$ 和所述通道的最小旋转半径 $R_1$ 间的关系是： $R_1-R_4 > 0$ ；

[0016] (A3) 盘片继续旋转，检测槽内底部的液体突破阀，从而进入废液槽内，使得检测槽内的液面的旋转半径 $R_4$ 逐渐变大，直到所述旋转半径 $R_4$ 和所述旋转半径 $R_1$ 间的关系是： $R_1-R_4 = 0$ ，之后所述旋转半径 $R_4$ 不再变化。

[0017] 与现有技术相比，本发明具有的有益效果为：

[0018] 1. 所有的试剂加样量都在20微升级别，相对于传统管式化学发光试剂量少，降低了成本；

[0019] 2. 整个检测流程都集中在整张盘片上，集成度高；不需要像大型设备不同步骤的模块化，大大降低了设备的成本；

[0020] 3. 阀的特殊设计显著地提高了可靠性，同时降低了阀的复杂度，结构简单、易加工；

[0021] 4. 鉴于阀的特殊设计，决定过了常规的甩干式清洗方式无法应用，从而创造性地提出了置换式的清洗方法，实现良好的清洗效果。

## 附图说明

[0022] 参照附图，本发明的公开内容将变得更易理解。本领域技术人员容易理解的是：这些附图仅仅用于举例说明本发明的技术方案，而并非意在对本发明的保护范围构成限制。图中：

[0023] 图1是根据本发明实施例1的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片的结构示意图；

[0024] 图2是根据本发明实施例1的盘片的局部结构示意图；

[0025] 图3是半自动化学发光免疫分析仪的结构简图；

[0026] 图4是根据本发明实施例3的样本浓度和发光值的关联图。

## 具体实施方式

[0027] 图1-4和以下说明描述了本发明的可选实施方式以教导本领域技术人员如何实施和再现本发明。为了教导本发明技术方案，已简化或省略了一些常规方面。本领域技术人员应该理解源自这些实施方式的变型或替换将在本发明的范围内。本领域技术人员应该理解下述特征能够以各种方式组合以形成本发明的多个变型。由此，本发明并不局限于下述可

选实施方式,而仅由权利要求和它们的等同物限定。

[0028] 实施例1:

[0029] 图1-2示意性地给出了本发明实施例的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片的结构简图,如图1-2所示,所述盘片包括:

[0030] 至少二个检测部,检测部包括:

[0031] 加样口1、第一试剂口2、检测槽10和废液槽12,废液槽具有排气孔13;所述废液槽的最小旋转半径 $R_3$ 与所述检测槽的最大旋转半径 $R_2$ 间的关系是: $R_3-R_2<0$ ;所述检测槽的体积为10-400 $\mu$ L,所述废液槽的体积为200-3000 $\mu$ L;

[0032] 阀11,所述阀11控制所述检测槽10和废液槽12之间的连通与否;所述阀包括形成在所述盘片内的曲折的通道,所述通道的宽度为50-1000 $\mu$ m,所述通道的一端与所述检测槽的最大旋转半径处连通;所述通道的最小旋转半径 $R_1$ 与所述检测槽的最大旋转半径 $R_2$ 间的关系是: $R_1-R_2<0$ ;所述废液槽的最小旋转半径 $R_3$ 和所述通道的最小旋转半径 $R_1$ 间的关系是: $R_3-R_1>0$ ;

[0033] 孵育槽4,所述孵育槽形成在所述盘片内,并与所述加样口、试剂口以及检测槽连通;所述孵育槽的最大旋转半径 $R_5$ 与所述通道的最小旋转半径 $R_1$ 间的关系是: $R_5-R_1<0$ ,所述孵育槽的体积为50-500 $\mu$ L;

[0034] 试剂槽7,所述试剂槽形成在所述盘片内,并具有第二试剂口3和连通检测槽;所述试剂槽的最大旋转半径 $R_6$ 小于所述通道的最小旋转半径 $R_1$ 间的关系是: $R_6-R_1<0$ ;所述试剂槽的体积为10-400 $\mu$ L;

[0035] 混合槽9,所述试剂槽(通过流道8)和孵育槽(通过微阀5、流道6)均连通所述混合槽的入口端,出口端连通所述检测槽;从盘片的中心沿半径方向向外,孵育槽(试剂槽)、混合槽和检测槽依次排列;所述废液槽设置在所述检测槽的沿盘片周向的侧部。

[0036] 所述阀5与阀11均需要进行疏水处理,其中阀5与阀11均使用自主合成的纳米材料悬浊液进行疏水改性。

[0037] 本发明实施例的根据上述基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片的工作方法,所述工作方法包括:

[0038] 孵育阶段,所述孵育阶段包括以下步骤:

[0039] 通过加样口和第一试剂口向孵育槽内加入样本、磁珠抗体、酶标抗体,并孵育;孵育槽内液面的旋转半径大于阀的最小旋转半径;

[0040] 排废阶段,所述排废阶段包括以下步骤:

[0041] 利用磁场吸住检测槽内的磁珠;

[0042] 通过所述第一试剂口加入清洗液,在盘片的旋转中,检测槽内的液面的旋转半径从大于所述通道的最小旋转半径开始逐步变小;检测槽内底部的液体突破阀,从而通过通道进入废液槽内,直到检测槽内的液面的旋转半径等于通道的最小旋转半径,之后保持不变;

[0043] 清洗阶段,所述清洗阶段包括以下步骤:

[0044] 通过所述第一试剂口加入清洗液,在盘片的旋转中,检测槽内的液面旋转半径大于所述通道的最小旋转半径;清洗液进入混合槽和检测槽中,然后加入上磁场和下磁场,通过上下磁场来移动磁珠来实现磁珠与清洗液的混合达到清洗的效果;最后撤去上磁场,利

用下磁场吸附磁珠,加入清洗液离心将液体排入废液槽中;根据所做项目可以适当选择清洗的次数;具体上下磁场操控磁珠的方法可以参考申请号CN201410669355.X的专利,此专利提供了一种离心式磁性粒子操纵与检测装置及其运作方法,操作的方式与上述清洗步骤进行结合操作。

[0045] 检测阶段,所述检测阶段包括以下步骤:

[0046] 通过所述第二试剂口加入反应底物,在检测槽内与反应好的磁珠进行发光反应,进而通过检测设备检测光信号。

[0047] 以上所述的操作步骤均通过一台半自动化学发光免疫分析仪来实现。此半自动化学发光免疫分析仪为手动加试剂,半自动化学发光免疫分析仪与此化学发光免疫盘片结合实现化学发光免疫检测。此半自动化学发光免疫分析仪中盘片下底座处安置相应磁场,上磁场通过步行电机来操控开与合,更好的操控磁珠。此设备通过PMT检测光信号,将化学发光反应产生的光子转化为电信号,从而读出相应的发光值。整体结构如图3所示。

[0048] 实施例2:

[0049] 根据本发明实施例1的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片及其工作方法在人绒毛促性腺激素的标准品的检测中的应用例。

[0050] 所述工作方法包括以下步骤

[0051] 1.用十二人份的化学发光免疫盘片,向其中分别加入0、5、20、100、500、2500、5500IU的标准品,相继加入磁珠抗体,和酶标抗体。加入磁珠抗体,体积为1到100微升之间,典型的为20微升;加入酶标抗体,体积为1到100微升之间,典型的为20微升;启动电机,盘片旋转的典型速度为500转/分钟,将试剂离心到孵育槽中进行孵育。

[0052] 2.孵育后,继续离心,盘片旋转的典型速度为1500转/分钟,将混合液离心到混合槽中,在反应检测槽处加入磁场,将磁珠吸附在反应检测槽处。

[0053] 3.在检测槽内中加入足够量的清洗液启动电机旋转,典型转速为1500转/分钟,清洗液进入反应检测槽,液体的总体积大于反应检测槽的体积(检测槽中的液面的旋转半径大于通道的最小旋转半径),典型的清洗液体积为100微升,阀的设计有效地防止了在磁珠清洗时清洗液和磁珠的流失。电机继续旋转,反应检测槽中的液体将经过阀进入废液槽中;

[0054] 4.通过所述第一试剂口加入清洗液,清洗所述磁珠,具体为:

[0055] 首先通过所述试剂口加入清洗液,在盘片的旋转中,检测槽内的液面旋转半径大于所述通道的最小旋转半径;清洗液进入混合槽和检测槽中,然后加入上磁场和下磁场,通过上下磁场来移动磁珠来实现磁珠与清洗液的混合达到清洗的效果;最后撤去上磁场,利用下磁场吸附磁珠,加入清洗液离心将液体排入废液槽中;

[0056] 5.检测阶段:通过所述的试剂口加入反应底物,在检测槽内与反应好的磁珠进行发光反应,进而通过检测设备检测光信号。

[0057] 根据本发明实施例2中的步骤,所测得的HCG的标准品结果如下:

[0058]

浓度 /IU	0	5	20	100	500	2500	5500
发光值	1531	3340	11245	25859	409348	810395	877638

[0059] 根据本发明的化学发光免疫盘片对HCG标准品进行的测试结果来看,各个浓度均能梯度拉开,而且效率高,重复性好。

[0060] 实施例3:

[0061] 根据本发明实施例1的基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片及其工作方法在降钙素原PCT检测中的应用例。

[0062] 在该应用例中,与上述实施例2不同之处在于:清洗的环节,要增加清洗的次数,以达到PCT项目的清洗效果。

[0063] 该应用例中,所选择的同样为PCT标准品,选择PCT标准品的浓度分别为0、0.05、0.2、1、5、25、100ng/ml,所测得的PCT的标准品结果如下:

[0064]

浓度 /ng/ml	0	0.05	0.2	1	5	25	100
发光值	1536	4534	8992	24857	75792	267809	611011

[0065] 如图4所示,根据本发明的化学发光免疫盘片对PCT标准品进行的测试结果来看,各个浓度均能梯度拉开,而且效率高,重复性好。

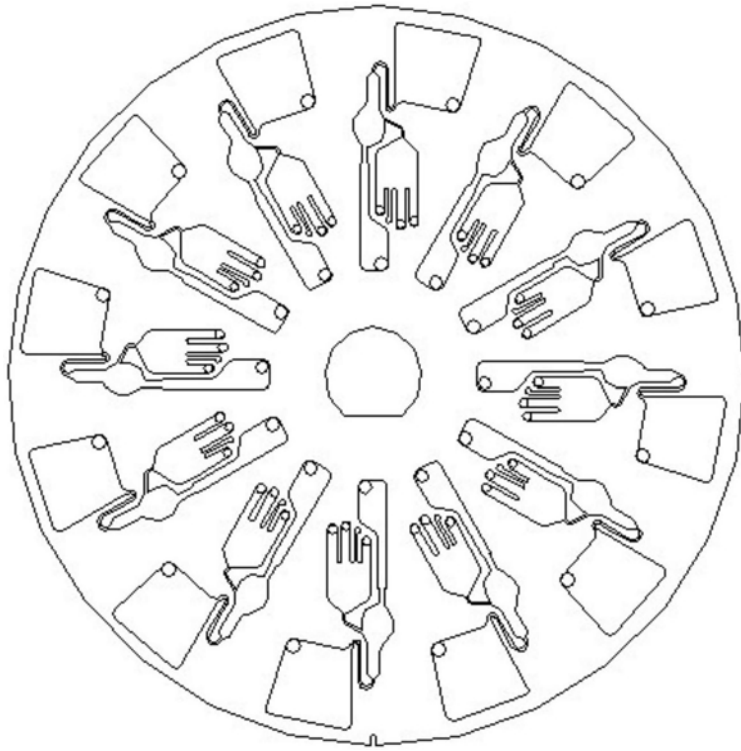


图1

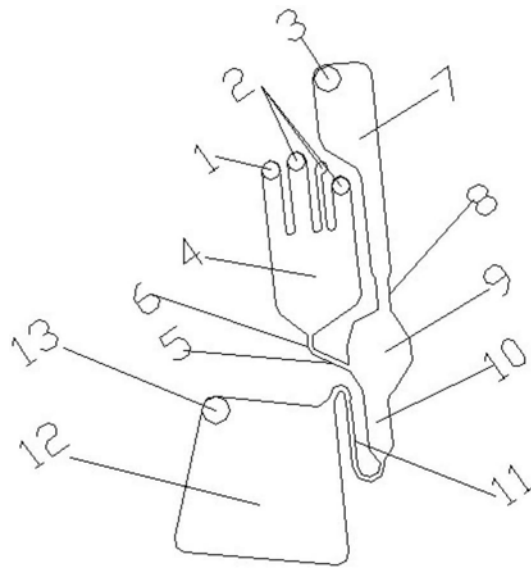


图2



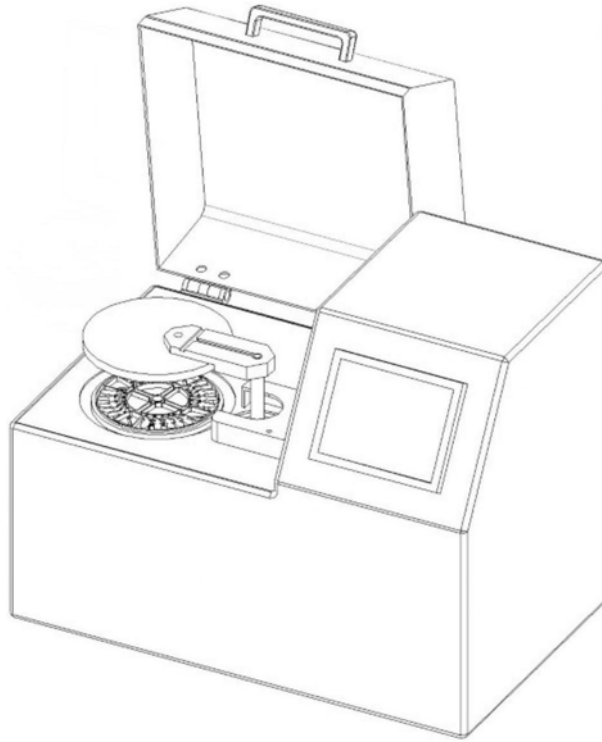


图3

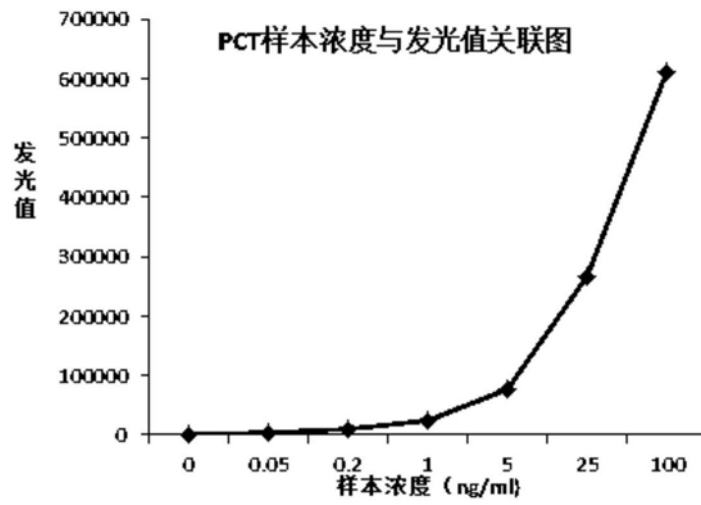


图4

专利名称(译)	基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片及其工作方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN107643415A</a>	公开(公告)日	2018-01-30
申请号	CN2017110965882.9	申请日	2017-10-17
[标]申请(专利权)人(译)	绍兴普施康生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	绍兴普施康生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	绍兴普施康生物科技有限公司		
[标]发明人	程林 金焯琦 章诗校 余波		
发明人	程林 金焯琦 章诗校 余波		
IPC分类号	G01N35/00 G01N33/532		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片及其工作方法，所述基于离心微流控技术的化学发光免疫盘片包括加样口、第一试剂口、检测槽和废液槽；阀，所述阀控制所述检测槽和废液槽之间的连通与否；所述阀包括形成在所述盘片内的曲折的通道，所述通道的最小旋转半径R1与所述检测槽的最大旋转半径R2间的关系是： $R1-R2 < 0$ 。本发明具有稳定、可靠、高效、快捷等优点。

