

(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
2019年1月10日(10.01.2019)



(10) 国际公布号
WO 2019/007036 A1

(51) 国际专利分类号:
B01L 3/00 (2006.01) *G01N 21/76* (2006.01)
G01N 33/542 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2018/073606

(22) 国际申请日: 2018年1月22日(22.01.2018)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201710542327.5 2017年7月5日(05.07.2017) CN

(71) 申请人: 京东方科技集团股份有限公司
(BOE TECHNOLOGY GROUP CO., LTD.) [CN/CN];
中国北京市朝阳区酒仙桥路10号, Beijing
100015 (CN)。北京京东方显示技术有限公司
(BEIJING BOE DISPLAY TECHNOLOGY CO.,

LTD.) [CN/CN]; 中国北京市北京经济技术开发区
经海一路118号, Beijing 100176 (CN)。

(72) 发明人: 杨照坤(YANG, Zhaokun); 中国北京市北京
经济技术开发区地泽路9号, Beijing 100176
(CN)。邱云(QIU, Yun); 中国北京市北京经济
技术开发区地泽路9号, Beijing 100176 (CN)。
刘莎(LIU, Sha); 中国北京市北京经济技术开
发区地泽路9号, Beijing 100176 (CN)。孙晓
(SUN, Xiao); 中国北京市北京经济技术开发区
地泽路9号, Beijing 100176 (CN)。

(74) 代理人: 中国专利代理(香港)有限公司
(CHINA PATENT AGENT (H.K.) LTD.); 中国香港
特别行政区湾仔港湾道23号鹰君中心
22号楼, Hong Kong (CN)。

(54) Title: MICRO-FLUIDIC CHIP, DEVICE AND METHOD FOR CHEMILUMINESCENT IMMUNOASSAY

(54) 发明名称: 用于化学发光免疫分析的微流控芯片、装置和方法

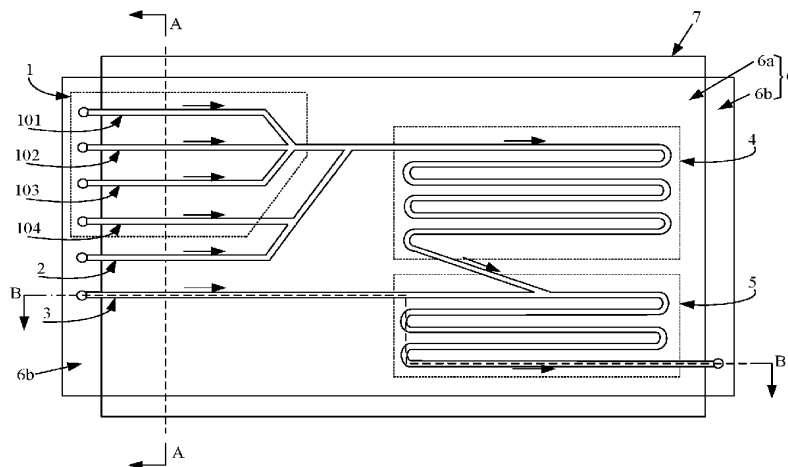


图1

(57) Abstract: A micro-fluidic chip, device and method for chemiluminescent immunoassay. The micro-fluidic chip comprises: a bottom plate (6), and a first liquid inlet channel (1), a second liquid inlet channel (2), a third liquid inlet channel (3), an immune reaction tank (4), and a light-emitting reaction pool (5) formed on a first surface of the bottom plate. A discharging end of the immune reaction pool (4) is communicated with a liquid inlet end of the light-emitting reaction pool (5), and a primer (9) is provided in the immune reaction pool (4). The primer (9) is used for fixing an antigen-antibody complex generated in the immune reaction pool (4). A liquid outlet end of the first liquid inlet channel (1) is communicated with the liquid inlet end of the immune reaction pool (4), and the first liquid inlet channel (1) is used for introducing the antigen and antibody to be tested into the immune response pool (4). The liquid outlet end of the second liquid inlet channel (2) is communicated with the liquid inlet end of the immune response pool (4), and the second liquid inlet channel (2) is used for introducing an alkaline solution into the immune response pool (4). The liquid outlet end of the third



WO 2019/007036 A1

(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, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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))。

liquid inlet channel (3) is communicated with the liquid inlet end of the light-emitting reaction pool (5), and the third liquid inlet channel (3) is used for introducing an oxidant solution into the light-emitting reaction pool (5).

(57) 摘要: 一种用于化学发光免疫分析的微流控芯片、装置和方法。该微流控芯片包括: 底板(6), 以及形成在底板的第一表面上的第一进液通道(1)、第二进液通道(2)、第三进液通道(3)、免疫反应池(4)和发光反应池(5)。免疫反应池(4)的出料端与发光反应池(5)的进液端连通, 并且免疫反应池(4)内设置有引物(9), 该引物(9)用于固定在免疫反应池(4)内生成的抗原抗体复合物。第一进液通道(1)的出液端与免疫反应池(4)的进液端连通, 并且第一进液通道(1)用于将待测抗原和抗体导入至免疫反应池(4)中。第二进液通道(2)的出液端与免疫反应池(4)的进液端连通, 并且第二进液通道(2)用于将碱性溶液导入至免疫反应池(4)中。第三进液通道(3)的出液端与发光反应池(5)的进液端连通, 并且第三进液通道(3)用于将氧化剂溶液导入至发光反应池(5)中。

用于化学发光免疫分析的微流控芯片、装置和方法

对相关申请的交叉引用

本申请要求 2017 年 7 月 5 日提交的中国专利申请号
5 201710542327.5 的优先权，该中国专利申请以其整体通过引用并入本
文。

技术领域

本公开涉及医疗技术领域，具体地涉及用于化学发光免疫分析的
10 微流控芯片、装置和方法。

背景技术

目前，主要通过化学发光免疫分析仪进行免疫诊断。现有的仪器
包含免疫反应装置和化学发光分析装置。在该仪器的免疫反应装置中，
15 使用传统试剂管作为反应容器，并且采用微磁珠技术实现反应产物和
试剂的分离，这需要耗费大量的测试试剂和磁珠。此外，因为使用试
管作为反应容器，所需要的试剂量也比较多，因此成本较高。

此外，现有的化学发光免疫分析仪的尺寸较大，不便于存放。

20 发明内容

根据本公开的一方面，提供了一种用于化学发光免疫分析的微流
控芯片。该微流控芯片包括：底板，以及形成在所述底板的第一表面
上的第一进液通道、第二进液通道、第三进液通道、免疫反应池和发
光反应池。所述免疫反应池的出料端与所述发光反应池的进液端连通，
25 并且所述免疫反应池内设置有引物，所述引物用于固定在所述免疫反
应池内生成的抗原抗体复合物。所述第一进液通道的出液端与所述免
疫反应池的进液端连通，并且所述第一进液通道用于将待测抗原和抗
体导入至所述免疫反应池中。所述第二进液通道的出液端与所述免疫
反应池的进液端连通，并且所述第二进液通道用于将碱性溶液导入至
30 所述免疫反应池中。所述第三进液通道的出液端与所述发光反应池的
进液端连通，并且所述第三进液通道用于将氧化剂溶液导入至所述发
光反应池中。

可选地，用于化学发光免疫分析的微流控芯片还包括：设施在所述底板的第二表面上的盖板，其中，所述第二表面与所述第一表面相对，并且所述底板包括预留区域和非预留区域。所述第一进液通道、所述第二进液通道、所述第三进液通道、所述免疫反应池和所述发光反应池均位于所述非预留区域中，所述盖板覆盖所述非预留区域，并且所述第一进液通道、所述第二进液通道和所述第三进液通道的进液端均延伸至所述预留区域中。

可选地，用于化学发光免疫分析的微流控芯片还包括：设置在所述盖板靠近所述底板的一侧上的加热电极，其中，所述加热电极在所述底板上的正投影至少覆盖所述免疫反应池。

可选地，在以上提出的用于化学发光免疫分析的微流控芯片中，在所述第一进液通道、所述第二进液通道和所述第三进液通道的进液端处均设置有液体泵，所述液体泵用于向各个进液端输送相应的液体。

可选地，在以上提出的用于化学发光免疫分析的微流控芯片中，所述底板和所述盖板键合连接。

可选地，在以上提出的用于化学发光免疫分析的微流控芯片中，所述第一进液通道包括：第一子通道、第二子通道和第三子通道。所述第一子通道、第二子通道和第三子通道的出液端汇聚于第一节点，并且所述第一节点通过连接子通道与所述免疫反应池的进液端连通。所述第一子通道、所述第二子通道和所述第三子通道分别用于将待测抗原、第一抗体和第二抗体导入至所述免疫反应池中。

可选地，在以上提出的用于化学发光免疫分析的微流控芯片中，所述第一抗体为带 DNA 标记的抗体，并且所述第二抗体为带吡啶酯标记的抗体。

可选地，在以上提出的用于化学发光免疫分析的微流控芯片中，所述第一进液通道还包括：第四子通道。所述第四子通道的出液端与所述连接子通道连通，并且所述第四子通道用于将清洗液导入至所述免疫反应池中。

可选地，在以上提出的用于化学发光免疫分析的微流控芯片中，所述免疫反应池包括：单个第五子通道，或者多个首尾相连的第五子通道。所述发光反应池包括：单个第六子通道，或者多个首尾相连的第六子通道。可选地，所述第五子通道和所述第六子通道中的至少一

个具有直线形状。

可选地，在以上提出的用于化学发光免疫分析的微流控芯片中，所述免疫反应池的长度为 L_1 ，所述发光反应池的长度为 L_2 ，其中 $2 \times L_1 < L_2$ 。

- 5 可选地，在以上提出的用于化学发光免疫分析的微流控芯片中，各个子通道（包括第一子通道、第二子通道、第三子通道、第四子通道、第五子通道和第六子通道）、所述第二进液通道和所述第三进液通道的截面形状均为半圆形。

10 可选地，在以上实施例的具体示例中，半圆形截面的直径范围为 $1\mu\text{m}$ - $20\mu\text{m}$ 。

根据本公开的另一方面，还提供了一种用于化学发光免疫分析的装置，包括：在以上任一个实施例中描述的微流控芯片。

15 根据本公开的再一方面，还提供了一种用于化学发光免疫分析的方法，该方法是基于以上在任一个实施例中描述的微流控芯片，并且包括以下步骤：通过第一进液通道向所述免疫反应池中注入待测抗原和抗体，使得待测抗原和抗体通过免疫反应而生成抗原抗体复合物，所述抗原抗体复合物固定在所免疫反应池内的引物上；通过第二进液通道向所述免疫反应池中注入碱性溶液，使得所述抗原抗体复合物与
20 所述引物双链解旋，由此所述抗原抗体复合物和所述碱性溶液流入所述发光反应池中；以及通过第三进液通道向所述发光反应池中注入氧化剂溶液，使得在氧化剂溶液和碱性溶液的作用下，所述抗原抗体复合物分解发光，其中，所发射的光子可被位于微流控芯片下方的光子计数器检测到。

25 可选地，在具体实施例中，所述微流控芯片的第一进液通道包括第四子通道时，其中第四子通道的出液端通过连接子通道与所述免疫反应池的进液端连通。在这样的情况下，用于化学发光免疫分析的方法还包括以下步骤：在通过第二进液通道向所述免疫反应池中注入碱性溶液之前，通过第四子通道向所述免疫反应池中注入清洗液，使得
30 从所述免疫反应池的出液端清洗出在所述连接子通道和所述免疫反应池内未反应的待测抗原和抗体清。

附图说明

图 1 为根据本公开的实施例的微流控芯片的俯视图；

图 2 为沿图 1 中的线 A-A 的截面示意图；

图 3 为沿图 1 中的线 B-B 的截面示意图；

图 4 为根据本公开的实施例的微流控芯片中的免疫反应池的截面示意图；

图 5 为根据本公开的一个实施例的用于化学发光免疫分析的方法的流程图；以及

图 6 为根据本公开的另一个实施例的用于化学发光免疫分析的方法的流程图。

10

具体实施方式

为使本领域技术人员更好地理解本公开的技术方案，下面将结合附图对本公开提供的用于化学发光免疫分析的微流控芯片、装置和方法进行详细描述。

15

图 1 为根据本公开的实施例的微流控芯片的俯视图，图 2 为沿图 1 中的线 A-A 的截面示意图，图 3 为沿图 1 中的线 B-B 的截面示意图，并且图 4 为根据本公开的实施例的微流控芯片中的免疫反应池的截面示意图。如图 1 至图 4 所示，该微流控芯片可以用于化学发光免疫分析，并且包括：底板 6，以及形成在底板 6 的第一表面上的第一进液通道 1、第二进液通道 2、第三进液通道 3、免疫反应池 4 和发光反应池 5。

20

免疫反应池 4 的出料端与发光反应池 5 的进液端连通，并且免疫反应池 4 内设置有引物 9（诸如，一小段单链 DNA 或 RNA），该引物 9 用于固定在免疫反应池 4 内生成的抗原抗体复合物。作为示例，通过表面修饰技术使得引物 9 的一端固定到免疫反应池 4 的壁。

25

第一进液通道 1 的出液端与免疫反应池 4 的进液端连通，并且第一进液通道 1 用于将待测抗原和两种抗体导入至免疫反应池 4 中。

第二进液通道 2 的出液端与免疫反应池 4 的进液端连通，并且第二进液通道 2 用于将碱性溶液导入至免疫反应池 4 中。

30

第三进液通道 3 的出液端与发光反应池 5 的进液端连通，并且第三进液通道 3 用于将氧化剂溶液导入至发光反应池 5 中。

免疫反应池 4 用于供待测抗原和抗体进行免疫反应（其中抗体和

抗原特异性结合)以生成抗原抗体复合物。在本实施例中,采用双抗体夹心方案,其中抗体为两种。具体地,这两种抗体包括带DNA标记的抗体和带吡啶酯标记的抗体。此时,在免疫反应池4中生成物为抗原双抗体复合物。

5 发光反应池5用于供抗原双抗体复合物在氧化剂和弱碱环境的作用下发生发光反应。在这样的情况下,发射出的光子可被位于微流控芯片下方的单光子计数器检测到,以供后续对待测抗原的含量进行分析。

在本公开中,可以在底板6表面上执行刻蚀工艺(例如,化学刻蚀工艺、激光刻蚀工艺),以形成第一进液通道1、第二进液通道2、
10 第三进液通道3、免疫反应池4和发光反应池5。

在本公开中,采用微流控芯片来完成化学发光免疫分析中的进样、混合、反应和检测等一系列过程。相较于常规方案中使用传统试剂管作为反应容器的情况,本公开的技术方案可以大大减小分析过程中的
15 试剂量,并且降低分析成本。此外,该微流控芯片的体积小,质量轻,并且便于存放。

在本实施例中,可选地,该微流控芯片还包括:盖板7,其中盖板7设置在底板6的第二表面上,其中,第二表面与设置有进液通道和反应池的第一表面相对设置。底板6进一步划分为预留区域6b和非预留
20 区域6a。各个进液通道和两个反应池均位于非预留区域6a中,并且盖板7覆盖非预留区域6a。此外,第一进液通道1、第二进液通道2和第三进液通道3的进液端均延伸至预留区域6b中。通过设置盖板,可以有效防止各个进液通道和反应池内的液体的溢出。

需要说明的是,在附图中,将预留区域6b示出为位于非预留区域
25 6a的相对两侧,但是这仅仅是示例,并且不会对本公开的技术方案产生任何限制。

在本实施例中,可选地,底板6和盖板7的材料均为玻璃。在这样的情况下,底板6和盖板7可以通过玻璃-玻璃键合工艺而合连接。因而,无需使用粘合剂或固定结构。

30 下面将对使用本公开提供的微流控芯片实现化学发光免疫分析的具体过程进行详细描述。

首先,通过第一进液通道1向免疫反应池4注入待测抗原、带DNA

标记的抗体和带吡啶酯标记的抗体。这三者在免疫反应池 4 内发生免疫反应，以生成抗原双抗体复合物。

在本实施例中，可以先将待测抗原、带 DNA 标记的抗体和带吡啶酯标记的抗体进行混合，并且然后再通过第一进液通道 1 将混合后的
5 溶液注入至免疫反应池 4 内。

如果采用首先混合然后注入的方式，那么在前期混合过程中将会需要耗费大量的试剂。为了解决该技术问题，在本实施例中，可选地，第一进液通道 1 包括：第一子通道 101、第二子通道 102 和第三子通道 103。第一子通道 101、第二子通道 102 和第三子通道 103 的进液端分
10 别独立地延伸至预留区域中。第一子通道 101、第二子通道 102 和第三子通道 103 的出液端汇聚于第一节点，并且该第一节点通过连接子通道与免疫反应池 4 的进液端连通。第一子通道 101、第二子通道 102 和第三子通道 103 分别用于将待测抗原、带 DNA 标记的抗体（第一抗体）和带吡啶酯标记的抗体（第二抗体）导入至免疫反应池 4。

在本实施例中，设置三个独立的子通道以用于分别注入待测抗原和两种抗体，从而实现先注入后混合，并且大大减少了试剂量。此外，由于待测抗原和两种抗体均通过独立的子通道进行注入，因而可对待测抗原和两种抗体的量进行单独的控制。
15

可选地，在第一进液通道 1（包括第一子通道 101、第二子通道 102 和第三子通道 103）的进液端设置有液体泵（未示出）。在这样的情况
20 下，通过液体泵向第一进液通道的进液端输送相应的液体，可以实现对注入试剂量的精准控制。

可选地，第一子通道 101、第二子通道 102 和第三子通道 103 的截面形状为半圆形，并且该第一子通道 101、第二子通道 102 和第三子通
25 道 103 的直径范围为 1 μ m-20 μ m。

可选地，在盖板 7 朝向底板 6 的一侧上还设置有加热电极 8，该加热电极 8 至少覆盖与免疫反应池 4 对应的区域。通过向加热电极 8 施加一定电流以使得加热电极 8 发热，可以确保免疫反应池 4 的环境温度处于预设值（一般为 37 摄氏度）。由此，促进待测抗原与两种抗体
30 在免疫反应池 4 内的免疫反应。可选地，加热电极 8 的材料包括：金、银、铝中的至少一种。加热电极 8 可以通过溅射或电镀等方法形成于盖板 7 的表面上。

需要说明的是，当在盖板 7 朝向底板 6 的一侧上设置有金属材料的加热电极 8 时，可以采用金属-玻璃键合工艺使得底板 6 和盖板 7 键合连接。

此外，在附图中，将加热电极 8 图示为覆盖整个盖板 7，但是这仅
5 代表一种示例性方案。借此，可以使得整个微流控芯片的温度均处于预设值，从而更有利于维持免疫反应池 4 的温度的稳定。

在待测抗原、带 DNA 标记的抗体和带吡啶酯标记的抗体三者发生免疫反应以生成抗原双抗体复合物之后，抗原双抗体复合物中的带
10 DNA 标记的抗体将会与免疫反应池 4 内的引物 9 互补并且结合，从而形成双链结构。以该方式，抗原双抗体复合物将固定于引物 9 上。

需要说明的是，免疫反应的持续时间可以根据实际需要进行相应调整。例如，在进行快速检测时，免疫反应的持续时间可以设置为 10 分钟左右。与此相对，在进行正常检测时，免疫反应的持续时间可以
15 设置为 30 分钟左右。

可选地，免疫反应池 4 包括一个或多个第五子通道。当第五子通道的数量为多个时，所有的第五子通道首尾相连。此时，免疫反应池 4 的体积较小，其所需要的试剂量也相应较少。可选地，第五子通道的
20 截面形状为半圆形，并且该第五子通道的直径范围为 1 μ m-20 μ m。

在此之后，通过第二进液通道 2 向免疫反应池 4 注入碱性溶液，
25 使得 DNA 标记的抗体与引物 9 双链解旋，并且抗原双抗体复合物和碱性溶液流入发光反应池 5。在具体示例中，碱性溶液为氢氧化钠溶液。可选地，第二进液通道 2 的截面形状为半圆形，并且该第二进液通道 2 的直径范围为 1 μ m-20 μ m。

可选地，在第二进液通道 2 的进液端处设置有液体泵（未示出）。
25 通过液体泵向第二进液通道的进液端输送碱性溶液，可以实现对注入碱性溶液的量的精准控制。

在本实施例中，免疫反应池 4 内不可避免地会存在未发生免疫反应的待测抗原和抗体。这种未反应的待测抗原和抗体在进入发光反应池 5 之后会影响发光反应的检测结果。为了解决该技术问题，在本实
30 施例中，可选地，第一进液通道 1 还包括第四子通道 104。第四子通道 104 的进液端伸至预留区域。第四子通道 104 的出液端与连接子通道连通。第四子通道 104 用于在免疫反应结束之后并且在通过第二进液通

道 2 向免疫反应池 4 注入碱性溶液之前,将清洗液导入至免疫反应池 4。具体地,清洗液为去离子水。

可选地,第四子通道 104 的截面形状为半圆形,并且该第四子通道 104 的直径范围为 1 μ m-20 μ m。

5 在通过第四子通道 104 向免疫反应池 4 注入去离子水时,位于连接器通道和免疫反应池 4 中的未反应的待测抗原和抗体将被冲走,并且经过废液出口(即,发光反应池的出液端)排出。以这样的方式,可以有效地避免未反应的待测抗原和抗体进入发光反应池 5 内。在这一过程中,清洗时间可以根据实际情况进行相应调整。需要说明的是,在利用去离子水对免疫反应池 4 进行清洗时,由于抗原双抗体复合物
10 固定于引物 9 上,因而抗原双抗体复合物可以保留于免疫反应池 4 内,即,不被冲走。

最后,通过第三进液通道 3 向发光反应池 5 注入氧化剂溶液。由此,在氧化剂溶液和碱性溶液的作用下,抗原双抗体复合物,特别地,
15 抗体吡啶酯,分解发光。具体地,氧化剂溶液为过氧化氢溶液。

可选地,在第三进液通道 3 的进液端处设置有液体泵(未示出)。通过液体泵向第三进液通道的进液端输送氧化剂溶液,可以实现对注入氧化剂溶液的量的精准控制。

可选地,第三进液通道 3 的截面形状为半圆形,并且该第三进液
20 通道 3 的直径范围为 1 μ m-20 μ m。

在氧化剂溶液和碱性溶液的作用下,吡啶酯分解,并且可以持续稳定地发射出光子。由发射光释放的光子能量被光子计数器检测和记录。在此之后,通过计算机处理系统将光能量强度在标准曲线上转换为待测抗原的浓度。

25 可选地,发光反应池 5 包括一个或多个第六子通道。当第六子通道的数量为多个时,所有的第六子通道首尾相连。此时,发光反应池 5 的体积较小,其所需要的试剂量也相应较少。可选地,第六子通道的截面形状为半圆形,并且该第六子通道的直径范围为 1 μ m-20 μ m。

进一步可选地,在免疫反应池 4 与发光反应池 5 的截面面积相同
30 的情况下,免疫反应池 4 的长度与发光反应池 5 的长度满足如下关系: $2 \times L1 < L2$,其中, $L1$ 为免疫反应池 4 的长度,而 $L2$ 为发光反应池 5 的长度。通过将发光反应池 5 的长度设置为免疫反应池 4 的长度的 2

倍以上，可以确保免疫反应物被全部冲到反应发光区域中，从而保证后续检测结果的准确性。

需要说明的是，在利用上述微流控芯片完成化学发光免疫分析之后，可以继续向第一子通道 101 中通入去离子水，以对第一子通道 101、
5 连接子通道、免疫反应池 4 以及发光反应池 5 进行清洗。由此，经过清洗的微流控芯片可以重复使用。

此外，在上文中，作为示例，将各个子通道和通道的截面形状示出为半圆形，但是这仅仅代表示例情况，其不会对本公开的技术方案产生任何限制。在本公开中，各个子通道和通道的截面形状还可为其他形状，此处不再一一举例。
10

根据本公开的另一方面，实施例还提供了一种用于化学发光免疫分析的装置，其包括：在以上任一个实施例中描述的微流控芯片。该微流控芯片采用上述实施例中提供的微流控制芯片，具体内容可参见上述实施例中的相应内容，此处不再赘述。

15 图 5 为根据本公开的一个实施例的用于化学发光免疫分析的方法的流程图。如图 5 所示，用于化学发光免疫分析的方法是基于以上任一个实施例中描述的微流控芯片，并且具体包括以下步骤。

在步骤 S1，通过第一进液通道向免疫反应池注入待测抗原和抗体，以供待测抗原和抗体发生免疫反应，从而生成抗原抗体复合物。

20 在本实施例中，采用双抗体夹心方案，其中通过第一进液通道向免疫反应池注入的抗体为两种，并且该两种抗体分别为带 DNA 标记的抗体和带吡啶酯标记的抗体。

在步骤 S1 中，可以首先将待测抗原和两种抗体混合，并且然后将混合液通过第一进液通道注入至免疫反应池内。可替换地，可以首先将待测抗原和两种抗体通过三个独立的子通道（即，第一子通道、
25 第二子通道和第三子通道）注入至免疫反应池内，并且然后使三者免疫反应池内进行混合。

在免疫反应池内，通过免疫反应生成的抗原双抗体复合物中的 DNA 标记抗体固定在免疫反应池内的引物上。

30 可选地，还可以在盖板朝向底板的一侧上设置加热电极。该加热电极使得免疫反应池的环境温度处于预设值（一般为 37 摄氏度），从而能有效地促进待测抗原与两种抗体在免疫反应池内发生免疫反应。

在步骤 S2 中，通过第二进液通道向免疫反应池注入碱性溶液，使得 DNA 标记抗体与引物双链解旋，并且抗原双抗体复合物和碱性溶液流入发光反应池。

可选地，碱性溶液为氢氧化钠溶液。

5 在碱性溶液的作用下，抗原双抗体复合物中的 DNA 标记抗体与引物双链解旋，并且抗原双抗体复合物和碱性溶液流入发光反应池。

在步骤 S3 中，通过第三进液通道向免疫反应池注入氧化剂溶液。此时，在氧化剂溶液和碱性溶液的作用下，吡啶酯分解发光。

可选地，氧化剂溶液为过氧化氢溶液。

10 在发光反应池内，在氧化剂溶液和碱性溶液的作用下，抗原双抗体复合物中的吡啶酯分解发光。由此，发射的光子可被位于微流控芯片下方的单光子计数器检测到，以供后续对待测抗原的含量进行分析。

需要说明的是，在利用上述微流控芯片完成化学发光免疫分析之后，可以再向第一子通道中注入去离子水，以对第一子通道、第一连接子通道、免疫反应池以及发光反应池进行清洗。以这样的方式完成清洗的微流控芯片可被重复使用。

图 6 为根据本公开的另一个实施例的用于化学发光免疫分析的方法的流程图。如图 6 所示，用于化学发光免疫分析的方法是基于以上在任一个实施例中描述的微流控芯片。而且，在该微流控芯片中，第一进液通道包括第四子通道。此时，除了上述实施例中的步骤 S1-步骤 S4 之外，用于化学发光免疫分析的方法还包括在步骤 S1 和步骤 S2 之间的附加步骤 S101。下面将对步骤 S101 的内容进行详细描述。

25 在步骤 S101 中，通过第四子通道向发光反应池注入清洗液，以便从免疫反应池的出液端清洗出在连接子通道和免疫反应池内未反应的待测抗原和抗体。

可选地，清洗液为去离子水。

30 在免疫反应结束之后，并且在通过第二进液通道向免疫反应池注入碱性溶液之前，利用第四子通道向免疫反应池注入去离子水，以将位于连接子通道和免疫反应池中的未反应的待测抗原和抗体冲走，并且经过废液出口排出。以这样的方式，可以有效避免未反应的待测抗原和抗体进入发光反应池内，进而保证后续检测结果的精准度。

需要说明的是，在利用去离子水对免疫反应池进行清洗时，由于

抗原双抗体复合物固定于引物上，因而抗原双抗体复合物可以保留于免疫反应池内，即，不被冲走。

5 根据本公开的实施例提供的用于化学发光免疫分析的方法，可以实现低试剂量的检测。可以理解的是，以上实施方式仅仅是为了说明本公开的原理而采用的示例性实施方式。然而，本公开并不局限于此。对于本领域内的普通技术人员而言，在不脱离本公开的精神和实质的情况下，可以做出各种变型和改进，并且所有这些变型和改进也视为落入本公开的保护范围。

权 利 要 求

1. 一种用于化学发光免疫分析的微流控芯片，包括：底板，以及形成在所述底板的第一表面上的第一进液通道、第二进液通道、第三进液通道、免疫反应池和发光反应池，其中
- 5 所述免疫反应池的出料端与所述发光反应池的进液端连通，并且所述免疫反应池内设置有引物，所述引物用于固定在所述免疫反应池内生成的抗原抗体复合物；
- 所述第一进液通道的出液端与所述免疫反应池的进液端连通，并且所述第一进液通道用于将待测抗原和抗体导入至所述免疫反应池中；
- 10 所述第二进液通道的出液端与所述免疫反应池的进液端连通，并且所述第二进液通道用于将碱性溶液导入至所述免疫反应池中；以及
- 所述第三进液通道的出液端与所述发光反应池的进液端连通，并且所述第三进液通道用于将氧化剂溶液导入至所述发光反应池中。
- 15 2. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片，还包括：设置在所述底板的第二表面上的盖板，其中，所述第二表面与所述第一表面相对，并且所述底板包括预留区域和非预留区域，其中
- 所述盖板覆盖所述非预留区域，
- 所述第一进液通道、所述第二进液通道、所述第三进液通道、所述免疫反应池和所述发光反应池均位于所述非预留区域中，并且
- 20 所述第一进液通道、所述第二进液通道和所述第三进液通道的进液端均延伸到所述预留区域中。
3. 根据权利要求 2 所述的微流控芯片，还包括：设置在所述盖板靠近所述底板的一侧上的加热电极，其中，所述加热电极在所述底板上的正投影至少覆盖所述免疫反应池。
- 25 4. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片，其中，在所述第一进液通道、所述第二进液通道和所述第三进液通道的进液端处分别设置有液体泵，所述液体泵用于向各个进液端输送相应液体。
5. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片，其中，所述底板和所述盖板键合连接。
- 30 6. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片，其中，所述第一进液通道包括：第一子通道、第二子通道和第三子通道，其中

所述第一子通道、所述第二子通道和所述第三子通道的出液端汇聚于第一节点，所述第一节点通过连接子通道与所述免疫反应池的进液端连通；并且

所述第一子通道、所述第二子通道和所述第三子通道分别用于将待测抗原、第一抗体和第二抗体导入至所述免疫反应池中。

7. 根据权利要求 6 所述的微流控芯片，其中，所述第一抗体为带 DNA 标记的抗体，并且所述第二抗体为带吡啶酯标记的抗体。

8. 根据权利要求 6 所述的微流控芯片，其中，所述第一进液通道还包括：第四子通道，其中

所述第四子通道的出液端与所述连接子通道连通；并且所述第四子通道用于将清洗液导入至所述免疫反应池中。

9. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片，其中

所述免疫反应池包括单个第五子通道或者多个首尾相连的第五子通道；并且

所述发光反应池包括单个第六子通道或者多个首尾相连的第六子通道。

10. 根据权利要求 9 所述的微流控芯片，其中

所述免疫反应池的长度表示为 L_1 ，并且所述发光反应池的长度表示为 L_2 ，其中 $2 \times L_1 < L_2$ 。

11. 根据权利要求 6-8 中任一所述的微流控芯片，其中，所述第一子通道、所述第二子通道、所述第三子通道、所述第二进液通道和所述第三进液通道的截面形状均为半圆形。

12. 根据权利要求 11 所述的微流控芯片，其中，所述半圆形截面的直径范围为 $1\mu\text{m}$ - $20\mu\text{m}$ 。

13. 根据权利要求 9-10 中任一所述的微流控芯片，其中，所述第五子通道和所述第六子通道的截面形状均为半圆形。

14. 根据权利要求 13 所述的微流控芯片，其中，所述半圆形截面的直径范围为 $1\mu\text{m}$ - $20\mu\text{m}$ 。

15. 一种用于化学发光免疫分析的装置，包括：根据权利要求 1-14 中任一所述的微流控芯片。

16. 一种用于化学发光免疫分析的方法，其中，所述方法是基于根据权利要求 1 所述的微流控芯片，并且包括：

通过所述第一进液通道向所述免疫反应池中注入待测抗原和抗体，使得所述待测抗原和抗体通过免疫反应而生成抗原抗体复合物，所述抗原抗体复合物固定在所述免疫反应池内的引物上；

5 通过所述第二进液通道向所述免疫反应池中注入碱性溶液，使得所述抗原抗体复合物与所述引物双链解旋，由此所述抗原抗体复合物和所述碱性溶液流入所述发光反应池中；以及

通过所述第三进液通道向所述发光反应池中注入氧化剂溶液，使得在氧化剂溶液和碱性溶液的作用下，所述抗原抗体复合物分解发光，其中所发射的光子可被位于微流控芯片下方的光子计数器检测到。

10 17. 根据权利要求 16 所述的方法，其中

所述微流控芯片的第一进液通道包括第四子通道，其中，所述第四子通道的出液端通过连接子通道与所述免疫反应池的进液端连通，并且

15 所述方法还包括：在通过所述第二进液通道向所述免疫反应池中注入碱性溶液之前，通过所述第四子通道向所述免疫反应池中注入清洗液，使得从所述免疫反应池的出液端清洗出在所述连接子通道和所述免疫反应池内未反应的待测抗原和抗体。

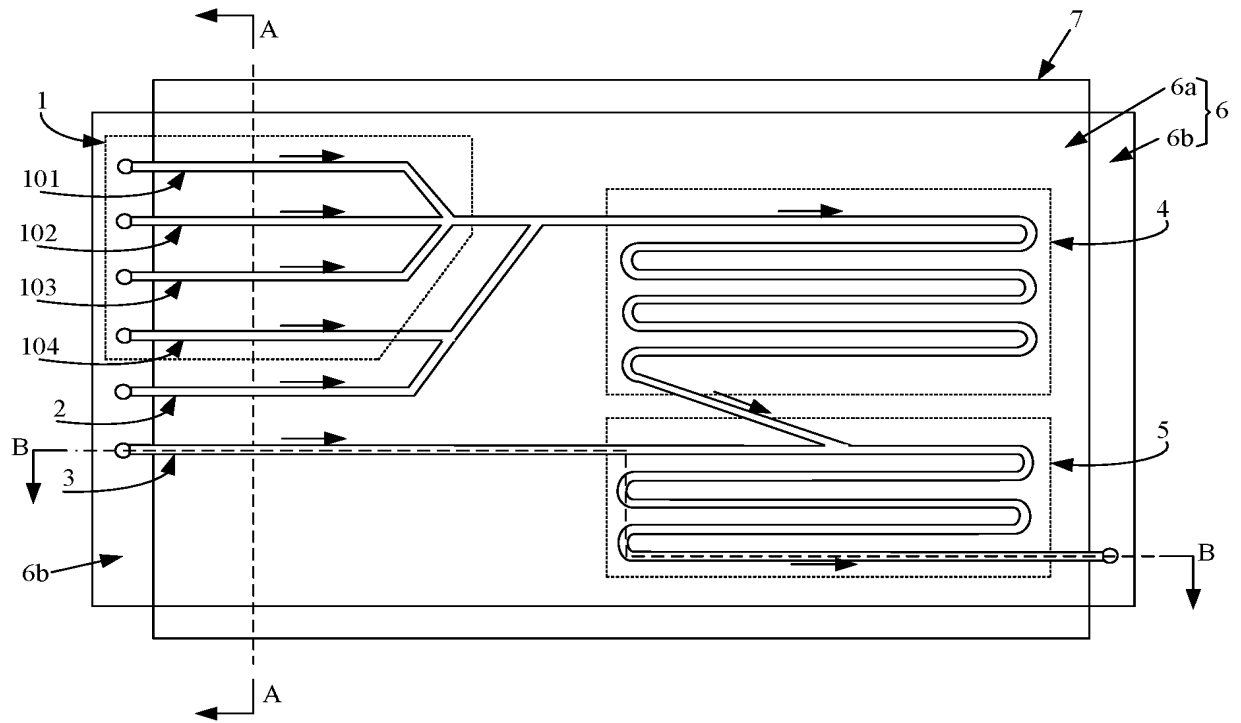


图 1

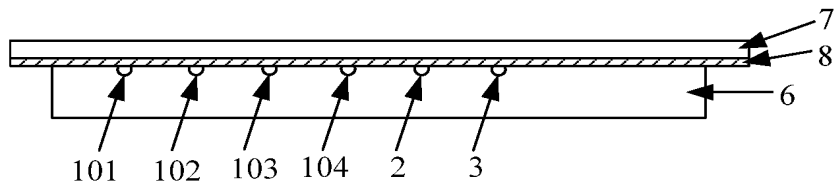


图 2

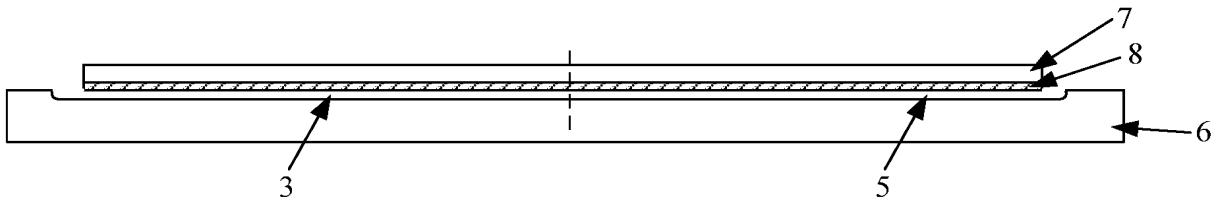


图 3

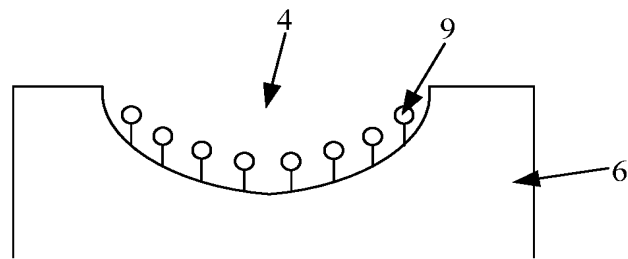


图 4

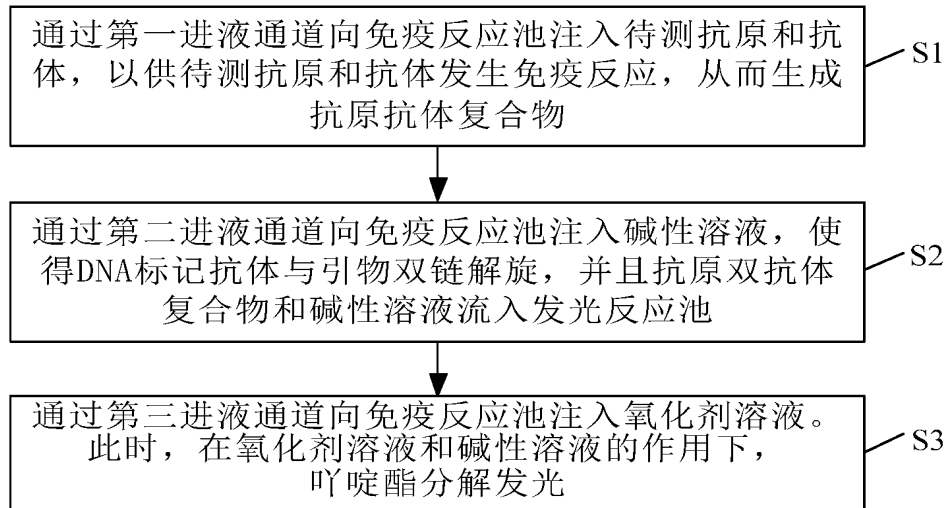


图 5

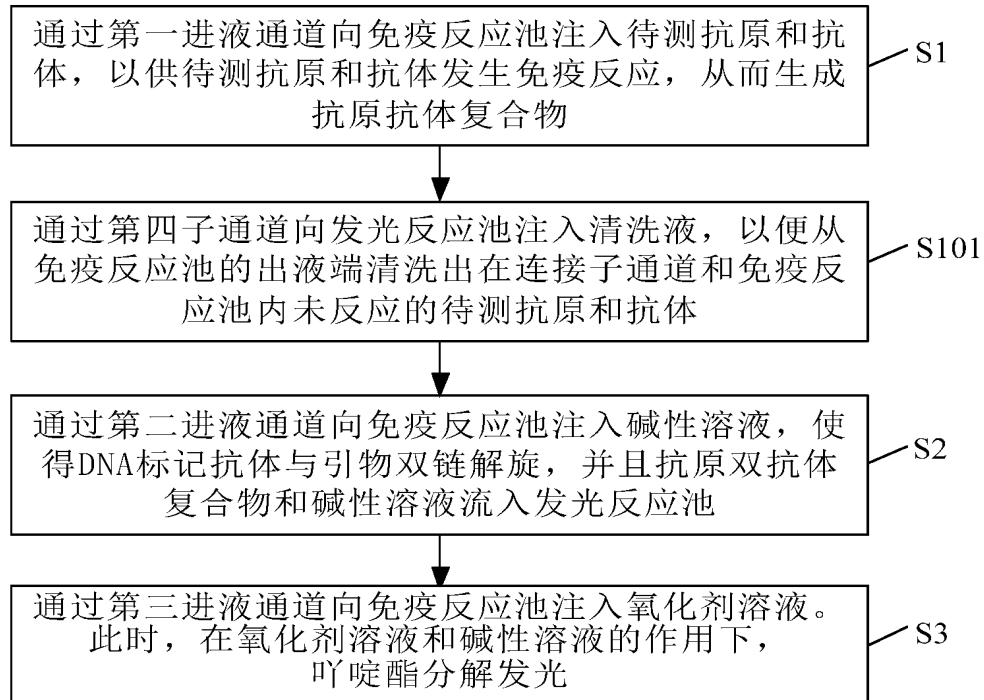


图 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2018/073606

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

B01L 3/00 (2006.01) i; G01N 33/542 (2006.01) i; G01N 21/76 (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)

B01L 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)

WPI; CNKI; EPODOC; USTXT; GOOGLE Scholar; CNABS; VEN: 京东方科技集团股份有限公司, 北京京东方显示技术有限公司; 微流控, 芯片, 化学发光, 免疫, 微通道, 通道, 微流道, DNA, 抗体标记, 碱性溶液, NaOH, 吡啶酯, 氧化剂, H2O2, 双抗体夹心, double-antibody sandwich, chip?, microfluid+, immune+, chemiluminiscence, microchannel?, micro-channel?, antibody label+, acridinium ester

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 105241870 A (SHENZHEN HUAMAIXINGWEI MEDICAL TECHNOLOGY CO., LTD.) 13 January 2016 (13.01.2016), entire document	1-17
A	US 2012295290 A1 (ABBOTT POINT OF CARE INC.) 22 November 2012 (22.11.2012), entire document	1-17
A	US 2015111306 A1 (NATIONAL TSING HUA UNIVERSITY) 23 April 2015 (23.04.2015), entire document	1-17
A	CN 105241871 A (SHENZHEN HUAMAIXINGWEI MEDICAL TECHNOLOGY CO., LTD.) 13 January 2016 (13.01.2016), entire document	1-17

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“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)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>
---	---

<p>Date of the actual completion of the international search</p> <p style="text-align: center;">22 March 2018</p>	<p>Date of mailing of the international search report</p> <p style="text-align: center;">20 April 2018</p>
<p>Name and mailing address of the ISA</p> <p>State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451</p>	<p>Authorized officer</p> <p style="text-align: center;">WANG, Zhifei</p> <p>Telephone No. (86-10) 53962060</p>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2018/073606

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Ko-Wei Chang et al. An Integrated Microfluidic System for Measurement of Glycated Hemoglobin Levels by Using an Aptamer-Antibody Assay on Magnetic Beads. Biosensors and Bioelectronics. 31 December 2015 (31.12.2015), vol. 68, pp. 397-403	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2018/073606

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 105241870 A	13 January 2016	None	
US 2012295290 A1	22 November 2012	JP 6038023 B2	07 December 2016
		US 2011306070 A1	15 December 2011
		EP 2580591 A1	17 April 2013
		CA 2802386 A1	22 December 2011
		EP 2580591 B1	23 August 2017
		AU 2011267872 A1	10 January 2013
		WO 2011159707 A1	22 December 2011
		CN 103154738 A	12 June 2013
		CN 103154738 B	30 March 2016
		JP 2013540258 A	31 October 2013
		AU 2011267872 B2	28 July 2016
		US 8486721 B2	16 July 2013
		US 8394325 B2	12 March 2013
US 2015111306 A1	23 April 2015	TW I482857 B	01 May 2015
		US 9086406 B2	21 July 2015
		TW 201516145 A	01 May 2015
CN 105241871 A	13 January 2016	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/073606

<p>A. 主题的分类</p> <p>B01L 3/00(2006.01)i; G01N 33/542(2006.01)i; G01N 21/76(2006.01)i</p> <p>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</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>B01L G01N</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>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))</p> <p>WPI;CNKI;EPDOC;USTXT;GOOGLE Scholar;CNABS;VEN:京东方科技集团股份有限公司, 北京京东方显示技术有限公司; 微流控, 芯片, 化学发光, 免疫, 微通道, 通道, 微流道, DNA, 抗体标记, 碱性溶液, NaOH, 吡啶酯, 氧化剂, H2O2, 双抗体夹心, double-antibody sandwich, chip?, microfluid+, immune+, chemiluminescence, micro-channel?, micro-channel?, antibody label+, acridinium ester</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 105241870 A (深圳华迈兴微医疗科技有限公司) 2016年 1月 13日 (2016 - 01 - 13) 全文</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2012295290 A1 (ABBOTT POINT OF CARE INC.) 2012年 11月 22日 (2012 - 11 - 22) 全文</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2015111306 A1 (NATIONAL TSING HUA UNIVERSITY) 2015年 4月 23日 (2015 - 04 - 23) 全文</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 105241871 A (深圳华迈兴微医疗科技有限公司) 2016年 1月 13日 (2016 - 01 - 13) 全文</td> <td>1-17</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>Ko-Wei Chang等. "An integrated microfluidic system for measurement of glyca- ted hemoglobin Levels by using an aptamer - antibody assay on magnetic beads" Biosensors and Bioelectronics, 第68卷, 2015年 12月 31日 (2015 - 12 - 31), 397-403</td> <td>1-17</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 105241870 A (深圳华迈兴微医疗科技有限公司) 2016年 1月 13日 (2016 - 01 - 13) 全文	1-17	A	US 2012295290 A1 (ABBOTT POINT OF CARE INC.) 2012年 11月 22日 (2012 - 11 - 22) 全文	1-17	A	US 2015111306 A1 (NATIONAL TSING HUA UNIVERSITY) 2015年 4月 23日 (2015 - 04 - 23) 全文	1-17	A	CN 105241871 A (深圳华迈兴微医疗科技有限公司) 2016年 1月 13日 (2016 - 01 - 13) 全文	1-17	A	Ko-Wei Chang等. "An integrated microfluidic system for measurement of glyca- ted hemoglobin Levels by using an aptamer - antibody assay on magnetic beads" Biosensors and Bioelectronics, 第68卷, 2015年 12月 31日 (2015 - 12 - 31), 397-403	1-17
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
A	CN 105241870 A (深圳华迈兴微医疗科技有限公司) 2016年 1月 13日 (2016 - 01 - 13) 全文	1-17																		
A	US 2012295290 A1 (ABBOTT POINT OF CARE INC.) 2012年 11月 22日 (2012 - 11 - 22) 全文	1-17																		
A	US 2015111306 A1 (NATIONAL TSING HUA UNIVERSITY) 2015年 4月 23日 (2015 - 04 - 23) 全文	1-17																		
A	CN 105241871 A (深圳华迈兴微医疗科技有限公司) 2016年 1月 13日 (2016 - 01 - 13) 全文	1-17																		
A	Ko-Wei Chang等. "An integrated microfluidic system for measurement of glyca- ted hemoglobin Levels by using an aptamer - antibody assay on magnetic beads" Biosensors and Bioelectronics, 第68卷, 2015年 12月 31日 (2015 - 12 - 31), 397-403	1-17																		
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																				
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“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)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>																				
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2018年 3月 22日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2018年 4月 20日</p>																		
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10) 62019451</p>		<p>受权官员</p> <p>王知非</p> <p>电话号码 (86-10) 53962060</p>																		

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/073606

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	105241870	A	2016年 1月 13日	无	
US	2012295290	A1	2012年 11月 22日	JP	6038023 B2 2016年 12月 7日
				US	2011306070 A1 2011年 12月 15日
				EP	2580591 A1 2013年 4月 17日
				CA	2802386 A1 2011年 12月 22日
				EP	2580591 B1 2017年 8月 23日
				AU	2011267872 A1 2013年 1月 10日
				WO	2011159707 A1 2011年 12月 22日
				CN	103154738 A 2013年 6月 12日
				CN	103154738 B 2016年 3月 30日
				JP	2013540258 A 2013年 10月 31日
				AU	2011267872 B2 2016年 7月 28日
				US	8486721 B2 2013年 7月 16日
				US	8394325 B2 2013年 3月 12日
US	2015111306	A1	2015年 4月 23日	TW	I482857 B 2015年 5月 1日
				US	9086406 B2 2015年 7月 21日
				TW	201516145 A 2015年 5月 1日
CN	105241871	A	2016年 1月 13日	无	