



# (12) 实用新型专利

(10) 授权公告号 CN 221638169 U

(45) 授权公告日 2024. 09. 03

(21) 申请号 202323587206.2

(22) 申请日 2023.12.27

(73) 专利权人 苏州先达基因科技有限公司  
地址 215128 江苏省苏州市吴中区越溪街  
道北官渡路38号3幢2楼西楼

(72) 发明人 陈文柱 王剑锋 柳江 于继彬

(74) 专利代理机构 杭州天昊专利代理事务所  
(特殊普通合伙) 33283  
专利代理师 向庆宁 曹小燕

(51) Int. Cl.  
B01L 3/00 (2006.01)

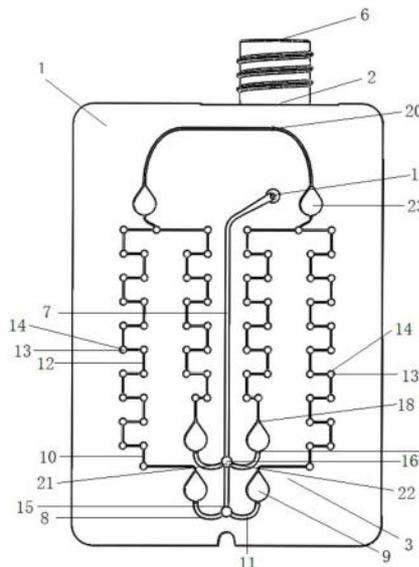
权利要求书1页 说明书12页 附图5页

## (54) 实用新型名称

一种不对称压力驱动试剂流动的微流控芯片

## (57) 摘要

本实用新型提供了一种不对称压力驱动试剂流动的微流控芯片,所述芯片由上至下设置有管盖、储液腔和多个反应腔,腔室之间通过流道相连,利用进样流道孔径大于排气通道孔径,同时管盖能在芯片密封后再向芯片施压,形成瞬时不对称压力,使样品能在瞬时不对称气压驱动作用下从进样流道迅速流入反应腔,但不能从排气通道流出反应腔。当样品进入反应腔后,腔中气体可通过排气通道回流至储液腔,不与外界产生气体交换,避免气溶胶污染。所述芯片在保证检测精密度的基础上极大的简化结构和操作过程,反应速度快,避免气溶胶污染可扩展到呼吸道、生殖道样本等多种病原体核酸的快速及可视化检测,适合大规模推广应用。



1. 一种不对称压力驱动试剂流动的微流控芯片,其特征在于,包括储液腔、反应腔和管盖;

所述储液腔用于加入或存放试剂;

所述反应腔用于扩增或检测样品,设有进样流道和排气通道,所述排气通道的横截面积小于进样流道的横截面积,使样品能从进样流道流入反应腔,但不会从排气通道流出反应腔,排气通道最终与储液腔连通;

所述管盖在封闭芯片后,还能向芯片内施压,使芯片内产生不对称压力,促使样品从储液腔经进样流道流入反应腔。

2. 如权利要求1所述的微流控芯片,其特征在于,所述管盖在封闭芯片后,通过旋拧或按压管盖,能向芯片内施压。

3. 如权利要求1所述的微流控芯片,其特征在于,所述管盖顶部设有可推动的气囊,在封闭芯片后,向下推动气囊,能向芯片内施压。

4. 如权利要求1所述的微流控芯片,其特征在于,所述排气通道设有多个迂回流道,设有至少一个弯折形状的结构。

5. 如权利要求4所述的微流控芯片,其特征在于,所述反应腔的数量为至少一个,分别通过进样流道与芯片的主流道流体连通。

6. 如权利要求5所述的微流控芯片,其特征在于,所述反应腔设有进样口和排气口,所述进样口与进样流道流体连通,排气口与排气通道气体连通;所述排气口的位置高于进样口。

7. 如权利要求6所述的微流控芯片,其特征在于,所述储液腔设有出液口和进气口,所述出液口与主流道流体连通,进气口与反应腔的排气通道气体连通;所述进气口的位置高于出液口。

8. 如权利要求7所述的微流控芯片,其特征在于,所述储液腔和反应腔之间可以增设有阀块,用于控制储液腔、反应腔之间的流体连通的状态;所述阀块具有固态和液态两种形态;当阀块为固态时,储液腔和反应腔不能流体连通;当阀块为液态时,储液腔和反应腔流体连通。

9. 如权利要求8所述的微流控芯片,其特征在于,当阀块为固态时,位于连接储液腔和反应腔的主流道内,用于防止储液腔内的待测样本流入反应腔;当阀块为液态时,会流向反应腔的排气通道;所述阀块为石蜡或脂类物质,在常温下为固态,加热后融化成液态;阀块的密度小于水。

## 一种不对称压力驱动试剂流动的微流控芯片

### 技术领域

[0001] 本实用新型涉及微流控制领域,具体而言,涉及一种不对称压力驱动试剂流动的微流控芯片。

### 背景技术

[0002] 微流控芯片技术,又称芯片实验室,可以把生物和化学等领域中所涉及的样本制备、生物与化学反应、分离检测等基本操作集成或基本集成于一块几平方厘米的芯片上,用以完成不同的生物或化学反应过程,并对其产物进行分析的一种技术能大大降低检测过程对场地、人员和设备的要求。

[0003] 现有微流控检测芯片已实现核酸扩增、核酸检测等多步骤集成在一个体积较小的芯片上,快速完成“样本进——结果出”的检测流程。由于微流控芯片摆脱了对精密移液装置和专业人员的依赖,因此在即时检测领域具有巨大潜力。

[0004] 等温扩增因反应速度快、仪器设备要求低等在即时检测领域得到了越来越多的关注,但由于待测样本的复杂性,如血液、痰液、尿液、组织等,通常在等温扩增后还需与检测试剂反应来放大信号才能实现准确检测,称为核酸多重检测。核酸多重检测需要待测样本在多个反应室进行可控式转移,并且能防止样本回流引起交叉影响。现有的微流控芯片大多仅设置一个反应室用于核酸的扩增和检测,导致难以实现核酸多重检测。同时,在实现核酸多重检测的基础上,如果针对同一目的核酸,需要同时进行多种基因型的检测,则还需要再设计相应的核酸分型检测微流控芯片。

[0005] 但是现有的微流控芯片普遍存在一定的弊端,例如芯片结构复杂、易出现流道堵塞,需要依赖电力装置、离心设备作为驱动,以实现液体的定向移动,因此存在电力和离心设备依赖的问题。同时,现有微流控芯片通常需要设置与外界连通的排气孔,才能实现液体在芯片内的正常流动,从而使芯片的结构复杂,而且要防止漏液的发生。

[0006] 鉴于此,市面上亟需一种结构更加简单、操作更加方便、仪器要求更低、成本更低的新式微流控芯片,用于解决现有技术中微流控芯片存在的上述问题。

### 实用新型内容

[0007] 为解决上述问题,本实用新型提供了一种不对称压力驱动试剂流动的微流控芯片,所述芯片由上至下设置有管盖、储液腔和多个反应腔,腔室之间通过流道相连,利用进样流道孔径大于排气通道孔径,同时管盖能在芯片密封后再向芯片施压,形成瞬时不对称压力,使样品能在瞬时不对称气压驱动作用下从进样流道迅速流入反应腔,但不能从排气通道流出反应腔。当样品进入反应腔后,腔中气体可通过排气通道回流至储液腔,不与外界产生气体交换,避免气溶胶污染。所述芯片在保证检测精密度的基础上极大的简化结构和操作过程,反应速度快,避免气溶胶污染可扩展到呼吸道、生殖道样本等多种病原体核酸的快速及可视化检测,适合大规模推广应用。

[0008] 一方面,本实用新型提供了一种微流控芯片,所述芯片包括储液腔、反应腔和管

盖；

[0009] 所述储液腔用于加入或存放试剂；

[0010] 所述反应腔用于扩增或检测样品，设有进样流道和排气通道，所述排气通道的横截面积小于进样流道的横截面积，使样品能从进样流道流入反应腔，但不会从排气通道流出反应腔，排气通道最终与储液腔连通；

[0011] 所述管盖在封闭芯片后，还能向芯片内施压，使芯片内产生不对称压力，促使样品从储液腔经进样流道流入反应腔。

[0012] 本实用新型提供的微流控芯片，液体在其中流动时，无需任何外力驱动，仅靠其旋拧或按压管盖本身产生的瞬时不对称压力即可实现。

[0013] 现有微流控芯片，样品的流动需要不断提供外界驱动以实现样本的定向流动，对仪器设备及驱动稳定性有着较高要求。

[0014] 本实用新型提供的微流控芯片，通过旋拧或按压管盖，向密封体系并提供一定压力，并且在反应腔设置有进样流道和排气通道，排气通道为孔径较小的多匝迂回的流道，由于进样流道孔径大于排气通道孔径形成瞬时不对称压力以驱动液体移动。在样品通过进样流道流入反应腔的同时，反应腔内部的气体可通过排气通道与储液腔相连，此时微流控芯片内气压平衡，进入反应腔内的样品也难以流出反应腔，难以发生回流现象，形成一个循环密闭环境，有效避免了气溶胶污染。

[0015] 微流控芯片在使用过程中，需要保持竖直状态，加样口朝上放置。在一些方式中，可以将该微流控芯片插入配套使用的检测装置中，使微流控芯片保持加样口朝上竖直摆放，并能通过检测装置提供热源为微流控芯片特定位置（如反应腔、阀块等）加热；在一些方式中，还可以通过检测装置检测微流控芯片中的样品反应后产生的荧光物质，读取检测结果。

[0016] 微流控芯片的主流道，以及反应腔的进样流道等用于样品流动的通道，其孔径的设置能够使液体顺畅流动。

[0017] 排气通道的横截面积小于进样流道的横截面积，横截面积小的排气通道能实现只通气，排液不顺畅，当提供一定压力时即会形成瞬时不对称压力。样品充满反应腔后，继续推进时会受阻，难以从反应腔的排气通道流出，会存留在反应腔完成反应并准确检测。

[0018] 所述管盖用于密封微流控芯片并提供瞬时压力作用。所述管盖可以采用螺旋下压形式，或是管盖的盖面内嵌活塞等方式来制备，当管盖密封微流控芯片时，或者在芯片密封以后，再通过旋拧或按压管盖，会向芯片内提供一定气压，由于进样流道孔径显著大于排气通道且排气通道为孔径较小的多匝迂回的流道所以形成瞬时不对称压力，促使液体从储液腔向反应腔转移。

[0019] 在一些方式中，所述管盖在封闭芯片后，通过旋拧或按压管盖，能向芯片内施压。

[0020] 在一些方式中，所述管盖顶部设有可推动的气囊，在封闭芯片后，向下推动气囊，能向芯片内施压，使芯片内产生不对称压力，促使样品从储液腔流入反应腔。

[0021] 所述气囊在管盖中能保证管盖对芯片保持密封状态，即使气囊在移动过程中，也能保持密封状态。

[0022] 在一些方式中，所述螺旋管盖可拆卸式的连接于储液腔，在封闭体系的同时，为芯片体系提供气压，驱动储液腔中液体向反应腔转移。

- [0023] 进一步地,所述排气通道设有多匝迂回流道,设有至少一个弯折形状的结构。
- [0024] 在排气通道设置多个弯折形状的结构,能够尽量延长排气通道的长度,从而有更多的管道可以存放排出的气体,防止出现因反应腔多,而储液腔只有一个,难以完全容纳所有气体,导致气压升高的情况。
- [0025] 在一些方式中,所述排气通道在弯折处还设有小腔体,用于容纳排出的多余气体。
- [0026] 在一些方式中,所述排气通道设有至少一个来回弯折的通道。
- [0027] 在一些方式中,所述排气通道在与储液腔连通之前,还可以设置排气腔,用于存放排出的多余气体,在排气腔充满后再继续回到储液腔。
- [0028] 进一步地,所述进样流道的孔径大于排气通道的孔径。
- [0029] 进一步地,所述进样流道的孔径大于 $300\mu\text{m}$ ;所述排气通道的孔径小于 $300\mu\text{m}$ 。
- [0030] 进一步地,所述反应腔的数量为至少一个,分别通过进样流道与芯片的主流道流体连通。
- [0031] 本实用新型提供的微流控芯片设有多个反应腔,适用于不同目的核酸的多重检测,或是不同基因型的检测。当然可以理解的是,本申请的微流控芯片并非只能用于基因分型检测或核酸多重检测,也适用于蛋白、抗体等其他类分子检测,储液腔可用于样品前处理,反应腔用于样本检测。
- [0032] 在一些方式中,所述反应腔的数量为 $2\sim 10$ 个,反应腔可以是任意排列,比如横排、竖排、或其他任意方式在主通道末端呈放射性排列,也可以在主通道下端设置多个分叉口用于反应腔的排列。
- [0033] 进一步地,所述反应腔设有进样口和排气口,所述进样口与进样流道流体连通,排气口与排气通道气体连通;所述排气口的位置高于进样口。
- [0034] 进一步地,所述进样口位于反应腔的下部位置,排气口位于反应腔的上部位置。
- [0035] 本实用新型针对反应腔的进样口和排气口位置也进行了设计,进样口在反应腔的靠下位置,排气口在反应腔的靠上位置,这样做的目的是为了保证样品在进入反应腔后,能顺利向上排气,同时也能更稳定地停留在反应腔内,防止回流。
- [0036] 待测样品在反应腔中完成利于检测的反应(如与检测试剂反应用于放大信号等)后,直接在反应腔进行结果检测,反应腔的一面采用透明膜制备,检测仪器可透过膜检测反应产生的荧光等物质,并读取检测结果。
- [0037] 进一步地,所述储液腔设有出液口和进气口,所述出液口与主流道流体连通,进气口与反应腔的排气通道气体连通;所述进气口的位置高于出液口。
- [0038] 储液腔中的进气口的位置高于出液口,能够使储液腔中样品全部顺利排出,防止受到进来的气体干扰。
- [0039] 进一步地,所述储液腔和反应腔之间设有阀块,用于控制储液腔、反应腔之间的流体连通的状态;所述阀块具有固态和液态两种形态;当阀块为固态时,储液腔和反应腔不能流体连通;当阀块为液态时,储液腔和反应腔流体连通。
- [0040] 进一步地,当阀块为固态时,位于连接储液腔和反应腔的主流道内,用于防止储液腔内的待测样本流入反应腔;当阀块为液态时,会流向反应腔的排气通道;所述阀块为石蜡或脂类物质,在常温下为固态,加热后融化成液态;阀块的密度小于水。
- [0041] 微流控芯片由于设有多个反应腔,且反应腔的进样口共同汇集在一起,很容易出

现样品回流,使样品从一个反应腔溢出,进入另一个反应腔,出现交叉影响,因此,怎样防止样品回流,保证检测结果的准确性非常重要。

[0042] 本实用新型提供的微流控芯片,通过在反应腔设置排气通道,同时在储液腔和反应腔之间设有阀块,利用阀块的升温相变性能,实现储液腔和反应腔的阻断和连通。阀块升温融化后,储液腔和各个反应腔之间的流道连通,储液腔内的样品流入各个反应腔,融化的阀块密度较低,会漂浮在样品上方,随样品一起流入反应腔,并可能在反应腔的排气口附近凝结,堵住排气通道(由于样品是定量的,至少都能到达反应腔的排气口附近),也有助于使待测样本进入反应腔后,能更稳定存留在反应腔内,难以发生回流现象,也不会流到其他腔室,从而保证每一步的反应都能顺利完成,直至最后实现精确检测。

[0043] 可见,阀块在本实用新型部分应用领域中可以起到多个用途,比如控制储液腔和反应腔的连通状态,防止样本从反应腔流出等等。

[0044] 在一些方式中,所述脂类物质包括正十六烷、正十八烷、石蜡、硬脂酸、棕榈酸等。

[0045] 在一些方式中,所述阀块为石蜡。

[0046] 石蜡能够在40~90°C之间某一特定温度阈值实现相变。

[0047] 在一些方式中,在用于预先处理好的样本进行不同目标的核酸检测时,此时所述储液腔无需放置裂解液,所述储液腔和反应腔之间也可以不放置阀块,储液腔、反应腔之间处于流体连通的状态,在重力和瞬时不对称压力作用下,储液腔试剂就会直接进入不同反应腔。

[0048] 储液腔和反应腔内置的固体试剂可根据需要灵活设置,不同的腔室内置不同的反应试剂,如储液腔内置靶标的扩增引物,各个反应腔内置不同基因型的检测探针,即可实现基因的分型检测。

[0049] 本实用新型提供的微流控芯片适用于基因分型检测和核酸多重检测。当用于核酸多重检测时,储液腔用于目的核酸裂解,反应腔内需预先放置不同核酸的扩增和检测试剂。当用于基因分型检测时,储液腔用于目的核酸扩增,储液腔内需预先放置核酸扩增试剂,反应腔内需预先放置不同基因型的检测试剂。

[0050] 在一些方式中,储液腔可作为ERA反应腔室,反应腔可作为ERA检测腔室。

[0051] 在一些方式中,储液腔可作为ERA反应腔室,反应腔可作为CRISPR检测腔室。

[0052] 在一些方式中,储液腔可作为ERA反应腔室,反应腔可作为Ago检测腔室。

[0053] 在一些方式中,储液腔可作为ERA反应腔室,反应腔可作为RNase H检测腔室。

[0054] 在一些方式中,反应腔可作为LAMP扩增检测腔室。

[0055] 在一些方式中,所述扩增反应包括但不限于ERA、RPA、ERA、LAMP、NEAR、NASBA、HDA、TMA、PCR等。

[0056] 在一些方式中,所述检测反应包括但不限于基于ERA、RPA、ERA、LAMP、NEAR、NASBA、HDA、TMA、PCR、杂交探针技术、CRISPR、Ago、RNaseH等建立的多种检测体系。

[0057] 在一些方式中,所述微流控芯片用于(DNA和/或RNA)基因分型检测,储液腔用于样品裂解和目的核酸扩增,储液腔内需预先放置核酸扩增试剂,所述核酸扩增试剂为通过冻干或烘干的固体扩增试剂,所述固体扩增试剂其形式包括但不限于冻干、烘干、风干等形式的球状、粉状、片状或块状制剂,涉及的扩增反应包括但不限于RPA(Recombinase Polymerase Amplification,重组酶聚合酶扩增)、ERA(Enzymatic Recombinase

Amplification,酶促恒温扩增)、LAMP(Loop-mediated Isothermal Amplification,环介导等温扩增)、NEAR(Nicking enzyme-Assisted Reaction,切刻酶辅助扩增反应)、NASBA(Nuclear acid sequence-based amplification,核酸依赖性扩增检测技术)、HDA(helicase-dependent amplification,解旋酶依赖性扩增技术)、TMA(transcription mediated amplification,转录介导的扩增技术)、等。

[0058] 在一些方式中,反应腔用于扩增后的样品与检测试剂进行荧光检测反应,反应腔内需预先放置检测试剂,所述检测试剂为固体检测试剂,包括但不限于冻干、烘干、风干等形式的球状、粉状、片状或块状制剂,涉及的检测反应包括但不限于基于RPA(Recombinase Polymerase Amplification,重组酶聚合酶扩增)、ERA(Enzymatic Recombinase Amplification,酶促恒温扩增)、LAMP(Loop-mediated Isothermal Amplification,环介导等温扩增)、NEAR(Nicking enzyme-Assisted Reaction,切刻酶辅助扩增反应)、NASBA(Nuclear acid sequence-based amplification,核酸依赖性扩增检测技术)、HDA(helicase-dependent amplification,解旋酶依赖性扩增技术)、TMA(transcription mediated amplification,转录介导的扩增技术)、杂交探针技术、CRISPR、Ago、RNaseH等建立的多探针检测体系。

[0059] 在一些方式中,所述固体检测试剂具体包括检测引物探针和/或检测预混液,检测预混液包括检测所需的酶和缓冲液。

[0060] 在一些方式中,所述检测结果根据实际需要的不同,包括但不限于荧光检测反应,试纸条可视化检测法。

[0061] 在一些方式中,所述芯片本体结构采用具有低成本、易加工性能和良好的生物相容性芯片的材料如PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯,Polymethyl Methacrylate)、PP(Polypropylene,聚丙烯)、PC(Polycarbonate,聚碳酸酯)等材质作基底,直接用激光刻蚀技术制作通道和反应槽,或在PMMA基底上刻蚀结构,再用PDMS倒模。

[0062] 采用本实用新型提供的微流控芯片进行检测基因分型检测的方法包括如下步骤:

[0063] (1) 将含有裂解液的待测样品从加样口进入微流控芯片,盖上管盖;

[0064] (2) 将微流控芯片竖直插入检测装置中;

[0065] (3) 待测样品在储液腔进行裂解或核酸扩增;

[0066] (4) 加热,使阀块由固态转变为液态;

[0067] (5) 按压管盖上的气囊,待测样品利用不对称压力驱动进入各个反应腔进行反应;

[0068] (6) 读取检测结果。

[0069] 在步骤(3)中,所述核酸扩增为等温扩增,需要加热设备对储液腔提供合适的等温扩增所需温度(如20~65℃)。

[0070] 在步骤(4)中,检测装置需对阀块(石蜡)进行加热(如40~90℃),达到其相变温度融化成液体。

[0071] 本实用新型提供的利用不对称压力驱动试剂流动的微流控芯片,通过巧妙设计流道连接、腔室位置,通过旋拧管盖为封闭体系施压,同时由于进样流道显著大于排气通道,从而产生瞬时不对称压力,实现待测样本的依次逐步独立进行扩增、检测反应,整个过程不仅操作简便、反应速度快,而且芯片设计为全封闭结构有效避免了气溶胶污染,能够有效实现病原体的高通量检测;另外,该微流控芯片的扩增/检测试剂均为干燥试剂,能够实现芯

片的室温保存和运输,避免了冷链运输和-20℃保存的局限,具有如下的有益效果:

[0072] 1、储液腔中的样品无需外加驱动装置,仅在损失不对称压力驱动下便可实现液体由储液腔向反应腔的转移;

[0073] 2、反应腔无需与外界大气连通,直接将反应腔的排气通道与储液腔相连,将反应腔内压出的大气排回到储液腔,此时微流控芯片内气压平衡,进入反应腔内的样品也难以流出反应腔,难以发生回流现象;

[0074] 3、在保证检测精密度的基础上简化芯片结构和操作过程,不仅操作简便、反应速度快,而且芯片采用全封闭结构设计有效避免了气溶胶污染,可扩展到呼吸道、生殖道样本等多种病原体核酸的快速及可视化检测,适合大规模推广应用。

### 附图说明

[0075] 图1为实施例1中的不对称压力驱动微流控芯片的管盖结构图;

[0076] 图2为实施例1中的不对称压力驱动微流控芯片的管盖剖面结构图;

[0077] 图3为实施例1中的四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的正视图;

[0078] 图4为实施例1中的四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的背视图;

[0079] 图5为实施例1中的四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的俯视图;

[0080] 图6为实施例1中的四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的加样区结构示意图;

[0081] 图7为实施例1中的四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的加样区剖面结构示意图;

[0082] 图8为实施例1中的四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的检测区结构示意图;

[0083] 图9为实施例1中的放射性排布六反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的结构图;

[0084] 图10为实施例1中的放射性排布四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的结构图;

[0085] 图11为实施例1中的横向排布四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的结构图。

### 具体实施方式

[0086] 下面结合附图对本实用新型的优选实施例作进一步详细描述,需要指出的是,以下所述实施例旨在便于对本实用新型的理解,而对其不起任何限定作用。本实用新型具体实施例中使用的原料、设备均为已知产品,通过购买市售产品获得。

[0087] 在本实用新型的描述中,需要理解的是,术语“上”、“下”、“前”、“后”、“左”、“右”、“竖直”、“水平”、“顶”、“底”、“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实用新型和简化描述,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实用新型的限制。此外,术语“第一”、“第二”等仅用于描述目的,而不能理解为指示或暗示相对重要性或者隐含指明所指示的技术特征的数量。由此,限定有“第一”、“第二”等的特征可以明示或者隐含

地包括一个或者更多个该特征。在本实用新型的描述中,除非另有说明,“多个”的含义是两个或两个以上。

[0088] 在本实用新型的描述中,需要说明的是,除非另有明确的规定和限定,术语“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,可以通过具体情况理解上述术语在本实用新型中的具体含义。

[0089] 实施例1、不对称压力驱动的微流控芯片结构

[0090] 本实施例提供的不对称压力驱动微流控芯片的结构如图1~11所示,其中图1为不对称压力驱动微流控芯片的管盖结构;图2为不对称压力驱动微流控芯片的管盖剖面图结构;图3为四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的正视图;图4为四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的背视图;图5为四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的俯视图;图6为四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的加样区结构示意图;图7为四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的加样区剖面结构示意图;图8为四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的检测区结构示意图;图9为放射性排布六反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的结构图;图10为放射性排布四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的结构图;图11为横向排布四反应腔室的不对称压力驱动微流控芯片的结构图。

[0091] 如图1~8所示,本实施例提供的不对称压力驱动微流控芯片1包括加样区2和检测区3。加样区2包括储液腔4和管盖5,储液腔4用于容纳待测样本或对样品进行前处理(如目的核酸的扩增或样品的裂解等),仅有一个,呈圆柱形,当样品加入微流控芯片1时基本都会先停留在储液腔4内。管盖5起到密封微流控芯片1和通过按压或旋拧能为微流控芯片1内施压的作用。管盖5可以采用塞子形式或螺旋形式,当管盖5向下拧紧时不仅对芯片起到封闭作用而且塞子能提供向下的瞬时压力,促使加样口6附近的样品完全流入储液腔4内,由于排气通道10为孔径较小的多匝迂回的流道且排气通道10孔径小于进样流道11,在旋拧或按压管盖5施加的压力下形成瞬时不对称压力,并使储液腔4中的样品通过流道向检测区3转移。微流控芯片1内的通道包括主流道7以及多个分流道8。

[0092] 如图1和图2,本实施例提供的管盖5顶部设有可推动的气囊24,在封闭微流控芯片1后,向下推动气囊24,气囊24从管盖5顶部推到了接近管盖的螺旋25位置,能向芯片内施压,使芯片内产生不对称压力,促使样品从储液腔4流入反应腔9。管盖5还可以采用可拆卸式的方式连接于储液腔4,在封闭体系的同时,为芯片体系提供气压,驱动储液腔4中液体向反应腔9转移。微流控芯片1的主流道7,以及反应腔9的进样流道11等用于样品流动的通道,其孔径的设置能够使液体顺畅流动。

[0093] 检测区3可以根据项目分型检测的需要来设置任意多组反应腔9,用于样品的处理和检测(如用于针对同一目的核酸的多种分型检测,或是对于不同目的核酸的多重检测),如图8所示的不对称压力驱动微流控芯片1设置了六个反应腔9,从主流道7的一端呈多腔式中心放射性排布,反应腔9设有排气通道10,排气通道10与储液腔4连通。这样的设计可以使微流控芯片1的反应腔9无需与外界大气连通,直接将反应腔9的排气通道10与储液腔4相连,将反应腔9内压出的大气排回到储液腔4,而且此时微流控芯片1内气压平衡,进入反应腔9内的样品也难以流出反应腔9,难以发生回流现象。

[0094] 如图8所示,反应腔9还设有进样流道11,进样流道11孔径显著大于排气通道10孔径,且排气通道采用孔径较小的多匝迂回的流道,在旋拧或按压管盖5施压情况下形成瞬时不对称压力,使样品能从进样流道11流入反应腔9,但不能从排气通道10流出反应腔9。微流控芯片1的主流道7,以及反应腔9的进样流道11等用于样品流动的通道,其孔径较宽,能够使液体顺畅流动。但反应腔9的排气通道10的孔径会明显小于这些流道,排气通道10的孔径细小,能实现只通气,排液不顺畅,从而使样品充满反应腔9后,继续推进时会受阻,难以从反应腔9的排气通道10流出,会存留在反应腔9完成反应并准确检测。

[0095] 如图1~8,排气通道10上都设有至少一个弯折形状12的结构。弯折形状12能够尽量延长排气通道10的长度,从而有更多的管道可以存放排出的气体,防止出现因反应腔9多,而储液腔4只有一个,难以完全容纳所有气体,导致微流控芯片1内的气压升高的情况。同时,排气通道10在弯折形状12的弯折处13还设有小腔体14,用于暂时容纳排出的多余气体。优选的,排气通道10设有的弯折形状12是来回弯折的通道。如图5,排气通道10在与储液腔4连通之前,还可以设置排气腔23,用于存放排出的多余气体,在排气腔23充满后再继续回到储液腔4。

[0096] 微流控芯片1可以设有多个反应腔9,分别通过进样流道11与微流控芯片1的主流道7流体连通,以适用于不同目的核酸的检测或不同基因型检测。如图1、8所示的微流控芯片1中设有六个反应腔9,如图2~7、9、10所示的微流控芯片1中设有四个反应腔9,反应腔9的个数可以根据实际项目检测需要进行选择。在微流控芯片1中,反应腔9可以是任意排列,比如横排、竖排、或其他任意方式在主通道7的末端15呈放射性排列,也可以在主通道7的下端设置多个分叉口16用于反应腔9的排列,如图8、9所示的微流控芯片1的反应腔9采用放射性形式排列,图1、10所示的微流控芯片1的反应腔9采用水平横向形式排列;图2~7所示的微流控芯片1的反应腔9采用两个分叉口16排列,每个分叉口横向排列两个反应腔9。

[0097] 反应腔9设有进样口17和排气口18,进样口17与进样流道11流体连通,排气口18与排气通道10气体连通;排气口18的位置高于进样口17。如图6,进样口17位于反应腔9的下部位置,排气口18位于反应腔9的上部位置。这样做的目的是为了保证样品在进入反应腔9后,能顺利向上排气,同时也能更稳定地停留在反应腔9内,防止回流。待测样品在反应腔9中完成利于检测的反应(如与检测试剂反应用于放大信号等)后,直接在反应腔9进行结果检测,反应腔9的一面采用透明膜制备,检测仪器可透过膜检测反应产生的荧光等物质,并读取检测结果。

[0098] 如图7,储液腔4设有出液口19和进气口20,出液口19与主流道7流体连通,进气口20与反应腔7的排气通道10气体连通;进气口20的位置高于出液口19。储液腔4中的进气口20的位置高于出液口19,能够使储液腔4中样品全部顺利排出,防止受到进来的气体干扰。

[0099] 如图8,储液腔4和反应腔9之间设有阀块腔体22,用于放置固态的阀块21,用于控制储液腔4、反应腔9之间的流体连通的状态;阀块21具有固态和液态两种形态;当阀块21为固态时,储液腔4和反应腔9不能流体连通;当阀块21为液态时,储液腔4和反应腔9流体连通。同时,当阀块21为固态时,位于连接储液腔4和反应腔9的主流道7内,用于防止储液腔4内的待测样本流入反应腔9;当阀块21为液态时,会流向反应腔9的排气通道10;阀块21为石蜡或脂类物质(比如正十八烷、硬脂酸、棕榈酸等脂类物质),在常温下为固态,加热后融化成液态;阀块21的密度需要小于水,当使阀块21转为液态后,能始终漂浮在待测样本上方,

有助于在反应腔9顶部的排气口18进行凝结。如果阀块21密度大于水,阀块21转为液态并与样本一起流入反应腔9时,容易在反应腔9的进样口17堆积,导致进样口17堵塞,因此阀块21密度必须小于水。本实施例中优选采用石蜡作为阀块21,石蜡能够在40~90°C之间某一特定温度阈值实现相变,本实施例中,石蜡(厂家:Sigma-Aldrich,型号:411663)在65°C左右发生相变。

[0100] 微流控芯片1由于设有多个反应腔9,且反应腔9的进样口17共同汇集在一起,容易出现样品回流,使样品从一个反应腔9溢出,进入另一个反应腔9,出现交叉影响,因此,怎样防止样品回流,保证检测结果的准确性非常重要。通过在反应腔9设置排气通道10,同时在储液腔4和反应腔9之间设有阀块21,利用阀块21的升温相变性能,实现储液腔4和反应腔9的阻断和连通。阀块21升温融化后,储液腔4和各个反应腔9之间的流道连通,储液腔4内的样品流入各个反应腔9,融化的阀块21密度较低,会漂浮在样品上方,随样品一起流入反应腔9,并在反应腔9的排气口18附近凝结,堵住排气通道10(由于样品是定量的,至少都能到达反应腔9的排气口18附近),也有助于使待测样本进入反应腔9后,能更稳定存留在反应腔9内,难以发生回流现象,也不会流到其他腔室,从而保证每一步的反应都能顺利完成,直至最后实现精确检测。

[0101] 优选的,反应腔9截面为水滴形(图7),排气口18位于水滴形的顶端,从而有助于液态石蜡向上汇集,从而更容易在排气口18附近凝结。

[0102] 储液腔4和反应腔9内置的固体试剂可根据需要灵活设置,不同的腔室内置不同的反应试剂。当本实施例提供的微流控芯片1用于目的核酸的基因分型检测,储液腔4用于目的核酸的扩增,储液腔4内置核酸扩增试剂;反应腔9用于检测目的核酸的不同基因型,内置不同基因型的检测试剂。储液腔4用于目的核酸扩增,储液腔4内需预先放置核酸扩增试剂,裂解所用试剂在样品检测时从加样口6加入;核酸扩增试剂为通过冻干或烘干的固体扩增试剂,包括但不限于冻干、烘干、风干等形式的球状、粉状、片状或块状制剂,涉及的扩增反应包括但不限于RPA(Recombinase Polymerase Amplification,重组酶聚合酶扩增)、ERA(Enzymatic Recombinase Amplification,酶促恒温扩增)、LAMP(Loop-mediated Isothermal Amplification,环介导等温扩增)、NEAR(Nicking enzyme-Assisted Reaction,切刻酶辅助扩增反应)、NASBA(Nuclear acid sequence-based amplification,核酸依赖性扩增检测技术)、HDA(helicase-dependent amplification,解旋酶依赖性扩增技术)、TMA(transcription mediated amplification,转录介导的扩增技术)等。反应腔9用于扩增后的样品与检测试剂进行荧光检测反应,反应腔9内需预先放置检测试剂,检测试剂为固体检测试剂,包括但不限于冻干、烘干、风干等形式的球状、粉状、片状或块状制剂,涉及的检测反应包括但不限于基于RPA(Recombinase Polymerase Amplification,重组酶聚合酶扩增)、ERA(Enzymatic Recombinase Amplification,酶促恒温扩增)、LAMP(Loop-mediated Isothermal Amplification,环介导等温扩增)、NEAR(Nicking enzyme-Assisted Reaction,切刻酶辅助扩增反应)、NASBA(Nuclear acid sequence-based amplification,核酸依赖性扩增检测技术)、HDA(helicase-dependent amplification,解旋酶依赖性扩增技术)、TMA(transcription mediated amplification,转录介导的扩增技术)、杂交探针技术、CRISPR、Ago、RNaseH等建立的多种探针检测体系。检测结果根据实际需要的不同,包括但不限于荧光检测反应,试纸条可视化检测法。当本实施例提供的微流控芯

片1用于目的核酸的多重检测时,储液腔4用于加入样品核酸裂解产物,反应腔9内需预先放置不同核酸的扩增和检测的固体检测试剂,具体包括检测引物探针和检测预混液,检测预混液包括检测所需的酶和缓冲液。

[0103] 微流控芯片1的芯片本体结构采用具有低成本、易加工性能和良好的生物相容性芯片的材料如PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯,Polymethyl Methacrylate)、PP(Polypropylene,聚丙烯)、PC(Polycarbonate,聚碳酸酯)等材质作基底,直接用激光刻蚀技术制作通道和反应槽,或在PMMA基底上刻蚀结构,再用PDMS倒模。

[0104] 微流控芯片1在使用过程中,需要保持竖直状态,加样口6朝上放置。使用时,可以将微流控芯片1插入配套使用的检测装置中,使微流控芯片1保持加样口6朝上竖直摆放,并能通过检测装置提供热源为微流控芯片1的特定位置(如反应腔9、阀块21等)加热;还可以通过检测装置检测微流控芯片1中的样品反应后产生的荧光物质,读取检测结果。

[0105] 本实施例提供的微流控芯片1,通过巧妙设计流道连接、腔室位置,无需外加驱动,让液体可以根据自身不对称压力实现待测样品的依次逐步独立进行扩增、检测反应,整个过程操作简便、反应速度快、能够有效实现病原体的高通量检测。另外,该微流控芯片的扩增/检测试剂均为干燥试剂,能够实现芯片的室温保存和运输,避免了冷链运输和-20℃保存的局限。

[0106] 实施例2、不对称压力驱动微流控芯片的使用方法

[0107] 实施例1提供的不对称压力驱动微流控芯片可适用于多种核酸检测方法。

[0108] 方法一:以基于酶促等温扩增技术进行基因分型检测为例,说明微流控芯片装置的使用方法:

[0109] 1) 转移:将含有裂解液的待测样品从加样口6加入微流控芯片的储液腔4,此时旋紧管盖5密封芯片,样品进入储液腔4底部并溶解内置的固体扩增试剂。

[0110] 2) 反应:升温芯片,待温度升高到一定程度后,储液腔4中发生扩增反应,所述扩增反应包括但不限于恒温扩增反应和PCR反应;扩增反应进行的同时,阻隔在储液腔4和检测腔9之间的阀块21也在不断融化,阀块21完全融化后,按压或旋拧管盖5在瞬时不对称压力作用驱动下扩增产物会向内置有固体检测试剂的反应腔9移动,以实现体系中气压平衡,同时反应腔9试剂溶解并进行检测反应;

[0111] 3) 读取结果:待反应结束后,通过设备读取荧光信号,得到检测结果。

[0112] 方法二:以基于酶促等温扩增技术进行多重检测为例,说明微流控芯片装置的使用方法:

[0113] 1) 转移:将含有裂解液的待测样品从加样口6加入到微流控芯片的储液腔4并旋紧管盖5密封芯片。

[0114] 2) 反应:升温芯片,待温度升高到一定程度后,阻隔在储液腔4和检测腔9之间的阀块21也在不断融化,阀块21完全融化后,按压或旋拧管盖5在瞬时不对称压力作用驱动下储液腔4处理后的样本液会向内置有固体扩增试剂的反应腔9移动,以实现体系中气压平衡,同时反应腔9试剂溶解并发生扩增反应,所述扩增反应包括但不限于恒温扩增反应和PCR反应;

[0115] 3) 读取结果:待反应结束后,通过设备读取荧光信号,得到检测结果。

[0116] 实施例3、不对称压力驱动微流控芯片分型检测效果验证

[0117] 本实施例采用实施例1(图2)的不对称压力驱动微流控芯片进行分型检测,利用ERA-CRISPR检测技术(酶促重组扩增结合CRISPR检测技术)对疑似感染草鱼出血病的组织标本进行草鱼呼肠孤病毒(GCRV)核酸检测(GCRV、I型GCRV、II型GCRV、III型GCRV),并使用qPCR检测方法(商业化试剂)进行对比验证。病鱼标本利用样本释放剂进行裂解释放核酸,得到的裂解产物作为模板,采用相同的模板上样量,分别采用不对称压力驱动微流控芯片装置和qPCR检测方法对样本进行扩增检测,其中ERA-CRISPR检测技术在芯片装置中储液腔中预装含有特定扩增引物的ERA冻干微球,反应腔预装含有特定CRISPR检测体系的冻干微球。测定样本中是否含有相应的病原微生物核酸,结果如表1所示。

[0118] 表1、分型微流控芯片检测性能验证结果

样本编号	微生物检测类型	不对称压力驱动微流控芯片装置	qPCR 检测方法
1号样本	GCRV	+Positive	阳性
	I型GCRV	+Positive	阳性
	II型GCRV	-Negative	阴性
	III型GCRV	-Negative	阴性
2号样本	GCRV	+Positive	阳性
	I型GCRV	-Negative	阴性
	II型GCRV	+Positive	阳性
	III型GCRV	-Negative	阴性
3号样本	GCRV	-Negative	阴性
	I型GCRV	-Negative	阴性
	II型GCRV	-Negative	阴性
	III型GCRV	-Negative	阴性

[0120] 由表1可知,在其他条件一致的情况下,实施例1的不对称压力驱动微流控芯片装置的检测结果与qPCR检测方法的结果一致,但使用更加方便快捷,更适合野外及特殊环境下的现场检测。

[0121] 实施例4、通过不对称压力驱动微流控芯片的多重检测效果的验证

[0122] 本实施例采用实施例1(图7)的不对称压力驱动型的微流控芯片装置进行多重检测,利用ERA检测技术(酶促重组扩增技术)某一肉类标本进行4种肉类成分检测(鸭源成分,猪源成分,牛源成分,羊源成分),并使用qPCR检测方法(商业化试剂)进行对比验证。将肉类标本充分破碎后利用样本释放剂进行核酸裂解,得到的裂解产物作为模板,采用相同的模板上样量,分别采用核酸多重检测微流控芯片装置和qPCR检测方法对样本进行扩增检测,其中ERA检测技术在不对称压力驱动型微流控芯片装置中反应腔预装含有特定扩增引物及检测探针的ERA扩增检测体系的冻干微球。反应后通过读取结果以判读样本中是否含有相应的病原微生物核酸,结果如表2所示。

[0123] 表2、不对称压力驱动型微流控芯片检测性能验证列表

序号	生物类型	不对称压力驱动型微流控芯片装置	qPCR 检测方法
1	鸭源成分	-Negative	阴性
2	猪源成分	+Positive	阳性
3	牛源成分	-Negative	阴性
4	羊源成分	-Negative	阴性

[0125] 由表2可知,在其他条件一致的情况下,实施例1的不对称压力驱动型微流控芯片

装置检测结果与qPCR结果一致,使用方便快捷,更适合野外及特殊环境下的现场检测。

[0126] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

[0127] 以上所述,仅为本实用新型的具体实施方式,其描述较为具体和详细,但本实用新型的保护范围并不局限于此。任何熟悉本技术领域的技术人员,在不脱离本实用新型构思的前提下,可轻易想到的变化或替换,都属于本实用新型的保护范围。因此,本实用新型专利的保护范围应以权利要求的保护范围为准。虽然本实用新型披露如上,但本实用新型并非限定于此。如根据其微流控领域的应用范围均可做扩展。任何本领域技术人员,在不脱离本实用新型的精神和范围内,均可作各种更动与修改,因此本实用新型的保护范围应当以权利要求所限定的范围为准。



图1

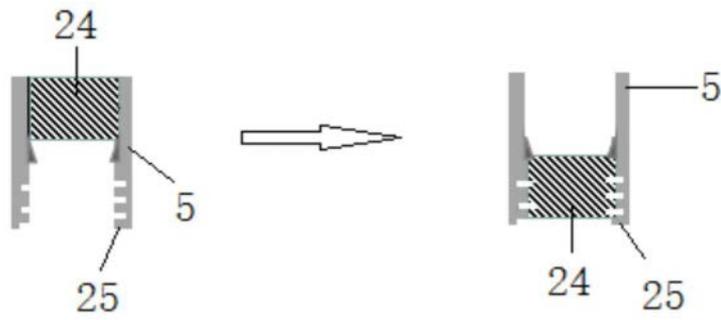


图2

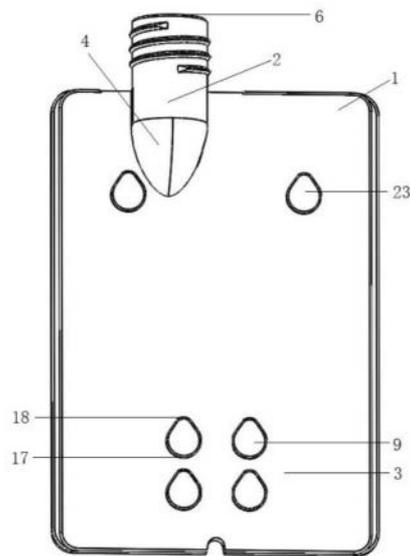


图3

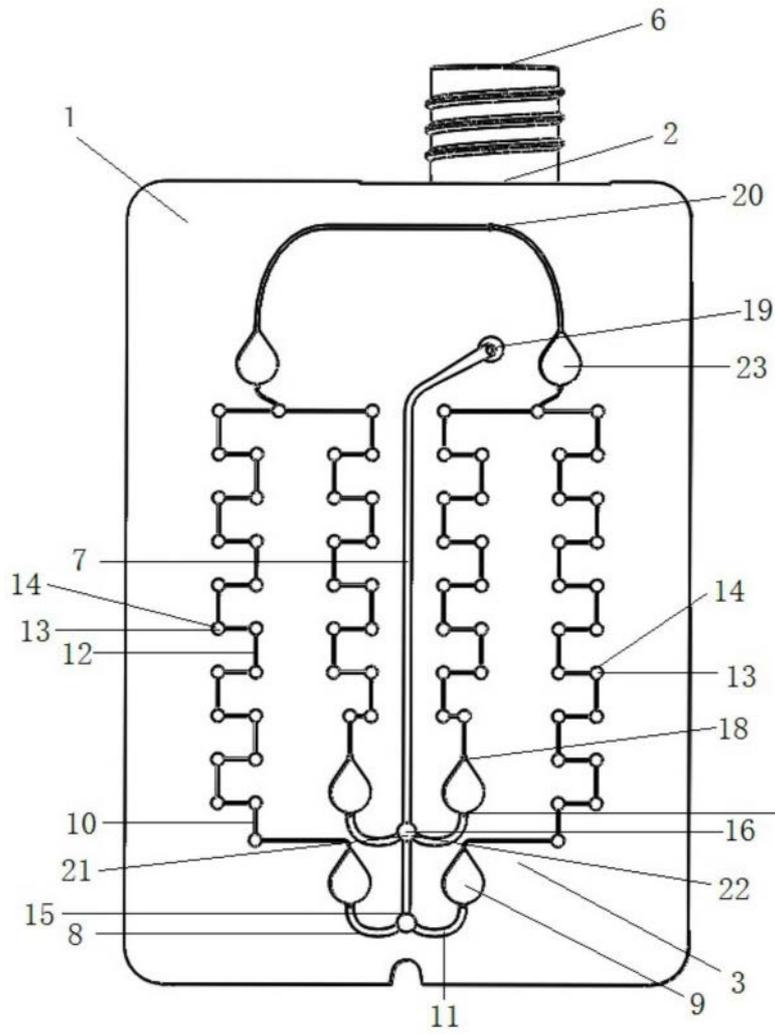


图4

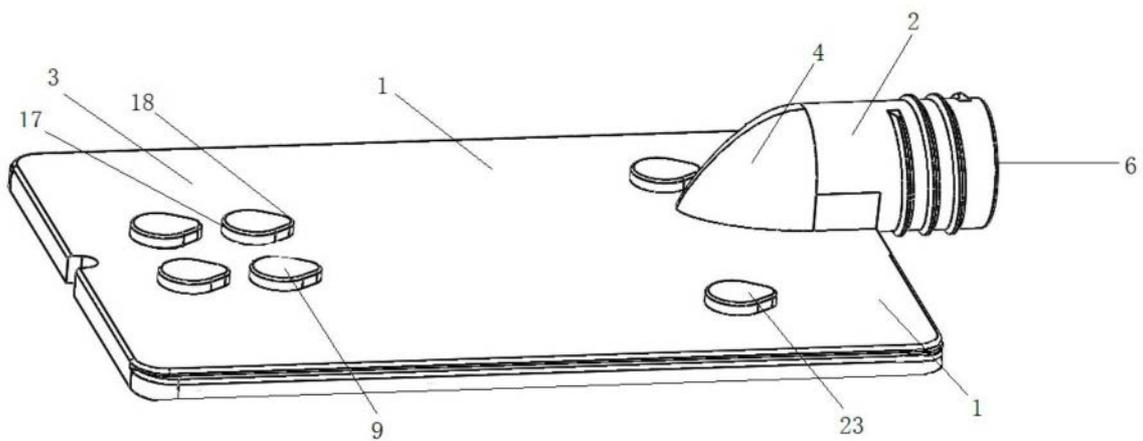


图5

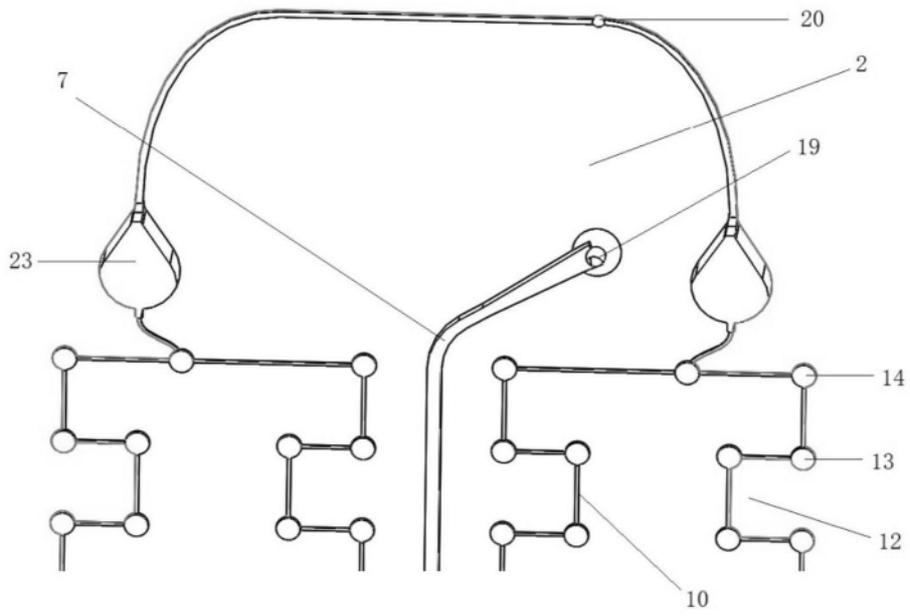


图6

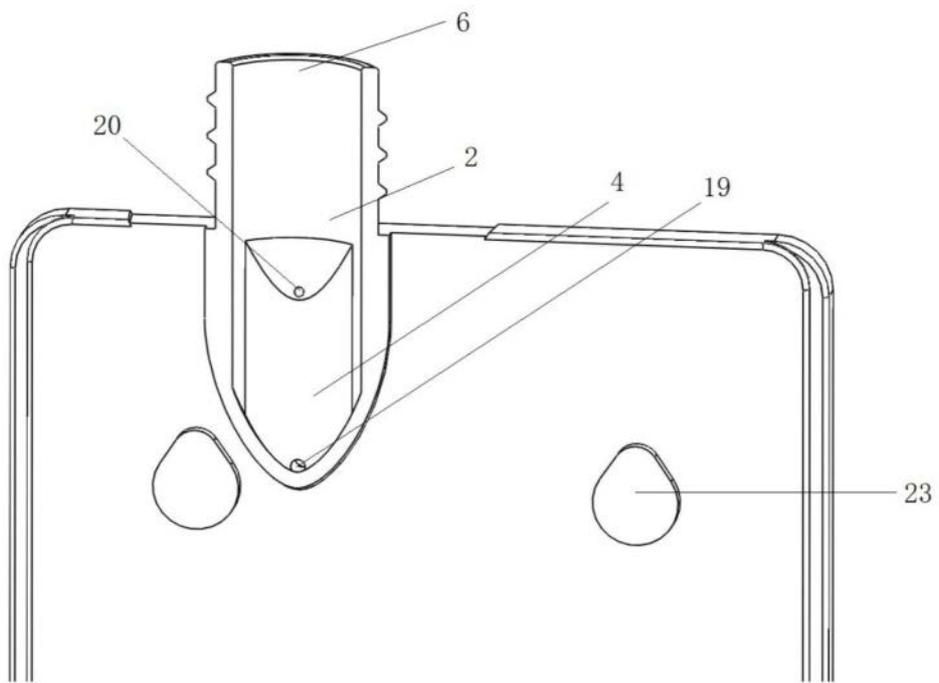


图7

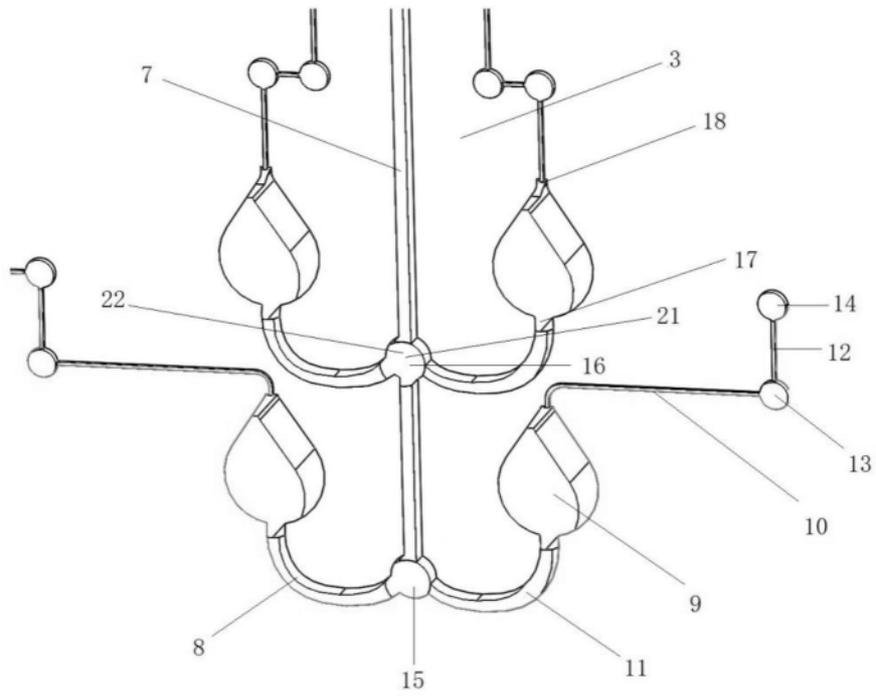


图8

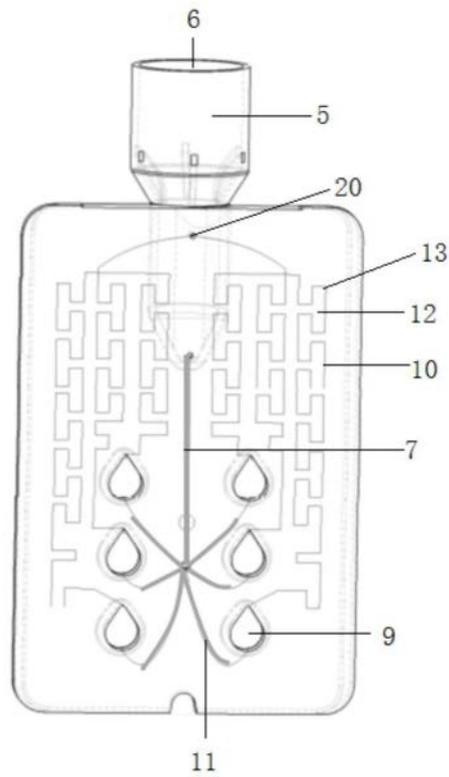


图9

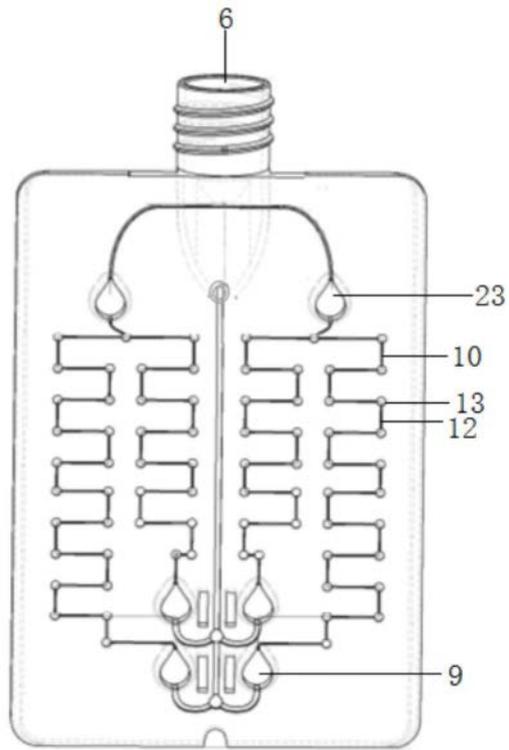


图10

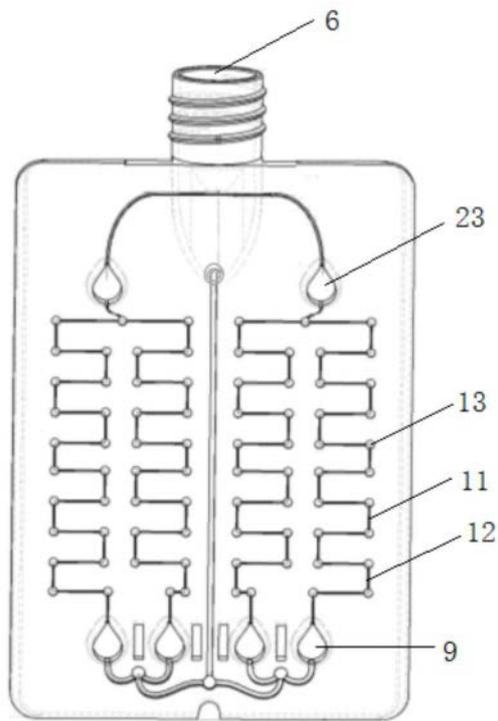


图11