



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115032255 A

(43) 申请公布日 2022.09.09

(21) 申请号 202210677878.3

(22) 申请日 2022.06.15

(71) 申请人 武汉大学

地址 430072 湖北省武汉市武昌区八一路
299号

(72) 发明人 袁荃 杨雁冰 王敬锋

(74) 专利代理机构 武汉科皓知识产权代理事务
所(特殊普通合伙) 42222

专利代理师 齐晨涵

(51) Int. Cl.

G01N 27/414 (2006.01)

G01N 27/26 (2006.01)

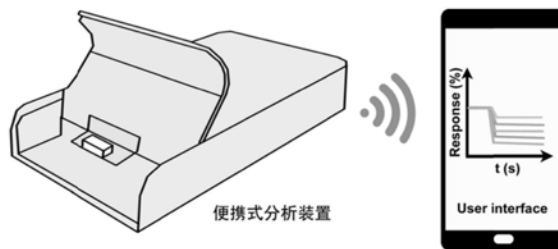
权利要求书2页 说明书4页 附图4页

(54) 发明名称

用于检测尿液中蛋白的便携式分析装置、制备方法及应用

(57) 摘要

本发明公开了一种用于检测尿液中蛋白的便携式分析装置、制备方法及应用,属于分析检测领域。本发明中该便携式分析装置通过建立尿液中多种膀胱肿瘤相关蛋白浓度和铟镓锌氧化物(IGZO)传感器件电信号之间彼此对应的线性关系,测定病人尿液样本的电信号变化,通过无线传输技术利用手机等移动终端读取检测信息,实现未知尿液样本中的多种膀胱肿瘤相关蛋白含量的同时快速检测。该便携式尿液分析装置具有高灵敏度、高选择性、多种标志物同时检测、多种技术集成等诸多优势,能够实现未知尿液样本中多种膀胱肿瘤相关蛋白快速同时检测,很好地弥补了目前液体活检分析领域的不足。



1. 一种用于检测尿液中蛋白的便携式分析装置的制备方法,其特征在于:利用紫外光刻和金属沉积法制备金电极;利用磁控溅射法生长铟镓锌氧化物IGZO沟道材料;利用化学修饰法将器件识别分子功能化;将器件与PDMS腔室组装,构建多通道IGZO场效应晶体管传感器;将多通道IGZO场效应晶体管传感器与功能元件集成封装,最终获得便携式分析装置;包含如下步骤:

S1、金属源漏电极制备,具体如下:

S1.1:利用CAD绘图软件绘制电极图案,包括5个源极、1个漏极、1个栅极,并根据该图案加工成相应掩膜版用于光刻;

S1.2:以带有氧化硅层的p型硅片为衬底,在其表面均匀旋涂光刻胶后加热固定;利用紫外光刻机刻出电极沟道;

S1.3:使用热蒸镀仪蒸发生长Cr/Au电极,其中,Cr层在下,厚度为8~15nm,Au层在上,厚度为40~60nm;将沉积完电极的硅片泡在丙酮溶液中来剥离光刻胶,最后使用去离子水冲洗并用氮气吹干,获得源漏电极沉积的硅片;

S2、IGZO沟道层制备:

使用陶瓷靶通过磁控溅射法在图案化的电极中间沉积IGZO沟道层,所述IGZO沟道层厚度为15~20nm,得到IGZO晶体管器件;

S3、器件电极钝化和传感区域曝光处理,具体如下:

S3.1:在IGZO晶体管器件表面旋涂聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)钝化源漏电极;

S3.2:采用电子束曝光系统对器件的传感区域进行图形化曝光,暴露出IGZO传感区域;

S4、储液槽制备:

将Sylgard 184硅氧烷的预聚物和固化剂充分混合并搅拌均匀,将混合物倒入预制的模具中成型,加热凝固后进行脱模切割处理,制备出符合测试要求的储液槽;

S5、储液槽和器件的组装:

将储液槽表面进行含氧官能团功能化,之后将晶体管器件和储液槽进行键合,制备得到溶液栅IGZO晶体管器件;

S6、IGZO传感区域的识别分子功能化,具体如下:

S6.1:在S3中制备的晶体管器件的不同沟道区域分别滴加20~30mL浓度为10~20mg mL⁻¹不同尿液中膀胱肿瘤相关蛋白的抗体进行修饰,包括核基质蛋白22即NMP22,CA9重组蛋白即CA9,细胞角蛋白8即CK8,细胞角蛋白18即CK18,重组人CD47蛋白即CD47;

S6.2:采用0.01~0.05g mL⁻¹的牛血清蛋白BSA对器件进行封闭,最终获得抗体分子修饰的器件;

S7、便携式尿液分析装置的组装:

将S6获得的抗体修饰的IGZO场效应晶体管传感阵列与锂离子电池、蓝牙单元、多路复用器MUX、跨阻抗放大器TIA、模数转换器ADC、数模转换器DAC、电压跟踪模块和微控制器MCU单元集成,最终获得便携式尿液分析装置。

2. 一种便携式尿液分析装置,其特征在于:采用如权利要求1所述的方法制得而成。

3. 一种如权利要求2所述的便携式尿液分析装置在同时检测尿液样本中多种膀胱肿瘤相关标志物含量的应用。

4. 根据权利要求3所述的便携式尿液分析装置在同时检测尿液样本中多种膀胱肿瘤相

关标志物含量的应用,其特征在于:所述标志物为多种膀胱肿瘤蛋白。

5. 根据权利要求4所述的便携式尿液分析装置在同时检测尿液样本中多种膀胱肿瘤相关标志物含量的应用,其特征在于:

测试溶液与便携式尿液分析装置的背景信号;

测试已知浓度梯度的尿液疾病标志物溶液,得到一系列疾病标志物浓度和电学信号对应变化的标准曲线,实现将浓度信号转化为电学信号的目的;

在测试实际样本时,能直接通过观察电学信号的变化来对应此标准曲线,从而计算出患者尿液样本中的疾病标志物含量。

用于检测尿液中蛋白的便携式分析装置、制备方法及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及分析检测领域,具体涉及一种用于检测尿液中蛋白的便携式分析装置、制备方法及应用。

背景技术

[0002] 膀胱癌是人类泌尿系统中最常见、最具侵袭性的恶性肿瘤之一,其发病率、死亡率在全球呈上升趋势。膀胱癌的病理类型复杂,缺乏明显的特异性临床症状,术后复发率高。因此,膀胱癌的早期筛查对于患者的诊断和预后至关重要。临床上膀胱癌诊断技术主要包括膀胱镜检查、尿脱落细胞学及影像学检查等,其中膀胱镜检查是膀胱癌临床诊断的金标准方法。然而,膀胱镜技术侵入性强,导致患者检查后出现血尿,甚至细菌感染。然而,固有的膀胱肿瘤异质性限制了膀胱镜检查在早期膀胱癌诊断中的准确性。液体活检具有无创性,能够获取膀胱癌疾病相关的关键分子信息,能够有效解决肿瘤时空异质性导致检测不准确的问题。

[0003] 膀胱作为储尿器官,是膀胱肿瘤细胞代谢的微环境,膀胱的早期癌变会对患者的尿液成分产生直接影响。目前,研究人员已经在尿液中发现了多种类型的膀胱癌疾病标志物,包括DNA、RNA、蛋白和肿瘤细胞等。然而,这些标志物在尿液中的浓度极低,且尿液成分复杂易产生干扰信号,极大地限制了检测方法的选择性和灵敏度。目前膀胱癌的临床诊断金标准方法主要有膀胱镜检查和尿脱落细胞学检查等,这些技术存在分辨率低、侵入性强、灵敏度低等问题,不适合用于膀胱癌的早期筛查和诊断。因此,开发一种高性能的实用尿液分析技术检测尿液中微量的膀胱肿瘤相关标志物对于膀胱癌的早期筛查、术后监测和个人健康管理具有重大意义。

发明内容

[0004] 针对现有技术的不足,本发明的目的是提供一种用于同时检测尿液中多种膀胱肿瘤相关蛋白标志物的便携式分析装置制备方法和应用。

[0005] 为实现上述目的,本发明提供的技术方案如下:

[0006] 第一方面,本发明提供一种用于同时检测尿液中多种膀胱肿瘤相关蛋白标志物的便携式分析装置的制备方法,其特征在于:利用紫外光刻和金属沉积法制备金电极;利用磁控溅射法生长铟镓锌氧化物(IGZO)沟道材料;利用化学修饰法将器件识别分子功能化;将器件与PDMS腔室组装,构建多通道IGZO场效应晶体管传感器;将多通道IGZO场效应晶体管传感器与功能元件集成封装,最终获得便携式分析装置。包含如下步骤:

[0007] S1、金属源漏电极制备,具体如下:

[0008] S1.1:利用CAD绘图软件绘制电极图案,包括5个源极、1个漏极、1个栅极,并根据该图案加工成相应掩模版用于光刻;

[0009] S1.2:以带有氧化硅层的p型硅片为衬底,在其表面均匀旋涂光刻胶后加热固定;利用紫外光刻机刻出电极沟道。

[0010] S1.3:使用热蒸镀仪蒸发生长Cr/Au电极,其中,Cr层在下,厚度为8~15nm,Au层在上,厚度为40~60nm;将沉积完电极的硅片泡在丙酮溶液中来剥离光刻胶,最后使用去离子水冲洗并用氮气吹干,获得源漏电极沉积的硅片;

[0011] S2、IGZO沟道层制备:

[0012] 使用陶瓷靶通过磁控溅射法在图案化的电极中间沉积IGZO沟道层,所述IGZO沟道层厚度为15~20nm,得到IGZO晶体管器件;

[0013] S3、器件电极钝化和传感区域曝光处理,具体如下:

[0014] S3.1:在IGZO晶体管器件表面旋涂聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)钝化源漏电极;

[0015] S3.2:采用电子束曝光系统对器件的传感区域进行图形化曝光,暴露出IGZO传感区域;

[0016] S4、储液槽制备:

[0017] 将Sylgard 184硅氧烷的预聚物和固化剂充分混合并搅拌均匀,将混合物倒入预制的模具中成型,加热凝固后进行脱模切割处理,制备出符合测试要求的储液槽;

[0018] S5、储液槽和器件的组装:

[0019] 将储液槽表面进行含氧官能团功能化,之后将晶体管器件和储液槽进行键合,制备得到溶液栅IGZO晶体管器件;

[0020] S6、IGZO传感区域的识别分子功能化,具体如下:

[0021] S6.1:在S3中制备的晶体管器件的不同沟道区域分别滴加20~30mL浓度为10~20mg mL⁻¹不同肿瘤相关蛋白的抗体进行修饰,包括核基质蛋白22(NMP22),CA9重组蛋白(CA9),细胞角蛋白8(CK8),细胞角蛋白18(CK18),重组人CD47蛋白(CD47)。

[0022] S6.2:采用0.01~0.05g mL⁻¹的牛血清蛋白BSA对器件进行封闭,最终获得抗体分子修饰的器件。

[0023] S7、便携式尿液分析装置的组装

[0024] 将S6获得的抗体修饰的IGZO场效应晶体管传感阵列与锂离子电池、蓝牙单元、多路复用器(MUX)、跨阻抗放大器(TIA)、模数转换器(ADC)、数模转换器(DAC)、电压跟踪模块和微控制器(MCU)单元集成,最终获得便携式尿液分析装置。

[0025] 第二方面,本发明提供一种便携式分析装置,其特征在于:采用上述的方法制得而成。

[0026] 第三方面,本发明提供一种如上述的便携式尿液分析装置在同时检测尿液样本中多种膀胱肿瘤相关标志物含量的应用。

[0027] 作为优选方案,其特征在于:所述标志物为多种膀胱肿瘤蛋白。

[0028] 进一步地,其特征在于:

[0029] 测试溶液与便携式尿液分析装置的背景信号;

[0030] 测试已知浓度梯度的尿液疾病标志物溶液,得到一系列疾病标志物浓度和电学信号对应变化的标准曲线,实现将浓度信号转化为电学信号的目的;

[0031] 在测试实际样本时,能直接通过观察电学信号的变化来对应此标准曲线,从而计算得出患者尿液样本中的疾病标志物含量。

[0032] 本发明的优点和有益效果如下:

[0033] 1、本发明中所构建的IGZO传感器件具有良好的电学特性和稳定性,具有易于集成

和微型化的特点,构建的便携式分析检测设备,可应用于临床辅助诊疗及家庭医疗即时诊断。

[0034] 2、本发明中构建的尿液中多种膀胱肿瘤蛋白标志物检测方法,是基于便携式检测装置优异的传感性能,具有高灵敏度、高选择性、信号响应速度快的特点

[0035] 3、本发明中所构建的尿液中多种膀胱肿瘤相关蛋白标志物检测方法,能够实现未知尿液样本的快速检测,适用于膀胱癌的早期筛查。样本无需预处理,极大地简化了检测步骤。

附图说明

[0036] 图1为本发明实施例1制得的多通道传感阵列实物图及示意图。

[0037] 图2为本发明实施例1制得的便携式分析装置示意图。

[0038] 图3-6为本发明实施例1制得的便携式分析装置实物图。

[0039] 图7为本发明实施例2便携式分析检测设备对多种膀胱肿瘤相关蛋白标志物的实时响应性曲线图。

[0040] 图8为本发明应用例1便携式分析检测设备对膀胱癌患者和健康人尿液样本进行同时检测的数据统计图。

具体实施方式

[0041] 下面将结合实施例1-3及附图1-8对本发明的技术方案做进一步详细的阐述。

[0042] 实施例1:便携式分析装置的制备

[0043] S1、金属源漏电极制备:

[0044] S1.1:利用CAD绘图软件绘制电极图案,包括5个源极、1个漏极、1个栅极,并根据该图案加工成相应掩膜版用于光刻;

[0045] S1.2:以带有氧化硅层的p型硅片为衬底,在其表面均匀旋涂光刻胶后加热固定;利用紫外光刻机刻出电极沟道。

[0046] S1.3:使用热蒸镀仪蒸发生长Cr/Au电极,其中,Cr层在下,厚度为8~15nm,Au层在上,厚度为40~60nm;将沉积完电极的硅片泡在丙酮溶液中来剥离光刻胶,最后使用去离子水冲洗并用氮气吹干,获得源漏电极沉积的硅片;

[0047] S2、IGZO沟道层制备:

[0048] 使用陶瓷靶通过磁控溅射法在图案化的电极中间沉积IGZO沟道层,所述IGZO沟道层厚度为15~20nm,得到IGZO晶体管器件;

[0049] S3、器件电极钝化和传感区域曝光处理:

[0050] S3.1:在IGZO晶体管器件表面旋涂聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)钝化源漏电极;

[0051] S3.2:采用电子束曝光系统对器件的传感区域进行图形化曝光,暴露出IGZO传感区域;

[0052] S4、储液槽制备:

[0053] 将Sylgard 184硅氧烷的预聚物和固化剂充分混合并搅拌均匀,将混合物倒入预制的模具中成型,加热凝固后进行脱模切割处理,制备出符合测试要求的储液槽;

[0054] S5、储液槽和器件的组装:

[0055] 将储液槽表面进行含氧官能团功能化,之后将晶体管器件和储液槽进行键合,制备得到溶液栅IGZO晶体管器件;

[0056] S6、IGZO传感区域的识别分子功能化:

[0057] S6.1:在S3中制备的晶体管器件的不同沟道区域分别滴加20~30mL浓度为10~20mg mL⁻¹不同尿液中膀胱肿瘤相关蛋白的抗体进行修饰,包括核基质蛋白22 (NMP22),CA9重组蛋白(CA9),细胞角蛋白8(CK8),细胞角蛋白18(CK18),重组人CD47蛋白(CD47)。

[0058] S6.2:采用0.01~0.05g mL⁻¹的牛血清蛋白BSA对器件进行封闭,最终获得抗体分子修饰的器件。

[0059] S7、便携式尿液分析装置的组装

[0060] 将S6获得的抗体修饰的IGZO场效应晶体管传感阵列与锂离子电池、蓝牙单元、多路复用器(MUX)、跨阻抗放大器(TIA)、模数转换器(ADC)、数模转换器(DAC)、电压跟踪模块和微控制器(MCU)单元集成,最终获得便携式尿液分析装置,如图1-6所示。

[0061] 实施例2:便携式分析检测设备对膀胱肿瘤相关蛋白同时检测

[0062] 将10⁻¹²g mL⁻¹的NMP22,CA9,CK8,CK18和CD47抗原标准溶液滴加到设备的储液槽中,记录不同通道的转移特性曲线。图7展示了5种膀胱肿瘤相关蛋白的响应性曲线。

[0063] 应用例1:便携式分析检测设备对尿液中的5种标志物进行检测

[0064] 将提取完的健康人和膀胱癌病人尿液样本标号并同时稀释到IGZO器件的线性工作范围区间内。如图8所示,膀胱癌患者的5种膀胱肿瘤相关蛋白的含量明显高于健康人,说明我们构建的便携式分析检测设备可以快速同时检测不同膀胱肿瘤相关蛋白的含量变化,具有灵敏度高、响应速度快等优势。上述研究结果表明我们开发的便携式分析检测设备能够实现非侵入性的快速筛查膀胱癌患者尿液中的膀胱肿瘤相关蛋白标志物,对于实现膀胱癌的早期诊断具有重要作用。

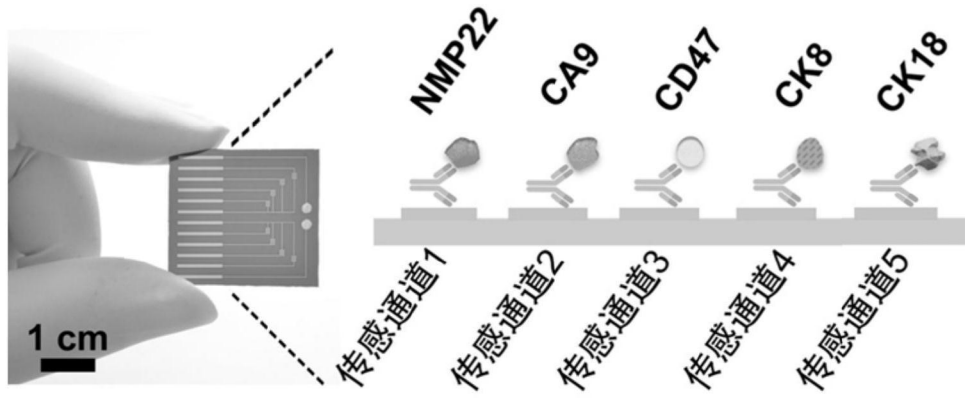


图1

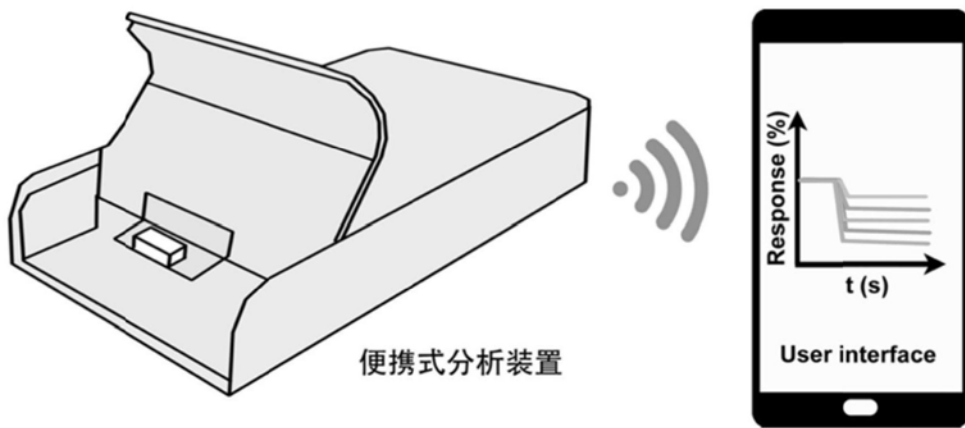
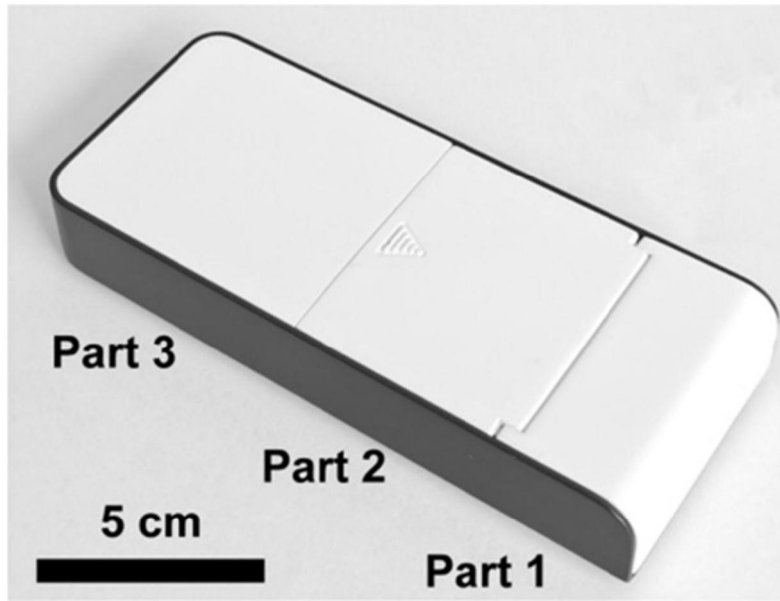
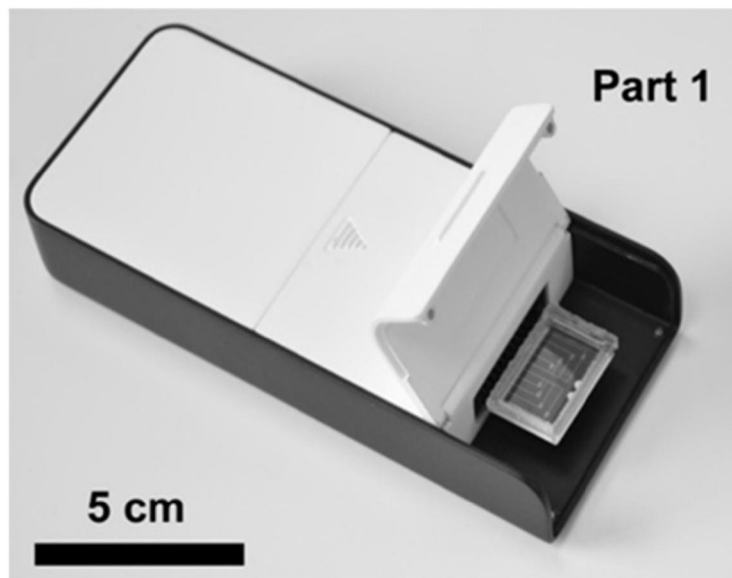


图2



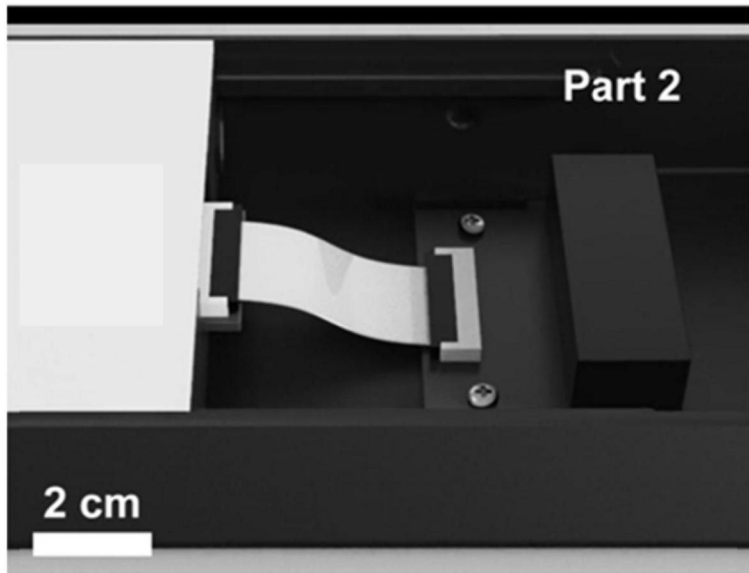
便携式分析装置

图3



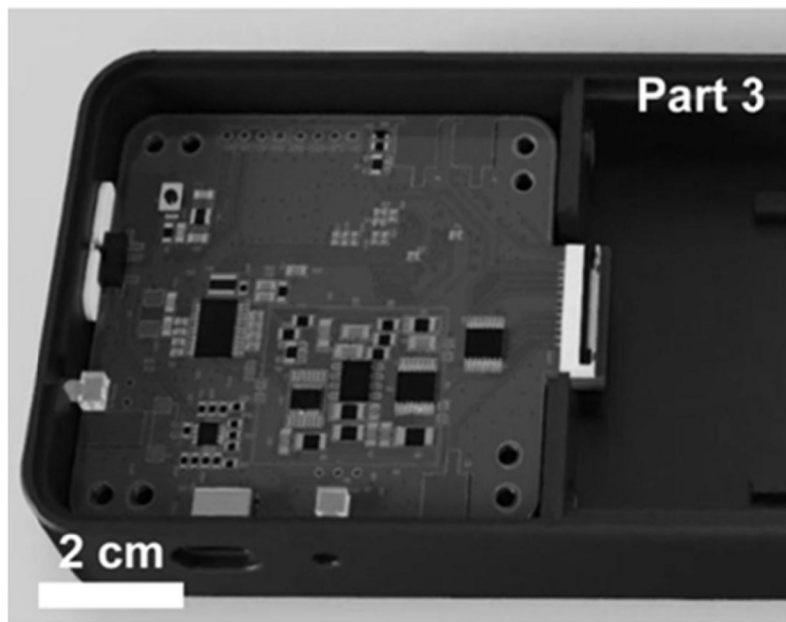
场效应晶体管传感阵列

图4



测试界面

图5



设备控制面板

图6

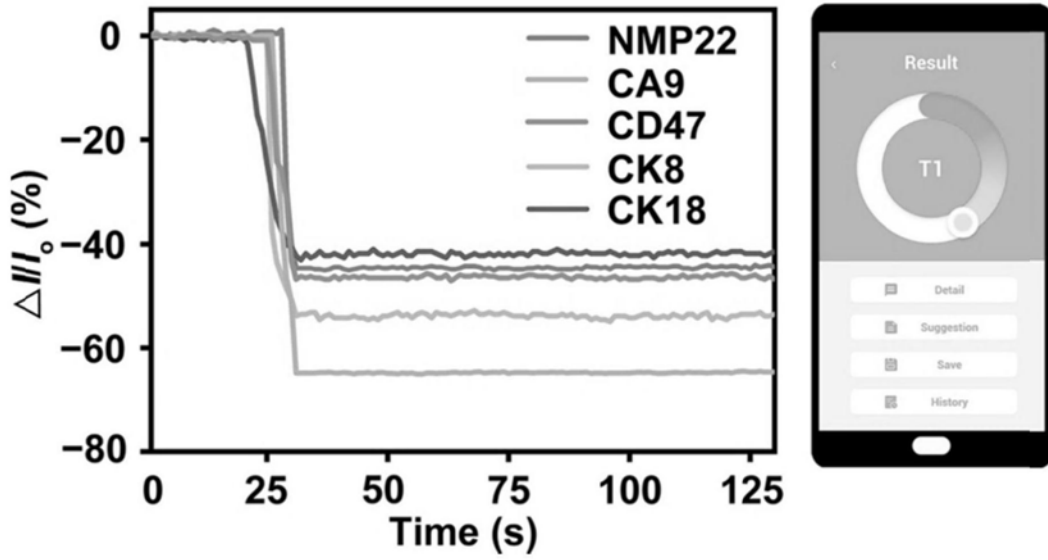


图7

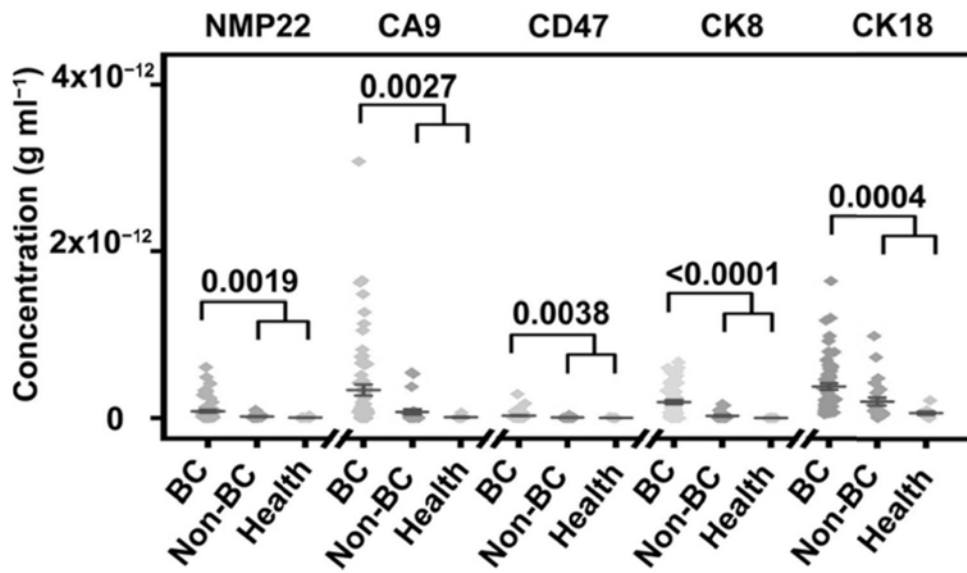


图8