



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105296349 A

(43) 申请公布日 2016. 02. 03

(21) 申请号 201510816958. 2

(22) 申请日 2015. 11. 20

(71) 申请人 青岛意诚融智生物仪器有限公司  
地址 266109 山东省青岛市高新区竹园路  
17 号工业技术研究院 B1-309

(72) 发明人 钟润涛 李运涛 周晓光 施建春

(74) 专利代理机构 北京正理专利代理有限公司  
11257

代理人 张文祎 赵晓丹

(51) Int. Cl.

C12M 1/38(2006. 01)

C12M 1/36(2006. 01)

C12M 1/34(2006. 01)

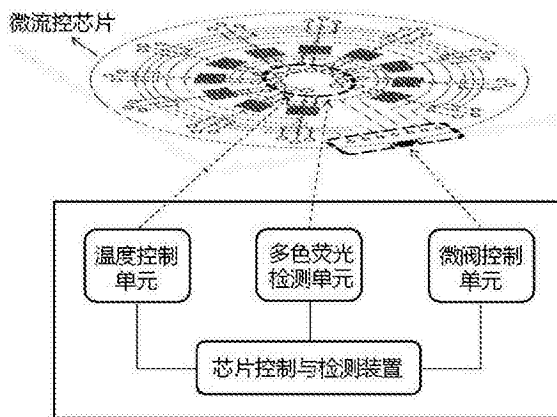
权利要求书2页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

一种用于 DNA 快速检测的微流控芯片、检测系统和装置

(57) 摘要

本发明公开了一种用于 DNA 快速检测的微流控芯片,该芯片包括储液单元、核酸提取单元、扩增与检测单元和流体控制单元。本发明进一步公开了一种包括上述微流控芯片的 DNA 快速检测系统及装置。本发明所述技术方案可实现重复、自动的核酸提取和快速、高效的 PCR 扩增及实时荧光检测。同时,采用圆盘式阵列结构,可平行分析多个样品,使该方法有望应用于科研和临床体液样品 DNA 的快速检测。



1. 一种用于 DNA 快速检测的微流控芯片,其特征在于,该芯片包括  
储液单元,用于存储检测过程中使用或产生的液体;  
核酸提取单元,基于微结构表面改性处理,提取样本流体中的核酸物质;  
扩增与检测单元,对所述核酸物质进行 PCR 扩增,并实时对扩增后的产物进行荧光检测;  
流体控制单元,基于微挤压推动的方式,对检测过程中的流体进行方向控制。
2. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片,其特征在于,所述储液单元包括样品储液池、冲洗液储液池、洗脱液储液池、废液池和 PCR 扩增与荧光检测池;  
所述核酸提取缓冲液储液池、样品储液池、冲洗液储液池和洗脱液储液池通过微通道与所述核酸提取单元连通;  
所述废液池分别通过微通道与所述核酸提取单元和 PCR 扩增与荧光检测池连通。
3. 根据权利要求 2 所述的微流控芯片,其特征在于,所述微通道的深度为  $70 \sim 90 \mu\text{m}$ 。
4. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片,其特征在于,所述核酸提取单元采用具有经表面改性处理的微柱阵列的流体通道。
5. 根据权利要求 4 所述的微流控芯片,其特征在于,所述所述流体通道的微柱阵列表面沉积有  $360\text{nm}$  厚的氧化硅。
6. 根据权利要求 4 所述的微流控芯片,其特征在于,所述具有微柱阵列的流体通道为“S”型弯曲流体通道。
7. 根据权利要求 2 所述的微流控芯片,其特征在于,所述流体控制单元采用微流控组件进行流体控制。
8. 根据权利要求 7 所述的微流控芯片,其特征在于,所述微流控组件采用集成式薄膜微阀。
9. 根据权利要求 7 所述的微流控芯片,其特征在于,所述微流控组件包括第一微流控件、第二微流控件、第三微流控件、第四微流控件、第五微流控件、第六微流控件和第七微流控件;  
所述第一微流控件分别与样品池和第四微流控件连接;  
所述第二微流控件分别与冲洗液储液池和第四微流控件连接;  
所述第三微流控件分别与洗脱液储液池和第四微流控件连接;  
所述第四微流控件通过第五微流控件与所述核酸提取单元连接;  
所述第六微流控件分别与所述核酸提取单元和废液池连接;  
所述第七微流控件分别与所述核酸提取单元和扩增与检测单元连接。
10. 一种包含如权利要求 1 所述微流控芯片的 DNA 快速检测系统,其特征在于,该系统包括如权利要求 1 所述的微流控芯片;  
用于为流体控制单元提供挤压动力的动力控制单元;  
用于为 PCR 扩增提供反应温度的温度控制单元;和  
用于为 PCR 分离产物提供荧光检测剂的荧光检测单元。
11. 一种包括如权利要求 7 所述微流控芯片的 DNA 快速检测装置,其特征在于,该装置包括由上至下依次设有多个如权利要求 1 所述的微流控芯片、弹性薄膜层和用于为所述微流控芯片进行 DNA 检测的提供辅助控制的控制层。

12. 根据权利要求 11 所述的 DNA 快速检测装置,其特征在于,所述多个微流控芯片环形阵列排布。

13. 根据权利要求 11 所述的 DNA 快速检测装置,其特征在于,所述控制层包括与所述多个微流体芯片的微通道和微流控组件相匹配的气路通道和供气装置;用于采集 PCR 扩增反应温度的温度传感器、加热装置和加热控制器;用于为 PCR 分离产物提供多色荧光剂的荧光检测单元。

## 一种用于 DNA 快速检测的微流控芯片、检测系统和装置

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物医药仪器,特别是涉及一种用于 DNA 快速检测的微流控芯片,及包含该芯片的 DNA 快速检测系统和装置。

### 背景技术

[0002] 对体液(如血液、尿液等)DNA 的分析,特别是基因标志物检测和基因变异检测是生物医学研究的重要组成部分,也是进行基因诊断和遗传学研究的重要途径。现阶段,用于体液 DNA 分析的方法主要涉及样品 DNA 提取,目的基因 PCR 扩增、电泳分离与检测或实时荧光 PCR 检测等几个过程,一般采用常规仪器设备分别完成不同的操作过程,近年来也有采用微流控技术的核酸分析方法和仪器,主要是常规操作过程的微型化和规模集成(如芯片核酸提取、芯片 PCR/ 实时荧光 PCR、芯片电泳等),或者是少数功能单元的组合,可实现不同的样品处理、反应和检测功能,已部分体现了微流控芯片分析技术微型化、集成化等特点。

[0003] 现有体液 DNA 分析方法中,不同的单元操作一般分开完成,这样导致样本耗量大,运行周期长,步骤繁琐,精度较低;基于微流控芯片的体液 DNA 分析技术大多自动化程度偏低,少数集成度较高、但分析通量偏低,不适于生物实验室、遗传研究中心和临床诊断实验室的需要,更难以符合未来疾病诊断家庭化个体化的趋势。

### 发明内容

[0004] 本发明要解决的技术问题是提供一种用于 DNA 快速检测的微流控芯片,及包含该芯片的 DNA 快速检测系统和装置,以解决现有技术中 DNA 分析样本耗量大,运行周期长,步骤繁琐,精度较低等问题,同时解决了现有微流控芯片及 DNA 检测系统自动化程度不够高,分析通量偏低,不适于生物实验室、遗传研究中心和临床诊断实验室需要的问题。

[0005] 为解决上述技术问题,本发明采用下述技术方案:

[0006] 一种用于 DNA 快速检测的微流控芯片,该芯片包括

[0007] 储液单元,用于存储检测过程中使用或产生的液体;

[0008] 核酸提取单元,基于微结构表面改性处理,提取样本流体中的核酸物质;

[0009] 扩增与检测单元,对所述核酸物质进行 PCR 扩增,并实时对扩增后的产物进行荧光检测;

[0010] 流体控制单元,基于微挤压推动的方式,对检测过程中的流体进行方向控制。

[0011] 优选的,所述储液单元包括样品储液池、冲洗液储液池、洗脱液储液池、废液池和 PCR 扩增与荧光检测池;

[0012] 所述核酸提取缓冲液储液池、样品储液池、冲洗液储液池和洗脱液储液池通过微通道与所述核酸提取单元连通;

[0013] 所述废液池分别通过微通道与所述核酸提取单元和 PCR 扩增与荧光检测池连通。

[0014] 优选的,所述微通道的深度为 70 ~ 90  $\mu\text{m}$ 。

[0015] 优选的,所述核酸提取单元采用具有经表面改性处理的微柱阵列的流体通道。

- [0016] 优选的,所述流体通道的微柱阵列表面沉积有 360nm 厚的氧化硅。
- [0017] 优选的,所述具有微柱阵列的流体通道为“S”型弯曲流体通道。
- [0018] 优选的,所述流体控制单元采用微流控组件进行流体控制。
- [0019] 优选的,所述微流控组件采用集成式薄膜微阀。
- [0020] 优选的,所述微流控组件包括第一微流控件、第二微流控件、第三微流控件、第四微流控件、第五微流控件、第六微流控件和第七微流控件;
- [0021] 所述第一微流控件分别与样品池和第四微流控件连接;
- [0022] 所述第二微流控件分别与冲洗液储液池和第四微流控件连接;
- [0023] 所述第三微流控件分别与洗脱液储液池和第四微流控件连接;
- [0024] 所述第四微流控件通过第五微流控件与所述核酸提取单元连接;
- [0025] 所述第六微流控件分别与所述核酸提取单元和废液池连接;
- [0026] 所述第七微流控件分别与所述核酸提取单元和扩增与检测单元连接。
- [0027] 一种包含如上所述微流控芯片的 DNA 快速检测系统,该系统包括如权利要求 1 所述的微流控芯片;
- [0028] 用于为流体控制单元提供挤压动力的动力控制单元;
- [0029] 用于为 PCR 扩增提供反应温度的温度控制单元;和
- [0030] 用于为 PCR 分离产物提供荧光检测剂的荧光检测单元。
- [0031] 一种包括如上所述微流控芯片的 DNA 快速检测装置,该装置包括由上至下依次设有多个如权利要求 1 所述的微流控芯片、弹性薄膜层和用于为所述微流控芯片进行 DNA 检测的提供辅助控制的控制层。
- [0032] 优选的,所述多个微流控芯片环形阵列排布。
- [0033] 优选的,所述控制层包括
- [0034] 与所述多个微流体芯片的微通道和微流控组件相匹配的气路通道和供气装置;
- [0035] 用于采集 PCR 扩增反应温度的温度传感器、加热装置和加热控制器;
- [0036] 用于为 PCR 分离产物提供多色荧光剂的荧光检测单元。
- [0037] 本发明的有益效果如下:
- [0038] 本发明所述技术方案优点在于:
- [0039] 1、以表面改性的弯曲微通道开口管柱作为核酸提取单元,该结构可采用标准的微加工工艺制作,可有效提高核酸提取方法的可靠性和重复性;
- [0040] 2、以表面改性的弯曲微通道开口管柱作为核酸提取单元,可有效提高其与集成式薄膜微阀/微泵流体控制单元的兼容性,实现体液 DNA 分析单元的集成化和过程的自动化;同时,采用圆盘式阵列结构可实现对多个样品的平行分析,提高单次分析的样品通量;
- [0041] 3、直接在圆盘式芯片背面集成薄膜式微加热器/温度传感器,并采用适当的隔热措施,可有效提高传热效率和升、降温速率,实现快速 PCR 扩增与实时荧光检测。

#### 附图说明

- [0042] 下面结合附图对本发明的具体实施方式作进一步详细的说明;
- [0043] 图 1 示出本发明所述微流控芯片的示意图;
- [0044] 图 2 示出本发明所述 DNA 快速检测系统的示意图;

[0045] 图 3 示出本发明所述微流控芯片阵列的示意图；

[0046] 图 4 示出本发明所述 DNA 快速检测装置的分体结构示意图；

[0047] 附图标号

[0048] 1、微流控芯片,2、弹性薄膜层,3、控制层；

[0049] R1 :样品池, R2 :冲洗液储液池, R3 :洗脱液储液池, R4 :废液池, R5 :PCR 扩增 / 实时荧光检测池, C1 :核酸提取单元, V1 ~ V7 :集成式微阀。

### 具体实施方式

[0050] 为了更清楚地说明本发明,下面结合优选实施例和附图对本发明做进一步的说明。附图中相似的部件以相同的附图标记进行表示。本领域技术人员应当理解,下面所具体描述的内容是说明性的而非限制性的,不应以此限制本发明的保护范围。

[0051] 本发明公开了一种体液 DNA 快速检测的微流控芯片,该芯片采用表面改性的“S”型弯曲微流控通道作为核酸提取单元,利用微阀 / 微泵将核酸提取、PCR 扩增及实时荧光检测等不同功能单元集成于同一芯片,并采用沉积在芯片背面的薄膜式微加热器 / 温度传感器,可实现重复、自动的核酸提取和快速、高效的 PCR 扩增及实时荧光检测。同时,采用圆盘式阵列结构,可平行分析多个样品,使该芯片系统具有快速、低消耗、易自动化、应用范围广等优点,非常适合于生物学实验室、临床诊断实验室、遗传学研究中心等的体液样品 DNA 的快速检测。

[0052] 如图 1 所示,具体的本发明公开了一种用于 DNA 快速检测的微流控芯片,该芯片包括用于存储检测过程中使用或产生的液体的储液单元、基于微结构表面改性处理,提取样本流体中的核酸物质的核酸提取单元,对所述核酸物质进行 PCR 扩增,并实时对扩增后的产物进行荧光检测的扩增与检测单元和基于微挤压推动的方式,对检测过程中的流体进行方向控制的流体控制单元。本方案中,所述储液单元包括样品储液池、冲洗液储液池、洗脱液储液池和 PCR 扩增与荧光检测池;所述核酸提取缓冲液储液池、样品储液池、冲洗液储液池和洗脱液储液池通过微流控通道与所述核酸提取单元连通;所述废液池分别通过微通道与所述核酸提取单元和 PCR 扩增与荧光检测池连通。本方案中,所述核酸提取单元采用具有经表面改性处理的“S”型弯曲流体通道。本方案中,所述流体控制单元采用微流控组件进行流体控制,该微流控组件可以为集成式薄膜微阀组或集成式薄膜微泵组,本方案中所述微流控组件为集成式薄膜微阀。本方案中所述微流控组件包括第一微流控件、第二微流控件、第三微流控件、第四微流控件、第五微流控件、第六微流控件和第七微流控件;所述第一微流控件分别与样品池和第四微流控件连接;所述第二微流控件分别与冲洗液储液池和第四微流控件连接;所述第三微流控件分别与洗脱液储液池和第四微流控件连接;所述第四微流控件通过第五微流控件与所述核酸提取单元连接;所述第六微流控件分别与所述核酸提取单元和废液池连接;所述第七微流控件分别与所述核酸提取单元和扩增与检测单元连接。

[0053] 如图 2 所示,本发明进一步公开了一种包含如上所述微流控芯片的 DNA 快速检测系统,该系统包括如权上所述的微流控芯片、用于为流体控制单元提供挤压动力的动力控制单元、用于为 PCR 扩增提供反应温度的温度控制单元和用于为 PCR 分离产物提供荧光检测剂的荧光检测单元。其中,为了配合弹性薄膜微阀组或弹性薄膜微泵组对芯片内的样品

液进行液体流动控制,本方案中所述动力控制单元采用与芯片中每个阀/泵点相对应的孔板、供气装置和按液体流动方向控制供气装置为各个阀/泵点供气的供气控制器。本方案中,所述温度控制单元采用温度传感器、加热装置和温度控制器的配合使用对 PCR 扩增的反应温度进行控制。本方案中,为了进一步完成体液 DNA 的快速检测,在系统中配备具有多色荧光剂的荧光检测单元,对 PCR 分离产物进行荧光检测,获得最终的检测分析结果。

[0054] 如图 2 和图 3 所示,本发明进一步公开了一种包括如上所述微流控芯片的 DNA 快速检测装置,该装置包括由上至下依次设有多个如上所述的微流控芯片、弹性薄膜层和用于为所述微流控芯片进行 DNA 检测的提供辅助控制的控制层。所述多个微流控芯片环形阵列排布。所述控制层包括与所述多个微流体芯片的微通道和微流控组件相匹配的气路层和供气装置;用于采集 PCR 扩增反应温度的温度传感器、加热装置和加热控制器;以及,用于为 PCR 分离产物提供多色荧光剂的荧光检测单元。

[0055] 本发明基于所述微流控芯片的 DNA 快速检测系统的工作过程:首先,进行加液步骤:向样品池 R1 内加入样品液和核酸提取缓冲液,其他储液池分别加入相应试剂;然后,进入进样混合步骤:顺序开启微阀 V1、V4、V5 和 V6,使样品储液池 R1 中的样品溶液进入核酸提取单元 C1,样品中的 DNA 分子吸附在经改性的微流控通道表面,用过的核酸提取缓冲液废液则进入废液池 R4;然后,进入冲洗步骤:顺序开启微阀 V2、V4、V5 和 V6,使冲洗缓冲液储液池 R2 中的冲洗缓冲液流经核酸提取单元 C1,以除去微流控通道表面吸附的杂质,用过的冲洗缓冲液废液进入废液池 R4;然后,进入洗脱步骤:顺序开启微阀 V3、V4、V5 和 V7,使洗脱缓冲液储液池 R3 中的洗脱缓冲液流经核酸提取单元 C1,以洗脱吸附在微流控通道表面的 DNA 分子,并使其进入 PCR 扩增/实时荧光检测池 R5 与起始加入的 PCR 溶液混合;最后,进入 PCR 扩增与检测步骤:关闭微阀,开始进行芯片 PCR 扩增与实时荧光检测,获取分析检测结果。

[0056] 下面通过一组实施例对本发明做进一步说明:

[0057] 如图 4 所示,一种体液 DNA 快速检测装置,该装置包括由刻有微流控芯片微通道的上层基片、弹性薄膜层和刻有与上层基片上微通道相匹配的气路通道的控制层的下层基片封接而成;下层基片上与气路控制通道层相反的一侧集成有微加热器,同时在该位置进一步设置有用用于实时采集加热温度的温度传感器,以提供微流控芯片中 PCR 扩增所需的温度。通过集成在芯片上的微阀或微泵的微控制,进行体液样品中 DNA 的提取操作,得到纯化的 DNA 模板;该 DNA 模板由微阀或微泵驱动进入 PCR 扩增/检测液池,进行目的基因片段扩增和实时荧光检测,由计算机控制的软件系统输出结果。自体液样品的输入至结果输出可在同一块芯片上完成。

[0058] 本实例中所述微流控芯片以玻璃芯片为例,先设计出上层基片上的微通道和下层基片上的气路通道结构并制成掩膜,然后按照标准的玻璃光刻/湿法刻蚀工艺刻蚀出所需微通道图案,其中上层基片上的微通道和下层基片上的气路通道的刻蚀深度均为  $80\ \mu\text{m}$ ;刻蚀好的基片用超声波打孔器在相应位置打孔;经过清洗后,在上层基片的核酸提取单元中的微通道表面沉积约  $360\text{nm}$  厚的氧化硅,作为核酸提取的固定相,其他部分用掩膜遮蔽;在下层基片气路控制微通道的背面沉积金属薄层 ( $\text{Ti/Pt}:100\ \text{\AA}/600\ \text{\AA}$ ) 并用王水 ( $3:1\text{HCl}/\text{HN}\text{O}_3, 90^\circ\text{C}$ ) 刻蚀,以得到所需的温度控制元件;采用聚二甲基硅氧烷薄膜 (PDMS, 厚度约  $150\text{--}250\ \mu\text{m}$ ) 置于上、下两层玻璃片中间进行可逆封接,便制成了集成微阀/微泵及温

度控制单元的体液 DNA 快速检测装置。

[0059] 综上所述,本发明所述技术方案以表面改性的弯曲微通道开口管柱作为核酸提取单元,该结构可采用标准的微加工工艺制作,可有效提高核酸提取方法的可靠性和重复性;该方案以表面改性的弯曲微通道开口管柱作为核酸提取单元,可有效提高其与集成式薄膜微阀/微泵流体控制单元的兼容性,实现体液 DNA 分析单元的集成化和过程的自动化;同时,采用圆盘式阵列结构可实现对多个样品的平行分析,提高单次分析的样品通量;该方案直接在圆盘式芯片背面集成薄膜式微加热器/温度传感器,并采用适当的隔热措施,可有效提高传热效率和升、降温速率,实现快速 PCR 扩增与实时荧光检测。

[0060] 显然,本发明的上述实施例仅仅是为清楚地说明本发明所作的举例,而并非是对本发明的实施方式的限定,对于所属领域的普通技术人员来说,在上述说明的基础上还可以做出其它不同形式的变化或变动,这里无法对所有的实施方式予以穷举,凡是属于本发明的技术方案所引伸出的显而易见的变化或变动仍处于本发明的保护范围之列。



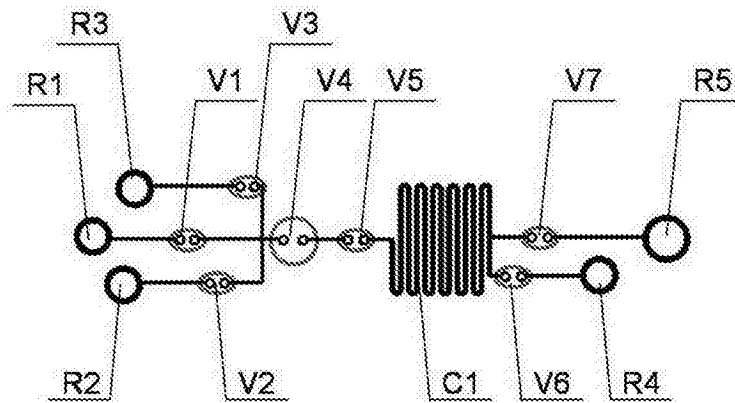


图 1

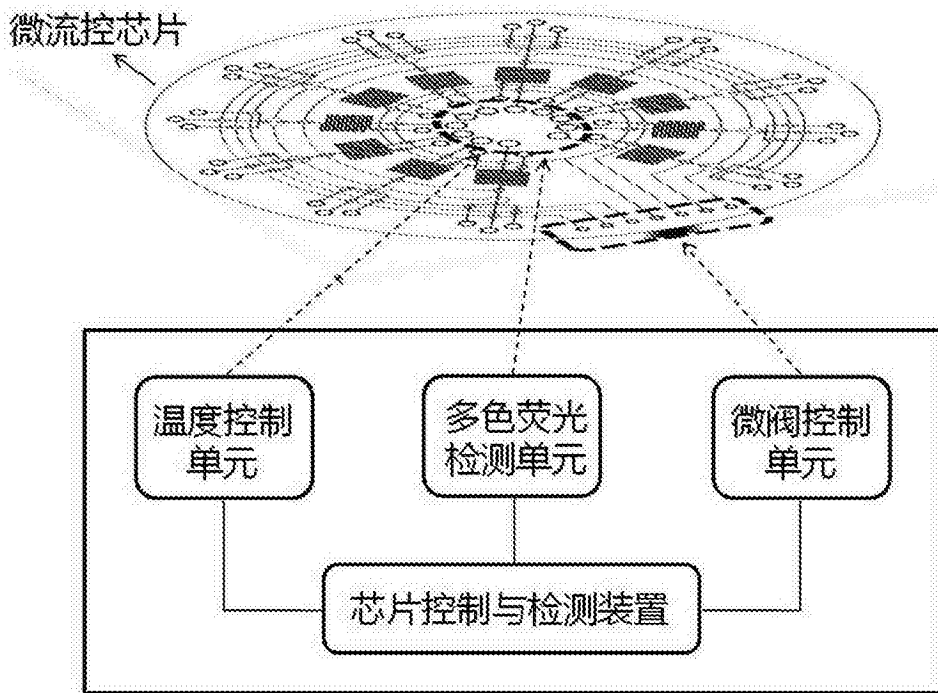


图 2

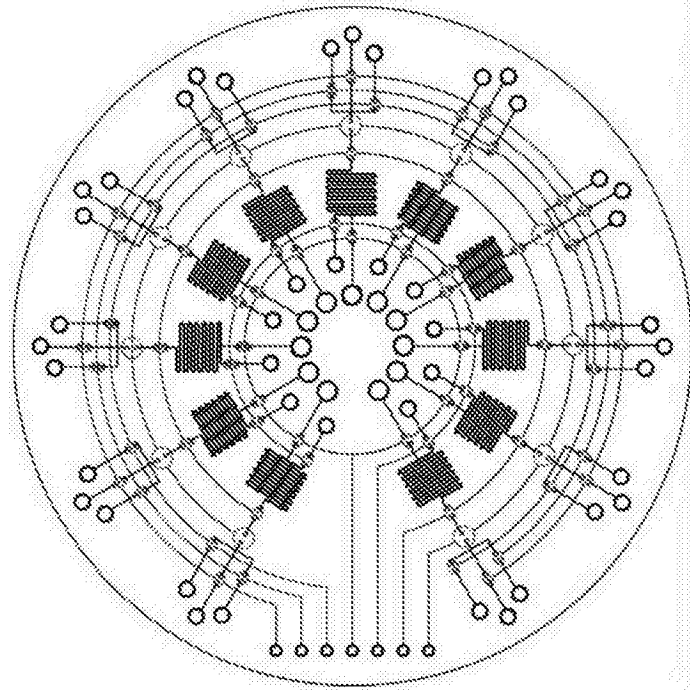


图 3

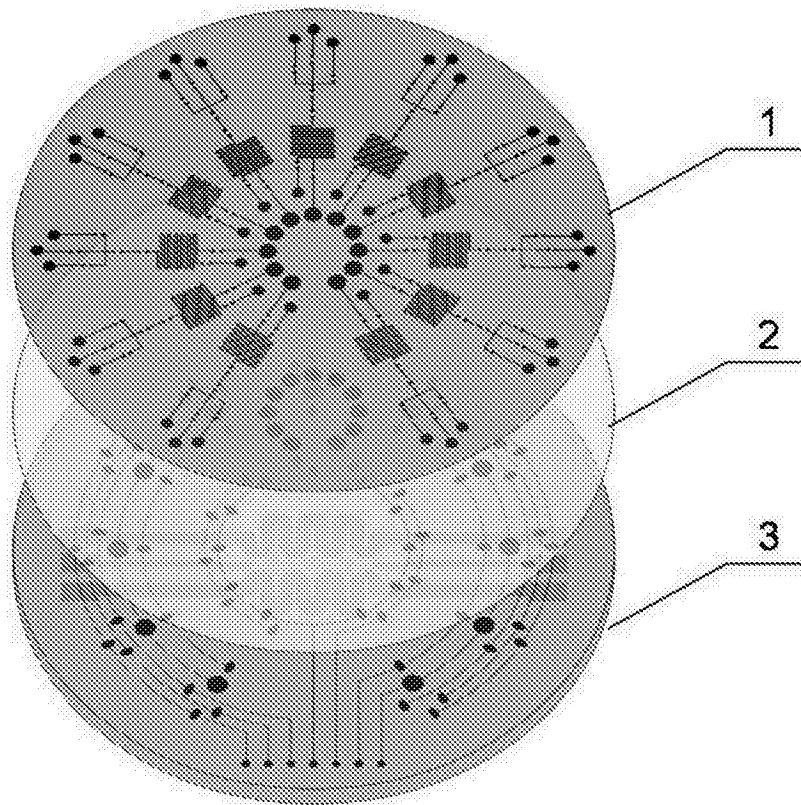


图 4