



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 106324064 A

(43) 申请公布日 2017. 01. 11

(21) 申请号 201510351359. 8

(22) 申请日 2015. 06. 23

(71) 申请人 中国科学院上海应用物理研究所
地址 201800 上海市嘉定区宝嘉公路 2019 号

(72) 发明人 樊春海 宋世平 姜智能 邓王平
窦艳枝

(74) 专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283
代理人 钟华 王聪

(51) Int. Cl.
G01N 27/416(2006. 01)
G01N 33/543(2006. 01)

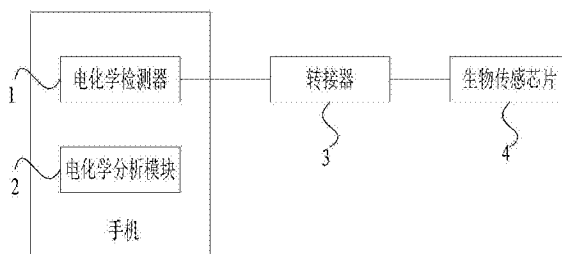
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

电化学生物传感系统

(57) 摘要

本发明公开了一种电化学生物传感系统,包括:一集成于手机中的电化学检测器;一运行于手机中的电化学分析模块;一生物传感芯片;一转接器,用于连接所述电化学检测器及所述生物传感芯片。本发明的电化学生物传感系统中的电化学检测器与手机完全集成于一体,体积小、操作方便,便于携带。电化学分析模块集成于手机内部,避免了电化学检测过程中外界环境的影响及干扰。该系统不仅具备手机的所有功能,且可以实现方便、快捷的电化学生物传感检测,且能与手机其他功能及应用兼容,可实现数据的实时处理、分析、多样化传输及网络共享。



1. 一种电化学生物传感系统,其特征在于,包括:

- 一集成于手机中的电化学检测器;
- 一运行于手机中的电化学分析模块;
- 一生物传感芯片;
- 一转接器,用于连接所述电化学检测器及所述生物传感芯片。

2. 如权利要求 1 所述的电化学生物传感系统,其特征在于,所述电化学检测器集成一电化学检测模块,所述电化学检测模块包括微处理器、数字信号发生器、恒电位仪及数模转换器;

所述微处理器与所述数字信号发生器电连接,所述数字信号发生器通过所述恒电位仪与所述生物传感芯片电连接,所述生物传感芯片通过所述数模转换器与所述微处理器电连接。

3. 如权利要求 1 所述的电化学生物传感系统,其特征在于,所述电化学检测器用于通过电化学方法进行检测,电化学方法包括循环伏安法、电流-时间曲线法、方波伏安法、差分脉冲伏安法、线性扫描伏安法及计时电量法。

4. 如权利要求 1 所述的电化学生物传感系统,其特征在于,所述生物传感芯片为印刷电极芯片,所述印刷电极芯片用于内置在卡槽中,或用于与层析试纸条结合,或用于与微流通道结合。

5. 如权利要求 4 所述的电化学生物传感系统,其特征在于,所述印刷电极芯片属于三电极或两电极体系,工作电极为碳电极或金电极。

6. 如权利要求 5 所述的电化学生物传感系统,其特征在于,所述工作电极的界面用于通过物理吸附或化学耦联组装检测材料。

7. 如权利要求 4 所述的电化学生物传感系统,其特征在于,当所述印刷电极芯片内置在卡槽中时,所述卡槽设有样品反应区及信号采集区,所述样品反应区用于在印刷电极芯片的电极表面设置静态反应池,所述信号采集区用于与所述转换器电连接。

8. 如权利要求 4 所述的电化学生物传感系统,其特征在于,当所述印刷电极芯片与层析试纸条结合时,层析试纸条底部的硝酸纤维素膜粘合在印刷电极芯片的反应区上方,所述硝酸纤维素膜上粘合有样品垫、检测探针垫及吸水垫。

9. 如权利要求 4 所述的电化学生物传感系统,其特征在于,当所述印刷电极芯片与微流通道结合时,微流通道通过微流控芯片覆盖在电极表面形成,检测试剂通过所述微流通道流入印刷电极芯片的反应区。

10. 如权利要求 1 所述的电化学生物传感系统,其特征在于,所述转接器包括 USB 转接口,所述 USB 转接口的一端与手机接口相连、另一端与所述生物传感芯片相连。

11. 如权利要求 1 所述的电化学生物传感系统,其特征在于,固定在所述生物传感芯片表面的捕获探针为抗体、抗原或 DNA,所检测的生化分子为肿瘤标记物、寄生虫抗体、酶、DNA、RNA、miRNA 小分子或金属离子。

电化学生物传感系统

技术领域

[0001] 本发明涉及生物传感技术领域,特别是涉及一种智能型的电化学生物传感系统。

背景技术

[0002] 电化学生物传感技术是发展非常迅速的一种化学、生物分析技术,其不仅具有高效、简便、灵敏、快速等特点,而且电化学检测设备相对于常用的光学检测技术来说其装置轻便、廉价、低能耗且易于微型化、集成化、适用于现场检测。因此电化学生物传感技术被认为是在时效、成本等有较高限定要求的场合实现生物检测的首选技术之一。同时近来印刷技术的快速发展极大地促进了成本低廉、体积小巧的即抛型电极芯片的开发,为将电化学检测模块与电子、机械系统及芯片集成以实现生化分子的便携式现场实时检测提供了可能。

[0003] 随着生物医学、食品安全及环境监测领域对可用于现场或资源有限地区的便携式小型分析仪器的需求越来越迫切,发展方便操作且可以将相关数据传输到远程末端的便携式集成型智能化分析系统可能将对人类医疗及生活水平的提高带来深远的影响。而近年来电子电路集成化技术、智能手机系统及移动互联网的迅速发展及广泛应用,使开发基于智能手机系统的便携式集成型智能化分析设备成为可能。

[0004] 目前已经报道的基于手机的生物传感检测器大多是在手机外部配置一个光学器件,利用手机内置的摄像头实现光学检测。少数基于手机的电化学检测也同样是将电化学功能模块独立在手机外,并通过数据线与手机连接实现电化学检测及数据传输功能。然而这种独立于手机外部的电化学检测模块容易受到周围环境的影响及干扰,且无法与智能手机其他功能及应用兼容,难以实现数据的实时处理、分析、多样化传输及网络共享。截至目前仍没有将电化学模块集成于手机内部尤其是智能手机内部并与手机系统兼容运行实现电化学传感检测及数据存储、分析、传输及共享的相关报道及产品,因此现在亟需开发出一种集成于智能手机内部并与手机系统兼容的电化学生物传感检测系统,以具备小巧、高效、廉价、易于操作的特点,满足各种环境下生化分子快速、便携、实时、智能及联网检测的要求。

发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是为了克服现有技术中基于手机的生物传感检测器大多是独立于手机外部的电化学检测模块,容易受到周围环境的影响及干扰、且无法与智能手机其他功能及应用兼容的缺陷,提供一种智能型的电化学生物传感系统,实现多种生化分子的快速、便携、实时、智能、及联网检测,解决现有技术中生化分子检测步骤繁琐、仪器体积大且价格昂贵,灵敏度不够高,不适合现场检测等缺陷,为临床诊断、食品安全、环境监测等领域提供有效的现场实时检测应用平台。

[0006] 本发明是通过下述技术方案来解决上述技术问题的:

[0007] 本发明提供了一种电化学生物传感系统,其特点在于,包括:

- [0008] 一集成于手机中的电化学检测器；
- [0009] 一运行于手机中的电化学分析模块；
- [0010] 一生物传感芯片；
- [0011] 一转接器，用于连接所述电化学检测器及所述生物传感芯片。
- [0012] 较佳地，所述电化学检测器集成一电化学检测模块，所述电化学检测模块包括微处理器、数字信号发生器、恒电位仪及数模转换器；
- [0013] 所述微处理器与所述数字信号发生器电连接，所述数字信号发生器通过所述恒电位仪与所述生物传感芯片电连接，所述生物传感芯片通过所述数模转换器与所述微处理器电连接。
- [0014] 较佳地，所述电化学检测器用于通过电化学方法进行检测，电化学方法包括循环伏安法、电流-时间曲线法、方波伏安法、差分脉冲伏安法、线性扫描伏安法及计时电量法。
- [0015] 较佳地，所述生物传感芯片为印刷电极芯片，所述印刷电极芯片用于内置在卡槽中，或用于与层析试纸条结合，或用于与微流通道结合。
- [0016] 较佳地，所述印刷电极芯片属于三电极或两电极体系，工作电极为碳电极或金电极。
- [0017] 较佳地，所述工作电极的界面用于通过物理吸附或化学耦联组装检测材料。
- [0018] 较佳地，当所述印刷电极芯片内置在卡槽中时，所述卡槽设有样品反应区及信号采集区，所述样品反应区用于在印刷电极芯片的电极表面设置静态反应池，所述信号采集区用于与所述转换器电连接。
- [0019] 较佳地，当所述印刷电极芯片与层析试纸条结合时，层析试纸条底部的硝酸纤维素膜粘合在印刷电极芯片的反应区上方，所述硝酸纤维素膜上粘合有样品垫、检测探针垫及吸水垫。
- [0020] 较佳地，当所述印刷电极芯片与微流通道结合时，微流通道通过微流控芯片覆盖在电极表面形成，检测试剂通过所述微流通道流入印刷电极芯片的反应区。
- [0021] 较佳地，所述转接器包括 USB(通用串行总线)转接口，所述 USB 转接口的一端与手机接口相连、另一端与所述生物传感芯片相连。
- [0022] 较佳地，固定在所述生物传感芯片表面的捕获探针为抗体、抗原或 DNA(脱氧核糖核酸)，所检测的生化分子为肿瘤标记物、寄生虫抗体、酶、DNA、RNA(核糖核酸)、miRNA(在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码核糖核酸)、小分子(分子量小于 5000 的分子称为小分子)、细菌或金属离子。
- [0023] 本发明的积极进步效果在于：本发明的电化学生物传感系统中的电化学检测器与手机完全集成于一体，体积小、操作方便，便于携带。电化学分析模块集成于手机内部，避免了电化学检测过程中外界环境的影响及干扰。
- [0024] 该系统不仅具备智能手机的所有功能，且可以实现方便、快捷的电化学生物传感检测，且能与智能手机其他功能及应用兼容，可实现数据的实时处理、分析、多样化传输及网络共享。
- [0025] 该系统可与电场驱动技术或电化学免疫层析技术相结合，实现多种生物分子的快速、便携、简单、现场实时灵敏检测，适合野外或资源有限地区的现场应用。

附图说明

[0026] 图 1 为本发明的较佳实施例的电化学生物传感系统的结构示意图。

[0027] 图 2 为本发明的较佳实施例的电化学生物传感系统中电化学检测器的结构示意图。

[0028] 图 3 为利用本发明的较佳实施例的电化学生物传感系统与电场驱动技术结合快速检测克伦特罗小分子的标准曲线图。

[0029] 图 4 为利用本发明的较佳实施例的电化学生物传感系统与电化学免疫层析技术结合快速检测血吸虫抗体的结果示意图。

具体实施方式

[0030] 下面通过实施例的方式进一步说明本发明,但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。

[0031] 如图 1 所示,本发明的电化学生物传感系统包括一集成于手机中的电化学检测器 1、一运行于手机中的电化学分析模块 2、一生物传感芯片 3 以及一转接器 4,所述转接器 4 用于连接所述电化学检测器 1 及所述生物传感芯片 3。

[0032] 所述电化学检测器不仅具有智能手机系统无线终端的所有功能模块,如图 2 所示,其内部还集成有一电化学检测模块 11,所述电化学检测模块 11 包括微处理器 12、数字信号发生器 13、恒电位仪 14、数模转换器 15、数据采集系统 16 及数据处理模块 17 等;

[0033] 所述微处理器 12 与所述数字信号发生器 13 电连接,所述数字信号发生器 13 通过所述恒电位仪 14 与所述生物传感芯片 3 电连接,所述生物传感芯片 3 通过所述数模转换器 15 与所述微处理器 12 电连接。

[0034] 所述电化学检测器内部电路模块工作原理为:用户通过手机触摸屏输入命令到微处理器 12,微处理器 12 把命令传给信号发生器 13,然后通过恒电位仪 14 作用到传感电极芯片 3 的三电极体系,随后三电极体系的数据再通过灵敏度控制处理及数模转换器 15 再回传给微处理器 12,所测数据最后通过手机的液晶显示器显示。

[0035] 在本发明中,所述电化学检测器 1 用于通过多种常用电化学方法进行检测,电化学方法包括循环伏安法(CV)、电流-时间曲线法(I-T)、方波伏安法(SWV)、差分脉冲伏安法(DPV)、线性扫描伏安法及计时电量法。

[0036] 其中,所述电化学分析模块 2 可在智能手机系统上兼容运行,通过触摸屏操作软件模块以实现电化学检测功能。用户可根据需求通过手机上的应用软件模块选择电化学方法、配置实验参数及对仪器进行开始、停止等操作控制,实验过程中仪器可根据用户的配置工作实时显示实验参数、实验数据、及实验进度,并将实验数据(包括图片格式及 TXT(文本)格式)以时间命名排序保存于手机中的默认路径。所保存数据可以通过 USB、2G(第二代移动通信技术)、3G(第三代移动通信技术)或蓝牙实现实时数据传输,并可在智能手机系统上进行数据分析、数据文件管理及网络共享。

[0037] 其中,所述生物传感芯片 3 为单独的印刷电极芯片,或者所述印刷电极芯片用于内置在卡槽中,或用于与层析试纸条结合,或用于与微流通道结合。所述印刷电极芯片属于三电极或两电极体系,工作电极为碳电极或金电极。工作电极的界面可以进行界面修饰或功能化,所述工作电极的界面用于通过物理吸附或化学耦联组装检测材料,检测材料具体

为相应的抗原、抗体等蛋白或 DNA、纳米材料等,以实现蛋白、DNA、RNA、细菌、小分子、金属离子等相关生化分子的快速、便捷、灵敏检测。

[0038] 其中,当所述印刷电极芯片内置在卡槽中时,所述卡槽设有样品反应区及信号采集区,所述样品反应区用于在印刷电极芯片的电极表面设置静态反应池,所述信号采集区用于与所述转换器电连接,实现了印刷电极芯片与手持机的无缝转接及电极表面电信号的传输。

[0039] 当所述印刷电极芯片与层析试纸条结合时,层析试纸条底部的硝酸纤维素膜粘合在印刷电极芯片的反应区上方,所述硝酸纤维素膜上粘合有样品垫、检测探针垫及吸水垫,以实现样品的层流及电化学检测。

[0040] 当所述印刷电极芯片与微流通道结合时,微流通道通过微流控芯片覆盖在电极表面形成,检测试剂通过所述微流通道流入印刷电极芯片的反应区,实现各种生化分子的实时、便捷、快速、定量检测。

[0041] 其中,所述转接器包括 USB 转接口,所述 USB 转接口的一端与手机接口相连、另一端与所述生物传感芯片相连,以实现电极传感界面电化学信号的在线快速数据采集及检测。

[0042] 本发明的电化学生物传感系统可与电场驱动技术或电化学免疫层析技术相结合,解决了现有技术中生化分子检测步骤繁琐、仪器体积大且价格昂贵、灵敏度不够高、不适合现场检测等缺陷。

[0043] 在本发明中,固定在所述生物传感芯片表面的捕获探针为抗体、抗原或 DNA(脱氧核糖核酸),所检测的生化分子为肿瘤标记物、抗体、酶、细菌、DNA、RNA(核糖核酸)、miRNA(在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码核糖核酸)、小分子(分子量小于 5000 的分子称为小分子)或金属离子。利用不同 pH 值(氢离子浓度指数)的缓冲液稀释检测靶标使其带上相应的电荷,用手机检测器对工作电极施加相反的电场促使靶分子与电极界面上捕获探针的快速结合及检测。

[0044] 捕获探针固定在印刷电极芯片的工作电极界面,层析试纸条覆盖在印刷电极芯片的三电极反应区域,样品滴加到层析试纸条的样品垫上后层析一定时间到达三电极反应区,利用手机中的电化学检测器实现快速检测。

[0045] 在本发明中,所述电化学检测器可以实现循环伏安法(CV)及电流-时间曲线法(I-T)两种常用电化学方法的测定。

[0046] 循环伏安法(CV)主要参数设置范围如下:

[0047] (1) 初始电位: $-2 \sim 2V$

[0048] (2) 最大电位: $-2 \sim 2V$

[0049] (3) 最小电位: $-2 \sim 2V$,

[0050] (4) 扫描方向:正向/反向二选一

[0051] (5) 扫描速率: $0.001 \sim 1V/s$

[0052] (6) 扫描段数: $1-100$

[0053] (7) 采样间隔: $0.001 \sim 1V$

[0054] (8) 电流灵敏度: $1.e^3 \sim 1.e^8$

[0055] (9) 等待时间: $0-100s$

[0056] 电流-时间曲线法(I-T)主要参数设置范围如下:

[0057] (1) 初始电位: $-2 \sim 2V$

[0058] (2) 运行时间: $1-1000s$

[0059] (3) 采样间隔: $0.01-100$

[0060] (4) 电流灵敏度: $1.e^3 \sim 1.e^8$

[0061] (5) 等待时间: $0-100s$

[0062] 本发明的电化学生物传感系统的使用方法,其操作流程如下:

[0063] 1) 打开电化学分析模块(APP,应用程序)进入软件的主页面,所述主页面包括四个菜单,分别为CV法实验、I-T法实验、历史数据及关于。用户在打开软件后可以选择“CV法实验”或“I-T法实验”进行实验参数配置及检测;也可通过“历史数据”查看已保存的实验数据,包括图片及文本格式;还可通过“关于”了解有关分析仪的介绍、使用说明及设备自检;

[0064] 2) 通过点击“CV法实验”或“I-T法实验”选择实验方法并进入相应的界面,点击“设置”可进入参数设置界面,设置完参数点击“保存”并“返回”到上个界面;

[0065] 3) 插入生物传感芯片,滴加试剂到电极反应区后点击“开始”检测;

[0066] 4) 实验过程中,手机屏幕上实时显示实验参数、实时的实验数据及曲线、实验进度等,可手动灵活调节曲线图坐标范围,并可随时点击“停止”暂停实验;

[0067] 5) 实验结束后数据(png格式的图片及TXT格式的文本)会以时间排序自动保存于默认路径,并在界面上显示其文件名及保存路径;

[0068] 6) 通过点击电化学分析模块主界面上“历史数据”,进入历史数据存储界面,用户可按照文件名时间升序或降序排列及浏览数据及png格式的图片。用户可以直接打开显示检测曲线图,并可手动缩放图片。TXT格式的文本保存了所有采集的数据及实验参数,实验数据文件可在手机平台上通过USB、2G、3G、Wi-Fi(一种可以将终端以无线方式互连的技术)或蓝牙进行传输及共享,或利用手机平台数据分析软件进行数据处理。

[0069] 本发明还提供了上述便携式集成型智能化的电化学生物传感系统在临床诊断、食品安全及环境监测等领域的应用,即将该便携式集成型智能化的电化学生物传感系统应用于生物液样中各种肿瘤标记物等抗原、寄生虫病等抗体、DNA、RNA、miRNA、细菌、病毒或小分子等的检测。

[0070] 优选地,所述电化学生物传感系统在基于电场驱动快速、便携、灵敏检测生化分子中的应用,其具体步骤如下:

[0071] 1) 将合适浓度的捕获探针组装于印刷电极生物传感芯片的工作电极表面,并封闭电极表面。

[0072] 2) 将印刷电极生物传感芯片插入到智能手机的电化学检测器中,样本用相应pH值的缓冲液稀释使检测靶标带上相应的电荷并滴加于印刷工作电极表面,用手机的电化学检测器在工作电极上施加相反的电压1-10min,以加快靶标分子扩散到电极表面与捕获探针结合的速度,然后清洗电极。

[0073] 3) 将检测探针稀释后滴加于电极表面,同样施加相反的电场1-10min,使其与靶分子快速结合,并清洗电极。

[0074] 4) 滴加底物溶液到三电极反应区域,并进行CV或I-T法检测,数据自动保存于手

机“历史数据”目录中。

[0075] 优选地,所述电化学生物传感系统在基于电化学免疫层析技术快速、便携、灵敏检测生化分子中的应用,其具体步骤如下:

[0076] 1) 将捕获探针稀释到合适浓度,滴加于印刷电极的工作电极表面,于 4℃ 组装过夜,并封闭电极表面。

[0077] 2) 将硝酸纤维素 (NC) 膜通过双面胶与印刷电极生物传感芯片的三电极反应区域充分粘合。

[0078] 3) NC 膜一端通过双面胶粘合上玻璃纤维膜,作为样品垫。

[0079] 4) NC 膜另一端通过双面胶粘合上吸水垫。

[0080] 5) 将样本与检测探针按比例混合后滴加于样品垫上,层析 5-10min。

[0081] 6) 去掉 NC 膜,将电极芯片插入智能手机的电化学检测器,滴加底物溶液到三电极反应区。选择 I-T 方法检测稳态时间电流值,数据自动保存于“历史数据”中。

[0082] 下面举例说明本发明的便携式集成型智能化的电化学生物传感系统实现电场驱动快速、便携、灵敏检测瘦肉精中的克伦特罗 (CLB) 小分子的应用。其原理是采用电场驱动的直接竞争免疫抑制法检测 CLB。其主要技术方案及步骤包括:先制备多壁碳纳米管与羊抗鼠抗体的耦联物,并滴加 6uL 于印刷电极表面室温放置 2h 干燥。然后滴加 4uL 浓度为 4ug/mL 的抗 CLB 单抗于修饰了多壁碳纳米管-羊抗鼠抗体耦联物的电极表面 37 度结合 1h。清洗电极后将电极插入智能手机的电化学检测器;再将 500 倍稀释的 CLB-HRP (HRP:辣根过氧化物酶) 与带正电荷的 CLB 标准品 (浓度为 0ng. mL⁻¹, 0.3ng. mL⁻¹, 1ng. mL⁻¹, 3ng. mL⁻¹, 10ng. mL⁻¹, 30ng. mL⁻¹, 100ng. mL⁻¹) 等比例混合,取 50uL 混合物滴加于 CLB 传感电极表面,采用 I-T 法,在 -0.3V 的电压下扫描 6min,然后清洗电极并滴加 50uL 的 TMB (3, 3', 5, 5'-四甲基联苯胺) 到三电极反应区,采用 I-T 法检测 -200mV 电压下 80s 的稳态电流信号。检测原始电流信号与 CLB 浓度的关系及抑制率随 CLB 浓度变化的曲线结果见附图 3。结果表明该方法检测 CLB 的灵敏度为 76pg/mL,检测范围为 0.076ng/mL-100ng/mL,检测时间为 6-10min,具有快速、便携、灵敏检测 CLB 的优势。

[0083] 下面举例说明将本发明的便携式集成型智能化的电化学生物传感系统与电化学免疫层析技术相结合用于血吸虫抗体的快速、便携、灵敏检测,其具体步骤如下:将浓度为 100ug/mL 的血吸虫重组抗原 SJE16 滴加于印刷电极的工作电极表面,于 4℃ 组装过夜,并用 1%酪蛋白封闭电极表面。将硝酸纤维素 (NC) 膜通过双面胶与印刷电极生物传感芯片的三电极反应区域充分贴合。NC 膜一端通过双面胶粘合玻璃纤维膜作为样品垫,另一端通过双面胶粘合上吸水垫。将 20uL 不同倍数稀释的兔多抗 (稀释倍数为 1:2500, 1:5000, 1:10000, 1:20000, 1:50000, 1:100000, 1:200000) 与 50uL 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔抗体混合后滴加于样品垫上,层析 5-10min。将传感电极插入智能手机的电化学检测器的接口中,滴加 TMB 底物溶液到三电极反应区的 NC 膜上,选择 CV 或 I-T 实验方法,设置参数,开始检测,检测完毕数据自动保存于“历史数据”中。通过数据分析结果表明,该方法可在 10-15min 内实现 2500 倍-20 万倍稀释的血吸虫 SJE16 抗体的检测,具有快速、便携、灵敏检测的优势,具体结果见图 4。

[0084] 虽然以上描述了本发明的具体实施方式,但是本领域的技术人员应当理解,这些仅是举例说明,本发明的保护范围是由所附权利要求书限定的。本领域的技术人员在不背

离本发明的原理和实质的前提下,可以对这些实施方式做出多种变更或修改,但这些变更和修改均落入本发明的保护范围。

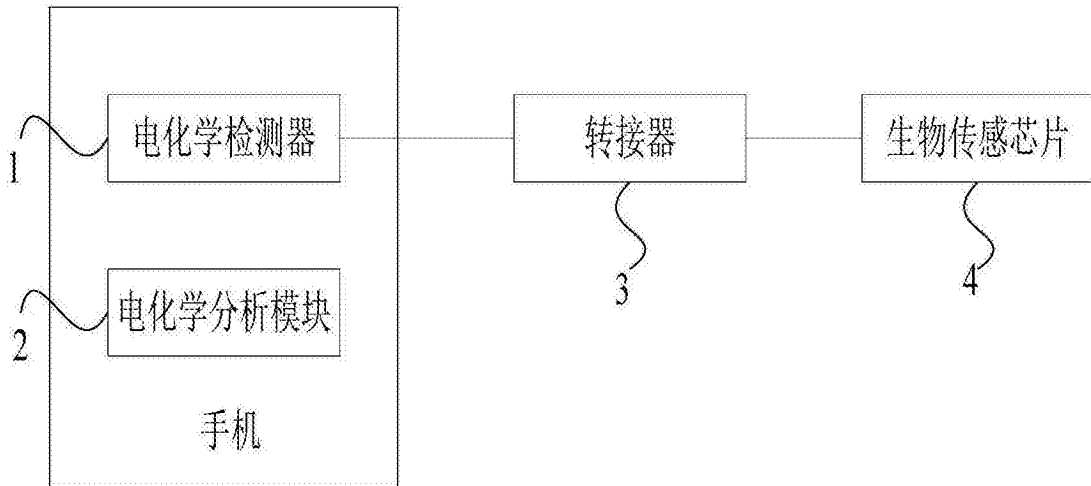


图 1

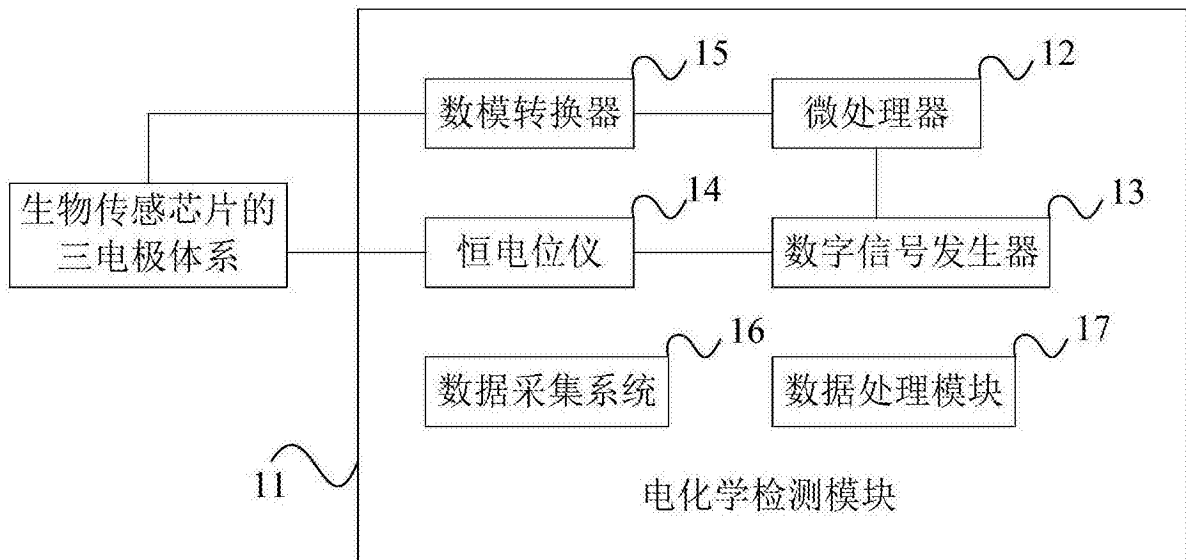


图 2

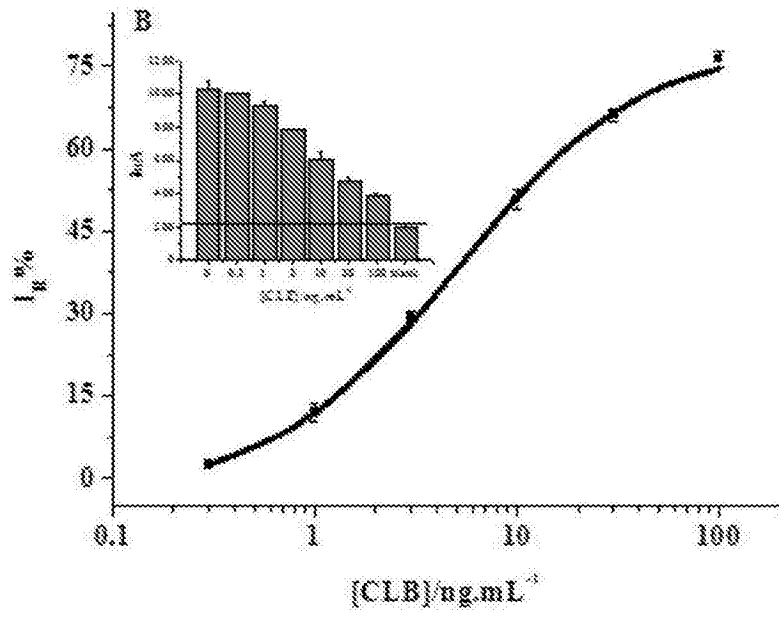


图 3

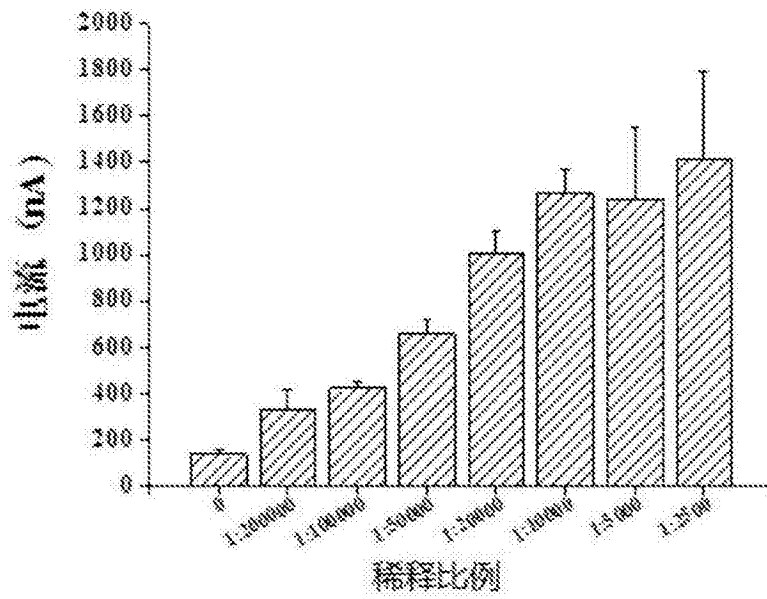


图 4