

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810197230.6

[51] Int. Cl.

G01N 33/52 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

A61B 5/00 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 3 月 25 日

[11] 公开号 CN 101393206A

[22] 申请日 2008.10.10

[21] 申请号 200810197230.6

[71] 申请人 华中科技大学

地址 430074 湖北省武汉市洪山区珞喻路
1037 号

[72] 发明人 赵元弟 王建浩 王海桥

[74] 专利代理机构 华中科技大学专利中心

代理人 曹葆青

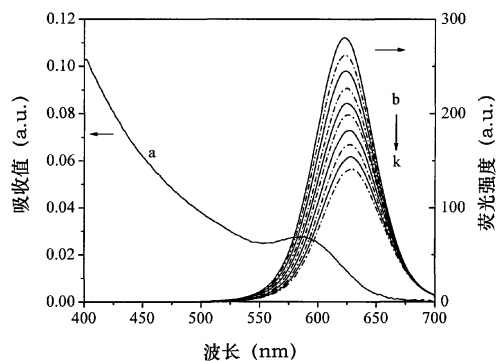
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 3 页

[54] 发明名称

一种提高量子点生物探针环境温度稳定性的方法

[57] 摘要

本发明公开了一种提高量子点生物探针环境温度稳定性的方法，步骤为①将含 Cd 或 Zn 的水溶性量子点采用异丙醇洗涤，去除水溶性量子点溶液中多余的表面稳定剂，然后用惰性气体吹干；②向水溶性量子点中加入变性蛋白质，使水溶性量子点与变性蛋白质的摩尔比在 1 : 1 与 1 : 4 之间，然后 60 - 80℃ 水浴中加热 10 - 30 分钟，得到连接产物；③用葡聚糖凝胶层析法对上述连接产物进行分离纯化，收集第一个吸收峰的流出物；④对上述流出物进行浓缩，得到量子点生物探针。本发明具有很好的精确性和重复性，操作简单易行，而且得到的生物探针具有优异的光学性质，有利于促进量子点生物标记技术的发展和应



1、一种提高量子点生物探针环境温度稳定性的方法，其步骤包括：

(1)将含 Cd 或 Zn 的水溶性量子点采用异丙醇洗涤，去除水溶性量子点溶液中多余的表面稳定剂，然后用惰性气体吹干；

(2)向水溶性量子点中加入变性蛋白质，使水溶性量子点与变性蛋白质的摩尔比在 1：1 与 1：4 之间，然后 60-80°C 水浴中加热 10-30 分钟，得到连接产物；

(3)用葡聚糖凝胶层析法对上述连接产物进行分离纯化，收集第一个吸收峰的流出物；

(4)对上述流出物进行浓缩，得到量子点生物探针。

2、根据权利要求 1 所述的提高量子点生物探针环境温度稳定性的方法，其特征在于：步骤（2）中，通过向 0.01-0.1 毫摩尔/升的蛋白质水溶液中加入硼氢化钠，使得硼氢化钠的浓度为 1-10 毫摩尔/升，静置 0.5-2 小时后，放在 60-80°C 的水浴中加热 10-30 分钟，得到变性蛋白质。

一种提高量子点生物探针环境温度稳定性的方法

技术领域

本发明属于分析化学、纳米生物技术和生物分析技术领域,具体涉及一种提高量子点生物探针环境温度稳定性的方法,其在细胞标记、肿瘤成像等方面都有广阔的应用前景。

背景技术

量子点,因其具有荧光强度高、荧光光发射峰窄而对称、无拖尾、光稳定性好、耐光漂白等优点,使得其成为有望弥补传统的荧光染料不足的新型荧光物质。目前,它已被广泛地应用于生物学领域并取得了许多重要成果。在金属离子的检测,蛋白质的相互作用,细胞的标记与成像及组织与动物活体成像方面有广阔的应用前景。

尽管量子点生物探针已被广泛用于生命科学的各个方面,但是在生物学研究的温度范围内对于量子点生物探针的温度敏感性研究却极少。Liu 等研究了巯基乙酸包被的 CdSe/ZnS 水溶性量子点的温度敏感性,环境温度的改变会对生物探针的荧光强度和波长产生较大影响,且量子点温度稳定性较差,反复升温降温其荧光不可恢复,这将给荧光的检测带来较大误差(Liu T.C., et al., *Analytica Chimica Acta*, 2006, 559, 120-123.)。因此研究一种操作简单,产率高并且能够提高量子点生物探针环境温度稳定性的方法将成为生物标记领域的关键技术。

发明内容

本发明的目的在于提供一种提高量子点生物探针环境温度稳定性的方法，该方法具有较高的精确性和可重复性，并且操作简单易行。

本发明提供的提高量子点生物探针环境温度稳定性的方法，其步骤为：

(1)将含 Cd 或 Zn 的水溶性量子点用异丙醇洗涤，去除水溶性量子点溶液中多余的表面稳定剂，然后用惰性气体吹干；

(2)向水溶性量子点中加入变性蛋白质，使水溶性量子点与变性蛋白质的摩尔比在 1: 1 与 1: 4 之间，然后 60-80°C 水浴中加热 10-30 分钟，得到连接产物；

(3)用葡聚糖凝胶层析法对上述连接产物进行分离纯化，收集第一个吸收峰的流出物；

(4)对上述流出物进行浓缩，得到量子点生物探针。

所使用的变性蛋白质可以按照下述方法获取：向 0.01-0.1 毫摩尔/升的蛋白质水溶液中加入硼氢化钠，使得硼氢化钠的浓度为 1-10 毫摩尔/升，静置 0.5-2 小时后，放在 60-80°C 的水浴中加热 10-30 分钟。

本发明实现了一种提高量子点生物探针环境温度稳定性的方法，先制备水溶性的量子点，再通过竞争取代方法用变性蛋白取代量子点表面的巯基小分子，使变性蛋白与量子点连接，得到量子点生物探针的环境温度稳定性大幅提高，可以直接应用于金属离子的检测和细胞成像。同时，量子点表面还提供了氨基、羧基等活性基团，可以与生物分子进一步连接。本发明在提高量子点的温度稳定性的同时，其量子产率也有较大的提高，同时为生物识别分子在其上的固定也提供了更多的选择。这种量子点生物探针在生物标记中有着较大的应用价值。

附图说明

图1为CdTe量子点的荧光光谱随温度变化的曲线；

图2为变性蛋白修饰的CdTe量子点生物探针的荧光光谱随温度变化的曲线；

图3A为反复升温降温对量子点荧光强度的影响，图3B为反复升温降温对量子点荧光发射波长的影响。

具体实施方式

本发明方法是通过将蛋白中的二硫键用化学变性的方法转化为巯基，通过巯基与 Cd、Zn 之间的强烈作用结合来实现的。本发明所适用的量子点为含 Cd 或 Zn 的水溶性量子点，如 CdS、CdTe、CdSe、CdSe/ZnS、CdTe/CdS 中的任一种，所使用的蛋白质也可以采用任意一种，如牛血清白蛋白、卵清蛋白、转铁蛋白、免疫球蛋白等。下面结合实例对本发明做进一步的阐述，而不是要对本发明进行限制。

实施例 1

(1) 向 0.05 毫摩尔/升的牛血清白蛋白水溶液中加入硼氢化钠，使得硼氢化钠的浓度为 2 毫摩尔/升，静置 1 小时后，放在 70°C 的水浴中加热 20 分钟，得到变性牛血清白蛋白。

(2) 取 200 毫升的巯基乙酸包被的 CdTe 量子点用异丙醇反复洗涤，去除水溶性量子点溶液中多余的表面稳定剂，然后用惰性气体吹干；

(3) 加入 100 微升变性牛血清白蛋白，在 70°C 水浴中加热 15 分钟。

(4) 用葡聚糖凝胶层析法对上述连接产物进行分离纯化，收集第一个吸收峰的流出物，检测波长为 280 纳米。选用 G100 葡聚糖凝胶，缓冲液为 0.01 摩尔/升磷酸盐缓冲液，流速为 300 微升/分钟。

(5) 对上述流出物进行浓缩，即得到量子点生物探针。

实施例 2

(1) 向 0.1 毫摩尔/升的卵清蛋白水溶液中加入硼氢化钠, 使得硼氢化钠的浓度为 5 毫摩尔/升, 静置 0.5 小时后, 放在 75°C 的水浴中加热 30 分钟, 得到变性卵清蛋白。

(2) 取 200 毫升的巯基丙酸包被的 CdTe 量子点用异丙醇反复洗涤, 去除水溶性量子点溶液中多余的表面稳定剂, 然后用惰性气体吹干;

(3) 加入 100 微升变性卵清蛋白, 在 70°C 水浴中加热 15 分钟。

(4) 用葡聚糖凝胶层析法对上述连接产物进行分离纯化, 收集第一个吸收峰的流出物, 检测波长为 280 纳米。

(5) 对上述流出物进行浓缩, 即得到量子点生物探针。

实施例 3

(1) 向 0.08 毫摩尔/升的转铁蛋白水溶液中加入硼氢化钠, 使得硼氢化钠的浓度为 2 毫摩尔/升, 静置 1 小时后, 放在 70°C 的水浴中加热 20 分钟, 得到变性转铁蛋白。

(2) 取 200 毫升的谷胱甘肽包被的 CdTe 量子点用异丙醇反复洗涤, 去除水溶性量子点溶液中多余的表面稳定剂, 然后用惰性气体吹干;

(3) 加入 100 微升变性转铁蛋白, 在 65°C 水浴中加热 20 分钟。

(4) 用葡聚糖凝胶层析法对上述连接产物进行分离纯化, 收集第一个吸收峰的流出物, 检测波长为 280 纳米。

(5) 对上述流出物进行浓缩, 即得到量子点生物探针。

实施例 4

(1) 向 0.04 毫摩尔/升的免疫球蛋白水溶液中加入硼氢化钠, 使得硼氢化钠的浓度为 8 毫摩尔/升, 静置 1.5 小时后, 放在 70°C 的水浴中加热 25 分钟, 得到变性免疫球蛋白。

(2) 取 200 毫升的巯基丁二酸包被的 CdTe 量子点用异丙醇反复洗涤,

去除水溶性量子点溶液中多余的表面稳定剂，然后用惰性气体吹干；

(3) 加入 100 微升变性免疫球蛋白，在 70°C 水浴中加热 30 分钟。

(4) 用葡聚糖凝胶层析法对上述连接产物进行分离纯化，收集第一个吸收峰的流出物，检测波长为 280 纳米。

(5) 对上述流出物进行浓缩，即得到量子点生物探针。

根据本发明所述方法，可以制备变性蛋白包裹的其他类型量子点。

以上所述为本发明的较佳实施例而已，但本发明不应该局限于该实施例所公开的内容。所以凡是不脱离本发明所公开的精神下完成的等效或修改，都落入本发明保护的范围。

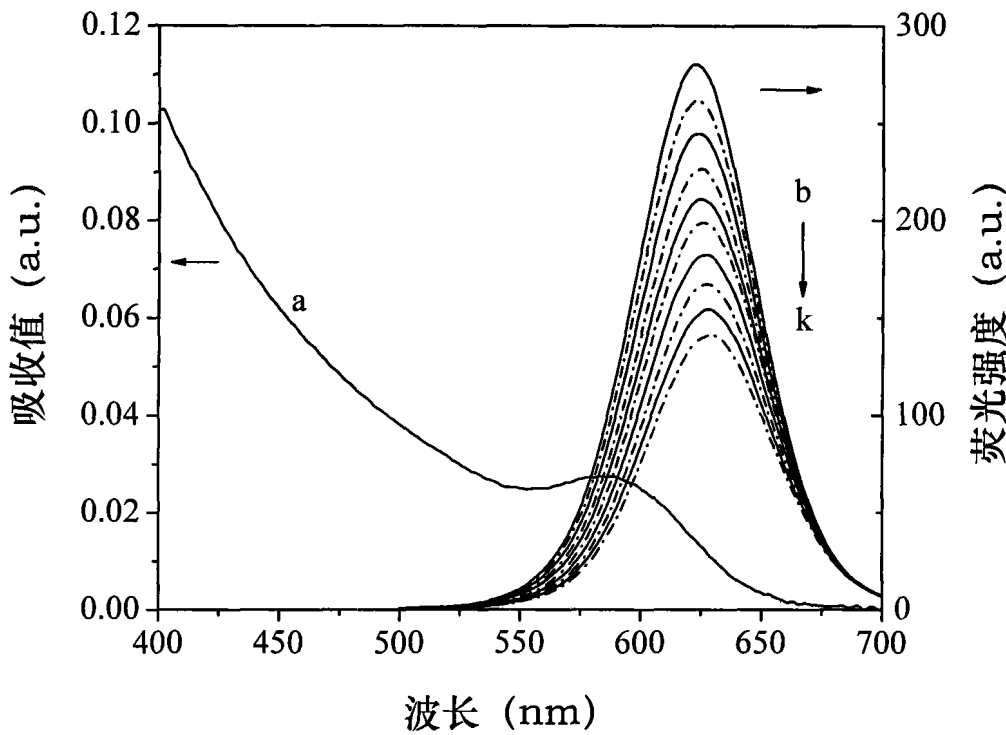


图 1

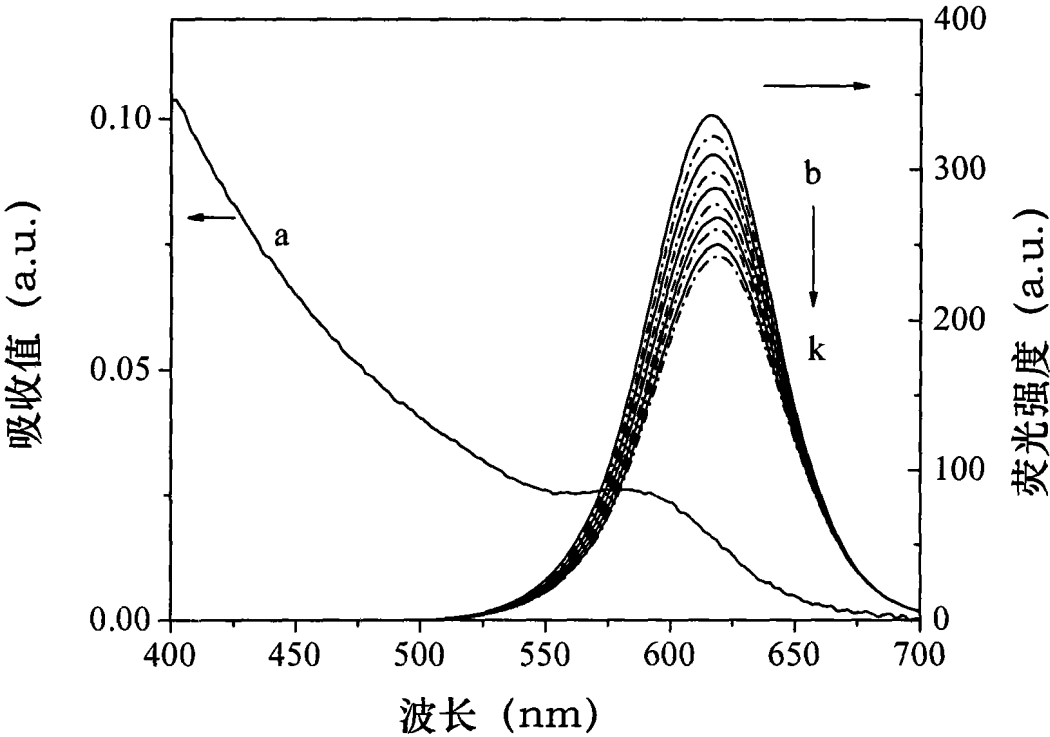


图 2

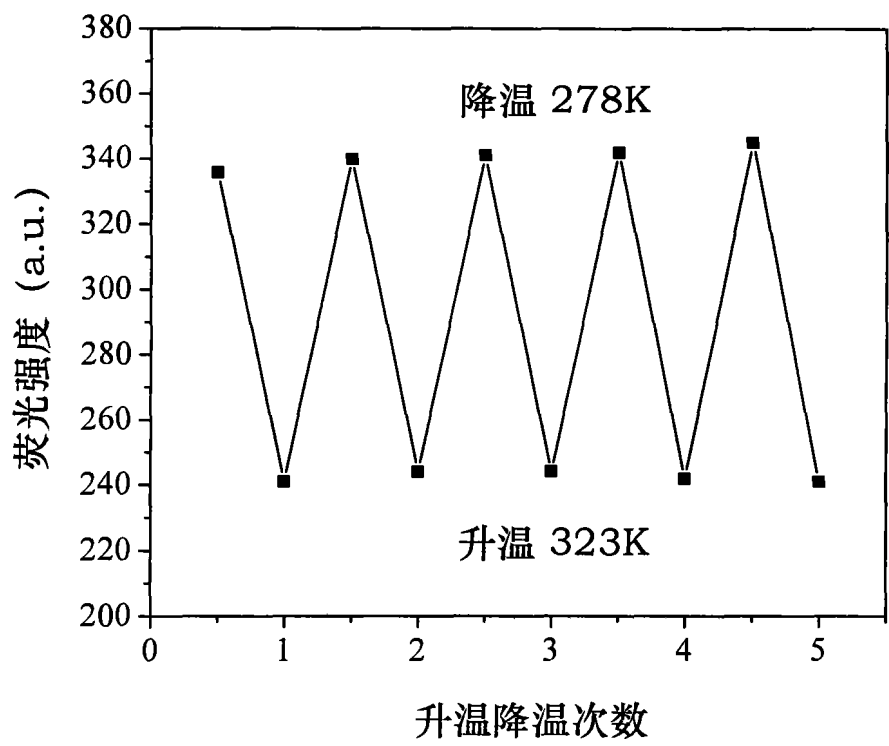


图 3A

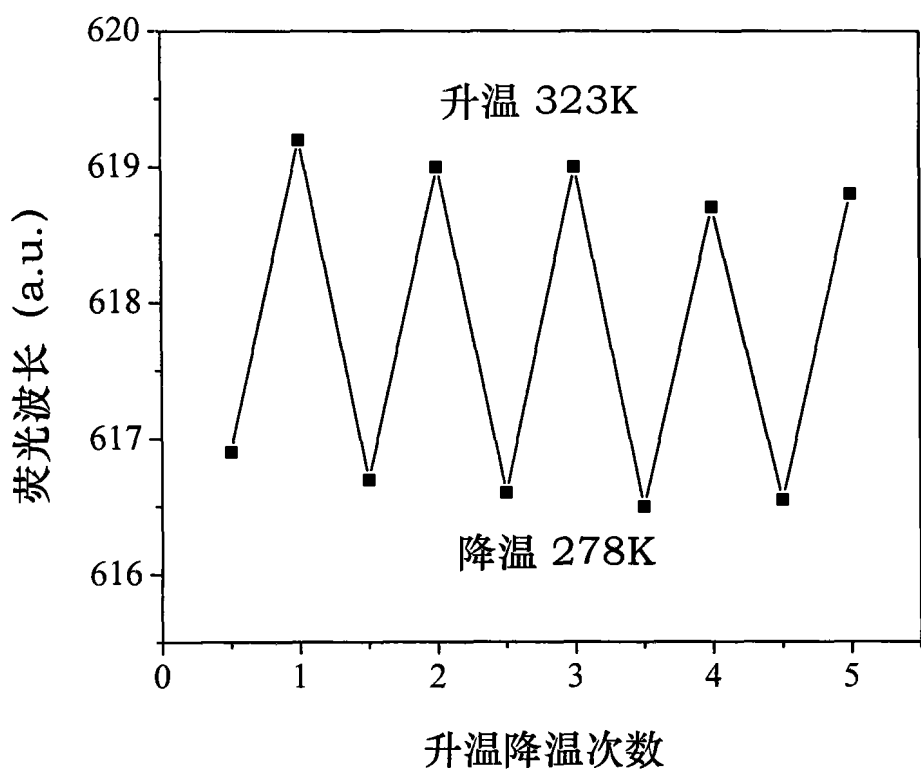


图 3B

专利名称(译)	一种提高量子点生物探针环境温度稳定性的方法		
公开(公告)号	CN101393206A	公开(公告)日	2009-03-25
申请号	CN200810197230.6	申请日	2008-10-10
[标]申请(专利权)人(译)	华中科技大学		
申请(专利权)人(译)	华中科技大学		
当前申请(专利权)人(译)	华中科技大学		
[标]发明人	赵元弟 王建浩 王海桥		
发明人	赵元弟 王建浩 王海桥		
IPC分类号	G01N33/52 G01N21/64 A61B5/00		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种提高量子点生物探针环境温度稳定性的方法，步骤为①将含Cd或Zn的水溶性量子点采用异丙醇洗涤，去除水溶性量子点溶液中多余的表面稳定剂，然后用惰性气体吹干；②向水溶性量子点中加入变性蛋白质，使水溶性量子点与变性蛋白质的摩尔比在1:1与1:4之间，然后60 - 80°C水浴中加热10 - 30分钟，得到连接产物；③用葡聚糖凝胶层析法对上述连接产物进行分离纯化，收集第一个吸收峰的流出物；④对上述流出物进行浓缩，得到量子点生物探针。本发明具有很好的精确性和重复性，操作简单易行，而且得到的生物探针具有优异的光学性质，有利于促进量子点生物标记技术的发展和应

