



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108333345 A

(43)申请公布日 2018.07.27

(21)申请号 201810109570.2

(22)申请日 2018.02.05

(71)申请人 扬州大学

地址 225009 江苏省扬州市大学南路88号

(72)发明人 杨占军 钟艺红 吴昕玥 胡锐宣
刘珊

(74)专利代理机构 扬州市锦江专利事务所
32106

代理人 江平

(51) Int. Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

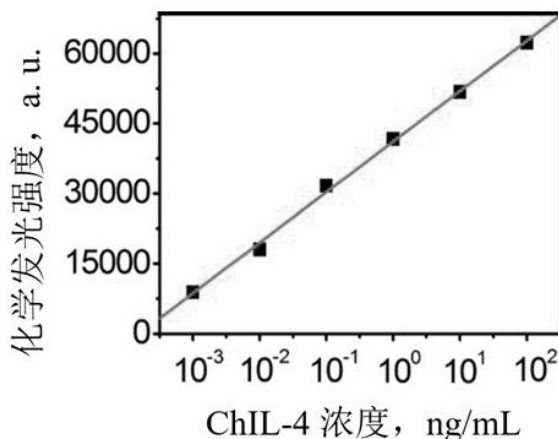
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

双模拟酶信号放大的多鸡细胞因子化学发光免疫分析方法

(57)摘要

双模拟酶信号放大的多鸡细胞因子化学发光免疫分析方法,涉及免疫分析、化学发光分析、多组分免疫分析及禽类细胞因子检测等技术领域,本发明通过将DNAzyme修饰在羧基功能化的CuSNPs,实现了化学发光信号的增强,提高了免疫分析的灵敏度。本发明的基于CuSNPs@DNAzyme双模拟酶信号放大策略的化学发光免疫阵列传感器,实现了高通量,高灵敏,宽线性范围,原位并同时检测多种鸡细胞因子。该新颖的化学发光免疫阵列传感器能弥补传统的化学发光免疫传感器的缺点,为多组分免疫分析的发展和禽类疾病的临床诊断提供了很好的依据。



1. 双模拟酶信号放大的多鸡细胞因子化学发光免疫分析方法,其特征在于:通过将含多个G-四链体序列的信号DNA修饰在羧化CuSNPs上,与氯化血红素反应形成CuSNPs/hemin-G-四链体DNA酶后,再固定二级抗体Ab₂,取得CuSNPs@DNAzyme-Ab₂双模拟酶信号放大探针,将所述探针用于多组分鸡细胞因子的化学发光成像免疫分析检测。

2. 根据权利要求1所述的多组分鸡细胞因子化学发光免疫分析方法,其特征在于以下步骤:

1) 采用丝网印刷方法,通过模板在环氧基功能化载波片表面印刷由多个免疫微孔组成的免疫微孔阵列;将各种鸡细胞因子捕获抗体分别与壳聚糖溶液混合后滴入所述免疫微孔阵列的免疫微孔中,室温反应后,置于4℃环境中晾干;将牛血清蛋白封闭缓冲液滴入各免疫微孔中,在4℃下密封封闭,而后用磷酸盐缓冲溶液冲洗并在氮气氛围下吹干,得多组分鸡细胞因子化学发光免疫阵列传感器;

2) 将多种鸡细胞因子抗原样品滴入相对应的免疫阵列微孔中,室温下温育后,磷酸盐缓冲液冲洗并用氮气吹干后,滴入相应的CuSNPs@DNAzyme-Ab₂双模拟酶信号放大探针并于室温下温育,而后磷酸盐缓冲液冲洗并氮气吹干;

3) 在每个免疫微孔中加入化学发光底物,通过电感耦合CCD同时检测并多种鸡细胞因子的化学发光光斑及信号值。

3. 根据权利要求2所述的多组分鸡细胞因子化学发光免疫分析方法,其特征在于:所述步骤1)中,用于混合的多种鸡细胞因子捕获抗体和壳聚糖溶液的浓度分别为200 μg/mL和0.5~1.5 wt%,混合体积比为1:1。

4. 根据权利要求2所述的多组分鸡细胞因子化学发光免疫分析方法,其特征在于:所述步骤2)中,所述两步温育的时间均为25分钟。

5. 根据权利要求2所述的多组分鸡细胞因子化学发光免疫分析方法,其特征在于:所述步骤3)中,化学发光成像信号由Fluor. Chem. E化学发光成像仪捕捉并记录,以CCD照相机动态积分300s收集所产生的化学发光信号并显示成不同强度的光斑图。

6. 根据权利要求1或2或3或4或5所述的多组分鸡细胞因子化学发光免疫分析方法,其特征在于:将24μL、100μM包含多个G-四链体系列的信号DNA与1mL、5mg/mL羧化硫化铜纳米粒子混合后,再加入过量氯化血红素,经反应得到多层CuSNPs/hemin/G-四链体DNA酶,然后再加入20μL、100μg/mL多种鸡细胞因子二级抗体Ab₂,即制备取得多种CuSNPs@DNAzyme-Ab₂双模拟酶信号放大探针。

双模拟酶信号放大的多鸡细胞因子化学发光免疫分析方法

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫分析、化学发光分析、多组分免疫分析及禽类细胞因子检测等技术领域,具体涉及了一种基于CuSNPs@DNAzyme双模拟酶信号放大的多组分鸡细胞因子化学发光免疫阵列传感器的制备方法及其应用。

背景技术

[0002] 化学发光免疫分析是将化学发光分析和免疫反应相结合而建立的一种新的免疫分析技术,这种方法兼有发光分析的高灵敏度和抗原抗体反应的高度特异性。化学发光免疫分析是用化学发光的试剂标记抗原或抗体,标记后的抗原或抗体与待测物经过一系列的免疫反应和理化步骤,最后以发光强度形式测定待测物的含量。空间分辨模式是当前多组分免疫分析模式中研究最多、应用最广的分析模式。基于阵列法的空间分辨模式具有高分析通量和多检测对象,分析速度快,样品消耗少等优点,满足临床应用的实际需求。从理论上讲,只要集成化程度高,就可以在基质上构建大量阵列,以达到同时检测大量样品的目的,是多组分免疫分析的主流趋势。因此可发展一种基于阵列法的空间分辨模式用于快速检测多组分禽畜类细胞因子。

[0003] 细胞因子是免疫活性细胞或非免疫细胞经刺激而合成、分泌的具有多种生物活性,可参与病理反应的小分子可溶性蛋白质的统称。在体内广泛参与免疫调节、炎症反应、组织修复、刺激造血系统、刺激细胞的增生与凋亡等重要生理活动,并在抵御外来病原体侵袭及维持有机体内环境平衡中均起重要作用。已发现干扰素(IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ)、白细胞介素(IL-1、IL-2、IL-3等)和肿瘤坏死因子(TNF- α 、TNF- β)等在其中发挥着非常关键的作用。研究表明,通过检测多种家禽细胞因子的水平,可以很好地阐明机体免疫系统的免疫状况及其与疾病之间的相互关系,从而为临床评价提供重要的理论依据。

[0004] 近年来,大量具有特殊氧化还原催化性能的纳米材料收到人们的普遍关注并被作为天然酶的替代物应用于催化化学发光体系中。其中硫化铜纳米材料具有易于合成,较大的比表面积,易功能化,具有似过氧化物酶活性且催化性能好。基于G-四链体和氯化血红素(hemin)结合形成DNAzyme,不仅具有过氧化物酶的活性,且稳定性高,且DNA链的碱基与hemin间的沟槽作用,更是大大增强了hemin过氧化物模拟酶催化活性。与单独的hemin相比,DNAzyme的催化活性提高了大约250倍。

发明内容

[0005] 为了实现超灵敏、高通量检测多组分鸡细胞因子,本发明提出一种基于CuSNPs@DNAzyme双模拟酶信号放大的多组分鸡细胞因子化学发光免疫分析方法。

[0006] 本发明技术方案是:通过将含多个G-四链体序列的信号DNA修饰在羧化CuSNPs上,与氯化血红素(hemin)反应形成CuSNPs/hemin-G-四链体DNA酶后,再固定多种鸡细胞因子二级抗体(Ab_2),制得多种CuSNPs@DNAzyme- Ab_2 双模拟酶信号放大探针,将所述探针用于多组分鸡细胞因子的化学发光成像免疫分析检测。

[0007] 本发明通过将DNAzyme修饰在羧基功能化的CuSNPs,实现了化学发光信号的增强,提高了免疫分析的灵敏度。本发明的基于CuSNPs@DNAzyme双模拟酶信号放大策略的化学发光免疫阵列传感器,实现了高通量,高灵敏,宽线性范围,原位并同时检测多种鸡细胞因子。该新颖的化学发光免疫阵列传感器能弥补传统的化学发光免疫传感器的缺点,为多组分免疫分析的发展和禽类疾病的临床诊断提供了很好的依据。

[0008] 本发明具体步骤如下:

1) 采用丝网印刷方法,通过模板在环氧基功能化载波片表面印刷由多个免疫微孔组成的免疫微孔阵列;将各种鸡细胞因子捕获抗体分别与壳聚糖溶液混合后滴入所述免疫微孔阵列的免疫微孔中,室温反应后,置于4℃环境中晾干;将牛血清蛋白封闭缓冲液滴入各免疫微孔中,在4℃下密封封闭,而后用磷酸盐缓冲溶液冲洗并在氮气氛围下吹干,得多组分鸡细胞因子化学发光免疫阵列传感器;

2) 将多种鸡细胞因子抗原样品滴入相对应的免疫阵列微孔中,室温下温育后,磷酸盐缓冲液冲洗并用氮气吹干后,滴入相应的CuSNPs@DNAzyme-Ab₂双模拟酶信号放大探针并于室温下温育,而后磷酸盐缓冲液冲洗并氮气吹干;

3) 在每个免疫微孔中加入化学发光底物,通过电感耦合CCD同时检测并多种鸡细胞因子的化学发光光斑及信号值。

[0009] 本发明首先利用丝网印刷技术并借助模板在环氧基功能化的载玻片表面制作免疫阵列。将壳聚糖溶液等体积分散的多种鸡细胞因子捕获抗体,通过载玻片上的环氧基将带有氨基的不同鸡细胞因子的捕获抗体分别固定在不同行制得多组分免疫阵列传感器。当在多组分免疫传感器分别温育相对应的抗原与信号探针,形成捕获抗体-抗原-酶标抗体的夹心免疫复合物。滴入化学发光底物后,信号探针将会触发化学发光底物发光并结合电感耦合CCD,利用化学发光信号增强与抗原浓度呈线性关系以实现同时检测多组分鸡细胞因子。

[0010] 本发明所制备的是CuSNPs@DNAzyme-Ab₂双模拟酶,硫化铜纳米材料具有易于合成,较大的比表面积,易功能化,具有似过氧化物酶活性且催化性能好。基于G-四链体和氯化血红素(hemin)结合形成DNAzyme,与单独的hemin相比,DNAzyme的催化活性提高了大约250倍。而基于空间模式的多组分化学发光免疫分析检测多种鸡细胞因子联合成细胞因子网络提高了禽类疾病诊断的准确性。建立了一种高通量,超灵敏,快速的同时检测多种鸡细胞因子的化学发光免疫阵列传感器,可带来可观的市场经济效益。

[0011] 进一步地,本发明在制备多组分鸡细胞因子化学发光免疫阵列传感器时,用于混合的多种鸡细胞因子捕获抗体和壳聚糖溶液的浓度分别为200 μg/mL和0.5~1.5 wt%,混合体积比为1:1。其中采用该混合比,有利于壳聚糖溶液对捕获抗体的均匀分散。

[0012] 步骤2)中,所述两步温育的时间均为25分钟。随着温育时间的增加,化学发光强度相应的增强,并均可在25分钟趋于稳定。说明了免疫传感器捕获抗原形成免疫复合物以及抗体-抗原复合物捕获DNAzyme@CuSNPs-Ab₂探针形成夹心免疫复合物,均可在25分钟达到饱和,因此实验中两步温育时间均选择为25分钟。

[0013] 步骤3)中,化学发光成像信号由Fluor. Chem. E化学发光成像仪捕捉并记录,以CCD照相机动态积分300s收集所产生的化学发光信号并显示成不同强度的光斑图。

[0014] 还采用由配套的软件Alpha View SA识别分析所得到的化学发光成像图。

[0015] 另外,本发明具体的双模拟酶信号放大探针制方法是:

将巯基乙酸加入到硝酸铜溶液中,调节pH至9,在氮气氛围中沸腾30 min后加入硫化钠溶液并保持硫化钠与硝酸铜的浓度比为2:5。在氮气氛围下沸腾过夜即可制得深绿色羧基化硫化铜纳米材料。然后,取1mL(0.5 mg/mL)离心后加入100 μ l EDC(20 mg/ml)/NHS(10 mg/ml)活化CuSNPs表面的羧基,再分散至1 ml。

[0016] 将24 μ L 100 μ M信号DNA快速加入1.0 mL CuSNPs溶液,置于室温下搅拌16小时。将含有2.0 M氯化钠的磷酸盐缓冲溶液(0.01 M,pH=7.4)逐步加入混合物使氯化钠的最终浓度为0.1 M。再加入0.1 mL氯化钾浓度的PBS(0.01 M) 溶液,搅拌 2 h 后冷冻离心(10000rpm,30 min,4 $^{\circ}$ C)除去未组装的 DNA,沉淀重新分散在 0.1 M KCl 的磷酸盐缓冲溶液中(0.01 M)。在重新分散的溶液中加入过量的氯化血红素于4 $^{\circ}$ C黑暗处反应1.5 h,形成稳定的DNAzyme,离心除去过量的hemin离心除去(10000 rpm,30 min,4 $^{\circ}$ C),重新分散后加入20 μ L 100 μ g/mL 二级抗体,温和搅拌2 h后冷冻离心除去过量的抗体后分散于0.1 M KCl 1.0 mL PBS 溶液中(0.01 M pH 7.4),使用前保存于4 $^{\circ}$ C暗处。

[0017] 总之本发明具有如下优点:

(1)本发明利用丝网印刷技术并借助4*12格式的模板在可抛式载玻片表面制成高通量免疫微孔阵列以实现基于阵列法的空间分辨模式多组分免疫分析。基于阵列法的空间分辨模式具有高分析通量和多检测对象,分析速度快,样品消耗少等优点,满足临床应用的实际需求。从理论上讲,只要集成化程度高,就可以在基质上构建大量阵列,以达到同时检测大量样品的目的,实现高通量检测。通过同时检测多种禽类细胞因子能够大大提高检测的准确性。

[0018] (2)本发明所制备的是CuSNPs@DNAzyme双模拟酶信号放大策略化学发光免疫分析法常与信号放大技术结合,用来提高免疫分析的灵敏度。但对天然酶的选择和负载的量有限制,而基于G-四链体和氯化血红素(hemin)结合形成DNAzyme,不仅具有过氧化物酶的活性,且稳定性高。且DNA链的碱基与hemin间的沟槽作用,更是大大增强了hemin过氧化物模拟酶催化活性。与单独的hemin相比,DNAzyme的催化活性提高了大约250倍。本研究通过将DNAzyme修饰在羧基功能化的CuSNPs,实现了化学发光信号的增强,提高了免疫分析的灵敏度。

附图说明

[0019] 图1为基于CuSNPs@DNAzyme双模拟酶信号放大的多组分鸡细胞因子免疫阵列传感器的制备方法及其化学发光成像免疫分析示意图。

[0020] 图2为本发明ChIL-4、ChIFN- γ 的化学发光成像信号图。

[0021] 图3为ChIL-4标准样品检测曲线图。

[0022] 图4为ChIFN- γ 标准样品检测曲线图。

具体实施方式

[0023] 为了阐明本发明的技术方案及技术目的,下面结合具体实施方式及附图对本发明做进一步说明。

[0024] 一、构建基于CuSNPs@DNAzyme双模拟酶信号放大的多组分鸡细胞因子化学发光免

疫阵列传感器:

机理:利用丝网印刷技术借助模板在环氧基功能化载玻片表面印刷上4行12列的免疫微孔阵列;壳聚糖等体积均匀分散的多种鸡细胞因子捕获抗体,通过载玻片上的环氧基将带有氨基的不同鸡细胞因子的捕获抗体分别固定在不同行;用牛血清蛋白封闭液封闭非特异性位点;将相对应的鸡细胞因子抗原样品滴入微孔以形成鸡细胞因子捕获抗体-抗原免疫复合物;随之滴入相应的CuSNPs@DNAzyme-Ab₂双模拟酶信号放大探针,利用抗原抗体特异性识别形成鸡细胞因子捕获抗体-抗原-酶标抗体的夹心免疫复合物;通入化学发光底物后,传感器上捕获的CuSNPs@DNAzyme双模拟酶可催化鲁米诺化学发光体系发光,结合电感耦合CCD检测多种鸡细胞因子的化学发光信号值,利用化学发光信号的增强和抗原浓度呈直接线性关系以实现对多种鸡细胞因子的检测。

[0025] 构建步骤:

1、用食人鱼酸溶液(H₂SO₄:H₂O₂=7:3, v/v)浸泡载玻片活化8~12小时,使载玻片表面暴露有羟基,用蒸馏水冲洗并晾干。

[0026] 2、用1% GPTMS/甲苯溶液浸泡经步骤1处理过的处理载玻片,过夜后用甲苯和乙醇先后进行冲洗,由此去除载玻片表面吸附的残余硅烷试剂,自然晾干或是氮气氛围下吹干,即制备环氧基功能化载玻片。

[0027] 3、在经步骤2处理好的环氧基功能化载玻片表面,利用丝网印刷技术即孔板印刷并借助模板,通过一定压力将油漆渗透过孔板转移至环氧基功能化载玻片表面,形成4×12格式免疫微孔阵列,各微孔直径为2mm,微孔外为疏水无光活性膜,形成的孔可以承载免疫分析过程所需抗体、抗原、酶标抗体及其他试剂。

[0028] 4、取200 μg/mL的ChIL-4, ChIFN-γ 捕获抗体分别与1 wt%壳聚糖溶液等体积混合并搅拌分散均匀,将ChIL-4捕获抗体与壳聚糖的混合液滴入阵列任意两行,ChIFN-γ 捕获抗体与壳聚糖的混合液滴入剩余两行,每个微孔滴入量为5μL。放置于室温下反应半小时后放置于4℃环境下晾干。

[0029] 5、将5 μL、牛血清蛋白的浓度为0.01 g/mL的牛血清蛋白封闭缓冲液滴入48个微孔中,4℃下保鲜密封温育12小时后,用磷酸盐缓冲溶液冲洗三次并在氮气氛围下吹干后,即制得该多组分鸡细胞因子免疫阵列传感器。

[0030] 通过以上方法,可同时检测ChIL-4和ChIFN-γ 两种鸡细胞因子,免疫微孔阵列中包含了4行12列共48个检测微孔位点,每个微孔直径2mm。将ChIL-4和ChIFN-γ 的捕获抗体分别固定于不同行,每一列可检测一种鸡细胞因子的两种不同浓度的抗原样品,因此一个载玻片阵列中的两行即可同时检测一种鸡细胞因子的24个抗原样品。

[0031] 二、制备CuSNPs@DNAzyme-ChIL-4 Ab₂和CuSNPs@DNAzyme-ChIFN-γ Ab₂双模拟酶信号放大探针:

将巯基乙酸加入到硝酸铜溶液中,调节pH至9,在氮气氛围中沸腾30 min后加入硫化钠溶液并保持硫化钠与硝酸铜的浓度比为2:5。在氮气氛围下沸腾过夜即可制得深绿色羧基化硫化铜纳米材料。然后,取1mL(0.5 mg/mL)离心后加入100 μl EDC(20 mg/ml)/NHS(10 mg/ml)活化CuSNPs表面的羧基,再分散至1 ml。

[0032] 将24 μL 100 μM信号DNA快速加入1.0 mL CuSNPs溶液,置于室温下搅拌16小时。将含有2.0 M氯化钠的磷酸盐缓冲溶液(0.01 M, pH=7.4)逐步加入混合物使氯化钠的最终

浓度为0.1 M。再加入0.1 mL氯化钾浓度的PBS(0.01 M) 溶液,搅拌 2 h 后冷冻离心(10000rpm,30 min,4 °C)除去未组装的 DNA,沉淀重新分散在 0.1 M KCl 的磷酸盐缓冲溶液中(0.01 M)。在重新分散的溶液中加入过量的氯化血红素于4 °C黑暗处反应1.5 h,形成稳定的DNAzyme,离心除去过量的hemin离心除去(10000 rpm,30 min,4 °C),重新分散后分别加入20 μL 100 μg/mL的ChIL-4 Ab₂、ChIFN-γ Ab₂,温和搅拌2 h后冷冻离心除去过量的抗体后分散于0.1 M KCl 1.0 mL PBS 溶液中(0.01 M pH 7.4),即制得CuSNPs@DNAzyme-ChIL-4 Ab₂和CuSNPs@DNAzyme-ChIFN-γ Ab₂,使用前保存于4 °C暗处。

[0033] 三、化学发光成像免疫分析:

1、制作线性关系的标准曲线:

(1)将5 μL ChIL-4和ChIFN-γ 不同浓度的抗原标准样品加入到传感器相对应两行的微孔中,在线温育25分钟后,磷酸盐缓冲液三次,再置于氮气氛围下吹干。

[0034] (2)将5 μL的CuSNPs@DNAzyme-ChIL-4 Ab₂和CuSNPs@DNAzyme-ChIFN-γ Ab₂分别滴入(1)中修饰过抗原的相对应的传感器中,温育25分钟,磷酸盐缓冲液冲洗后氮气吹干。

[0035] (3)将5 μL化学发光底物溶液(由5 mM鲁米诺、0.6 mM对碘苯酚及4 mM过氧化氢组成)迅速滴入48个反应微孔中。在每个微孔中心去固定直径的圆形,利用平均像素强度来计算每个点的化学发光强度CCD照相机动态积分300 s收集所产生的化学发光信号并显示成不同强度的光斑图。由配套的软件Alpha View SA识别所得到的化学发光成像图的发光点。

[0036] 如图2,3,4所示,所测定一系列不同浓度的ChIL-4、ChIFN-γ 抗原标准样品得到ChIL-4、ChIFN-γ 抗原标准样品的化学发光成像图以及ChIL-4、ChIFN-γ 测定的工作曲线。样品在最佳的分析条件下,化学发光强度随着ChIL-4和ChIFN-γ 抗原浓度的增加而增加,并表现出与分析物浓度的对数值呈正相关性。

[0037] 线性回归方程分别为 $I_{CL}=10804.33-2084.20 C_{[ChIL-4]}$, $I_{CL}=10520.87-4850.08 C_{[ChIFN-\gamma]}$ 。

[0038] 从线性曲线可以看出,检测ChIL-4和ChIFN-γ 的线性范围为 10^{-3} - 10^2 ng/mL($R^2=0.9949$)和 10^{-3} - 10^2 ng/mL($R^2=0.9972$)。信噪比为3时,二者的检测限为0.041 pg/mL(ChIL-4)和0.036 pg/mL(ChIFN-γ)。本发明的多组分免疫策略为临床免疫诊断提供了一种可视、灵敏、可靠、快速、高通量的检测分析方法。

[0039] 2、对实际样品进行测定:

为考察这种基于CuSNPs@DNAzyme双模拟酶信号放大的多组分鸡细胞因子化学发光免疫阵列传感器的实际应用可靠程度,分别对临床血样中ChIL-4、ChIFN-γ 进行了加标回收实验。经过测定,对0.01 ng/mL、1 ng/mL、10 ng/mL 标准样品进行的回收实验。其中测得ChIL-4的回收率分别为109.00 %、100.10 %、95.95 %;ChIFN-γ 的回收率分别为92.0 %、96.82 %、101.47 %。对于浓度高于100 ng/mL的ChIL-4、ChIFN-γ 样品,可以在分析前适当稀释。实验结果如表1所示。

[0040] 表1 ChIL-4和ChIFN-γ 的加标回收实验(n= 5)

样品 编号	ChIL-4 加入量 (ng/mL)	ChIFN- γ 加入量 (ng/mL)	ChIL-4 回收量 (ng/mL)	ChIFN- γ 回收量 (ng/mL)	ChIL-4 回收率 (%)	ChIFN- γ 回收率 (%)
1	0.0100	0.0100	0.0109	0.0092	109.00	92.00
2	1.0000	1.0000	1.0011	0.9682	100.10	96.82
3	10.000	10.000	9.5952	10.147	95.95	101.47

由上表可见,本发明多组分鸡细胞因子化学发光免疫阵列传感器用于检测实际样品准确性高,表明该方法能实现自动快速实际样品的检测。

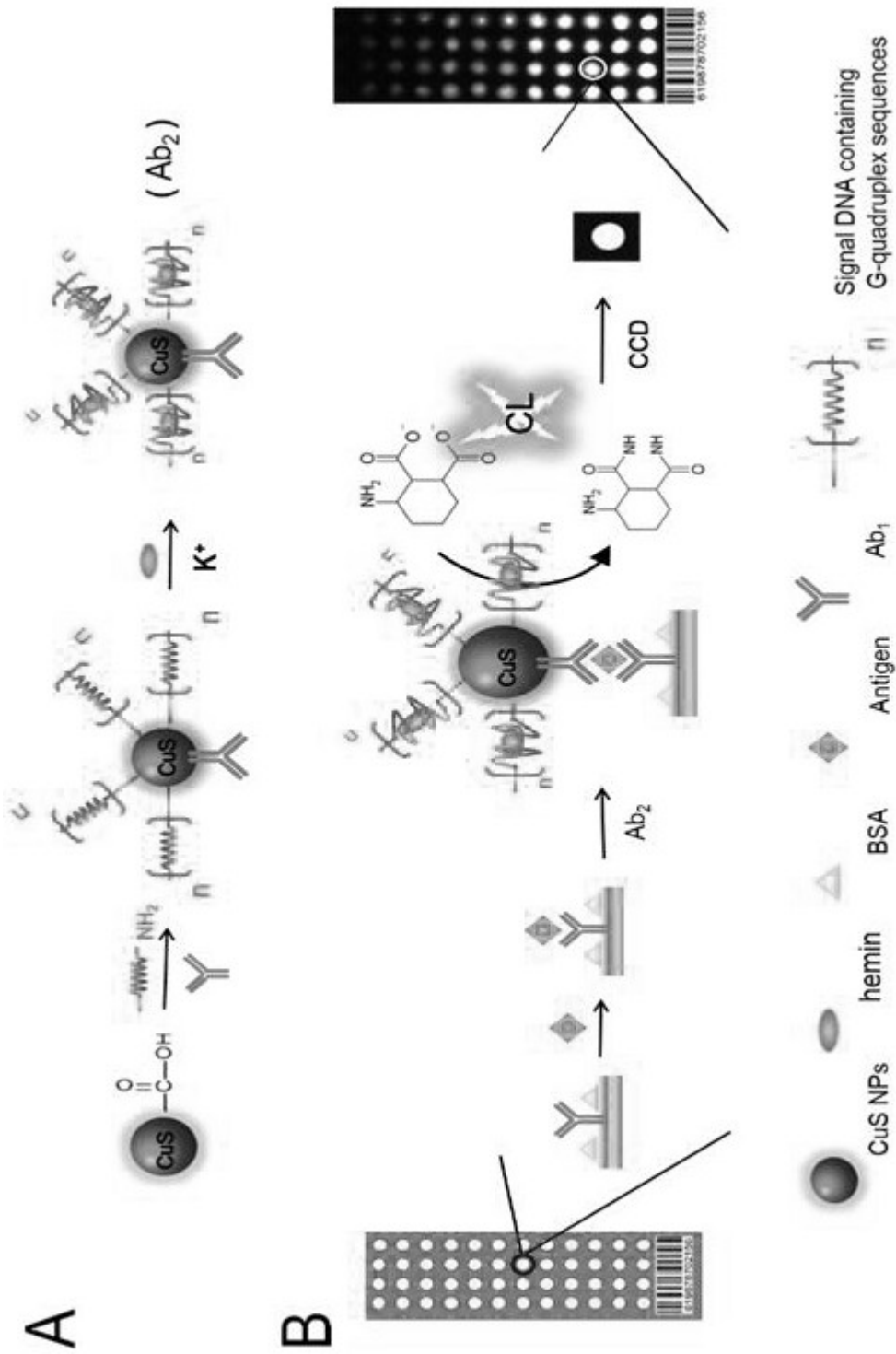


图1

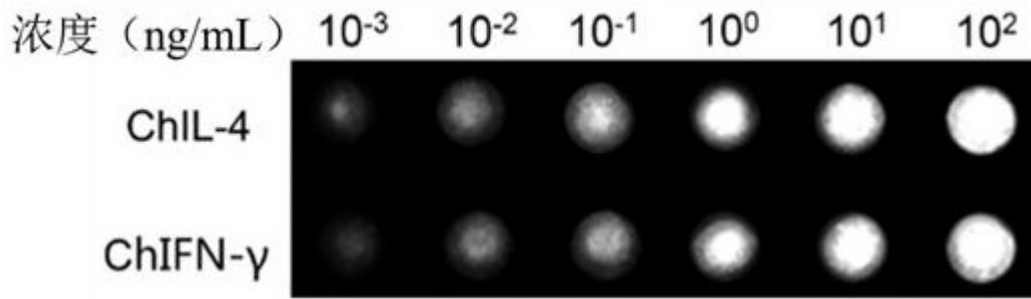


图2

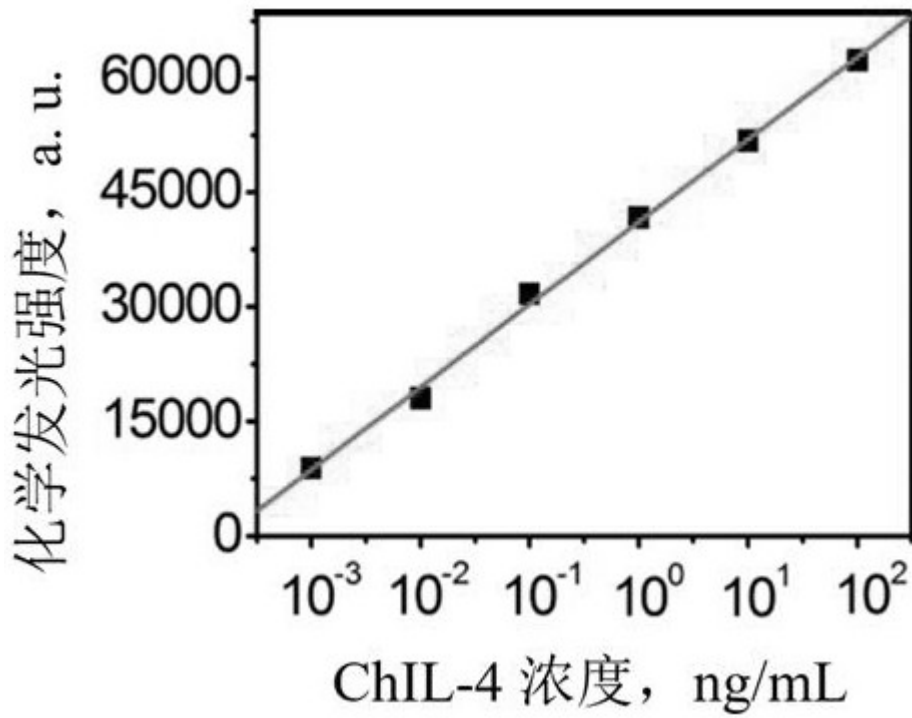


图3

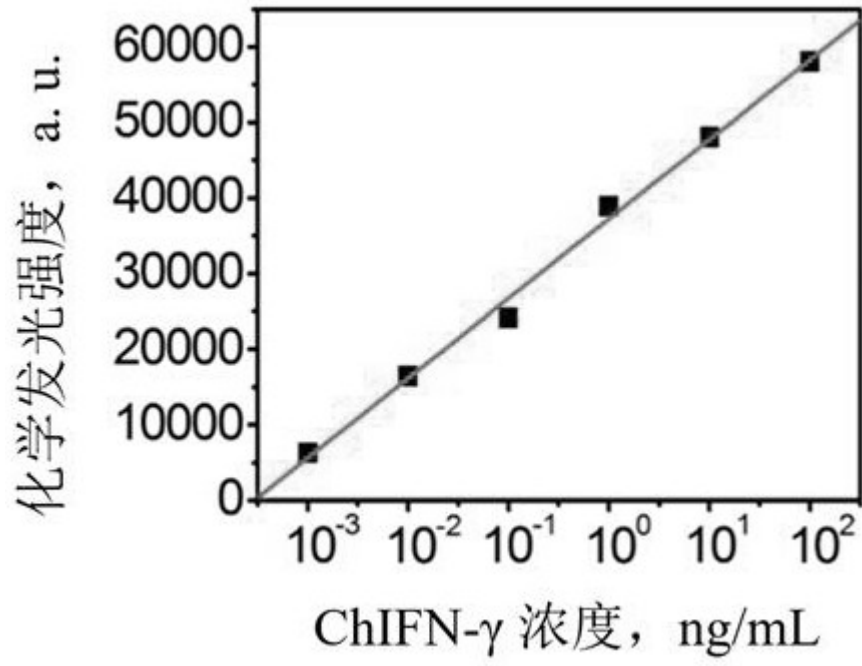


图4

专利名称(译)	双模拟酶信号放大的多鸡细胞因子化学发光免疫分析方法		
公开(公告)号	CN108333345A	公开(公告)日	2018-07-27
申请号	CN201810109570.2	申请日	2018-02-05
[标]申请(专利权)人(译)	扬州大学		
申请(专利权)人(译)	扬州大学		
当前申请(专利权)人(译)	扬州大学		
[标]发明人	杨占军 钟艺红 吴昕玥 胡锐宣 刘珊		
发明人	杨占军 钟艺红 吴昕玥 胡锐宣 刘珊		
IPC分类号	G01N33/535 G01N33/558		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/558		
代理人(译)	江平		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

双模拟酶信号放大的多鸡细胞因子化学发光免疫分析方法，涉及免疫分析、化学发光分析、多组分免疫分析及禽类细胞因子检测等技术领域，本发明通过将DNAzyme修饰在羧基功能化的CuSNPs，实现了化学发光信号的增强，提高了免疫分析的灵敏度。本发明的基于CuSNPs@DNAzyme双模拟酶信号放大策略的化学发光免疫阵列传感器，实现了高通量，高灵敏，宽线性范围，原位并同时检测多种鸡细胞因子。该新颖的化学发光免疫阵列传感器能弥补传统的化学发光免疫传感器的缺点，为多组分免疫分析的发展和禽类疾病的临床诊断提供了很好的依据。

