



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105158477 A

(43) 申请公布日 2015. 12. 16

(21) 申请号 201510329958. X

(22) 申请日 2015. 06. 15

(71) 申请人 中国科学院上海微系统与信息技术研究所

地址 200050 上海市长宁区长宁路 865 号

申请人 东南大学

(72) 发明人 贾春平 吴思敏 李宫 刘莉芬 邵晚蕾 景奉香 金庆辉 赵建龙

(74) 专利代理机构 上海智信专利代理有限公司 31002

代理人 潘振甦

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006. 01)

G01N 33/533(2006. 01)

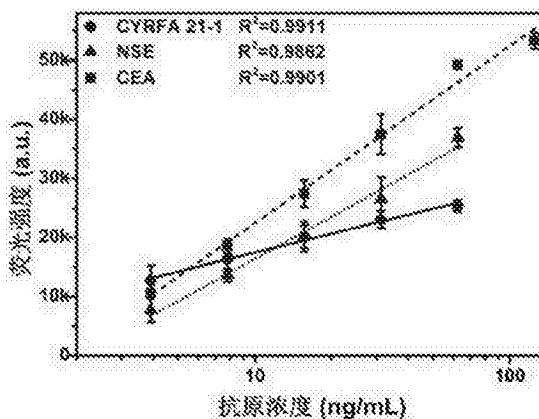
权利要求书3页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

一种量子点荧光探针及其应用

(57) 摘要

本发明涉及一种量子点荧光探针及其应用，其特征在于所述的量子点荧光探针利用双功能交联剂长链磺基琥珀酰亚胺 4-[N-甲基马来酸]-1-羧环己烷 Succinimidyl-4-[N-Maleimido methyl]cyclohexane-1-carboxy-[6-amidocaproate, SMCC 与氨基量子点表面的氨基基团发生交联反应，在量子点表面生成马来酰亚胺基，待标记抗体用还原剂二硫苏糖醇 Dithiothreitol, DTT 还原，将二硫键还原成巯基，巯基再与马来酰亚胺基团形成共价键从而将抗体标记到量子点上。本发明所述的量子点荧光探针用于①检测一种蛋白质癌胚抗原或②检测多种蛋白 CEA、神经烯醇化酶 NSE 和细胞角蛋白片段 19CYFRA21-1。前者检测极限为 38pg/ml, 后者检测极限为 0. 9ng/ml。



1. 一种量子点荧光探针,其特征在于利用双功能交联剂长链磺基琥珀酰亚胺 4-[N-甲基马来酸]-1-羧环己烷 Succinimidyl-4-[N-Maleimidomethyl]cyclohexane-1-carboxy-[6-amidocaproate, SMCC 与氨基量子点表面的氨基基团发生交联反应,在量子点表面生成马来酰亚胺基,待标记抗体用还原剂二硫苏糖醇 Dithiothreitol, DTT 还原,将二硫键还原成巯基,巯基再与马来酰亚胺基团形成共价键从而将抗体标记到量子点上,由此获得量子点荧光探针。

2. 按权利要求 1 所述的探针,其特征在于在生物分子检测时,以磁珠或磁性微球作为反应的固相支持物,使反应体系完全悬浮在液相中,通过免疫反应或分子杂交将溶液中将待测生物分子捕获,再用量子点荧光探针去识别磁珠上的待测分子,磁珠或磁性微球上由于结合了抗原抗体反应物而产生量子点探针的荧光,荧光的颜色及信号的强弱反应了待测生物分子的种类及数量,利用图像识别软件进行识别及定量。

3. 按权利要求 1 所述的探针,其特征在于所述的量子点直径为 5-8nm。

4. 按权利要求 2 所述的探针,其特征在于所述的量子点探针的颜色为绿色、黄色或红色;荧光信号强度随捕获到的抗原浓度的降低而逐渐降低。

5. 制备如权利要求 1 所述的探针的方法,其特征在于:

① 首先,取 10-50  $\mu\text{L}$  5-50mM SMCC 对 50-500  $\mu\text{L}$  的氨基量子点进行活化,25 $^{\circ}\text{C}$ , 30-60min;

② 随后采取脱盐柱的方法进行纯化;用 10-50mM DTT 对 100-500  $\mu\text{L}$  生物分子进行还原,25 $^{\circ}\text{C}$ , 30-60min;

③ 待脱盐柱去除未反应的抗体和其他杂质后,将其与纯化后的活化量子点于杂交仪中孵育,25 $^{\circ}\text{C}$ , 30-60min;加入 5-50  $\mu\text{L}$   $\beta$ -巯基乙醇终止反应,分离纯化后保存于 10mM PH 7.2 PBS 中,4 $^{\circ}\text{C}$  避光备用。

6. 权利要求 1-4 中任一项所述的探针用于检测,其特征在于:

① 检测一种蛋白质癌胚抗原或

② 检测多种蛋白 CEA、神经烯醇化酶 NSE 和细胞角蛋白片段 19CYFRA21-1。

7. 按权利要求 6 所述的检测,其特征在于检测一种蛋白质癌胚抗原,其方法的检测过程是:

(1) 量子点荧光探针的制备

首先,取 10-50  $\mu\text{L}$  5-50mM SMCC 对 50-500  $\mu\text{L}$  的氨基量子点 625 进行活化,25 $^{\circ}\text{C}$ , 30-60min;随后采取脱盐柱的方法进行纯化;用 10-50mM DTT 对 100-500  $\mu\text{L}$  CEA 检测抗体进行还原,25 $^{\circ}\text{C}$ , 30-60min;待脱盐柱去除未反应的抗体和其他杂质后,将其与纯化后的活化量子点于杂交仪中孵育,25 $^{\circ}\text{C}$ , 30-60min;加入 5-50  $\mu\text{L}$   $\beta$ -巯基乙醇终止反应,分离纯化后保存于 10mM PH 7.2 的 PBS 中,4 $^{\circ}\text{C}$  避光备用;

(2) 检测反应

每个反应中加 5000-10000 颗离体的 CEA 捕获抗体标记的磁珠捕获探针,5-50nm Qdot625 检测探针,借助样本含有 5-10% 小牛血清的 10mMPBS 稀释液补齐体积到 10-50 $\mu\text{l}$ /反应,随后加入 10-50 $\mu\text{l}$  的不同浓度的 CEA 标准品或者待测样本中;在 37 $^{\circ}\text{C}$  震荡孵育 30-60min;生化反应完成后,用磁力分离器分离磁性微球,再用洗涤液的清洗 1-3 次,到显微镜下面进行观察、CCD 拍照;

### (3) 图像及结果分析

Qdot625 在紫外光激发下发射红色荧光,将不同浓度的 CEA 检测结果用 CCD 拍照,对得到的三原色光模式图像转换成 HIS 模式,实现对多种颜色的定性,达到区分靶标物质的目的。同时,软件亦可实现将 RGB 图像转化成灰度值的转换,统计分析每一磁珠表面结合的量子点产生的荧光强度,实现对靶标物质 CEA 的定量检测。

8. 按权利要求 7 所述的检测,其特征在于:

①不同浓度的 CEA 标准品浓度分别为 2000、1000、500、250、125、62.5、31.2、15.6、7.8、3.9、1.9、0.9 和 0ng/mL;

②所述的洗涤液为 0.05%吐温-20/10mM PBS;

③CEA 浓度在 0.39-50ng/ml 范围内进行拟合,其方程为  $\log y = 0.5869 \log x + 3.57223$ ,显示出良好的线性关系;相关系数  $R^2 = 0.988$ ;

④所述的方法检测极限为 38pg/ml,这低于 CEA 的 5ng/ml 的临床阈值。

9. 按权利要求 6 所述的检测,其特征在于检测多种蛋白 CEA、NSE 及 CYFRA21-1 时的检测过程是:

#### (1) 量子点荧光探针的制备

首先,取 10-50  $\mu$ L 5-50mM SMCC 对 50-500  $\mu$ L 的氨基量子点 Qdot525、Qdot585、Qdot625 进行活化,25 $^{\circ}$ C,30-60min;随后采取脱盐柱的方法进行纯化;用 10-50mM DTT 对 100-500  $\mu$ L NSE、CEA、CYFRA21-1 检测抗体进行还原,25 $^{\circ}$ C,30-60min;待脱盐柱去除未反应的抗体和其他杂质后,将其与纯化后的活化量子点于杂交仪中孵育,25 $^{\circ}$ C,30-60min;加入 5-50  $\mu$ L  $\beta$ -巯基乙醇终止反应,分离纯化后保存于 10mM PH 为 7.2 的 PBS 中,4 $^{\circ}$ C 避光备用;

#### (2) 检测反应

每个反应中加 5000-10000 颗离体的 NSE、CEA、CYFRA21-1 捕获抗体标记的磁珠捕获探针,5-50nM Qdot525、Qdot585、Qdot625 检测探针,借助样本含有 5-10%小牛血清的 10mMPBS 的稀释液补齐体积到 10-50 $\mu$ l/反应,随后加入 10-50 $\mu$ l 的不同浓度的 NSE、CEA、CYFRA21-1 标准品或者空白对照或者待测样本中;在 37 $^{\circ}$ C 震荡孵育 30-60min;生化反应完成后,用磁力分离器分离磁性微球,再用洗涤液 (0.05%吐温-20/10mM PBS) 的清洗 1-3 次,到显微镜下面进行观察、拍照;

#### (3) 图像及结果分析

通过对含有三种靶标物质的不同浓度的标准品进行检测,获得一系列荧光图像,不同尺寸的量子点产生明确可辨的不同颜色的荧光,检测这三种蛋白的磁珠上由于结合了量子点荧光探针 Qdot-525、Qdot-585、Qdot-625 而分别呈现绿色、黄色或红色,且荧光信号强度随着捕获到的抗原浓度的降低而逐渐减弱,然后再利用 Gray Quantifier 对三种捕获磁珠上的荧光信号进行定性定量后,绘制标准曲线。根据标准曲线及待测靶标的荧光强度即可测定出待测分子的量。

10. 按权利要求 9 所述的检测,其特征在于:

①不同浓度的三种待检测量子点浓度 Qdot-585、Qdot-525 和 Qdot-625 的检测同步浓度范围从 0.9ng/ml 到 2000ng/ml,具体为 0.9、1.9、3.9、7.8、15.6、31.2、62.5、125、250、500、1000 和 2000ng/ml;

②所述洗涤液浓度为 0.05%吐温 -2010mM PBS；

③NSE、CEA、CYFRA21-1 在 3.9 ~ 125ng/mL 范围进行线性拟合,拟合方程分别为  $Y = 23714.61gX - 7329.6$ , 相关系数  $R^2 = 0.9904$ 、 $Y = 29986.61gX - 7554.8$ , 相关系数  $R^2 = 0.9936$ 、 $Y = 10693.21gX + 6746.9$ , 相关系数  $R^2 = 0.9847$ , 线性关系良好；

④检测限为 0.9ng/mL。

## 一种量子点荧光探针及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及纳米生物检测技术领域,特别是一种量子点荧光探针,利用该探针能同时高灵敏检测多种生物分子。

### 背景技术

[0002] 能够对生物分子高灵敏、高特异地检测,始终是人们努力的方向,在疾病的早期检测、快速诊断、卫生检测、环境监测等领域都具有重要意义。

[0003] 量子点又称为半导体纳米晶或半导体纳米粒子,是一种由 II—VI 族(如镉化镉 CdSe、碲化镉 CdTe)或 III—V 族(如 InP、InAs)元素组成的纳米颗粒,粒径一般为 1~10nm,由于电子和空穴被量子限域,连续的能带结构变成具有分子特性的分立能级结构,受激后可以发射荧光。作为一种新颖的半导体纳米材料,与传统的荧光染料相比,量子点具有不可比拟的优势:可以通过改变量子点的尺寸改变量子点的发射谱,即可以制备多种不同发射不同颜色荧光的量子点;可以在同一光源下激发多种量子点产生不同颜色的荧光实现多通道观测,使得操作变得简单,对设备要求低;量子点具有窄而对称的发射光谱,其产生的荧光信号产生的相互干扰比较小;荧光强度高且抗光淬灭能力强(单个粒子的发光强度约 100 倍强于单个有机染料分子)。上述优越的荧光性质使得荧光量子点成为一种潜在的取代传统有机染料的理想荧光基团,并在分析检测和生物医学示踪成像等领域中受到研究者们越来越多的关注。

[0004] 另外,以磁性微球作为生化反应的固相支持物对生物检测方法具有重要意义。因其具备的超顺磁性,无需复杂的设备(如离心机),仅借助磁铁,便可简便高效地实现与其他物质的分离与纯化,故而被广泛应用于免疫检测、细胞分离和生物大分子纯化等领域。磁性微球具有的高体表面积,使其表面能结合大量的抗体,伴随着轻微震荡,磁性微球能够均匀的分散在体系中,大大提高了抗原与抗体的结合效率,具有较以平板作为支持物更佳的动力学表现。

[0005] 目前针对量子点信号的读取方式主要有两种,光谱分析和荧光图像分析。光谱分析主要是通过记录量子点发射峰的峰值来实现定量的目的,此方法对样本体积量要求大,导致量子点产生的荧光信号会被分散在一个较大的体积内(通常是 0.1~1mL),故而需要更多的量子点才能产生区别于背景信号的信号强度,检测灵敏度低;另外,不同量子点的荧光发射信号之间会有些干扰,导致检测结果不准确。而本发明拟通过荧光成像分析方法对富集在磁珠表面的量子点荧光信号进行直接读取(包括颜色区分及荧光强度定量),量子点信号被富集在磁珠表面,灵敏度得到较大的提升。至今,这方面的研究鲜有报道。

### 发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种量子点荧光探针,并将该量子点荧光探针用于同时高灵敏检测多种生物分子。

[0007] 本发明主要内容包括:双功能交联剂长链磺基琥珀酰亚胺 4-[N-甲基马来

酸]-1-羧环己烷(Succinimidyl-4-[N-Maleimidomethyl]cyclohexane-1-carboxylate, SMCC)与氨基量子点表面的氨基基团发生交联反应,在量子点表面生成马来酰亚胺基。待标记抗体用还原剂二硫苏糖醇(Dithiothreitol, DTT)还原,将二硫键还原成巯基,巯基再与马来酰亚胺基团形成共价键从而将抗体标记到量子点上,由此获得的量子点荧光探针既可以保持生物分子的活性,也防止了由于量子点及生物分子的聚集带来的非特异性吸附。在生物分子检测时,以磁珠或磁性微球作为反应的固相支持物,使反应体系完全悬浮在液相中,通过免疫反应或分子杂交将溶液中将待测生物分子捕获,再用量子点荧光探针去识别磁珠上的待测分子,磁珠或磁性微球上由于结合了抗原抗体反应物而产生量子点探针的荧光,这种荧光的颜色及信号的强弱反应了待测生物分子的种类及数量,可以利用图像识别软件进行识别及定量。

[0008] 本发明所述的量子点荧光探针的制备和检测的步骤包括:

[0009] (1) 量子点荧光探针的制备

[0010] 首先,取 10-50  $\mu\text{L}$  5-50mM 长链 SMCC 对 50-500  $\mu\text{L}$  的氨基量子点进行活化, 25 $^{\circ}\text{C}$ , 30-60min; 随后采取脱盐柱的方法进行纯化; 用 10-50mM DTT 对 100-500  $\mu\text{L}$  生物分子进行还原, 25 $^{\circ}\text{C}$ , 30-60min; 待脱盐柱去除未反应的抗体和其他杂质后, 将其与纯化后的活化量子点于杂交仪中孵育, 25 $^{\circ}\text{C}$ , 30-60min; 加入 5-50  $\mu\text{L}$   $\beta$ -巯基乙醇终止反应, 用柱层析分离纯化后保存于免疫反应增强液(10mM 磷酸缓冲液 PBS, PH 7.2、1-10% 聚乙二醇(Polyethylene glycol, PEG)、1-5% 牛血清白蛋白(Bovine serum albumin, BSA)、1-10% 聚乙烯吡咯烷酮(Polyvinylpyrrolidone, PVP) 中, 4 $^{\circ}\text{C}$  避光备用。

[0011] (2) 检测反应

[0012] 每个反应中加 5000-10000 颗磁珠捕获探针, 5-50nM 量子点检测探针, 借助样本稀释液(含有 5-10% 小牛血清的 10mM PBS) 补齐体积到 10-50 $\mu\text{L}$ /反应, 随后加入 10-50 $\mu\text{L}$  的不同浓度的待测物标准品或者空白对照或者待测样本中; 在 37 $^{\circ}\text{C}$  震荡孵育 30-60min; 生化反应完成后, 用磁力分离器分离磁性微球, 再用洗涤液(0.05% 吐温-20/10mM PBS) 的清洗 1-3 次, 到显微镜下面进行观察、拍照。

[0013] (3) 图像分析

[0014] 由于不同直径的量子点在紫外光的激发下可呈现不同的颜色, 如红色、绿色、黄色, 利用自编程软件 Gray Quantifier 首先将图像转换到 HSI(Hue Saturation Intensity) 颜色空间下, HIS 颜色模型是用 H(色调)、S(饱和度)、I(亮度) 三个参数来表示颜色的, 不同的颜色对应着不同的 H 值, 通过计算不同颜色磁珠的 H 值, 实现对不同颜色量子点的区分。第二步在区分出不同量子点颜色的基础上, 对每一个磁珠统计其灰度值, 当量子点越亮的时候, 其所对应的灰度值就越大。最后分析测得的灰度值与靶标物质浓度之间的相关关系, 进而实现对靶标物质的定量检测。

[0015] 本发明提供的荧光量子点探针及其检测生物分子的特点是:

[0016] 本发明提供的荧光量子点探针, 具有荧光信号强、不易衰减、生物分子活性好, 可实现多种生物分子的高灵敏检测。

[0017] 1) 本发明提供的荧光量子点探针量子点产率高、荧光信号强, 且不易衰减; 所用量子点尺寸较小, 直径为 5-8nm, 具有较大的比表面积, 可以结合较多的生物分子; 由于使用双功能交联剂 SMCC 将生物分子定向标记在量子点表面, 可以较好地保持

生物分子的活性,避免量子点及生物分子的聚集,提高检测灵敏度。常规的量子点标记方法采用 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(1-3-(dimethylamino)propyl-3-ethylcarbodiimide methiodide, EDC) 及 N-羟基硫代琥珀酰亚胺(N-hydroxysulfosuccinimide NHS) 活化系统,将量子点的羧基及生物分子的氨基活化,同时抗体的羧基也会被活化,这样会导致量子点荧光产率低、量子点探针聚集、生物分子之间发生交联等作用,导致检测灵敏度降低。

[0018] 2) 采用磁性微球捕获待测生物分子可以将量子点荧光探针的荧光信号富集在微球表面,使得较弱的荧光信号就能检测得到,提高了检测的灵敏度。而常规的检测方法则是将有限的荧光信号分子分散在较大的液相体系里,需要较多的荧光信号分子才能检测到,检测灵敏度低。

[0019] 3) 对于富集在磁性微球上的不同粒径的量子点荧光探针,在紫外光的激发下呈现出不同的颜色:绿色、黄色、红色,采用 CCD 拍照和灰度扫描软件可以很准确地对不同的荧光信号进行识别和定量,可以避免不同量子点荧光探针之间信号及背景信号的干扰,提高检测的准确性和检测灵敏度。而常规的测定量子点荧光光谱的检测方法易受到不同量子点的荧光信号及测定溶液背景信号的干扰,导致测定浓度的准确性及灵敏度下降。

#### 附图说明

[0020] 图 1 基于荧光量子点探针的测定流程示意图。其中 a) 为一种蛋白检测原理示意图, b) 为三种蛋白检测原理示意图。

[0021] 图 2 基于荧光量子点探针的三种蛋白检测标准曲线,其中图 2a 是该方法同步检测浓度范围从 0.9ng/mL 到 2000ng/mL 的三种靶标蛋白的结果,图 2b 是检测范围内的线性关系区域(3.9ng/mL 到 125ng/mL)。

#### 具体实施方式

[0022] 下面结合具体实施例对本发明作进一步的说明。

[0023] 实施例 1:可检测一种蛋白质癌胚抗原(carcinoembryonic antigen CEA)的荧光量子点探针

[0024] (1) 量子点荧光探针的制备

[0025] 首先,取 10-50  $\mu$ L 5-50mM SMCC 对 50-500  $\mu$ L 的氨基量子点 625(Qdot625) 进行活化,25 $^{\circ}$ C,30-60min;随后采取脱盐柱的方法进行纯化;用 10-50mM DTT 对 100-500  $\mu$ L CEA 检测抗体进行还原,25 $^{\circ}$ C,30-60min;待脱盐柱去除未反应的抗体和其他杂质后,将其与纯化后的活化量子点于杂交仪中孵育,25 $^{\circ}$ C,30-60min;加入 5-50  $\mu$ L  $\beta$ -巯基乙醇终止反应,分离纯化后保存于 10mM PBS(PH 7.2) 中,4 $^{\circ}$ C 避光备用。

[0026] (2) 检测反应

[0027] 每个反应中加 5000-10000 颗离体的 CEA 捕获抗体标记的磁珠捕获探针,5-50nM Qdot625 检测探针,借助样本稀释液(含有 5-10% 小牛血清的 10mMPBS) 补齐体积到 10-50 $\mu$ l/ 反应,随后加入 10-50 $\mu$ l 的不同浓度的 CEA 标准品(2000、1000、500、250、125、62.5、31.2、15.6、7.8、3.9、1.9、0.9、0ng/mL) 或者待测样本中;在 37 $^{\circ}$ C 震荡孵育 30-60min;生化反应完成后,用磁力分离器分离磁性微球,再用洗涤液(0.05%吐温-2010mM PBS) 的

清洗 1-3 次,到显微镜下面进行观察、CCD 拍照。

### [0028] (3) 图像及结果分析

[0029] Qdot625 在紫外光激发下发射红色荧光,将不同浓度的 CEA 检测结果用 CCD 拍照,对得到的三原色光模式图像利用自编程软件转换成 HIS 模式, H 也即是色调分量可以实现对多种颜色的定性,达到区分靶标物质的目的。同时,软件亦可实现将 RGB 图像转化成灰度值的转换,统计分析每一磁珠表面结合的量子点产生的荧光强度,实现对靶标物质 CEA 的定量检测。结果表明:CEA 浓度在 0.39 ~ 50ng/mL 范围进行线性拟合,方程为:  $\log y = 0.5862 \log x + 3.57223$  ( $R^2 = 0.988$ ),线性关系良好,我们将检测信号高于空白对照(不含 CEA 的缓冲液作为样品)的信号的平均值加上其 3 倍标准差定义为检测限,算得该方法的检测限为 38pg/mL,远低于 CEA 的临床阈值(5ng/mL),满足临床应用需求。

[0030] 实施例 2:可检测多种蛋白 CEA、神经烯醇化酶(neuron-specific enolase NSE)、细胞角蛋白片段 19(CYFRA21-1)的荧光量子点探针

### [0031] (1) 量子点荧光探针的制备

[0032] 首先,取 10-50  $\mu$ L 5-50mM SMCC 对 50-500  $\mu$ L 的氨基量子点 Qdot525、Qdot585、Qdot625 进行活化,25 $^{\circ}$ C,30-60min;随后采取脱盐柱的方法进行纯化;用 10-50mM DTT 对 100-500  $\mu$ L NSE、CEA、CYFRA21-1 检测抗体进行还原,25 $^{\circ}$ C,30-60min;待脱盐柱去除未反应的抗体和其他杂质后,将其与纯化后的活化量子点于杂交仪中孵育,25 $^{\circ}$ C,30-60min;加入 5-50  $\mu$ L  $\beta$ -巯基乙醇终止反应,分离纯化后保存于 10mM PBS(PH 7.2)中,4 $^{\circ}$ C 避光备用。

### [0033] (2) 检测反应

[0034] 每个反应中加 5000-10000 颗离体的 NSE、CEA、CYFRA21-1 捕获抗体标记的磁珠捕获探针,5-50nM Qdot525、Qdot585、Qdot625 检测探针,借助样本稀释液(含有 5-10%小牛血清的 10mMPBS)补齐体积到 10-50ul/反应,随后加入 10-50ul 的不同浓度的 NSE、CEA、CYFRA21-1 标准品或者空白对照或者待测样本中;在 37 $^{\circ}$ C 震荡孵育 30-60min;生化反应完成后,用磁力分离器分离磁性微球,再用洗涤液(0.05%吐温-20/10mM PBS)的清洗 1-3 次,到显微镜下面进行观察、拍照。

[0035] 所述的不同浓度的三种待检测量子点浓度 Qdot-585、Qdot-525 和 Qdot-625 的检测同步浓度范围从 0.9ng/ml 到 2000ng/ml,具体为 0.9、1.9、3.9、7.8、15.6、31.2、62.5、125、250、500、1000 和 2000ng/ml;

### [0036] (3) 图像及结果分析

[0037] 通过对含有三种靶标物质的不同浓度的标准品(NSE、CEA、CYFRA21-1)进行检测。结果显示,不同尺寸的量子点能够产生明确可辨的不同颜色的荧光,检测这三种蛋白的磁珠上由于结合了量子点荧光探针(Qdot-525、Qdot-585、Qdot-625)而分别呈现绿色、黄色及红色,且荧光信号强度随着捕获到的抗原浓度的降低而逐渐减弱。利用 Gray Quantifier 对三种捕获磁珠上的荧光信号进行定性定量后,绘制标准曲线。根据标准曲线及待测靶标的荧光强度即可测定出待测分子的量。图 2 结果表明:NSE、CEA、CYFRA21-1 在 3.9 ~ 125ng/mL 范围进行线性拟合,拟合方程分别为  $Y = 23714.61gX - 7329.6$  (相关系数  $R^2 = 0.9904$ )、 $Y = 29986.61gX - 7554.8$  (相关系数  $R^2 = 0.9936$ )、 $Y = 10693.21gX + 6746.9$  (相关系数  $R^2 = 0.9847$ ),线性关系良好,检测限为 0.9ng/mL,可满足临床应用及其他方面的需求。

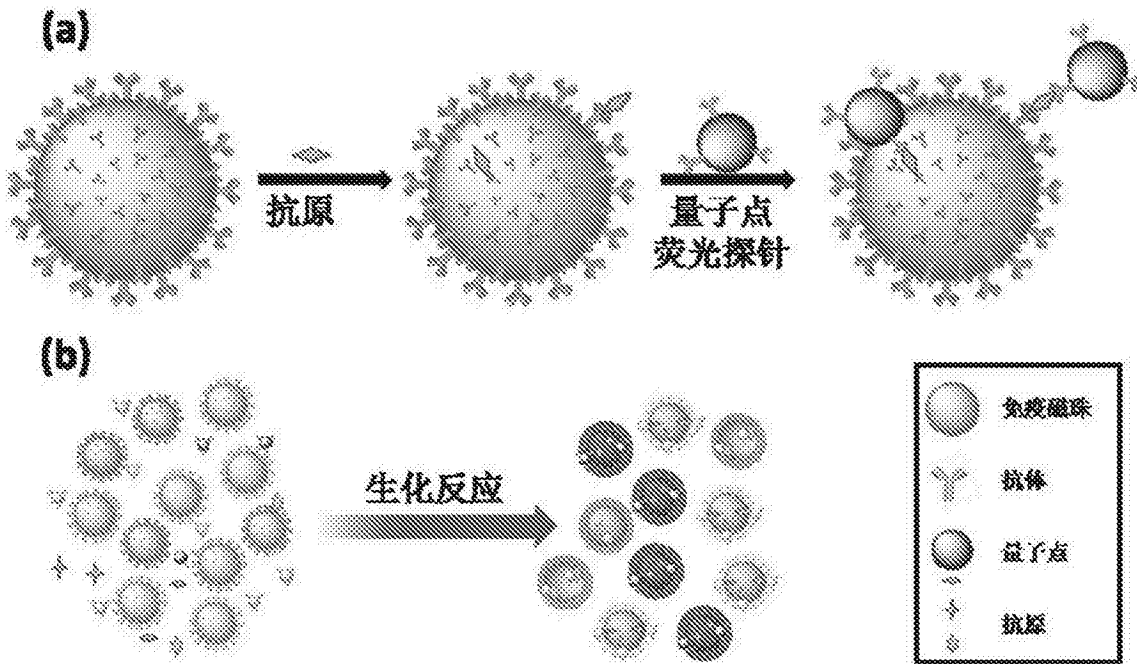


图 1

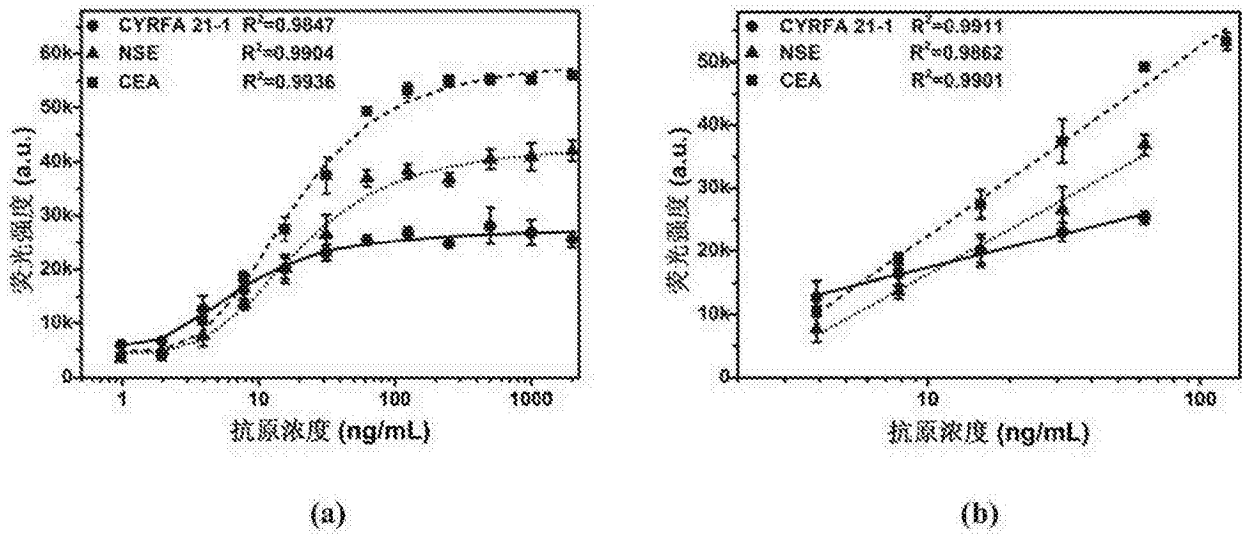


图 2

专利名称(译)	一种量子点荧光探针及其应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN105158477A</a>	公开(公告)日	2015-12-16
申请号	CN201510329958.X	申请日	2015-06-15
[标]申请(专利权)人(译)	中国科学院上海微系统与信息技术研究所 东南大学		
申请(专利权)人(译)	中国科学院上海微系统与信息技术研究所 东南大学		
当前申请(专利权)人(译)	中国科学院上海微系统与信息技术研究所 东南大学		
[标]发明人	贾春平 吴思敏 李宫 刘莉芬 郜晚蕾 景奉香 金庆辉 赵建龙		
发明人	贾春平 吴思敏 李宫 刘莉芬 郜晚蕾 景奉香 金庆辉 赵建龙		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/54393 G01N33/68		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种量子点荧光探针及其应用，其特征在于所述的量子点荧光探针利用双功能交联剂长链磺基琥珀酰亚胺4-[N-甲基马来酸]-1-羧环己烷Succinimidyl-4-[N-Maieimidomethyl]cyclohexane-1-carboxy-[6-amidocaproate，SMCC与氨基量子点表面的氨基基团发生交联反应，在量子点表面生成马来酰亚胺基，待标记抗体用还原剂二硫苏糖醇Dithiothreitol，DTT还原，将二硫键还原成巯基，巯基再与马来酰亚胺基团形成共价键从而将抗体标记到量子点上。本发明所述的量子点荧光探针用于①检测一种蛋白质癌胚抗原或②检测多种蛋白CEA、神经烯醇化酶NSE和细胞角蛋白片段19CYFRA21-1。前者检测极限为38pg/ml，后者检测极限为0.9ng/ml。

