



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103018462 A

(43) 申请公布日 2013. 04. 03

(21) 申请号 201210550889. 1

(22) 申请日 2012. 12. 18

(71) 申请人 西南大学

地址 400716 重庆市北碚区天生路 2 号

(72) 发明人 李长明 胡卫华 刘英帅

(74) 专利代理机构 北京同恒源知识产权代理有限公司 11275

代理人 赵荣之

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

G01N 21/64(2006. 01)

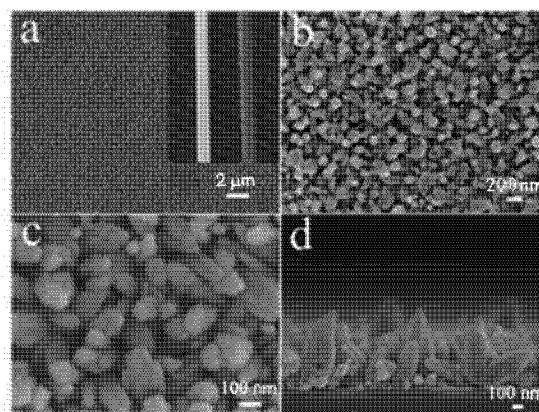
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 6 页

(54) 发明名称

纳米氧化锌修饰的免疫毛细管及其制备方法
和应用

(57) 摘要

本发明涉及纳米氧化锌修饰的免疫毛细管及其制备方法和应用,免疫毛细管是在玻璃毛细管内表面生长纳米氧化锌,然后在纳米氧化锌上结合检测探针而成,利用了其中纳米氧化锌具有巨大的比表面积,能有效提高抗体蛋白的表面密度,同时纳米氧化锌具有放大荧光标记蛋白的荧光信号的独特物理性质;而毛细管则能提供流动检测所需微通道并具有光学透明性质,从而实现快速的、定量免疫检测,能够用于恶性肿瘤早期筛查和食品安全分析。



1. 纳米氧化锌修饰的免疫毛细管,其特征在于:所述免疫毛细管由玻璃毛细管内表面生长纳米氧化锌,然后在纳米氧化锌上结合检测探针而成。

2. 根据权利要求1所述纳米氧化锌修饰的免疫毛细管,其特征在于:所述纳米氧化锌为氧化锌纳米棒或氧化锌纳米粒子。

3. 根据权利要求1所述纳米氧化锌修饰的免疫毛细管,其特征在于:所述检测探针为检测肿瘤标志物的单克隆抗体。

4. 根据权利要求1-3任一项所述纳米氧化锌修饰的免疫毛细管,其特征在于:所述单克隆抗体为抗人表皮生长因子受体2单克隆抗体,抗癌胚抗原单克隆抗体,抗前列腺特异抗原单克隆抗体或抗甲胎蛋白单克隆抗体。

5. 权利要求1-4任一项所述免疫毛细管的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

a. 将玻璃毛细管活化;

b. 将活化的玻璃毛细管内表面生长纳米氧化锌,得纳米氧化锌修饰的毛细管;

c. 将步骤b所得纳米氧化锌修饰的毛细管表面结合检测探针,得纳米氧化锌修饰的免疫毛细管。

6. 根据权利要求5所述免疫毛细管的制备方法,其特征在于:所述步骤a是将玻璃毛细管用浓度为1-10mM高锰酸钾浸泡15-30分钟。

7. 根据权利要求5所述免疫毛细管的制备方法,其特征在于:所述步骤b是将活化玻璃毛细管放入含硝酸锌、乙醇胺和氨水的混合溶液,在65-95℃水浴中生长30-60分钟,所述混合溶液中硝酸锌的终浓度为10-100mM,乙醇胺的终体积分数为1-10%,氨水的终体积分数为1-10%。

8. 根据权利要求5所述免疫毛细管的制备方法,其特征在于:所述步骤c是将所得纳米氧化锌修饰的毛细管用去离子水冲洗,干燥后注入含体积分数为1-5%的3-环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的乙醇溶液,浸泡1-3小时,用乙醇冲洗后在110℃条件下真空退火1-3小时,再加入50-300 μg/mL的检测探针,浸泡2-8小时,最后用牛血清白蛋白浸泡。

9. 根据权利要求5-8任一项所述免疫毛细管的制备方法,其特征在于:所述步骤a和b用如下步骤代替:将氧化锌纳米粒子的胶体溶液注入玻璃毛细管中浸泡20-60分钟,然后在150-200℃条件下煅烧15-60分钟,得纳米氧化锌修饰的毛细管。

10. 权利要求1-5任一项所述纳米氧化锌修饰的免疫毛细管在制备免疫检测设备中的应用。

纳米氧化锌修饰的免疫毛细管及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种免疫检测装置,特别涉及纳米氧化锌修饰的免疫毛细管,还涉及该毛细管的制备方法和应用。

背景技术

[0002] 免疫分析是通过抗原抗体之间特异性的结合作用,对各种物质如:药物、激素、蛋白质、微生物等进行定量和定性的检测方法,普遍用于疾病诊断、环境监控、食品安全等领域。例如:采用免疫分析对血清中的特定肿瘤标志物进行检测,该方法是对肿瘤进行早期诊断和筛查的一种有效、无创的方法。目前,免疫分析方法主要采用是酶联免疫吸附法,该方法耗时长、费用高、需要大型仪器和熟练操作技术,不适用于快速、现场分析和大规模免疫筛查。另外市场上也有一些便携式免疫分析仪,如免疫试纸条等,能提供快速现场免疫分析,但这类免疫分析仪只能进行定性或半定量检测,不能提供定量分析。

[0003] 2006 年美国 Omowunmi A. Sadik 和 Jason Karasinski 采用玻璃毛细管制备免疫检测器件(United States Patent: 7708944),该免疫检测器能够用于定量分析,但该免疫器件灵敏度低、信号均一度差,很难应用于实际的免疫分析。

发明内容

[0004] 有鉴于此,本发明的目的之一在于提供纳米氧化锌修饰的免疫毛细管,能够实现快速的免疫检测,并且能定量分析;本发明的目的之二在于提供纳米氧化锌修饰的免疫毛细管的制备方法,制备方法简单,重复性好;本发明的目的之三在于提供纳米氧化锌修饰的免疫毛细管的应用。

[0005] 为实现上述发明目的,技术方案为:

1. 纳米氧化锌修饰的免疫毛细管,所述免疫毛细管由玻璃毛细管内表面生长纳米氧化锌,然后在纳米氧化锌上结合检测探针而成。

[0006] 优选的,所述纳米氧化锌为氧化锌纳米棒或氧化锌纳米粒子。

[0007] 优选的,所述检测探针为检测肿瘤标志物的单克隆抗体。

[0008] 更优选的,所述单克隆抗体为抗人表皮生长因子受体 2 单克隆抗体,抗癌胚抗原单克隆抗体,抗前列腺特异抗原单克隆抗体或抗甲胎蛋白单克隆抗体。

[0009] 2. 所述免疫毛细管的制备方法,包括如下步骤:

- a. 将玻璃毛细管活化;
- b. 将活化的玻璃毛细管内表面用纳米氧化锌修饰,得纳米氧化锌修饰的毛细管;
- c. 将步骤 b 所得纳米氧化锌修饰的毛细管表面结合检测探针,得纳米氧化锌修饰的免疫毛细管。

[0010] 优选的,所述步骤 a 是将玻璃毛细管用浓度为 1-10mM 高锰酸钾浸泡 15-30 分钟。

[0011] 优选的,所述步骤 b 是将活化玻璃毛细管放入含硝酸锌、乙醇胺和氨水的混合溶液中,在 65-95℃ 水浴中生长 30-60 分钟,所述混合溶液中硝酸锌的终浓度为 10-100mM,乙

醇胺的终体积分数为 1-10%，氨水的终体积分数为 1-10%。

[0012] 优选的，所述步骤 c 是将步骤 b 所得纳米氧化锌修饰的毛细管用去离子水冲洗，干燥后注入体积分数为 1-5% 的 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的乙醇溶液浸泡 1-3 小时，用乙醇冲洗后在 110℃ 条件下真空退火 1-3 小时，再加入 50-300 $\mu\text{g/mL}$ 的检测探针，浸泡 2-8 小时，最后用牛血清白蛋白浸泡。

[0013] 优选的，所述步骤 a 和 b 用如下步骤代替：将氧化锌纳米粒子的胶体溶液注入玻璃毛细管中浸泡 20-60 分钟，然后在 150-200℃ 条件下煅烧 15-60 分钟，纳米氧化锌修饰的毛细管。

[0014] 3. 所述纳米氧化锌修饰的免疫毛细管在制备免疫检测设备中的应用。

[0015] 本发明有益效果在于：本发明采用湿化学的方法，制备了纳米氧化锌修饰的免疫毛细管，其中纳米氧化锌具有巨大的比表面积，能有效提高固定抗体蛋白的表面密度，同时纳米氧化锌具有放大荧光标记蛋白的荧光信号的独特物理性质；而毛细管则能提供流动检测所需微通道并因其光学透明性质，能实现便捷的光学检测；配合一个简单的流动泵和荧光检测器件，该纳米氧化锌修饰的毛细管免疫器件即能实现快速、现场、灵敏的免疫分析。

[0016] 本发明公开的纳米氧化锌修饰的免疫毛细管还可以通过简单串联或并联针对不同目标物的毛细管，实现多组分高通量检测。由于其制备成本低，因此非常适用于大规模筛查和现场快速检测，有望在疾病早期筛查、食品安全分析、环境污染物监控等方面得到大量应用。

附图说明

[0017] 图 1 为生长在毛细管内壁的氧化锌纳米棒的扫描电子显微镜照片。(a 为在 2 μm 下观察电子显微图，图中插入图为纳米氧化锌修饰的毛细管(左)和普通毛细管(右)的光学照片；b 为在 200nm 下电子显微图；c 为在 100nm 下电子显微图；d 为 100nm 下电子显微图)。

[0018] 图 2 为氧化锌纳米棒修饰的免疫毛细管示意图。

[0019] 图 3 为纳米氧化锌修饰的免疫毛细管对肿瘤标志物 HER2 检测得到的标准曲线。

[0020] 图 4 为纳米氧化锌修饰的免疫毛细管对肿瘤标志物 CEA 检测得到的标准曲线。

[0021] 图 5 为毛细管内壁生长氧化锌纳米粒子的扫描电子显微镜照片。

[0022] 图 6 为氧化锌纳米粒子修饰的免疫毛细管示意图。

[0023] 图 7 为纳米氧化锌修饰的免疫毛细管对肿瘤标志物 PSA 检测得到的标准曲线。

[0024] 图 8 为纳米氧化锌修饰的免疫毛细管对肿瘤标志物 AFP 检测得到的荧光照片和强度线。

[0025] 图 9 为纳米氧化锌修饰的毛细管免疫器件对肿瘤标志物 AFP 检测得到的标准曲线。

[0026] 图 10 为采用串联的纳米氧化锌修饰毛细管免疫器件对多组分肿瘤标志物 HER2、CEA、PSA 和 AFP 检测的示意图和荧光强度线。

[0027] 图 11 为采用并联的纳米氧化锌修饰毛细管免疫器件对多组分肿瘤标志物 HER2、CEA、PSA 和 AFP 检测的示意图。

具体实施方式

[0028] 为了使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚,下面对本发明的优选实施例进行详细的描述。优选实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,或按照制造厂商所建议的条件进行。

[0029] 实施例 1

纳米氧化锌修饰的免疫毛细管的制备方法,具体步骤如下:

(1) 取浓度为 5 mM 新配制高锰酸钾溶液注入玻璃毛细管,浸泡 20 分钟活化玻璃毛细管;然后用去离子水冲洗,然后放入含 5% (v/v) 乙醇胺和 5% (v/v) 氨水的 50 mM 硝酸锌溶液中,在 80℃ 水浴中生长 50 分钟,在毛细管表面形成氧化锌纳米棒,将毛细管的管壁用扫描电子显微镜拍摄,其结果如图 1 所示。

[0030] (2) 将步骤(1)处理后的玻璃毛细管用去离子水冲洗,干燥后再注入 3% (v/v) 的 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的乙醇溶液,浸泡 2 小时,将 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷与 ZnO 纳米结构和毛细管内壁间是形成了硅-氧共价键;用乙醇冲洗后在 110℃ 真空退火 2 小时;加入含 100 μ g/mL 的鼠抗人 HER2 (人类表皮生长因子受体 2) 单克隆抗体 PBS 溶液,浸泡 5 小时,使 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的环氧键与单克隆抗体上的氨基反应形成化学键,然后再加入浓度为 10 mg/mL 左右的牛血清白蛋白,浸泡 1 小时,得纳米氧化锌修饰的免疫毛细管。其示意图如图 2 所示,由图 2 可知,在毛细管内表面固定有氧化锌纳米棒,在氧化性纳米棒上结合有鼠抗人 HER2 单克隆抗体。

[0031] 利用制备的纳米氧化锌修饰的毛细管检测肿瘤标志物 HER2,具体步骤如下:

分别将含 0 ng/mL, 1 ng/mL, 5 ng/mL, 50 ng/mL, 500 ng/mL 和 1000 ng/mL 肿瘤标志物 HER2 (人类表皮生长因子受体 2, human epidermal growth factor receptor type 2) 的 10% 人血清溶液分别吸入毛细管器件,静止反应 1 小时,排出后再将 5 μ g/mL 的山羊抗人 HER2 多克隆抗体吸入毛细管 30 分钟,然后用 5 μ g/mL CY3 标记山羊 IgG 抗体浸泡毛细管 30 分钟。最后将 PBS 溶液和去离子水分别流过毛细管,干燥后,用荧光扫描仪读取荧光信号,然后以荧光强度为纵坐标,肿瘤标志物 HER2 的浓度为横坐标,绘制标准曲线,如图 3 所示。

[0032] 实施例 2

纳米氧化锌修饰的免疫毛细管的制备方法,具体步骤如下:

(1) 取浓度为 1 mM 新配制高锰酸钾溶液注入玻璃毛细管,浸泡 30 分钟活化玻璃毛细管;然后用去离子水冲洗,放入含 1% (v/v) 乙醇胺和 1% (v/v) 氨水的 10 mM 硝酸锌溶液中,在 65℃ 水浴中生长 60 分钟,在毛细管表面形成氧化锌纳米棒。

[0033] (2) 将步骤(1)处理后的玻璃毛细管用去离子水冲洗,干燥后再注入 1% (v/v) 的 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的乙醇溶液,浸泡 1 小时,将 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷与 ZnO 纳米结构和毛细管内壁间是形成了硅-氧共价键,用乙醇冲洗后在 110℃ 真空退火 3 小时后,加入含 50 μ g/mL 鼠抗人 CEA (癌胚抗原, carcino-embryonic antigen) 单克隆抗体的 PBS 溶液,浸泡 8 小时,使 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的环氧键与单克隆抗体上的氨基反应形成化学键,然后再加入浓度为 10 mg/mL 左右的牛血清白蛋白,浸泡 2 小时,得纳米氧化锌修饰的免疫毛细管。

[0034] 利用制备的纳米氧化锌修饰的毛细管检测肿瘤标志物 CEA,具体步骤如下:

分别将含 0 ng/mL, 1 ng/mL, 5 ng/mL, 50 ng/mL, 500 ng/mL, 1000 ng/mL 肿瘤标志物 CEA 的

10%人血清溶液采用流动泵分别泵入毛细管器件,在流速为5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 流动反应1小时,再将1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的山羊抗人CEA多克隆抗体泵入毛细管30分钟,然后用1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CY3标记的山羊IgG抗体,流经毛细管30分钟。最后将PBS溶液和去离子水分别流过毛细管,干燥后,用荧光扫描仪读取荧光信号,然后以荧光强度为纵坐标,肿瘤标志物CEA的浓度为横坐标,绘制标准曲线,如图4所示。

[0035] 实施例3

纳米氧化锌修饰的免疫毛细管的制备方法,具体步骤如下:

(1)按照现有技术制备氧化锌纳米粒子的胶体溶液(制备方法参见:Continuous Size Tuning of Monodisperse ZnO Colloidal Nanocrystal Clusters by a Microwave-Polyol Process and Their Application for Humidity Sensing, Xianluo Hu, Jingming Gong, Lizhi Zhang and Jimmy C. Yu. Adv. Mater. 2008, 20, (24), 4845),再将胶体溶液注入玻璃毛细管,浸泡20分钟,然后排出胶体溶液,可重复浸泡、排出步骤数次,提高氧化锌纳米粒子的吸附量,然后在150 $^{\circ}\text{C}$ 煅烧60分钟,将制备的免疫毛细管的管壁用扫描电子显微镜拍摄,其结果如图5所示。

[0036] (2)将步骤(1)处理后的玻璃毛细管注入1% (v/v)的3-环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的乙醇溶液,浸泡3小时,将3-环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷与ZnO纳米结构和毛细管内壁间是形成了硅-氧共价键,用乙醇冲洗后在110 $^{\circ}\text{C}$ 真空退火1小时后,加入含200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 鼠抗人PSA(前列腺特异抗原,Prostate Specific Antigen)单克隆抗体的PBS溶液,浸泡2小时,使3-环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的环氧键与单克隆抗体上的氨基反应形成化学键,然后再加入浓度为10 mg/mL 左右的牛血清白蛋白,浸泡0.5小时,得纳米氧化锌修饰的免疫毛细管。其示意图如图6所示,由图6可知,在毛细管内表面固定有氧化锌纳米粒子,在氧化性纳米粒子及毛细管内表面上结合有鼠抗人PSA单克隆抗体。

[0037] 利用制备的纳米氧化锌修饰的毛细管检测肿瘤标志物PSA,具体步骤如下:

将分别含0 ng/mL , 1 ng/mL , 10 ng/mL , 100 ng/mL , 1000 ng/mL 肿瘤标志物PSA的10%人血清溶液分别吸入毛细管器件,静止反应0.5小时,排出后再将10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的山羊抗人PSA多克隆抗体吸入毛细管10分钟,然后用10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CY3标记山羊IgG抗体浸泡毛细管10分钟,最后用PBS溶液和去离子水浸泡毛细管,干燥后,用荧光扫描仪读取荧光信号,然后以荧光强度为纵坐标,肿瘤标志物PSA浓度为横坐标,绘制标准曲线,如图7所示。

[0038] 实施例4

纳米氧化锌修饰的免疫毛细管的制备方法,具体步骤如下:

(1)按照现有技术制备氧化锌纳米粒子的胶体溶液(制备方法参见:Continuous Size Tuning of Monodisperse ZnO Colloidal Nanocrystal Clusters by a Microwave-Polyol Process and Their Application for Humidity Sensing, Xianluo Hu, Jingming Gong, Lizhi Zhang, and Jimmy C. Yu. Adv. Mater. 2008, 20, (24), 4845),再将胶体溶液注入玻璃毛细管,浸泡60分钟,然后排出胶体溶液,可重复浸泡、排出步骤数次,提高氧化锌纳米粒子的吸附量,然后在200 $^{\circ}\text{C}$ 煅烧15分钟。

[0039] (2)将步骤(1)处理后的玻璃毛细管注入含5% (v/v)3-环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的乙醇溶液,浸泡1小时,将3-环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷与ZnO纳米结构和毛细管内壁间是形成了硅-氧共价键,用乙醇冲洗后在110 $^{\circ}\text{C}$ 真空退火3小时后,加入含

100 μ g/mL 鼠抗人 AFP (甲胎蛋白, alpha-fetal protein) 单克隆抗体的 PBS 溶液, 浸泡 5 小时, 使 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的环氧键与单克隆抗体上的氨基反应形成化学键, 然后再加入浓度为 10 mg/mL 左右的牛血清白蛋白, 浸泡 0.5 小时, 得纳米氧化锌修饰的免疫毛细管。

[0040] 利用制备的纳米氧化锌修饰的毛细管检测肿瘤标志物 AFP, 具体步骤如下:

将分别含有 0ng/mL, 1 ng/mL, 10 ng/mL, 100 ng/mL 和 1000 ng/mL 肿瘤标志物 AFP 的 10% 人血清溶液分别采用流动泵将样品溶液以流速为 500 μ L/min 流经毛细管器件 2 小时, 再将山羊抗人 AFP 多克隆抗体流经毛细管 30 分钟, 然后用 FITC 标记的山羊 IgG 抗体, 流经毛细管 30 分钟。最后将 PBS 溶液和去离子水分别流过毛细管, 干燥后, 用荧光扫描仪读取荧光信号, 信号曲线如图 8 所示。然后以荧光强度为纵坐标, 肿瘤标志物 AFP 浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 如图 9 所示。

[0041] 实施例 5

纳米氧化锌修饰的免疫毛细管的制备方法, 具体步骤如下:

(1) 取浓度为 5 mM 新配制高锰酸钾溶液注入 4 支玻璃毛细管, 浸泡 20 分钟活化玻璃毛细管; 然后用去离子水冲洗, 然后放入含 5% (v/v) 乙醇胺和 5% (v/v) 氨水的 50 mM 硝酸锌溶液中, 在 80°C 水浴中生长 50 分钟, 在毛细管表面形成氧化锌纳米棒。

[0042] (2) 将步骤(1)处理后的玻璃毛细管用去离子水冲洗, 干燥后再注入 3% (v/v) 的 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的乙醇溶液, 浸泡 2 小时, 将 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷与 ZnO 纳米结构和毛细管内壁间是形成了硅-氧共价键; 用乙醇冲洗后在 110°C 真空退火 2 小时; 在不同毛细管中加入含的鼠抗人 CEA、鼠抗人 PSA、鼠抗人 AFP 和 100ng/mL 鼠抗人 HER2 (对照) 单克隆抗体的 PBS 溶液, 浸泡 5 小时, 使 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的环氧键与单克隆抗体上的氨基反应形成化学键, 然后分别再加入浓度为 10 mg/mL 左右的牛血清白蛋白, 浸泡 1 小时, 得纳米氧化锌修饰的免疫毛细管。

[0043] 利用制备的纳米氧化锌修饰的毛细管同时检测多组分肿瘤标志物, 具体步骤如下:

将四种免疫毛细管采用软管串联, 将分别含有 100 ng/mL 肿瘤标志物 CEA、PSA 和 AFP 的 10% 人血清溶液采用流动泵将样品溶液以流速为 300 μ L/min 流经毛细管器件 2 小时, 再将含山羊抗人 CEA 多克隆抗体、山羊抗人 PSA 多克隆抗体和山羊抗人 AFP 多克隆抗体的 PBS 溶液流经毛细管 30 分钟, 然后用 CY3 标记的山羊 IgG 抗体, 流经毛细管 30 分钟。最后将 PBS 溶液和去离子水分别流过毛细管, 干燥后, 用荧光扫描仪读取荧光信号, 示意图和荧光信号曲线如图 10 所示。

[0044] 实施例 6

纳米氧化锌修饰的免疫毛细管的制备方法, 具体步骤如下:

(1) 取浓度为 5 mM 新配制高锰酸钾溶液注入 4 支玻璃毛细管, 浸泡 20 分钟活化玻璃毛细管; 然后用去离子水冲洗, 然后放入含 5% (v/v) 乙醇胺和 5% (v/v) 氨水的 50 mM 硝酸锌溶液中, 在 80°C 水浴中生长 50 分钟, 在毛细管表面形成氧化锌纳米棒。

[0045] (2) 将步骤(1)处理后的玻璃毛细管用去离子水冲洗, 干燥后再注入 3% (v/v) 的 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的乙醇溶液, 浸泡 2 小时, 将 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷与 ZnO 纳米结构和毛细管内壁间是形成了硅-氧共价键; 用乙醇冲洗后在 110°C 真空

退火 2 小时；在不同毛细管中分别加入含 $100\ \mu\text{g/mL}$ 的鼠抗人 CEA、鼠抗人 PSA、鼠抗人 AFP 和 100ng/mL 鼠抗人 HER2 单克隆抗体(对照)的 PBS 溶液,浸泡 5 小时,使 3- 环氧丙基氧丙基三甲氧基硅烷的环氧键与单克隆抗体上的氨基反应形成化学键,然后分别再加入浓度为 $10\ \text{mg/mL}$ 左右的牛血清白蛋白,浸泡 1 小时,得纳米氧化锌修饰的免疫毛细管。

[0046] 利用制备的纳米氧化锌修饰的毛细管同时检测多组分肿瘤标志物,具体步骤如下:

将四种免疫毛细管采用软管并联,如图 11 所示,将含有肿瘤标志物 CEA、PSA 和 AFP 的 10% 人血清溶液分别采用流动泵将样品溶液以流速为 $300\ \mu\text{L/min}$ 流经毛细管器件 2 小时,再将含有山羊抗人 CEA 多克隆抗体、山羊抗人 PSA 多克隆抗体和山羊抗人 AFP 多克隆抗体的 PBS 溶液流经毛细管 30 分钟,然后用 CY3 标记的山羊 IgG 抗体,流经毛细管 30 分钟。最后将 PBS 溶液和去离子水分别流过毛细管,干燥后,用荧光扫描仪读取荧光信号。

[0047] 最后说明的是,以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非限制,尽管通过参照本发明的优选实施例已经对本发明进行了描述,但本领域的普通技术人员应当理解,可以在形式上和细节上对其作出各种各样的改变,而不偏离所附权利要求书所限定的本发明。

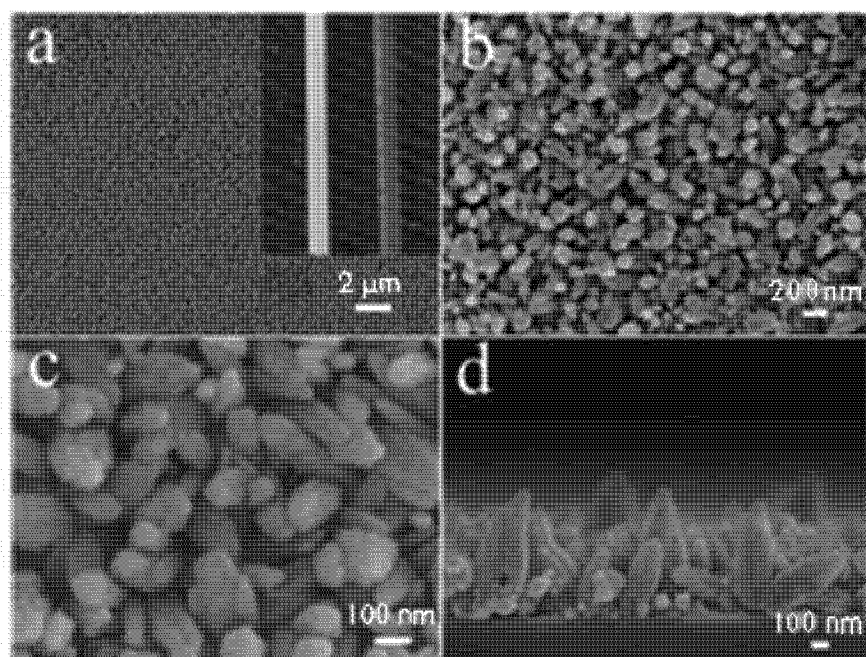


图 1

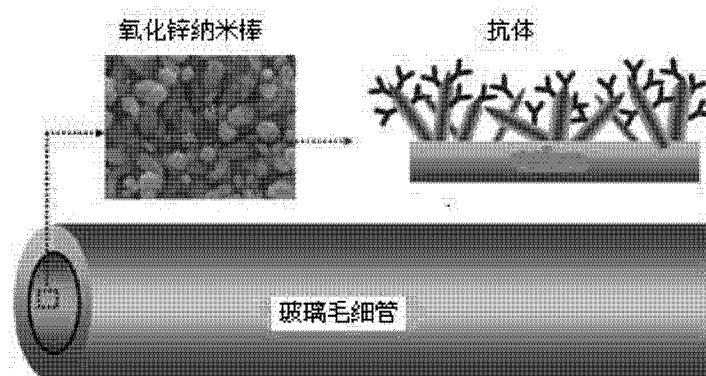


图 2

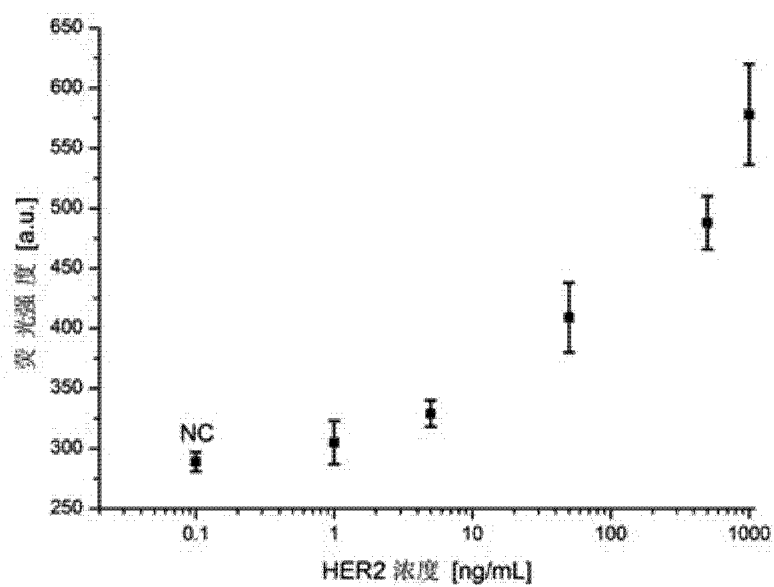


图 3

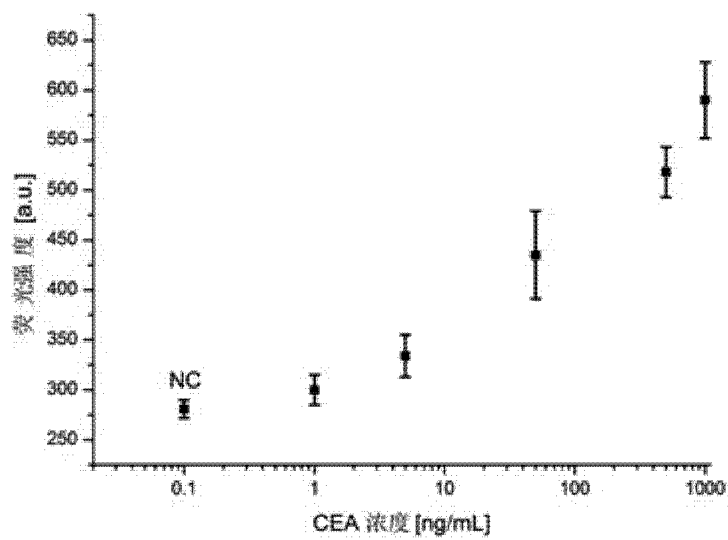


图 4

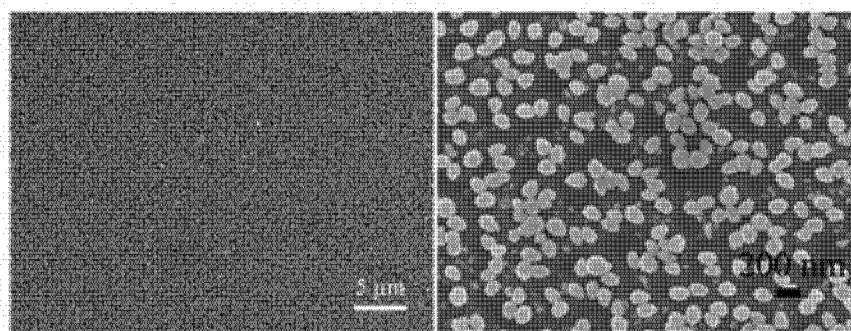


图 5

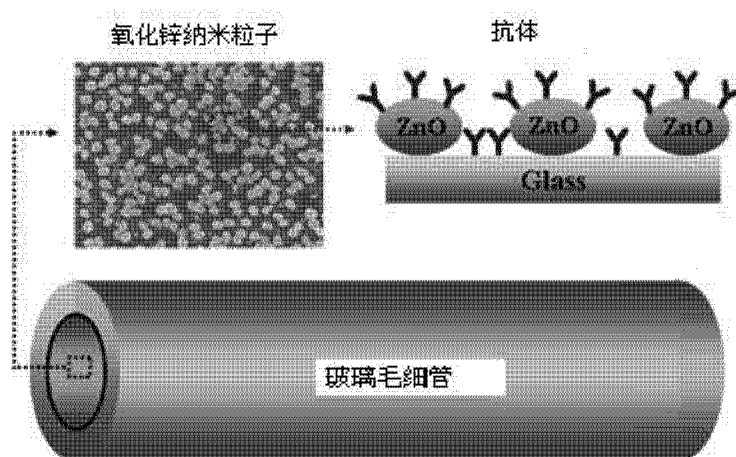


图 6

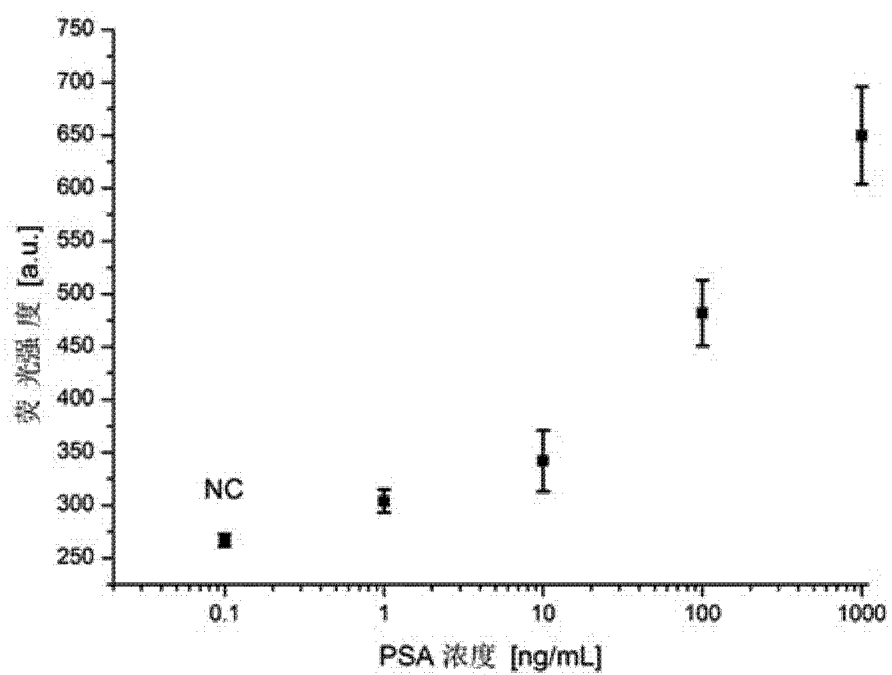


图 7

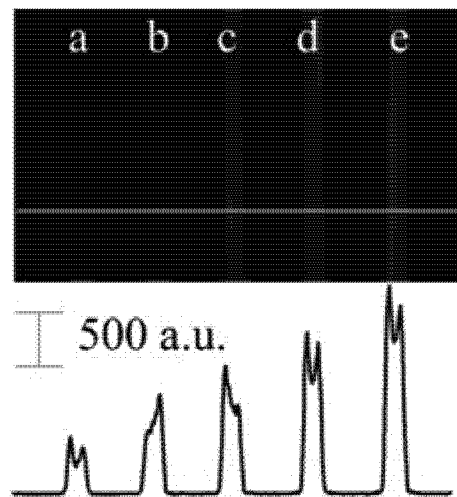


图 8

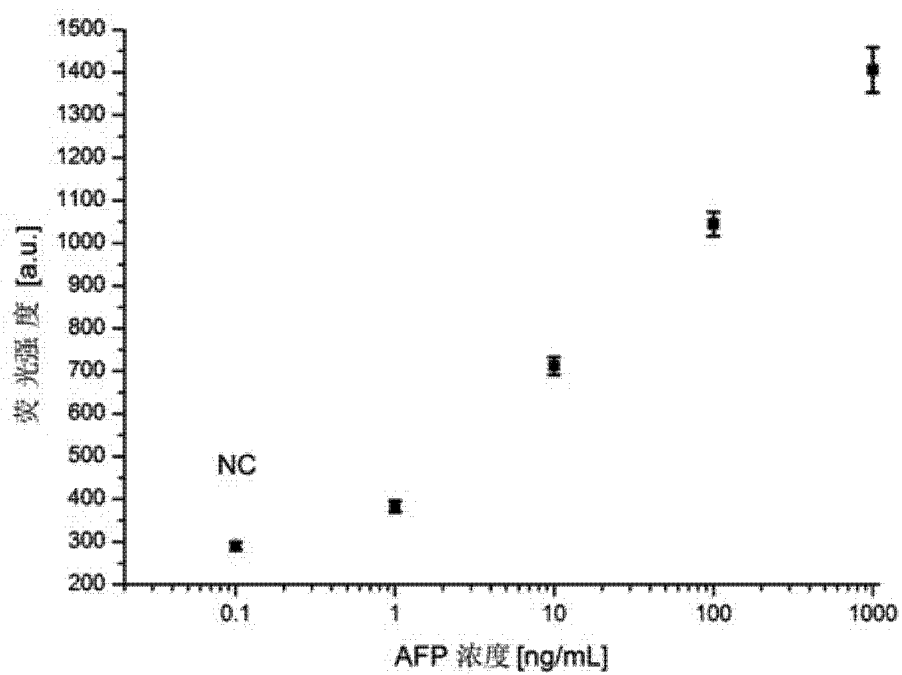


图 9

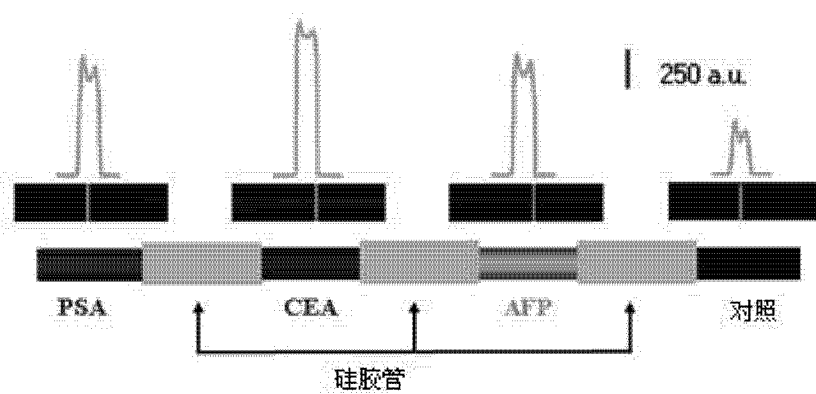


图 10

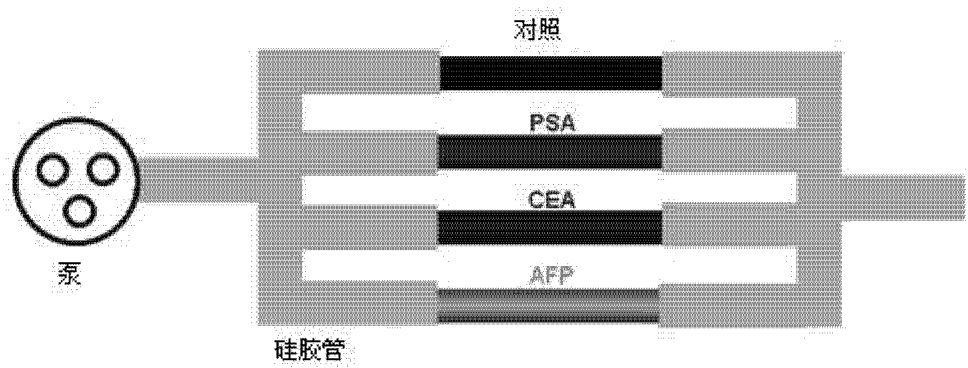


图 11

专利名称(译)	纳米氧化锌修饰的免疫毛细管及其制备方法和应用		
公开(公告)号	CN103018462A	公开(公告)日	2013-04-03
申请号	CN201210550889.1	申请日	2012-12-18
[标]申请(专利权)人(译)	西南大学		
申请(专利权)人(译)	西南大学		
当前申请(专利权)人(译)	西南大学		
[标]发明人	李长明 胡卫华 刘英帅		
发明人	李长明 胡卫华 刘英帅		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/531 G01N21/64		
其他公开文献	CN103018462B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及纳米氧化锌修饰的免疫毛细管及其制备方法和应用，免疫毛细管是在玻璃毛细管内表面生长纳米氧化锌，然后在纳米氧化锌上结合检测探针而成，利用了其中纳米氧化锌具有巨大的比表面积，能有效提高抗体蛋白的表面密度，同时纳米氧化锌具有放大荧光标记蛋白的荧光信号的独特物理性质；而毛细管则能提供流动检测所需微通道并具有光学透明性质，从而实现快速的、定量免疫检测，能够用于恶性肿瘤早期筛查和食品安全分析。

