

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/53

G01N 33/535 G01N 33/573

G01N 33/577



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03127115.4

[43] 公开日 2004 年 7 月 28 日

[11] 公开号 CN 1515909A

[22] 申请日 2003.8.27 [21] 申请号 03127115.4

[71] 申请人 魏景艳

地址 130021 吉林省长春市新民大街 8 号吉林大学

[72] 发明人 魏景艳 房学迅 李善玉 杨 柏 王丽萍

[74] 专利代理机构 吉林长春新纪元专利代理有限公司

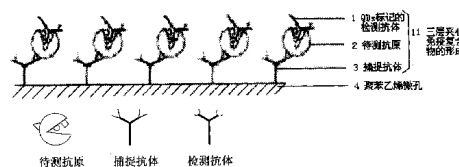
代理人 陈宏伟

权利要求书 3 页 说明书 11 页 附图 3 页

[54] 发明名称 量子点标记的夹心免疫检测法及其诊断试剂盒

[57] 摘要

本发明公开一种量子点标记的夹心免疫检测法及诊断试剂盒，是以 QDs 纳米粒子作为标记物，应用于抗原抗体特异性夹心反应的一种新型夹心免疫检测法。首先将捕捉抗体直接或间接包被在聚苯乙烯板的微孔中，经捕捉抗体 - 抗原 - 检测抗体三层夹心发光免疫复合体的形成，荧光强度的检测过程完成的。根据每种 QD 具有狭窄对称的荧光谱峰，选用发射不同光的量子点标记针对不同抗原的抗体可同时检测同一样品中的多种待测抗原，为解决一种疾病多致病因素时同时需做多次检测诊断的问题提供可能。本法操作简单易行，不需进一步的显色反应，直接通过荧光酶标仪测定检测结果；所发射的荧光谱峰狭窄，灵敏度高；荧光强度高，稳定时间长。



I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、一种量子点标记的夹心免疫检测法，其特征在于：将捕捉抗体直接或间接包被在聚苯乙烯板的微孔，形成三层夹心发光免疫复合体，用荧光酶标仪激发并检测所形成的捕捉抗体-抗原-检测抗体三层夹心发光免疫复合物的荧光强度，通过与标准溶液对比求出待测抗原的浓度。

2、根据权利要求1所述的检测方法，其特征在于：三层夹心发光免疫复合体的形成是加入待测样品后，捕捉抗体-抗原先反应形成二元免疫复合物，加入检测抗体后，再通过抗原与检测抗体的特异性结合形成捕捉抗体-抗原-检测抗体三层夹心的发光免疫复合体。

3、根据权利要求1所述的检测方法，其特征在于：三层夹心发光免疫复合体的形成是同时加入生物素化的捕捉抗体、待测样品和检测抗体后，一步反应直接形成捕捉抗体-抗原-检测抗体三层夹心发光免疫复合体并借助亲和素或链霉亲和素与生物素的特异性结合将该发光免疫复合体固定到聚苯乙烯板的微孔上。

4、根据权利要求1或2、3所述的检测方法，其特征在于：所说的检测抗体是指用量子点标记的抗待测抗原的单克隆抗体，选用发射不同光的量子点标记针对不同抗原的抗体可同时检测同一样品中的多种待测抗原。

5、根据权利要求1或2、3所述的检测方法，其特征在于：量子点则是指能够发射荧光的具有核壳结构的纳米粒子，其核壳由半导体材料包覆而成，其核心部分为 CdS、CdSe、CdTe、MgS、MgSe、MgTe、

CaS 等任何一种发光量子点或称为半导体纳米微晶体，其发光颜色因大小不同而异。

6、根据权利要求 1 或 2、3 所述的检测方法，其特征在于：捕捉抗体也是抗待测抗原的单克隆抗体，这两株单抗应识别待测抗原分子上不同的抗原表位，即具有互补性，能同时结合到同一抗原分子上。

7、根据权利要求 1 或 2、3 所述的检测方法，其特征在于：所说的用荧光酶标仪激发并检测所形成的捕捉抗体-抗原-检测抗体三层夹心发光免疫复合物的荧光强度是指用不同 QDs 标记的检测抗体经荧光酶标仪激发后发射出不同颜色的光谱，在每种光谱的最大吸收波长范围内检测其荧光强度。

8、根据权利要求 1 或 2、3 所述的检测方法，其特征在于：上述的待测抗原可以是任何一种蛋白、肽类或其他小分子抗原，可以是心肌肌钙蛋白 I (cTnI)、胎儿甲种球蛋白 (AFP)、乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 等；相应的捕捉抗体和检测抗体应为特异性抗每种待测抗原的多克隆或单克隆抗体，它们可以是抗心肌肌钙蛋白 I 抗体，抗 AFP 抗体，抗 HBsAg 抗体等；使用不同的单克隆或多克隆抗体，就可检测不同的相应的待测抗原。

9、一种量子点标记的夹心免疫检测法诊断试剂盒，其特征在于组成包括：

包被有捕捉抗体的聚苯乙烯微孔板或包被有亲和素的聚苯乙烯微孔板和生物素化的捕捉抗体、

量子点标记的检测抗体、

阳性对照血清、

阴性对照血清、

pH7.2-7.4 磷酸盐缓冲液。

10、根据权利要求9所述的试剂盒，其特征在于：捕捉抗体和标记抗体是抗几种抗原的抗体混合物，用该试剂盒同时检测同一样品中相应的几种抗原。

量子点标记的夹心免疫检测法及其诊断试剂盒

技术领域：

本发明涉及一种用量子点标记的已知抗体定量检测相应抗原的方法，特别是公开了一种量子点标记的夹心免疫检测法及其诊断试剂盒，属于免疫检测方法技术领域，

背景技术：

与本发明相近的现有技术是双抗体夹心酶联免疫分析法（ELISA）或称为免疫酶定量分析法（IEMA）。见 Larue C, et al. Clin. Chem. 1993, 39: 972-979. Cardiac-specific immunoenzymometric assay of troponin I in the early phase of acute myocardial infarction 等文章。这类方法是将抗待测抗原的多克隆或单克隆抗体作为捕捉抗体（第一抗体），用辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶标记的另一株单克隆抗体作为检测抗体，最后加入酶的底物，通过酶标仪检测酶作用于底物引起的颜色变化计算出待测抗原的种类及浓度。所有反应均是在 pH7.2- 7.4，10mM 磷酸盐缓冲液(PBS)中进行的，这种环境有利于抗原-抗体的特异性结合。该法的灵敏度为 0.2-1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 不等。

现有技术是加入能够作用于底物引起颜色变化的酶标第二抗体，即检测抗体，再加入相应酶的底物，反应一定时间后，用酶标仪测定反应产物在某一特定波长的吸光度值，根据已知标准物质的含量计算或直接显示样品中待测抗原的浓度。因此操作烦琐、费时、检测周期长、显色

不稳定。

发明内容:

本发明的目的就是提供一种量子点标记的夹心免疫检测法,实现多成分标记同时检测同一样品中的多种抗原成分。

本发明的进一步目的是提供了相应的诊断试剂盒。

本发明是以 QDs 纳米粒子作为标记物,应用于抗原抗体特异性夹心反应的一种新型夹心免疫检测法。由于每种 QD 具有狭窄对称的荧光谱峰,选用发射不同光的量子点标记针对不同抗原的抗体可同时检测同一样品中的多种待测抗原,为解决一种疾病多致病因素时同时需做多次检测诊断的问题提供可能。

本发明的技术解决方案如下:

首先将捕捉抗体直接或间接包被在聚苯乙烯板的微孔中,经捕捉抗体-抗原-检测抗体三层夹心发光免疫复合体的形成,荧光强度的检测等过程完成的。

所说的检测抗体是指用量子点标记的抗待测抗原的单克隆抗体,如果捕捉抗体也是抗待测抗原的单克隆抗体,这两株单抗应识别待测抗原分子上不同的抗原表位,即具有互补性,能同时结合到同一抗原分子上;量子点则是指能够发射荧光的具有核壳结构的纳米粒子,其核壳由半导体材料包覆而成,其核心部分为 CdS、CdSe、CdTe、MgS、MgSe、MgTe、CaS 等任何一种发光量子点或称为半导体纳米微晶体,其发光颜色因大小不同而异。

所说的包被是利用常规的方法(如 ELISA 法)将抗待测抗原的单

克隆或多克隆抗体作为捕捉抗体直接或通过亲和素-生物素系统间接固定在聚苯乙烯微孔上。

所说的三层夹心发光免疫复合体的形成包括两种形式：第一种是指加入待测样品后，捕捉抗体-抗原先反应形成二元免疫复合物，加入检测抗体后，再通过抗原与检测抗体的特异性结合形成捕捉抗体-抗原-检测抗体三层夹心的发光免疫复合体；第二种形式是同时加入生物素化的捕捉抗体、待测样品和检测抗体后，一步反应直接形成捕捉抗体-抗原-检测抗体三层夹心发光免疫复合体并借助亲和素或链霉亲和素与生物素的特异性结合将该发光免疫复合体固定到聚苯乙烯板的微孔上；

所说的荧光强度的检测是用荧光酶标仪激发并检测所形成的捕捉抗体-抗原-检测抗体三层夹心发光免疫复合物的荧光强度，发不同光的抗体，选用不同波长的光进行检测，通常样品中待测抗原浓度越大，被捕捉抗体捕获的待测抗原的量越多，与之结合的检测抗体越多，则测得的荧光强度值越大。

上述的待测抗原可以是任何一种蛋白、肽类或其他小分子抗原，可以是心肌肌钙蛋白 I (cTnI)、胎儿甲种球蛋白 (AFP)、乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 等。相应的捕捉抗体和检测抗体应为特异性抗每种待测抗原的多克隆或单克隆抗体，它们可以是抗心肌肌钙蛋白 I 抗体，抗 AFP 抗体，抗 HBsAg 抗体等。使用不同的单克隆或多克隆抗体，就可检测不同的相应的待测抗原。

一种量子点标记的夹心免疫检测法**诊断试剂盒**，组成包括：

包被有捕捉抗体的聚苯乙烯微孔板或包被有亲和素的聚苯乙烯微孔

板和生物素化的捕捉抗体；

量子点标记的检测抗体；

阳性对照血清；

阴性对照血清；

pH7.2-7.4 磷酸盐缓冲液。

如果捕捉抗体和标记抗体是抗几种抗原抗体的混合物，则可同时用该试剂盒检测同一样品中相应的几种抗原。

使用方法：将每种试剂按说明书稀释或溶解后按以下流程操作。

1) 发光免疫复合体的形成：

第一种方法：是加入待测样品，37℃温浴使捕捉抗体-抗原反应形成二元免疫复合物，加入检测抗体，37℃温浴使形成捕捉抗体-抗原-检测抗体三层夹心的发光免疫复合体；

第二种方法：是同时加入生物素化的捕捉抗体、待测样品和检测抗体，37℃温浴一定时间后一步反应直接形成捕捉抗体-抗原-检测抗体三层夹心的发光免疫复合体并借助亲和素或链霉亲和素与生物素的特异性结合将该发光免疫复合体固定到聚苯乙烯板的微孔上；

2) 荧光强度检测：用荧光酶标仪在特定波长范围内激发并检测发光免疫复合体的荧光强度。

本发明与传统荧光染料标记的免疫荧光分析法相比，具有的以下积极效果：具有狭窄对称的荧光谱峰；发射光谱可调，其发射波长可以是单一的，也可以是多重的；对化学物质和生理代谢的降解有很强的抵抗力，光漂白域值高；荧光强度高，可达传统荧光染料的4—9倍以上。

克服了以往的夹心免疫检测法显色单一，在多种待检物同时检测方面存在的局限性。本法操作简单易行，不需进一步的显色反应，即能直接通过荧光酶标仪检测结果。

本发明还具有以下优点：

(1) 用不同直径的 QDs 标记针对不同抗原的抗体能同时检测同一样品中的多种抗原成分；(2) 本法操作简单，不需加显色物质就能检测待测抗原的含量，即检测抗体与抗原结合后，通过检测捕捉抗体-抗原-检测抗体三层夹心免疫复合物的荧光强度，直接检测样品中待测抗原的吸光度或浓度值，无论操作还是反应均较背景技术少一步，通常只需 1-2 步即可完成；(3) 本法用于标记检测抗体的量子点能够发射较传统荧光染料更强的荧光，且荧光稳定时间长，而背景技术的显色产物随时间延长稳定性降低。

附图说明：

图 1. 聚苯乙烯微孔中三层夹心结构的样品及其形成过程示意图。

图 2. 聚苯乙烯微孔中生物素-亲和素连接层及三层夹心结构的样品及其形成过程示意图。

图 3. 用量子点标记的夹心免疫法检测 cTnI 标准曲线。

图 4. 用量子点标记的夹心免疫法检测 HBsAg 标准曲线。

图 5. 用量子点标记的夹心免疫法检测 AFP 标准曲线。

本发明的三层夹心结构的样品及其形成过程可以用图 1 和图 2 形象地表述，所说的三层夹心结构就是捕捉抗体/抗原/检测抗体的三层分子的夹心结构。

图 1 中, 1 为 QDs 标记的检测抗体, 2 为待测抗原, 3 为捕捉抗体, 4 为聚苯乙烯板的微孔, 11 是三层夹心免疫复合物的形成。

图 2 中 5 为 QDs 标记的检测抗体, 6 为待测抗原, 7 为捕捉抗体, 8 为生物素, 9 为亲和素或链霉亲和素, 10 为聚苯乙烯板的微孔, 12 是三层夹心免疫复合物的形成。三层夹心结构中, 第一层为捕捉抗体(一抗), 第二层为待测抗原, 第三层为检测抗体(二抗)。

具体实施方式:

下列实施例旨在进一步举例描述本发明, 而不是以任何方式限制本发明。在不背离本发明的精神和原则的前提下, 对本发明所作的本领域普通技术人员容易实现的任何改动或改变都将落入本发明的待批权利要求范围之内。

实施例 1:

心肌肌钙蛋白 I (cTnI) 的量子点标记的夹心免疫检测

(一) 用发红光的 QD630 标记抗 cTnI 单克隆抗体, 制备检测抗体

方法 1: 依靠静电吸引力连接: 使生物分子连接到 QDs 表面包覆的一层带负电荷的游离基团上。方式有: a) 在 QDs 外层包覆一层二氢硫辛酸 (dihydrolipoic acid, DHLA), 再连接上亲和素, 以后根据需要将蛋白、核酸甚至细胞膜生物素化, 依靠生物素-亲和素之间的高度特异性结合力将 QDs 标记到目标分子上; b) 直接将带正电荷的蛋白连接到 QDs 上; c) 通过一个带正电荷的亮氨酸拉链蛋白为桥将连接在拉链另一端的单抗标记上 QDs。

方法 2: 共价偶联: a) 将 QDs 包覆一层聚丙烯酸, 然后修饰成疏

水性的聚丙烯酸酯，再将抗体、链霉亲和素、或其他蛋白共价偶联到 QDs 上； b) 将巯基乙酸连接到 QDs 的外壳上，游离在外的巯基乙酸使 QDs 具有良好的水溶性，为生物分子的共价偶联提供了连接位点，又能减少带负电的蛋白吸附到粒子身上。

方法 3：包埋：将共吸附肽用聚乙烯乙二醇层包覆到 QDs 上；或者埋入磷脂封闭的共聚合微束中。

方法 4：亲和素—生物素连接法，（具体过程：将量子点连接到亲和素上，再与生物素化抗体结合。

（二）捕捉抗体的包被

方法 1：直接将捕捉抗体吸附到聚苯乙烯微孔上

用包被缓冲液将捕捉抗体稀释至 $1-20 \mu\text{g} / \text{mL}$ ，每孔 $50-100 \mu\text{L}$ ， 4°C 冰箱过夜或 37°C 2 小时，用磷酸盐缓冲液（PBS, 10mmol/L , $\text{pH}7.2-7.4$ ，含 $\text{NaCl } 8.5\text{g/L}$ ）洗 3 次，按 $200 \mu\text{L}/\text{孔}$ 加 3% BSA，封闭剩余的位点。

方法 2：将亲和素或链霉亲和素吸附到聚苯乙烯微孔上

用包被缓冲液将亲和素或链霉亲和素稀释至 $1-20 \mu\text{g} / \text{mL}$ ，每孔 $50-100 \mu\text{L}$ ， 4°C 冰箱过夜或 37°C 2 小时，用 PBS（ 10mmol/L , $\text{pH}7.2-7.4$ ，含 $\text{NaCl } 8.5\text{g/L}$ ）洗 3 次，按 $200 \mu\text{L}/\text{孔}$ 加 3% BSA，封闭剩余的位点。以后根据需要将捕捉抗体生物素化，依靠生物素-亲和素之间的高度特异性结合力将捕捉抗体-抗原-检测抗体三元发光免疫复合体结合到聚苯乙烯微孔上。

（三）捕捉抗体-抗原-检测抗体夹心三元发光免疫复合体的形成

检测抗体是能与捕捉抗体同时结合到同一 cTnI 分子上的另一株单

抗，两者结合 cTnI 分子上的不同抗原表位。

在第一种包被方式中，加入待测样品后，37℃ 1 小时，包被在聚苯乙烯微孔上的捕捉抗体与 cTnI 抗原特异性结合，在聚苯乙烯微孔表面形成捕捉抗体-抗原-二元免疫复合物，用 PBS（10mmol/L, pH7.2-7.4, 含 NaCl 8.5g/L）洗 3 次，去掉非特异性吸附。加入检测抗体，37℃ 1 小时，后者通过与 cTnI 抗原的特异性结合在聚苯乙烯微孔表面形成捕捉抗体-抗原-检测抗体夹心的三元发光免疫复合体，用 PBS（10mmol/L, pH7.2-7.4, 含 NaCl 8.5g/L）洗 3 次，去掉非特异性吸附；

在第二种包被方式中，同时将生物素化的捕捉抗体、待测样品、检测抗体加入聚苯乙烯微孔中，37℃ 1 小时，所形成的捕捉抗体-抗原-检测抗体夹心的三元发光免疫复合体通过生物素-亲和素之间的高度特异性结合连接到聚苯乙烯微孔上，用 PBS（10mmol/L, pH7.2-7.4, 含 NaCl 8.5g/L）洗 3 次，去掉非特异性吸附。

（四）定量荧光检测

量子点标记的夹心免疫检测法的测定原理是通过检测结合到聚苯乙烯微孔上的捕捉抗体-抗原-检测抗体夹心的三元免疫复合物的荧光强度来实现对待测物质的检测的。可直接显示或与标准曲线对比求出样品中 cTnI 的浓度。结合到聚苯乙烯微孔上的量子点标记的检测抗体数量不同，产生的荧光强度不同。通常捕捉抗体捕捉的待测抗原的量越多，与之结合的检测抗体越多，则测得的浓度或荧光强度值越大。

选用 $560 \pm 27.5\text{nm}$ 的激发波长和 $635 \pm 10\text{nm}$ 的发射波长可得到该种量子点的最大发射和吸收光谱，发射光为红色。几乎所有荧光酶标仪都

能直接显示浓度值，如不能显示，则需绘制标准曲线：将已知 cTnI 含量的标准溶液配制成由低至高 5 种不同浓度，用与待测标本相同的方法，即重复第（二）、（三）步骤的操作，测定每种浓度的标准溶液对应的荧光强度，以 cTnI 浓度为横坐标，荧光强度为纵坐标，绘制标准曲线，见图 3。

实施例 2：

心肌肌钙蛋白 I (cTnI) 的量子点标记的夹心免疫检测法的特异性（验证方法的特异性）

为了说明该夹心免疫检测结果的特异性，用 BSA 代替 cTnI 作为待测抗原进行免疫检测，重复实施例 1 的全过程。实施例 2 中，所用的抗 cTnI 单克隆或多克隆抗体与 BSA 是非配对抗原抗体或非相关抗体，不具有选择性的识别作用，因此，不能特异性结合，也不能形成三层夹心的发光免疫复合体，即不能测到荧光，说明待检样品中不含有 cTnI，实验结果表明，样品中的非相关蛋白不会引起非特异性反应，该夹心免疫检测法具有高度特异性。

实施例 3：

乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 的量子点标记的夹心免疫检测

如同实施例 1 的各步操作，不同的是捕捉抗体和检测抗体为抗 HBsAg 的单克隆抗体或多克隆抗体，待检抗原只能是 HBsAg；所用量子点为发黄光的 QD570，荧光酶标仪的激发光波长为 460nm，发射光为黄色，发射波长为 $570 \pm 10\text{nm}$ 。同样将含有 HBsAg 的标本作为待检样品，通过检测荧光强度，直接显示或与标准曲线对比求出样品中 HBsAg

的浓度, 见图 4。

实施例 4:

胎儿甲种球蛋白 (AFP) 的量子点标记的夹心免疫检测

如同实施例 1 的各步操作, 不同的是捕捉抗体和检测抗体为抗 AFP 的单克隆或多克隆抗体, 待检抗原只能是 AFP; 所用量子点为发绿光的 QD535, 荧光酶标仪的激发光波长为 $480 \pm 20\text{nm}$, 发射光为绿色, 发射波长为 $535 \pm 10\text{nm}$ 。同样将含有 AFP 的标本作为待检样品, 通过检测荧光强度, 直接显示或与标准曲线对比求出样品中 AFP 的浓度, 见图 5。

实施例 5:

一次同时检测同一样品中 cTnI、HBsAg、AFP 的量子点标记的夹心免疫检测

如同实施例 1 的各步操作, 不同的是捕捉抗体是抗 cTnI、HBsAg、AFP 抗体的混合物; 检测抗体是分别用 QD630、QD570、QD535 标记的抗 cTnI、HBsAg、AFP 单克隆抗体的混合物, 待检抗原是 TnI、HBsAg、AFP; 检测 cTnI 时, 荧光酶标仪的激发光波长为 560nm , 发射光为红色, 发射波长为 $650 \pm 10\text{nm}$; 检测 HBsAg 时, 荧光酶标仪的激发光波长为 460nm , 发射光为黄色, 发射波长为 $570 \pm 10\text{nm}$; 检测 AFP 时, 荧光酶标仪的激发光波长为 $480 \pm 20\text{nm}$, 发射光为绿色, 波长为 $535 \pm 10\text{nm}$ 。

同样将含有 cTnI、HBsAg、AFP 的标本作为待检样品, 通过检测荧光强度, 直接显示或与标准曲线对比求出样品中 cTnI、HBsAg、AFP 的浓度。

该实施例所得标准曲线与上述单独检测每种单一抗原的结果几乎

完全一致，说明用本法同时检测同一样品中的多种抗原时，彼此不会产生干扰，这里不再单独绘制标准曲线。

实施例 6:

心肌肌钙蛋白 I (cTnI) 的量子点标记的夹心免疫检测试剂盒

组成：包被有抗 cTnI 的单克隆或多克隆抗体的聚苯乙烯微孔板（酶标板），或包被有亲和素的聚苯乙烯微孔板和生物素化的抗 cTnI 的单克隆或多克隆抗体；发绿光的 QD630 标记的抗 cTnI 的单克隆抗体；cTnI 阳性对照血清；cTnI 阴性对照血清；pH7.2-7.4 磷酸盐缓冲液。

试剂盒中每个组分的制备及使用方法、标准曲线的绘制同**实施例 1**。

实施例 7:

一次同时检测同一样品中 cTnI、HBsAg、AFP 的量子点标记的夹心免疫检测试剂盒

组成：包被有抗 cTnI、HBsAg、AFP 的单克隆或多克隆抗体混合物的聚苯乙烯微孔板（酶标板），或包被有亲和素的聚苯乙烯微孔板和生物素化的抗 cTnI、HBsAg、AFP 的单克隆或多克隆抗体的混合物；分别用 QD630、QD570、QD535 标记的抗 cTnI、HBsAg、AFP 单克隆抗体的混合物；cTnI 阳性对照血清；cTnI 阴性对照血清；pH7.2-7.4 磷酸盐缓冲液。

试剂盒中每个组分的制备及使用方法、标准曲线的绘制同**实施例 5**。

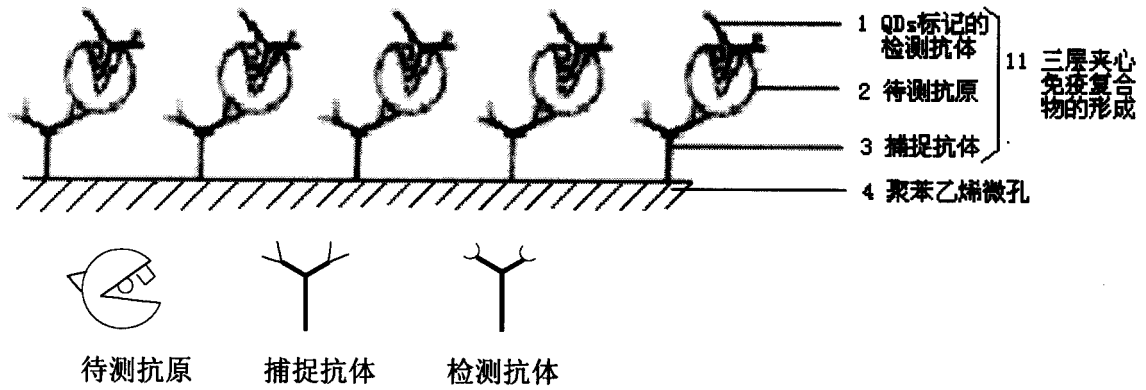


图 1.

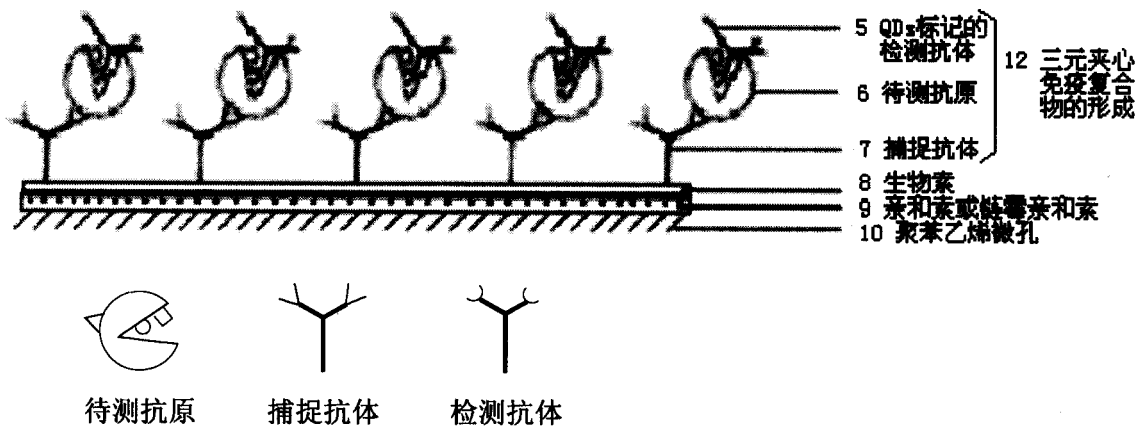


图 2.

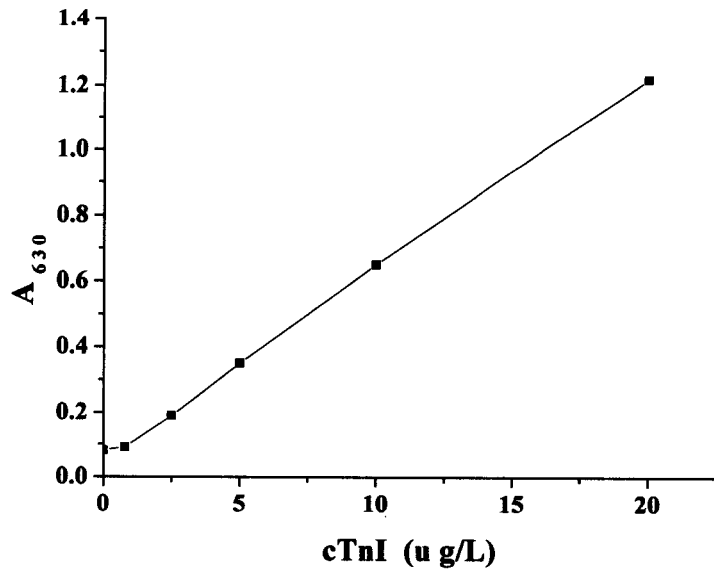


图 3.

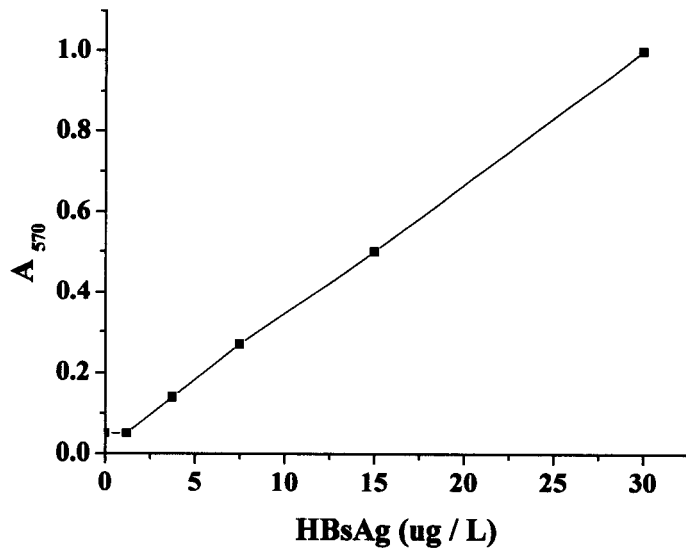


图 4.

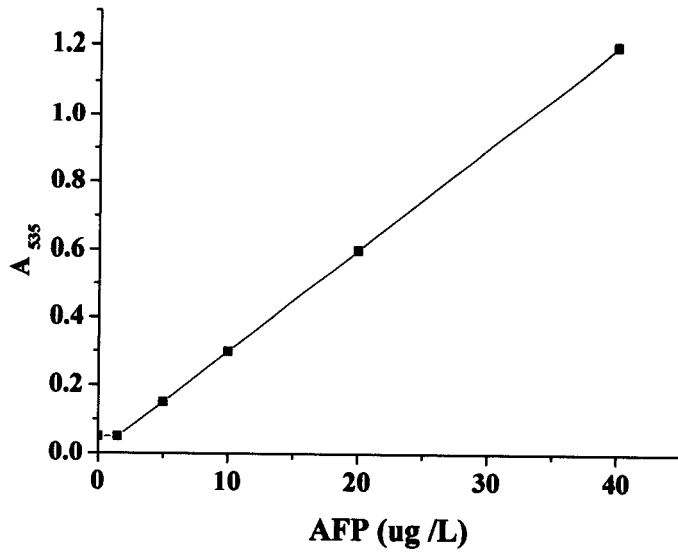


图 5.

专利名称(译)	量子点标记的夹心免疫检测法及其诊断试剂盒		
公开(公告)号	CN1515909A	公开(公告)日	2004-07-28
申请号	CN03127115.4	申请日	2003-08-27
[标]申请(专利权)人(译)	魏景艳		
申请(专利权)人(译)	魏景艳		
当前申请(专利权)人(译)	魏景艳		
[标]发明人	魏景艳 房学迅 李善玉 杨柏 王丽萍		
发明人	魏景艳 房学迅 李善玉 杨柏 王丽萍		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/535 G01N33/573 G01N33/577		
代理人(译)	陈宏伟		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开一种量子点标记的夹心免疫检测法及诊断试剂盒，是以QDs纳米粒子作为标记物，应用于抗原抗体特异性夹心反应的一种新型夹心免疫检测法。首先将捕捉抗体直接或间接包被在聚苯乙烯板的微孔中，经捕捉抗体 - 抗原 - 检测抗体三层夹心发光免疫复合体的形成，荧光强度的检测等过程完成的。根据每种QD具有狭窄对称的荧光谱峰，选用发射不同光的量子点标记针对不同抗原的抗体可同时检测一样品中的多种待测抗原，为解决一种疾病多致病因素时同时需做多次检测诊断的问题提供可能。本法操作简单易行，不需进一步的显色反应，直接通过荧光酶标仪测定检测结果；所发射的荧光谱峰狭窄，灵敏度高；荧光强度高，稳定时间长。

