

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 33/532 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810124478.X

[43] 公开日 2008年12月3日

[11] 公开号 CN 101315369A

[22] 申请日 2008.7.8

[21] 申请号 200810124478.X

[71] 申请人 东南大学

地址 210096 江苏省南京市四牌楼2号

[72] 发明人 赵祥伟 扈靖 赵远锦 李娟
赵文举 顾忠泽

[74] 专利代理机构 南京经纬专利商标代理有限公司

代理人 叶连生

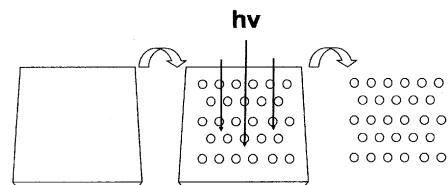
权利要求书2页 说明书9页 附图1页

[54] 发明名称

以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法

[57] 摘要

本发明公开了一种以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法，该方法中该方法采用具有编码的光子晶体水凝胶薄膜，使抗体或者抗原与光子晶体水凝胶薄膜结合，抗体或者抗原的种类用光子晶体水凝胶薄膜的编码来标识，通过多种利用光子晶体水凝胶薄膜标识的抗体或者抗原，同时检测同一个待测样品中相应的抗原或者抗体，水凝胶薄膜利用光子晶体特异的光反射峰和其不同形状来编码，不同编码的水凝胶薄膜表面分别固定不同的抗原或者抗体，将多个不同编码的水凝胶薄膜与同一个待测样品混合，可以同时检测样品中多个待分析物。这种基于光子晶体水凝胶薄膜的多元免疫分析方法具有灵敏度高，检测通量大，载体解码简单，检测成本低廉等优点。



1. 一种以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法，其特征在于检测方法包括以下步骤：

第一步，制备各种不同形状不同颜色的光子晶体水凝胶薄膜：将质量体积比为 10%的非紧密堆积型二氧化硅胶体晶体用丙烯酰胺和甲叉双丙烯酰胺混合液稀释至质量体积比在 3%~6%范围内的具有不同浓度的一组溶液，分别加入光引发剂，排出空气，灌入模具中，在不同浓度的光子晶体凝胶聚合前体溶液的模具上加盖不同形状的掩模，静置 20~30min，然后经紫外光照射聚合 40~60min，即得不同形状不同颜色的光子晶体水凝胶薄膜，将所得到的光子晶体水凝胶薄膜从模具上剥落，洗涤后置于纯水中保存；

第二步，制备多元免疫检测用具有复合编码的光子晶体水凝胶薄膜：将一种颜色或一种形状作为一种编码，选取由第一步制得的具有不同颜色或者不同形状的光子晶体水凝胶薄膜，在具有同种编码的水凝胶薄膜表面包被同种特异性抗原或者抗体制成一种免疫水凝胶薄膜，将分别制备好的免疫水凝胶薄膜用磷酸盐缓冲液洗涤，封闭缓冲液之后，将制备的各种不同形状不同颜色的水凝胶薄膜进行混合，即得到多元免疫检测用具有复合编码的光子晶体水凝胶薄膜；

第三步，检测：将第二步制备的多元免疫检测用具有复合编码的光子晶体水凝胶薄膜与待测样品混合进行抗原和抗体的特异性结合反应，反应完毕后用磷酸盐缓冲液洗涤，再加入标记二抗进行结合反应，反应结束磷酸盐缓冲液洗涤，检测具有复合编码的光子晶体水凝胶薄膜的标记二抗的信号即可得出待测样品中待测分子的有无及多少。

2.如权利要求 1 所述的以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法，其特征在于所述的光子晶体水凝胶薄膜的形状为星形、三角形、圆形、正方形、正五边形中任意一种或几种。

3. 如权利要求 1 所述的以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法，其特征在于第三步中所述的标记二抗的标记物为酶标记、化学发光物质、荧光标记或者量子点标记中的任意一种或几种。

4. 如权利要求 1 所述的以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法，

其特征在於第三步中所述的待测样品为病原微生物抗原或其抗体、细胞因子、肿瘤标志物、自身抗体、激素、神经递质、毒品、兴奋剂、各种细胞表面的可溶性标记或者各种可溶性受体分子中的任意一种或几种。

5.如权利要求 1 所述的以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法，其特征在於第一步中的光引发剂为偶氮异二丁腈。

以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法

技术领域

本发明涉及临床检测领域，特别涉及一种光子晶体编码的多元免疫检测方法。

背景技术

随着人类基因组序列得以解码之后，基因的功能以及基因编码的蛋白质之间的相互作用成为研究的热点，人类进入了后基因组时代。后基因组时代的一个显著特点就是研究大量的蛋白与核酸之间、蛋白质与蛋白质之间以及蛋白质与药物之间的相互作用，这些相互作用的研究在采用传统的试验方法几乎是不可能的，因此需要一种高通量的试验平台。而高通量的试验平台则要求有高通量的分子载体，来标识不同的分子发生的不同相互作用，即所谓的编码过程。传统方法如阵列式生物芯片，是利用分子所固定的不同位置也就是坐标作为编码来区别不同的生物分子，这样的编码量有限，而且限制其反应速度和应用。近年来，新型的编码载体相继出现，以光子晶体水凝胶作为载体进行编码成为高通量筛选以及组合化学等领域关注的热点。

相对于其他形式的载体，水凝胶载体具有显著的优势：第一，光子晶体水凝胶具有高度的亲水性，可以响应外界的刺激，体积发生显著的收缩或者膨胀，在一定的收缩和膨胀范围内不影响已锁定的胶体晶格结构，只会改变晶面间距，引起晶胶阵列衍射峰位置的变化，甚至会引起薄膜结构色的变化，可以逆向判断环境所发生的变化，进而可以检测相应的外界环境的变化；第二，可以在水凝胶上结合多克隆抗体，进行抗原检测。当抗原结合到抗体上时，就会改变凝胶的体积，根据布拉格衍射定理，相应的光子晶体薄膜的反射峰发生了蓝移，甚至能够引起光子晶体薄膜结构色薄膜。从而能够快速准确的进行抗原的检测。第三，形状编码又有其独特的优势，可以根据形状通过肉眼就能简单的对检测物加以分辨，具有其他编码没有的优势；第四，以水凝胶为载体可以保持蛋白的活性，提高检测

的稳定性。

免疫分析主要是利用抗体能够与相应抗原及半抗原发高特异性结合这一性质,通过将特定抗体或抗原作为选择性试剂来对相应待测抗原或抗体进行分析测定的方法。它的提出及发展是 20 世纪以来在生物分析化学领域所取得的最伟大的成就之一。免疫分析技术具有高度的准确性和特异性,因而在临床检验领域中倍受重视,发展迅速,成为检验方法中最为重要的技术之一。随着抗体和抗原制备技术的成熟及标记技术的发展和完善,免疫分析技术作为疾病诊断的主要手段已被广泛应用于机体免疫功能、肿瘤标志物、内分泌功能、传染性疾病、治疗药物监测、过敏原检测等体外诊断实验中,其中血凝技术、酶免疫技术、放射免疫分析技术、荧光免疫分析及免疫胶体金技术等已被大量地应用于日常的检验工作中。

最为常见的基于微孔板的酶免疫分析编码量小,所耗费的人力与物力都十分巨大,且在试验过程中难以充分保证蛋白的活性,难以保持很好的稳定性。因此,增大编码量,保证蛋白活性,提高检测稳定性的载体就越来越多的引起人们的兴趣。

多元分析的实现一般通过两种方式来实现。第一种是多探针标记法,也就是利用不同的荧光染料或者同位素等能在相同的分析条件下产生显著不同检测信号的标记探针来分析。随着需要测定的分析物的种类的增加多探针标记法对信号检测系统复杂度的要求增加,而且适合于同时检测的标记物体系也很少,因此其应用受到限制,一般只用于二元或者三元的免疫分析。第二种是编码载体法,即把抗原或者抗体固定在不同的编码载体上进行免疫分析,常见的有抗体微阵列芯片和液相芯片。但是这些方法检测起来成本很高,不便于临床推广。

发明内容

技术问题:针对现有多元检测技术成本高、编码量小的缺点,本发明提供了一种以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法,该检测方法用于多元免疫分析具有稳定性高,编码量大,有效保持蛋白活性的优点。

技术方案:本发明的目的可以通过以下方案实现:一种以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法,检测方法包括以下步骤:

第一步，制备不同形状不同颜色的光子晶体水凝胶薄膜：将质量体积比为10%的非紧密堆积型二氧化硅胶体晶体用丙烯酰胺和甲叉双丙烯酰胺混合液稀释至质量体积在3%~6%范围内的具有不同浓度的一组溶液，分别加入光引发剂。排出空气，灌入模具中，在不同浓度的光子晶体凝胶聚合前体溶液的模具上加盖不同形状的掩模，静置20~30min，然后经紫外光照射聚合40~60min，即得不同形状不同颜色的光子晶体水凝胶薄膜，将所得到的光子晶体水凝胶薄膜从模具上剥落，洗涤后置于纯水中保存；

第二步，制备多元免疫检测用复合编码光子晶体水凝胶薄膜：将一种颜色或一种形状作为一种编码，选取由第一步制得的具有不同颜色或者不同形状的光子晶体水凝胶薄膜，在具有同种编码的水凝胶薄膜表面包被同种特异性抗原或者抗体制成一种免疫水凝胶薄膜，将分别制备好的免疫水凝胶薄膜用磷酸盐缓冲液洗涤，封闭缓冲液之后，将制备的各种形状的水凝胶薄膜进行混合，即得到多元免疫检测用复合编码光子晶体水凝胶薄膜；

第三步，检测：将第二步制备的多元免疫检测用复合编码光子晶体水凝胶薄膜与待测样品混合进行抗原和抗体的特异性结合反应，反应完毕后用磷酸盐缓冲液洗涤，再加入标记二抗进行结合反应，反应结束磷酸盐缓冲液洗涤，检测复合编码光子晶体水凝胶薄膜的标记二抗的信号，即可得出待测样品中待测分子的有无及多少。所述的待测样品为病原微生物抗原或其抗体、细胞因子、肿瘤标志物、自身抗体、激素、神经递质、毒品、兴奋剂、各种细胞表面的可溶性标记或者各种可溶性受体分子中的任意一种或几种。

所述光子晶体水凝胶薄膜的结构是在水凝胶单体溶液中二氧化硅胶体粒子有序自组装的蛋白石结构光子晶体，或是反蛋白石结构的光子晶体；蛋白石或者反蛋白石结构的光子晶体能反射特定波长的光，其反射光谱具有特征反射峰，波长范围涵盖可见区，根据波长的不同可以显示出不同颜色。将一种颜色或一种形状作为一个编码，所述的光子晶体水凝胶薄膜的复合编码为光子晶体反射光谱中特征反射峰波长的数值与其不同形状复合而成，所述的光子晶体水凝胶薄膜的形状为星形、三角形、圆形任意一种或几种。这样可以大大扩大编码量。

光子晶体水凝胶薄膜表面抗原或者抗体利用其表面的功能基团进行共价连接。抗体或者抗原的种类用光子晶体水凝胶薄膜的编码来标识，在同种编码的水

凝胶薄膜上固定同种抗体或者抗原,使抗体或者抗原的种类与编码形成一一对应的关系。标记二抗的标记物是酶标记、化学发光物质、荧光标记、或者量子点标记。将多个不同编码的水凝胶薄膜与同一个待测样品混合,可以同时检测样品中多个待分析物。

有益效果:本发明以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法与现有多元免疫分析方法相比具有以下优点:

- (1) 本发明就是将光子晶体编码和水凝胶形状相结合,大大增加了编码量,如果 m 种特征反射峰的光子晶体有 n 种特征反射峰强度,那么就可以得到 n^m-1 种编码,同时可以有 k 种不同形状的光子晶体水凝胶薄膜,那么编码量就可以达到 $k(n^m-1)$ 种。
- (2) 采用不同浓度的光子晶体可以得到不同的反射峰位置编码,反射峰位置可以涵盖可见区域,而且半峰宽窄,本身编码量大。加之水凝胶薄膜可以制成不同的形状,可以与反射峰进行复合编码。从而,光子晶体水凝胶薄膜的编码量大大提高,可以满足同时检测多个指标的需要,也可以满足高通量检测的需要。
- (3) 光子晶体水凝胶薄膜具有高度亲水性,可以响应外界的刺激。
- (4) 光子晶体水凝胶薄膜荧光本底低,利于提高荧光的强度和检测反应的灵敏度。

附图说明

图 1 不同形状光子晶体水凝胶薄膜生成方式示意图。

图 2 以双抗夹心法为例的混合多元免疫测定水凝胶薄膜进行反应示意图。

图 3 以双抗夹心法为例的反应结束后分开多元免疫检测水凝胶薄膜检测信号示意图。

以上的图中有:光子晶体编码水凝胶薄膜网状结构 1、二氧化硅粒子 2、抗原 3、标记二抗 4。

具体实施方式

一种以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法,检测方法包括以下

步骤:

第一步,如图1所示,制备不同形状不同颜色的光子晶体水凝胶薄膜:将质量体积比为10%的非紧密堆积型二氧化硅胶体晶体用丙烯酰胺和甲叉双丙烯酰胺混合液稀释至质量体积比在3%~6%范围内的具有不同浓度的一组溶液,其中丙烯酰胺和甲叉双丙烯酰胺混合液中的丙烯酰胺和甲叉双丙烯酰胺的摩尔比为29:1,然后分别加入光引发剂。排出空气,灌入模具中,在不同浓度的光子晶体凝胶聚合前体溶液的模具上加盖不同形状的掩模,静置20~30min,以上所有的操作都在医用净化工作台内进行,然后经紫外光照射聚合40~60min,即得不同形状不同颜色的光子晶体水凝胶薄膜,将所得到的光子晶体水凝胶薄膜从模具上剥落,洗涤后置于4℃的纯水中保存;可以使用不同的掩模如三角形,圆形,正方形,星形等将水凝胶薄膜制成不同的形状。这样将光子晶体反射光谱中特征反射峰波长的数值与水凝胶薄膜的不同形状结合可以大大提高编码量。

第二步,如图2所示,制备多元免疫检测用复合编码光子晶体水凝胶薄膜:将一种颜色或一种形状作为一种编码,选取由第一步制得的具有不同颜色或者不同形状的光子晶体水凝胶薄膜,在具有同种编码的水凝胶薄膜表面包被同种特异性抗原或者抗体制成一种免疫水凝胶薄膜,抗原或者抗体通过化学键共价连接到光子晶体水凝胶薄膜上,将分别制备好的免疫水凝胶薄膜用磷酸盐缓冲液洗涤,吸去作为载体的水凝胶薄膜表面未结合的抗原或者抗体并对空位点进行封闭之后,将制备的各种形状的水凝胶薄膜进行混合,即得到多元免疫检测用复合编码光子晶体水凝胶薄膜;

第三步,如图3所示,检测:将第二步制备的多元免疫检测用复合编码光子晶体水凝胶薄膜与待测样品混合进行抗原和抗体的特异性结合反应,反应完毕后用磷酸盐缓冲液洗去未反应的物质,再加入标记二抗4进行结合反应,反应结束磷酸盐缓冲液洗去未反应物质,此时得到的水凝胶薄膜的结构就是光子晶体编码水凝胶薄膜网状结构1中包裹着二氧化硅粒子2,在光子晶体编码水凝胶薄膜网状结构1上共价键连接有抗原3或者抗体,抗原3或抗体又和标记二抗4结合。检测复合编码光子晶体水凝胶薄膜表面的标记二抗的信号,根据水凝胶薄膜的编码将水凝胶薄膜分开检测标记信号。信号的强弱与样品中待测成分的含量成正相关,这样就能够得到待测样品中的信息了。

待测样品可以是体液、组织液、细胞裂解液、血液、血清中的病原微生物抗原或其抗体、细胞因子、肿瘤标志物、自身抗体、激素、神经递质、毒品、兴奋剂、各种细胞表面的可溶性标记或者各种可溶性受体分子。

上述的第一步中的光引发剂可以为质量体积比为 1% 的偶氮异二丁腈，用量为引发剂量。上述二抗的标记物可以是酶标记、化学发光物质、荧光标记和量子点标记。按照水凝胶薄膜的颜色将水凝胶薄膜分开，对于酶标记物，加入标记酶的底物进行酶促反应或者化学发光反应后用酶标仪检测。对于荧光标记物，荧光信号可以通过荧光显微镜、荧光分光光度计、荧光光谱或者时间分辨荧光测定仪测定，由于光子晶体水凝胶薄膜荧光本底低，利于提高荧光的强度和检测反应的灵敏度。

在第一步的开始质量体积比为 10% 的非紧密堆积型二氧化硅的质量体积比检测方法如下：取 100 μ l 的二氧化硅溶液，将其在烘箱中烘干，称量其质量 m ，质量体积比浓度= $m/100$ ，将其换算成 mg/ml 即为实验中所提到的质量体积比浓度。在这个基础上再用丙烯酰胺和甲叉双丙烯酰胺混合溶液稀释至实验所需的浓度。

第一步中稀释后的二氧化硅胶体晶体在丙烯酰胺和甲叉双丙烯酰胺混合液中的质量体积比可以是 3%~6% 范围内的任意数值，比如 3%、4.2% 或者 6%；光子晶体凝胶聚合前体溶液的模具加盖掩模后静置 20~30min，可以是 20min、25min 或者 30min，为了非紧密堆积型交替晶体的形成。然后经过紫外光照射可以用高压汞灯在 4 $^{\circ}$ C 下照射反应 40~60min，如 40min、51min 或者 60min。

实施例 1

一种以颜色及形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法，检测步骤为：

第一步，制备各种不同形状不同颜色的光子晶体水凝胶薄膜：将质量体积比为 10% 的非紧密堆积型二氧化硅胶体晶体用丙烯酰胺和甲叉双丙烯酰胺混合液稀释至质量体积比为 3%、4% 的具有不同浓度的一组溶液，分别加入光引发剂，排出空气，灌入模具中，在不同浓度的光子晶体凝胶聚合前体溶液的模具上依次加盖三角形、圆形、正方形的掩模，静置 20min，然后经紫外光照射聚合 60min，

即得不同形状不同颜色的光子晶体水凝胶薄膜，将所得到的光子晶体水凝胶薄膜从模具上剥落，洗涤后置于纯水中保存；

第二步，制备多元免疫检测用具有复合编码的光子晶体水凝胶薄膜：在质量体积比为 3%的圆形水凝胶薄膜的表面包被一种毒素，质量百分比为 3%的三角形水凝胶薄膜的表面再包被一种激素，在质量百分比为 3%的正方形水凝胶薄膜的表面包被一种肿瘤标志物，在质量百分比为 4%的圆形水凝胶薄膜的表面包被一种神经递质，在质量百分比为 4%的三角形水凝胶薄膜的表面包被一种兴奋剂，在质量百分比为 4%的正方形水凝胶薄膜的表面包被一种细胞因子，将分别制备好的免疫水凝胶薄膜用磷酸盐缓冲液洗涤，封闭缓冲液之后，将制备的各种不同形状和不同颜色的水凝胶薄膜进行混合，即得到多元免疫检测用具有复合编码的光子晶体水凝胶薄膜；

第三步，检测：将第二步得到的多元免疫检测用具有复合编码的光子晶体水凝胶薄膜与 FITC，量子点或化学方法物质标记的待测样品（比如说为细胞裂解液、血液、体液等）混合进行抗原和抗体的特异性结合反应，反应完毕，用洗涤缓冲液洗涤，分别测定每个光子晶体水凝胶薄膜的荧光强度或发光物质强度，结合形状以确定其编码，并用光纤光谱仪测定水凝胶薄膜的反射光谱即可分析得出待测血清中含有的待测物质表面抗原抗体的含量。

实施例 2

使用光子晶体水凝胶薄膜进行血液中艾滋病病毒（HIV）和乙型肝炎病毒（HBV）的检测：

（1）在相同颜色的三角形和圆形的光子晶体水凝胶薄膜上分别包被艾滋病病毒合成肽抗原和乙型肝炎表面抗原，在与前两种水凝胶薄膜具有不同颜色的三角形的光子晶体水凝胶薄膜上包被牛血清白蛋白做为对照。三种包被过的编码水凝胶薄膜分别用磷酸盐缓冲液（PBS）洗两次，加入质量体积比为 1%的牛血清白蛋白（BSA）封闭。磷酸盐缓冲液（PBS）洗涤两次后，将三种包被过的编码水凝胶薄膜混合，得到不同特异性的多元免疫水凝胶薄膜。

（2）将混合后的三种编码水凝胶薄膜，加入到 100ul 待测血清中，37℃孵育

30 分钟，吸去反应液，PBS 洗涤两次后加入荧光 FITC 标记的羊抗人 IgG，37℃ 孵育 30 分钟，PBS 洗涤两次。

(3) 在荧光显微镜下观察水凝胶薄膜表面的荧光强度，并用光纤光谱仪测定水凝胶薄膜的反射光谱即可分析得出待测血清中含有的艾滋病抗体和乙型肝炎表面抗原抗体的含量。

实施例 3

使用多元免疫水凝胶薄膜进行 TORCH (TORCH 是指可导致先天性宫内感染及围产期感染而引起围产儿畸形的病原体，它是一组病原微生物的英文名称缩写，其中 T (Toxoplasma) 是弓形虫，R(Rubella.Virus) 是风疹病毒，C(Cytomegalo.Virus)是巨细胞，H(Herpes.Virus)即是单纯疱疹 I/II 型。) 诊断：

(1) 分别在 5 种不同颜色的三角形或正方形的光子晶体水凝胶薄膜上包 T.gondii, Rubella virus, CMV, HSV Type II 抗原和对照牛血清白蛋白，用磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗两次，加入质量体积比为 1% 的牛血清白蛋白 (BSA) 封闭，磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤两次后，将 5 种包被过的编码水凝胶薄膜混合得到不同特异性的多元免疫水凝胶薄膜。

(2) 将混合后的 5 种编码水凝胶薄膜，加入到 100ul 待测血清中，37℃ 孵育 30 分钟，吸去反应液，PBS 洗涤两次后加入辣根过氧化物酶标记的羊抗人 IgM，37℃ 孵育 30 分钟，PBS 洗涤两次后把五种编码水凝胶薄膜分别放入微孔板的五个微孔中，加入辣根过氧化物酶显色底物 TMB 溶液，37℃ 催化反应 20 分钟，加入 2M 的硫酸终止反应。用光纤光谱仪测定水凝胶薄膜的反射光谱即可得到待测血清中 5 种病原体的含量了。

实施例 4

使用光子晶体水凝胶薄膜进行四种肿瘤标记物 (AFP, CEA, CA125, CA199) 的检测：

1. 分别在不同颜色的三角形、圆形、正方形、星形和正五边形的光子晶体水凝胶薄膜上包 AFP, CEA, CA125, CA199 抗原和对照牛血清白蛋白，用磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗两次，加入质量体积比为 1% 的牛血清白蛋白 (BSA) 封闭，

磷酸盐缓冲液（PBS）洗涤两次后，将 5 种包被过的编码水凝胶薄膜混合得到不同特异性的多元免疫水凝胶薄膜。

2. 将混合后的五种编码水凝胶薄膜，加入到 100ul 待测血清中，37℃ 孵育 30 分钟，吸去反应液，PBS 洗涤两次后加入荧光 FITC 标记的羊抗人标记物抗体，37℃ 孵育 30 分钟，PBS 洗涤两次。

3. 在荧光显微镜下观察水凝胶薄膜表面的荧光强度，并用光纤光谱仪测定水凝胶薄膜的反射光谱即可分析得出待测血清中含有的表面抗原抗体的含量。

实施例 5

使用光子晶体水凝胶薄膜进行冠心病的检测：

1. 分别在红色三角形、蓝色圆形、绿色正方形的光子晶体水凝胶薄膜上包 C-reactive protein (CRP) and interleukin-6 (IL-6) 抗原和对照牛血清白蛋白，用磷酸盐缓冲液（PBS）洗两次，加入质量体积比为 1% 的牛血清白蛋白（BSA）封闭，磷酸盐缓冲液（PBS）洗涤两次后，将 3 种包被过的编码水凝胶薄膜混合得到不同特异性的多元免疫水凝胶薄膜。

2. 将混合后的 3 种编码水凝胶薄膜，加入到 100ul 待测血清中，37℃ 孵育 30 分钟，吸去反应液，PBS 洗涤两次后加入量子点标记的羊抗人标记物抗体，37℃ 孵育 30 分钟，PBS 洗涤两次。

3. 在荧光显微镜下观察水凝胶薄膜表面的荧光强度，并用光纤光谱仪测定水凝胶薄膜的反射光谱即可分析得出待测血清中含有的表面抗原抗体的含量。

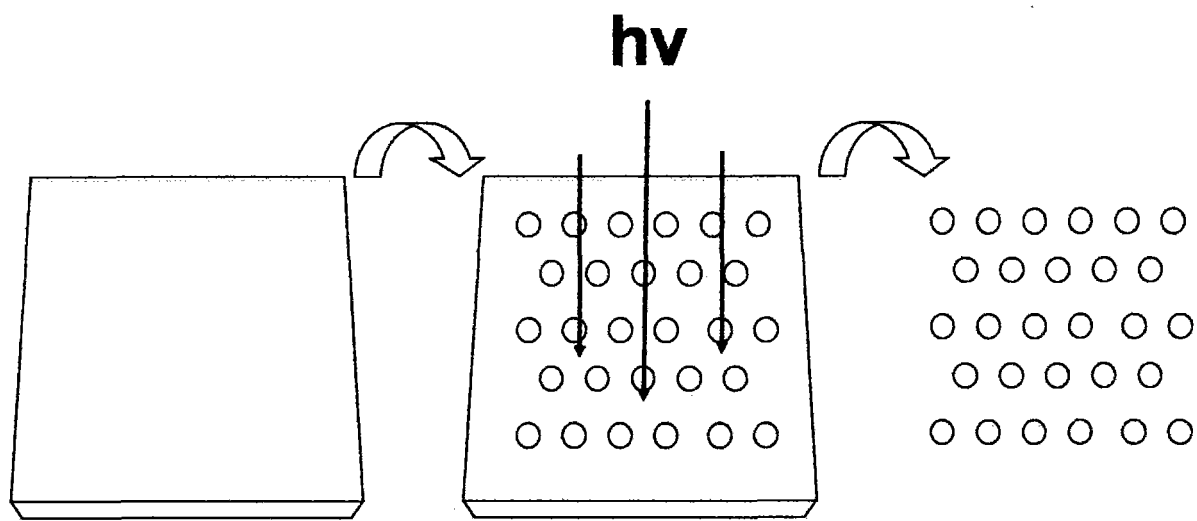


图 1

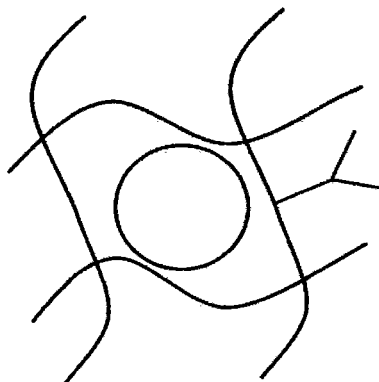


图 2

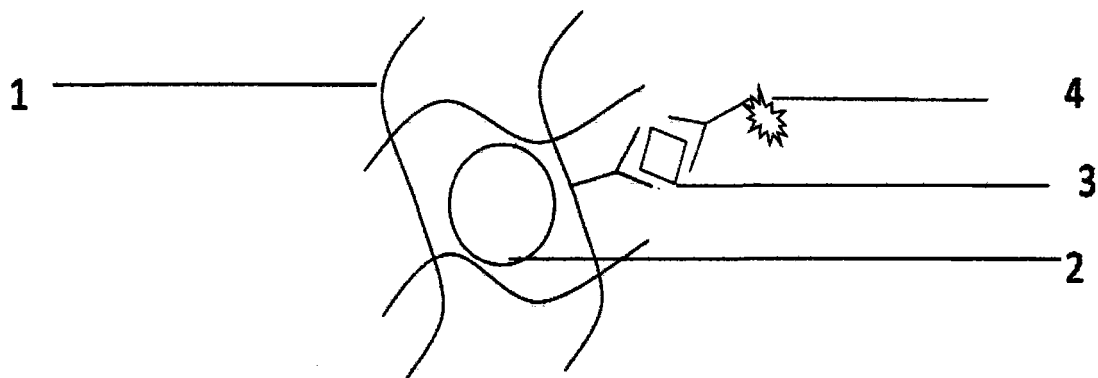


图 3

专利名称(译)	以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法		
公开(公告)号	CN101315369A	公开(公告)日	2008-12-03
申请号	CN200810124478.X	申请日	2008-07-08
[标]申请(专利权)人(译)	东南大学		
申请(专利权)人(译)	东南大学		
当前申请(专利权)人(译)	东南大学		
[标]发明人	赵祥伟 扈靖 赵远锦 李娟 赵文举 顾忠泽		
发明人	赵祥伟 扈靖 赵远锦 李娟 赵文举 顾忠泽		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/532		
代理人(译)	叶连生		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种以颜色和形状复合编码的水凝胶多元免疫检测方法，该方法中该方法采用具有编码的光子晶体水凝胶薄膜，使抗体或者抗原与光子晶体水凝胶薄膜结合，抗体或者抗原的种类用光子晶体水凝胶薄膜的编码来标识，通过多种利用光子晶体水凝胶薄膜标识的抗体或者抗原，同时检测同一个待测样品中相应的抗原或者抗体，水凝胶薄膜利用光子晶体特异的光反射峰和其不同形状来编码，不同编码的水凝胶薄膜表面分别固定不同的抗原或者抗体，将多个不同编码的水凝胶薄膜与同一个待测样品混合，可以同时检测样品中多个待分析物。这种基于光子晶体水凝胶薄膜的多元免疫分析方法具有灵敏度高，检测通量大，载体解码简单，检测成本低廉等优点。

