



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105181956 A

(43) 申请公布日 2015. 12. 23

(21) 申请号 201510638224. X

(22) 申请日 2015. 09. 30

(71) 申请人 华东理工大学

地址 200237 上海市徐汇区梅陇路 130 号

(72) 发明人 龙亿涛 赵立军 马巍 韩焕兴
于汝佳

(74) 专利代理机构 上海翼胜专利商标事务所
(普通合伙) 31218

代理人 翟羽 曾人泉

(51) Int. Cl.

G01N 33/533(2006. 01)

G01N 33/543(2006. 01)

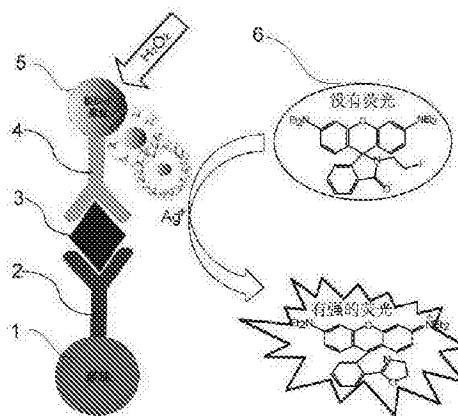
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

基于金属离子特异响应的荧光检测法在免疫检测中的应用

(57) 摘要

本发明基于金属离子特异响应的荧光检测法在免疫检测中的应用,是将传统的金属离子荧光检测方法与金属纳米标记免疫技术相结合并应用于免疫检测中,它解决了传统荧光分子与生物蛋白分子连接困难的问题,实现了对检测信号的有效放大,解决了酶催化反应对实验条件要求苛刻而产生的问题;本发明在免疫检测中采用磁珠作为抗原、抗体的载体,能实现对待测样品的快速分离,使检测过程更简便快速,使检测的准确性、灵敏度都有很大的提高;本发明利用化学反应代替传统的酶催化过程并将荧光检测方法引入生物免疫检测,缩短了反应时间,提高了体系的稳定性,降低了检测成本,可在免疫分析检测及临床研究中发挥重要作用。



1. 基于金属离子特异响应的荧光检测法在免疫检测中的应用。
2. 根据权利要求 1 所述的应用,其特征在於,所述荧光检测法为利用金属离子促使荧光分子结构发生改变,使所述荧光分子产生一个从无到有的荧光变化,所述荧光变化的强度能通过荧光光谱仪直接判断和测量。
3. 根据权利要求 2 所述的应用,其特征在於,所述荧光分子含有金属纳米颗粒,所述金属纳米颗粒能通过化学反应产生金属离子,所述金属离子与免疫检测中的反应物结合在一起能引起金属离子荧光强度发生变化,且不同浓度金属离子引起的荧光强度的变化程度是不同的,用荧光光谱仪对荧光强度的变化进行测量便能实现对待测样品的定量检测。
4. 根据权利要求 1 所述的应用,其特征在於,在基于金属离子特异响应的荧光检测中采用磁珠作为抗原、抗体的载体。
5. 根据权利要求 4 所述的应用,其特征在於,所述磁珠采用活化试剂进行活化,经活化后的磁珠能与抗原、抗体相结合,进而实现对抗原和抗体的负载。
6. 根据权利要求 5 所述的应用,其特征在於,所述活化试剂为采用戊二醛或者水溶性的碳二亚胺缩合剂。

基于金属离子特异响应的荧光检测法在免疫检测中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物免疫检测技术领域,具体地说,涉及基于金属离子特异性响应的荧光检测方法在免疫检测中的应用。

背景技术

[0002] 本发明是利用各种金属离子荧光分子对金属离子的特异性响应以及荧光分子与金属离子容易发生特异性反应而引起自身荧光强度发生变化,并将这种变化应用于免疫检测的技术。由于不同浓度的金属离子引起荧光强度的变化是不同的,因此,用荧光光谱仪对相关荧光强度进行测量可实现免疫检测中的定量检测。

[0003] 荧光分子,因其具有最高可达单分子检测的高灵敏度,对亚微粒也具有可视的亚纳米空间分辨能力和亚毫秒时间分辨能力,所以在原位检测(荧光成像技术)以及利用光纤进行远距离检测等方面具有众多优势,已经发展成为一项重要的检测技术。在免疫检测方面,人们将免疫反应的特异性与荧光物质的敏感性、直观性相结合开发出了一种新的免疫检测技术——免疫荧光技术(IFA)。目前,在免疫荧光技术中常用的荧光标记物有:有机染料、半导体量子点阵及稀土离子配合物。相比较半导体量子点阵及稀土离子配合物,有机染料具有制作简单、原料来源丰富、价格低的优点。但是,传统有机染料的分子由于具有对光不稳定、背景荧光干扰强以及与生物分子的连接缺少共性等不足使其在应用上受到很大限制。

[0004] 金属纳米粒子因为能够共价结合抗原和抗体,已被应用于抗原抗体的特异性检测,这方面最典型的就是胶体金免疫检测技术。这一检测技术主要是利用纳米金的红色,通过抗体与纳米金结合(金标抗体),当抗原浓度较高时,金标抗体浓度也比较高,聚集产生红色:表示是阳性反应。由于这一检测技术本身显色机理的原因,其灵敏度较低,不适合用于检测低浓度的待测物,因此在应用上受到较大限制。而其他金属纳米粒子,如银纳米粒子、氧化铜纳米粒子等在免疫检测中也一直没有得到应用。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于弥补传统免疫检测技术中的不足,将金属离子荧光检测方法与金属纳米标记免疫技术相结合,采用金属纳米作为信号放大系统,利用磁珠作为抗原和抗体的载体,提供一种基于金属离子特异响应的荧光检测法在免疫检测中应用的技术,它能实现对测样品的快速分离,具有操作简便、检测快速、准确性好、检测成本低、灵敏度高的优点,可在免疫分析检测及临床研究中发挥重要作用。

[0006] 为实现上述目的,本发明采取了以下技术方案。

[0007] 一种基于金属离子特异响应的荧光检测法在免疫检测中的应用。

[0008] 进一步,所述荧光检测法为利用金属离子促使荧光分子结构发生改变,使所述荧光分子产生一个从无到有的荧光变化,所述荧光变化的强度能通过荧光光谱仪直接判断和测量。

[0009] 进一步,所述荧光分子含有金属纳米颗粒,所述金属纳米颗粒能通过化学反应产生金属离子,所述金属离子与免疫检测中的反应物结合在一起能引起金属离子荧光强度发生变化,且不同浓度金属离子引起的荧光强度的变化程度是不同的,用荧光光谱仪对荧光强度的变化进行测量便能实现对待测样品的定量检测。

[0010] 进一步,在基于金属离子特异响应的荧光检测中采用磁珠作为抗原、抗体的载体。

[0011] 进一步,所述磁珠采用活化试剂进行活化,经活化后的磁珠能与抗原、抗体相结合,进而实现对抗原和抗体的负载。

[0012] 进一步,所述活化试剂为采用戊二醛或者水溶性的碳二亚胺缩合剂。

[0013] 本发明的积极效果是:

(1) 将传统的金属离子荧光检测方法与金属纳米标记免疫技术相结合并应用于免疫检测中,不仅解决了传统荧光分子与生物蛋白分子连接困难的问题,实现了对检测信号的有效放大,而且避免了传统免疫试验中酶的使用,解决了酶催化反应对实验条件要求苛刻而产生的问题。

[0014] (2) 采用磁珠作为抗原、抗体的载体,实现了对待测样品的快速分离,使检测过程更简便快速,使检测的准确性、灵敏度都有很大的提高。

[0015] (3) 利用化学反应代替传统的酶催化过程并将所述荧光检测方法引入生物免疫检测,缩短了反应时间,提高了体系的稳定性,降低了检测成本,可在免疫分析检测及临床研究中发挥重要作用。

附图说明

[0016] 附图 1 为采用酶标板作为抗原、抗体的载体,基于银离子特异响应的荧光检测法在免疫检测中的应用的流程图。

[0017] 附图 2 为采用磁珠作为抗原、抗体的载体,基于银离子特异响应的荧光检测法在免疫检测中的应用的流程图。

[0018] 图中的标号分别为:

- | | | |
|------------|---------|----------|
| 101、酶标板; | 102、磁珠; | 2、包被抗体; |
| 3、抗原; | 4、标记抗体; | 5、银纳米颗粒; |
| 6、银离子荧光分子。 | | |

具体实施方式

[0019] 以下结合附图继续介绍本发明基于金属离子特异响应的荧光检测法在免疫检测中的应用的具体实施方式。提供 4 个实施例。应当指出,本发明的实施不限于以下所述的实施方式。

[0020] 实施例 1

采用酶标板作为抗原、抗体的载体,基于银离子特异响应的荧光检测法在甲胎蛋白(AFP)检测中的应用(参见图 1),应用中,酶标板 101 可采用 96 孔酶标板、48 孔酶标板或 384 孔酶标板等不同孔数的酶标板,所述酶标板均包含可拆与不可拆两种型号,酶标板的颜色包含黑色、白色以及无色透明色。所用包被抗体 2 为单克隆 AFP 抗体;所用抗原 3 采用 AFP 抗原;所用银标抗体为用银纳米颗粒 5 标记的多克隆 AFP 标记抗体 4;所用金属离子荧光分

子检测液为含有银离子荧光分子 6 的荧光检测液。

[0021] 首先,将包被抗体 2 吸附在酶标板 101 上。

[0022] 然后,将包被抗体 2 修饰的酶标板 101 与抗原 3 结合,并进一步与由标记抗体 4 与银纳米颗粒 5 相连接而得到的银标抗体相连接。

[0023] 第三,通过银纳米颗粒 5 与抗原 3 的对应关系,越多的抗原 3 能结合更多的银纳米颗粒 5,可通过银纳米颗粒 5 实现对抗原 3 的标记及信号的放大。

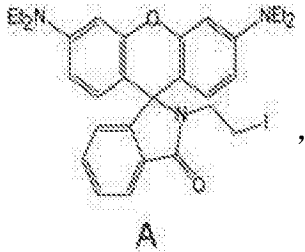
[0024] 最后,向标记好银纳米颗粒 5 的酶标板 101 中加入银离子荧光检测液(银离子荧光分子 6),通过测试银离子荧光检测液的荧光强度能定量出体系中银纳米颗粒 5 的多少,实现对抗原 3 的检测。

[0025] 其具体操作步骤如下(结合图 1 进行说明):

(1) 采用酶标板 101 作为抗原、抗体的载体(内容同上)。

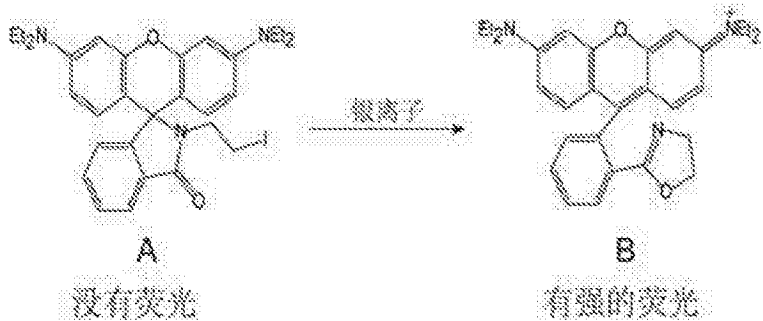
[0026] (2) 制备银离子荧光检测液

① 采用化合物 A 作为银离子荧光分子;所述化合物 A 的结构式为:



式中 Et = 乙基。

[0027] 所述化合物 A 自身处于一种荧光关闭的状态,没有荧光;但是,当有银离子存在时,银离子会与化合物 A 发生反应,致使化合物 A 的结构发生改变而转换成化合物 B;化合物 B 自身却有着很强的荧光,从而能实现一个荧光从无到有的变化:



式中 Et= 乙基。

[0028] ② 银离子荧光检测液的配置

将银离子荧光分子 6 溶于乙醇与水的混合溶剂中(含 20% 乙醇),构成混合溶剂并使银离子荧光分子 6 的最终浓度保持在 $1 \sim 20 \mu\text{M}$;向混合溶剂中分别加入双氧水与磷酸的水溶液,保持溶液中双氧水和磷酸的最终浓度分别为 $10 \sim 100\text{mM}$ 和 $1 \sim 20 \mu\text{M}$;超声,使各成分混合均匀;然后置于 4°C 条件下保存备用。

[0029] ③ 对制得的银离子荧光检测液的测试

取 $100 \mu\text{L}$ 银离子荧光分子溶液注入 $10 \mu\text{L}$ 的 $20 \sim 50 \mu\text{M}$ 硝酸银溶液,反应 10min 后,用 $530 \sim 560\text{nm}$ 可见光激发,可观察到明显的荧光产生,采用荧光分光光度仪测试,在 585nm

处有强的荧光,即认为该银离子荧光检测液对银粒子有灵敏的响应,可应用于免疫检测。

[0030] (3) 制备银标抗体

①将银纳米颗粒 5 与抗体结合,选择直径为 5nm ~ 200nm 的银纳米颗粒 5:取 10mL 的 1 ~ 20nM 银纳米颗粒 5 溶液加入 1 ~ 5 μL $5\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 AFP 多克隆抗体,将混合好的溶液置于摇床上混合 12 ~ 24h。(注:当银纳米颗粒 5 直径大于 200nm 时,加入双氧水,银离子的溶出速度会比较缓慢,需要超过 3h,而且银离子很难完全溶出;当银纳米颗粒 5 直径小于 5nm 时,银纳米颗粒 5 完全溶出所产生的银离子数小于 10^3 ,不足以达到所需的放大效果)。

[0031] ②向得到的银标抗体溶液中加入 200 μL 1 ~ 5% 牛血清白蛋白(BSA)对银纳米颗粒 5 表面没有结合甲胎蛋白多克隆抗体的部分进行封闭,25 $^{\circ}\text{C}$ 摇床上混合 12h,后置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存备用。

[0032] ③对制得的银标抗体的测试

I、经紫外可见吸收光谱表征,证明获得的是银标抗体。

[0033] II、经抗体活性测试,证明银标抗体保持了原有的抗体活性。

[0034] III、结论:制备的银标抗体可用于免疫检测。

[0035] 注:以上各步骤可一并做,也可以分开做,是为进行荧光检测的前序部分或者准备部分。

[0036] (4) 以甲胎蛋白 (AFP) 为例进行免疫检测

①将 AFP 的单克隆包被抗体 2 溶于 pH=9.6 的碳酸盐缓冲液中 ($4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),在酶标板 101 的每个孔中加入 100 μL 的上述溶液,4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下过夜。

[0037] ②用磷酸盐吐温缓冲液(PBST)清洗步骤①的酶标板 101 三至五次,加入 100 ~ 400 μL 1% 的牛血清白蛋白(BSA)封闭。

[0038] ③用磷酸盐吐温缓冲液(PBST)清洗步骤②的酶标板 101 三至五次,加入不同浓度的甲胎蛋白(AFP),在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 1 ~ 3h。

[0039] ④用磷酸盐吐温缓冲液(PBST)清洗步骤③的酶标板 101 三至五次,加入 100 ~ 200 μL 步骤(3)制备的银标抗体,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 1 ~ 3h。

[0040] ⑤用磷酸盐吐温缓冲液(PBST)清洗步骤④的酶标板 101 三至五次,加入 100 μL 步骤(2)制备的银离子分子溶液,反应 30min 后,通过荧光光谱进行定量检测。

[0041] 检测实施例 1 中荧光强度的表征意义(检测原理)

(1) 当甲胎蛋白浓度较高时,结合相应量的银标抗体,加入双氧水腐蚀后产生较高浓度的银离子,从而会促使较多的银离子荧光分子发生反应,检测液会产生较强的荧光。

[0042] (2) 当甲胎蛋白浓度较低或者浓度为 0 时,产生的银离子浓度响应较低或者不产生银离子,从而只有少量的银离子分子发生反应或者没有银离子分子发生反应,银离子荧光检测液的荧光强度也相对较弱或者是没有荧光。

[0043] (3) 本发明能利用银标抗体在对甲胎蛋白(AFP)的检测中实现用荧光法检测甲胎蛋白。但是,采用实施例 1 的方法容易产生较强的背景荧光干扰,从而影响检测的灵敏性和稳定性。

[0044] 实施例 2

采用酶标板作为抗原、抗体的载体,基于金属离子特异响应的荧光检测法在肝癌病人和非肝癌病人血清样本检测中的应用(可参考图 1),其各步骤的内容基本同实施例 1。实施

例 2 与实施例 1 所不同的是：

酶标板 1 采用 96 孔透明可拆酶标板，所用抗原 3 采用肝癌病人和非肝癌病人的血清样本。

[0045] 步骤(4) 以肝癌病人和非肝癌病人血清样本为例进行免疫检测

步骤(4) ①、②、④、⑤的内容同实施例 1。

[0046] 步骤(4) ③用磷酸盐吐温缓冲液(PBST) 清洗步骤(2) 的酶标板 101 三至五次，加入 100 μ L 用磷酸盐缓冲液稀释 100 倍的肝癌病人和非肝癌病人的血清样本，在 37 $^{\circ}$ C 条件下培养 1 小时。

[0047] 检测实施例 2 中荧光强度的表征意义

(1) 阳性样本——肝癌病人的血清样本，由于其甲胎蛋白含量较高，显示较强的荧光。而阴性样本——非肝癌病人的血清样本，由于甲胎蛋白含量较少，荧光强度非常弱。

[0048] (2) 通过与甲胎蛋白浓度的标准曲线进行比对，本发明能够更加方便、准确地检测到每一例待测血清样本中甲胎蛋白的含量。

[0049] (3) 实施例 2 证明：在免疫吸附试验中，通过不同浓度银纳米粒子引起的检测液荧光强度的变化，能实现临床样本的检测，但检测的稳定性较差。

[0050] 实施例 3

基于金属离子特异响应的荧光检测法在甲胎蛋白(AFP) 检测中的应用(参见图 2)，应用中，采用磁珠 102 作为抗原、抗体的载体。所述磁珠 102 包括直径 50 ~ 500nm 氨基磁珠、羧基磁珠、环氧基磁珠以及链霉亲和素磁珠，采用的包被抗体 2 为单克隆 AFP 抗体，采用的抗原 3 为 AFP 抗原，采用的银标抗体为用银纳米颗粒 5 标记的多克隆 AFP 抗体 4，采用的金属离子荧光分子检测液为含有银离子荧光分子 6 的荧光检测液。

[0051] 首先，将包被抗体 2 通过化学反应连接在磁珠 102 上。

[0052] 然后，将包被抗体 2 修饰的磁珠 102 与抗原 3 结合，并进一步与由标记抗体 4 与银纳米颗粒 5 相连接而得到的银标抗体相连接。

[0053] 第三，通过银纳米颗粒 5 与抗原 3 的对应关系，越多的抗原 3 能结合更多的银纳米颗粒 5，可通过银纳米颗粒 5 实现对抗原 3 的标记及信号的放大。

[0054] 最后，向标记好银纳米颗粒 5 的磁珠 102 中加入银离子荧光检测液(银离子荧光分子 6)，

通过测试银离子荧光检测液的荧光强度能定量出体系中银纳米颗粒 5 的多少，并最终实现对抗原 3 的检测。

[0055] 其具体操作步骤为(结合图 2 进行说明)：

(一) 磁珠 102 的制备(以氨基磁珠为例)

①取 100 μ L 氨基修饰磁珠 102 转移到 1mL 离心管中，磁吸去除上清液，用 200 μ L 磷酸盐缓冲溶液(PBS) (50mM, pH=7.4) 洗涤 2 次，然后移除上清液。

[0056] ②将新鲜配制的 100 μ L 戊二醛溶液(5 ~ 20%) 加入到步骤(一)①的离心管中，漩涡混匀使磁珠 102 充分悬浮，用锡箔纸包裹离心管后在 25 $^{\circ}$ C 条件下反应 1 ~ 5h，期间应保持磁珠 102 处于悬浮状态。

[0057] ③向步骤(一)②装有磁珠 102 的离心管中加入 50 ~ 200 μ g 生物配体(合适用量及浓度需要根据具体实验进行优化，保持溶液的 pH \approx 8.0，可加入 0.01 ~ 0.05% 的表面活

性剂(Tween 20)以提高磁珠 102 的分散性),轻摇至混匀。

[0058] ④将步骤(一)③装有磁珠 102 的离心管用锡箔纸包裹后置于温度 25℃的恒温箱中偶联 3 ~ 10h ;在偶联期间保持磁珠 102 处于悬浮状态。

[0059] ⑤将步骤(一)④的离心管置于磁性分离架上磁性分离去除上清液,加入 200 μ L 牛血清白蛋白(BSA)与磷酸盐缓冲溶液(pH=7.2,含 2%的 BSA)重悬磁珠 102,25℃条件下反应 1 小时,封闭磁珠 102 表面的非特异性吸附位点;在该期间应保持磁珠 102 的悬浮状态。

[0060] 将装有磁珠 102 的离心管置于磁分离架上磁性分离去除上清液,每次用 200 μ L 牛血清白蛋白(BSA)溶液(pH=7.2)洗涤 3 次以上,重新悬浮于保存液中(可根据需要来确定保存溶液的加入量,以调整磁珠 102 的浓度),于 4℃条件下保存备用。

[0061] 注:羧基磁珠 102 的制备步骤基本与氨基磁珠 102 的制备步骤相同,羧基磁珠 102 的制备所不同的是:

(1)①取 100 μ L 羧基磁珠 102 转移到 1mL 离心管中,磁吸去除上清液,用 200 μ L 1-羟基咪唑盐酸缓冲液(0.2M, pH=7.0)冲洗 2 次,然后移除上清液。

[0062] (1)②向步骤(1)①的离心管中加入 50 μ L 0.1 ~ 1.0M N,N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)水溶液和 50 μ L 0.1 ~ 1.0M 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)水溶液,漩涡混匀使磁珠 102 充分悬浮,用锡箔纸包裹离心管后在 37℃条件下反应 5 ~ 24h,期间应保持磁珠 102 处于悬浮状态。

[0063] 注:环氧基磁珠 102 以及链霉亲和素磁珠 102 的制备步骤也基本与氨基磁珠 102 的制备步骤相同,环氧基磁珠 102 以及链霉亲和素磁珠 102 的制备步骤有不同的是,不需要(1)②步骤的操作,其他步骤相同。

[0064] (2)制备银离子荧光检测液(同实施例 1)。

[0065] (3)制备银标抗体(同时实施例 1)。

[0066] 注:以上各步骤可一并做,也可以分开做,是为进行荧光检测的前序部分或者准备部分。

[0067] (4)以甲胎蛋白(AFP)为例进行免疫检测

①取 AFP 的单克隆包被抗体 2 修饰的磁珠 102 15 μ L (10mg/mL)放到 100 μ L 离心管中,用牛血清白蛋白(BSA)溶液洗涤 1 ~ 2 次后加入不同浓度的 AFP 3,在 37℃条件下孵育 1 ~ 3h ;期间应利用垂直混合仪进行颠倒混匀,保持磁珠 102 的悬浮状态。

[0068] ②用磷酸盐缓冲溶液(PBS)清洗步骤(4)①的磁珠 102 一至二次,加入 100 ~ 200 μ L 步骤(3)制备的银标抗体,在 37℃条件下孵育 1 ~ 3h。

[0069] ③用磷酸盐缓冲溶液(PBS)清洗步骤(4)②的磁珠 102 一至二次,加入 100 μ L 步骤(2)制备的银离子荧光检测液,37℃静置 30min 后通过荧光光谱仪进行荧光测试。

[0070] 检测实施例 3 中荧光强度的表征意义

(1)当甲胎蛋白浓度较高时,结合相应量的银标抗体,加入双氧水腐蚀后产生较高浓度的银离子,从而会促使较多的银离子荧光分子发生反应,检测液会产生较强的荧光。

[0071] (2)当甲胎蛋白浓度较低或者浓度为 0 时,当甲胎蛋白浓度较低或者浓度为 0 时,产生的银离子浓度响应较低或者不产生银离子,从而只有少量的银离子荧光分子发生反应或者没有银离子荧光分子发生反应,银离子荧光检测液的荧光强度也相对较弱或者是没有荧光。

[0072] (3)因此,本发明能利用银标抗体在对甲胎蛋白(AFP)的检测中实现用荧光法检测甲胎蛋白。

[0073] 实施例 4

基于金属离子特异响应的荧光检测法在肝癌病人和非肝癌病人血清样本检测中的应用(参见图 2),应用中,采用磁珠 102 作为抗原、抗体的载体,其步骤基本同实施例 3。

[0074] 实施例 4 与实施例 3 所不同的是:实施例 4 步骤(4)的基本内容为:

(4)以肝癌病人和非肝癌病人血清样本为例进行免疫检测

①取 AFP 的单克隆包被抗体 2 修饰的磁珠 102 15 μ L (10mg/mL) 放到 100 μ L 离心管中,用磷酸盐缓冲溶液(PBS)洗涤 1~2 次后加入 100 μ L 用磷酸盐缓冲溶液(PBS)稀释 100 倍的肝癌病人和非肝癌病人的血清样本,在 37 $^{\circ}$ C 条件下孵育 1~3h;期间应利用垂直混合仪进行颠倒混匀,保持磁珠 102 的悬浮状态。

[0075] 步骤(4)②和③的内容同实施例 3。

[0076] 检测实施例 4 中荧光强度的表征意义

(1)阳性样本——肝癌病人的血清样本,由于其甲胎蛋白含量较高,显示较强的荧光;而阴性样本——非肝癌病人的血清样本,由于甲胎蛋白含量较少,荧光强度非常弱。

[0077] (2)通过与甲胎蛋白浓度的标准曲线进行比对,本发明能够更加方便、准确地检测到每一例待测血清样本中甲胎蛋白的含量。

[0078] (3)实施例 4 证明:在免疫吸附试验中,通过不同浓度银纳米粒子引起的探针溶液荧光强度的变化,能实现临床样本的检测,而且检测方便易行,准确率高,稳定性好。

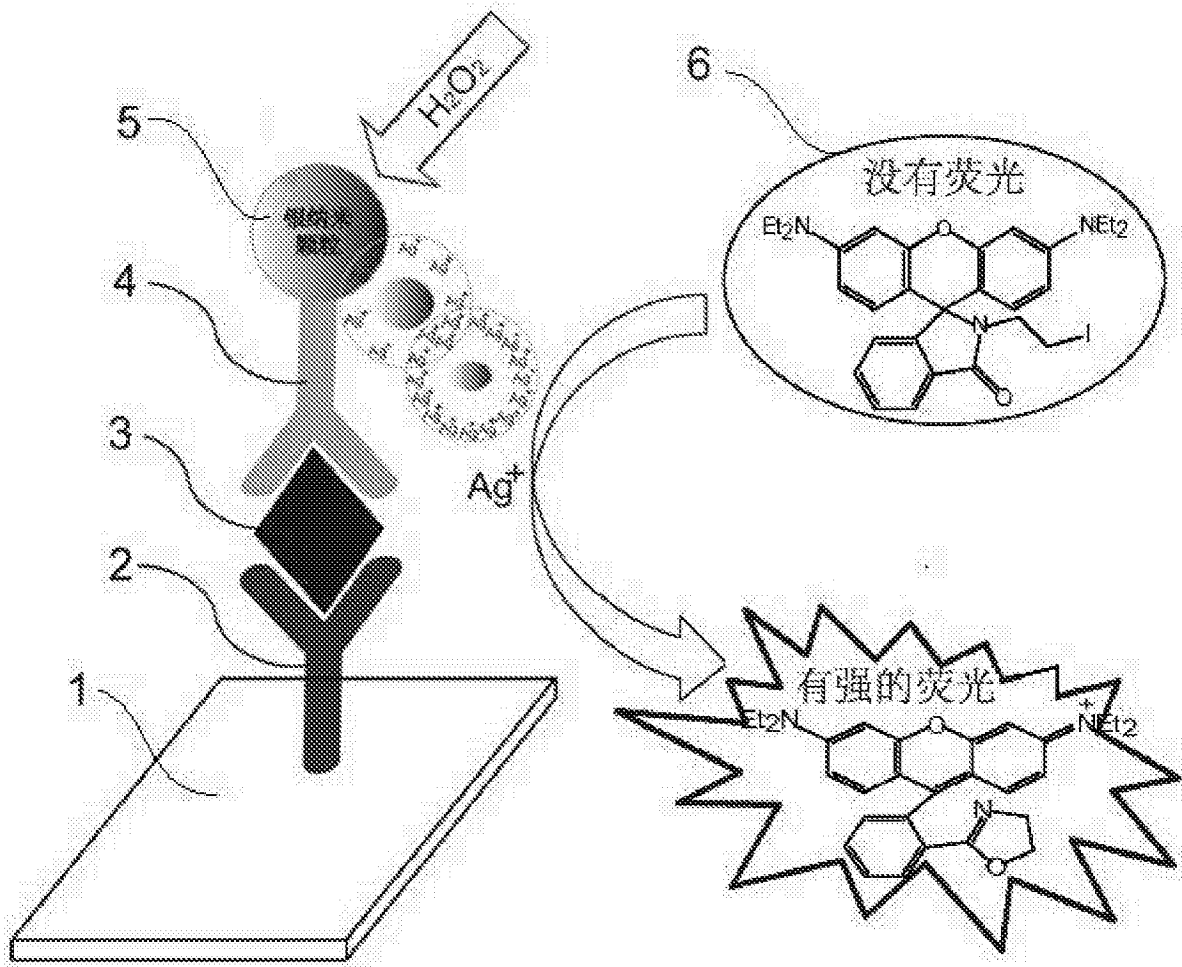


图 1

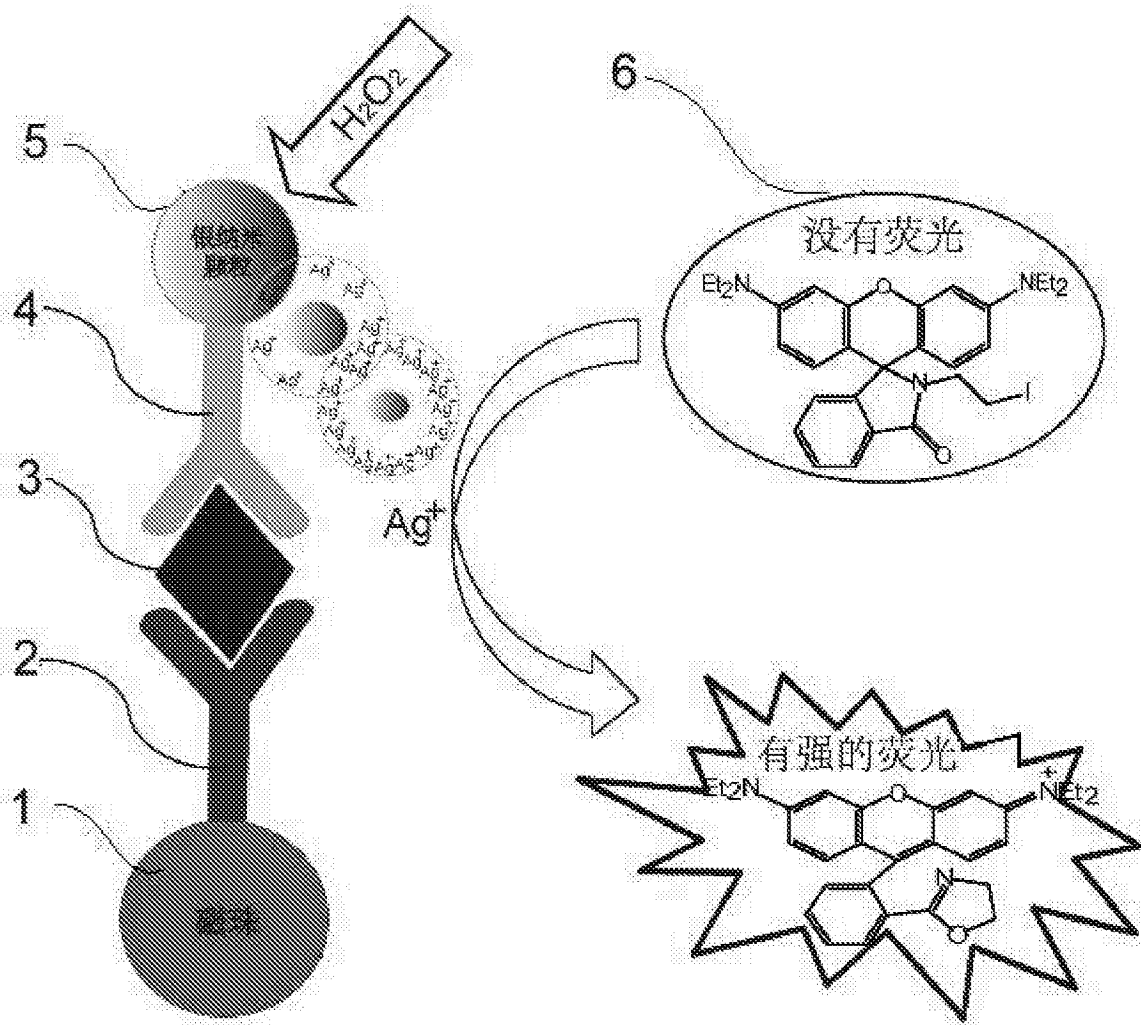


图 2

专利名称(译)	基于金属离子特异响应的荧光检测法在免疫检测中的应用		
公开(公告)号	CN105181956A	公开(公告)日	2015-12-23
申请号	CN201510638224.X	申请日	2015-09-30
[标]申请(专利权)人(译)	华东理工大学		
申请(专利权)人(译)	华东理工大学		
当前申请(专利权)人(译)	华东理工大学		
[标]发明人	龙亿涛 赵立军 马巍 韩焕兴 于汝佳		
发明人	龙亿涛 赵立军 马巍 韩焕兴 于汝佳		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/54326		
代理人(译)	翟羽		
其他公开文献	CN105181956B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明基于金属离子特异响应的荧光检测法在免疫检测中的应用，是将传统的金属离子荧光检测方法与金属纳米标记免疫技术相结合并应用于免疫检测中，它解决了传统荧光分子与生物蛋白分子连接困难的问题，实现了对检测信号的有效放大，解决了酶催化反应对实验条件要求苛刻而产生的问题；本发明在免疫检测中采用磁珠作为抗原、抗体的载体，能实现对待测样品的快速分离，使检测过程更简便快速，使检测的准确性、灵敏度都有很大的提高；本发明利用化学反应代替传统的酶催化过程并将荧光检测方法引入生物免疫检测，缩短了反应时间，提高了体系的稳定性，降低了检测成本，可在免疫分析检测及临床研究中发挥重要作用。

