



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104090096 A

(43) 申请公布日 2014. 10. 08

(21) 申请号 201410330438. 6

(22) 申请日 2014. 07. 14

(71) 申请人 吉林化工学院

地址 132022 吉林省吉林市龙潭区承德街
45 号

(72) 发明人 金丽 曹雪玲 娄大伟

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

G01N 21/64(2006. 01)

权利要求书1页 说明书2页 附图1页

(54) 发明名称

一种纳米铁免疫检测器

(57) 摘要

本发明建立了一种应用纳米铁进行免疫分析的方法，本发明利用磁性荧光微球上固定抗体，利用抗体一抗原特异性结合之一特点，固定抗体的磁性荧光微球可与异硫氰酸荧光素标记的抗原结合，而待测物中抗原的浓度与荧光强度之间具有良好的线性关系，依据于此建立检测抗原含量的新方法，进一步研发为新型检测器。

1. 一种检测器,主要部件包括以下部分,将各种溶液以恒定的浓度、速率定量引入流通池之中的蠕动泵;提供激发光的光源;四面透光、中空的石英长方体的样品池;可以控制开启和关闭的电感磁圈;并将光学信号转化为数字信号的 CCD;以及电脑。

2. 一种检测方法,应用权利一检测器进行检测的一种方法,具体操作过程如下(以抗体采用羊抗兔 IgG、抗原采用 FITC- 兔抗羊 IgG 为模型):①接通电源,打开样品池出口阀门,通过蠕动泵先后将氢氧化钠溶液和蒸馏水引入样品池,对样品池进行清洗;②关闭样品池出口阀门,向样品池中加入 1 ml 固定了抗体的磁性荧光微球及 1 ml PBS 缓冲溶液;③向样品池中加入 1 号 FITC- 兔抗羊 Ig G 溶液;④补加蒸馏水至样品池充满(总体积 5 ml),关闭样品池进口阀门;⑤打开电感磁圈开关, 5 分钟后,打开出口阀门,排出溶液;⑥打开光源, CCD 检测荧光,并转化为数字信号,与电脑中的标准曲线数据库相对照给出甲醛浓度;⑦关闭光源,关闭电感磁圈;⑧向样品池中加入 2 号 FITC- 兔抗羊 Ig G 溶液,重复步骤 3-8 至所有溶液测定完成;⑨关闭光源,关闭电感磁圈;先后通入氢氧化钠溶液和蒸馏水清洗样品池,实验结束后排空样品池。

一种纳米铁免疫检测器

技术领域

[0001] 本发明提出的是设计研发一种新型纳米铁免疫检测器。

背景技术

[0002] 在将磁性复合微粒用于免疫学研究领域中时,科学家形象地将其称为免疫磁性微球(Immunomagnetic microspheres, IMMS),或称免疫磁珠(Immunomagnetic, bedas, IMB)。由于磁性微粒超强的富集和快速的分离能力、较高的比表面积以及表面结合抗体对相应抗原的特异性识别作用,可以用来进行抗体/抗原分离和EUSA检测,与传统的酶标法(EUAs)相比,具有更高的检测灵敏度,操作更为简单;还可以对小分子药物进行免疫检测,结合免疫荧光、光纤传感、电磁分离、流式细胞仪、流动注射等技术,实现在线快速检测。

[0003] 本发明提出设计研发一种新型纳米铁免疫检测器用于进行免疫分析。研发阶段包括:1、磁性荧光微球的合成;2、磁性荧光微球固定抗体;3、检测器样品池的研发;4、检测器的组装及调试;5、检测器性能论证。

[0004] 本发明利用磁性荧光微球上固定抗体,利用抗体一抗原特异性结合特点,固定抗体的磁性荧光微球可与异硫氰酸荧光素标记的抗原结合,而待测物中抗原的浓度与荧光强度之间具有良好的线性关系,依据于此建立检测抗原含量的新方法,进一步研发为新型检测器。研发的检测器只需检测到量子点荧光强度的变化,并转换为数字信号,与荧光分光度计相比,构造简单、成本低廉,且具有操作方便、灵敏度高、检测范围宽和循环利用等优点,可以用于免疫检测和细胞分离等方面。

发明内容

[0005] 1、量子点的合成。

[0006] 2、磁性荧光微球的合成及其固定抗体。

[0007] 3、检测器组装及调试。

附图说明

[0008] 图1为本发明仪器的结构图即检测器结构示意图,其中:1、光源,2、样品池,3、电感磁圈,4、CCD,5、显示屏,6、废液缸,7、进样瓶,8、样品池进口阀门,9、样品池出口阀门,10、蠕动泵,11、光源开关,12、电感磁圈开关。图2为示例一的荧光光谱图。

具体实施方式

[0009] 1、量子点的合成

首先在2mL水溶液中,将适量硼氢化钠与2.9mg碲粉混合反应制得碲氢化钠的溶液1;在三口瓶中加入100mL水,加入氯化镉并调节pH=11.4,在100μL巯基丙酸稳定剂存在条件下,将新鲜制得的溶液1添加到此溶液中,加热,常温下,以罗丹明6G为对照,测得所合成量子点的量子效率在~25%左右。

[0010] 2、磁性荧光微球的合成及固定抗体

- 1) 称取一定量的氯化铁置入小烧杯,量取 21 ml 无水乙醇和 9 ml 蒸馏水后放入烧杯,搅拌至完全溶解,转移至 100 ml 三口烧瓶中;
- 2) 在小气流氮气氛围并且剧烈机械搅拌的情况下保持 15 min;
- 3) 称取一定量的硼氢化钠,置入 2 ml 蒸馏水后溶解密封,用注射器缓慢加入三口烧瓶中;
- 4) 用 1 ml 移液管吸取 2 ml TEOS 和 100 μ L 氨水滴加至三口烧瓶中,氮气保护并剧烈搅拌反应 1 h;
- 5) 加入 1 ml 所合成的 CdTe 量子点,加入 2ml APS 继续搅拌 2 小时;
- 6) 反应完成后进行磁选分离,将悬浮液分离后,蒸馏水洗涤三次并重复磁选分离至清夜中无悬浮物。将固体转移至烘干瓶中放入烘干箱设定温度为 70 摄氏度待固体变为灰黑色;
- 7) 将所得磁性荧光微球复溶于 PBS 缓冲溶液之中,加入抗体(例如羊抗兔 IgG)孵育 20 分钟,离心分离,去上清得固定抗体的磁性荧光微球。

[0011] 3、检测器主要部件

- (1)、蠕动泵 :将各种溶液以恒定的浓度、速率,定量引入流通池之中 ;
- (2)、光源 :提供激发波长为 365 nm 的激发光 ;
- (3)、样品池 :为 1 cm×1 cm×5 cm 四面透光、中空的石英长方体,在长方体的左右上下各有一个孔,通过导管分别与蠕动泵和废液缸相连接,进、出口分布设置开关阀门 ;
- (4)、CCD :检测量子点荧光强度变化,并将光学信号转化为数字信号 ;
- (5)、电脑 :根据数字信号,结合所建立数据库给出所检测甲样品的浓度。

[0012] 4、检测过程(抗体采用羊抗兔 IgG、抗原采用 FITC- 兔抗羊 IgG 为模型) :

①接通电源,打开样品池出口阀门,通过蠕动泵先后将氢氧化钠溶液和蒸馏水引入样品池,对样品池进行清洗;②关闭样品池出口阀门,向样品池中加入 1 ml 固定了抗体的磁性荧光微球及 1 ml PBS 缓冲溶液;③向样品池中加入 1 号 FITC- 兔抗羊 Ig G 溶液;④补加蒸馏水至样品池充满(总体积 5 ml),关闭样品池进口阀门;⑤打开电感磁圈开关, 5 分钟后,打开出口阀门,排出溶液;⑥打开光源, CCD 检测荧光,并转化为数字信号,与电脑中的标准曲线数据库相对照给出甲醛浓度;⑦关闭光源,关闭电感磁圈;⑧向样品池中加入 2 号 FITC- 兔抗羊 Ig G 溶液,重复步骤 3-8 至所有溶液测定完成;⑨关闭光源,关闭电感磁圈;先后通入氢氧化钠溶液和蒸馏水清洗样品池,实验结束后排空样品池。

[0013] 示例一,依次加入不同浓度 FITC- 兔抗羊 IgG 所得的测定图谱(图二),浓度依次为 (a) 0.50 mg/L; (b) 0.90 mg/L; (c) 1.20 mg/L; (d) 1.30 mg/L; (e) 1.60 mg/L。

[0014] 示例二,若将某一需分离的细胞二抗固定在磁性荧光微球上,通过本仪器可以与抗原和待分离细胞形成三明治结构,可以对细胞进行分离与富集。

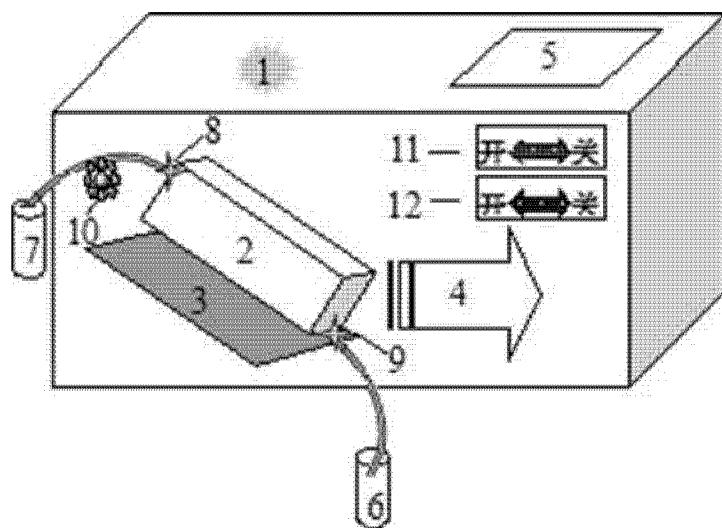


图 1

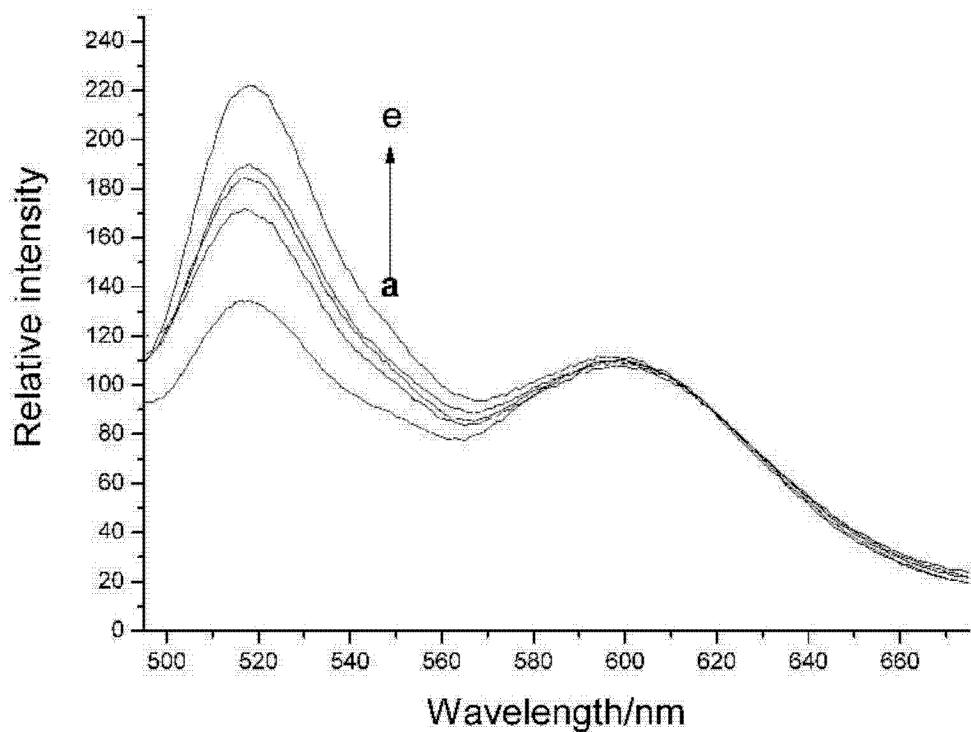


图 2

专利名称(译)	一种纳米铁免疫检测器		
公开(公告)号	CN104090096A	公开(公告)日	2014-10-08
申请号	CN201410330438.6	申请日	2014-07-14
[标]申请(专利权)人(译)	吉林化工学院		
申请(专利权)人(译)	吉林化工学院		
当前申请(专利权)人(译)	吉林化工学院		
[标]发明人	金丽 曹雪玲 娄大伟		
发明人	金丽 曹雪玲 娄大伟		
IPC分类号	G01N33/53 G01N21/64		
CPC分类号	G01N33/54326 G01N33/582		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本发明建立了一种应用纳米铁进行免疫分析的方法，本发明利用磁性荧光微球上固定抗体，利用抗体—抗原特异性结合之一特点，固定抗体的磁性荧光微球可与异硫氰酸荧光素标记的抗原结合，而待测物中抗原的浓度与荧光强度之间具有良好的线性关系，依据于此建立检测抗原含量的新方法，进一步研发为新型检测器。

