

[12] 实用新型专利说明书

[21] ZL 专利号 01233478.2

[45] 授权公告日 2002 年 5 月 1 日

[11] 授权公告号 CN 2489341Y

[22] 申请日 2001.8.20 [24] 颁证日 2002.5.1
 [73] 专利权人 中国科学院力学研究所
 地址 100080 北京市海淀区中关村路 15 号
 [72] 设计人 靳 刚 王战会

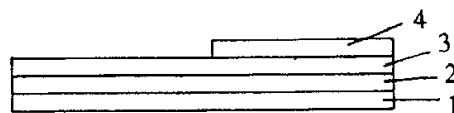
[21] 申请号 01233478.2
 [74] 专利代理机构 上海智信专利代理有限公司
 代理人 高存秀

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图页数 2 页

[54] 实用新型名称 定向固定抗体的蛋白质芯片

[57] 摘要

本实用新型涉及一种可以在固体表面上定向固定抗体的蛋白质芯片。该蛋白质芯片包括：固体基片和抗体感应膜层，其特征是：在固体基片和抗体感应膜层之间还有一层蛋白 A 膜层。该蛋白质芯片结构中还可以进一步包括在固体基片和蛋白 A 膜层之间有一层疏水极化表面层。本实用新型的蛋白质芯片，蛋白 A 起到手臂连接的作用，使抗体分子上的抗原结合域伸向固体表面外，自由地同抗原结合，大大地提高了蛋白质芯片结合抗原的能力。该蛋白质芯片可应用于免疫测定、内分泌激素检测、药物筛选等。



ISSN 1008-4274

权利要求书

1. 一种定向固定抗体的蛋白质芯片，包括固体基片和抗体感应膜层，其特征是：在固体基片和抗体感应膜层之间还有一层蛋白 A 膜层。

2. 根据权利要求 1 所述的定向固定抗体的蛋白质芯片，其特征是：在固体基片和蛋白 A 膜层之间还包括一层疏水极化表面层。

3. 根据权利要求 1 所述的定向固定抗体的蛋白质芯片，其特征是：所述的固体基片为金属或表面镀金属膜的固体复合材料。

4. 根据权利要求 2 所述的定向固定抗体的蛋白质芯片，其特征是：所述的固体基片为半导体材料硅片、半导体材料锗片、金属、玻璃、塑料或固体复合材料。

5. 根据权利要求 3 或 4 所述的定向固定抗体的蛋白质芯片，其特征是：所述的固体复合材料为表面镀金属膜的硅片、表面镀金属膜的锗片、表面镀金属膜的塑料片或表面镀金属膜的玻璃。

6. 根据权利要求 1 所述的定向固定抗体的蛋白质芯片，其特征是：所述的蛋白 A 膜层和抗体感应膜层为单分子层。

7. 根据权利要求 2 所述的定向固定抗体的蛋白质芯片，其特征是：所述的疏水极化表面层、蛋白 A 膜层和抗体感应膜层为单分子层。

8. 根据权利要求 2 所述的定向固定抗体的蛋白质芯片，其特征是：所述的抗体感应膜层的抗体包括各种用于免疫检测的抗体分子。

9. 根据权利要求 2 所述的定向固定抗体的蛋白质芯片，其特征是：所述的疏水极化表面层为疏水硅烷疏水极化表面层。

说明书

定向固定抗体的蛋白质芯片

技术领域

本实用新型涉及免疫检测用芯片，特别涉及一种可以在固体表面上定向固定抗体的蛋白质芯片。

背景技术

抗体分子对目标抗原有着极高的特异选择自然属性，它已经被广泛地用于多种免疫诊断方法和多种免疫传感器上，如 T. M. Phillips 等在文献《Protein A coated glass beads universal support medium for high-performance immunoaffinity chromatography》(Journal of Chromatography, 327(1985)213-219)中所述。其中许多是固相免疫方法，就是把抗体分子固定在固体表面上来检测抗原。被直接固定在固相表面上的抗体分子的生物活性通常低于溶液中的抗体分子，生物活性降低的主要原因是被直接固定在固相表面上的抗体分子的空间位阻增大，不利于抗体-抗原的结合，如文献《Effectiveness of protein A for antibody immobilization for a fiber optic biosensor》(Biosensors & Bioelectronics, Vol.12 No.4, 329-336, 1997)所述；另外一个原因是被直接固定在固相表面上的抗体分子的功能域在固相表面上趋向向下或趋向侧面时，不利于抗体-抗原的结合；还有如果抗体分子上与抗原结合的功能域吸附在固相表面上，抗体分子就不能同抗原发生结合，如图 1 所示，抗体分子 5 含有两个抗原结合域，其中一个与固相表面 1 结合在一起，从而失去了与抗原分子 6 结合的能力。

发明内容

本实用新型的目的在于，克服上述被直接固定在固相表面上的抗

体分子的空间位阻大、抗体分子的功能域在固相表面上趋向向下或趋向侧面、抗体分子上与抗原结合的功能域吸附在固相表面上，不利于抗体-抗原的结合，为了提高检测芯片上的抗体与抗原的结合能力，从而提供一种定向固定抗体的蛋白质芯片。

本实用新型的目的是这样实现的：

本实用新型提供的定向固定抗体的蛋白质芯片，包括固体基片和抗体感应膜层，其特征是：在固体基片和抗体感应膜层之间还有一层蛋白 A 膜层。

其中所述的固体基片为半导体材料（如硅片、锗片等）、金属、玻璃、塑料或固体复合材料（固体复合材料如：半导体表面或玻璃表面镀金属膜）。

本实用新型提供的定向固定抗体的蛋白质芯片，当固体基片为半导体材料、玻璃或塑料时，还进一步包括：在固体基片和蛋白 A 膜层之间还有一疏水极化表面层。该疏水极化表面层是采用化学处理形成的，因为在固体基片上形成疏水极化表面层，有利于在蛋白 A 膜层的制备过程中从溶液中吸附蛋白 A，促进蛋白 A 膜层的形成。

所述的疏水极化表面层、蛋白 A 膜层、抗体感应膜层均为单分子层。

其中所述的疏水极化表面层，可以为疏水硅烷疏水极化表面层，如二氯二甲基硅烷疏水极化表面层。

本发明提供的定向固定抗体的蛋白质芯片使用蛋白 A 来定向固定抗体分子。蛋白 A 是从金黄色葡萄球菌中提取的蛋白质，它能够同抗体的 Fc 片段特异性结合。该蛋白 A 具有五个能够特异性结合抗体分子 Fc 片段的功能域（E，D，A，B 和 C），每个功能域含有 58 个氨基酸残基，并且每个功能域都能独立同 Fc 片段结合。蛋白 A 特异性地结合抗体分子的 Fc 片段，使抗体分子上同抗原分子特异性结合的两个功能域 Fab 伸向表面外以便于同抗原分子结合。如图 2 所示，通过蛋白 A3 特异性结合而定向固定在固体表面 1 的抗体分子 5 同抗原分子 6 结合的两个功能域伸向表面外，自由地同抗原分子 6 结合。结合在固体表面上的蛋白 A 起到手臂连接的作用，使被连接的抗体分子在

溶液中充分伸展，极大地降低了空间位阻效应，使抗体-抗原之间的结合类似于在溶液中一样自由。另外，蛋白 A 膜层还能够钝化固体表面，有效地降低固体表面的非特异性吸附，提高免疫检测即检测抗原的分析灵敏度。

本发明的抗体感应膜层的抗体包括各种用于免疫检测的抗体，如人免疫球蛋白 G 抗体 (antiIgG)、牛血清白蛋白抗体 (antiBSA) 或人血清凝血蛋白原抗体 (antiFIB) 等。

本实用新型提供的定向固定抗体的蛋白质芯片除进行生物检测外，还可以用于生命科学研究，特别是免疫学、分子生物学、生物化学、肿瘤学、细胞生物学等学科的研究。

本实用新型的优点及效果：

1. 本实用新型提供的定向固定抗体的蛋白质芯片克服了固体表面上直接固定抗体引起的抗体生物活性下降的缺点；
2. 本实用新型的蛋白质芯片，定向固定的抗体分子，使抗体分子上的抗原结合域伸向固体表面外，自由地同抗原结合；
3. 本实用新型的蛋白质芯片，其中的蛋白 A 起到了手臂连接的作用，减少了抗体分子的空间位阻；
4. 蛋白 A 膜层还能够钝化表面，有效地降低表面的非特异性吸附，提高抗原检测的检测分析灵敏度；
5. 芯片蛋白 A 膜层再生简单，芯片可以重复使用多次。

附图说明

图 1 是直接固定在固相表面上的抗体分子示意图；

图 2 是本发明的定向固定的抗体分子示意图；

图 3 是本实用新型实施例 3 的定向固定抗体的蛋白质芯片结构示意图；

其中

- | | | |
|-----------|------------|------------|
| 1: 固体基片 | 2: 疏水极化表面层 | 3: 蛋白 A 膜层 |
| 4: 抗体感应膜层 | 5: 抗体分子 | 6: 抗原分子 |

具体实施方式

实施例 1

在半导体硅片表面上定向固定抗体人免疫球蛋白 G (antiIgG) 的蛋白质芯片, 该蛋白质芯片结构包括: 一 0.5mm 厚集成电路用的硅片 1, 在硅片 1 上形成的单分子层二氯二甲基硅烷疏水极化表面层 2, 在疏水极化表面层 2 上形成的单分子层蛋白 A 膜层 3, 及在蛋白 A 膜层 3 上形成的单分子层 antiIgG 感应膜层 4。

实施例 2

在硅片表面镀金的复合基片上定向固定抗体牛血清白蛋白 (antiBSA) 的蛋白质芯片, 该蛋白质芯片结构包括: 在一 0.5mm 厚集成电路用的硅片上镀有 2 μ m 厚的金片形成的复合固体基片 1, 在复合固体基片 1 金片上形成的单分子层蛋白 A 膜层 3, 及在蛋白 A 膜层 3 上一端至另一端全部面积的 2/3 部分形成的单分子层 antiBSA 感应膜层 4。

实施例 3

在硅片表面上定向固定人血清凝血蛋白原抗体 (antiFIB) 的蛋白质芯片, 该蛋白质芯片结构如图 3 所示, 包括: 一 0.5mm 厚集成电路用的硅片 1, 在硅片 1 上形成的单分子层二氯二甲基硅烷疏水极化表面层 2, 在疏水极化表面层 2 上形成的单分子层蛋白 A 膜层 3, 及在蛋白 A 膜层 3 上一端至另一端全部面积的 1/2 部分形成的单分子层 antiFIB 感应膜层 4。

把本实施例的定向固定 antiFIB 的蛋白质芯片感应膜层端的 1/2 部分浸入到待测溶液中, 如果溶液中含有 FIB 分子, 就会同芯片上的抗体发生特异性结合, 形成复合分子, 导致面密度 (或膜层厚度) 增加, 否则面密度 (或膜层厚度) 就不会发生变化。膜层是否发生变化可以通过椭圆偏成像系统观察到, 以此判定溶液中 FIB 分子存在与否。

实施例 4

在塑料表面上定向固定抗体人免疫球蛋白 G (antiIgG) 的蛋白质芯片，该蛋白质芯片结构包括：一 0.8mm 厚的塑料片 1，在塑料片 1 上形成的单分子层二氯二甲基硅烷疏水极化表面层 2，在疏水极化表面层 2 上形成的单分子层蛋白 A 膜层 3，及在蛋白 A 膜层 3 上形成的单分子层 antiIgG 感应膜层 4。

说明书附图

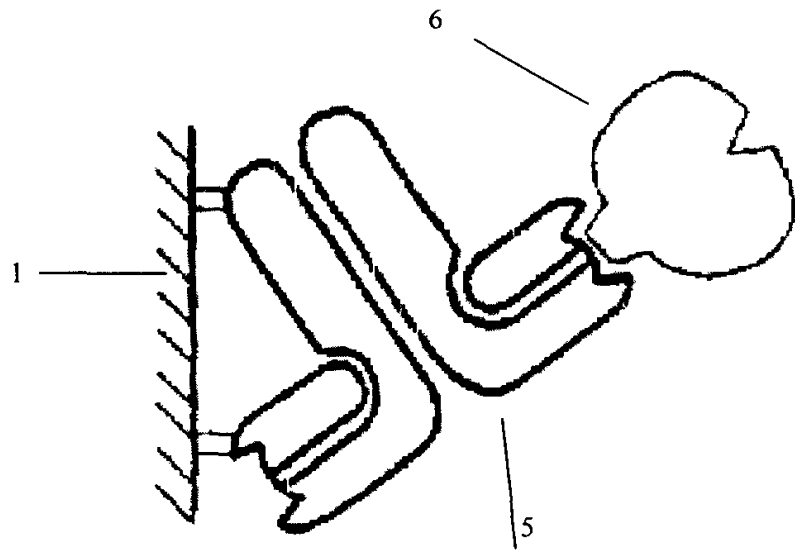


图 1

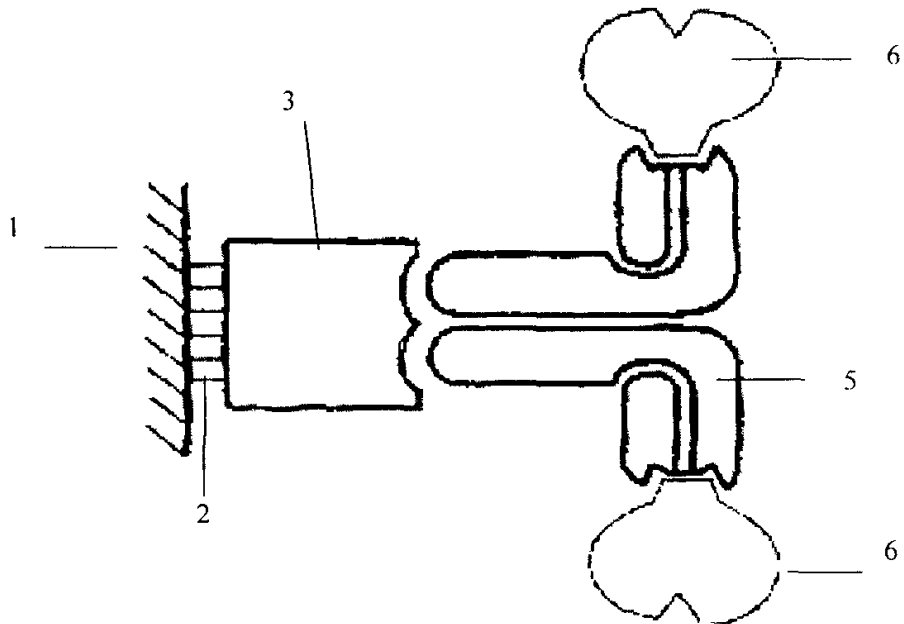


图 2

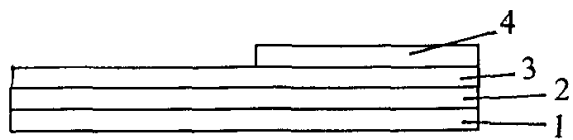


图3

专利名称(译)	定向固定抗体的蛋白质芯片		
公开(公告)号	CN2489341Y	公开(公告)日	2002-05-01
申请号	CN01233478.2	申请日	2001-08-20
[标]申请(专利权)人(译)	中国科学院力学研究所		
申请(专利权)人(译)	中国科学院力学研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国科学院力学研究所		
[标]发明人	靳刚 王战会		
发明人	靳刚 王战会		
IPC分类号	G01N33/53		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型涉及一种可以在固体表面上定向固定抗体的蛋白质芯片。该蛋白质芯片包括:固体基片和抗体感应膜层,其特征是:在固体基片和抗体感应膜层之间还有一层蛋白A膜层。该蛋白质芯片结构中还可以进一步包括在固体基片和蛋白A膜层之间有一层疏水极化表面层。本实用新型的蛋白质芯片,蛋白A起到手臂连接的作用,使抗体分子上的抗原结合域伸向固体表面外,自由地同抗原结合,大大地提高了蛋白质芯片结合抗原的能力。该蛋白质芯片可应用于免疫测定、内分泌激素检测、药物筛选等。

