



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103293312 A

(43) 申请公布日 2013. 09. 11

(21) 申请号 201310234840. X

(22) 申请日 2013. 06. 14

(71) 申请人 张峰

地址 010018 内蒙古自治区呼和浩特市内蒙古农业大学生命科学院

(72) 发明人 张峰

(74) 专利代理机构 南京知识律师事务所 32207

代理人 汪旭东

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

G01N 33/533(2006. 01)

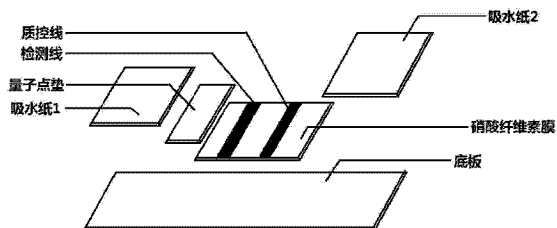
权利要求书1页 说明书4页 附图3页

(54) 发明名称

一种基于发光量子点的超灵敏侧向层析快速检测方法及其试纸条的制作方法

(57) 摘要

本发明提供了一种利用发光量子点快速检测小分子物质的制备方法,是以硝酸纤维素膜为载体,利用了微孔膜的毛细血管作用,滴加在膜条一端的液体慢慢向另一端渗移,通过抗原抗体结合,并利用发光量子点呈现颜色反应来检测抗原,试纸包括有吸水纸垫 1、发光量子点标垫、硝酸纤维素包被膜、吸水纸 2、支撑底板,所述吸水纸 1、发光量子点标垫、硝酸纤维素包被膜、吸水纸 2,由底板的一侧依次向所述底板的另一侧粘贴在所述底板上,硝酸纤维素包被膜上设置有检测线和质控线,其检测快速,携带方便,操作简单。



1. 一种基于发光量子点的超灵敏侧向层析快速检测方法,以三聚氰胺为例制备检测试纸条,其特征在于由支撑板、吸水垫②、硝酸纤维素膜、质控线、包被检测线、发光量子点垫、吸水垫①组成,在硝酸纤维素膜上表面分别设置发光量子点垫和样品垫,样品垫位于发光量子点垫上表面,硝酸纤维素膜下表面与支撑底板固定相连,所述发光量子点垫为含有发光量子点标记的三聚氰胺单抗的发光量子点垫;所述检测线为包被在硝酸纤维素膜上的三聚氰胺与牛血清蛋白的偶联物;所述质控线为包被在硝酸纤维素膜上的羊抗鼠 IgG 二抗。

2. 基于发光量子点免疫层析的三聚氰胺检测试纸条的制件方法,其特征在于,

A、两性聚合物合成:

- (1) 十二烷胺约 3 份溶于 100 份四氢呋喃,
- (2) 向(1)中加入异丁烯马来酸酐 3 份,
- (3) 加热浓缩至 30-40 份,
- (4) 浓缩液加热搅拌直至完全变干,
- (5) 将(4)中变干固体溶于 40 份氯仿中;

B、两性聚合物包裹:

- (1) Polymer80ul 和发光量子点 500ul 混于圆底烧瓶,
- (2) 向该圆底烧瓶中加入适量氯仿,浓缩至干,
- (3) 将(2)中固体溶于 50mmol 硼砂,搅拌溶解至清;

C、发光量子点标记单抗

- (1) 发光量子点 10 份,调 PH=7,
- (2) 向发光量子点中加入三聚氰胺单抗 0.5 份,室温下培养 10 分钟,
- (3) 再加入 3 份 5% 的 BSA,室温下培养 10 分钟,
- (4) 100000*g 离心,30min,
- (5) 将标记的发光量子点沉淀溶于 2 份 0.02mol/L 的 PB 液,4℃冰箱储存;

D、喷膜

在玻璃纤维素膜上喷抗三聚氰胺的发光量子点单抗,制备得发光量子点垫。在硝酸纤维素膜上靠近发光量子点垫的一端喷偶联物,即为检测线,与检测线相隔约 1 厘米的另一端喷羊抗鼠二抗,即为质控线。

E、组装

试纸组件由底板、吸水垫②、硝酸纤维素膜、质控线、检测线、发光量子点垫、吸水垫①组成。

3. 根据权利要求 2 所述的基于发光量子点免疫层析的三聚氰胺检测试纸条的制件方法,其特征在于,步骤 A (2) 温度控制在 55℃ -60℃。

4. 根据权利要求 2 所述的基于发光量子点免疫层析的三聚氰胺检测试纸条的制件方法,其特征在于,步骤 C (5) PB 液包含 5% 蔗糖、1%BSA、0.5%BSA、0.5%吐温 20。

5. 根据权利要求 2 所述的基于发光量子点免疫层析的三聚氰胺检测试纸条的制件方法,其特征在于,步骤 D 偶联物为三聚氰胺与牛血清蛋白的偶联物。

一种基于发光量子点的超灵敏侧向层析快速检测方法及其 纸条的制作方法

技术领域：

[0001] 本发明涉及医学和食品领域的检测，以三聚氰胺为例叙述基于发光量子点免疫层析试纸及其制备方法和应用。

背景技术：

[0002] 在医学和食品检测中(比如兴奋剂和三聚氰胺),传统检测方法主要有高效液相色谱法(HPLC)、气-质联用色谱法(GC-MS),液-质联用色谱法和酶联免疫吸附法,但这些方法往往需要特殊的仪器设备和数量的操作人员,繁琐、耗时、费力且效果不明显。胶体金免疫层析法(GICA)虽然操作简单快捷,但其灵敏度还有待提高。随着分子生物学的发展,胶体金免疫层析法已被大量报道,但发光量子点免疫层析法还尚未报到。以下以三聚氰胺为例进行介绍。

发明内容：

[0003] 发明目的:本发明提供一种比胶体金免疫层析试纸条更加灵敏的检测三聚氰胺的试纸条,结构简单,使用方便快捷,且其相比于胶体金免疫层析试纸 0.1ppm 的灵敏度要提高若干倍,能增大使人们快速检测乳品中的三聚氰胺是否超标的速度。

[0004] 本发明的技术方案:发明原理如图 1 所示,G 处为发光量子点标记的抗体,T 处包被标准抗原与蛋白的偶联物,C 处包被抗免疫发光量子点单抗的抗体,测试时待测标本加于 A 端,若待测标本中含有待测抗原,流经 G 处时结合发光量子点标抗体,当混合物移至 T 处时,因无足够游离的发光量子点标抗体与膜上标准抗原结合,T 处无棕红色线条出现,实验结果为阳性,游离发光量子点标抗体或发光量子点标抗体复合物流经 C 处,与该处的抗金标抗体结合出现棕红色的质控带,若标本中不含待测抗原,发光量子点标抗体则与 T 处膜上的标准抗原结合,在 T 处出现棕红色的线条,实验结果为阴性。

[0005] 一、基于发光量子点免疫层析的三聚氰胺检测试纸条的制备,包括两性聚合物合成、两性聚合物包裹、发光量子点标记单抗、喷膜、组装。试纸组件由支撑板、吸水垫②、硝酸纤维素膜、质控线、包被检测线、发光量子点垫、吸水垫①组成,如图 2、图 3 所示。在硝酸纤维素膜的上面两端分别设置发光量子点垫、吸水垫 1 和吸水垫 2,吸水垫 1 位于发光量子点垫的上表面,硝酸纤维素膜的下表面与支撑底板固定相连。

[0006] 发光量子点垫是含有发光量子点标记的三聚氰胺单抗的玻璃纤维素膜,检测线为包被在硝酸纤维素膜上的三聚氰胺与牛血清蛋白的偶联物,质控线为包被在硝酸纤维素膜上的羊抗鼠二抗。

[0007] 二、基于发光量子点免疫层析的三聚氰胺检测试纸条的制件方法,

[0008] A、两性聚合物合成:

[0009] (1) 十二烷胺约 3 份溶于 100 份四氢呋喃,

[0010] (2) 向(1)中加入异丁烯马来酸酐 3 份,

- [0011] (3) 加热浓缩至 30-40 份，
- [0012] (4) 浓缩液加热搅拌直至完全变干，
- [0013] (5) 将(4)中变干固体溶于 40 份氯仿中；
- [0014] B、两性聚合物包裹：
- [0015] (1) Polymer80ul 和发光量子点 500ul 混于圆底烧瓶，
- [0016] (2) 向该圆底烧瓶中加入适量氯仿，浓缩至干，
- [0017] (3) 将(2)中固体溶于 50mmol 硼砂，搅拌溶解至清；
- [0018] C、发光量子点标记单抗
- [0019] (1) 发光量子点 10 份，调 PH=7，
- [0020] (2) 向发光量子点中加入三聚氰胺单抗 0.5 份，室温下培养 10 分钟，
- [0021] (3) 再加入 3 份 5% 的 BSA，室温下培养 10 分钟，
- [0022] (4) 100000*g 离心，30min，
- [0023] (5) 将标记的发光量子点沉淀溶于 2 份 0.02mol/L 的 PB 液，4℃冰箱储存；
- [0024] D、喷膜
- [0025] 在玻璃纤维素膜上喷抗三聚氰胺的发光量子点单抗，制备得发光量子点垫。在硝酸纤维素膜上靠近发光量子点垫的一端喷偶联物，即为检测线，与检测线相隔约 1 厘米的另一端喷羊抗鼠二抗，即为质控线。
- [0026] E、组装
- [0027] 试纸组件由底板、吸水垫②、硝酸纤维素膜、质控线、检测线、发光量子点垫、吸水垫①组成。
- [0028] 步骤 A (2) 温度控制在 55℃ -60℃。
- [0029] 步骤 C (5) PB 液包含 5% 蔗糖、1%BSA、0.5%BSA、0.5%吐温 20。
- [0030] 步骤 D 偶联物为三聚氰胺与牛血清蛋白的偶联物。
- [0031] 实验中用紫外灯(图 4)照射试纸条发现有四种不同结果(图 5)。
- [0032] 有益效果：
- [0033] 1、本发明比胶体金免疫层析试纸条灵敏度更高。
- [0034] 2、发光量子点免疫层析法用发光量子点作为标记物，该方法操作简单、快速、特异灵敏，不需要仪器，不需专业技术人员操作，几分钟内即可通过目视判断检测结果，并可保持检测结果的准确性，它最大的优势是相比于胶体金其灵敏度极高。

附图说明：

- [0035] 图 1 发光量子点免疫层系试纸的原理示意图；
- [0036] 图 2 是发光量子点免疫层析试纸的结构示意图；
- [0037] 图 3 待测液流向示意图；
- [0038] 图 4 紫外灯外观示意图；
- [0039] 图 5 是发光量子点免疫层析试纸的阳性、阴性及无效结果示意图；
- [0040] 图中标号：1、支撑板 2、吸水垫② 3、硝酸纤维素膜 4、质控线 5、包被检测线 6、发光量子点垫 7、吸水垫①。

具体实施方式：

[0041] 一种基于发光量子点免疫层析的三聚氰胺检测试纸条，其特征在于由支撑板、吸水垫②、硝酸纤维素膜、质控线、包被检测线、发光量子点垫、吸水垫①组成，在硝酸纤维素膜上表面分别设置发光量子点垫和样品垫，样品垫位于发光量子点垫上表面，硝酸纤维素膜下表面与支撑底板固定相连，所述发光量子点垫为含有发光量子点标记的三聚氰胺单抗的发光量子点垫；所述检测线为包被在硝酸纤维素膜上的三聚氰胺与牛血清蛋白的偶联物；所述质控线为包被在硝酸纤维素膜上的羊抗鼠 IgG 二抗。

[0042] 基于发光量子点免疫层析的三聚氰胺检测试纸条的制件方法，

[0043] A、两性聚合物合成：

[0044] (1) 十二烷胺约 3 份溶于 100 份四氢呋喃。

[0045] (2) 向(1)中加入异丁烯马来酸酐 3 份。

[0046] (3) 加热浓缩至 30-40 份(温度控制在 55℃ -60℃)。

[0047] (4) 浓缩液加热搅拌直至完全变干(温度控制在 55℃ -60℃)。

[0048] (5) 将(4)中变干固体溶于 40 份氯仿中。

[0049] 浓缩目的：提高马来酸酐环与十二烷胺的氨基的反应(靠四氢呋喃的挥发达到浓缩)。

[0050] B、两性聚合物包裹：

[0051] (1) Polymer80ul 和发光量子点 500ul 混于圆底烧瓶。

[0052] (2) 向该圆底烧瓶中加入适量氯仿(2ml)，浓缩至干。

[0053] (3) 将(2)中固体溶于 50mmol 硼砂，搅拌溶解至清。

[0054] C 发光量子点标记单抗

[0055] (1) 发光量子点 10 份，调 PH=7。

[0056] (2) 向发光量子点中加入三聚氰胺单抗 0.5 份，室温下培养 10 分钟。

[0057] (3) 再加入 3 份 5% 的 BSA，室温下培养 10 分钟。

[0058] (4) 100000*g 离心，30min。

[0059] (5) 将标记的发光量子点沉淀溶于 2 份 0.02mol/L 的 PB 液(含 5% 蔗糖、1%BSA、0.5%BSA、0.5%吐温 20)。4℃冰箱储存。

[0060] D、喷膜

[0061] 在玻璃纤维素膜上喷抗三聚氰胺的发光量子点单抗，制备得发光量子点垫。在硝酸纤维素膜上靠近发光量子点垫的一端喷偶联物(三聚氰胺与牛血清蛋白的偶联物)，即为检测线，与检测线相隔约 1 厘米的另一端喷羊抗鼠二抗，即为质控线。

[0062] E、组装

[0063] 试纸组件由底板、吸水垫②、硝酸纤维素膜、质控线、检测线、发光量子点垫、吸水垫①组成。

[0064] F、检测

[0065] 紫外灯(图 4)照射检测条：

[0066] 阳性结果：图 5；

[0067] 阴性结果：图 5；

[0068] 无效结果：图 5。

[0069] 本行业的技术人员应了解,本发明不受上述实施例的限制,上述实施例和说明书中描述的只是说明本发明的原理,在不脱离本发明精神和范围的前提下,本发明还会有各种变化和改进,这些变化和改进都落入要求保护的本发明范围内,本发明要求保护范围由所附的权利要求书其等效物界定。

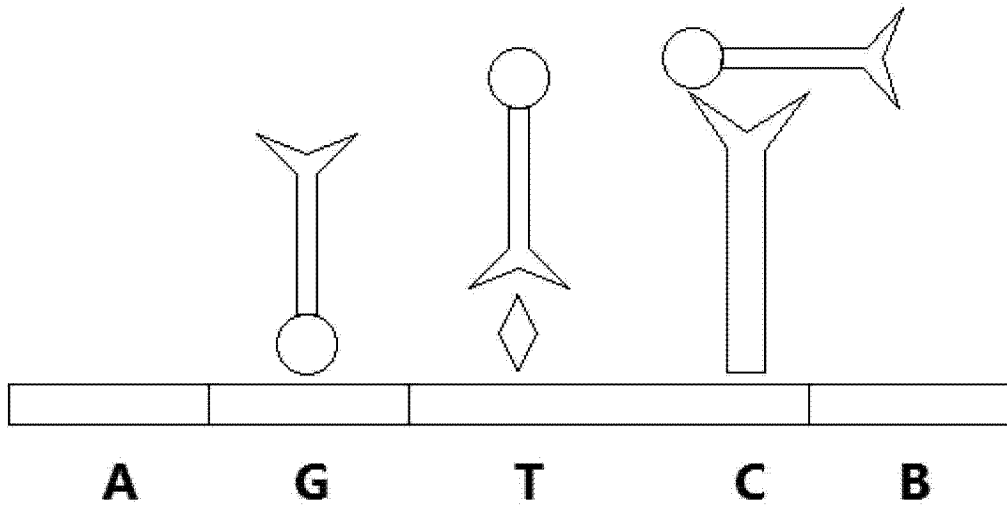


图 1

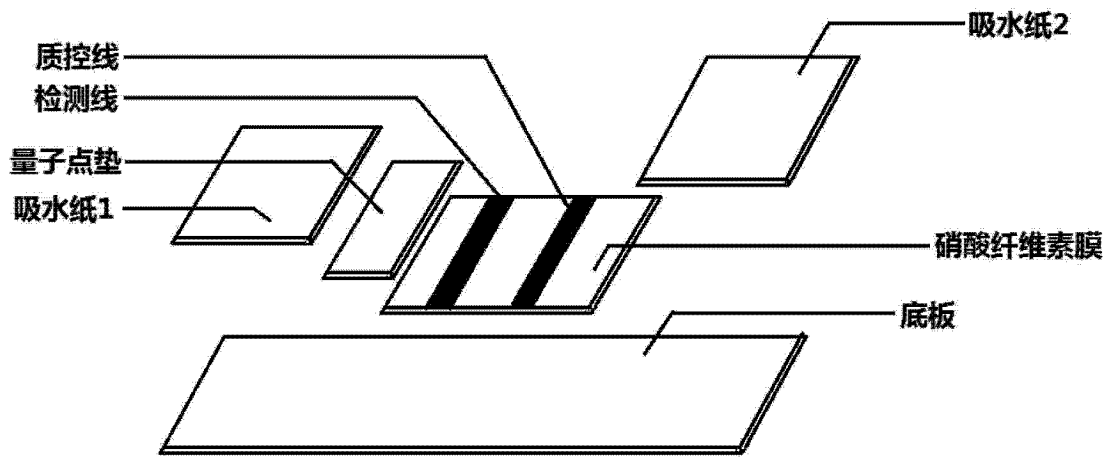


图 2

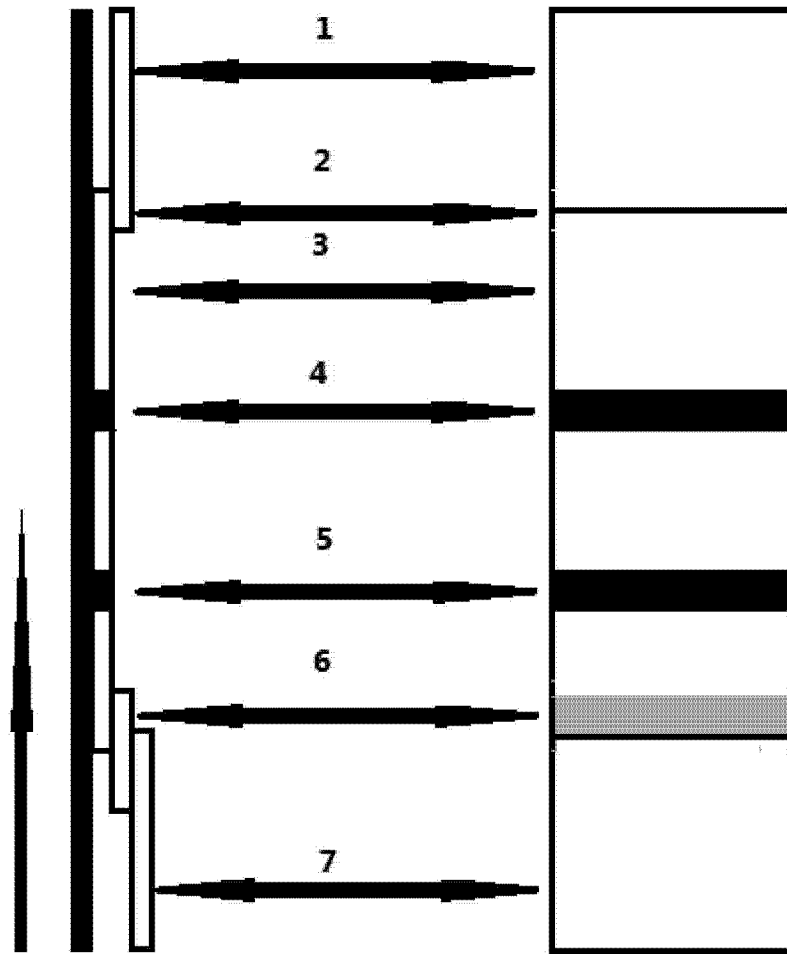


图 3

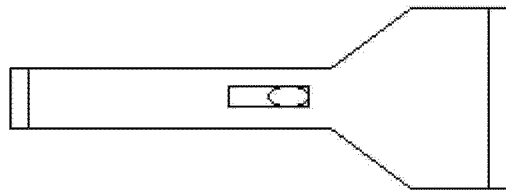


图 4

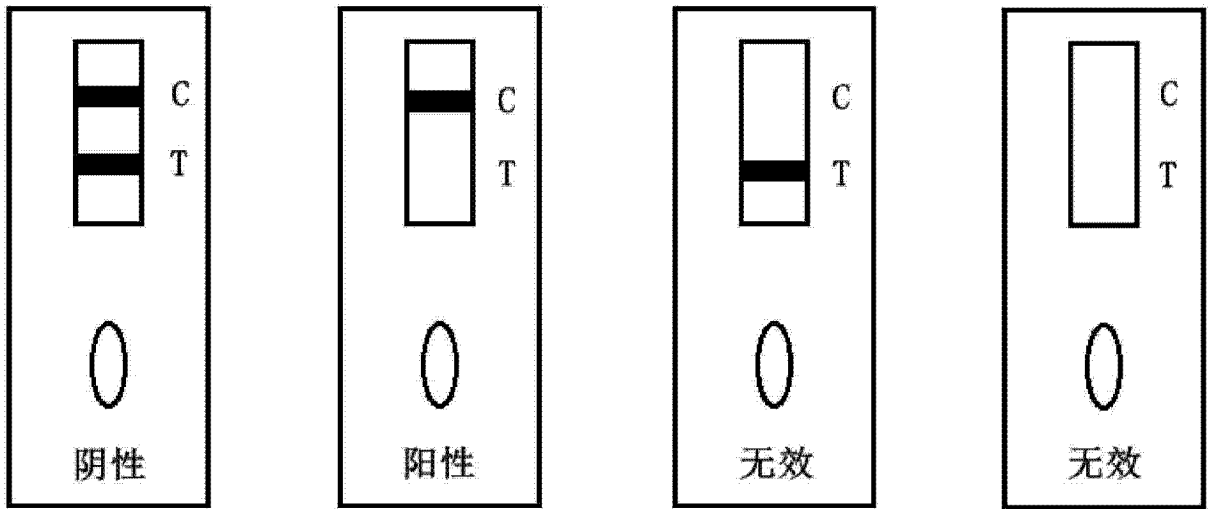


图 5

专利名称(译)	一种基于发光量子点的超灵敏侧向层析快速检测方法及其试纸条的制作方法		
公开(公告)号	CN103293312A	公开(公告)日	2013-09-11
申请号	CN201310234840.X	申请日	2013-06-14
[标]申请(专利权)人(译)	张峰		
申请(专利权)人(译)	张峰		
当前申请(专利权)人(译)	张峰		
[标]发明人	张峰		
发明人	张峰		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/531 G01N33/533		
代理人(译)	汪旭东		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种利用发光量子点快速检测小分子物质的制备方法，是以硝酸纤维素膜为载体，利用了微孔膜的毛细血管作用，滴加在膜条一端的液体慢慢向另一端渗移，通过抗原抗体结合，并利用发光量子点呈现颜色反应来检测抗原，试纸包括有吸水纸垫1、发光量子点标垫、硝酸纤维素包被膜、吸水垫2、支撑底板，所述吸水垫1、发光量子点标垫、硝酸纤维素包被膜、吸水垫2，由底板的一侧依次向所述底板的另一侧粘贴在所述底板上，硝酸纤维素包被膜上设置有检测线和质控线，其检测快速，携带方便，操作简单。

