

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/531

G01N 33/533 G01N 33/50



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410071837.1

[43] 公开日 2005 年 3 月 2 日

[11] 公开号 CN 1588070A

[22] 申请日 2004.9.6

[21] 申请号 200410071837.1

[71] 申请人 南开大学

地址 300071 天津市卫津路 94 号

[72] 发明人 冯喜增 侯 森 王立凯 产启林
韩佩东

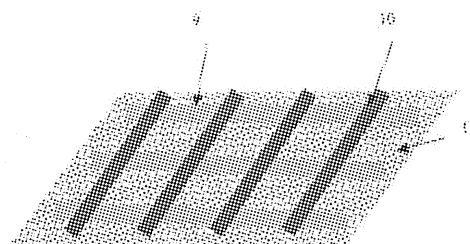
[74] 专利代理机构 天津市北洋有限责任专利代理
事务所
代理人 陆 艺

权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 3 页

[54] 发明名称 多组分生物微阵列芯片的制备方法

[57] 摘要

本发明公开了一种多组分生物微阵列芯片的制备方法，由下述步骤组成：(1) 准备一个具有经过氨基硅烷修饰后的氨基表面的基底，或准备一个具有经过氨基硅烷修饰后，并经过与双功能交联试剂戊二醛交联的表面的基底；(2) 用至少两个微型印章沾取不同的抗原溶液，呈 90° 依次印刷在经过修饰的基底上；用牛血清白蛋白溶液静置饱和印刷后的基底，用磷酸缓冲液漂洗去剩余蛋白质；用两种被标记荧光的抗体溶液滴加到基底上，用磷酸缓冲液漂洗，除去未结合的抗体，于氮气下吹干，即制成多组分生物微阵列芯片，本发明所制备的多组分生物微阵列芯片在进行免疫测定时，具有检测灵敏度高、样品用量少、成本低、一芯多测的特点。



I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种多组分生物微阵列芯片的制备方法，由下述步骤组成：

(1) 准备一个具有经过氨基硅烷修饰后的氨基表面的基底，或准备一个具有经过氨基硅烷修饰后，并经过与双功能交联试剂戊二醛交联的表面的基底；所述基底氨基硅烷修饰时所用氨基硅烷甲苯溶液的体积百分比浓度为 1-2%，所述戊二醛交联时所用戊二醛磷酸盐缓冲溶液的体积百分比浓度为 2.5-5%。

(2) 微阵列载片的制备：

①用一个经过清洗的由聚二甲基硅氧烷制成的微型印章沾取浓度为 $10\mu\text{g/ml}$ - 10mg/ml 的抗原-I 溶液，印刷在所述的经过修饰的基底上，静置 1-5 分钟；再用另一个经过清洗的由聚二甲基硅氧烷制成的微型印章沾取浓度为 $10\mu\text{g/ml}$ - 10mg/ml 的抗原-II 溶液，呈 90° 的角度印刷在同一个基底上，静置 1-5 分钟；②用重量/体积百分比浓度为 5-10% 牛血清白蛋白溶液静置饱和印刷后的基底 5-10 分钟，用磷酸缓冲液漂洗去剩余的蛋白质；③用被标记荧光的浓度为 $10\mu\text{g/ml}$ - 10mg/ml 抗体-I 溶液滴加到经步骤②处理的基底上，静置 1-3 分钟，用磷酸缓冲液漂洗 3-5 次，除去未结合的抗体-I，再用被标记荧光的浓度为 $10\mu\text{g/ml}$ - 10mg/ml 的抗体-II 溶液滴加于同一个基底上，静置 1-3 分钟，用磷酸缓冲液漂洗 3-5 次，除去未结合的抗体-II，于氮气下吹干，即制成多组分生物微阵列芯片。

2. 根据权利要求1所述的一种多组分生物微阵列芯片的制备方法，其特征是所述基底材料为云母或玻璃。

多组分生物微阵列芯片的制备方法

技术领域

本发明属于生物技术领域，涉及一种生物芯片的制备方法。

背景技术

微接触印刷法(Microcontact printing, μ CP)是一种可控制的表面图案化的微制作技术，该方法用高分子材料加工制备的模具作为“印章”，将待分析的物质作为“墨水”转移到固体基底表面上。该法可使用多种不同的“墨水”和基底，具有很强的适用性。如：可将分子经化学吸附、固定到金属或氧化物表面；将反应物印刷在组织器官表面；或将蛋白质转移到硅和玻璃表面等。而微接触印刷技术可以大大缩小表面微制作的尺度，能使在表面上固定生物分子的尺度从微米级降到纳米，这对于生物微加工制作至关重要。利用微接触印刷技术还可进行材料的固定，用于制作生物感应器，微型联合实验室，筛选催化配体，制作组织工程学模板，制作免疫分析器件等均有着广阔的应用前景。微接触印刷法在结构空间上可控制性的特点，为其在蛋白质的吸附与固定、细胞的附着和生长，以及诸多研究领域提供了一种新的生物技术研究手段。试验证明，进行微接触印刷后蛋白质分子，细胞等都能保持原有的生物学活性，这为进一步开展单分子、单细胞的分析研究提供了可能。微接触印刷法在一个很小的表面上进行图案制作，具有很高的精度，且由于试验中可生成自组装单分子层，使得反应物之间的相互作用达到分子水平，其结果比溶液中大剂量的反应具有更好的灵敏性和精度。微接触印刷法作为一种新的实验手段在生物学及其相关学科中被越来越多的人所关注，并已成为活性材料-生物微分析的重要研究方法，应用于生命科学的基础应用研究中。但现有技术多是将一种生物材料如蛋白质分子固定在基底材料表面。

发明内容

本发明的目的是克服现有技术中的不足，提供一种多组分生物微阵列芯片的制备方法。

本发明的技术方案概述如下：

一种多组分生物微阵列芯片的制备方法，由下述步骤组成：

(1) 准备一个具有经过氨基硅烷修饰后的氨基表面的基底，或准备一个具有经过氨基硅烷修饰后，并经过与双功能交联试剂戊二醛交联的表面的基底；所述基底氨基硅烷修饰时所用氨基硅烷甲苯溶液的体积百分比浓度为 1-2%，所述戊二醛交联时所用戊二醛磷酸盐缓冲溶液的体积百分比浓度为 2.5-5%。

(2) 微阵列载片的制备：

①用一个经过清洗的由聚二甲基硅氧烷制成的微型印章沾取浓度为 $10\mu\text{g/ml}$ - 10mg/ml 的抗原-I 溶液，印刷在所述的经过修饰的基底上，静置 1-5 分钟；再用另一个经过清洗的由聚二甲基硅氧烷制成的微型印章沾取浓度为 $10\mu\text{g/ml}$ - 10mg/ml 的抗原-II 溶液，呈 90° 的角度

印刷在同一个基底上，静置 1-5 分钟；②用重量/体积百分比浓度为 5-10%牛血清白蛋白溶液静置饱和印刷后的基底 5-10 分钟，用磷酸缓冲液漂洗去剩余的蛋白质；③用被标记荧光的浓度为 10 μ g/ml-10mg/ml 抗体-I 溶液滴加到经步骤②处理的基底上，静置 1-3 分钟，用磷酸缓冲液漂洗 3-5 次，除去未结合的抗体-I，再用被标记荧光的浓度为 10 μ g/ml-10mg/ml 的抗体-II 溶液滴加于同一个基底上，静置 1-3 分钟，用磷酸缓冲液漂洗 3-5 次，除去未结合的抗体-II，于氮气下吹干，即制成多组分生物微阵列芯片。

所述基底材料为云母或玻璃。

本发明一种多组分生物微阵列芯片的制备方法中，对基底表面进行氨基硅烷修饰时所用氨基硅烷甲苯溶液的体积百分比浓度为 1-2%，克服了现有技术中采用 10%的氨基硅烷甲苯溶液对基底表面的修饰，所造成的基底表面透光效果不好，为后面的检测带来不便不足。本发明在对基底进行氨基硅烷修饰后，用双功能交联试剂戊二醛对基底进行戊二醛交联时所用戊二醛磷酸盐缓冲溶液的体积百分比浓度为 2.5-5%，也克服了现有技术中采用 10%溶液，所造成的基底表面透光效果不好的不足。

本发明一种多组分生物微阵列芯片的制备方法所制备的一种多组分生物微阵列芯片，是可控制的、有规则的、可实现两种以上不同系列的免疫识别反应微阵列测定。该法具有制备简单、样品用量少、成本低、检测灵敏度高、一芯多测等特点；并可用于多元微阵列生物芯片（DNA 芯片、蛋白质芯片），以及单分子、单细胞在固-液界面相互作用等的基础研究，以及在生物医学和生物技术等方面的应用研究。

附图说明

图 1 为微接触印刷法（Microcontact printing, μ CP）的基本原理示意图；

图 2 为云母基底修饰前后的 XPS 谱图；

图 3 为玻璃、氨基硅烷-玻璃、及戊二醛-玻璃基底修饰前后的 XPS 谱图；

图 4 为双向交叉两种不同抗原-抗体免疫反应微阵列芯片的制备方法示意图；

图 5 为在氨基硅烷-玻璃基底表面上抗-鸡-IgG(抗体-I-巯基荧光黄) 结合到鸡-IgG(抗原-I) 的微阵列表面上的荧光光谱图像；

图 6 为在氨基硅烷-玻璃基底表面上抗-兔-IgG(抗体-II-巯基四甲基罗丹明) 结合到兔-IgG(抗原-II) 的微阵列表面上的荧光光谱图像；

图 7 为在氨基硅烷-云母基底表面上抗-鸡-IgG(抗体-I-巯基荧光黄) 结合到鸡-IgG(抗原-I) 的微阵列表面上的荧光光谱图像；

图 8 为在氨基硅烷-云母基底表面上抗-兔-IgG(抗体-II-巯基四甲基罗丹明) 结合到兔-IgG(抗原-II) 的微阵列表面上的荧光光谱图像；

图 9 为在氨基硅烷-戊二醛-玻璃基底表面上抗-鸡-IgG(抗体-I-巯基荧光黄) 结合到鸡-IgG(抗原-I) 的微阵列表面上的荧光光谱图像；

图 10 为在氨基硅烷-戊二醛-玻璃基底表面上抗-兔-IgG(抗体-II-巯基四甲基罗丹明) 结合到兔-IgG(抗原-II) 的微阵列表面上的荧光光谱图像。

具体实施方式

下面结合附图和实施例对本发明作进一步的说明。

实施例 1

几种基底的修饰：

(1) 云母的氨基硅烷修饰：实验中所用的云母片是多片层的结构，实验的第一步是解离，就是将云母片逐层分离，选取透明度比较好，表面比较光滑的片层；在新解离的云母表面上滴加一层体积百分比浓度为 1% 的氨基硅烷 (3-aminopropyltriethoxysilane, APTES) 甲苯溶液，5 分钟后依次用甲苯和丙酮清洗，在氮气下吹干置于 110°C 干燥 30 分钟备用。

(2) 玻璃的氨基硅烷修饰：① 将玻璃片先用体积比为 1:1:5 的 25% NH_3 ，30% H_2O_2 ，和 H_2O 溶液清洗 10 分钟，后再用体积比为 1:1:5 的 37% HCl ，30% H_2O_2 和 H_2O 溶液，清洗 10 分钟；② 再用双蒸纯净水，乙醇和丙酮清洗，使其在氮气下吹干后再置于 110°C 干燥 1.5 小时；③ 在玻璃表面上滴加一层体积百分比浓度为 1% 氨基硅烷甲苯溶液，5 分钟后依次用甲苯和丙酮清洗，在氮气下吹干置于 110°C 干燥 30 分钟备用。

(3) 玻璃的氨基硅烷-戊二醛修饰：用 pH=7.4 磷酸盐缓冲液浸润经过氨基硅烷修饰后的玻璃片，再与体积百分比浓度为 2.5% 的戊二醛磷酸盐缓冲溶液反应 1 小时，用双蒸纯净水漂洗后，氮气下置于后备用。

(4) 云母的氨基硅烷-戊二醛修饰：用 pH=7.4 磷酸盐缓冲液浸润经过氨基硅烷修饰后的云母片，再与体积百分比浓度为 2.5% 的戊二醛磷酸盐缓冲溶液反应 1 小时，用双蒸纯净水漂洗后，氮气下吹干后备用。

实施例 2

几种基底的修饰：

(1) 云母的氨基硅烷修饰：步骤同实施例 1，所用氨基硅烷甲苯溶液的体积百分比浓度为 2%，在氮气下吹干置于 110°C 干燥的时间为 10 分钟。

(2) 玻璃的氨基硅烷修饰：步骤同实施例 1，所用氨基硅烷甲苯溶液的体积百分比浓度为 2%，在氮气下吹干置于 110°C 干燥的时间为 10 分钟。

(3) 玻璃的氨基硅烷-戊二醛修饰：步骤同实施例 1，所述戊二醛磷酸盐缓冲溶液的体积百分比浓度为 5%。

(4) 云母的氨基硅烷-戊二醛修饰：步骤同实施例 1，所述戊二醛磷酸盐缓冲溶液的体积百分比浓度为 5%。

实施例 3

微阵列载片的制备：

① 用一个经过无水乙醇冲洗 3 次，再用双蒸纯净水清洗 3 次的由聚二甲基硅氧烷制成的微型印章沾取浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的兔抗原溶液，印刷在经过氨基硅烷修饰的云母基底上，静置 5 分钟；再用另一个经过无水乙醇冲洗 3 次，再用双蒸纯净水清洗 3 次的由聚二甲基硅氧烷制成的微型印章沾取浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的鸡抗原溶液，呈 90° 交叉印刷在同一个基底上，静置

5 分钟；②用重量/体积百分比浓度为 5%牛血清白蛋白溶液静置饱和印刷后的基底 5 分钟，用磷酸缓冲液漂洗去剩余的蛋白质；③用被标记荧光的浓度为 10 μ g/ml 兔抗体溶液，滴加到经步骤②处理的基底上，静置 3 分钟，用磷酸缓冲液漂洗 4 次，除去未结合的抗体溶液，再用被标记荧光的浓度为 10 μ g/ml 的鸡抗体溶液，滴加于同一个基底上，静置 3 分钟，用磷酸缓冲液漂洗 4 次，除去未结合的抗体溶液，于氮气下吹干，即制成多组分生物微阵列芯片。

实施例 4

微阵列载片的制备：

①用一个经过无水乙醇冲洗 2 次，再用双蒸纯净水清洗 2 次的由聚二甲基硅氧烷制成的微型印章沾取浓度为 100 μ g/ml 的兔抗原溶液，印刷在经过氨基硅烷修饰的玻璃基底上，静置 1 分钟；再用另一个经过无水乙醇冲洗 2 次，再用双蒸纯净水清洗 2 次的由聚二甲基硅氧烷制成的微型印章沾取浓度为 100 μ g/ml 的鸡抗原溶液，呈 90° 交叉印刷在同一个基底上，静置 1 分钟；②用重量/体积百分比浓度为 10%牛血清白蛋白溶液静置饱和印刷后的基底 10 分钟，用磷酸缓冲液漂洗去剩余的蛋白质；③用被标记荧光的浓度为 100 μ g/ml 兔抗体溶液，滴加到经步骤②处理的基底上，静置 1 分钟，用磷酸缓冲液漂洗 3 次，除去未结合的抗体溶液，再用被标记荧光的浓度为 100 μ g/ml 的鸡抗体溶液，滴加于同一个基底上，静置 1 分钟，用磷酸缓冲液漂洗 3 次，除去未结合的抗体溶液，于氮气下吹干，即制成多组分生物微阵列芯片。

实施例 5

微阵列载片的制备：

①用一个经过无水乙醇冲洗 2 次，再用双蒸纯净水清洗 2 次的由聚二甲基硅氧烷制成的微型印章沾取浓度为 1mg/ml 的兔抗原溶液，印刷在经过氨基硅烷-戊二醛修饰的玻璃基底上，静置 3 分钟；再用另一个经过无水乙醇冲洗 2 次，再用双蒸纯净水清洗 2 次的由聚二甲基硅氧烷制成的微型印章沾取浓度为 1mg/ml 的鸡抗原溶液，呈 90° 交叉印刷在同一个基底上，静置 3 分钟；②用重量/体积百分比浓度为 7%牛血清白蛋白溶液静置饱和印刷后的基底 7 分钟，用磷酸缓冲液漂洗去剩余的蛋白质；③用被标记荧光的浓度为 1mg/ml 兔抗体溶液，滴加到经步骤②处理的基底上，静置 2 分钟，用磷酸缓冲液漂洗 5 次，除去未结合的抗体溶液，再用被标记荧光的浓度为 1mg/ml 的鸡抗体溶液，滴加于同一个基底上，静置 2 分钟，用磷酸缓冲液漂洗 5 次，除去未结合的抗体溶液，于氮气下吹干，即制成多组分生物微阵列芯片。

实施例 6

微阵列载片的制备：

①用一个经过无水乙醇冲洗 2 次，再用双蒸纯净水清洗 2 次的由聚二甲基硅氧烷制成的微型印章沾取浓度为 10mg/ml 的兔抗原溶液，印刷在经过氨基硅烷-戊二醛修饰的云母基底上，静置 3 分钟；再用另一个经过无水乙醇冲洗 2 次，再用双蒸纯净水清洗 2 次的由聚二甲基硅氧烷制成的微型印章沾取浓度为 10mg/ml 的鸡抗原溶液，呈 90° 交叉印刷在同一个基底上，静置 3 分钟；②用重量/体积百分比浓度为 8%牛血清白蛋白溶液静置饱和印刷后的基底

7 分钟,用磷酸缓冲液漂洗去剩余的蛋白质;③用被标记荧光的浓度为 10mg/ml 兔抗体溶液,滴加到经步骤②处理的基底上,静置 2 分钟,用磷酸缓冲液漂洗 5 次,除去未结合的抗体溶液,再用被标记荧光的浓度为 10mg/ml 的鸡抗体溶液,滴加于同一个基底上,静置 2 分钟,用磷酸缓冲液漂洗 5 次,除去未结合的抗体溶液,于氮气下吹干,即制成多组分生物微阵列芯片。

实施例 7

微接触印刷法的基本原理与制作步骤

1. 微接触印刷法 (Microcontact printing, μ CP) 的基本原理:

见图1,在图中,模具1,将聚二甲基硅氧烷 (Poly-dimethylsiloxane, PDMS) 2 浇置模具1 上制成微型印章3,沾取抗原-I 溶液4将其微印刷在经修饰的基底表面上5,移走微型印章3后在基底表面便形成相应的抗原-I微阵列规则图案6。

2. 微印章的加工制备步骤:

- 1) 设计、加工、并制作具有特定表面结构形态的模子 (master)。模子的制作材料常使用比较坚硬的玻璃,金属等材料。
- 2) 制作微印章 (stamp),一般多使用聚二甲基硅氧烷 (Poly (dimethylsiloxane), PDMS) 作为印章的制作材料。释放后印章的表面与模子表面互补。
- 3) 用印章沾取“墨水”溶液。
- 4) 将印章上沾取的溶液转移到基底表面,形成自组装分子层。
- 5) 作进一步处理,为基础芯片应用于相应的免疫分析识别等的研究。

图 2 为 XPS 谱图分别检测出基底材料表面化学修饰前后的变化

XPS 是 X 射线光电子谱 (X-ray Photoelectron Spectroscopy) 的简称。X 射线光电子谱是重要的材料表面分析技术之一。它不仅能探测表面的化学组成,而且还可以确定各元素的化学状态,因此,在化学、材料科学及表面科学中被广泛地应用。在图 2、图 3 中,横坐标为 Binding Enrgy (结合能) 单位为 eV (电子伏特) 纵坐标为 C/S (相对强度) 图中 mica modified (修饰的云母), mica unmodified (未修饰的云母)。

从图2的XPS谱可以清楚地看到,图中上面的曲线是经APTES修饰后的云母表面多了一个 N1s峰,其余部分均与未修饰的云母表面相同,表明APTES已成功地修饰在玻璃基底表面上,并使表面带有-NH₂功能基团且具有了一定的亲水性。

图 3 是同一个坐标系下,玻璃 (GLASS)、氨基硅烷-玻璃 (ATPES)、及戊二醛-氨基硅烷-玻璃 (ATPES+GA) 基底修饰前后的 XPS 谱图。由图 3 中,横坐标为上面的曲线为玻璃,中间的曲线为戊二醛-氨基硅烷-玻璃,下面的曲线为氨基硅烷-玻璃,从图中可以看出,玻璃基底经过 APTES 修饰后,多了一个 N1s 峰,表明 APTES 已成功地修饰在玻璃基底表面上,并使表面带有氨基功能基团且具有了一定的亲水性。玻璃-GA 表面是在氨基硅烷修饰在玻璃表面的基础上,进一步加入戊二醛与氨基硅烷相互反应使固体材料表面带有醛基功能基团,具有结合蛋白质分子的功能。

图4为双向交叉两种不同抗原-抗体免疫反应微阵列芯片的制备方法示意图。

图中, 9为Ag1+Ab1-巯基荧光黄, 10为Ag2+Ab2-巯基四甲基罗丹明, 11为牛血清白蛋白。

图5为在氨基硅烷-玻璃基底表面上 Anti-Chicken-IgG-FITC(抗体-I-巯基荧光黄) 结合到鸡-IgG (抗原-I)的微阵列表面上的荧光光谱图像;

图6为在氨基硅烷-玻璃基底表面上 Anti-Rabbit-IgG-TRITC(抗体-II-巯基四甲基罗丹明) 结合到兔-IgG (抗原-II)的微阵列表面上的荧光光谱图像;

图7为在氨基硅烷-云母基底表面上 Anti-Chicken-IgG-FITC(抗体-I-巯基荧光黄) 结合到鸡-IgG (抗原-I)的微阵列表面上的荧光光谱图像;

图8为在氨基硅烷-云母基底表面上 Anti-Rabbit-IgG-TRITC(抗体-II-巯基四甲基罗丹明) 结合到兔-IgG (抗原-II)的微阵列表面上的荧光光谱图像。

图9为在氨基硅烷-戊二醛-玻璃基底表面上抗-鸡-IgG(抗体-I-巯基荧光黄) 结合到鸡-IgG (抗原-I)的微阵列表面上的荧光光谱图像;

图10为在氨基硅烷-戊二醛-玻璃基底表面上抗-兔-IgG(抗体-II-巯基四甲基罗丹明) 结合到兔-IgG (抗原-II)的微阵列表面上的荧光光谱图像。

从荧光图像中可以看出, 双向印刷的免疫抗原微阵列的宽度约为 $200\ \mu\text{m}$, 其间隔(无荧光)带宽约为 $500\ \mu\text{m}$, 与我们设计使用的 $200\ \mu\text{m}$ 宽, 间隔为 $500\ \mu\text{m}$ 的长方型微印章尺寸相一致。

结果表明, 抗原分子(I)和抗原分子(II)与氨基硅烷-玻璃表面上的 $-\text{NH}_2$ 功能基团通过分子间的非共价键(静电力、范德华力等)相互作用, 使其双向交叉吸附结合, 并被固定于被修饰的AP-玻璃基底表面上; 而BSA对未印刷表面的吸附饱和, 使得相应的抗体分子只结合于其相应的抗原分子的微印刷阵列上。因此, 荧光图像2-(b)和2-(c)可清楚地观察到两种不同荧光标记的抗体, 特异性地结合在由微制作控制制作的相应抗原的微阵列上, 并在同一基底芯片上实现可控制的、规则的、双向交叉的、两种不同系列的免疫识别反应微阵列测定结果。该方法将为后续的多元免疫测定芯片, 以及单分子、单细胞在固-液界面相互作用等的研究提供了坚实的基础, 并将在生物医学和生物技术等方面得到广泛的应用。

利用本发明的方法, 还可以制成检测两个以上不同系列的生物免疫识别反应的微阵列芯片。采用的方法是选用两个以上的微型印章分别沾取不同的种类的抗原溶液, 浓度为 $10\ \mu\text{g}/\text{ml}$ - $10\ \text{mg}/\text{ml}$ 呈 30 - 330° 之一的角度印刷在同一个基底上的角度, 静置 1 - 5 分钟; 用磷酸缓冲液漂洗去剩余的蛋白质; 用 5 - 10% 牛血清白蛋白溶液静置饱和印刷后的基底 5 - 10 分钟, 用依次用被标记荧光的浓度为 $10\ \mu\text{g}/\text{ml}$ - $10\ \text{mg}/\text{ml}$ 的与抗原对应的种类的抗体溶液滴加到经步骤②处理的基底上, 静置 1 - 3 分钟, 用磷酸缓冲液漂洗 3 - 5 次, 除去未结合的抗体, 于氮气下吹干, 即制成多组分生物微阵列芯片。抗原抗体的种类也不限制为兔抗原-抗体和鸡抗原-抗体。

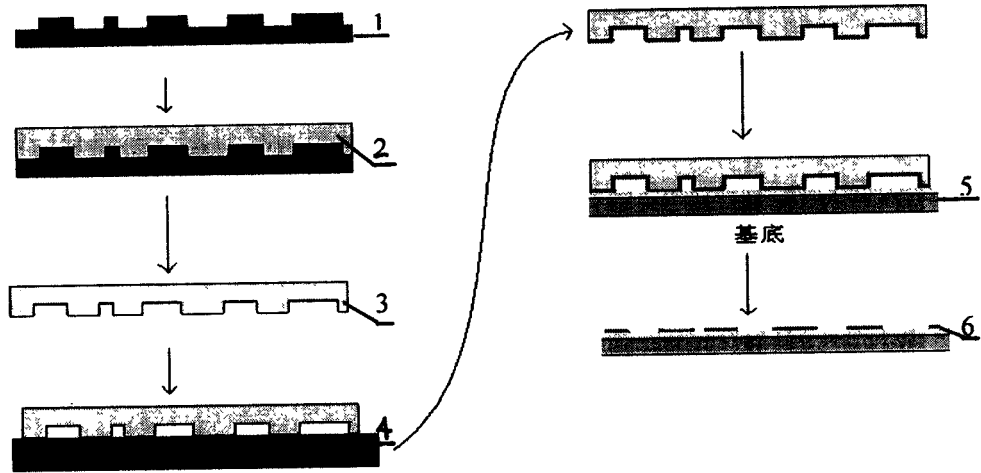


图 1

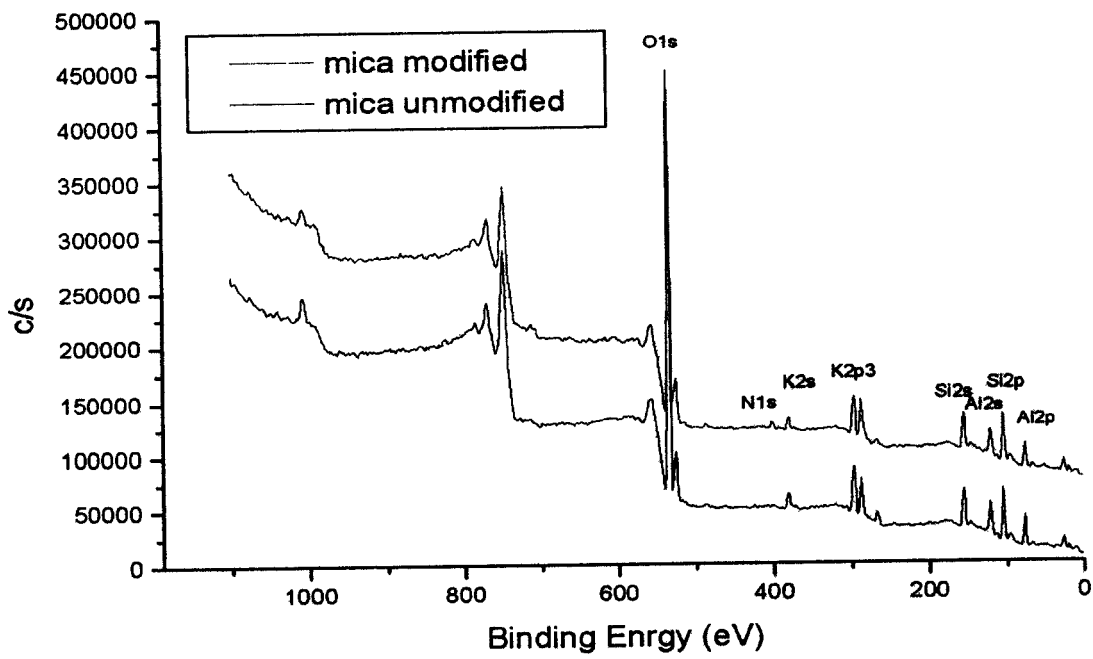


图 2

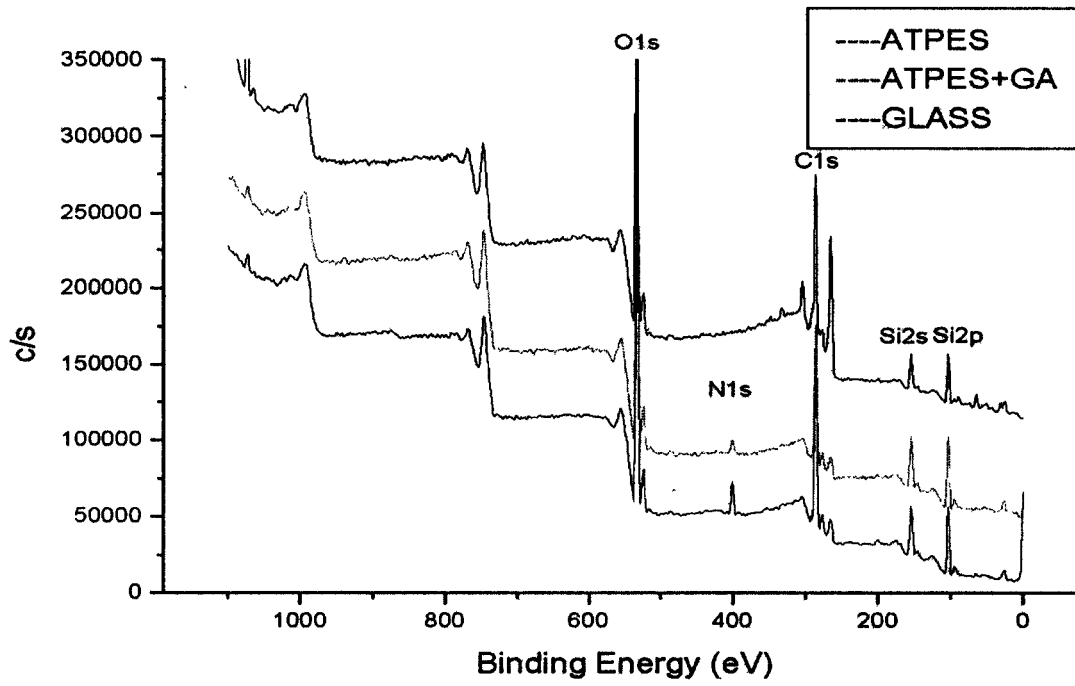


图 3

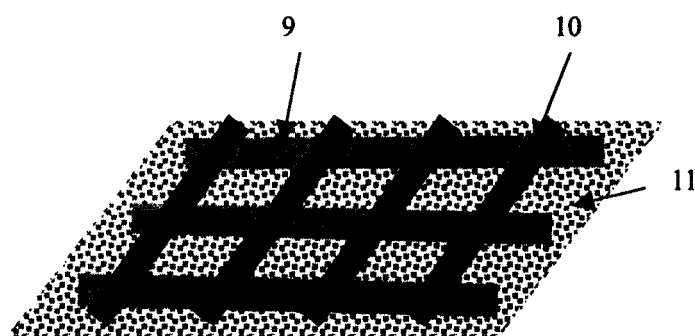


图 4

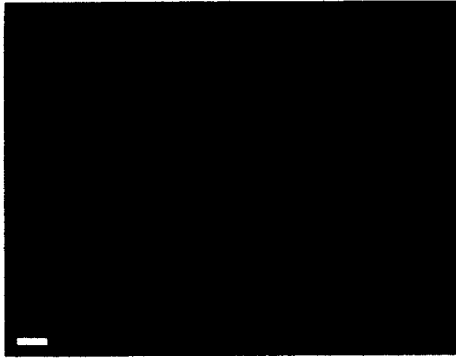


图 5

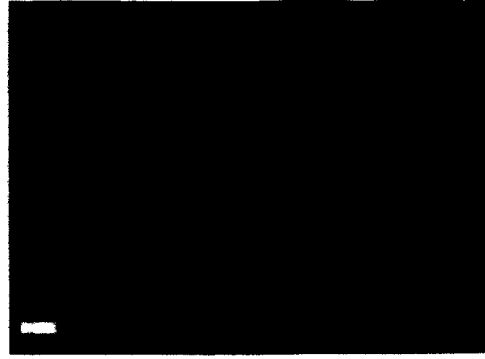


图 6

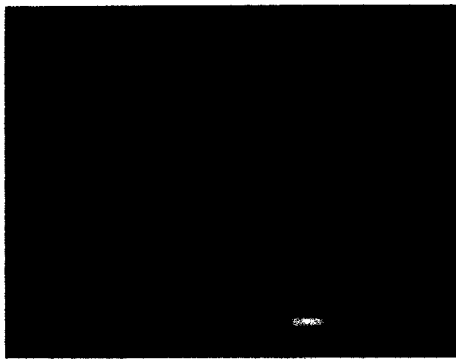


图 7



图 8

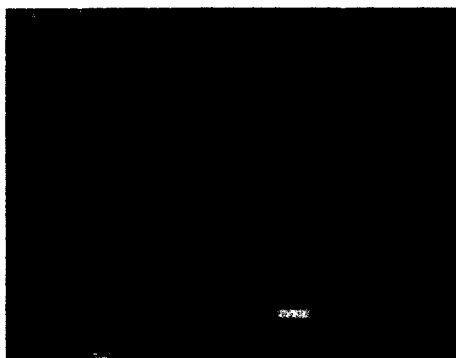


图 9

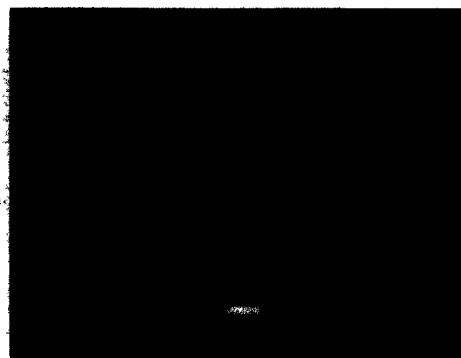


图 10

专利名称(译)	多组分生物微阵列芯片的制备方法		
公开(公告)号	CN1588070A	公开(公告)日	2005-03-02
申请号	CN200410071837.1	申请日	2004-09-06
[标]申请(专利权)人(译)	南开大学		
申请(专利权)人(译)	南开大学		
当前申请(专利权)人(译)	南开大学		
[标]发明人	冯喜增 侯森 王立凯 产启林 韩佩东		
发明人	冯喜增 侯森 王立凯 产启林 韩佩东		
IPC分类号	G01N33/50 G01N33/531 G01N33/533		
代理人(译)	陆艺		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种多组分生物微阵列芯片的制备方法，由下述步骤组成：(1)准备一个具有经过氨基硅烷修饰后的氨基表面的基底，或准备一个具有经过氨基硅烷修饰后，并经过与双功能交联试剂戊二醛交联的表面的基底；(2)用至少两个微型印章沾取不同的抗原溶液，呈90°依次印刷在经过修饰的基底上；用牛血清白蛋白溶液静置饱和印刷后的基底，用磷酸缓冲液漂洗去剩余蛋白质；用两种被标记荧光的抗体溶液滴加到基底上，用磷酸缓冲液漂洗，除去未结合的抗体，于氮气下吹干，即制成多组分生物微阵列芯片，本发明所制备的多组分生物微阵列芯片在进行免疫测定时，具有检测灵敏度高、样品用量少、成本低、一芯多测的特点。

