



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109682964 A

(43)申请公布日 2019.04.26

(21)申请号 201910091195.8

(22)申请日 2019.01.30

(71)申请人 扬州大学

地址 225000 江苏省扬州市开发区大学南路88号

(72)发明人 胡锐宣 刘靳一蒙 吴昕玥
杨占军 李娟

(74)专利代理机构 南京苏科专利代理有限责任公司 32102

代理人 董旭东 徐素柏

(51) Int. Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 21/76(2006.01)

B82Y 40/00(2011.01)

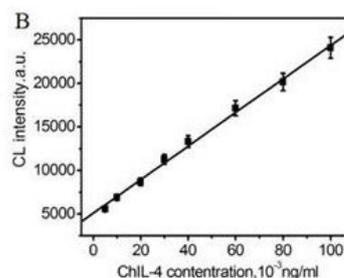
权利要求书2页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的制备方法
及检测多组分抗原的方法

(57)摘要

本发明涉及一种Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的制备方法
及检测多组分抗原的方法,本发明首先合成的Au@Fe₃O₄纳米粒子探
针,成功将其应用于构建纳米酶信号放大的化学发光阵列免疫传
感器。其次,将不同的捕获抗体固定于免疫阵列传感器不同的固
相界面,然后分别通入抗原样品和Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米信号
放大探针,在线温育形成稳定的夹心免疫反应复合物,通入化学
发光底物后所产生的光信号由电荷耦合CCD相机收集,实现了
纳米酶催化信号放大的多组分抗原化学发光免疫检测,适用于
多种分析物抗原的同时检测。该分析方法具有检测成本低、样
品消耗少、耗费时间短、稳定性好、操作简单等优点,为家禽疾
病的临床检测提供了一个深具前景的检测平台。



1. 一种Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的制备方法,包括以下步骤:

A1: 制备Au@Fe₃O₄纳米粒子: 将体积比为(1~1.5):20的油酸与十八碳烯混合,在N₂流下加热至120°C保温20 min,在N₂层下向混合液中注入Fe(CO)₅,使Fe(CO)₅在上述混合液中的浓度为35~40mg/mL,搅拌5 min后,将体积为油酸体积一半的油胺注入反应后的混合物中,然后向混合物中10—15倍质量的Au纳米颗粒,混合均匀后,将混合液加热至300~310 °C回流45 min,冷却至室温后,再加入异丙醇将颗粒分离,分离出离散的Au纳米颗粒,将分离出Au纳米颗粒后的得到的二联体Au@Fe₃O₄纳米粒子分散到己烷中,使Au@Fe₃O₄的分散浓度为5 mg/mL;

A2: 制备Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针: 向步骤A1制得的Au@Fe₃O₄ 纳米颗粒的溶液按体积比为30:(1~1.5)加入浓度为100~200μg/mL二级抗体Ab₂,缓慢搅拌2h,再在4 °C下以10000 rpm 离心30 min,以去除过量Ab₂捕获抗体;将离心液沉淀后分散于0.01M 的磷酸盐缓冲液中;本步上述过程至少重复两次,最终得到分散浓度为5 mg/mL 的Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针悬浮分散液。

2. 根据权利要求1所述Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的制备方法,其特征在于,所述Au胶态分散体的制备方法为:将HAuCl₄·3H₂O加入到四氢化萘中配制浓度为2.5~3 mmol/100 mL的溶液,再加入体积为四氢化萘体积1/10 的油胺配制成红色溶液,然后将该溶液在0~70 °C加热5~6h,再冷却至室温,将乙醇加入到溶液中,通过离心分离金颗粒,并用乙醇洗涤,然后再分散在己烷中,制得分散浓度为10mg/mL的Au胶态体分散体。

3. 一种基于Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的化学发光阵列免疫传感器检测多组分抗原的方法,其特征在于,包括以下步骤:

B1: 利用丝网印刷技术于硅烷化载玻片印制多点位检测的反应阵列;

B2: 将壳聚糖溶液等体积混合不同待分析物的捕获抗体滴涂于B1步丝网印刷的反应阵列的各点位;再用封闭缓冲液封闭活性位点,制得阵列免疫传感器;

B3: 依次向免疫阵列的各点位中分别滴加5μL的与B2步各点位对应的待检测抗原和Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针,温育后形成稳定夹心免疫复合物,缓冲液清洗吹干后加入化学发光底物;

B4: 用CCD照相机积分收集发光信号,检测各发光信号的光强度,根据各发光信号的光强度与抗原浓度的线性关系,计算原抗原样品的浓度。

4. 根据权利要求3所述的基于Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的化学发光阵列免疫传感器检测多组分抗原的方法,其特征在于,步骤B1中,丝网印刷的反应阵列各检测点位的微孔直径为2mm,边缘的点位距载玻片边缘的间距为4~6mm,微孔外缘为绿色的具有疏水作用的绝缘油漆。

5. 根据权利要求3所述的基于Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的化学发光阵列免疫传感器检测多组分抗原的方法,其特征在于,步骤B1中,硅烷化载玻片的制备方法为:将可抛式载玻片浸泡于水虎鱼酸溶液中活化10~12小时,使其表面带有氨基,去离子水冲洗并晾干后,然后浸泡于含有1% γ-缩水甘油醚氧丙基三甲氧基硅烷的甲苯溶液中使其硅烷化,再依次用甲苯和乙醇分别冲洗,氮气吹干后制成硅烷化载玻片。

6. 根据权利要求3所述的基于Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的化学发光阵列免疫传感器检测多组分抗原的方法,其特征在于,步骤B2)中,将浓度为100~200μg/mL的不同捕

获抗体与0.5 wt%壳聚糖溶液等体积混合后均匀滴在B1步制得的各阵列点位的微孔中,室温下温育10小时以上,然后用磷酸缓冲液冲洗载玻片后,氮气吹干,再滴加封闭液至各检测位点反应12h以封闭活性位点,再用PBST溶液冲洗三次,制得阵列免疫传感器;所述BST溶液为质量含量为0.05% Tween-20的0.01 mol/L pH 7.4 磷酸缓冲液。

7. 根据权利要求6所述的基于Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的化学发光阵列免疫传感器检测多组分抗原的方法,其特征在于,所述封闭液为质量浓度1.0~3.0%的牛血清蛋白溶液。

8. 根据权利要求3所述的基于Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的化学发光阵列免疫传感器检测多组分抗原的方法,其特征在于,所述B3步中分别滴加待检测抗原样品和Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针后,分别温育的时间为25~30min。

9. 根据权利要求6所述的基于Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的化学发光阵列免疫传感器检测多组分抗原的方法,其特征在于,B4 步中,确定发光信号的强度与抗原浓度的线性关系的方法为:在B3步中,向免疫传感器阵列添加检测样品和Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针之前,将免疫传感器阵分为标准样品检测区和未知样品检测区,所述标准样品检测区的各检测点位于滴加已知浓度的抗原样品和Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶信号放大探针;然后在B4步中,根据获得的已知浓度点位的发光强度与已知浓度拟合抗原浓度和发光强度的标准曲线,该标准曲线用于根据未知浓度的发光强度值确定浓度值。

10. 根据权利要求6所述的基于Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的化学发光阵列免疫传感器检测多组分抗原的方法,其特征在于,B4步中,检测CCD相机中的各图像发光强度通过软件Alpha View SA识别分析而得。

Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的制备方法及其检测多组分抗原的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物分子化学发光免疫检测分析技术领域,特别涉及一种Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的制备方法及其发光阵列检测多组分抗原的方法。

背景技术

[0002] 化学发光免疫分析(Chemiluminescence Immunoassay, CLIA),是具有高灵敏度的化学发光与高特异性的免疫反应相结合的分析方法,是在传统放射性免疫分析、酶联免疫分析、荧光免疫分析以及时间分辨荧光免疫分析等免疫分析方法之后发展起来的一种新的检测微量抗原和抗体的新型标记免疫分析技术。化学发光成像免疫分析是目前化学发光免疫分析检测中最受关注的方法之一,结合了化学发光免疫分析与成像技术,兼具化学发光免疫分析的优点和成像分析通量高,能多组分同时检测的优点。已被成功用于检测蛋白质、激素、细胞因子等微量物质,在疾病的诊断、检测机体免疫功能状况、监测治疗效果和监测病情中也发挥重要的作用。为提高免疫分析的灵敏性,通常借用纳米材料作为信号放大的载体。

[0003] 相较于天然酶在保存过程中因其结构的变化很容易丧失催化活性,而且其催化活性也会因为大分子肽的活性位点被包埋而影响其它催化活性。而模拟酶具有合成制备简单,较好的稳定性,不易受环境温度等影响,修饰方法简易等优点。因此研究并发展稳定和高效的模拟酶十分必要。

[0004] 在免疫分析的实际应用中,常采用平行测定多个单组分分析法实现对复杂样品中多组分含量的测定,这种方法通常伴随着操作繁琐、分析成本高、耗时费力等缺点。目前,多组分免疫分析技术在免疫分析领域中引起了人们极大地研究兴趣,其克服了传统分析模式的不足,在单个分析流程中实现多组分的同时检测,具有分析效率高、试剂消耗少、所需时间短,分析成本低等优点。

发明内容

[0005] 本发明针对现有技术中化学发光免疫分析中为提高分析灵敏性而使用的纳米材料放大载体的催化活性受限的问题,提供一种Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的制备方法,以制得一种Au与二Fe₃O₄联体结构的纳米酶检测探针,使Fe₃O₄的催化活性不受阻挡,提高检测灵敏性。

[0006] 为实现本发明的上述目的,本发明Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的制备方法,包括以下步骤:

首先,制备Au@Fe₃O₄纳米粒子:将体积比为(1~1.5):20的油酸与十八碳烯混合,在N₂流下加热至120°C保温20 min,在N₂层下向混合液中注入Fe(CO)₅,使Fe(CO)₅的在上述混合液中的浓度为35~40mg/mL,搅拌5 min后,将体积为油酸体积一半的油胺注入反应后的混合物中,然后向混合物中10—15倍质量的Au纳米颗粒,混合均匀后,将混合液加热至300~310

°C回流45 min,冷却至室温后,再加入异丙醇将颗粒分离,分离出离散的Au纳米颗粒,将分离出Au纳米颗粒后得到的二联体Au@Fe₃O₄纳米粒子分散到己烷中,使Au@Fe₃O₄的分散浓度为5 mg/mL;通过本步制得二联体结构的Au@Fe₃O₄纳米颗粒,其中的纳米粒子Au和Fe₃O₄互不包裹,相互的催化活动和捕获能力互不影响。

[0007] 为便于制得Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针继续向上步制得的Au@Fe₃O₄ 纳米颗粒的溶液按体积比为30:(1~1.5)加入浓度为100~200μg/mL二级抗体Ab₂,缓慢搅拌2h,再在4 °C下以10000 rpm 离心30 min,以去除过量Ab₂捕获抗体;将离心液沉淀后分散于0.01M 的磷酸盐缓冲液中;本步上述过程至少重复两次,最终得到分散浓度为5 mg/mL 的Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针悬浮分散液。此分散液可在4 °C下保存。

[0008] 通过上述方法制得的带捕获抗体Ab₂的Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针,二联体结构的Au@Fe₃O₄ MNPs磁性纳米粒子具有优良的催化活性、高的稳定性,改善了天然酶稳定性差,灵敏度低,不易获取等缺陷。

[0009] 为进一步实现本发明的目的,所述Au纳米颗粒的制备方法为:将HAuCl₄·3H₂O加入到四氢化萘中配制浓度为2.5~3 mmol/100 mL的溶液,再加入体积为四氢化萘体积1/10的油胺配制成红色溶液,然后将该溶液在0~70 °C加热5~6h,再冷却至室温,将乙醇加入到溶液中,通过离心分离金颗粒,并用乙醇洗涤,然后再分散在己烷中,制得分散浓度为10mg/mL的Au胶态体分散体。

[0010] 为便于利用上述Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针同时检测多组分的因子,本发明还提供一种基于Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的化学发光阵列免疫传感器检测多组分抗原的方法,包括以下步骤:

B1:利用丝网印刷技术于硅烷化载玻片上印制多点位检测的反应阵列;

B2:将壳聚糖溶液等体积混合不同待分析物的捕获抗体分别滴涂于B1步丝网印刷的反应阵列的各点位;再用封闭缓冲液封闭活性位点,制得阵列免疫传感器;

B3:依次向免疫阵列的各点位中分别滴加5μL的与B2步各点位对应的待检测抗原和Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针,温育后形成稳定夹心免疫复合物,缓冲液清洗吹干后加入化学发光底物;

B4:用CCD照相机积分收集发光信号,检测各发光信号的光强度,根据各发光信号的光强度与抗原浓度的线性关系,计算抗原样品的浓度。

[0011] 本发明成功的构建了一种基于Au@Fe₃O₄纳米粒子化学发光免疫阵列传感器,并借助丝网印刷技术在硅烷化载玻片上制作高通量免疫传感阵列,通过载玻片上的环氧基和捕获抗体带有的氨基共价结合,将捕获抗体固定于相应结合位点。构建了一种能同时检测多细胞因子化学发光成像免疫传感器。当通入抗原和酶标抗体后,基于夹心免疫反应,加入化学发光底物引发双纳米酶催化的化学发光反应,利用电感耦合CCD同时检测不同细胞因子的化学发光信号,再根据发光信号的强度与检测因子浓度的线性关系,确定检测因子的浓度,可实现用于多种细胞因子的同时检测,相比于平行多次单组分分析,多组分免疫分析方法可以提高检测通量,缩短检测时间,减少样品消耗和检测成本;同时,本发明新颖地合成了Au@Fe₃O₄纳米粒子,将构建模拟酶信号放大的化学发光阵列免疫传感器,利用化学发光成像免疫分析技术,借助捕获抗体、抗原和酶标抗体形成双抗体夹心复合结构,结合电感耦合CCD检测不同细胞因子的化学发光信号,构建了良好的化学发光成像免疫分析系统,打破了

传统生物检测法,可以实现0.01ng/mL底浓度的检测,具有高通量、低成本、少消耗、易操作且对特定细胞因子的联合检测具有高灵敏性。

[0012] 进一步地,本发明的检测方法中,步骤B1中,丝网印刷的反应阵列各检测点位的微孔直径为2mm,边缘的点位距载玻片边缘的间距为4~6mm,各微孔外缘为绿色的具有疏水作用的绝缘油漆。这样可使微孔内亲水,微孔外疏水,能够使微孔承载各种试剂,有效避免信号干扰等问题。

[0013] 步骤B1中,硅烷化载玻片的制备方法为:将可抛式载玻片浸泡于水虎鱼酸溶液中活化10~12小时,使其表面带有氨基,去离子水冲洗并晾干后,然后浸泡于含有1% γ -缩水甘油醚氧丙基三甲氧基硅烷的甲苯溶液中使其硅烷化,再依次用甲苯和乙醇分别冲洗,氮气吹干后制成硅烷化载玻片。

[0014] 步骤B2)中,将浓度为100~200 μ g/mL的不同捕获抗体与0.5 wt%壳聚糖溶液等体积混合后均匀滴在B1步制得的各阵列点位的微孔中,室温下温育10小时以上,然后用磷酸缓冲液冲洗载玻片后,氮气吹干,再滴加封闭液至各检测位点反应12h以封闭活性位点,再用PBST溶液冲洗三次,制得阵列免疫传感器;所述BST溶液为质量含量为0.05% Tween-20的0.01 mol/L pH 7.4 磷酸缓冲液。

[0015] 进一步的,所述封闭液为质量浓度1.0~3.0%的牛血清蛋白溶液。

[0016] 进一步地,所述B3步中分别滴加待检测抗原样品和Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针后,分别温育的时间为25~30min。

[0017] 为便于快速准确地进行多样品的同时检测,B4步中,确定发光信号的强度与抗原浓度的线性关系的方法为:在B3步中,向免疫传感器阵列添加检测样品和Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针之前,将免疫传感器阵分为标准样品检测区和未知样品检测区,所述标准样品检测区的各检测点位用于滴加已知浓度的抗原样品和Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶信号放大探针;然后在B4步中,根据获得的已知浓度点位的光强度与已知浓度拟合抗原浓度和光强度的标准曲线,该标准曲线用于根据未知浓度的光强度值确定浓度值。

[0018] 为便于快速准确有测量得各检测点位的发光强度,B4步中,检测CCD相机中的各图像发光强度通过软件Alpha View SA识别分析而得。

附图说明

[0019] 图1为不同浓度ChIL-4和ChIFN- γ 标准样品检测时发光信号的光斑图像阵列。

[0020] 图2为ChIL-4标准样品的浓度与发光强度的曲线。

[0021] 图3为ChIFN- γ 标准样品的浓度与发光强度的曲线。

具体实施方式

[0022] 实施例1

通过本实施例制得一种Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针,具体过程为:

首先制备Au纳米颗粒:将1.0g HAuCl₄·3H₂O(2.5 mmol)、10 mL油胺(30 mmol)依次加入到100mL四氢化萘中,在65 °C加热5 h后,冷却至室温,离心收集并用乙醇洗涤得到Au纳米颗粒,将其分散在己烷中得到分散浓度为10 mg/ mL的Au纳米颗粒的分散胶体。

[0023] 再制备Au@Fe₃O₄纳米粒子:将1 mL 油酸(3 mmol)与20mL 十八碳烯中混合,在N₂流

下加热至120℃保温20 min,在N₂层下,向溶液中注入0.15 mL 浓度为5mg/mL 的Fe(CO)₅。搅拌5 min后,将0.5 mL油胺注入到反应混合物中,然后注入前述制得Au纳米颗粒的胶体2 mL。将溶液加热约310 °C回流45 min,冷却至室温后,加入异丙醇将颗粒分离后,取分离出颗粒分散到己烷中,得到分散浓度为5mg/mL的Au@Fe₃O₄纳米粒子。

[0024] 最后,制备Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针:向前述Au@Fe₃O₄纳米粒子分散液中加入10 μL 100 μg/mL捕获抗体 Ab₂,缓慢搅拌2 h,将溶液在4 °C下以10000 rpm 离心30 min,以去除过量Ab₂;沉淀重新分散在 0.01 M的PBS磷酸盐缓冲液中。重复两次本步的过程,最终得到Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂生物复合物悬浮分散在1.0 mL 0.01 M PBS 中,使Au@Fe₃O₄MNPs-Ab分散浓度为5mg/mL。

[0025] 通过本实施例的上述过程制得带捕获抗体Ab₂的Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针,二联体结构的Au@Fe₃O₄ MNPs磁性纳米粒子具有优良的催化活性、高的稳定性,改善了天然酶稳定性差,灵敏度低,不易获取等缺陷。

[0026] 实施例2

本实施例中将实施例1的制得的Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针制备成的化学发光阵列免疫传感器进行检测多组分抗原的方法,包括以下步骤:

B1:将可抛式载玻片浸泡于体积比为7:3的H₂SO₄和30% H₂O₂水虎鱼酸溶液中活化10~12小时,使其表面带有氨基,去离子水冲洗并晾干后,再浸泡于含有1% GPTMS(γ-缩水甘油醚氧丙基三甲氧基硅烷)的甲苯溶液中使其硅烷化,再依次用甲苯和乙醇分别冲洗,氮气吹干后制成硅烷化载玻片;然后利用丝网印刷技术并借助模板将硅烷化载玻印刷成4排×12列格式具有48个检测位点的反应阵列,其中的疏水性无光活性膜内形成的孔直径2 mm,边缘的孔距载玻片边缘间距4 mm;

B2:将壳聚糖溶液等体积混合不同鸡细胞因子的捕获抗体分别取5μL滴涂于B1步丝网印刷的反应阵列的各点位;其中,两排24点位滴涂ChIL-4捕获抗体,另外两排滴涂ChIFN-γ,捕获抗体的浓度为100 μg/mL,室温下温育12小时,然后用磷酸缓冲液冲洗载玻片后,氮气吹干,再质量浓度2.0%的牛血清蛋白溶液作为封闭液滴加至各检测位点反应12h以封闭活性位点,再用PBST(0.05% Tween-20的0.01 mol/L pH 7.4 PBS)冲洗三次,制得阵列免疫传感器;

B3:将免疫传感器阵分为标准样品检测区和未知样品检测区,其中,标准样品检测区用于后序已知浓度样品的免疫发光强度检测,向标准样品检测区的各检测点位分别滴加将5 μL不同已知浓度的ChIL-4和ChIFN-γ 抗原样品,向未知样品检测区和各点位分别滴加5μL不同的未知浓度的ChIL-4和ChIFN-γ,然后在室温下温育25 min,再向分别向标准样品检测区和未知样品检测区的各点位滴加5μL的实施例1制得的Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针,室温下温育30 min;本步中,不同已知浓度的 抗原样品是通过pH 7.4的0.01 mol/L PBS溶液稀释而成;经过上述温育处理后形成稳定的夹ChIL-4和ChIFN-γ 免疫复合物,用0.01 mol/L PBS磷酸缓冲液清洗氮气吹干后加入化学发光底物至各检测点位;所用的化学发光底物为鲁米诺、对碘苯酚和H₂O₂的Tris-HCl缓冲液;

B4:用CCD照相机动态积分10 min收集所产生的发光信号,并显示成不同强度的光斑图,将各光斑图输入配套的软件Alpha View SA识别分析图像发光点,在每个微孔中心取固定直径的圆形,利用平均像素强度来计算每个点的化学发光强度,其中,标准样品检测区的

滴加各已知抗原样品点位的图像如图1所示,图2和图3为根据各光斑图像的光强度拟合的ChIL-4和ChIFN- γ 标准曲线,通过该标准曲线,根据未知样品检测区各光斑图像的发光强度可以确定各未知浓度的样品的浓度。

[0027] 同时,为考察本发明所构建的免疫阵列传感器的准确性与实际应用价值,在其中标准样品检测区各选了五种标准浓度的ChIL-4、ChIFN- γ 样品,进行了加标回收实验,所得结果与标准加入量进行了对比。如表1,经过测定,对0.01 ng/mL、0.02 ng/mL、0.04 ng/mL、0.08 ng/mL、0.10 ng/mL(ChIL-4);0.01 ng/mL、0.04 ng/mL、0.08 ng/mL、0.12 ng/mL、0.16 ng/mL(ChIFN- γ)标准样品进行的回收实验所得回收率分别在96%-104%和94%-104.5%,显示出与标准加入良好的一致性。说明了基于Au@Fe₃O₄MNPs 模拟酶所构建的多组分化学发光成像免疫系统具有可接受的实际样品检测能力。

[0028] 表1 ChIL-4、ChIFN- γ 的加标回收实验测定结果

样品	加入量(ng/mL)		测定量(ng/mL)		回收率(%)	
	ChIL-4	ChIFN- γ	ChIL-4	ChIFN- γ	ChIL-4	ChIFN- γ
1	0.01	0.01	0.010	0.094	96.0	94.0
2	0.02	0.04	0.021	0.040	103.5	99.5
3	0.04	0.08	0.042	0.084	104	104.5
4	0.08	0.12	0.083	0.118	103.5	98.0
5	0.10	0.16	0.098	0.165	98.4	103.0

[0029] 以上所述,仅是本发明的较佳实施例,并非对本发明作任何形式上的限制,任何熟悉本专业的技术人员,在不脱离本发明技术方案范围内,依据本发明的技术实质,对以上实施例所作的任何简单的修改、等同替换与改进等,均仍属于本发明技术方案的保护范围之内。

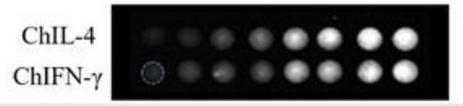


图1

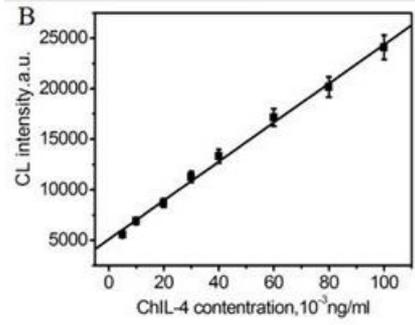


图2

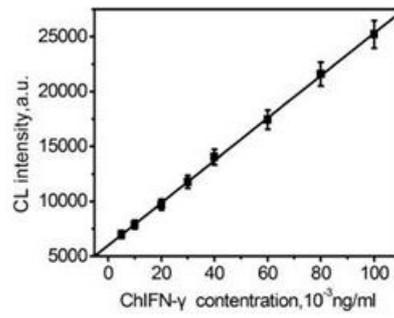


图3

专利名称(译)	Au@Fe ₃ O ₄ MNPs-Ab ₂ 纳米酶检测探针的制备方法及其检测多组分抗原的方法		
公开(公告)号	CN109682964A	公开(公告)日	2019-04-26
申请号	CN201910091195.8	申请日	2019-01-30
[标]申请(专利权)人(译)	扬州大学		
申请(专利权)人(译)	扬州大学		
当前申请(专利权)人(译)	扬州大学		
[标]发明人	胡锐宣 吴昕玥 杨占军 李娟		
发明人	胡锐宣 刘靳一蒙 吴昕玥 杨占军 李娟		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/531 G01N21/76 B82Y40/00		
CPC分类号	G01N33/543 B82Y40/00 G01N21/76 G01N33/531		
代理人(译)	董旭东		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米酶检测探针的制备方法及其检测多组分抗原的方法,本发明首先合成的Au@Fe₃O₄纳米粒子探针,成功将其应用于构建纳米酶信号放大的化学发光阵列免疫传感器。其次,将不同的捕获抗体固定于免疫阵列传感器不同的固相界面,然后分别通入抗原样品和Au@Fe₃O₄MNPs-Ab₂纳米信号放大探针,在线温育形成稳定的夹心免疫反应复合物,通入化学发光底物后所产生的光信号由电荷耦合CCD相机收集,实现了纳米酶催化信号放大的多组分抗原化学发光免疫检测,适用于多种分析物抗原的同时检测。该分析方法具有检测成本低、样品消耗少、耗费时间短、稳定性好、操作简单等优点,为家禽疾病的临床检测提供了一个深具前景的检测平台。

