



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107525937 A

(43)申请公布日 2017. 12. 29

(21)申请号 201710742825.4

(22)申请日 2017.08.25

(71)申请人 苏州优函信息科技有限公司

地址 215500 江苏省苏州市常熟市高新技术
产业开发区贤士路1号

(72)发明人 何赛灵

(74)专利代理机构 常州佰业腾飞专利代理事务
所(普通合伙) 32231

代理人 滕诣迪

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

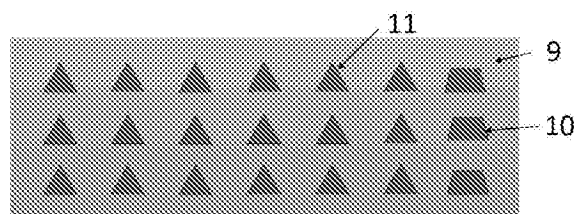
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

基于上转换发光标记物、蛋白芯片及检测方法

(57)摘要

本发明公开了一种基于上转换发光标记物、蛋白芯片及检测方法，其在载玻片或其它承载介质上的生物活性分子阵列，检测位点固定有检测抗体，会和免疫复合物目标抗原发生特异性结合，其质检位点上固定有质检抗体，会和预处理液中的质检物抗原发生特异性结合；线扫描的激发装置为近红外线光源，经二向色镜辐照在蛋白芯片上，线扫描技术的检测装置为线阵相机，线阵相机同时收集线上各点发出的可见光光强信号。本发明UCNP通过共价方式交联生物活性分子，在保证检测灵敏度的前提下提高了系统的可靠性和稳定性。



1. 一种基于上转换发光标记物, 其特征在于: 经过表面修饰的油性UCNP稳定分散在水相中, 与生物活性分子通过共价键紧密相连作为标记物。

2. 根据权利要求1所述的基于上转换发光标记物, 其特征在于: 所述的表面修饰包括UCNP表面氨基化、UCNP表面功能化、UCNP表面连接抗体。

3. 根据权利要求1所述的基于上转换发光标记物, 其特征在于: 生物活性分子选自抗原、抗体、多聚核苷酸、药物、外源凝集素、细胞。

4. 一种基于上转换发光标记蛋白芯片, 其特征在于: 包括载体(9), 载体(9)上固定有多个生物活性分子; 生物活性分子由质检抗体(10)和检测抗体(11)构成; 权利要求1所述的基于上转换发光标记物的与待测液中相应的抗体发生特异性结合生成的免疫复合物与所述的载体(9)上的检测抗体(11)特异性结合形成抗原抗体复合物。

5. 一种使用权利要求4所述的基于上转换发光标记蛋白芯片的检测方法, 其特征在于按照如下步骤进行:

步骤1、生成标记物

油性UCNP经过表面修饰与生物活性分子通过共价键紧密相连作为标记物;

步骤2、预处理

预处理液里添加UCNP标记的检测抗体和UCNP标记的质检抗原, 其中质检抗原为浓度已知的质检物;

步骤3、标记物与待测样品发生特异性结合, 形成待测液

目标抗原与预处理液里存在的UCNP标记的检测抗体发生特异性结合, 形成紧密的免疫复合物, 此时, 待测液中同时存在三种颗粒, 免疫复合物、未与目标抗原结合的检测抗体即游离检测抗体和质检抗原;

步骤4、待测液与蛋白芯片特异性结合

将上述待测液滴加在蛋白芯片上, 蛋白芯片上同时存在检测抗体和质检抗体; 其中, 免疫复合物会与检测抗体发生特异性结合, 质检物会与质检抗体发生特异性结合, 发生特异性结合的抗原抗体复合物会被固定在蛋白芯片的相应位点上, 游离的检测抗体则被冲洗掉;

步骤5、使用检测扫描仪判读。

6. 根据权利要求5所述的基于上转换发光标记蛋白芯片的检测方法, 其特征在于: 所述的步骤5中, 使用线扫描仪对蛋白芯片进行判读, 阳性检测结果中, 检测位点和质检位点上均有可见光信号, 其对应的信号强度不同; 待测样品中的目标抗原浓度可通过检测位点上信号强度和质检位点上信号强度的比值, 立即得出。

7. 一种检测权利要求4所述的基于上转换发光标记蛋白芯片的扫描仪, 其特征在于: 包括线光源(1)、分光镜(2)、物镜(3)、蛋白芯片(4)、电动位移台(5)、短通滤波片(6)、聚焦透镜(7)、线阵相机(8); 电动位移台(5)上垂直方向由下至上依次设置物镜(3)、分光镜(2)、线光源(1); 分光镜与线光源呈一定角度分光, 其分出的光路上依次与光路垂直设置短通滤波片(6)、聚焦透镜(7)、线阵相机(8); 线光源(1)透过分光镜(2), 经过物镜(3)聚焦, 激发所述权利要求4基于上转换发光标记蛋白芯片的抗原抗体复合物, 辐射短波信号光, 辐射的信号光依次经过分光镜(2)反射, 短通滤波片(6)透射, 聚焦透镜(7)聚焦, 被线阵相机(8)收集; 信号光的强度大小, 反应了抗原的浓度大小。

8. 根据权利要求7所述的基于上转换发光标记蛋白芯片的扫描仪, 其特征在于: 线光源通过点状光源照射线型激光发生器来产生, 或通过振镜扫描点状光源来产生, 或点状光源扩束然后经过柱透镜来产生。

9. 根据权利要求8所述的基于上转换发光标记蛋白芯片的扫描仪, 其特征在: 线光源为近红外光源。

10. 根据权利要求8所述的基于上转换发光标记蛋白芯片的扫描仪, 其特征在: 所述的线光源为低功率的连续激光。

基于上转换发光标记物、蛋白芯片及检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于蛋白质检测领域,涉及基于上转换发光标记物、蛋白芯片及检测方法,特别是涉及采用上转换发光纳米材料即UCNP作为荧光标记物的蛋白芯片,以及采用线光源激发、线扫描仪收集信号的技术方法。

背景技术

[0002] 上转换 (Upconversion) 意指将两个或两个以上光子转变成为一个高能光子的过程,即将近红外光辐射转换成可见光。上转换材料一般是由晶态基质和低浓度稀土元素掺杂剂组成的复合材料。制备具有极好光学性能的新型上转换纳米颗粒 (Upconversion Nanoparticle, UCNP) 时,合适的基质和掺杂剂尤为重要。尽管理论上,上转换可以从大多数稀土元素掺杂的晶体材料中获得,但高效的上转换过程仅发生在少量精心挑选过的掺杂剂-基质组合中。

[0003] 掺杂剂包括激活剂和敏化剂。在激活剂的选择上,为了产生实际有效的上转换发射,每个激发能级间的能量差和底层的亚稳能级应当足够接近,才能满足上转换过程中的光子吸收和能量传递步骤。 Er^{3+} , Tm^{3+} 和 Ho^{3+} 的典型特点就是阶梯状排列的能级,因此适合用于激活剂。例如,在 Er^{3+} 中 $^4\text{I}_{11/2}$ 和 $^4\text{I}_{15/2}$ 能级间能量差 (约 10350cm^{-1}) 与 $^4\text{F}_{7/2}$ 和 $^4\text{I}_{11/2}$ 能级间能量差 (约 10370cm^{-1}) 相似,因此, $^4\text{I}_{15/2}$ 、 $^4\text{I}_{11/2}$ 、 $^4\text{F}_{7/2}$ 能级可被用于产生 970nm 激发的上转换发光。

[0004] 实际使用中,为增强上转换发光效率,掺杂时常将在近红外波段具有充分吸收截面的敏化剂与激活剂一起共掺杂,以充分利用敏化剂和激活剂之间有效的上转换过程。三价的 Yb 具有极其简单的能级结构, $^2\text{F}_{5/2}$ 能级仅有一个激发的 4f 能级。由于 Yb^{3+} 的 $^2\text{F}_{7/2} \rightarrow ^2\text{F}_{5/2}$ 跃迁比其它稀土离子这类跃迁的吸收截面大,其吸收带位于 980nm 附近。此外, Yb^{3+} 的 $^2\text{F}_{7/2} \rightarrow ^2\text{F}_{5/2}$ 跃迁可以很好与许多典型上转换稀土离子 (Er^{3+} , Tm^{3+} 和 Ho^{3+}) 的 f-f 跃迁形成共振,因此有利于 Yb^{3+} 的能量有效地传递到其它离子上。

[0005] 基质材料有四个体系:氟化物材料体系,氧化物体系,卤化物材料体系,含硫化物体系。基质材料虽然一般不构成激光能级,但能为激活离子提供合适的晶体场,使其产生合适的发射。对阈值功率和输出水平也有很大的影响。从上转换发光效率来说,一般认为氟化物优于氧化物。

[0006] 目前,蛋白芯片技术中常使用的荧光标记物为单光子荧光染料,如 Cy3、Cy5、alexa488 等,这几种标记物都具有单光子激发、易漂白、信噪比低的特点,造成了基于该标记物的蛋白芯片假阳性率、假阴性率较高的必然结果。此外,由于激发光能量较高,进行生物检测,必然引起生物分子的自发荧光、甚至引起生物活性分子失活。这些缺陷大大限制了蛋白芯片在生物测定中的应用范围。因此,我们提出将上转换发光纳米颗粒应用在蛋白芯片上,以克服上述缺陷。

发明内容

[0007] 1、发明目的。

[0008] 本发明为了克服上述所提到的技术问题,而提出了一种基于上转换发光标记物基于上转换发光标记物、蛋白芯片及检测方法。

[0009] 2、本发明所采用的技术方案。

[0010] 本发明提出的基于上转换发光标记物,经过表面修饰的油性UCNP稳定分散在水相中,与生物活性分子通过共价键紧密相连作为标记物。

[0011] 更进一步具体实施方式中,所述的表面修饰包括UCNP表面氨基化、UCNP表面功能化、UCNP表面连接抗体。

[0012] 更进一步具体实施方式中,生物活性分子选自抗原、抗体、多聚核苷酸、药物、外源凝集素、细胞。

[0013] 本发明提出的基于上转换发光标记蛋白芯片,包括载体,载体上固定有多个生物活性分子;生物活性分子由质检抗体和检测抗体构成;基于上转换发光标记物的与待测液中相应的抗体发生特异性结合生成的免疫复合物与所述的载体上的检测抗体特异性结合形成抗原抗体复合物。

[0014] 本发明提出的基于上转换发光标记蛋白芯片的检测方法,按照如下步骤进行:

[0015] 步骤1、生成标记物

[0016] 油性UCNP经过表面修饰与生物活性分子通过共价键紧密相连作为标记物;

[0017] 步骤2、预处理

[0018] 预处理液里添加UCNP标记的检测抗体A'和UCNP标记的质检抗原B,其中质检抗原B为浓度已知的质检物;

[0019] 步骤3、标记物与待测样品发生特异性结合,形成待测液

[0020] 目标抗原与预处理液里存在的UCNP标记的检测抗体A'发生特异性结合,形成紧密的免疫复合物UCNP-抗体A'-目标抗原A,此时,待测液中同时存在三种颗粒,免疫复合物UCNP-抗体A'-目标抗原A、未与目标抗原结合的检测物即游离的UCNP-抗体A'和质检物即UCNP-抗原B;

[0021] 步骤4、待测液与蛋白芯片特异性结合

[0022] 将上述待测液滴加在蛋白芯片上,蛋白芯片上同时存在检测抗体A和质检抗体B;其中,免疫复合物UCNP-抗体A'-目标抗原A会与检测抗体A发生特异性结合,质检物UCNP-抗原B会与质检抗体B发生特异性结合,发生特异性结合的抗原抗体复合物会被固定在蛋白芯片的相应位点上,游离的UCNP-抗体A'则被冲洗掉;

[0023] 步骤5、使用检测扫描仪判读。

[0024] 更进一步具体实施方式中,所述的步骤5中,使用线扫描仪对蛋白芯片进行判读,阳性检测结果中,检测位点和质检位点上均有可见光信号,其对应的信号强度分别为T和C;待测样品中的目标抗原A浓度可通过检测位点上信号强度T和质检位点上信号强度C的比值,即T/C,立即得出。

[0025] 蛋白芯片常使用的探测技术为点扫描探测技术,即对芯片上的每个点进行逐点扫描,然后利用单点探测器,如光电倍增管或者光电二极管进行探测,此种探测方式的探测速率较慢,成本较高。在此,我们利用线光源来激发样品,线阵相机来探测样品辐射的信号,样品的扫描通过控制样品所在位移台的移动来实现,以此来提高检测速率,降低成本。即我们

采用线扫描的方式,替代点扫描的方式,对蛋白芯片进行探测,可以提高检测效率,降低成本。

[0026] 本发明提出的基于上转换发光标记蛋白芯片的扫描仪,包括线光源、分光镜、物镜、蛋白芯片、电动位移台、短通滤波片、聚焦透镜、线阵相机;电动位移台上垂直方向由下至上依次设置物镜、分光镜、线光源;分光镜与线光源呈一定角度分光,其分出的光路上依次与光路垂直设置短通滤波片、聚焦透镜、线阵相机;线光源透过分光镜,经过物镜聚焦,激发所述基于上转换发光标记蛋白芯片的抗原抗体复合物,辐射短波信号光,辐射的信号光依次经过分光镜反射,短通滤波片透射,聚焦透镜聚焦,被线阵相机收集;信号光的强度大小,反应了抗原的浓度大小。该蛋白芯片的检测结果显示在近红外线光源的激发下以可见光的形式表达出来,由线扫描仪进行判断,从而实现对待测样品快速、灵敏的定性定量检测。

[0027] 更进一步具体实施方式中,线光源通过点状光源照射线型激光发生器来产生,或通过振镜扫描点状光源来产生,或点状光源扩束然后经过柱透镜来产生。

[0028] 更进一步具体实施方式中,线光源为近红外光源。

[0029] 更进一步具体实施方式中,所述的线光源为低功率的连续激光。

[0030] 3、本发明所产生的技术效果。

[0031] (1) 本发明以UCNP作为荧光标记物的蛋白芯片中,上转换发光强度与待测抗原浓度成正比,可以对目标抗原进行灵敏度极高的精确定量检测;

[0032] (2) 本发明UCNP发光光谱具有多样性,灵活可调,不同掺杂离子对应不同的特征光谱,使得基于上转发光技术的蛋白芯片可以进行灵敏度极高的多重分析,即一次性对多个目标抗原进行定量检测;

[0033] (3) 本发明UCNP具有独特的光学性质,使用近红外光代替紫外光作为激发光源,从而显著减少待测样品中的自发荧光等背景噪声,提高信噪比,减少光漂白;

[0034] (4) 本发明相比于背景噪声也较小的双光子纳米材料,UCNP可以通过一个低功率的连续激光来诱导,而不需要通过昂贵的高强度脉冲激光来激发双光子过程,降低了检测的成本;

[0035] (5) 本发明UCNP通过共价方式交联生物活性分子,在保证检测灵敏度的前提下提高了系统的可靠性和稳定性。

附图说明

[0036] 附图1:线扫描仪的检测系统结构图。

[0037] 附图2:线光源的产生方式。

[0038] 附图3:蛋白芯片的结构示意图。

[0039] 附图4:UCNP用于生物检测领域的原理示意图。

[0040] 附图5:免疫反应为阳性结果时的反应示意图。

[0041] 附图6:免疫反应为阴性结果时的反应示意图。

具体实施方式

[0042] 实施例1

[0043] 本发明的生物活性分子可选自抗原、抗体、多聚核苷酸、药物、外源凝集素、细胞。

[0044] 作为本发明的一个实例,我们采用氟化物 NaYF_4 作为基质, Yb^{3+} 作为敏化剂(体系中占比约20%),灵活搭配 Er^{3+} , Tm^{3+} 和 Ho^{3+} 等激活剂(总量在体系中占比2%左右),以减少交叉弛豫中的能量损失,提高上转换发光效率。通过激活剂的灵活搭配,可以获得多样的发射光谱,灵活应用在蛋白芯片的荧光标记上。本技术所用的UCNP皆由本实验室自行合成。

[0045] 由于合成出的UCNP是油性颗粒,而待测样品中的待测抗原一般是水溶性的,因此UCNP不能直接用于荧光标记,需要经过一系列的表面修饰。其中包括,UCNP表面氨基化、UCNP表面功能化、UCNP表面连接抗体,便能够和蛋白芯片技术相结合,在生物测定中发挥其自身的优势。本技术所用的UCNP皆由本实验室进行表面修饰。

[0046] 载玻片或其它承载介质上的生物活性分子阵列,其检测位点固定有抗体A,会和免疫复合物UCNP-抗体A'-目标抗原发生特异性结合。载玻片或其它承载介质上的生物活性分子阵列,其检测位点可以固定有多种生物活性分子,每种生物活性分子可以特异性检测一种目标物,整个蛋白芯片可以同时检测多种目标物。载玻片或其它承载介质上的生物活性分子阵列,其质控位点上固定有抗体B,会和预处理液中的质控物UCNP-抗原B发生特异性结合。线扫描技术的激发装置为近红外线光源,经二向色镜辐照在蛋白芯片上,线扫描技术的检测装置为线阵相机,线阵相机同时收集线上各点发出的可见光光强信号。线阵相机前设有短通滤波片,UCNP的发光信号,通过短通滤波片进入线阵相机。线扫描近红外光源和线阵相机也可换成照在蛋白芯片上的近红外扩散光源和线阵相机。用于打印蛋白的芯片基底可以使用基于微纳结构的荧光增强基底,荧光增强的原理可基于特殊设计的微纳结构对激发光或/和选定测量波长的荧光的局域光场的增强。激发光打在特殊的增强芯片,对上转换过程产生的荧光增强,有利于后续线阵或面阵相机的检测荧光效率。

[0047] 检测系统的结构图如图1所示。1为线光源,2为分光镜,3为物镜,4为蛋白芯片,5为电动位移台,6为短通滤波片,7为聚焦透镜,8为线阵相机。线光源1透过分光镜2,经过3聚焦,激发蛋白芯片的上转换纳米颗粒,辐射短波信号光,辐射的信号光依次经过分光镜2反射,短通滤波片6透射,透镜7聚焦,被线阵相机8收集。信号光的强度大小,反应了抗原的浓度大小。蛋白芯片的扫描通过改变电动位移台的位置来实现。

[0048] 线光源的产生方式可有三种,通过点状光源照射线型激光发生器来产生,或通过振镜扫描点状光源来产生,或点状光源扩束然后经过柱透镜来产生。这里作为一个实例,为了降低成本和简化系统结构,利用第一种方式来产生线光源。线光源的产生方式如图2所示。其中,5A为点状激光器,5B为线型激光发生器。

[0049] 蛋白芯片的结构示意图如图3所示。9为载玻片或其它载体,10为质控抗体,11为检测抗体。9上固定有生物活性分子阵列,形成蛋白芯片。其中,质控位点上10会与质控物UCNP-抗原B发生特异性结合,检测位点上11会与免疫复合物UCNP-抗体A'-目标抗原发生特异性结合。

[0050] UCNPs应用于生物检测的原理如图4。上转换纳米颗粒吸收近红外光,发出可见光信号。经过表面改性处理的UCNP可以稳定分散在水相中,通过共价键和生物活性分子紧密结合。UCNP-生物活性分子若与蛋白芯片表面的抗体发生特异性结合,则UCNP被固定在该抗体位点。

[0051] 预处理液中含有UCNP标记的抗体A'和UCNP标记的抗原B,其中,抗原B为浓度已知的质控物。附图5是待测样品中含有目标抗原A,即阳性结果的检测示意图。待测样品中的目

标抗原A先和预处理液中的检测物即UCNP-抗体A'发生特异性结合,形成紧密的免疫复合物UCNP-抗体A'-目标抗原A。此时,待测液中同时存在三种颗粒,免疫复合物UCNP-抗体A'-目标抗原A、未与目标抗原结合的检测物即游离的UCNP-抗体A'和质检物即UCNP-抗原B。将上述待测液滴加在蛋白芯片上,蛋白芯片上同时存在检测抗体A和质检抗体B。其中,免疫复合物UCNP-抗体A'-目标抗原A会与检测抗体A发生特异性结合,质检物UCNP-抗原B会与质检抗体B发生特异性结合,发生特异性结合的抗原抗体复合物会被固定在蛋白芯片的相应位点上,游离的UCNP-抗体A'则被冲洗掉。使用线扫描仪对蛋白芯片进行判读,阳性检测结果中,检测位点和质检位点上均有可见光信号,其对应的信号强度分别为T和C。待测样品中的目标抗原A浓度可通过检测位点上信号强度T和质检位点上信号强度C的比值,即 T/C ,立即得出。附图2为蛋白芯片上只有一个检测位点的实例,实际应用中一个蛋白芯片上可有多个检测位点,针对多种目标抗原同时进行检测。

[0052] 附图6是待测样品中不含有目标抗原A,即阴性结果的检测示意图。由于样品中不含有目标抗原A,不会和预处理液发生反应,待测液中只存在原有的两种颗粒,游离的UCNP-抗体A'和游离的UCNP-抗原B。将上述待测液滴加在蛋白芯片上,只有质检物UCNP-抗原B会与质检抗体B发生特异性结合。使用线扫描仪对蛋白芯片进行判读,阴性检测结果中,只有质检位点上有可见光信号。

[0053] 将上述体系中的抗体A'和抗体B'换为抗原A和抗原B,则可以对某种病原体感染所产生的抗体进行检测。反应原理、结果判断均与以上过程相同。

[0054] 本发明公开了基于上转换发光技术和线扫描技术的新型蛋白芯片,主要包括:预处理液,固定有生物活性分子阵列的载玻片或其它承载介质,线扫描近红外光源和线阵相机。根据不同的生物活性分子阵列,该蛋白芯片可以对待测样品中不同的目标物进行快速、灵敏的定性、定量检测;为了对生物样品进行快速、灵敏、定量的检测,本发明的蛋白芯片,其采用上转换纳米颗粒即UCNP作为荧光标记物,检测结果在近红外线光源的激发下以可见光的形式表达出来,由线扫描仪进行判断。其结构包括:

[0055] 1、预处理液,其中含有UCNP标记的生物活性分子;

[0056] 2、载玻片或其它承载介质,其上固定有生物活性分子阵列;

[0057] 3、线扫描近红外光源和线阵相机;

[0058] 上述结构均由本实验室搭建、组合。其中,待测样品先与预处理液充分混合,使UCNP标记的生物活性分子和目标抗原发生特异性结合,实现目标抗原的荧光标记。随后,将混合液滴加在固定有生物活性分子阵列的载玻片上,此时,高度特异性的生物活性分子之间发生免疫反应,将UCNP和目标抗原固定在载玻片上。最后,用流动水冲洗几次,将未固定的UCNP洗掉,用线扫描光源激发并用线阵相机收集信号、作出判断。

[0059] 荧光分子激发态寿命不仅仅受到分子本身影响,而且与周围环境密切相关,能够通过设计荧光分子周围结构来控制其荧光辐射。对于荧光分子上转换发光的过程,我们可以通过设计合适的纳米天线芯片,使其同时在荧光分子激发波长和上转换发光波长处获得极大的场增强和辐射增强能力,在提高局域激发强度的同时增强了上转换辐射速率,从而获得了非常高的上转换发光增强倍数。这使得其在生物领域具有极大的应用前景,例如对于极少量或者低发光效率的生物分子,借助光学纳米天线依然可以获得极高的检测灵敏度和分辨率。

[0060] 实施例2

[0061] 作为本发明的一个实例,利用以上系统可对尿液中的吗啡浓度进行定量检测。

[0062] 预处理液中含有UCNP-吗啡单克隆抗体和UCNP-羊1gG,其中,UCNP-羊1gG为浓度已知的质检物。蛋白芯片上固定有检测位点吗啡-牛血清白蛋白交联抗原和质检位点兔抗羊1gG。

[0063] 检测过程如下:

[0064] 1) 将待测样品和预处理液混合均匀。此时,待测样品中的吗啡抗原和预处理液中的UCNP-吗啡单克隆抗体发生特异性结合,形成紧密的免疫复合物UCNP-吗啡单克隆抗体-吗啡抗原。即液体中同时存在三种颗粒,免疫复合物UCNP-吗啡单克隆抗体-吗啡抗原、UCNP-吗啡单克隆抗体和UCNP-羊1gG。

[0065] 2) 将上述混合液体滴加在蛋白芯片上。此时,蛋白芯片上发生两种特异性结合,免疫复合物UCNP-吗啡单克隆抗体-吗啡抗原会与检测位点吗啡-牛血清白蛋白交联抗原发生特异性结合,质检物UCNP-羊1gG会与质检位点兔抗羊1gG发生特异性结合。

[0066] 3) 等待5min,吸走液体,并用去离子水冲洗几次。由于发生特异性结合的抗原抗体复合物会被固定在蛋白芯片的相应位点上,游离的UCNP-抗体被冲洗掉。此时,蛋白芯片上只有发生特异性结合的两组免疫复合物,检测位点为UCNP-吗啡单克隆抗体-吗啡抗原-吗啡-牛血清白蛋白交联抗原,质检位点为UCNP-羊1gG-兔抗羊1gG。

[0067] 4) 使用线扫描仪对蛋白芯片进行判读。检测位点和质检位点上的可见光信号强度分别为T和C,待测样品中的吗啡浓度为T和C的比值,即 T/C ,立即得出。

[0068] 本发明中,用于打印蛋白的芯片基底可以使用基于微纳结构的荧光增强芯片,荧光增强的原理可基于特殊设计的微纳结构对激发光或/和选定测量波长的荧光的局域光场的增强。激发光打在特殊的增强芯片,对上转换过程产生的荧光增强,有利于后续线阵或面阵相机的检测荧光效率。

[0069] 本发明中,上转换荧光探针的应用可以和基于一抗、二抗的免疫组化试剂盒相结合,基于微纳结构的荧光增强芯片可以和基于层析反应的层析试纸相结合。其中,可以在待测样品中加入已知浓度的特定抗原作为对比,以便检测过程中将特定抗原和待测抗原做荧光强度对比,进一步计算出待测样品中待测抗原的浓度。

[0070] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。

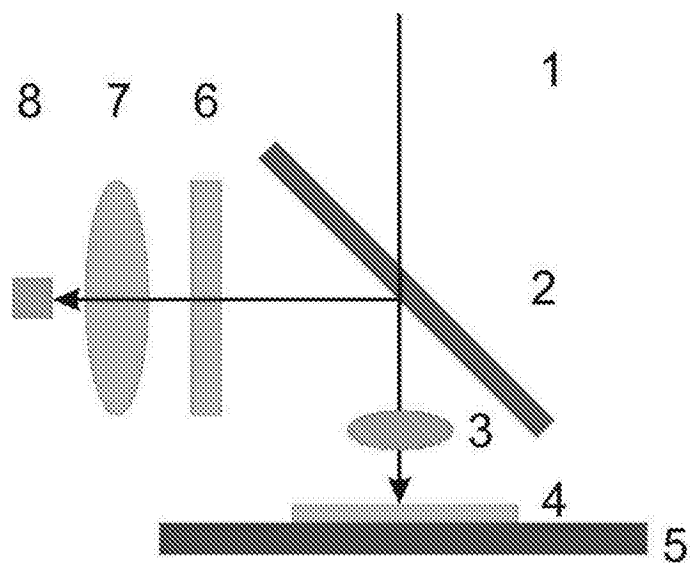


图1

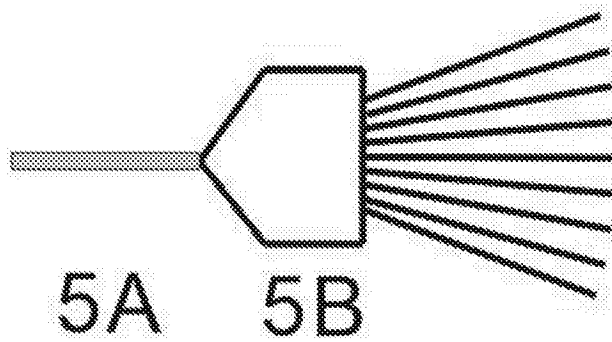


图2

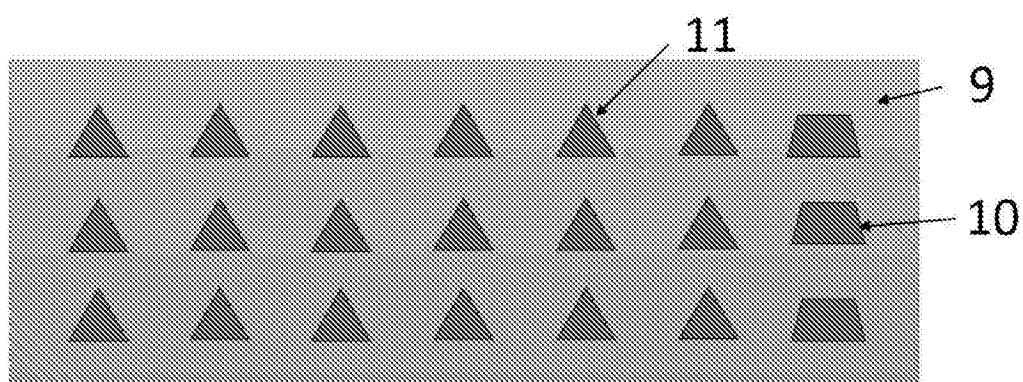


图3

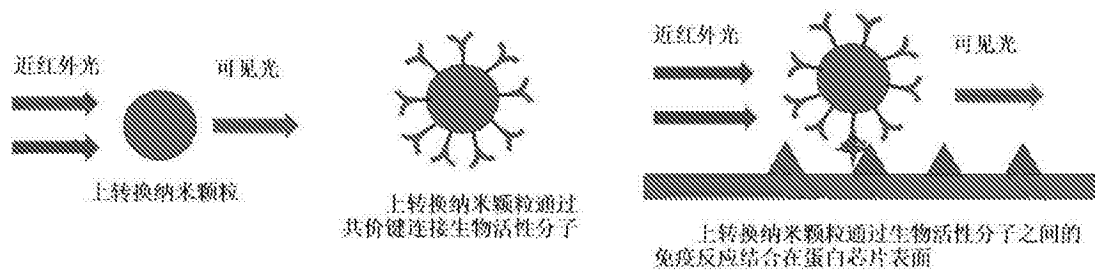


图4

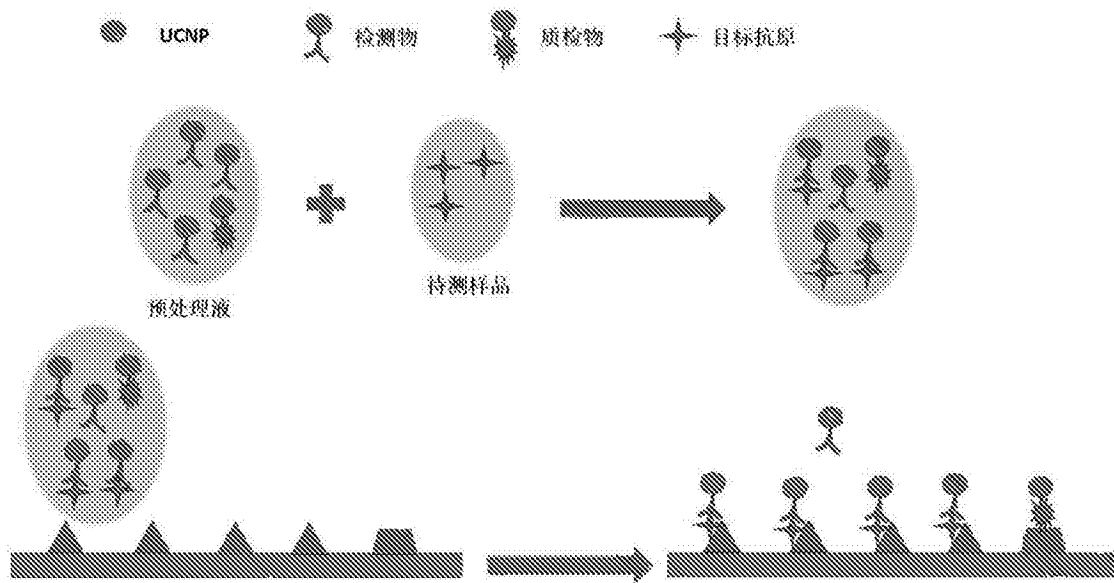


图5

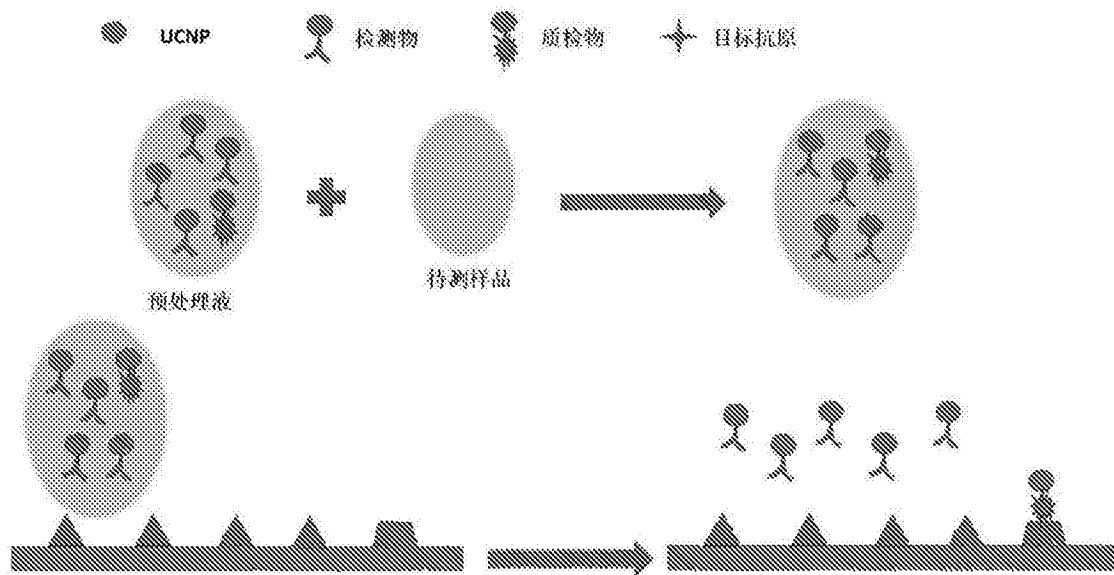


图6

专利名称(译)	基于上转换发光标记物、蛋白芯片及检测方法		
公开(公告)号	CN107525937A	公开(公告)日	2017-12-29
申请号	CN201710742825.4	申请日	2017-08-25
[标]申请(专利权)人(译)	苏州优函信息科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	苏州优函信息科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	苏州优函信息科技有限公司		
[标]发明人	何赛灵		
发明人	何赛灵		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/68 G01N33/533		
代理人(译)	滕诣迪		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种基于上转换发光标记物基于上转换发光标记物、蛋白芯片及检测方法，其在载玻片或其它承载介质上的生物活性分子阵列，检测位点固定有检测抗体，会和免疫复合物目标抗原发生特异性结合，其质检位点上固定有质检抗体，会和预处理液中的质检物抗原发生特异性结合；线扫描的激发装置为近红外线光源，经二向色镜辐照在蛋白芯片上，线扫描技术的检测装置为线阵相机，线阵相机同时收集线上各点发出的可见光光强信号。本发明UCNP通过共价方式交联生物活性分子，在保证检测灵敏度的前提下提高了系统的可靠性和稳定性。

