



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104459106 A

(43) 申请公布日 2015. 03. 25

(21) 申请号 201410772325. 1

(22) 申请日 2014. 12. 15

(71) 申请人 天津中新科炬生物制药有限公司

地址 300457 天津市滨海新区天津经济技术  
开发区第六大街 65 号

(72) 发明人 李洲 周洪锐 许俊燕 张道红

李昀地 杨延瑞

(74) 专利代理机构 天津市三利专利商标代理有

限公司 12107

代理人 李蕊

(51) Int. Cl.

G01N 33/532(2006. 01)

权利要求书1页 说明书3页

(54) 发明名称

一种量子点 - 抗体溶液及其制备方法与应用

(57) 摘要

本发明提供了一种量子点 - 抗体溶液, 使用量子点代替传统胶体金或荧光基团进行标记, 所述量子点 - 抗体溶液与原有提前干燥在玻璃纤维膜上的量子点 - 抗体交联物不同, 其释放程度对反应结果影响小, 无干扰, 大大提高了灵敏度, 适用于所有抗体与量子点的交联, 甚至可用于检测一些微量或痕量物质, 该类物质由于浓度或含量过低而无法使用现有免疫层析法进行检测。

1. 一种量子点 - 抗体溶液,其特征在於:是由下述方法得到的:

(1) 每 20-200nmol 抗体和 200pmol 量子点混匀后,加入 40-200nmol 的 EDC 和 NHS,避光反应 60-180 分钟并持续搅拌;

(2) 所得反应混合物转移到 10K-100KDa 孔径的超滤管中,在速度  $10,000 \times g$  下离心 15 分钟,重复 5 次;

(3) 收集超滤管中的反应产物,即为量子点 - 抗体交联物;

(4) 在该溶液中加入 2% BSA 后,存于 4°C 冰箱中备用。

2. 根据权利要求 1 所述的量子点 - 抗体溶液,其特征在於:所述量子点是 ZnS、CdS、HgS、ZnSe、CdSe、HgSe、CdTe、ZnTe、ZnO、PbSe、HgTe、CaAs、InP、InAs、InCaAs、CdS/ZnS、CdS/Ag<sub>2</sub>S、CdS/PbS、CdS/Cd(OH)<sub>2</sub>、CdS/HgS、CdS/HgS/CdS、ZnS/CdS、ZnS/CdS/ZnS、ZnS/HgS/ZnS/CdS、CdSe/CdS、CdSe/ZnS、CdSe/ZnSe、CdSe/CuSe、CdSe/HgTe、CdSe/HgSe、CdSe/HgSe/CdSe、CdTe/HgS、CdTe/HgTe、InAs/InP、InAs/CdSe、InAs/ZnSe、MgS、MgSe、MgTe、CaS、CaSe、CaTe、SrS、SrSe、SeTe、BaS、BaSe、BaTe、CdS:Mn、ZnS:Mn、CdS:Cu、ZnS:Cu、CdS:Tb、ZnS:Tb 中的任意一种或任意几种纳米粒子的组合,以及由上述任意一种量子点为核、二氧化硅为壳的核壳型纳米复合粒子。

3. 权利要求 1 所述的量子点 - 抗体溶液的制备方法,其特征在於:具体步骤为:

(1) 每 20-200nmol 抗体和 200pmol 量子点混匀后,加入 40-200nmol 的 EDC 和 NHS,避光反应 60-180 分钟并持续搅拌;

(2) 所得反应混合物转移到 10K-100KDa 孔径的超滤管中,在速度  $10,000 \times g$  下离心 15 分钟,重复 5 次;

(3) 收集超滤管中的反应产物,即为量子点 - 抗体交联物;

(4) 在该溶液中加入 2% BSA 后,存于 4°C 冰箱中备用。

4. 权利要求 1 所述的量子点 - 抗体溶液在制备检测试纸和 / 或试剂盒方面的应用。

5. 根据权利要求 4 所述的量子点 - 抗体溶液的应用,其特征在於:将样品加入所述量子点 - 抗体溶液中,然后再将混合物加到检测试纸和 / 或试剂盒上进行反应。

## 一种量子点 - 抗体溶液及其制备方法与应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术分析检测领域,尤其是一种量子点 - 抗体溶液及其制备方法与应用。

### 背景技术

[0002] 现阶段,快速检测试剂盒一般的标记物是胶体金或者荧光基团。例如,检测转铁蛋白(SF)的检测试纸,由含有胶体金标记的抗人SF抗体的胶体金 - 抗体垫。

[0003] 胶体金标记的检测试剂盒虽然成本较量子点更低,但检测灵敏度不如量子点标记高,检测范围也较量子点更窄。荧光基团标记的检测试剂盒,灵敏度也低于量子点标记。

[0004] 胶体金使用可见光吸光进行检测,结果为反应区上一条红色或紫色的条带。一般胶体金检测试剂盒均为肉眼观察该条带是否出现及颜色深浅。而量子点则是由紫外光激发,产生非常强的激发光,其信号强度要大于胶体金的反应信号,提高灵敏度。同时,当胶体金在反应区结合达到一定值时,再增加结合胶体金不会改变条带颜色。而量子点是进行发光强度测定,故而无此问题,从而增大检测范围。

[0005] 和荧光基团相比,量子点的激发光和发射光距离较远,故而激发光对于发射光的干扰很小,从而减小检测的本底值,进而提高灵敏度。同时,量子点的激发光谱很窄,故而在峰值的光强非常强。若使用同样光栅进行测定时,量子点产生的激发光强度远远大于荧光基团的发光强度。故而量子点标记得到的激发光信号更强。同时,和荧光基团相比,量子点具有相似或者更高的吸光系数和光量子产率。故而使用量子点标记,其检测灵敏度较荧光基团更高。

### 发明内容

[0006] 本发明所要解决的技术问题在于提供一种量子点 - 抗体溶液。

[0007] 本发明所要解决的另一技术问题在于提供上述量子点 - 抗体溶液的制备方法。

[0008] 本发明所要解决的另一技术问题在于提供上述量子点 - 抗体溶液的应用。

[0009] 为解决上述技术问题,本发明的技术方案是:

[0010] 一种量子点 - 抗体溶液,是由下述方法得到的:

[0011] (1) 每 20-200nmol 抗体和 200pmol 量子点混匀后,加入 40-200nmol 的 EDC 和 NHS,避光反应 60-180 分钟并持续搅拌;

[0012] (2) 所得反应混合物转移到 10K-100KDa 孔径的超滤管中,在速度  $10,000 \times g$  下离心 15 分钟,重复 5 次;

[0013] (3) 收集超滤管中的反应产物,即为量子点 - 抗体交联物;

[0014] (4) 在该溶液中加入 2% BSA 后,存于 4℃ 冰箱中备用。

[0015] 优选的,上述量子点 - 抗体溶液,所述抗体可以是所有单克隆或多克隆抗体。

[0016] 优选的,上述量子点 - 抗体溶液,所述量子点是 ZnS、CdS、HgS、ZnSe、CdSe、HgSe、CdTe、ZnTe、ZnO、PbSe、HgTe、CaAs、InP、InAs、InCaAs、CdS/ZnS、CdS/Ag<sub>2</sub>S、CdS/PbS、CdS/

Cd(OH)<sub>2</sub>、CdS/HgS、CdS/HgS/CdS、ZnS/CdS、ZnS/CdS/ZnS、ZnS/HgS/ZnS/CdS、CdSe/CdS、CdSe/ZnS、CdSe/ZnSe、CdSe/CuSe、CdSe/HgTe、CdSe/HgSe、CdSe/HgSe/CdSe、CdTe/HgS、CdTe/HgTe、InAs/InP、InAs/CdSe、InAs/ZnSe、MgS、MgSe、MgTe、CaS、CaSe、CaTe、SrS、SrSe、SeTe、BaS、BaSe、BaTe、CdS:Mn、ZnS:Mn、CdS:Cu、ZnS:Cu、CdS:Tb、ZnS:Tb 中的任意一种或任意几种纳米粒子的组合,以及由上述任意一种量子点为核、二氧化硅为壳的核壳型纳米复合粒子。

[0017] 上述量子点使用化学方法进行链接,即使用EDC和NHS,以连接-NH<sub>2</sub>和-COOH基团。

[0018] 上述量子点-抗体溶液的制备方法,具体步骤为:

[0019] (1) 每20-200nmol抗体和200pmol量子点混匀后,加入40-200nmol的EDC和NHS,避光反应60-180分钟并持续搅拌;

[0020] (2) 所得反应混合物转移到10K-100KDa孔径的超滤管中,在速度10,000×g下离心15分钟,重复5次;

[0021] (3) 收集超滤管中的反应产物,即为量子点-抗体交联物;

[0022] (4) 在该溶液中加入2%BSA后,存于4℃冰箱中备用。

[0023] 优选的,上述量子点-抗体溶液的制备方法,所述量子点是ZnS、CdS、HgS、ZnSe、CdSe、HgSe、CdTe、ZnTe、ZnO、PbSe、HgTe、CaAs、InP、InAs、InCaAs、CdS/ZnS、CdS/Ag<sub>2</sub>S、CdS/PbS、CdS/Cd(OH)<sub>2</sub>、CdS/HgS、CdS/HgS/CdS、ZnS/CdS、ZnS/CdS/ZnS、ZnS/HgS/ZnS/CdS、CdSe/CdS、CdSe/ZnS、CdSe/ZnSe、CdSe/CuSe、CdSe/HgTe、CdSe/HgSe、CdSe/HgSe/CdSe、CdTe/HgS、CdTe/HgTe、InAs/InP、InAs/CdSe、InAs/ZnSe、MgS、MgSe、MgTe、CaS、CaSe、CaTe、SrS、SrSe、SeTe、BaS、BaSe、BaTe、CdS:Mn、ZnS:Mn、CdS:Cu、ZnS:Cu、CdS:Tb、ZnS:Tb中的任意一种或任意几种纳米粒子的组合,以及由上述任意一种量子点为核、二氧化硅为壳的核壳型纳米复合粒子。

[0024] 上述量子点-抗体溶液在制备检测试纸和/或试剂盒方面的应用。

[0025] 优选的,上述量子点-抗体溶液的应用,将样品加入所述量子点-抗体溶液中,然后再将混合物加到检测试纸和/或试剂盒上进行反应。

[0026] 优选的,上述量子点-抗体溶液的应用,所述检测试纸由NC膜、样品垫、吸样垫和底板组成,所述样品垫、NC膜和吸样垫依次从底板一端排列至另一端,所述NC膜是由下述方法制备得到的:以0.01M pH7.4磷酸盐缓冲液(PBS)将配对的待测物抗体配制成0.1-5mg/mL溶液,在喷膜仪在NC膜上以1.2-1.5μL/cm的参数进行划线,包被T线,同时在NC膜上部包被1-2mg/mL的抗鼠IgG作为C线,干燥,备用。

[0027] 优选的,上述量子点-抗体溶液的应用,所述检测试纸的NC膜是一种由硝酸纤维素、尼龙膜、或硝酸纤维素/醋酸纤维素混合膜构成的多孔结构的膜,孔径为8-12μm。

[0028] 本发明的有益效果是:

[0029] 本发明提供了量子点-抗体溶液使用量子点代替传统胶体金或荧光基团进行标记,所述量子点-抗体溶液与原有提前干燥在玻璃纤维膜上的量子点-抗体交联物不同,其释放程度对反应结果影响小,无干扰,大大提高了灵敏度,适用于所有抗体与量子点的交联,甚至可用于检测一些微量或痕量物质,该类物质由于浓度或含量过低而无法使用现有免疫层析法进行检测。

### 具体实施方式

[0030] 下面结合具体实施例对本发明所述技术方案作进一步的说明。

[0031] 实施例 1

[0032] 一种量子点 - 抗体溶液,是由下述方法得到的:

[0033] (1) 每 20-200nmol 抗体和 200pmol 量子点混匀后,加入 40-200nmol 的 EDC 和 NHS,避光反应 60-180 分钟并持续搅拌;

[0034] (2) 所得反应混合物转移到 10K-100KDa 孔径的超滤管中,在速度  $10,000 \times g$  下离心 15 分钟,重复 5 次;

[0035] (3) 收集超滤管中的反应产物,即为量子点 - 抗体交联物;

[0036] (4) 在该溶液中加入 2% BSA 后,存于 4°C 冰箱中备用。

[0037] 所述抗体可以是所有单克隆或多克隆抗体。

[0038] 所述量子点是 ZnS、CdS、HgS、ZnSe、CdSe、HgSe、CdTe、ZnTe、ZnO、PbSe、HgTe、CaAs、InP、InAs、InCaAs、CdS/ZnS、CdS/Ag<sub>2</sub>S、CdS/PbS、CdS/Cd(OH)<sub>2</sub>、CdS/HgS、CdS/HgS/CdS、ZnS/CdS、ZnS/CdS/ZnS、ZnS/HgS/ZnS/CdS、CdSe/CdS、CdSe/ZnS、CdSe/ZnSe、CdSe/CuSe、CdSe/HgTe、CdSe/HgSe、CdSe/HgSe/CdSe、CdTe/HgS、CdTe/HgTe、InAs/InP、InAs/CdSe、InAs/ZnSe、MgS、MgSe、MgTe、CaS、CaSe、CaTe、SrS、SrSe、SeTe、BaS、BaSe、BaTe、CdS:Mn、ZnS:Mn、CdS:Cu、ZnS:Cu、CdS:Tb、ZnS:Tb 中的任意一种或任意几种纳米粒子的组合,以及由上述任意一种量子点为核、二氧化硅为壳的核壳型纳米复合粒子。

[0039] 上述参照实施例对该一种量子点 - 抗体溶液及其制备方法与应用进行的详细描述,是说明性的而不是限定性的,可按照所限定范围列举出若干个实施例,因此在不脱离本发明总体构思下的变化和修改,应属本发明的保护范围之内。

专利名称(译)	一种量子点-抗体溶液及其制备方法与应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN104459106A</a>	公开(公告)日	2015-03-25
申请号	CN201410772325.1	申请日	2014-12-15
[标]申请(专利权)人(译)	天津中新科炬生物制药有限公司		
申请(专利权)人(译)	天津中新科炬生物制药有限公司		
[标]发明人	李洲 周洪锐 许俊燕 张道红 李昀地 杨延瑞		
发明人	李洲 周洪锐 许俊燕 张道红 李昀地 杨延瑞		
IPC分类号	G01N33/532		
CPC分类号	G01N33/532 G01N33/588		
代理人(译)	李蕊		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明提供了一种量子点-抗体溶液，使用量子点代替传统胶体金或荧光基团进行标记，所述量子点-抗体溶液与原有提前干燥在玻璃纤维膜上的量子点-抗体交联物不同，其释放程度对反应结果影响小，无干扰，大大提高了灵敏度，适用于所有抗体与量子点的交联，甚至可用于检测一些微量或痕量物质，该类物质由于浓度或含量过低而无法使用现有免疫层析法进行检测。