



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105651987 A

(43) 申请公布日 2016. 06. 08

(21) 申请号 201610060367. 1

(22) 申请日 2016. 01. 29

(71) 申请人 苏州联辰生物技术有限公司

地址 215000 江苏省苏州市昆山开发区前进
东路科技广场 9 楼

(72) 发明人 翁濬一 孙京海 马雪林

(74) 专利代理机构 北京科亿知识产权代理事务
所（普通合伙） 11350

代理人 汤东凤

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

权利要求书1页 说明书2页 附图1页

(54) 发明名称

一种新型纳米集束材料的制作方法

(57) 摘要

本发明公开了一种新型纳米集束材料的制作方法，在容器中溶解结构性脂质及功能性脂质于有机溶剂中；用旋转蒸发法将有机溶剂从容器蒸发形成脂质薄膜；将带有盐分及带有可供信号侦测分子的水加入薄膜中，并且在脂质的相变温度以上将其溶解；将脂质溶液经由超音波或经由注射到水相溶液中或通过特定大小孔径的薄膜压缩为纳米大小的颗粒；将抗体分解为片段，并取得具有专一性的片段及具有化学偶联活性的片段；将得到的抗体片段与脂质颗粒反应；将脂质颗粒以化学方式交联。本发明制得的新型纳米集束材料能够实现免疫检测时，能将大量信号分子聚集在特定的分子标记，而得到分析该分子标记放大信号的效果。



1. 一种新型纳米集束材料的制作方法, 其特征在于, 所述的新型纳米集束材料的制作方法包括:

步骤一、在容器中溶解结构性脂质及功能性脂质于有机溶剂中;

步骤二、用旋转蒸发法将有机溶剂从容器蒸发形成脂质薄膜;

步骤三、将带有盐分的水加入薄膜中, 并且在脂质的相变温度以上将其溶解;

步骤四、将脂质溶液经由超音波或通过特定大小孔径的薄膜压缩为纳米大小的颗粒;

步骤五、将抗体分解为片段, 并取得具有专一性的片段及具有化学偶联活性的片段;

步骤六、将步骤五得到的抗体片段与脂质颗粒反应;

步骤七、将脂质颗粒以化学方式交联。

2. 如权利要求1所述的新型纳米集束材料的制作方法, 其特征在于, 所述的有机溶剂为乙醇、甲醇、氯仿中的一种或几种的混合溶剂。

3. 如权利要求1所述的新型纳米集束材料的制作方法, 其特征在于, 所述的化学方式交联为1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide交联方法。

4. 如权利要求1所述的新型纳米集束材料的制作方法, 其特征在于, 盐分的水包括: 5 mM HEPES, 135 mM NaCl, pH~7.0或phosphate buffered saline (PBS) pH~7.4。

5. 如权利要求1所述的新型纳米集束材料的制作方法, 其特征在于, 若以特定大小孔径的薄膜压缩, 选取材质为polycarbonate而孔径为50 nm, 80 nm, 100 nm, 或200 nm。

6. 如权利要求1所述的新型纳米集束材料的制作方法, 其特征在于, 获得抗体片段方法为将IgG经由5 mg/ml pepsin接着用200 mM 2-mercaptopropylamine (MEA)或500 mM dithiothreitol (DTT)降解得到Fab'片段, 带有活性的thiol片段, 并且应以SDS-PAGE确认所得抗体片段之分子量。

7. 如权利要求1所述的新型纳米集束材料的制作方法, 其特征在于, 步骤六的反应条件为在1摄氏度到25摄氏度的5 mM HEPES, 135 mM NaCl, pH~7.0溶液中。

8. 如权利要求1所述的新型纳米集束材料的制作方法, 其特征在于, 步骤七的反应条件为在15度到25度C的5 mM HEPES, 135 mM NaCl, pH~7.0溶液中, 但需考虑所使用的脂质分子总和的相变温度, 优选的条件为低于相变温度。

一种新型纳米集束材料的制作方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物材料及检测技术领域,尤其涉及一种新型纳米集束材料的制作方法。

背景技术

[0002] 免疫检测一般是使用标记抗体来进行专一性的信号侦测,例如对于特殊分子标记的定性、定量或显影,但标记抗体所携带的信号分子数量有限,以荧光为例,一般约在5个荧光分子左右,同时也限制了荧光信号的强度、对比及动态范围。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种新型纳米集束材料的制作方法,旨在免疫检测限制了荧光信号的强度、对比及动态范围的问题。

[0004] 本发明是这样实现的,一种新型纳米集束材料的制作方法包括:

步骤一、在容器中溶解结构性脂质及功能性脂质于有机溶剂中;

步骤二、用旋转蒸发法将有机溶剂从容器蒸发形成脂质薄膜;

步骤三、将带有盐分的水加入薄膜中,并且在脂质的相变温度以上将其溶解;盐水包括:5 mM HEPES, 135 mM NaCl, pH~7.0或phosphate buffered saline (PBS) pH~7.4;

步骤四、将脂质溶液经由超音波或通过特定大小孔径的薄膜压缩为纳米大小的颗粒;若以特定大小孔径的薄膜压缩,优选材质为polycarbonate而孔径为50 nm, 80 nm, 100 nm, 或200 nm;

步骤五、将抗体分解为片段,并取得具有专一性的片段及具有化学偶联活性的片段;获得抗体片段优选方法为将lgG经由5 mg/ml pepsin接着用200 mM 2-mercaptopropylamine (MEA)或500 mM dithiothreitol (DTT)降解得到Fab'片段,带有活性的thiol片段,并且应以SDS-PAGE确认所得抗体片段之分子量;

步骤六、将步骤五得到的抗体片段与脂质颗粒反应;优选的反应条件为在1摄氏度到25摄氏度的5 mM HEPES, 135 mM NaCl, pH~7.0溶液中。

[0005] 步骤七、将脂质颗粒以化学方式交联。优选的反应条件为在15度到25度C的5 mM HEPES, 135 mM NaCl, pH~7.0溶液中,但需考虑所使用的脂质分子总和的相变温度,优选的条件为低于相变温度。

[0006] 进一步,所述的有机溶剂为乙醇、甲醇、氯仿中的一种或几种的混合溶剂。

[0007] 进一步,所述的化学方式交联为

1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide

交联方法。

[0008] 本发明利用纳米材料可以在单位体积内携带大量信号分子并在其表面化学偶联靶向性分子例如抗体或抗体片段的特性,实现免疫检测时,能将大量信号分子聚集在特定的分子标记,而得到分析该分子标记放大信号的效果。

附图说明

[0009] 图1是本发明实施例提供的新型纳米集束材料的制作方法流程图；

图2是本发明实施例提供的带有荧光分子的纳米集束与一般荧光标记的抗体标记病理切片的信号强度对比。

具体实施方式

[0010] 为能进一步了解本发明的发明内容、特点及功效，兹例举以下实施例，并配合附图详细说明如下。

[0011] 请参阅图1和图2：一种新型纳米集束材料的制作方法，包括：

S101、在容器中溶解结构性脂质及功能性脂质于有机溶剂中；

S102、用旋转蒸发法将有机溶剂从容器蒸发形成脂质薄膜；

S103、将带有盐分的水加入薄膜中，并且在脂质的相变温度以上将其溶解；

S104、将脂质溶液经由超音波或通过特定大小孔径的薄膜压缩为纳米大小的颗粒；

S105、将抗体分解为片段，并取得具有专一性的片段及具有化学偶联活性的片段；

S106、将步骤S105得到的抗体片段与脂质颗粒反应；

S107、将脂质颗粒以化学方式交联。

[0012] 有机溶剂为乙醇、甲醇、氯仿中的一种或几种的混合溶剂。

[0013] 化学方式交联为1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide交联方法。

[0014] 如图2所示，带有荧光分子的纳米集束用于带有CD20分子标记的病理切片时，信号强度远远高于一般荧光标记的抗体标记病理切片。

[0015] 利用纳米材料可以在单位体积内携带大量信号分子并在其表面化学偶联靶向性分子例如抗体或抗体片段的特性，实现免疫检测时，能将大量信号分子聚集在特定的分子标记，而得到分析该分子标记放大信号的效果。

[0016] 以上所述仅是对本发明的较佳实施例而已，并非对本发明作任何形式上的限制，凡是依据本发明的技术实质对以上实施例所做的任何简单修改，等同变化与修饰，均属于本发明技术方案的范围内。

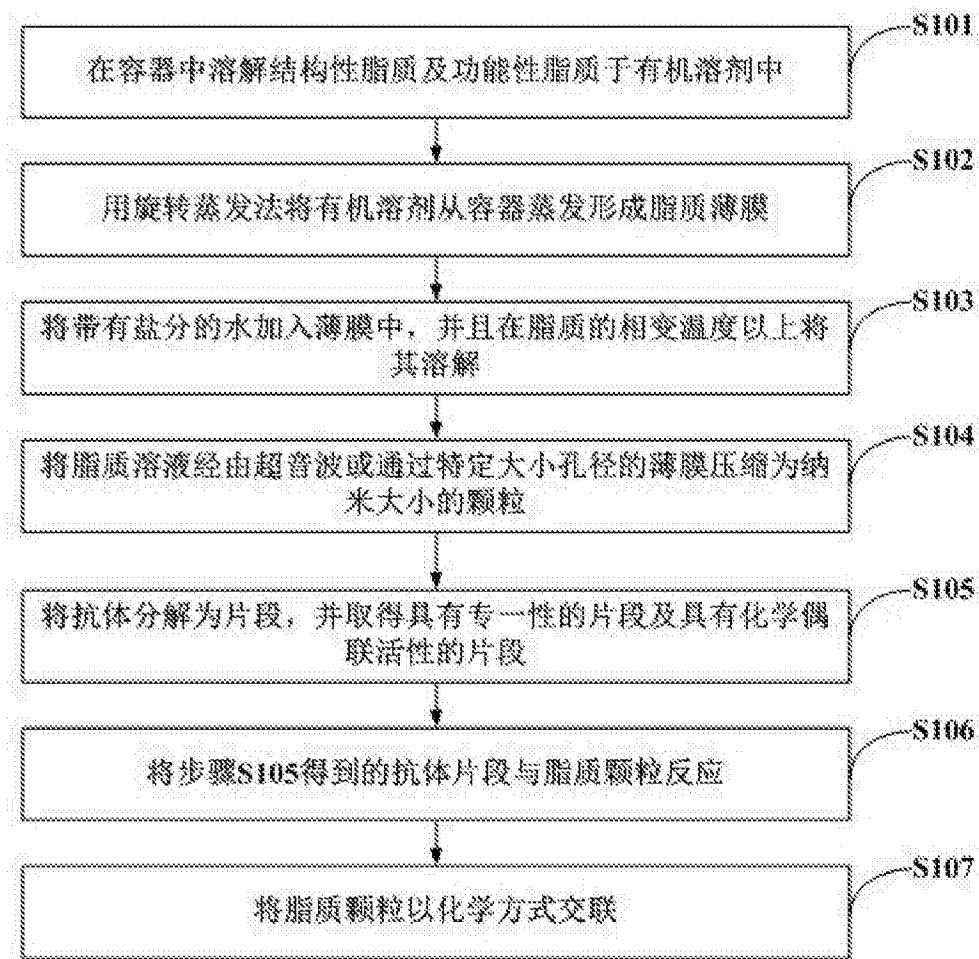


图1

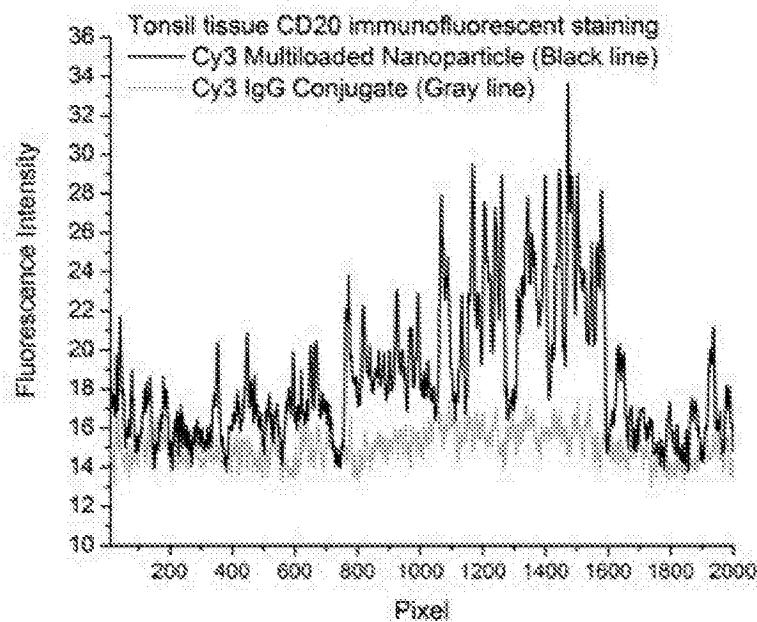


图2

专利名称(译)	一种新型纳米集束材料的制作方法		
公开(公告)号	CN105651987A	公开(公告)日	2016-06-08
申请号	CN201610060367.1	申请日	2016-01-29
[标]发明人	翁濬一 孙京海 马雪林		
发明人	翁濬一 孙京海 马雪林		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/5306		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种新型纳米集束材料的制作方法，在容器中溶解结构性脂质及功能性脂质于有机溶剂中；用旋转蒸发法将有机溶剂从容器蒸发形成脂质薄膜；将带有盐分及带有可供信号侦测分子的水加入薄膜中，并且在脂质的相变温度以上将其溶解；将脂质溶液经由超音波或经由注射到水相溶液中或通过特定大小孔径的薄膜压缩为纳米大小的颗粒；将抗体分解为片段，并取得具有专一性的片段及具有化学偶联活性的片段；将得到的抗体片段与脂质颗粒反应；将脂质颗粒以化学方式交联。本发明制得的新型纳米集束材料能够实现免疫检测时，能将大量信号分子聚集在特定的分子标记，而得到分析该分子标记放大信号的效果。

