



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109765358 A

(43)申请公布日 2019.05.17

(21)申请号 201910046477.6

G01N 33/68(2006.01)

(22)申请日 2019.01.18

(71)申请人 江苏医联生物科技有限公司

地址 225000 江苏省扬州市高新技术产业
开发区开发西路217号

(72)发明人 杨文婷 曹臻 陈亮

(74)专利代理机构 北京文苑专利代理有限公司
11516

代理人 朱青

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

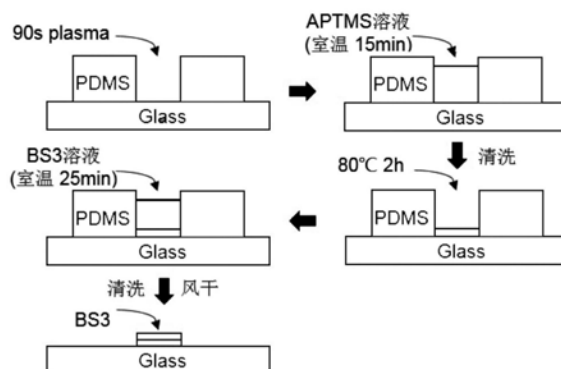
权利要求书1页 说明书3页 附图1页

(54)发明名称

微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法

(57)摘要

本发明涉及一种微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法,包括:步骤一:对玻璃片表面用BS³溶液进行处理,步骤二:在该表面键合有BS³的玻璃载体上进行ELISA实验,步骤一包括:使用丙酮、异丙醇和去离子水依次超声清洗玻璃片;用氮气吹干玻璃片后,对玻璃片表面进行plasma处理,再在玻璃片表面加入APTMS溶液,在室温下反应;将玻璃片清洗风干后,对该玻璃片加热,实现表面键合;恢复室温后在玻璃片表面加入BS³溶液,得到表面键合有BS³的玻璃载体。本发明提供的微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法,得到的固相载体检测区域面积小,对cTnI捕获均匀,检测精度高,能够为抗原抗体检测和药物筛选等领域提供有力的技术支持,可以很好地满足实际应用的需要。



1. 一种微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法,其特征在于,包括:

步骤一:对玻璃片表面用BS³溶液进行处理。

2. 根据权利要求1所述的微流控芯片应用蛋白质检测的处理方法,其特征在于,所述方法还包括步骤二:在该表面键合有BS³的玻璃载体上进行ELISA实验。

3. 根据权利要求1所述的微流控芯片应用蛋白质检测的处理方法,其特征在于,所述步骤一包括:

步骤1) 使用丙酮、异丙醇和去离子水依次超声清洗玻璃片4~6min;

步骤2) 用氮气吹干玻璃片后,对玻璃片表面进行plasma处理,实现其表面羟基化,再在玻璃片表面加入浓度为8%~12%的APTMS溶液,在室温下反应13~17min;

步骤3) 将玻璃片清洗风干后,使用热板对该玻璃片在75~85℃范围内加热1.8~2.2h,实现表面键合;

步骤4) 恢复室温后在玻璃片表面加入4~6mM的BS³溶液,在室温下与表面已键合有APTMS的玻璃片表面反应23~27min,清洗后得到表面键合有BS³的玻璃载体。

4. 根据权利要求1-3所述的微流控芯片应用蛋白质检测的处理方法,其特征在于,在所述步骤2)中,对玻璃片表面进行plasma处理,打60W plasma85~95s,实现其表面羟基化。

5. 根据权利要求2所述的微流控芯片应用蛋白质检测的处理方法,其特征在于,所述步骤二包括:

步骤(1) 在该玻璃载体表面加入18~22μg/ml的cTnI单克隆抗体溶液室温下反应1.8~2.2h,实现cTnI捕获;

步骤(2) 清洗该玻璃载体后,再加入4~6%的BSA溶液室温下反应0.8~1.2h;

步骤(3) 清洗该玻璃载体后,再加入不同浓度cTnI溶液室温下反应1.8~2.2h;

步骤(4) 清洗该玻璃载体后,加入18~22μg/ml cTnI多克隆抗体溶液室温下反应1.8~2.2h;

步骤(5) 清洗该玻璃载体后,加入1.8~2.2μg/ml荧光标记的兔抗山羊IgG溶液室温下反应0.8~1.2h;

步骤(6) 清洗该玻璃载体后,在荧光显微镜下测得各浓度cTnI对应的荧光强度,得到荧光免疫曲线,并与未经过化学处理的干净玻璃片进行对比。

6. 根据权利要求1-5所述的微流控芯片应用蛋白质检测的处理方法,其特征在于,在所述步骤(3)中,所述cTnI溶液的浓度取值范围为1pg/ml-1μg/ml。

7. 根据权利要求3或5所述的微流控芯片应用蛋白质检测的处理方法,其特征在于,所述室温的温度范围为22℃~26℃。

微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物医学技术领域,具体涉及一种微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法。

背景技术

[0002] 蛋白质芯片是微流量为零的点阵列型杂交芯片,属于一种特殊的微流控芯片类型。微流控芯片技术是把生物、化学、医学分析过程的样品制备、反应、分离、检测等基本操作单元集成到一块微米尺度的芯片上的技术。由于它在生物、化学、医学等领域的巨大潜力,已经发展成为一个生物、化学、医学、流体、电子、材料、机械等学科交叉的崭新研究领域。传统蛋白质芯片一般是对固相载体整体进行特殊的化学处理,再将已知的蛋白分子固定其上捕获能与之特异性结合的待测蛋白从而实现生物分子检测与分析,然而,传统蛋白质芯片存在以下几个缺陷:固相载体检测区域面积大,对cTnI捕获不均匀,检测精度不够高。

发明内容

[0003] 针对上述现有技术中存在的问题,本发明的目的在于提供一种可避免出现上述技术缺陷的微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法。

[0004] 为了实现上述发明目的,本发明提供的技术方案如下:

[0005] 一种微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法,包括:

[0006] 步骤一:对玻璃片表面用BS³溶液进行处理。

[0007] 进一步地,所述方法还包括步骤二:在该表面键合有BS³的玻璃载体上进行ELISA实验。

[0008] 进一步地,所述步骤一包括:

[0009] 步骤1) 使用丙酮、异丙醇和去离子水依次超声清洗玻璃片4~6min;

[0010] 步骤2) 用氮气吹干玻璃片后,对玻璃片表面进行plasma处理,实现其表面羟基化,再在玻璃片表面加入浓度为8%~12%的APTMS溶液,在室温下反应13~17min;

[0011] 步骤3) 将玻璃片清洗风干后,使用热板对该玻璃片在75~85℃范围内加热1.8~2.2h,实现表面键合;

[0012] 步骤4) 恢复室温后在玻璃片表面加入4~6mM的BS³溶液,在室温下与表面已键合有APTMS的玻璃片表面反应23~27min,清洗后得到表面键合有BS³的玻璃载体。

[0013] 进一步地,在所述步骤2)中,对玻璃片表面进行plasma处理,打60W plasma85~95s,实现其表面羟基化。

[0014] 进一步地,所述步骤二包括:

[0015] 步骤(1) 在该玻璃载体表面加入18~22μg/ml的cTnI单克隆抗体溶液室温下反应1.8~2.2h,实现cTnI捕获;

[0016] 步骤(2) 清洗该玻璃载体后,再加入4~6%的BSA溶液室温下反应0.8~1.2h;

- [0017] 步骤(3)清洗该玻璃载体后,再加入不同浓度cTnI溶液室温下反应1.8~2.2h;
- [0018] 步骤(4)清洗该玻璃载体后,加入18~22 $\mu\text{g}/\text{ml}$ cTnI多克隆抗体溶液室温下反应1.8~2.2h;
- [0019] 步骤(5)清洗该玻璃载体后,加入1.8~2.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 荧光标记的兔抗山羊IgG溶液室温下反应0.8~1.2h;
- [0020] 步骤(6)清洗该玻璃载体后,在荧光显微镜下测得各浓度cTnI对应的荧光强度,得到荧光免疫曲线,并与未经过化学处理的干净玻璃片进行对比。
- [0021] 进一步地,在所述步骤(3)中,所述cTnI溶液的浓度取值范围为1pg/ml-1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。
- [0022] 进一步地,所述室温的温度范围为22 $^{\circ}\text{C}$ ~26 $^{\circ}\text{C}$ 。
- [0023] 本发明提供的微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法,得到的固相载体检测区域面积小,对cTnI捕获均匀,检测精度高,能够为抗原抗体检测和药物筛选等领域提供有力的技术支持,可以很好地满足实际应用的需要。

附图说明

- [0024] 图1为本发明的步骤一的流程示意图。
- [0025] 图2为利用本发明的方法进行抗原检测实验原理图。
- [0026] 图3为利用本发明的方法进行抗原检测实验结果图。

具体实施方式

- [0027] 为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白,下面结合附图和具体实施例对本发明做进一步说明。应当理解,此处所描述的具体实施例仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。
- [0028] 一种微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法,包括:
- [0029] 步骤一:对玻璃片表面用BS³溶液进行处理;如图1所示,具体包括:
- [0030] 步骤1)使用丙酮、异丙醇和去离子水依次超声清洗玻璃片4~6min,优选5min;
- [0031] 步骤2)用氮气吹干玻璃片后,对玻璃片表面进行plasma处理,打60W plasma 85~95s(优选90s),实现其表面羟基化,再立即在玻璃片表面加入浓度为8%~12%(优选10%)的APTMS溶液(3-氨基丙基-三甲氧基硅烷,3-aminopropyltrimethoxysilane),在室温下反应13~17min(优选15min);
- [0032] 步骤3)将玻璃片清洗风干后,使用热板对该玻璃片在75~85 $^{\circ}\text{C}$ 范围内(优选80 $^{\circ}\text{C}$)加热1.8~2.2h(优选2h),实现表面键合;
- [0033] 步骤4)恢复室温后在玻璃片表面加入4~6mM(优选5mM)的BS³溶液(双琥珀酰亚胺辛二酸酯钠盐,bis[sulfosuccinimidyl]suberate),在室温下与表面已键合有APTMS的玻璃片表面反应23~27min(优选25min),清洗后得到表面键合有BS³的玻璃载体;
- [0034] 步骤二:在该表面键合有BS³的玻璃载体上进行ELISA实验;包括:
- [0035] 步骤(1)在该玻璃载体表面加入18~22 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (优选20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)的的心肌钙蛋白I(cTnI)单克隆抗体溶液室温下反应1.8~2.2h(优选2h),实现cTnI捕获;
- [0036] 步骤(2)清洗该玻璃载体后,再加入4~6%(优选5%)的牛血清蛋白(BSA)溶液室

温下反应0.8~1.2h(优选1h)；

[0037] 步骤(3)清洗该玻璃载体后,再加入不同浓度(浓度取值范围为1pg/ml-1μg/ml)cTnI溶液室温下反应1.8~2.2h(优选2h)；

[0038] 步骤(4)清洗该玻璃载体后,加入18~22μg/ml(优选20μg/ml)的cTnI多克隆抗体(山羊属)溶液室温下反应1.8~2.2h(优选2h)；

[0039] 步骤(5)清洗该玻璃载体后,加入1.8~2.2μg/ml(优选2μg/ml)的荧光标记的兔抗山羊IgG溶液室温下反应0.8~1.2h(优选1h)；

[0040] 步骤(6)清洗该玻璃载体后,在荧光显微镜下测得各浓度cTnI对应的荧光强度,得到荧光免疫曲线,并与未经过化学处理的干净玻璃片进行对比。

[0041] 本实施例中提到的室温指的是22℃~26℃的温度范围。

[0042] 利用本发明的方法进行抗原检测实验,原理及结果如图2和图3所示。

[0043] 本发明提供的微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法,得到的固相载体检测区域面积小,对cTnI捕获均匀,检测精度高,能够为抗原抗体检测和药物筛选等领域提供有力的技术支持,可以很好地满足实际应用的需要。

[0044] 以上所述实施例仅表达了本发明的实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

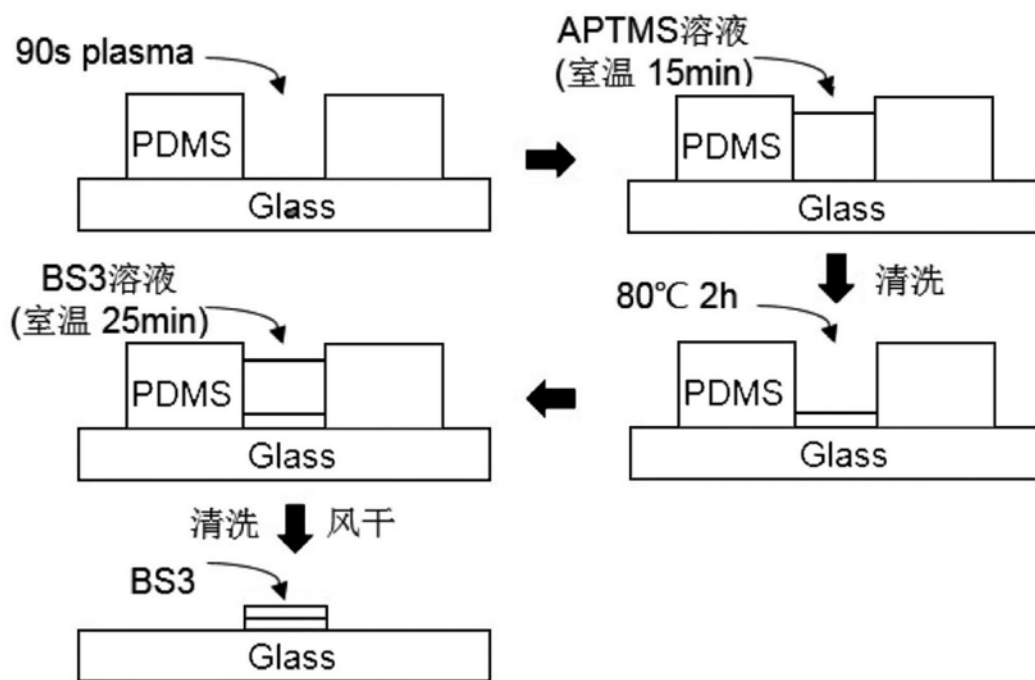


图1

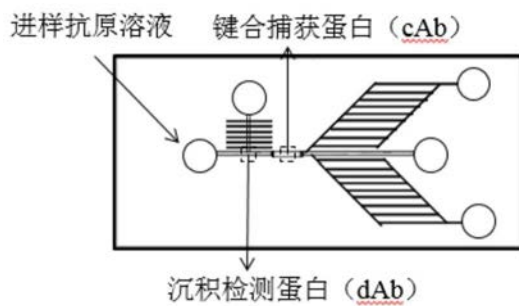


图2

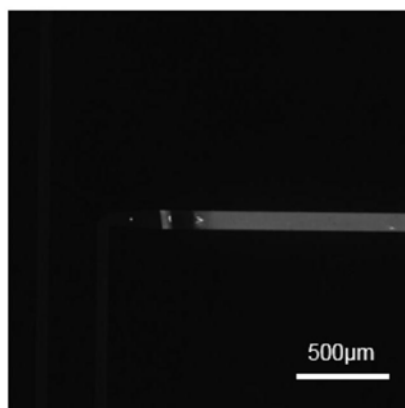


图3

专利名称(译)	微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法		
公开(公告)号	CN109765358A	公开(公告)日	2019-05-17
申请号	CN201910046477.6	申请日	2019-01-18
[标]发明人	杨文婷 曹臻 陈亮		
发明人	杨文婷 曹臻 陈亮		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/531 G01N33/533 G01N33/543 G01N33/577 G01N33/68		
代理人(译)	朱青		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法，包括：步骤一：对玻璃片表面用BS3溶液进行处理，步骤二：在该表面键合有BS3的玻璃载体上进行ELISA实验，步骤一包括：使用丙酮、异丙醇和去离子水依次超声清洗玻璃片；用氮气吹干玻璃片后，对玻璃片表面进行plasma处理，再在玻璃片表面加入APTMS溶液，在室温下反应；将玻璃片清洗风干后，对该玻璃片加热，实现表面键合；恢复室温后在玻璃片表面加入BS3溶液，得到表面键合有BS3的玻璃载体。本发明提供的微流控芯片应用蛋白质检测的化学处理方法，得到的固相载体检测区域面积小，对cTnI捕获均匀，检测精度高，能够为抗原抗体检测和药物筛选等领域提供有力的技术支持，可以很好地满足实际应用的需要。

