



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108226122 B

(45)授权公告日 2020.07.07

(21)申请号 201810073116.6

G01N 33/533(2006.01)

(22)申请日 2018.01.25

审查员 张咏

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 108226122 A

(43)申请公布日 2018.06.29

(73)专利权人 武汉生之源生物科技股份有限公司

地址 430206 湖北省武汉市东湖开发区高新大道818号高科医疗器械园B11号

(72)发明人 华权高 沈鹤霄 徐春雷

(74)专利代理机构 武汉智嘉联合知识产权代理事务所(普通合伙) 42231

代理人 黄君军

(51)Int.Cl.

G01N 21/64(2006.01)

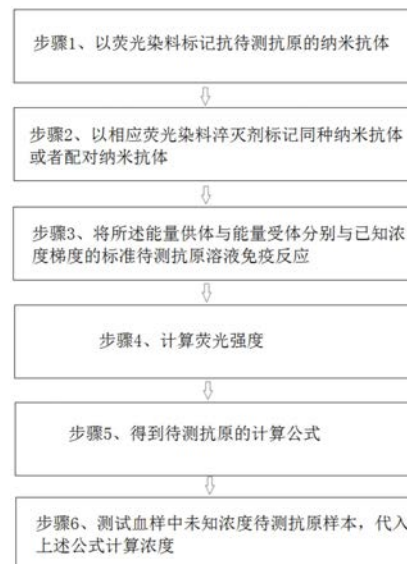
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法

(57)摘要

本发明提供了一种基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法,以荧光染料标记纳米抗体为能量供体,另以相应荧光淬灭剂标记同种纳米抗体或者配对纳米抗体为能量受体;本发明采用纳米抗体,稳定性好,且对血清中的样本检测基本无影响,以荧光染料标记纳米抗体为能量供体,另以相应荧光淬灭剂标记同种纳米抗体或者配对纳米抗体为能量受体,采用双抗体夹心的方法有效解决了免疫分析方法中存在的灵敏度低以及血清样本的氧化还原物质的影响的缺点,保证了方法的快速灵敏。



1. 一种基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法,其特征在于,以荧光染料标记纳米抗体为能量供体,另以相应荧光淬灭剂标记同种纳米抗体或者配对纳米抗体为能量受体,具体包括如下步骤:

步骤1、以荧光染料标记待测抗原的纳米抗体;

步骤2、以相应荧光染料淬灭剂标记同种纳米抗体或者配对纳米抗体,所述荧光染料和相应荧光染料淬灭剂为符合FRET特征的试剂对;

步骤3、配制几个已知浓度梯度的标准抗原溶液,在几个所述标准抗原溶液中均加入步骤1获得的荧光标记纳米抗体和步骤2中获得的淬灭剂标记抗体,在pH6-8的缓冲液中混合均匀,温育30min,得到不同的混合体系;

步骤4、免疫反应完成后,得到所述几个已知浓度梯度的标准抗原溶液的的荧光强度,以及荧光强度的淬灭程度与浓度之间的关系,测试血样中未知浓度待测抗原样本的荧光强度,根据所述关系即可得到待测抗原的浓度;

待检测的抗原为分子量小于或等于25kDa的球蛋白或者分子量小于或等于15kDa左右单体组成的多聚体蛋白,

其中待检测的抗原为分子量小于或等于25kDa的球蛋白时,检测方式为分别采用荧光染料和淬灭剂标记配对纳米抗体对,纳米抗体对针对的是球蛋白上不同的抗原决定簇;

待检测的抗原为分子量小于或等于15kDa左右单体组成的多聚体蛋白时,检测方式为分别采用荧光染料和淬灭剂同时标记同种纳米抗体,同种纳米抗体针对的是多聚体蛋白每个单体的同一个位置的抗原决定簇。

2. 如权利要求1所述的基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法,其特征在于,所述步骤4中具体方法为:免疫反应完成后,以所用能量供体的最大激发波长为激发光,以所用的能量受体的发射波长检测混合体系的荧光强度,采用去卷积法,计算得到溶液的荧光强度;根据荧光强度的淬灭程度,制作不同浓度待测抗原的标准曲线,进行公式拟合,得到待测抗原的计算公式;测试血样中未知浓度待测抗原样本,将测得的荧光强度代入所述的计算公式,得到待测抗原的浓度。

3. 如权利要求1所述的基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法,其特征在于,所用的荧光染料为5-羧基荧光素(FAM)、四甲基罗丹明(TMR)、Alexa-Fluor荧光团、BODIPY染料、ATTO染料、花青染料、量子点和稀土元素荧光剂。

4. 如权利要求1所述的基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法,其特征在于,所用的荧光染料淬灭剂选自DABCYL、BHQ1、BHQ2、QSY7、QSY9、QSY21、QSY35、ATTO540Q、ATTO580Q、ATTO612Q、DYQ660和DYQ661,荧光染料和荧光淬灭剂的配对原则为荧光染料的发射波长为荧光淬灭剂的吸收波长。

5. 如权利要求1所述的基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法,其特征在于,所述纳米抗体来自羊驼、骆驼或者鲨鱼。

基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及医学检验技术领域,尤其涉及基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法。

背景技术

[0002] 免疫分析法是一种微量生物分析方法,它利用抗原抗体间的高亲和性以及作为探针的标记物的高度可测性,能够对生物体内微量物质进行准确的定量分析,具有操作简单、特异性好、灵敏度高等优点,已成为生物学、医学、化学等学科领域研究的重要手段。免疫分析根据其反应系统的物理状态的不同可以分为均相免疫分析和非均相免疫分析。在现有的免疫分析方法中,非均相免疫分析法以RIA、ELISA和CLIA应用最为广泛,但非均相免疫分析需要进行抗原抗体复合物与游离抗原抗体的分离步骤,从而提高信噪比和分析的灵敏度,所以操作相对繁琐。分离抗原抗体复合物与游离抗原抗体是关键,也最容易产生误差。而且由于非均相免疫分析包括了包被(抗原或抗体)、封闭、多次温育、洗涤以及检测等过程,一般需要2小时以上。均相免疫分析因其具有不需要分离抗原抗体复合物与游离抗原抗体即可直接以及均相反应比固相、半固相反应更为简便迅速等特点,成为目前免疫分析方法研究中的重要方向。其中均相荧光免疫分析在抗原抗体特性性反应完成之后,无需将抗原抗体复合物与游离的抗原抗体进行分离,可以直接进行测定,操作简单快捷,易于实现自动化,得到了广泛应用。

[0003] 荧光共振能量转移(FRET)是一种非辐射的能量转移,其产生需满足以下4个条件:(1)能量供体的发射光谱与能量受体的激发光谱有效重叠;(2)能量供体的量子产率较高;(3)供体受体间满足一定的耦极取向;(4)供体受体间的距离小于10nm。供体与受体之间发生FRET将会使能量供体的荧光强度降低,受体发射的荧光强度增强,同时伴随它们的荧光寿命的相应缩短和延长。FRET技术作为一种高效的光学“分子尺”,在于生物大分子相互作用、免疫分析、核酸检测等方面有广泛的应用。FRET属于一种比较简便的均相免疫分析法,由于其操作简单,反应速度较快,越来越引起人们的关注。

[0004] 而现有的基于荧光共振能量转移(FRET)的均相免疫分析方法检测血清样本,稳定性较差,且血清样本中的物质很复杂,可能含有各种药物或者成分会改变血清的氧化还原条件,对血清中样本的检测有较大的影响,对于直接采用抗体重链和轻链以及待检测抗原的检测方式有较大影响。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于克服现有技术之缺陷,提供了一种基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法,稳定性好,对血清中的样本的基本无影响。

[0006] 本发明是这样实现的:

[0007] 本发明提供一种基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法,以荧光染料标记纳米抗体为能量供体,另以相应荧光淬灭剂标记同种纳米抗体或者配对纳米抗体

为能量受体,具体包括如下步骤:

[0008] 步骤1、以荧光染料标记待测抗原的纳米抗体;

[0009] 步骤2、以相应荧光染料淬灭剂标记同种纳米抗体或者配对纳米抗体,所述荧光染料和相应荧光染料淬灭剂为符合FRET特征的试剂对;

[0010] 步骤3、配制几个已知浓度梯度的待测抗原溶液,将步骤1获得的荧光标记纳米抗体和步骤2中获得的淬灭剂标记抗体与待测抗原溶液在pH6-8的缓冲液中混合均匀,温育30min,得到混合体系;

[0011] 步骤4、免疫反应完成后,得到所述多个标准抗原溶液的荧光强度,以及荧光强度的淬灭程度与浓度之间的关系,测试血样中未知浓度待测抗原样本的荧光强度,根据所述关系即可得到待测抗原的浓度。

[0012] 本发明具有的有益效果是:本发明提供一种基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法,采用纳米抗体,稳定性好,且对血清中的样本的检测基本无影响,以荧光染料标记纳米抗体为能量供体,另以相应荧光淬灭剂标记同种纳米抗体或者配对纳米抗体为能量受体,采用双抗体夹心的方法有效解决了免疫分析方法中存在的灵敏度低以及血清样本的氧化还原物质的影响的缺点,保证了方法的快速灵敏。

附图说明

[0013] 图1为本发明实施例提供的一种基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法的流程图;

[0014] 图2为本发明实施例1提供的一种基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法中488nm检测的C-反应蛋白(CRP)的荧光光谱数据;

[0015] 图3为本发明实施例1提供的一种基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法中C-反应蛋白(CRP)的浓度标准曲线;

[0016] 图4为本发明实施例2提供的一种基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法中488nm检测的脂质运载蛋白(NGAL)的荧光光谱数据;

[0017] 图5为本发明实施例2提供的一种基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法中NGAL蛋白的浓度标准曲线。

具体实施方式

[0018] 实施例1 C-反应蛋白(CRP)的浓度测定

[0019] 1、纳米抗体荧光标记

[0020] (1) 荧光标记纳米抗体制备用生理盐水及碳酸盐缓冲液将纳米抗体溶液浓度调整为20mg/mL,与总量的1/10的缓冲液混匀,于冰槽中搅拌5-10min。将适量荧光素AF488逐渐加入纳米抗体溶液中,4℃搅拌12h~18h。

[0021] (2) 荧光标记抗体的提纯将荧光抗体溶液于透析袋内,用流动自来水透析5 min,再用0.01mol/L、pH 7.2PBS透析4h,经DEAE纤维素柱,分别用含0.01 mol/L、0.05mol/L及0.14mol/L NaCl的PBS依次洗脱,收集F/P值在1.5 左右的标记抗体,保存备用。

[0022] 2、淬灭剂标记抗体

[0023] 方法同荧光素标记抗体方法,使用NHS活性酯偶联的淬灭剂进行纳米抗体标记,具

体为:将纳米抗体纯化蛋白4℃下透析到100mmol/L碳酸氢钠缓冲液 (pH8.3) 中,取出1mL室温下电磁缓慢搅拌。避光条件下小心称取淬灭剂QSY-35,加入DMF,使其终浓度为10mg/mL。在室温避光的条件下用微量加样器将淬灭剂逐滴慢慢加到电磁搅拌下的抗体蛋白溶液中,直至使最终反应体系中蛋白与淬灭剂的摩尔比为1:10。加完后室温避光继续缓慢搅拌1h,然后将反应溶液移到4℃下继续反应5h,再转移到排阻分子量为3.5kD的透析袋中,4℃下对PBS透析,收集透析袋中的溶液避光保存。称Sephadex-G25共4g,PBS平衡两天后装柱(10×300mm),加入透析后的溶液,收取最先流出的带有蓝紫色的溶液,即为结合好淬灭剂QSY35的纳米抗体,避光保存于-20℃。

[0024] 3、检测血样中C反应蛋白

[0025] (1) hFRIA法的建立:以荧光标记纳米抗体为能量供体,淬灭剂标记纳米抗体为能量受体,组成FRET分子对。理论上,当荧光标记纳米抗体与淬灭剂标记纳米抗体混合后,两者与待测抗原相互结合形成双夹心结构,同时两种荧光基团AF488和QSY35距离拉近,产生FRET,在488nm光线的激发下,AF488发射的519nm绿色荧光的大部分能量被转移给能量受体QSY35而发生荧光淬灭。为避免孔间荧光干扰,采用黑色96孔板作为检测用板。每个反应孔加入荧光标记纳米抗体(浓度0.5mg/mL) 80μL,再加入不同体积的淬灭剂标记纳米抗体(浓度为4mg/mL),混匀后测定各孔的相对荧光强度,计算相应的淬灭率。由于96孔板的最适体积为100μL,确定在85μL荧光标记纳米抗体溶液中加入5μL淬灭剂标记抗体为最适加入量,以此建立hFRIA检测体系。

[0026] (2) 把加入待测样品前的荧光值定为C,加入后的荧光值定为D,单孔本身待测样品加入前后的荧光降低比 $M_{\text{sample}} = D/C$ 。各检测孔相对于阴性对照的荧光增长比FIR (Fluorescence Increasing Ratio) $M_{\text{sample}}/MPBS$ 。所有检测孔均进行双孔重复,取平均值计算FIR。结果显示含有抗原的样品能够使各检测孔的荧光强度降低,荧光强度的降低程度与抗原浓度呈正相关。当CRP浓度达 0.5pg/ml以上时,与PBS对照相比FIR值达统计学显著性($p < 0.05$)。

[0027] 如图2所示,为488nm检测的C-反应蛋白(CRP)的荧光强度图谱。

[0028] (3) 依据图2中两种量子点的荧光光谱数据,采用去卷积法【参见: Ellen R.Goldman, Aaron R.Clapp, George P.Anderson, et al, Analytical Chemistry, 2004 (76)】,计算得到各种能量受体的相对荧光强度,制作CRP的标准曲线,见图3。CRP的标准曲线的计算公式分别为 $y = -0.0025x + 1.9058$ 。

[0029] 其中从上往下分别为0mg/L; 50mg/L; 100mg/L; 200mg/L; 300mg/L; 400mg/L, CRP的浓度分别从上往下依次为0mg/L; 0.1mg/L; 0.2mg/L; 0.3 mg/L; 0.4mg/L; 0.5mg/L。可以看出在浓度变化为0.1mg/L时荧光值的变化仍是可检测的。

[0030] 为了对提出的免疫分析法进行评估,在最优条件下对不同浓度的CRP进行分析检测。在抗体混合液中加入含不同浓度CRP的溶液中进行免疫反应后,37℃的条件下,反应30min后,测定体系的荧光强度。如图3所示,随着CRP浓度的增大,荧光强度逐渐降低。溶液AF488的相对荧光强度与CRP浓度呈现出良好的线性关系。线性检测范围为0.3-400mg/L,相关系数为0.94,其检测限为0.1mg/L。线性范围公式为 $y = -0.0025x + 1.9058$ 。

[0031] (4) 经过试验测得待测CRP标准品FIR为1.4558,结果计算得到,CRP浓度为180mg/L。

[0032] 本实施例中的C反应蛋白(C-reactionprotein,CRP)在1930年由Tillet 和 Francis发现。最初他们观察到一些急性病人的血清可与肺炎链球菌的荚膜 C-多糖发生反应,随后证实能与C-多糖反应的物质是一种蛋白质,因而将这种蛋白质命名为C-反应蛋白(C-reaction protein,CRP)。C反应蛋白在血清中,而血清样本中的物质很复杂,可能含有各种药物或者成分会改变血清的氧化还原条件,对于直接采用抗体重链和轻链以及待检测抗原的检测方式,对血清中C 反应蛋白的检测有较大的影响。

[0033] 纳米抗体是骆驼属动物等所具有的独特抗体,其抗体结构域天然缺失轻链,只由一个重链可变区组成,直径2.5nm,长4nm,因而得名纳米抗体(nanobody,Nb),它是最小的功能性抗原结合片段。纳米抗体特性:Nb具有许多独特的性质,比如热稳定性好,可透过血脑屏障,免疫原性小等,因此无论在临床诊断还是药物应用等领域都具有非常广阔的前景。

[0034] 采用本发明提供的方法可以有效的解决以上问题。采用纳米抗体,稳定性好,且对血清中的样本的基本无影响,以荧光染料标记纳米抗体为能量供体,另以相应荧光淬灭剂标记同种纳米抗体或者配对纳米抗体为能量受体,采用双抗体夹心的方法有效解决了免疫分析方法中存在的灵敏度低缺点,保证了方法的快速灵敏。

[0035] C-反应蛋白(CRP)是一种经典的急性时相蛋白,编码CRP的基因位于1号染色体(1q21-q23),CRP包含224个氨基酸,分子量为25106道尔顿,是由5个结构相同的未糖基化多肽亚单位连接而成,其亚单位由187个氨基酸组成,电镜下呈环状对称的五面体,不溶于水,结晶为菱形,可能被硫酸钠沉淀,不耐热(56℃30min即被破坏)其电泳迁移率在β和N蛋白正常。因此待检测的抗原C-反应蛋白(CRP)为分子量小于15kDa左右单体组成的多聚体蛋白时,检测方式为分别采用荧光染料和淬灭剂同时标记同种纳米抗体,同种纳米抗体针对的是多聚体蛋白每个单体的同一个位置的抗原决定簇。

[0036] 实施例2脂质运载蛋白(NGAL)的浓度测定

[0037] 1、纳米抗体荧光标记

[0038] (1) 荧光标记纳米抗体制备用生理盐水及碳酸盐缓冲液将纳米抗体溶液浓度调整为20mg/mL,与总量的1/10的缓冲液混匀,于冰槽中搅拌5-10min。将适量荧光素逐渐加入纳米抗体溶液中,4℃搅拌12h~18h。

[0039] (2) 荧光标记抗体的提纯将荧光抗体溶液于透析袋内,用流动自来水透析5 min,再用0.01mol/L、pH 7.2PBS透析4h,经DEAE纤维素柱,分别用含0.01 mol/L、0.05mol/L及0.14mol/L NaCl的PBS依次洗脱,收集F/P值在1.5 左右的标记抗体,保存备用。

[0040] 2、淬灭剂标记配对抗体

[0041] 方法同荧光素标记抗体方法,使用NHS活性酯偶联的淬灭剂进行和荧光标记抗体配对的纳米抗体标记,具体为:将纳米抗体纯化蛋白4℃下透析到 100mmol/L碳酸氢钠缓冲液(pH8.3)中,取出1mL室温下电磁缓慢搅拌。避光条件下小心称取淬灭剂QSY-35,加入DMF,使其终浓度为10mg/mL。在室温避光的条件下用微量加样器将淬灭剂逐滴慢慢加到电磁搅拌下的抗体蛋白溶液中,直至使最终反应体系中蛋白与淬灭剂的摩尔比为1:10。加完后室温避光继续缓慢搅拌1h,然后将反应溶液移到4℃下继续反应5h,再转移到排阻分子量为3.5 kD的透析袋中,4℃下对PBS透析,收集透析袋中的溶液避光保存。称 Sephadex-G25共4g,PBS平衡两天后装柱(10×300mm),加入透析后的溶液,收取最先流出的带有蓝紫色的溶液,即为结合好淬灭剂QSY35的纳米抗体,避光保存于-20℃。

[0042] 3、检测血样中NGAL蛋白

[0043] (1) hFRIA法的建立:以荧光标记纳米抗体为能量供体,淬灭剂标记纳米抗体为能量受体,组成FRET分子对。理论上,当荧光标记纳米抗体与淬灭剂标记纳米抗体混合后,两者与待测抗原相互结合形成双夹心结构,同时两种荧光基团AF488和QSY35距离拉近,产生FRET,在488nm光线的激发下,AF488发射的519nm绿色荧光的大部分能量被转移给能量受体QSY35而发生荧光淬灭。为避免孔间荧光干扰,采用黑色96孔板作为检测用板。每个反应孔加入荧光标记纳米抗体(浓度0.5mg/mL) 80 μ L,再加入不同体积的淬灭剂标记纳米抗体(浓度为4mg/mL),混匀后测定各孔的相对荧光强度,计算相应的淬灭率。由于96孔板的最适体积为100 μ L,确定在85 μ L荧光标记纳米抗体溶液中加入5 μ L淬灭剂标记抗体为最适加入量,以此建立hFRIA检测体系。

[0044] (2) 把加入待测样品前的荧光值定为C,加入后的荧光值定为D,单孔本身待测样品加入前后的荧光增长比 $M_{\text{sample}} = D/C$ 。各检测孔相对于阴性对照的荧光增长比FIR (Fluorescence Increasing Ratio) $M_{\text{sample}}/MPBS$ 。所有检测孔均进行双孔重复,取平均值计算FIR。结果显示含有抗原的样品能够使各检测孔的荧光强度降低,荧光强度的升高程度与抗原浓度呈正相关。当NGAL浓度达 3.2pg/ml以上时,与PBS对照相比FIR值达统计学显著性 ($p < 0.05$)。配制浓度为0ng/mL、1000ng/mL、2000ng/mL、3000ng/mL、4000ng/mL、5000ng/mL的NGAL标准品溶液。如图4所示,为488nm检测的NGAL的荧光强度图谱。

[0045] (3) 依据图4中两种量子点的荧光光谱数据,采用去卷积法【参见: Ellen R.Goldman, Aaron R.Clapp, George P.Anderson, et al, Analytical Chemistry, 2004 (76)】,计算得到各种能量受体的相对荧光强度,制作CRP的标准曲线,见图3。NGAL的标准曲线的计算公式分别为 $y = -0.0002x + 2.2581$ 。

[0046] 为了对提出的免疫分析法进行评估,在最优条件下对不同浓度的NGAL进行分析检测。在抗体混合液中加入含不同浓度NGAL的溶液中进行免疫反应后,37 $^{\circ}$ C的条件下,反应30min后,测定体系的荧光强度。如图5,随着NGAL浓度的增大,荧光强度逐渐降低。溶液AF488的相对荧光强度与NGAL浓度呈现出良好的线性关系。线性检测范围为0-5 μ g/mL,相关系数为0.99,其检测限为0.2 μ g/mL。线性范围公式为 $y = -0.0002x + 2.2581$

[0047] (4) 经过试验测得待测标准品FIR为1.7581,结果计算得到,NGAL浓度为2500ng/mL。

[0048] 本实施例中的脂质运载蛋白NGAL(中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白,载脂蛋白-2)是一个由中性粒细胞和某些上皮细胞如肾小管所表达的微量蛋白。缺血性或肾毒性肾损伤时,NGAL由肾脏大量表达,并被释放到尿液和血浆。NGAL含量在损伤发生后2小时内升高,使之成为早期且敏感的肾损伤生物标志物。在临床上具有很大的意义,NGAL水平也可能在感染和某些癌症中适度升高。高于NGAL基准水平的病人可能患有急性肾损伤并可能进一步发展为急性肾功能衰竭。

[0049] NGAL蛋白在血清中,而血清样本中的物质很复杂,可能含有各种药物或者成分会改变血清的氧化还原条件,对于直接采用抗体重链和轻链以及待检测抗原的检测方式,对血清中C反应蛋白的检测有较大的影响。

[0050] 而纳米抗体是骆驼属动物等所具有的独特抗体,其抗体结构域天然缺失轻链,只由一个重链可变区组成,直径2.5nm,长4nm,因而得名纳米抗体 (nanobody, Nb),它是最小

的功能性抗原结合片段。纳米抗体特性:Nb具有许多独特的性质,比如热稳定性好,可透过血脑屏障,免疫原性小等,因此无论在临床诊断还是药物应用等领域都具有非常广阔的前景。

[0051] 采用本发明提供的方法可以有效的解决以上问题。采用纳米抗体,稳定性好,且对血清中的样本的基本无影响,以荧光染料标记纳米抗体为能量供体,另以相应荧光淬灭剂标记同种纳米抗体或者配对纳米抗体为能量受体,采用双抗体夹心的方法有效解决了免疫分析方法中存在的灵敏度低缺点,保证了方法的快速灵敏。

[0052] 待检测的抗原脂质运载蛋白NGAL为分子量小于25kDa的球蛋白,检测方式为分别采用荧光染料和淬灭剂标记配对纳米抗体对,纳米抗体对针对的是球蛋白上不同的抗原决定簇;

[0053] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

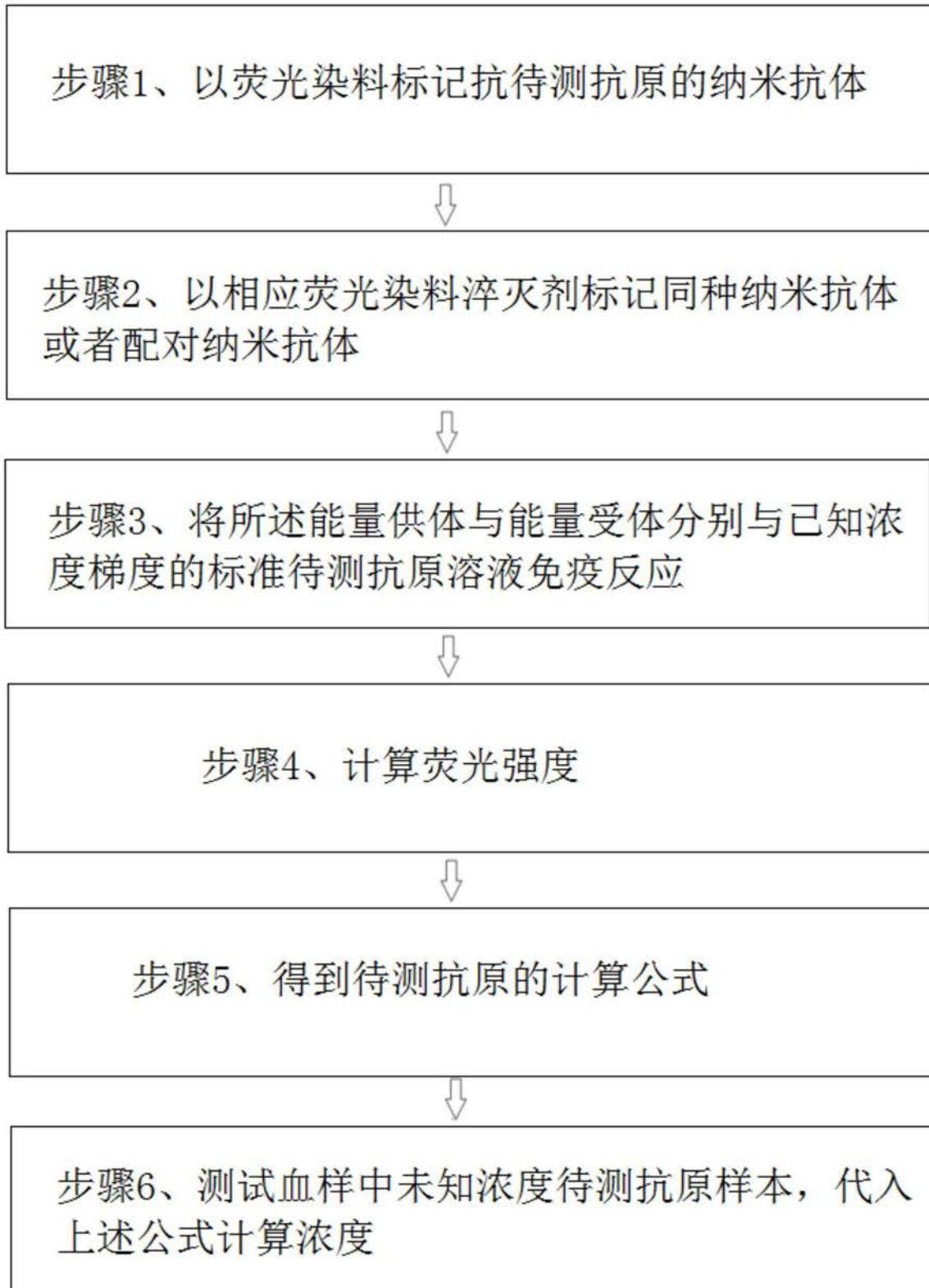


图1

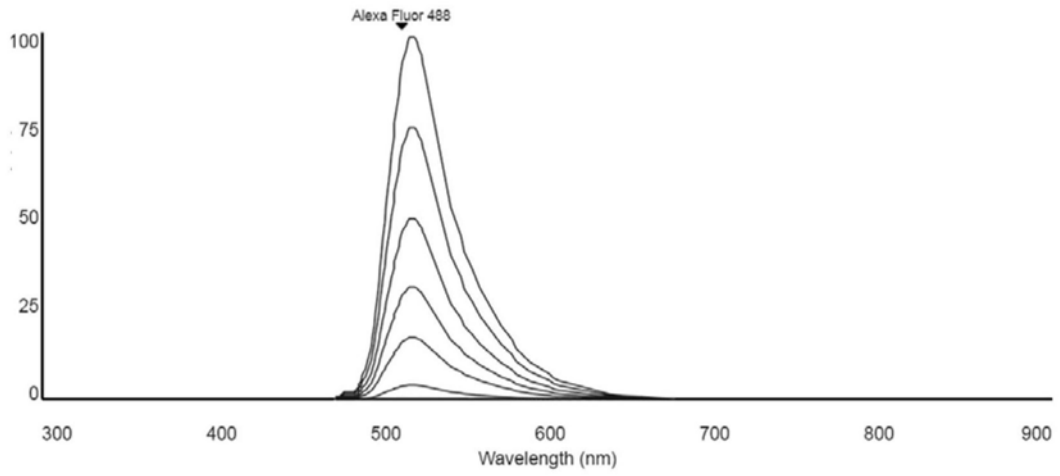


图2

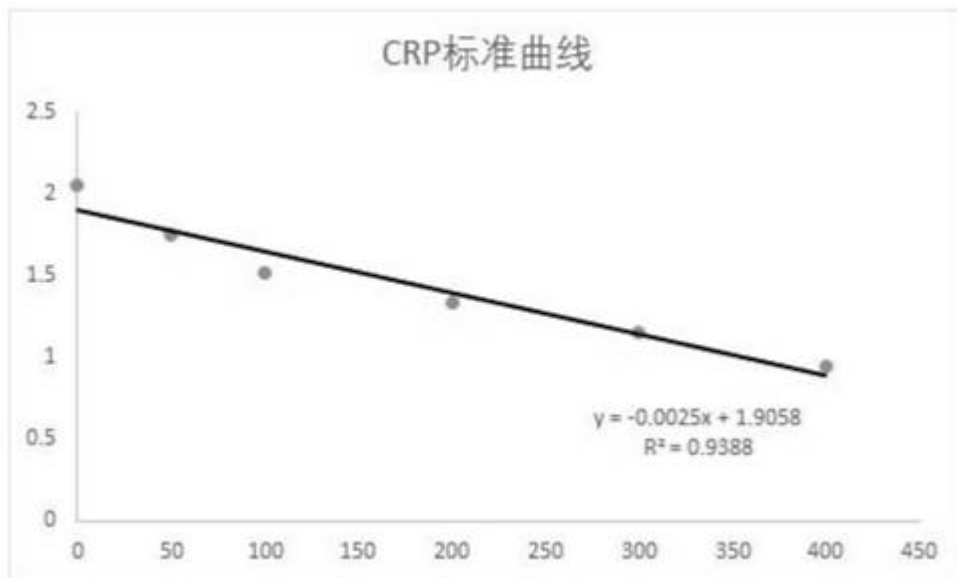


图3

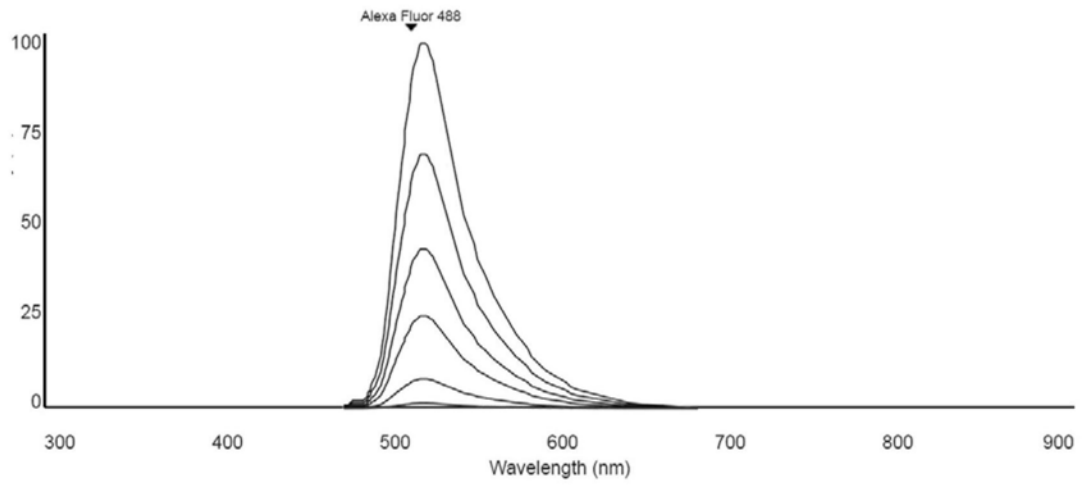


图4

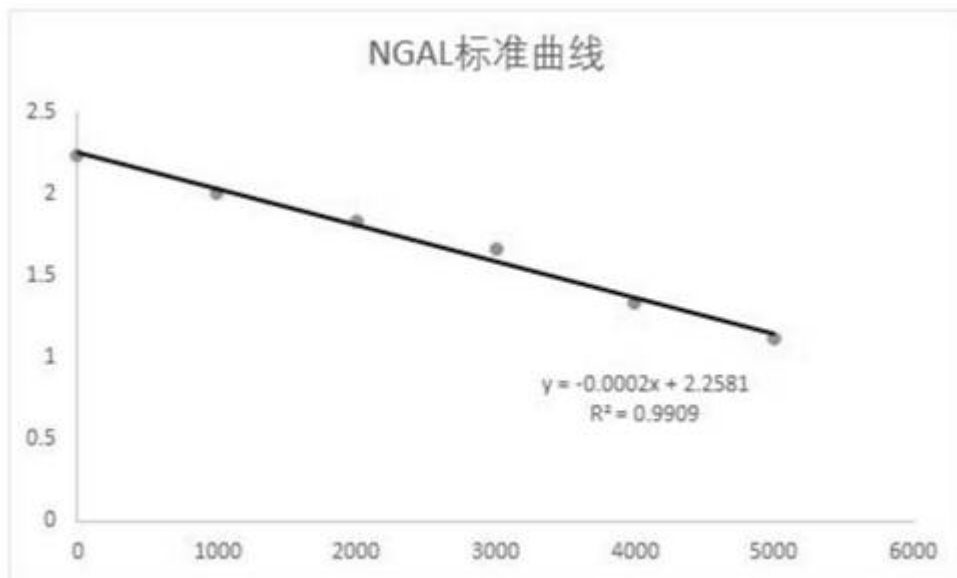


图5

专利名称(译)	基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法		
公开(公告)号	CN108226122B	公开(公告)日	2020-07-07
申请号	CN201810073116.6	申请日	2018-01-25
[标]申请(专利权)人(译)	武汉生之源生物科技股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	武汉生之源生物科技股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	武汉生之源生物科技股份有限公司		
[标]发明人	华权高 沈鹤霄 徐春雷		
发明人	华权高 沈鹤霄 徐春雷		
IPC分类号	G01N21/64 G01N33/533		
CPC分类号	G01N21/6486 G01N33/533		
审查员(译)	张咏		
其他公开文献	CN108226122A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种基于荧光共振能量转移的均相荧光检测血清蛋白的方法，以荧光染料标记纳米抗体为能量供体，另以相应荧光淬灭剂标记同种纳米抗体或者配对纳米抗体为能量受体；本发明采用纳米抗体，稳定性好，且对血清中的样本检测基本无影响，以荧光染料标记纳米抗体为能量供体，另以相应荧光淬灭剂标记同种纳米抗体或者配对纳米抗体为能量受体，采用双抗体夹心的方法有效解决了免疫分析方法中存在的灵敏度低以及血清样本的氧化还原物质的影响的缺点，保证了方法的快速灵敏。

