



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109187450 B

(45) 授权公告日 2020.10.27

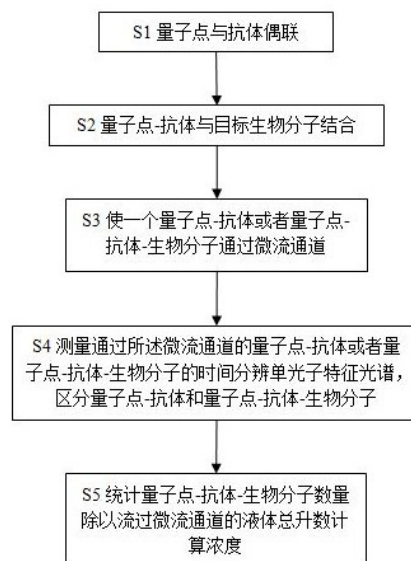
| | |
|--|--|
| (21) 申请号 201810860638.0 | CN 101191798 A, 2008.06.04 |
| (22) 申请日 2018.08.01 | CN 107942045 A, 2018.04.20 |
| (65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 109187450 A | CN 101221168 A, 2008.07.16 |
| (43) 申请公布日 2019.01.11 | CN 102411050 A, 2012.04.11 |
| (73) 专利权人 傅英 地址 瑞典默恩达尔 | CN 101988898 A, 2011.03.23 |
| (72) 发明人 傅英 杨希峰 | CN 105158477 A, 2015.12.16 |
| (74) 专利代理机构 南京苏高专利商标事务所 (普通合伙) 32204 代理人 张俊范 | CN 104991063 A, 2015.10.21 |
| (51) Int. Cl. G01N 21/64 (2006.01) | CN 103728446 A, 2014.04.16 |
| (56) 对比文件 CN 105467117 A, 2016.04.06 | CN 101900605 A, 2010.12.01 |
| | CN 103090971 A, 2013.05.08 |
| | CN 102170913 A, 2011.08.31 |
| | 陈振华. 一种新型多元均相时间分辨荧光免疫分析方法的建立.《湖北大学学报》.2013, 第35卷(第4期), 第474-479页. |
| | 尹近近. 基于荧光量子点单颗粒探测计数生物分析新方法的研究.《中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技I辑》.2017, 全文. (续) |
| | 审查员 龚子涵 |
| | 权利要求书2页 说明书6页 附图5页 |

(54) 发明名称

一种基于量子点的生物分子浓度检测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种基于量子点的生物分子浓度检测方法,包括以下步骤:将量子点与需要检测的目标生物分子的抗体偶联,将量子点-抗体原液与含有目标生物分子的待测溶液混合培养使量子点-抗体与目标生物分子结合,将混合溶液通过微流通道,控制混合溶液流量使一个量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子通过所述微流通道;测量通过所述微流通道的量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子的时间分辨单光子特征光谱,区分子点-抗体和量子点-抗体-生物分子;计算待测溶液中目标生物分子的浓度。该方法可以检测出fM浓度的生物分子,并且检测速度得到大幅提高。



CN 109187450 B

[接上页]

(56) 对比文件

Oleg A. Mayboroda. A new approach for fluorescence correlation spectroscopy (FCS) based immunoassays. 《Journal of Biotechnology》. 2004, 185-192.

K. David Wegner. Quantum-Dot-Based Förster Resonance Energy Transfer Immunoassay for Sensitive Clinical Diagnostics of Low-Volume Serum Samples. 《Acs Nano》. 2013, 全文.

1. 一种基于量子点的生物分子浓度检测方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1、将量子点与需要检测的目标生物分子的抗体偶联,形成量子点-抗体原液;

S2、将量子点-抗体原液与含有目标生物分子的待测溶液混合培养使量子点-抗体与目标生物分子结合,得到含有量子点-抗体以及量子点-抗体-生物分子的混合溶液;

S3、将步骤S2得到的混合溶液通过微流通道,控制混合溶液流量并使一个量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子通过所述微流通道;

S4、测量通过所述微流通道的量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子的时间分辨单光子特征光谱,根据连续光激发量子点-抗体产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子产生的光子脉冲序列,计算荧光脉冲的脉冲宽度概率密度;或者根据连续光激发量子点-抗体产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子产生的光子脉冲序列,计算荧光脉冲关联谱进行区分;或者根据连续光激发量子点-抗体产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子产生的光子脉冲序列,计算荧光脉冲的脉冲间隔概率密度,区分量子点-抗体和量子点-抗体-生物分子;

S5、统计量子点-抗体-生物分子数量至浓度有效识别数量时混合溶液流动时间,由混合溶液流动时间和混合溶液流速得到混合溶液体积,由量子点-抗体-生物分子数量和混合溶液体积计算待测溶液中目标生物分子的浓度。

2. 根据权利要求1所述的基于量子点的生物分子浓度检测方法,其特征在于,所述计算荧光脉冲的宽度概率密度进行区分是对所述光子脉冲序列进行ms级采样并计算脉冲宽度为1ms以上的荧光脉冲的脉冲宽度概率密度进行区分。

3. 根据权利要求1所述的基于量子点的生物分子浓度检测方法,其特征在于,所述计算荧光脉冲关联谱进行区分是对所述光子脉冲序列进行 10^{-7} s级采样并通过以下公式计算关联

$$g_A(\tau) = \frac{\langle I_A(t)I_A(t+\tau) \rangle_t}{\langle I_A(t) \rangle_t \langle I_A(t+\tau) \rangle_t},$$

其中 $g_A(\tau)$ 是关联值, $I_A(t)$ 是时间分辨荧光光谱光强, τ 是滞后时间, $\langle \rangle_t$ 是对时间求平均值,滞后时间为 $10^{-7} \sim 10^0$ s。

4. 根据权利要求1所述的基于量子点的生物分子浓度检测方法,其特征在于,所述计算荧光脉冲的脉冲间隔概率密度进行区分是对所述光子脉冲序列进行0.1ns级采样并计算脉冲间隔为1~100ns间的脉冲间隔概率密度进行区分。

5. 根据权利要求1中任意一项所述的基于量子点的生物分子浓度检测方法,其特征在于,所述根据连续光激发量子点-抗体产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子产生的光子脉冲序列,是根据连续光激发量子点-抗体在一个时间长度内产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子在一个时间长度内产生的光子脉冲序列,所述脉冲序列时间长度为1ms~1s。

6. 根据权利要求1所述的基于量子点的生物分子浓度检测方法,其特征在于,所述将量子点与需要检测的目标生物分子的抗体偶联是利用乙基-3-[3-二甲基氨基丙基]碳化二亚胺盐酸化物将抗体和量子点直接偶联,其中的量子点表面是羧基活化,抗体表面是氨基活化,量子点与抗体偶联后形成酰胺键;或者是利用琥珀酰亚胺基4-[N-马来酰亚胺甲基]环

乙烷-1-羧化物偶联反应进行氨基和巯基的共价反应使巯基活化的量子点与氨基活化的抗体偶联。

7. 一种基于量子点的生物分子浓度检测方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1、将多种量子点分别与需要检测的多种目标生物分子的抗体偶联,使同一种量子点与同一种抗体偶联,形成多种量子点-抗体原液;

S2、将多种量子点-抗体原液与含有多种目标生物分子的待测溶液混合培养使量子点-抗体与目标生物分子结合,得到含有多种量子点-抗体以及量子点-抗体-生物分子的混合溶液;

S3、将步骤S2得到的混合溶液通过微流通道,控制混合溶液流量并使一个量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子通过所述微流通道;

S4、测量通过所述微流通道的量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子的时间分辨单光子特征光谱,根据连续光激发量子点-抗体产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子产生的光子脉冲序列,计算荧光脉冲的脉冲宽度概率密度;或者根据连续光激发量子点-抗体产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子产生的光子脉冲序列,计算荧光脉冲关联谱进行区分;或者根据连续光激发量子点-抗体产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子产生的光子脉冲序列,计算荧光脉冲的脉冲间隔概率密度,区分不同的量子点-抗体和不同的量子点-抗体-生物分子;

S5、统计单种量子点-抗体-生物分子数量至浓度有效识别数量时混合溶液流动时间,由混合溶液流动时间和混合溶液流速得到混合溶液体积,由该种量子点-抗体-生物分子数量和混合溶液体积计算待测溶液中该种量子点-抗体-生物分子对应的目标生物分子的浓度。

一种基于量子点的生物分子浓度检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种生物分子浓度检测方法,特别是涉及一种基于量子点的生物分子浓度检测方法。

背景技术

[0002] 社会的高速发展使得人们生活水平得到极大提高,对于生活卫生、疾病预测等提出了新的要求,然而现有对于生物分子检测手段难以实现快速识别测量,因此在诸如饮用水中的细菌监测,细菌耐药性排查,癌症生物标记物的识别和量化等方面难以在实际应用中得到突破。现有技术用于鉴定和量化低浓度生物分子的方法包括:

[0003] 液相色谱(Liquid chromatography)和质谱(mass spectrometry)(LC-MS):LC在物理上分离液体溶液中的组分;MS通过测量各组分离子的质荷比来提供各组分的结构特性。酶联免疫吸附试验(ELISA):可以使用基于抗体的免疫测定法,如ELISA来检测样品中抗原的存在。为了量化溶液中的抗原,抗原首先通过直接吸附到表面或使用已经涂覆在表面上的“捕获抗体”固定在固体表面(聚苯乙烯微量滴定板)上。然后加入与酶连接的特异性初级抗体以结合固定化抗原。最后加入酶的底物,其颜色在与酶反应时发生变化。

[0004] 蛋白质印迹:蛋白质在裂解细胞和组织中的检测和量化通常通过蛋白质印迹进行,该印迹主要包括以下步骤:样品制备、凝胶/转移/阻断、初级抗体结合和信号检测。

[0005] 流式细胞术、荧光原位杂交(FISH)、聚合酶链反应(PCR):水中微生物的鉴定通常采用流式细胞术、磁分离技术、荧光原位杂交(FISH)、聚合酶链反应(PCR)和微阵列等分子技术。

[0006] 也有采用量子点技术进行识别检测,量子点(quantum dot,缩写为QD)已经能够工业化生产,通过表面修饰量子点可以与抗体(缩写为Ab)偶联形成量子点-抗体(QD-Ab)偶合体,通过QD-Ab偶合体上的Ab与待检测生物分子靶向偶联。其中量子点在外激发光的照射下,发射荧光,以标定靶向生物分子。现有技术中,通过检测量子点荧光强度或荧光波长的变化来区别QD-Ab-生物分子与QD-Ab偶合体,以实现检测靶向生物分子的目的。但是在理论上,QD-Ab在与生物分子偶联前后的荧光强度和波长的变化均很小。并且在实际光学测量应用中,对荧光强度与荧光波长的微小变化的定量测量很难实现。同时,量子点合成受很多实验条件影响,即使同一批生长的量子点也很难找到荧光强度和波长完全相同的量子点,于是用于生物分子检查的量子点本身带有荧光强度和波长的不均匀性,这为利用量子点荧光强度和波长的变化来检测生物分子的仪器的实现带来不可克服的困难。所以基于这种方法的量子点生物检测的仪器申请专利从2000年左右就有提出,但是到现在都没有实现该类仪器的市场化,这从另一个方面说明了通过测量量子点偶联上生物分子之后的荧光强度和波长变化很难对QD-Ab-生物分子进行定量识别。

发明内容

[0007] 针对上述现有技术的缺陷,本发明提供了一种基于量子点的生物分子浓度检测方

法,解决QD-Ab-生物分子和QD-Ab的识别问题,实现低浓度生物分子的快速定量识别。

[0008] 本发明技术方案如下:一种基于量子点的生物分子浓度检测方法,包括以下步骤:

[0009] S1、将量子点与需要检测的目标生物分子的抗体偶联,形成量子点-抗体原液;

[0010] S2、将量子点-抗体原液与含有目标生物分子的待测溶液混合培养使量子点-抗体与目标生物分子结合,得到含有量子点-抗体以及量子点-抗体-生物分子的混合溶液;

[0011] S3、将步骤2得到的混合溶液通过微流通道,控制混合溶液流量并使一个量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子通过所述微流通道;

[0012] S4、测量通过所述微流通道的量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子的时间分辨单光子特征光谱,区分量子点-抗体和量子点-抗体-生物分子;

[0013] S5、统计量子点-抗体-生物分子数量至浓度有效识别数量时混合溶液流动时间,由混合溶液流动时间和混合溶液流速得到混合溶液体积,由量子点-抗体-生物分子数量和混合溶液体积计算待测溶液中目标生物分子的浓度。

[0014] 进一步的,所述步骤S4区分量子点-抗体和量子点-抗体-生物分子是根据连续光激发量子点-抗体产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子产生的光子脉冲序列,计算荧光脉冲的脉冲宽度概率密度进行区分。

[0015] 进一步的,所述步骤S4区分量子点-抗体和量子点-抗体-生物分子是根据连续光激发量子点-抗体产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子产生的光子脉冲序列,计算荧光脉冲关联谱进行区分。

[0016] 进一步的,所述步骤S4区分量子点-抗体和量子点-抗体-生物分子是根据连续光激发量子点-抗体产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子产生的光子脉冲序列,计算荧光脉冲的脉冲间隔概率密度进行区分。

[0017] 进一步的,所述计算荧光脉冲的宽度概率密度进行区分是对所述光子脉冲序列进行ms级采样并计算脉冲宽度为1ms以上的荧光脉冲的脉冲宽度概率密度进行区分。

[0018] 进一步的,所述计算荧光脉冲关联谱进行区分是对所述光子脉冲序列进行 10^{-7} s级采样并通过以下公式计算关联

$$[0019] \quad g_A(\tau) = \frac{\langle I_A(t)I_A(t+\tau) \rangle_t}{\langle I_A(t) \rangle_t \langle I_A(t+\tau) \rangle_t},$$

[0020] 其中 $g_A(\tau)$ 是关联值, $I_A(t)$ 是时间分辨荧光光谱光强, τ 是滞后时间, $\langle \rangle_t$ 是对时间求平均值,滞后时间为 $10^{-7} \sim 10^0$ s。

[0021] 进一步的,所述计算荧光脉冲的脉冲间隔概率密度进行区分是对所述光子脉冲序列进行ns级采样并计算脉冲间隔为1~100ns间的脉冲间隔概率密度进行区分。

[0022] 进一步的,所述根据连续光激发量子点-抗体产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子产生的光子脉冲序列,是根据连续光激发量子点-抗体在一个时间长度内产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子在一个时间长度内产生的光子脉冲序列,所述脉冲序列时间长度为1ms~1s。

[0023] 优选的,所述将量子点与需要检测的目标生物分子的抗体偶联是利用乙基-3-[3-二甲基氨基丙基]碳化二亚胺盐酸化物将抗体和量子点直接偶联,其中的量子点表面是羧基活化,抗体表面是氨基活化,量子点与抗体偶联后形成酰胺键。

[0024] 优选的,所述将量子点与需要检测的目标生物分子的抗体偶联是利用琥珀酰亚胺基 4-[N-马来酰亚胺甲基]环乙烷-1-羧化物偶联反应进行氨基和巯基的共价反应使巯基活化的量子点与氨基活化的抗体偶联。

[0025] 进一步的,包括以下步骤:

[0026] S1、将多种量子点分别与需要检测的多种目标生物分子的抗体偶联,使同一种量子点与同一种抗体偶联,形成多种量子点-抗体原液;

[0027] S2、将多种量子点-抗体原液与含有多种目标生物分子的待测溶液混合培养使量子点-抗体与目标生物分子结合,得到含有多种量子点-抗体以及量子点-抗体-生物分子的混合溶液;

[0028] S3、将步骤2得到的混合溶液通过微流通道,控制混合溶液流量并使一个量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子通过所述微流通道;

[0029] S4、测量通过所述微流通道的量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子的时间分辨单光子特征光谱,区分不同的量子点-抗体和不同的量子点-抗体-生物分子;

[0030] S5、统计单种量子点-抗体-生物分子数量至浓度有效识别数量时混合溶液流动时间,由混合溶液流动时间和混合溶液流速得到混合溶液体积,由该种量子点-抗体-生物分子数量和混合溶液体积计算待测溶液中该种量子点-抗体-生物分子对应的目标生物分子的浓度。

[0031] 本发明所提供的技术方案的优点在于:以时间分辨单光子特征光谱区分子量子点-抗体和量子点-抗体-生物分子,能够避免荧光强度与荧光波长的区分方式因量子点的个体差异造成的识别误差,同时也避免了过小的荧光强度与荧光波长差别造成难以区分的问题。以时间分辨单光子特征光谱区分子量子点-抗体和量子点-抗体-生物分子能够在极短的时间内进行辨别区分,因此适用于微量生物分子浓度液体的测量,数小时就能检测出fM 浓度的生物分子,检测速度大幅提高。

附图说明

[0032] 图1为基于量子点的生物分子浓度检测方法流程示意图。

[0033] 图2为连续光激发的量子点-抗体和量子点-抗体-生物分子的光子脉冲序列图。

[0034] 图3为量子点-抗体以及量子点-抗体-生物分子的光子脉冲序列的脉冲宽度概率密度图。

[0035] 图4为量子点-抗体以及量子点-抗体-生物分子的光子脉冲序列的关联谱。

[0036] 图5为量子点-抗体以及量子点-抗体-生物分子的光子脉冲序列的脉宽间隔概率密度图。

[0037] 图6为绿色量子点-抗体-生物分子与红色量子点-抗体-生物分子比例为7.5:2.5时的光子脉冲序列的关联谱。

[0038] 图7为绿色量子点-抗体-生物分子与红色量子点-抗体-生物分子比例为2.5:7.5时的光子脉冲序列的关联谱。

具体实施方式

[0039] 下面结合实施例对本发明作进一步说明,应理解这些实施例仅用于说明本发明而

不用于限制本发明的范围,在阅读了本发明之后,本领域技术人员对本发明的各种等同形式的修改均落于本申请所附权利要求所限定的范围内。

[0040] 请结合图1所示,实施例1

[0041] 本实施例所涉及的基于量子点的生物分子浓度检测方法,包括以下步骤:

[0042] S1、根据水溶性量子点QD表面修饰(羧基、巯基)通过不同的交联剂与需要检测的目标生物分子的抗体偶联:

[0043] 利用EDC(乙基-3-[3-二甲基氨基丙基]碳化二亚胺盐酸化物)将抗体和量子点直接偶联,其中的量子点表面是羧基活化,而抗体表面是氨基活化,二者偶联后形成酰胺键,形成量子点-抗体原液。

[0044] S2、将量子点-抗体原液与含有目标生物分子的待测溶液搅拌20分钟,混合培养使量子点-抗体与目标生物分子结合,得到含有量子点-抗体以及量子点-抗体-生物分子的混合溶液;

[0045] S3、将步骤2得到的混合溶液通过微流通道,控制混合溶液流量并使一个量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子通过微流通道;

[0046] S4、测量通过微流通道的量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子的时间分辨单光子特征光谱,根据连续光激发量子点-抗体在ms级产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子在ms级产生的光子脉冲序列,如图2所示,采样时间长度为5.2ms。进行ms级采样并计算脉冲宽度为1ms以上的荧光脉冲的脉冲宽度概率密度,得到如图3所示结果,由相同宽度概率密度对应的脉冲宽度的不同对量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子进行区分。

[0047] S5、统计量子点-抗体-生物分子数量至浓度有效识别数量时混合溶液流动时间,一般浓度有效识别数量为600次,由混合溶液流动时间和混合溶液流速得到混合溶液体积,由统计的量子点-抗体-生物分子数量除以混合溶液体积计算待测溶液中目标生物分子的浓度。

[0048] 实施例2

[0049] 本实施例所涉及的基于量子点的生物分子浓度检测方法,包括以下步骤:

[0050] S1、根据水溶性量子点QD表面修饰(羧基、巯基)通过不同的交联剂与需要检测的目标生物分子的抗体偶联:

[0051] 利用SMCC(琥珀酰亚胺基4-[N-马来酰亚胺甲基]环乙烷-1-羧化物)反应将巯基活化的量子点与氨基活化的抗体偶联,进行氨基和巯基的共价反应偶联抗体和量子点形成量子点-抗体原液。

[0052] S2、将量子点-抗体原液与含有目标生物分子的待测溶液搅拌20分钟,混合培养使量子点-抗体与目标生物分子结合,得到含有量子点-抗体以及量子点-抗体-生物分子的混合溶液;

[0053] S3、将步骤2得到的混合溶液通过微流通道,控制混合溶液流量并使一个量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子通过微流通道;

[0054] S4、测量通过微流通道的量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子的时间分辨单光子特征光谱,根据连续光激发量子点-抗体在 10^{-7} s级产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子在 10^{-7} s级产生的光子脉冲序列,进行 10^{-7} s级采样并通过以下公式计算关联

$$[0055] \quad g_A(\tau) = \frac{\langle I_A(t)I_A(t+\tau) \rangle_t}{\langle I_A(t) \rangle_t \langle I_A(t+\tau) \rangle_t},$$

[0056] 其中 $g_A(\tau)$ 是关联值, $I_A(t)$ 是时间分辨荧光光谱光强, τ 是滞后时间, $\langle \rangle_t$ 是对时间求平均值,滞后时间为 $10^{-7} \sim 10^0$ s,得到如图4所示结果,由关联峰值和半峰宽的不同对量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子进行区分。

[0057] S5、统计量子点-抗体-生物分子数量至浓度有效识别数量时混合溶液流动时间,一般浓度有效识别数量为600次,由混合溶液流动时间和混合溶液流速得到混合溶液体积,由统计的量子点-抗体-生物分子数量除以混合溶液体积计算待测溶液中目标生物分子的浓度。

[0058] 实施例3

[0059] 本实施例所涉及的基于量子点的生物分子浓度检测方法,包括以下步骤:

[0060] S1、根据水溶性量子点QD表面修饰(羧基、巯基)通过不同的交联剂与需要检测的目标生物分子的抗体偶联:

[0061] 利用SMCC(琥珀酰亚胺基4-[N-马来酰亚胺甲基]环乙烷-1-羧化物)反应将巯基活化的量子点与氨基活化的抗体偶联,进行氨基和巯基的共价反应偶联抗体和量子点形成量子点-抗体原液。

[0062] S2、将量子点-抗体原液与含有目标生物分子的待测溶液搅拌20分钟,混合培养使量子点-抗体与目标生物分子结合,得到含有量子点-抗体以及量子点-抗体-生物分子的混合溶液;

[0063] S3、将步骤2得到的混合溶液通过微流通道,控制混合溶液流量并使一个量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子通过微流通道;

[0064] S4、测量通过微流通道的量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子的时间分辨单光子特征光谱,根据连续光激发量子点-抗体在ns级产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子在ns产生的光子脉冲序列。进行0.1ns级采样并计算脉冲间隔为1~100ns间的脉冲间隔概率密度,得到如图5所示结果,由脉冲间隔概率密度谱的半峰宽的不同对量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子进行区分。

[0065] S5、统计量子点-抗体-生物分子数量至浓度有效识别数量时混合溶液流动时间,一般浓度有效识别数量为600次,由混合溶液流动时间和混合溶液流速得到混合溶液体积,由统计的量子点-抗体-生物分子数量除以混合溶液体积计算待测溶液中目标生物分子的浓度。

[0066] 肌钙蛋白I是临床诊断心脏病的关键心脏和骨骼肌蛋白,以此为例,检测5-10纳克/升的肌钙蛋白I(ca24 kDa),这一水平用于指示心肌损伤概率增加。每1nL血样中加入 1pM的QD抗体,然后孵育20分钟,分别测量1nL和1000nL的混合液,结果如下:

| 待测肌钙蛋白浓度 | 待测肌钙蛋白分子数密度 | 测量时间 |
|----------|---|----------------------|
| 1 pM | $10^{-12} \times 6.022 \times 10^{23} = 6.022 \times 10^{11}$ 个/L | 10 秒, 以 0.1nL/s 的流速获 |

| | | |
|--------|--|--|
| | =602 个/ nL | 得 600 次读数(1nl 样品) |
| [0068] | $10^{-15} \times 6.022 \times 10^{23} = 6.022 \times 10^8$ 个/L =0.6 个/ 1 nL | 10, 000 秒(2.8 小时), 以 0.1nl / s 的流速获得 600 次读数(1000 nL 样品) |

[0069] 采用本发明方法,也可进行同时测量多种生物分子,采用不同的量子点(本实施例为红色和绿色量子点)与不同生物分子的抗体偶联,将量子点-抗体原液与含有目标生物分子的待测溶液搅拌20分钟,混合培养使量子点-抗体与目标生物分子结合,得到含有量子点-抗体以及量子点-抗体-生物分子的混合溶液;控制混合溶液流量并使一个量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子通过所述微流通道;测量通过微流通道的量子点-抗体或者量子点-抗体-生物分子的时间分辨单光子特征光谱,根据连续光激发量子点-抗体产生的光子脉冲序列和激发量子点-抗体-生物分子产生的光子脉冲序列,计算光子脉冲序列的关联谱。红色量子点和绿色量子点不同比例(7.5:2.5和2.5:7.5)混合时的两种量子点-抗体-生物分子的光子脉冲序列的关联谱如图6和图7所示,绿色量子点小而轻,扩散系数大,发射光子脉冲序列的关联谱上的滞后时间比红色量子点的要短。通过比较光子滞后时间关联图就可以区分不同量子点所对应的生物分子的种类和数量。

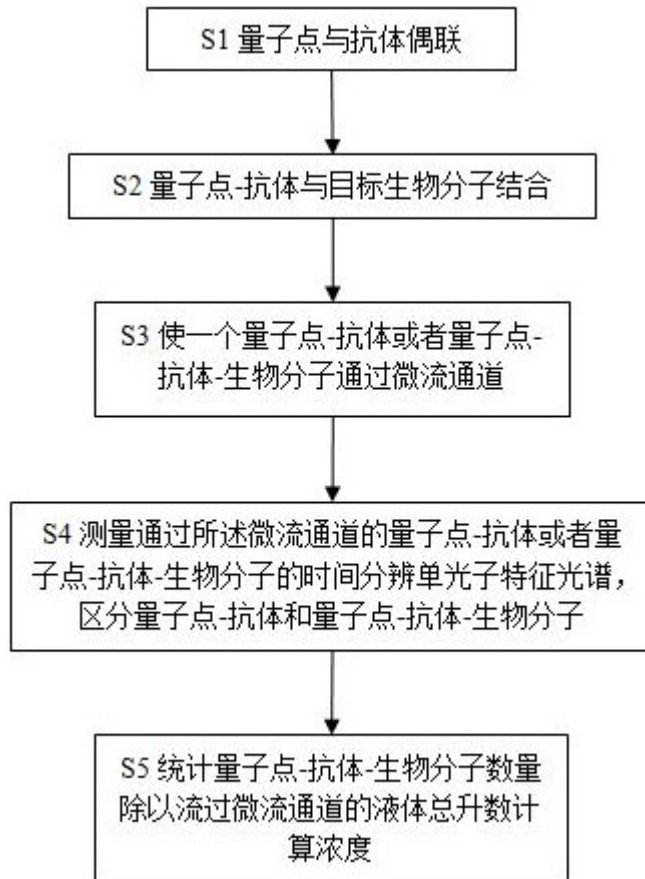


图1

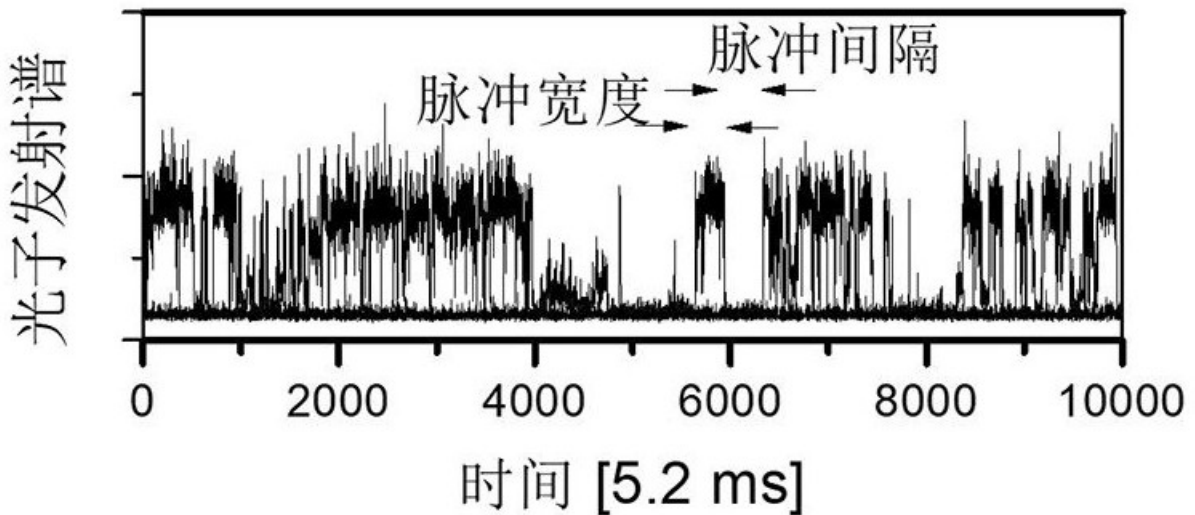


图2

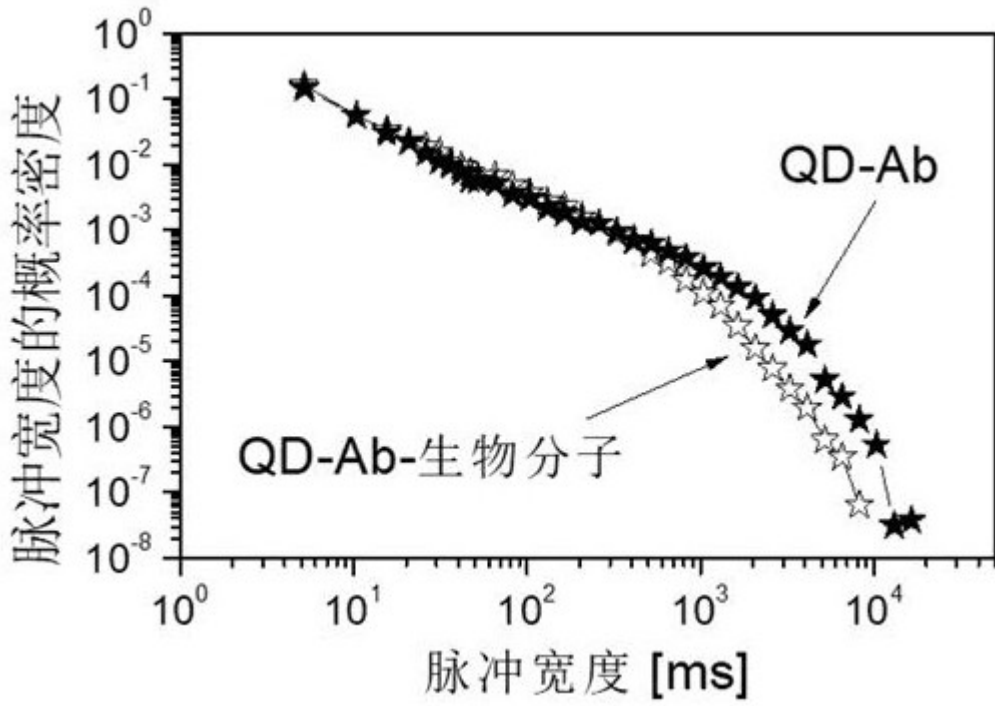


图3

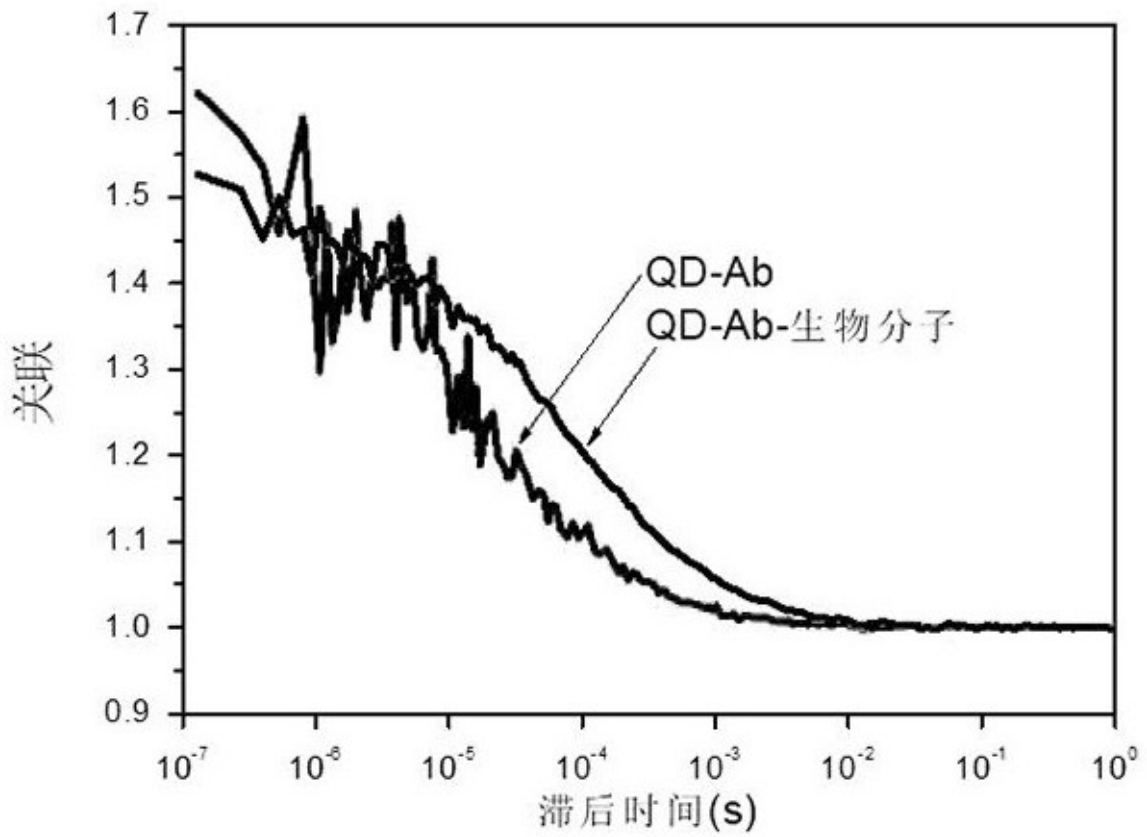


图4

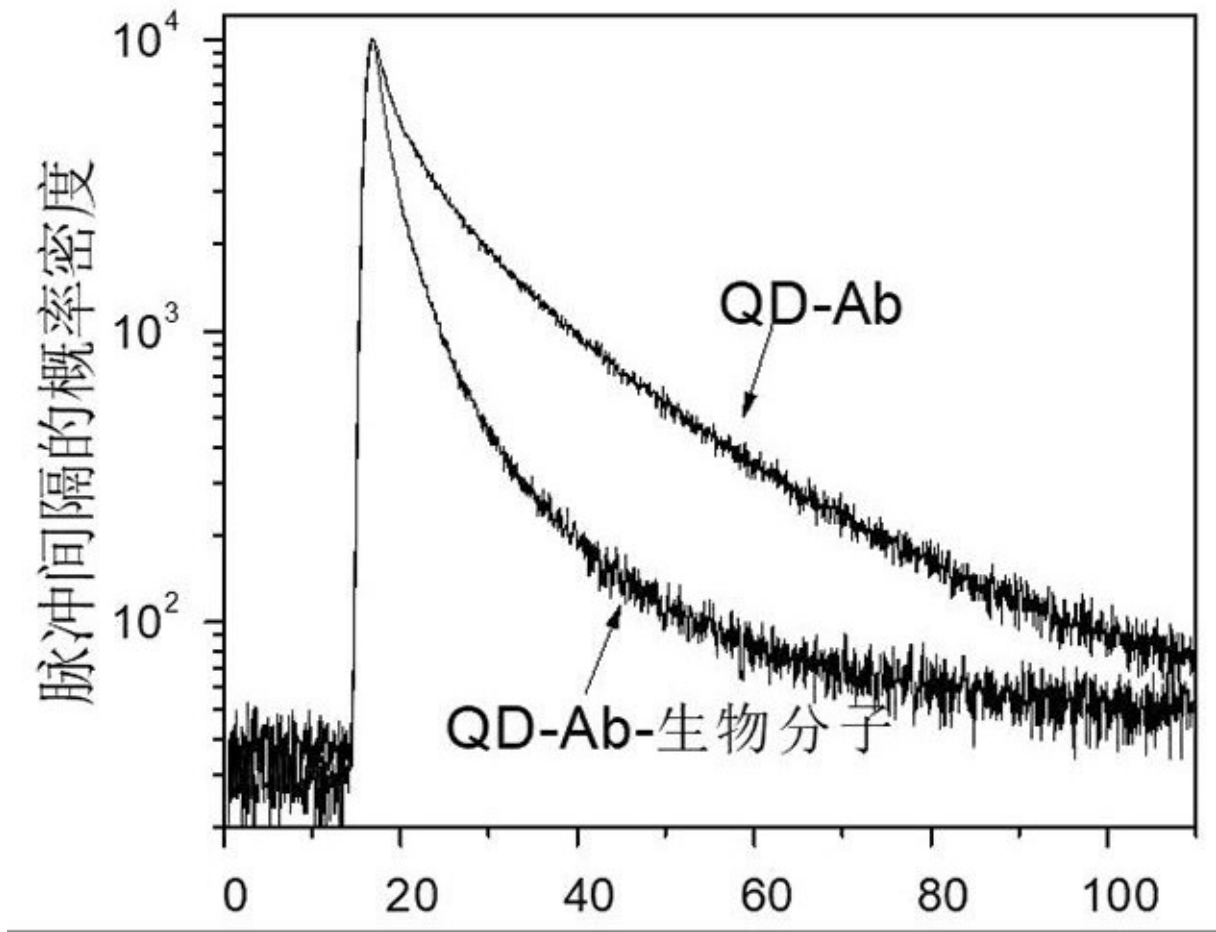


图5

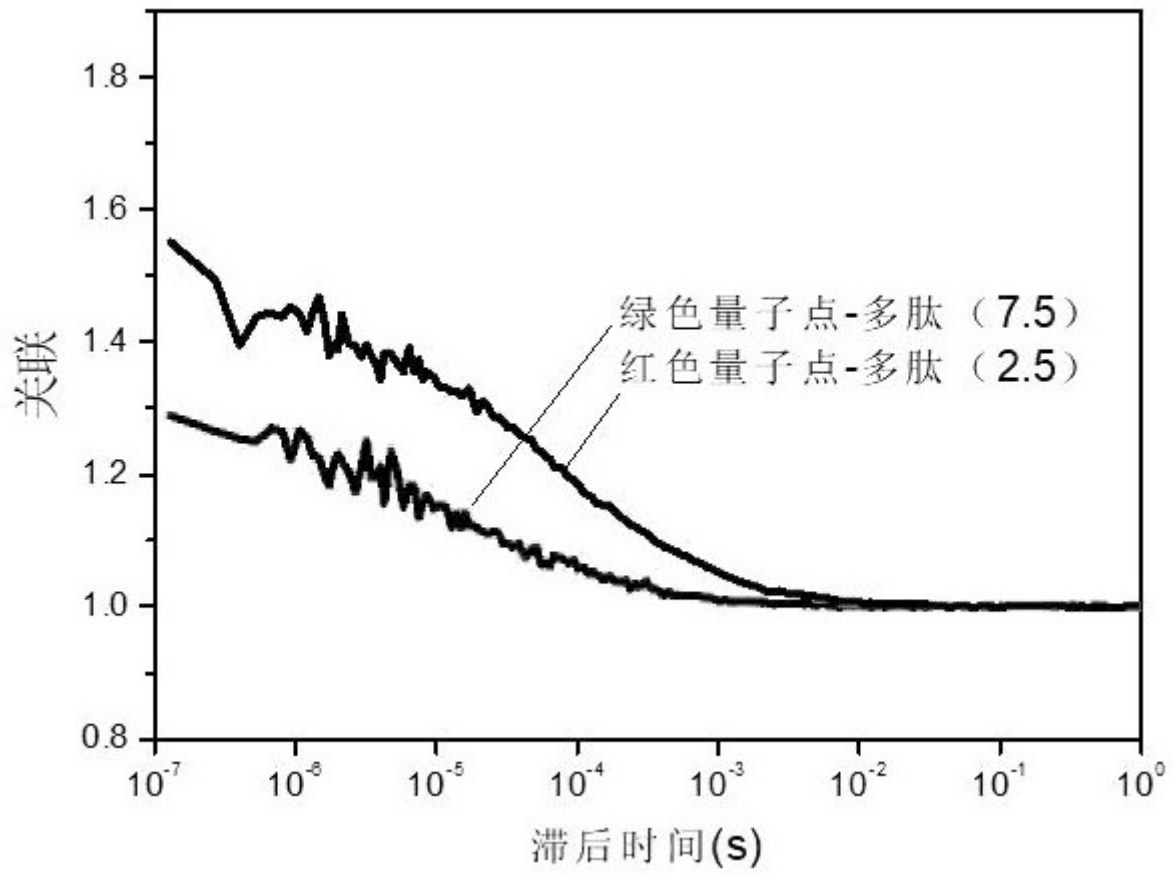


图6

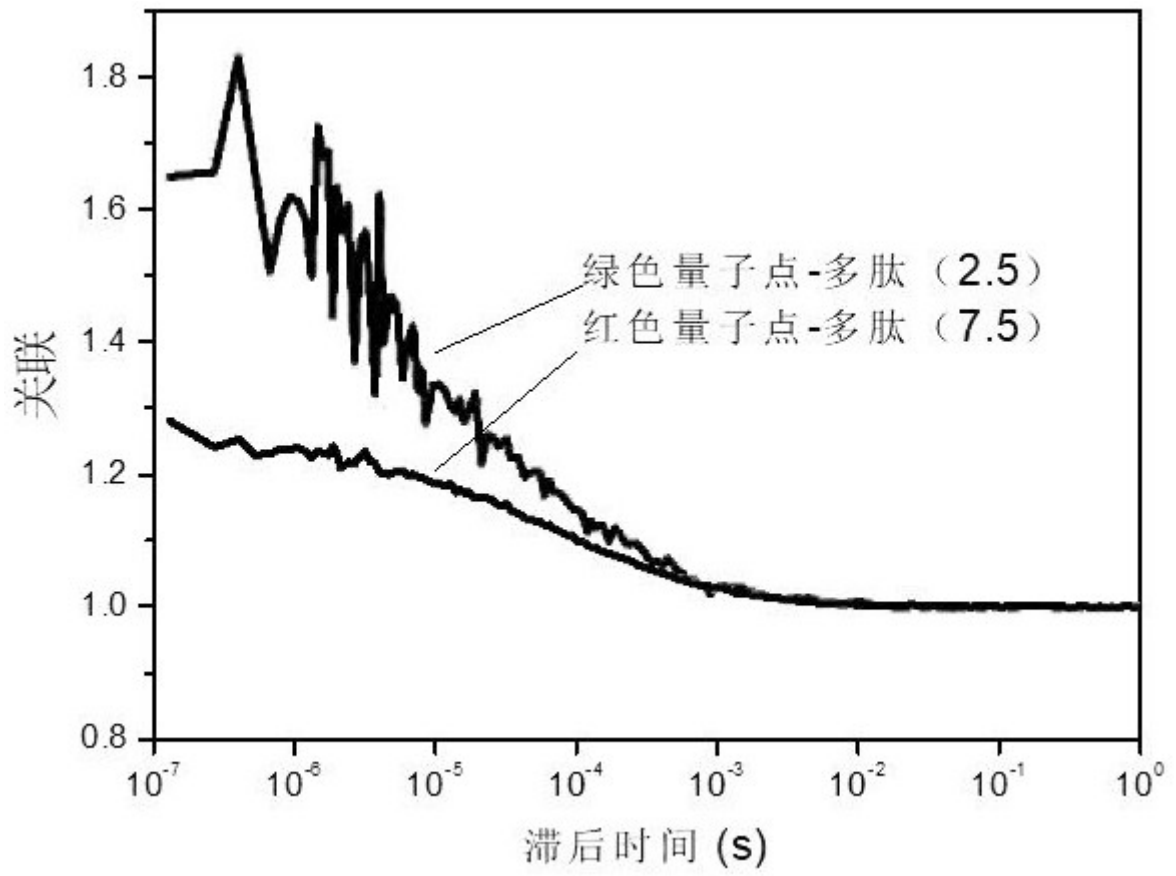


图7