



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101871932 A

(43) 申请公布日 2010. 10. 27

(21) 申请号 200910038814. 3

(22) 申请日 2009. 04. 21

(71) 申请人 周亚民

地址 523808 广东省东莞市松山湖大学路 1
号东莞理工学院教师村 12 栋 2 单元
702 房

(72) 发明人 周亚民

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

G01N 27/327(2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 2 页

(54) 发明名称

一种基于玻璃毛细管构制的组装阵列多道电导免疫传感器

(57) 摘要

本发明属于电化学免疫分析技术领域。本发明为一种基于玻璃毛细管构制的组装阵列多道电导免疫传感器,首先通过氨基硅烷试剂和戊二醛将抗体 A(抗原 A) 固定在玻璃毛细管内壁上,将铂丝电极插入毛细管里固定,注入非特异性蛋白,封闭活性吸附点,经过洗涤干燥后,然后把二根同样构制的玻璃毛细管组合在一起,得到对 A 敏感的免疫电极对。用同样方法构制对 B 敏感的免疫电极对,依次可以构制对 C 敏感的免疫电极对,对 D 敏感的免疫电极对,将几对电极组装在一起,即得到组装阵列多道电导免疫传感器,对应的免疫反应在毛细管里培育、洗涤后,插入尿酶的底物溶液中,尿酶标抗原(尿酶标抗体)催化底物反应,导致溶液电导增加,由此得到各抗原(抗体)的含量。

1. 一种组装阵列多道电导免疫传感器,其特征在于用玻璃毛细管构制免疫传感器,首先通过氨基硅烷试剂和戊二醛将抗体(抗原)固定在玻璃毛细管内壁上,将铂丝电极插入毛细管里固定,注入非特异性蛋白,封闭活性吸附点,经过洗涤干燥后,然后把二根一样构制的玻璃毛细管作为免疫敏感元器件,将多对固定有不同蛋白的免疫敏感元器件组合在一起,即得到组装阵列多道电导免疫传感器。

2. 根据权利要求1的免疫传感器,其特征在于在传感器可由长度100mm以下,毛细管内径1mm以下的各种玻璃毛细管构制。

3. 根据权利要求1的免疫传感器,其特征在于几对敏感免疫电极对组合在一起,一次分析可以实现对同一样品多种成分的检测。

一种基于玻璃毛细管构制的组装阵列多道电导免疫传感器

技术领域

[0001] 本发明涉及一种电化学电导免疫传感器阵列。

背景技术

[0002] 电导型免疫传感器是利用免疫反应引起溶液或薄膜的电导发生变化来进行分析的传感装置。酶催化底物的反应,导致反应体系中离子种类及浓度的变化,从而改变容溶液的导电率。例如,尿酶催化尿素生成离子产物 NH_4^+ 时,形成的 NH_4^+ 使溶液导电率的增加,其增加值与酶的量相关,因此电导测量可以确定酶联免疫中酶标示踪物的量。本发明利用这一现象,在玻璃毛细管里设计免疫反应,引进尿酶标记物,通过竞争反应,将酶标记物固定在毛细管内表面上,通过酶催化尿素水解使溶液电导增加,从而进行免疫分析。

[0003] 对一种样品多种成分进行免疫检测,一般需要多种不同类型的标记物,而且检测过程复杂,相互干扰因素很多。本发明提供了较为简单的能够对一种样品多种成分进行免疫检测的基于多对玻璃毛细管构制的组装阵列多道电导免疫传感器。

发明内容

[0004] 1、免疫传感器构制

[0005] (1)、免疫电极构制:通过氨基硅烷试剂和戊二醛分别将抗体 A、B、C、D... (抗原 A、B、C、D...) 固定在玻璃毛细管内壁上,插入铂丝固定作为电极。

[0006] (2)、封闭:用磷酸盐缓冲溶液清洗后,用 0.1% BSA 溶液封闭活性吸附点,洗涤干燥。

[0007] (3)、组装:将二根一样构制的玻璃毛细管作为对应蛋白的检测电极对,将固定有不同蛋白的检测电极对进行组装,集成在一起,即得到组装阵列多道电导免疫传感器。

[0008] (4)、保存:将免疫传感器保存在 4℃ 的冰箱中备用。

[0009] 2、测量过程

[0010] 本发明组装阵列多道电导免疫传感器检测包括以下步骤:

[0011] (1)、免疫反应过程:选择酶标物,酶标物是标记有尿酶的待测物,将酶标物加入待测物中。将此溶液缓慢通过毛细管,通过免疫反应,使待测物和酶标物竞争性吸附到毛细管里。

[0012] (2)、洗涤:免疫反应结束后,用磷酸缓冲溶液洗涤毛细管,除去非特异性吸附蛋白。

[0013] (3)、酶催化反应:将免传感器置于尿素溶液中,让尿素进入毛细管,经过尿酶标物催化水解。

[0014] (4)、测量:以插入尿酶底物溶液里的二根构制相同的毛细管作为电极,构成测量回路,记录尿酶底物进入毛细管后一定时间内电导值相对变化,可以得到对应待测物浓度。通过开关转换,可以依次测量不同电极对的电导改变值,从而得到相应待测物浓度。

[0015] 本发明的优点是:

- [0016] 1、免疫检传感器构造简单、方便,在玻璃毛细管内固定免疫试剂和发生免疫反应,各种长度和内径毛细管易得且价格低廉。
- [0017] 2、毛细管里面的溶液体积小,检测所需试剂用量很少,在灵敏度、响应时间和重现性方面都有较大的提高。
- [0018] 3、检测信号是电导,所需的仪器设备简单,价格低廉,易于实现微型化、自动化、数字化。
- [0019] 4、采用竞争免疫分析法,本电导免疫传感器具有良好的响应特异性。
- [0020] 5、这种免疫检测技术无须昂贵的仪器设备,易于自动化,适合用于家庭保健和临床初检。

具体实施方式

[0021] 实施例 1 :用于检测 IgG、IgM、IgA 的电导免疫传感器

[0022] (1)、免疫电极构制 :将 10% 氨丙基三乙氧基硅烷 $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OEt})_3$ 的酒精溶液注入毛细管 (长 80mm, 内径 1mm) 里,保持 20 分钟,在毛细管表面引进氨基,清洗后然后注入 10% 的戊二醛溶液,然后注入 0.1% 的羊抗人 IgM 试剂,保持 20 分钟,用 0.1M 磷酸盐缓冲溶液洗净,插入铂丝固定作为电极。

[0023] (3)、注入 0.1% BSA 溶液,封闭活性吸附点,洗涤干燥。

[0024] (4)、组装 :将二根固定有羊抗人 IgG 玻璃毛细管组合在一起,即得到 IgG 免疫检测元器件。同样,将固定有羊抗人 IgM 的玻璃毛细管组合在一起,即得到 IgM 免疫检测元器件,将固定有羊抗人 IgA 的玻璃毛细管组合在一起,即得到 IgA 免疫检测元器件。将三种元器件组装即得到 IgG、IgM、IgA 的电导免疫传感器阵列。

[0025] (5)、保存 :将免疫传感器保存在 4℃ 的冰箱中备用。

[0026] (6)、免疫反应过程 :将 0.3 $\mu\text{g/ml}$ 的尿酶标记 IgG、尿酶标记 IgM 和尿酶标记 IgA 加入 1.0ml 待测物中。将此溶液缓慢通过毛细管,通过免疫反应,使待测物和酶标物竞争性吸附到毛细管里。

[0027] (7)、洗涤 :免疫反应结束后,用 0.1M 的磷酸缓冲溶液洗涤毛细管,除去非特异性吸附蛋白。

[0028] (8)、酶催化反应 :将免疫传感器置于 0.5M 的尿素溶液里,让尿素溶液进入毛细管,尿素溶液经过尿酶标物催化水解,溶液电导率增加。

[0029] (9)、测量 :以插入尿素溶液里的二根构制相同毛细管作为电极构成测量回路,记录尿素溶液进入毛细管后电导值的相对变化,以 20 分钟后电导相对变化值作为分析信号,可以得到对应待测物浓度。通过开关转换,可以依次测量不同电极对之间的电导改变值,从而得到相应待测物浓度。通过线性回归分析,本免疫传感器可在 0.06 ~ 8 $\mu\text{g/mL}$ 范围内定量检测 IgG 样品含量,在 0.2 ~ 30 $\mu\text{g/mL}$ 范围内定量检测 IgM 样品含量,在 0.1 ~ 15 $\mu\text{g/mL}$ 范围内定量检测 IgA 样品含量。

专利名称(译)	一种基于玻璃毛细管构制的组装阵列多道电导免疫传感器		
公开(公告)号	CN101871932A	公开(公告)日	2010-10-27
申请号	CN200910038814.3	申请日	2009-04-21
[标]申请(专利权)人(译)	周亚民		
申请(专利权)人(译)	周亚民		
当前申请(专利权)人(译)	周亚民		
[标]发明人	周亚民		
发明人	周亚民		
IPC分类号	G01N33/53 G01N27/327		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于电化学免疫分析技术领域。本发明为一种基于玻璃毛细管构制的组装阵列多道电导免疫传感器，首先通过氨基硅烷试剂和戊二醛将抗体A(抗原A)固定在玻璃毛细管内壁上，将铂丝电极插入毛细管里固定，注入非特异性蛋白，封闭活性吸附点，经过洗涤干燥后，然后把二根同样构制的玻璃毛细管组合在一起，得到对A敏感的免疫电极对。用同样方法构制对B敏感的免疫电极对，依次可以构制对C敏感的免疫电极对，对D敏感的免疫电极对，将几对电极组装在一起，即得到组装阵列多道电导免疫传感器，对应的免疫反应在毛细管里培育、洗涤后，插入尿酶的底物溶液中，尿酶标抗原(尿酶标抗体)催化底物反应，导致溶液电导增加，由此得到各抗原(抗体)的含量。