



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108918856 A

(43)申请公布日 2018.11.30

(21)申请号 201810856759.8

(22)申请日 2018.07.31

(71)申请人 济南大学

地址 250022 山东省济南市市中区南辛庄  
西路336号

(72)发明人 曹伟 东雪 李璇 房靖龙  
苗俊聪 赵冠辉 魏琴

(74)专利代理机构 济南誉丰专利代理事务所  
(普通合伙企业) 37240

代理人 高强

(51)Int.Cl.

G01N 33/531(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页

(54)发明名称

一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫  
传感器的制备方法及应用

(57)摘要

本发明涉及一种基于双金属-有机骨架复合物(MOF)猝灭型免疫传感器的制备及其应用,本发明属于新型功能材料与生物传感技术领域。具体是一种以MOF材料UiO-67复合Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>(Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67)作为电致化学发光传感平台,另一种MOF材料NH<sub>2</sub>-MIL-101负载MoS<sub>2</sub>量子点(MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101)作为二抗标记物猝灭电致化学发光信号,以此构建夹心型电致化学发光免疫传感器,用于灵敏检测β-淀粉样蛋白(Aβ)。MOF材料具有大的比表面积,多孔且孔隙大小可调节,含有丰富的表面活性基团,可以承载更多的Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>及MoS<sub>2</sub>,增加抗原抗体结合数量,显著提高传感器的稳定性和选择性,降低检出限,实现对生物分子的灵敏准确检测。

1. 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的制备方法及应用，其特征在于，包括以下步骤：

(1) 将玻碳电极用抛光粉打磨，再使用去离子水清洗，将电极置于5 mmol/L铁氰化钾溶液中，并在-0.2 ~ 0.6 V电位下进行扫描，使峰电位的差值小于110 mV；

(2) 将8 μL, 1 ~ 3 mg/mL Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67纳米复合物溶液滴加在电极上，室温下干燥；

(3) 将8 μL, 1 ~ 2 μg/mL β-淀粉样蛋白(Aβ)抗体滴加在电极上，室温下干燥之后，用PBS清洗，除去多余抗体，室温下干燥；

(4) 将3 μL，质量分数为1 ~ 2% BSA溶液滴加于电极上，用以封闭非特异性结合位点，干燥之后使用PBS洗去多余BSA，室温下干燥；

(5) 将8 μL, 0.00001 ~ 50 ng/mL一系列不同浓度的Aβ抗原标准溶液滴加于电极上，室温下干燥之后，用PBS清洗，除去多余抗原，室温下干燥；

(6) 将8 μL, 3 ~ 5 mg/mL MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101标记的二抗滴加于电极上，室温下干燥之后，用PBS清洗，除去多余二抗，室温下干燥。

2. 如权利1所述的一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的制备方法及应用，其所述的Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67材料的制备步骤如下：

取40 ~ 50 mg 2-2联吡啶-5-5二羧酸(BPDC)作为有机配体溶于15 ~ 25 mL二甲基甲酰胺(DMF)和350 ~ 380 μL三乙胺中，同时，将40 ~ 50 mg ZrCl<sub>4</sub>作为金属配体溶于12 ~ 18 mL DMF中，将两者混合，相溶后加入2.20 ~ 2.35 mL醋酸，放置在高压反应釜内，在85 °C条件下反应24 h，后取出离心，并分别用DMF、甲醇和乙醇洗涤两次，后将沉淀物溶于5 ~ 15 mL乙醇中，置于三口瓶内，取15 ~ 25 mg三(2,2'-联吡啶)二氯化钌溶于5 ~ 15 mL乙醇中，将此溶液加入三口瓶内，在90 °C下油浴搅拌过夜；次日取出溶液离心，后用DMF和乙醇各洗涤三次，放置于60 °C真空干燥箱内干燥24 h，获得Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67。

3. 如权利1所述的一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的制备方法及应用，其所述的MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101材料的制备步骤如下：

#### (1) NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备

取0.5 ~ 0.8 g硝酸铬水合物溶解于10 ~ 15 mL去离子水中，再加入0.35 ~ 0.40 g 2-氨基对苯二甲酸，溶解后加入0.2 ~ 0.3 g氢氧化钠，搅拌5分钟使其混合均匀，转移至50 mL高压反应釜中，在150 °C下反应12 h，离心得绿色沉淀，用DMF洗涤未反应的2-氨基对苯二甲酸，放置于60 °C真空干燥箱中干燥12 h，得到MOF材料NH<sub>2</sub>-MIL-101；

#### (2) MoS<sub>2</sub> QDs的制备

MoS<sub>2</sub> QDs采用水热法进行制备：将0.25 ~ 0.30 g钼酸钠溶解于25 ~ 30 mL去离子水中，随后用0.1 mol L<sup>-1</sup>盐酸调节pH值为6.5；称取0.5 ~ 0.8 g L-半胱氨酸溶解于40 ~ 60 mL去离子水中；将上述溶液混合，超声10分钟，放入100 mL高压反应釜中，在200 °C下反应36 h，12000 rpm离心30分钟，收集淡黄色上清液，即为MoS<sub>2</sub> QDs；

#### (3) MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备

取20 ~ 25 mg制备好的NH<sub>2</sub>-MIL-101以及10 ~ 15 mL MoS<sub>2</sub> QDs，将其进行混合，超声使之均匀，放置于三口瓶内，在70 °C下油浴加热8 h，离心后用DMF和水分别洗涤三次，所得沉淀即为MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101。

4. 如权利1所述的一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的制备方法及应用,其特征在于,用于A<sub>β</sub>的检验,检测步骤如下:

(1) 使用电化学工作站的三电极体系进行测试,Ag/AgCl电极作为参比电极,铂丝电极为对电极,所制备的电致化学发光免疫传感器为工作电极,将电化学工作站和化学发光检测仪连接在一起将光电倍增管的高压设置为600 V,循环伏安扫描电位范围为0 ~ 1.3 V,扫描速率为0.1 V/s;

(2) 在10 mL、pH 6.0 ~ 8.5的含浓度为1 mmol/L ~ 12 mmol/L三丙胺的PBS缓冲溶液中,通过电化学发光方法,检测对不同浓度的A<sub>β</sub>标准溶液产生的电化学发光信号强度,绘制工作曲线;

(3) 将待测A<sub>β</sub>样品溶液代替A<sub>β</sub>标准溶液进行测定。

# 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的制备方法及应用

## 技术领域

[0001] 本发明涉及一种电致化学发光免疫传感器的制备与应用,具体说是一种以Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67为传感平台,以MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101为标记物的猝灭型免疫传感器,本发明属于新型功能材料、生物传感技术领域。

## 背景技术

[0002]  $\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )具有神经毒性以及会对血管形态和血管功能产生影响,在阿尔茨海默症(AD)的病程进展中发挥着主要作用。AD是世界范围内的公共卫生问题,也是老年人最常见的痴呆症形式,其组织病理学表现主要是老年斑、神经原纤维缠结和细胞凋亡引起的区域神经元死亡。研究表明,患者的老年斑主要是由神经毒性和血管毒性引起的。目前,A $\beta$ 被认为是一种可靠的分子生物标记物,用于检测、早期筛查和诊断AD。

[0003] 电致化学发光(ECL)是将电化学手段与化学发光技术相结合的一种研究方法,近几年在免疫分析等方面受到的广泛地关注。ECL传感器具有高灵敏性、高选择性、高专一性和检出限低等优点,可快速准确的检测待测物的含量。

[0004] 金属-有机骨架复合物(MOF)是近十年来发展迅速的一种配位聚合物,具有三维的孔结构,一般以金属离子为连接点,有机配体位支撑构成空间3D延伸,系沸石和碳纳米管之外的又一类重要的新型多孔材料,在催化,传感,储能和分离中都有广泛应用。此外,MOF材料有多种系列,如UiO系列,ZIF系列,MIL系列等。本发明中采用的双MOFs材料分别为UiO-67及NH<sub>2</sub>-MIL-101,其均具有大的比表面积,较高的孔隙率,且含有丰富的表面活性基团,可承载更多的Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>及MoS<sub>2</sub> QDs,从而增大发光信号,提高检测的灵敏度和准确性。

[0005] 量子点(QDs)是一种重要的低维半导体材料,一般为球形或类球形,直径在2到20纳米之间。目前在电致化学发光传感器中经常应用的量子点有碲化镉量子点、碳量子点、硫化锌量子点、二硫化钼量子点等。本发明中MoS<sub>2</sub> QDs被用于猝灭Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>的电致化学发光信号,其猝灭机理主要是由于电致化学发光-共振能量转移(ECL-RET),Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>作为能量供体,MoS<sub>2</sub> QDs作为能量受体吸收前者所发射的光信号,从而形成猝灭型传感器。

## 发明内容

[0006] 本发明的目的之一是制备一种以Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67为传感平台,以MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101为二抗标记物的猝灭型免疫传感器。

[0007] 本发明的目的之二是将该传感器用于A $\beta$ 的高灵敏、特异性检测。

[0008] 本发明的技术方案如下:

1. 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的制备方法如下:

(1) 将玻碳电极用抛光粉打磨,再使用去离子水清洗,将电极置于5 mmol/L铁氰化钾溶液中,并在-0.2 ~ 0.6 V电位下进行扫描,使峰电位的差值小于110 mV;

(2) 将8  $\mu$ L,1 ~ 3 mg/mL Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67纳米复合物溶液滴加在电极上,室温下干

燥；

(3) 将8  $\mu\text{L}$ , 1 ~ 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$   $\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )抗体滴加在电极上, 室温下干燥之后, 用PBS清洗, 除去多余抗体, 室温下干燥;

(4) 将3  $\mu\text{L}$ , 质量分数为1 ~ 2 % BSA溶液滴加于电极上, 用以封闭非特异性结合位点, 干燥之后使用PBS洗去多余BSA, 室温下干燥;

(5) 将8  $\mu\text{L}$ , 0.00001 ~ 50 ng/mL一系列不同浓度的A $\beta$ 抗原标准溶液滴加于电极上, 室温下干燥之后, 用PBS清洗, 除去多余抗原, 室温下干燥;

(6) 将8  $\mu\text{L}$ , 3 ~ 5 mg/mL被MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101标记的二抗滴加于电极上, 室温下干燥之后, 用PBS清洗, 除去多余二抗, 室温下干燥, 制得一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器。

[0009] 2. 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67材料的制备步骤如下：

取40 ~ 50 mg 2-2联吡啶-5-5二羧酸(BPDC)作为有机配体溶于15 ~ 25 mL二甲基甲酰胺(DMF)和350 ~ 380  $\mu\text{L}$ 三乙胺中, 同时, 将40 ~ 50 mg ZrCl<sub>4</sub>作为金属配体溶于12 ~ 18 mL DMF中, 将两者混合, 相溶后加入2.20 ~ 2.35 mL醋酸, 放置在高压反应釜内, 在85 °C条件下反应24 h, 后取出离心, 并分别用DMF、甲醇和乙醇洗涤两次, 后将沉淀物溶于5 ~ 15 mL乙醇中, 置于三口瓶内, 取15 ~ 25 mg三(2,2'-联吡啶)二氯化钌溶于5 ~ 15 mL乙醇中, 将此溶液加入三口瓶内, 在90 °C下油浴搅拌过夜。次日取出溶液离心, 后用DMF和乙醇各洗涤三次, 放置于60 °C真空干燥箱内干燥24 h, 获得Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67。

[0010] 3. 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的二抗标记物MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备步骤如下：

#### (1) NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备

取0.5 ~ 0.8 g硝酸铬水合物溶解于10 ~ 15 mL去离子水中, 再加入0.35 ~ 0.40 g 2-氨基对苯二甲酸, 溶解后加入0.2 ~ 0.3 g氢氧化钠, 搅拌5分钟使其混合均匀, 转移至50 mL高压反应釜中, 在150 °C下反应12 h, 离心得绿色沉淀, 用DMF洗涤未反应的2-氨基对苯二甲酸, 放置于60 °C真空干燥箱中干燥12 h, 得到MOF材料NH<sub>2</sub>-MIL-101;

#### (2) MoS<sub>2</sub> QDs的制备

MoS<sub>2</sub> QDs采用水热法进行制备: 将0.25 ~ 0.30 g钼酸钠溶解于25 ~ 30 mL去离子水中, 随后用0.1 mol L<sup>-1</sup>盐酸调节pH值为6.5; 称取0.5 ~ 0.8 g L-半胱氨酸溶解于40 ~ 60 mL去离子水中。将上述溶液混合, 超声10分钟, 放入100 mL高压反应釜中, 在200 °C下反应36 h, 12000 rpm离心30分钟, 收集淡黄色上清液, 即为MoS<sub>2</sub> QDs;

#### (3) MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备

取20 ~ 25 mg制备好的NH<sub>2</sub>-MIL-101以及10 ~ 15 mL MoS<sub>2</sub> QDs, 将其进行混合, 超声使之均匀, 放置于三口瓶内, 在70 °C下油浴加热8 h, 离心后用DMF和水分别洗涤三次, 所得沉淀即为MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101。

[0011] 4. A $\beta$ 的检验, 步骤如下:

(1) 使用电化学工作站的三电极体系进行测试, Ag/AgCl电极作为参比电极, 铂丝电极为对电极, 所制备的电致化学发光免疫传感器为工作电极, 将电化学工作站和化学发光检测仪连接在一起将光电倍增管的高压设置为600 V, 循环伏安扫描电位范围为0 ~ 1.3 V,

扫描速率为0.1 V/s;

(2)在10 mL、pH 6.0 ~ 8.5的含浓度为1 mmol/L ~ 12 mmol/L三丙胺的PBS缓冲溶液中,通过电化学发光方法,检测对不同浓度的A $\beta$ 标准溶液产生的电化学发光信号强度,绘制工作曲线;

(3)将待测A $\beta$ 样品溶液代替A $\beta$ 标准溶液进行测定。

#### [0012] 本发明的有益成果

(1)本发明采用MOF材料UiO-67,其具有大的比表面积,高的孔隙率,能够承载更多的Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>,且材料含有羧基基团,经过活化后直接与抗体进行连接,Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67具有较高且稳定的发光信号,提高了检测A $\beta$ 的灵敏度。

[0013] (2)采用另一MOF材料NH<sub>2</sub>-MIL-101承载MoS<sub>2</sub> QDs作为标记物,经活化后直接与二抗进行孵化,NH<sub>2</sub>-MIL-101可以负载大量的MoS<sub>2</sub> QDs且对Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>具有高效猝灭作用,从而提高了检测A $\beta$ 的准确性与特异性。

[0014] (3)本发明采用双MOFs材料UiO-67及NH<sub>2</sub>-MIL-101构建的超灵敏电致化学发光免疫传感器,基于此构建的传感器可应用于A $\beta$ 的临床检测,具有操作简单,检测快速,信号线性范围宽(0.01 pg/mL ~ 50 ng/mL)和检出限低(3.12 fg/mL)的优点。

### 具体实施方式

[0015] 实施例1 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67材料的制备步骤如下:

取40 mg 2-2联吡啶-5-5二羧酸(BPDC)作为有机配体溶于15 mL二甲基甲酰胺(DMF)和350  $\mu$ L三乙胺中,同时,将40 mg ZrCl<sub>4</sub>作为金属配体溶于12 mL DMF中,将两者混合,相溶后加入2.20 mL醋酸,放置在高压反应釜内,在85 °C条件下反应24 h,后取出离心,并分别用DMF、甲醇和乙醇洗涤两次,后将沉淀物溶于5 mL乙醇中,置于三口瓶内,取15 mg三(2,2'-联吡啶)二氯化钌溶于5 mL乙醇中,将此溶液加入三口瓶内,在90 °C下油浴搅拌过夜。次日取出溶液离心,后用DMF和乙醇各洗涤三次,放置于60 °C真空干燥箱内干燥24 h,获得Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67。

[0016] 实施例2 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67材料的制备步骤如下:

取50 mg 2-2联吡啶-5-5二羧酸(BPDC)作为有机配体溶于25 mL二甲基甲酰胺(DMF)和380  $\mu$ L三乙胺中,同时,将50 mg ZrCl<sub>4</sub>作为金属配体溶于18 mL DMF中,将两者混合,相溶后加入2.35 mL醋酸,放置在高压反应釜内,在85 °C条件下反应24 h,后取出离心,并分别用DMF、甲醇和乙醇洗涤两次,后将沉淀物溶于15 mL乙醇中,置于三口瓶内,取25 mg三(2,2'-联吡啶)二氯化钌溶于15 mL乙醇中,将此溶液加入三口瓶内,在90 °C下油浴搅拌过夜。次日取出溶液离心,后用DMF和乙醇各洗涤三次,放置于60 °C真空干燥箱内干燥24 h,获得Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67。

[0017] 实施例3 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67材料的制备步骤如下:

取45 mg 2-2联吡啶-5-5二羧酸(BPDC)作为有机配体溶于20 mL二甲基甲酰胺(DMF)和360  $\mu$ L三乙胺中,同时,将45 mg ZrCl<sub>4</sub>作为金属配体溶于16 mL DMF中,将两者混合,相溶

后加入2.25 mL醋酸,放置在高压反应釜内,在85 °C条件下反应24 h,后取出离心,并分别用DMF、甲醇和乙醇洗涤两次,后将沉淀物溶于10 mL乙醇中,置于三口瓶内,取20 mg三(2,2'-联吡啶)二氯化钌溶于10 mL乙醇中,将此溶液加入三口瓶内,在90 °C下油浴搅拌过夜。次日取出溶液离心,后用DMF和乙醇各洗涤三次,放置于60 °C真空干燥箱内干燥24 h,获得Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67。

[0018] 实施例4 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的二抗标记物MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备步骤如下:

(1) NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备

取0.5 g硝酸铬水合物溶解于10 mL去离子水中,再加入0.35 g 2-氨基对苯二甲酸,溶解后加入0.25 g氢氧化钠,搅拌5分钟使其混合均匀,转移至50 mL高压反应釜中,在150 °C下反应12 h,离心得绿色沉淀,用DMF洗涤未反应的2-氨基对苯二甲酸,放置于60 °C真空干燥箱中干燥12 h,得到MOF材料NH<sub>2</sub>-MIL-101;

(2) MoS<sub>2</sub> QDs的制备

MoS<sub>2</sub> QDs采用水热法进行制备:将0.30 g钼酸钠溶解于30 mL去离子水中,随后用0.1 mol L<sup>-1</sup>盐酸调节pH值为6.5;称取0.6 g L-半胱氨酸溶解于40 mL去离子水中。将上述溶液混合,超声10分钟,放入100 mL高压反应釜中,在200 °C下反应36 h,12000 rpm离心30分钟,收集淡黄色上清液,即为MoS<sub>2</sub> QDs;

(3) MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备

取22 mg制备好的NH<sub>2</sub>-MIL-101以及13 mL MoS<sub>2</sub> QDs,将其进行混合,超声使之均匀,放置于三口瓶内,在70 °C下油浴加热8 h,离心后用DMF和水分别洗涤三次,所得沉淀即为MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101。

[0019] 实施例5 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的二抗标记物MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备步骤如下:

(1) NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备

取0.8 g硝酸铬水合物溶解于15 mL去离子水中,再加入0.36 g 2-氨基对苯二甲酸,溶解后加入0.2 g氢氧化钠,搅拌5分钟使其混合均匀,转移至50 mL高压反应釜中,在150 °C下反应12 h,离心得绿色沉淀,用DMF洗涤未反应的2-氨基对苯二甲酸,放置于60 °C真空干燥箱中干燥12 h,得到MOF材料NH<sub>2</sub>-MIL-101;

(2) MoS<sub>2</sub> QDs的制备

MoS<sub>2</sub> QDs采用水热法进行制备:将0.25 g钼酸钠溶解于25 mL去离子水中,随后用0.1 mol L<sup>-1</sup>盐酸调节pH值为6.5;称取0.5 g L-半胱氨酸溶解于50 mL去离子水中。将上述溶液混合,超声10分钟,放入100 mL高压反应釜中,在200 °C下反应36 h,12000 rpm离心30分钟,收集淡黄色上清液,即为MoS<sub>2</sub> QDs;

(3) MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备

取20 mg制备好的NH<sub>2</sub>-MIL-101以及10 mL MoS<sub>2</sub> QDs,将其进行混合,超声使之均匀,放置于三口瓶内,在70 °C下油浴加热8 h,离心后用DMF和水分别洗涤三次,所得沉淀即为MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101。

[0020] 实施例6 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的二抗标记物MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备步骤如下:

(1) NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备

取0.7 g硝酸铬水合物溶解于13 mL去离子水中,再加入0.40 g 2-氨基对苯二甲酸,溶解后加入0.3 g氢氧化钠,搅拌5分钟使其混合均匀,转移至50 mL高压反应釜中,在150 °C下反应12 h,离心得绿色沉淀,用DMF洗涤未反应的2-氨基对苯二甲酸,放置于60 °C真空干燥箱中干燥12 h,得到MOF材料NH<sub>2</sub>-MIL-101;

(2) MoS<sub>2</sub> QDs的制备

MoS<sub>2</sub> QDs采用水热法进行制备:将0.27 g钼酸钠溶解于27 mL去离子水中,随后用0.1 mol L<sup>-1</sup>盐酸调节pH值为6.5;称取0.8 g L-半胱氨酸溶解于60 mL去离子水中。将上述溶液混合,超声10分钟,放入100 mL高压反应釜中,在200 °C下反应36 h,12000 rpm离心30分钟,收集淡黄色上清液,即为MoS<sub>2</sub> QDs;

(3) MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101的制备

取25 mg 制备好的NH<sub>2</sub>-MIL-101以及15 mL MoS<sub>2</sub> QDs,将其进行混合,超声使之均匀,放置于三口瓶内,在70 °C下油浴加热8 h,离心后用DMF和水分别洗涤三次,所得沉淀即为MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101。

## [0021] 实施例7 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的制备方法:

(1) 将玻碳电极用抛光粉打磨,再使用去离子水清洗,将电极置于5 mmol/L铁氰化钾溶液中,并在-0.2 ~ 0.6 V电位下进行扫描,使峰电位的差值小于110 mV;

(2) 将8 μL,2 mg/mL Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67纳米复合物溶液滴加在电极上,室温下干燥;

(3) 将8 μL,1 μg/mL β-淀粉样蛋白(Aβ)抗体滴加在电极上,室温下干燥之后,用PBS清洗,除去多余抗体,室温下干燥;

(4) 将3 μL,质量分数为1% BSA溶液滴加于电极上,用以封闭非特异性结合位点,干燥之后使用PBS洗去多余BSA,室温下干燥;

(5) 将8 μL,0.00001 ~ 50 ng mL<sup>-1</sup>一系列不同浓度的Aβ抗原标准溶液滴加于电极上,室温下干燥之后,用PBS清洗,除去多余抗原,室温下干燥;

(6) 将8 μL,5 mg/mL MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101标记的二抗滴加于电极上,室温下干燥之后,用PBS清洗,除去多余二抗,室温下干燥,制得一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器。

## [0022] 实施例8 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的制备方法:

(1) 将玻碳电极用抛光粉打磨,再使用去离子水清洗,将电极置于5 mmol/L铁氰化钾溶液中,并在-0.2 ~ 0.6 V电位下进行扫描,使峰电位的差值小于110 mV;

(2) 将8 μL,1 mg/mL Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67纳米复合物溶液滴加在电极上,室温下干燥;

(3) 将8 μL,1.5 μg/mL β-淀粉样蛋白(Aβ)抗体滴加在电极上,室温下干燥之后,用PBS清洗,除去多余抗体,室温下干燥;

(4) 将3 μL,质量分数为1.5% BSA溶液滴加于电极上,用以封闭非特异性结合位点,干燥之后使用PBS洗去多余BSA,室温下干燥;

(5) 将8 μL,0.00001 ~ 50 ng mL<sup>-1</sup>一系列不同浓度的Aβ抗原标准溶液滴加于电极上,室温下干燥之后,用PBS清洗,除去多余抗原,室温下干燥;

(6) 将8 μL,3 mg/mL MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101标记的二抗滴加于电极上,室温下干燥之后,用PBS清洗,除去多余二抗,室温下干燥,制得一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫

传感器。

[0023] 实施例9 一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的制备方法：

(1) 将玻碳电极用抛光粉打磨,再使用去离子水清洗,将电极置于5 mmol/L铁氰化钾溶液中,并在-0.2 ~ 0.6 V电位下进行扫描,使峰电位的差值小于110 mV;

(2) 将8 μL,3 mg/mL Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/UiO-67纳米复合物溶液滴加在电极上,室温下干燥;

(3) 将8 μL,2 μg/mL β-淀粉样蛋白(Aβ)抗体滴加在电极上,室温下干燥之后,用PBS清洗,除去多余抗体,室温下干燥;

(4) 将3 μL,质量分数为2% BSA溶液滴加于电极上,用以封闭非特异性结合位点,干燥之后使用PBS洗去多余BSA,室温下干燥;

(5) 将8 μL,0.00001 ~ 50 ng mL<sup>-1</sup>一系列不同浓度的Aβ抗原标准溶液滴加于电极上,室温下干燥之后,用PBS清洗,除去多余抗原,室温下干燥;

(6) 将8 μL,4 mg/mL MoS<sub>2</sub> QDs@NH<sub>2</sub>-MIL-101标记的二抗滴加于电极上,室温下干燥之后,用PBS清洗,除去多余二抗,室温下干燥,制得一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器。

[0024] 实施例10 Aβ的检验,步骤如下:

(1) 使用电化学工作站的三电极体系进行测试,Ag/AgCl电极作为参比电极,铂丝电极为对电极,所制备的电致化学发光免疫传感器为工作电极,将电化学工作站和化学发光检测仪连接在一起将光电倍增管的高压设置为600 V,循环伏安扫描电位范围为0 ~ 1.3 V,扫描速率为0.1 V/s;

(2) 在10 mL, pH 6.0 ~ 8.5的含浓度为1 mmol/L ~ 12 mmol/L三丙胺的PBS缓冲溶液中,通过电化学发光方法,检测对不同浓度的Aβ标准溶液产生的电化学发光信号强度,绘制工作曲线;

(3) 将待测Aβ样品溶液代替Aβ标准溶液进行测定;

(4) Aβ检测的线性范围是0.01 pg/mL ~ 50 ng/mL,检测限是3.12 fg/mL。

专利名称(译)	一种双MOFs材料猝灭型电致化学发光免疫传感器的制备方法及应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN108918856A</a>	公开(公告)日	2018-11-30
申请号	CN201810856759.8	申请日	2018-07-31
[标]申请(专利权)人(译)	济南大学		
申请(专利权)人(译)	济南大学		
当前申请(专利权)人(译)	济南大学		
[标]发明人	曹伟 东雪 李璇 房靖龙 苗俊聪 赵冠辉 魏琴		
发明人	曹伟 东雪 李璇 房靖龙 苗俊聪 赵冠辉 魏琴		
IPC分类号	G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531		
代理人(译)	高强		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">Sipo</a>		

**摘要(译)**

本发明涉及一种基于双金属-有机骨架复合物(MOF)猝灭型免疫传感器的制备及其应用，本发明属于新型功能材料与生物传感技术领域。具体是一种以MOF材料UiO-67复合Ru(bpy)32+(Ru(bpy)32+/UiO-67)作为电致化学发光传感平台，另一种MOF材料NH2-MIL-101负载MoS2量子点(MoS2 QDs@NH2-MIL-101)作为二抗标记物猝灭电致化学发光信号，以此构建夹心型电致化学发光免疫传感器，用于灵敏检测β-淀粉样蛋白(Aβ)。MOF材料具有大的比表面积，多孔且孔隙大小可调节，含有丰富的表面活性基团，可以承载更多的Ru(bpy)32+及MoS2，增加抗原抗体结合数量，显著提高传感器的稳定性和选择性，降低检出限，实现对生物分子的灵敏准确检测。