



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102072954 A

(43) 申请公布日 2011. 05. 25

(21) 申请号 201010524197. 0

(22) 申请日 2010. 10. 29

(71) 申请人 济南大学

地址 250022 山东省济南市济微路 106 号

(72) 发明人 于京华 张萌 万夫伟 颜梅

葛慎光 藏德进 戴平 高伟强

(51) Int. Cl.

G01N 33/532(2006. 01)

G01N 21/66(2006. 01)

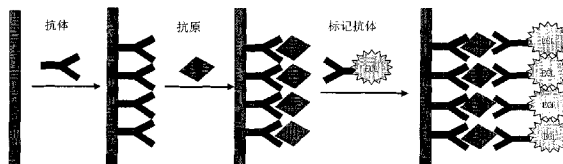
权利要求书 1 页 说明书 8 页 附图 1 页

## (54) 发明名称

检测肿瘤标志物的电致化学发光免疫传感器的研究及应用

## (57) 摘要

本发明公开了一种检测肿瘤标志物的电致化学发光免疫传感器的研究及应用的方法。电极制备方法(示意图见附图),包括以下步骤:选择临床发病率较高的肿瘤标志物进行测定;制备出量子点纳米材料溶液;利用电极表面修饰技术,将抗体修饰电极表面上,制作电致化学发光免疫传感器。一种检测肿瘤标志物的方法,包括如下步骤将修饰好的电极连接到电致化学发光仪,对样品中的肿瘤标志物进行检测。本发明的电极的特异性强,灵敏度高,可以达到 ng 级;完成一个基本检测过程所需时间较短;成本低。电极检测肿瘤标志物的方法,操作快速简单,反应及结果均由仪器自动完成和记录。



1. 一种检测肿瘤标志物的电致化学发光传感器的制备方法,其特征是包括以下步骤:
  - 1.1 选择临床发病率较高的肿瘤标志物进行测定;
  - 1.2 利用纳米材料,按照现有方法制备出纳米材料;
  - 1.3 制备出量子点材料溶液;
  - 1.4 利用组装表面修饰技术等,将抗体修饰电极表面上,制作电致化学发光免疫传感器。
2. 根据权利要求1所述电极制备方法,其特征是将特异性抗体修饰到免疫传感器电极表面并对肿瘤标志物进行测定包括以下步骤:
  - 2.1 将所用电极分别用去离子水、丙酮和乙醇超声波清洗,之后用高纯  $N_2$  吹干;
  - 2.2 将步骤2.1得到的电极浸入4% NaOH溶液中10-30min,然后用去离子水冲洗,在120°C下干燥1-2h;
  - 2.3 将特异性抗体(Ab)吸附到处理好的电极表面,4°C温育12-24h后洗涤除去未吸附的抗体,洗涤2-5次;
  - 2.4 将步骤2.3中的电极加入待测抗原(Ag)的样品中,37°C温育1-2h,洗涤2-5次;
  - 2.5 将步骤2.4中的电极浸泡在发光试剂标记的特异性抗体(Ab·E)中,37°C温育10-15min,洗涤2-5次;
  - 2.6 将修饰好的电极结合电致化学发光仪进行测定。
3. 根据权利要求1所述电极制备方法,其特征是所述使用工作电极可以为玻璃碳电极、ITO电极、金电极、铂电极。
4. 根据权利要求1所述电极制备方法,所述发光试剂为三氯联吡啶钌及其衍生物、鲁米诺及其衍生物、吖啶酯类、光泽精及量子点纳米材料。
5. 根据权利要求4所述的电极制备方法,所述肿瘤标志物为甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原、癌胚铁蛋白、胰癌胚抗原、细胞角蛋白、鳞癌相关抗原、前列腺特异性抗原(PSA)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(ALP)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、CEA、CA19-9、SCC、CA15-3、CA12-5、HCG、F-PSA、PAP、TMA、人绒毛膜促性腺激素(hCG)、儿茶酚胺类物质。
6. 一种快速检测肿瘤标志物的方法,其特征是包括如下、步骤:将按上述任意一种方法制得的电致化学发光免疫传感器配合电致化学发光仪,对肿瘤标志物进行检测。

## 检测肿瘤标志物的电致化学发光免疫传感器的研究及应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及肿瘤标志物检测技术领域,更具体地说是一种检测肿瘤标志物的电致化学发光免疫传感器的制备,本发明还涉及采用所述的电致化学发光免疫传感器进行诊断肿瘤标志物的方法。

### 背景技术

[0002] 肿瘤是人类健康的杀手。恶性肿瘤也称癌症,是当前严重威胁人类健康和生命的一类疾病,它是机体受各种内在或外在致癌因素作用下,局部组织的细胞在基因水平上失掉了对其自身生长的正常调控,导致不正常增生而形成的新生物。肿瘤的发生是一个长期的、多阶段的、多基因改变累积过程,具有多因素调节和多基因控制的复杂性。肿瘤发病率和死亡率的上升趋势直接威胁着人类健康,它的早期诊断和治疗是肿瘤防治研究的重要前言领域之一。

[0003] 恶性肿瘤在生长过程中变得越来越具有侵袭力的现象称为肿瘤的演进,其演变过程涉及肿瘤细胞之间及肿瘤与宿主之间一系列复杂的相互作用,包括肿瘤细胞的增值与凋亡,胞外基质的降解,肿瘤细胞-细胞、细胞-基质粘附力的改变,细胞的游走、移动,肿瘤血管生成,逃避宿主的免疫监视等,这些相互作用主要表现在细胞的无限增值、侵袭性和转移等特性。在肿瘤的生长过程中,由于附加基因的突变及其编码产物的异常会使肿瘤的亚克隆获得不同的特性,因而机体内环境的选择会使得肿瘤在生长过程中保留了应存活、生长、浸润转移的亚克隆并会导致肿瘤异质化的产生。因此,加强对肿瘤演进各个环节的分子基础和多基因作用的认识和研究势必为肿瘤疾病的治疗带来广阔的前景。

[0004] 免疫分析法是利用抗体与抗原特异性结合而建立的高选择性生物化学方法。用免疫细胞化学方法来检测和定位肿瘤细胞所特有的肿瘤标记,已经越来越引起广大肿瘤病理学工作者的兴趣。现在有许多免疫组织化学方法可用于组织细胞的定性和定量分析以及成分检测。目前,主要的免疫分析方法有电化学免疫分析、化学发光免疫分析、流动注射化学发光免疫分析、高效液相色谱化学发光免疫分析、毛细管电泳化学发光免疫分析、微流控芯片化学发光免疫分析等。但将其应用于免疫诊断中的主要有化学发光免疫分析法,电化学免疫分析法等,但是这些检测方法存在不足:

[0005] 1. 化学发光免疫分析法具有测定速度快、灵敏度高的特点,但选择性相对差一些。同一种肿瘤由于组织类型不同,也可有一种或几种肿瘤标志物,因此由检测出的某一特定肿瘤标志物来确定是哪种肿瘤疾病比较困难。

[0006] 2. 电化学免疫分析法具有方便快速的特点,并且由于电位可控,提高了选择性,可以对不同的肿瘤标志物做出诊断,并应用于肿瘤的治疗,但灵敏度相对低一些。

[0007] 基于上述检测方法的缺点,本发明建立了一种高灵敏度、高选择性、方便、快捷的电致化学发光免疫分析方法。

## 发明内容

[0008] 本发明要解决的技术问题是提供了一种检测速度快、灵敏度高、选择性高,试剂用量少,检测肿瘤标志物的电致化学发光免疫传感器的制备及检测方法。

[0009] 为了解决上述技术问题,本发明是通过以下措施来实现的:一种检测肿瘤标志物的电致化学发光免疫传感器的制备方法,其特征是包括以下步骤:

[0010] (1) 选择临床发病率较高的肿瘤标志物进行测定;

[0011] (2) 制备出量子点纳米材料溶液;

[0012] (3) 利用组装表面修饰技术等,将抗体修饰电极表面上,制作电致化学发光免疫传感器。

[0013] 本发明所述抗体修饰到免疫传感器表面并对肿瘤标志物进行测定包括以下步骤:

[0014] (1) 将所用电极分别用去离子水、丙酮和乙醇超声波清洗,之后用高纯  $N_2$  吹干;

[0015] (2) 将步骤 (1) 得到的电极浸入 4% NaOH 溶液中 10-30min,然后用去离子水冲洗,在 120°C 下干燥 1-2h;

[0016] (3) 将特异性抗体 (Ab) 吸附到处理好的电极表面,4°C 温育 12-24h 后洗涤除去未吸附的抗体,洗涤 2-5 次;

[0017] (4) 将步骤 (3) 中的电极加入待测抗原 (Ag) 的样品中,37°C 温育 1-2h,洗涤 2-5 次;

[0018] (5) 将步骤 (4) 中的电极浸泡在发光试剂标记的特异性抗体 (Ab·E) 中,37°C 温育 10-15min,洗涤 2-5 次;

[0019] (6) 将修饰好的电极结合电致化学发光仪进行测定。

[0020] 本发明所述使用工作电极可以为玻璃碳电极、ITO 电极、金电极、铂电极。

[0021] 本发明所述发光试剂为三氯联吡啶钌及其衍生物、鲁米诺及其衍生物、吖啶酯类、光泽精及量子点纳米材料。

[0022] 本发明所述肿瘤标志物为甲胎蛋白 (AFP)、癌胚抗原、癌胚铁蛋白、胰癌胚抗原、细胞角蛋白、鳞癌相关抗原、前列腺特异性抗原 (PSA)、酸性磷酸酶 (ACP)、碱性磷酸酶 (ALP)、神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、CEA、CA19-9、SCC、CA15-3、CA12-5、HCG、F-PSA、PAP、TMA、人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、儿茶酚胺类物质。

[0023] 一种快速检测肿瘤标志物的方法,其特征是包括如下步骤:将按上述任意一种方法制得的电致化学发光免疫传感器配合电致化学发光仪,对肿瘤标志物进行检测。

[0024] 本发明的有益效果:

[0025] 1. 肿瘤标志物电致化学发光免疫传感器的制备方法,将抗体修饰到电极表面制备电致化学发光免疫传感器,采用三氯联吡啶钌、鲁米诺、吖啶酯、光泽精及量子点纳米材料作为发光试剂,使得所制备的肿瘤标志物电致化学发光免疫传感器具有更高的灵敏性和选择性。

[0026] 2. 将表面修饰技术应用到电致化学发光免疫传感器的制备当中,使得发光试剂增效的肿瘤标志物电致化学发光免疫传感器的制备具有可控性,提高了电致化学发光免疫传感器的灵敏度和准确性。

[0027] 3. 本发明的电致化学发光免疫传感器的特异性强,由于将抗体修饰到电极上,并对抗原进行特异性识别,样品中其它非特异性分子对检测结果无影响;灵敏度高,可以达到

ng 级 ; 试剂用量少, 检测一个样品只需要几十微升试剂 ; 成本低。

[0028] 4. 电致化学发光免疫传感器检测肿瘤标志物的方法, 灵敏度高、重现性好、电极寿命长、抗干扰能力强, 操作快速简单, 反应及结果均由仪器自动完成和记录, 避免了主观因素的影响, 并保证有很好的重复性, 便于现场检测。

#### 附图说明

[0029] 下面结合附图和具体实施例对本发明做进一步详细描述。

[0030] 附图为抗体修饰到电极表面制备电致化学发光免疫传感器并对肿瘤标志物进行检测的过程示意图。

#### 具体实施方式

[0031] 一种检测肿瘤标志物的电致化学发光免疫传感器制备方法, 其特征是包括以下步骤:

[0032] (1) 选择临床发病率较高的肿瘤标志物进行测定;

[0033] (2) 制备出量子点纳米材料溶液;

[0034] (3) 利用组装表面修饰技术等, 将抗体修饰电极表面上, 制作电致化学发光免疫传感器。

[0035] 本发明所述抗体修饰到免疫传感器表面并对肿瘤标志物进行测定包括以下步骤:

[0036] (1) 将所用电极分别用去离子水、丙酮和乙醇超声波清洗, 之后用高纯  $N_2$  吹干;

[0037] (2) 将步骤 (1) 得到的电极浸入 4% NaOH 溶液中 10-30min, 然后用去离子水冲洗, 在 120°C 下干燥 1-2h;

[0038] (3) 将特异性抗体 (Ab) 吸附到处理好的电极表面, 4°C 温育 12-24h 后洗涤除去未吸附的抗体, 洗涤 2-5 次;

[0039] (4) 将步骤 (3) 中的电极加入待测抗原 (Ag) 的样品中, 37°C 温育 1-2h, 洗涤 2-5 次;

[0040] (5) 将步骤 (4) 中的电极浸泡在发光试剂标记的特异性抗体 (Ab • E) 中, 37°C 温育 10-15min, 洗涤 2-5 次;

[0041] (6) 将修饰好的电极结合电致化学发光仪进行测定。

[0042] 本发明所述使用工作电极可以为玻璃碳电极、ITO 电极、金电极、铂电极。

[0043] 本发明所述发光试剂为三氯联吡啶钌及其衍生物、鲁米诺及其衍生物、吖啶酯类、光泽精及量子点纳米材料。

[0044] 本发明所述肿瘤标志物为甲胎蛋白 (AFP)、癌胚抗原、癌胚铁蛋白、胰癌胚抗原、细胞角蛋白、鳞癌相关抗原、前列腺特异性抗原 (PSA)、酸性磷酸酶 (ACP)、碱性磷酸酶 (ALP)、神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、CEA、CA19-9、SCC、CA15-3、CA12-5、HCG、F-PSA、PAP、TMA、人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、儿茶酚胺类物质。

[0045] 一种快速检测肿瘤标志物的方法, 其特征是包括如下步骤: 将按上述任意一种方法制得的电致化学发光免疫传感器配合电致化学发光仪, 对肿瘤标志物进行检测。

[0046] 实施例 1 ( 胚胎抗原类, 如甲胎蛋白 )

[0047] 一种检测甲胎蛋白的电致化学发光免疫传感器制备方法,包括以下步骤:

[0048] (1) 选择临床发病较高的甲胎蛋白进行测定;

[0049] (2) 利用组装技术,将甲胎蛋白抗体修饰到电极表面,制作电致化学发光免疫传感器;

[0050] (3) 工作电极选用 ITO 电极,将电极分别用去离子水、丙酮和乙醇超声波清洗,之后用高纯 N<sub>2</sub> 吹干;

[0051] (4) 将处理好的电极浸入 4% NaOH 溶液中 10min,然后用去离子水冲洗,在 120℃ 下干燥 2h;

[0052] (5) CdTe 量子点溶液制备:在 N<sub>2</sub> 保护下,将现制得 NaHTe 为 Te 前驱体,与 CdCl<sub>2</sub> 反应,巯基乙酸作为稳定剂的条件下,制得水溶性 CdTe 量子点溶液;

[0053] (6) 取制备好的 CdTe 溶液 20 μl,超声 20min,得到均匀分散的 CdTe 量子点溶液;

[0054] (7) 将甲胎蛋白抗体吸附到处理好的电极表面,4℃温育 24h 后洗涤除去未吸附的甲胎蛋白抗体,洗涤 3 次;

[0055] (8) 将处理好的电极加入甲胎蛋白抗原样品中,37℃温育 1h,洗涤 3 次;

[0056] (9) 将上述处理好的电极浸泡在 CdTe 量子点标记的特异性甲胎蛋白抗体中,37℃温育 15min,洗涤 3 次。

[0057] 将制得甲胎蛋白电致化学发光免疫传感器配合电致化学发光仪,对人体、动物血清样品中的甲胎蛋白进行检测,结果见表 1。利用现有的方法,制备甲胎蛋白电化学免疫传感器,连接电化学工作站,对人体、动物血清样品提取液中的甲胎蛋白进行实际检测,结果见表 1。

[0058] 表 1 本发明甲胎蛋白电致化学发光免疫传感器与甲胎蛋白电化学免疫传感器检测效果对比

[0059]

肿瘤标志物	传感器类型	实际样品检测	
		线性范围(mol/L)	最低检测限(mol/L)
甲胎蛋白	电致化学发光 免疫传感器	$0.1 \times 10^{-11} \sim 1.5 \times 10^{-10}$	$0.3 \times 10^{-12}$
	电化学免疫传感器	$0.8 \times 10^{-10} \sim 2.4 \times 10^{-10}$	$0.2 \times 10^{-10}$

[0060] 从表 1 中结果可以看出:甲胎蛋白电致化学发光免疫传感器比甲胎蛋白电化学免疫传感器具有更宽的线性范围、更高的灵敏度和更低的检测限。

[0061] 实施例 2(糖类标志物,如 CA19-9)

[0062] 一种检测 CA 19-9 的电致化学发光免疫传感器制备方法,包括以下步骤:

[0063] (1) 选择临床发病较高的 CA19-9 进行测定;

[0064] (2) 利用组装技术,将 CA19-9 抗体修饰到电极表面,制作电致化学发光免疫传感器;

[0065] (3) 工作电极选用 ITO 电极,将电极分别用去离子水、丙酮和乙醇超声波清洗,之后用高纯 N<sub>2</sub> 吹干;

[0066] (4) 将处理好的电极浸入 4% NaOH 溶液中 10min,然后用去离子水冲洗,在 120C 下

干燥 1h；

[0067] (5) CdTe 量子点溶液制备：在  $N_2$  保护下，将现制得 NaHTe 为 Te 前驱体，与  $CdCl_2$  反应，巯基乙酸作为稳定剂的条件下，制得水溶性 CdTe 量子点溶液；

[0068] (6) 取制备好的 CdTe 溶液  $20 \mu l$ ，超声 20min，得到均匀分散的 CdTe 量子点溶液；

[0069] (7) 将 CA19-9 抗体吸附到处理好的电极表面， $4^\circ C$  温育 12h 后洗涤除去未吸附的 CA19-9 抗体，洗涤 3 次；

[0070] (8) 将处理好的电极加入 CA19-9 抗原样品中， $37^\circ C$  温育 1h，洗涤 3 次；

[0071] (9) 将上述处理好的电极浸泡在 CdTe 量子点标记的 CA19-9 抗体中， $37^\circ C$  温育 15min，洗涤 3 次。

[0072] 将制得 CA19-9 电致化学发光免疫传感器配合电致化学发光仪，对人体、动物血清样品中的 CA19-9 进行检测，结果见表 2。利用现有的方法，制备 CA19-9 电化学免疫传感器，连接电化学工作站，对人体、动物血清样品提取液中的 CA19-9 进行实际检测，结果见表 2。

[0073] 表 2 本发明 CA19-9 电致化学发光免疫传感器与 CA19-9 电化学免疫传感器检测效果对比

[0074]

肿瘤标志物	传感器类型	实际样品检测	
		线性范围(mol/L)	最低检测限(mol/L)
CA19-9	电致化学发光 免疫传感器	$0.5 \times 10^{-12} \sim 3.8 \times 10^{-11}$	$0.1 \times 10^{-11}$
	电化学免疫传感器	$2.6 \times 10^{-11} \sim 2.0 \times 10^{-10}$	$0.8 \times 10^{-11}$

[0075] 从表 2 中结果可以看出：CA19-9 电致化学发光免疫传感器比 CA19-9 电化学免疫传感器具有更宽的线性范围、更高的灵敏度和更低的检测限。

[0076] 实施例 3 (蛋白质类, 如细胞角蛋白)

[0077] 一种检测细胞角蛋白的电致化学发光免疫传感器制备方法, 包括以下步骤：

[0078] (1) 选择临床发病较高的细胞角蛋白进行测定；

[0079] (2) 利用组装技术, 将细胞角蛋白抗体修饰到电极表面, 制作电致化学发光免疫传感器；

[0080] (3) 工作电极选用 ITO 电极, 将电极分别用去离子水、丙酮和乙醇超声波清洗, 之后用高纯  $N_2$  吹干；

[0081] (4) 将处理好的电极浸入 4% NaOH 溶液中 10min, 然后用去离子水冲洗, 在  $120^\circ C$  下干燥 2h；

[0082] (5) CdTe 量子点溶液制备：在  $N_2$  保护下，将现制得 NaHTe 为 Te 前驱体，与  $CdCl_2$  反应，巯基乙酸作为稳定剂的条件下，制得水溶性 CdTe 量子点溶液；

[0083] (6) 取制备好的 CdTe 溶液  $20 \mu l$ ，超声 20min，得到均匀分散的 CdTe 量子点溶液；

[0084] (7) 将细胞角蛋白抗体吸附到处理好的电极表面， $4^\circ C$  温育 20h 后洗涤除去未吸附的细胞角蛋白抗体，洗涤 4 次；

[0085] (8) 将处理好的电极加入细胞角蛋白抗原样品中， $37^\circ C$  温育 1h，洗涤 4 次；

[0086] (9) 将上述处理好的电极浸泡在 CdTe 量子点标记的细胞角蛋白抗体中， $37^\circ C$  温育

15min, 洗涤 4 次。

[0087] 将制得细胞角蛋白电致化学发光免疫传感器配合电致化学发光仪, 对人体、动物血清样品中的细胞角蛋白进行检测, 结果见表 3。利用现有的方法, 制备细胞角蛋白电致化学发光免疫传感器, 连接电化学工作站, 对人体、动物血清样品提取液中的细胞角蛋白进行实际检测, 结果见表 3。

[0088] 表 3 本发明细胞角蛋白电致化学发光免疫传感器与细胞角蛋白电致化学免疫传感器检测效果对比

[0089]

肿瘤标志物	传感器类型	实际样品检测	
		线性范围(mol/L)	最低检测限(mol/L)
细胞角蛋白	电致化学发光 免疫传感器	$1.2 \times 10^{-11} \sim 7.5 \times 10^{-11}$	$0.3 \times 10^{-11}$
	电致化学免疫传感器	$2.6 \times 10^{-11} \sim 3.0 \times 10^{-10}$	$0.9 \times 10^{-11}$

[0090] 从表 3 中结果可以看出: 细胞角蛋白电致化学发光免疫传感器比细胞角蛋白电致化学免疫传感器具有更宽的线性范围、更高的灵敏度和更低的检测限。

[0091] 实施例 4 (酶类, 如酸性磷酸酶)

[0092] 一种检测酸性磷酸酶的电致化学发光免疫传感器制备方法, 包括以下步骤:

[0093] (1) 选择临床发病较高的酸性磷酸酶进行测定;

[0094] (2) 利用组装技术, 将酸性磷酸酶抗体修饰到电极表面, 制作电致化学发光免疫传感器;

[0095] (3) 工作电极选用 ITO 电极, 将电极分别用去离子水、丙酮和乙醇超声波清洗, 之后用高纯  $N_2$  吹干;

[0096] (4) 将处理好的电极浸入 4% NaOH 溶液中 10min, 然后用去离子水冲洗, 在  $120^\circ\text{C}$  下干燥 2h;

[0097] (5) CdTe 量子点溶液制备: 在  $N_2$  保护下, 将现制得 NaHTe 为 Te 前驱体, 与  $CdCl_2$  反应, 巯基乙酸作为稳定剂的条件下, 制得水溶性 CdTe 量子点溶液;

[0098] (6) 取制备好的 CdTe 溶液  $20 \mu\text{l}$ , 超声 20min, 得到均匀分散的 CdTe 量子点溶液;

[0099] (7) 将酸性磷酸酶抗体吸附到处理好的电极表面,  $4^\circ\text{C}$  温育 18h 后洗涤除去未吸附的酸性磷酸酶抗体, 洗涤 2 次;

[0100] (8) 将处理好的电极加入酸性磷酸酶抗原样品中,  $37^\circ\text{C}$  温育 2h, 洗涤 2 次;

[0101] (9) 将上述处理好的电极浸泡在 CdTe 量子点标记的酸性磷酸酶抗体中,  $37^\circ\text{C}$  温育 15min, 洗涤 2 次。

[0102] 将制得酸性磷酸酶电致化学发光免疫传感器配合电致化学发光仪, 对人体、动物血清样品中的酸性磷酸酶进行检测, 结果见表 4。利用现有的方法, 制备酸性磷酸酶电致化学发光免疫传感器, 连接电化学工作站, 对人体、动物血清样品提取液中的酸性磷酸酶进行实际检测, 结果见表 4。

[0103] 表 4 本发明酸性磷酸酶电致化学发光免疫传感器与酸性磷酸酶电致化学免疫传感器检测效果对比

[0104]

肿瘤标志物	传感器类型	实际样品检测	
		线性范围(mol/L)	最低检测限(mol/L)
酸性磷酸酶	电致化学发光 免疫传感器	$1.0 \times 10^{-12} \sim 4.5 \times 10^{-11}$	$0.4 \times 10^{-12}$
	电化学免疫传感器	$0.8 \times 10^{-10} \sim 3.0 \times 10^{-10}$	$0.3 \times 10^{-10}$

[0105] 从表 4 中结果可以看出 ;酸性磷酸酶电致化学发光免疫传感器比酸性磷酸酶电化学免疫传感器具有更宽的线性范围、更高的灵敏度和更低的检测限。

[0106] 实施例 5 ( 激素类, 如人绒毛膜促性腺激素 (hCG) )

[0107] 一种检测人绒毛膜促性腺激素的电致化学发光免疫传感器制备方法, 包括以下步骤 :

[0108] (1) 选择临床发病较高的人绒毛膜促性腺激素进行测定 ;

[0109] (2) 利用组装技术, 将人绒毛膜促性腺激素抗体修饰到电极表面, 制作电致化学发光免疫传感器 ;

[0110] (3) 工作电极选 ITO 电极, 将电极分别用去离子水、丙酮和乙醇超声波清洗, 之后用高纯  $N_2$  吹干 ;

[0111] (4) 将处理好的电极浸入 4% NaOH 溶液中 10min, 然后用去离子水冲洗, 在  $120^\circ C$  下干燥 2h ;

[0112] (5) CdTe 量子点溶液制备 : 在  $N_2$  保护下, 将现制得 NaHTe 为 Te 前驱体, 与  $CdCl_2$  反应, 巯基乙酸作为稳定剂的条件下, 制得水溶性 CdTe 量子点溶液 ;

[0113] (6) 取制备好的 CdTe 溶液  $20 \mu l$ , 超声 20min, 得到均匀分散的 CdTe 量子点溶液 ;

[0114] (7) 将人绒毛膜促性腺激素抗体吸附到处理好的电极表面,  $4^\circ C$  温育 24h 后洗涤除去未吸附的人绒毛膜促性腺激素抗体, 洗涤 5 次 ;

[0115] (8) 将处理好的电极加入人绒毛膜促性腺激素抗原样品中,  $37^\circ C$  温育 2h, 洗涤 5 次 ;

[0116] (9) 将上述处理好的电极浸泡在 CdTe 量子点标记的人绒毛膜促性腺激素抗体中,  $37^\circ C$  温育 15min, 洗涤 5 次。

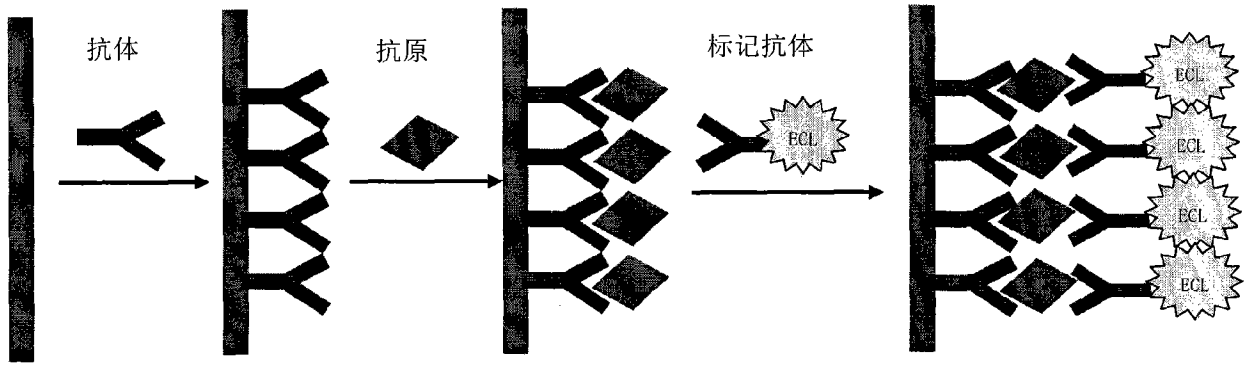
[0117] 将制得人绒毛膜促性腺激素电致化学发光免疫传感器配合电致化学发光仪, 对人体、动物血清样品中的人绒毛膜促性腺激素进行检测, 结果见表 5。利用现有的方法, 制备人绒毛膜促性腺激素电化学免疫传感器, 连接电化学工作站, 对人体、动物血清样品提取液中的人绒毛膜促性腺激素进行实际检测, 结果见表 4。

[0118] 表 5 本发明人绒毛膜促性腺激素电致化学发光免疫传感器与人绒毛膜促性腺激素电化学免疫传感器检测效果对比

[0119]

肿瘤标志物	传感器类型	实际样品检测	
		线性范围(mol/L)	最低检测限(mol/L)
人绒毛膜促性腺激素	电致化学发光免疫传感器	$0.5 \times 10^{-12} \sim 2.5 \times 10^{-11}$	$0.2 \times 10^{-12}$
	电化学免疫传感器	$1.0 \times 10^{-10} \sim 4.0 \times 10^{-10}$	$0.4 \times 10^{-10}$

[0120] 从表 5 中结果可以看出：人绒毛膜促性腺激素电致化学发光免疫传感器比人绒毛膜促性腺激素电化学免疫传感器具有更宽的线性范围、更高的灵敏度和更低的检测限。



专利名称(译)	检测肿瘤标志物的电致化学发光免疫传感器的研究及应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN102072954A</a>	公开(公告)日	2011-05-25
申请号	CN201010524197.0	申请日	2010-10-29
[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	于京华 张萌 万夫伟 颜梅 葛慎光 藏德进 戴平 高伟强		
发明人	于京华 张萌 万夫伟 颜梅 葛慎光 藏德进 戴平 高伟强		
IPC分类号	G01N33/532 G01N21/66		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了一种检测肿瘤标志物的电致化学发光免疫传感器的研究及应用的方法。电极制备方法(示意图见附图),包括以下步骤:选择临床发病率较高的肿瘤标志物进行测定;制备出量子点纳米材料溶液;利用电极表面修饰技术,将抗体修饰电极表面上,制作电致化学发光免疫传感器。一种检测肿瘤标志物的方法,包括如下步骤将修饰好的电极连接到电致化学发光仪,对样品中的肿瘤标志物进行检测。本发明的电极的特异性强,灵敏度高,可以达到ng级;完成一个基本检测过程所需时间较短;成本低。电极检测肿瘤标志物的方法,操作快速简单,反应及结果均由仪器自动完成和记录。

