



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109813773 A

(43)申请公布日 2019.05.28

(21)申请号 201910161493.X

G01N 33/531(2006.01)

(22)申请日 2019.03.04

(71)申请人 福建师范大学

地址 350108 福建省福州市闽侯县上街镇
学园路福建师大旗山校区福建师大科
研处

(72)发明人 戴宏 陈妍洁 王佳妮 高利红
衣欢 宋建榕 郑祥钦 韩晴

(74)专利代理机构 福州智理专利代理有限公司
35208

代理人 王义星

(51)Int.Cl.

G01N 27/26(2006.01)

G01N 27/30(2006.01)

G01N 27/327(2006.01)

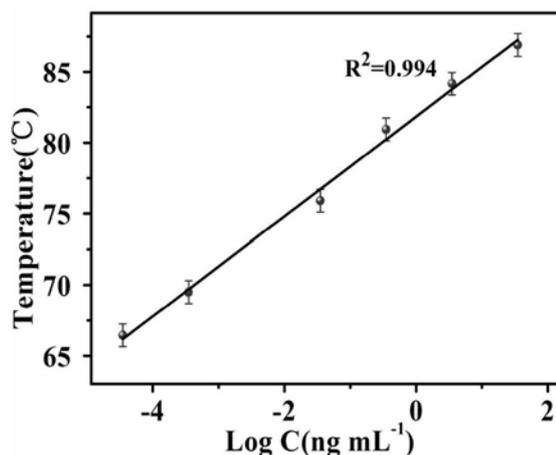
权利要求书2页 说明书5页 附图2页

(54)发明名称

一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的唾液酸生物传感器的制备与应用

(57)摘要

本发明公开一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的唾液酸生物传感器的制备与应用。该传感器利用富勒烯(C₆₀)和金锥两种纳米材料作为传感器的基底,利用Au-S键的键合作用固定巯基苯硼酸(MPBA)分子,使其捕获大量的唾液酸(SA)分子。利用间四苯酚掺杂的聚合物点(TPP-pdot)功能化的扇形金红石型的二氧化钛(R-TiO₂)标记的抗体作为探针分子,既具有优异的光电流响应又有良好的温度响应,得到一种双信号读出模式。基于以上优点,构制了一种双信号响应的生物传感器,实现了对唾液酸的高灵敏检测,该传感器相比于传统的单信号读出的传感器,准确度更高,稳定性更好,很大程度上避免了检测结果的假阳性或者假阴性。



1. 一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的唾液酸生物传感器的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 在湿润的麂皮上依次用50纳米和30纳米的氧化铝粉末对玻碳电极(GCE)进行机械打磨抛光,直至电极表面光亮洁净,用去离子水冲洗电极表面残余的氧化铝粉末,最后用无水乙醇和二次去离子水进行彻底清洗;

(2) 滴加3 μ L浓度为3mg/mL的富勒烯(C₆₀)溶液至抛光干净的玻碳电极表面,放至红外灯箱内烘干后取出,室温下冷却,制得C₆₀修饰得玻碳电极;

(3) 滴加3 μ L浓度为3mg/mL的金纳米(Au)溶液于步骤(2)所制得的电极表面,放至红外灯箱内烘干,冷却至室温,制得Au/C₆₀修饰的玻碳电极;

(4) 滴加3 μ L浓度为5.0mM的巯基苯硼酸(MBPA)溶液至步骤(3)所制得的电极表面,室温下反应40min后用二次去离子水进行冲洗,除去电极表面的物理吸附,晾干备用,制得MBPA/Au/C₆₀修饰的玻碳电极;

(5) 滴加3 μ L不同浓度的唾液酸(SA)标准溶液至步骤(4)所获得的电极表面,于4°C冰箱中孵育40 min,反应完成后用二次去离子水冲洗除去多余的SA分子,晾干,得到SA/MBPA/Au/C₆₀修饰的玻碳电极,并保存在4°C冰箱中;

(6) 取3 μ L 浓度为 1.0 wt.% 的BSA 滴加到步骤 (5) 所制得的修饰电极表面并在4°C冰箱中孵育40 min, 来封闭电极表面上非特异性活性位点,用去离子水冲洗电极表面洗去物理吸附,并保存在4°C冰箱中;

(7) 最后滴加3 μ L浓度5mg/mL的聚合物点功能化的扇形金红型的二氧化钛标记的二抗溶液(R-TiO₂@TPP-Pdot @Ab₂)于步骤(6)所制得的电极表面,免疫识别40min后,用二次去离子水冲洗;晾干,制得R-TiO₂@TPP-Pdot @Ab₂/SA/MBPA/Au/C₆₀修饰的玻碳电极为待测电极。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,

(1) 扇形金红石型的二氧化钛(R-TiO₂)由下述的方法制备:1g 十二烷基苯磺酸钠(SDBS)溶解于50 mL 2.2 mol/L HNO₃溶液,在漩涡混合器上振荡混匀数十分钟后加入1 mL 钛酸异丙酯(TIP),然后在48 °C 的条件将上述的混合物下持续振荡24h,用去离子水和乙醇对反应后的混合物进行多次冲洗,经离心、60°C干燥处理后在400 °C下煅烧1h,以去除产物中残留的有机物成分,得到最终产物;将所得产物均匀分散在1 mL去离子水中(将所得R-TiO₂溶液放置在4°C冰箱中,储存备用);

(2) 间四苯酚掺杂的聚合物点(TPP-pdot)由下述的方法制备:将聚合物(PFBT),功能聚合物共马来酸酐(PSMA)和增敏剂间四苯酚(TPP)分别溶解在四氢呋喃(THF)中,超声使其分散均匀,混合上述三种溶液,在混合液中,PFBT的浓度为200 μ g/mL,PSMA的浓度为40 μ g/mL,TPP的浓度为10 μ g/mL;随后将获得的混合溶液超声20min,形成均匀分散的溶液;在水浴超声条件下,将4 mL的上述混合物迅速加入到20 mL的去离子水中,用氮气吹扫溶液中的THF溶剂分子,最后将混合物在55°C条件下旋转蒸发,来充分去除残余的THF分子,得到黄色透明的液体;

(3) 聚合物点功能化的扇形金红石性二氧化钛标记的二抗溶液(R-TiO₂@TPP-Pdot @Ab₂)由下述方法制备:1)0.5 mL浓度为5 mg/mL的步骤(1)制得的R-TiO₂溶液和0.5 mL浓度为5 mg/mL的步骤(2)所制得的TPP-pdot在室温下混合振荡4h,离心洗涤数次得到R-TiO₂@TPP-Pdot复合物溶液,将其重新分散在二次去离水中;2)取体积比为2:1的1-乙基-(3-二甲

基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺钠盐(NHS)的混合溶液50 μ L加入到200 μ L的上述复合物溶液中,反应30min,聚合物点上的羧基被活化;3) 200 μ L的唾液酸抗体加入到步骤2)中所得溶液中,利用酰胺键的作用,反应40min后得到被功能化的探针分子,离心洗涤数次后重新分散在pH等于7.4的磷酸缓冲溶液中,制得R-TiO₂@TPP-Pdot @Ab₂的探针溶液,放至4 $^{\circ}$ C的冰箱冷藏备用。

3. 权利要求1-2任一所述的方法制备的一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的生物传感器。

4. 权利要求3所述的基于聚合物点的光电和温度双信号响应的免疫传感器,其特征在于,用于唾液酸(SA)检测,检测步骤如下:

(1) 使用电化学工作站采用三电极体系进行测定,以权利要求5所述的一种基于聚合物点的具有光电和温度双信号响应的修饰电极为工作电极,Ag/AgCl为参比电极,铂丝电极为辅助电极,选用的电化学方法是时间电流法,在0.1 mol/mL pH 7.4的 PBS缓冲溶液中进行测试;

(2) 在电流时间方法中,初始电位0.5V,采样间隔为0.1s,运行时间为400 s,静止时间为1s,电流灵敏度为1 μ A,初始频率为100000Hz,终止频率为0.1 Hz,对不同浓度的唾液酸(SA)标准溶液进行检测,通过电化学工作站来采集电流信息数据;通过光电流值与唾液酸(SA)标准溶液浓度之间的关系,绘制工作曲线1;用808nm的激光照射发生免疫识别后的工作电极,同时用红外测温仪实时记录温度变化,根据电极表面的温度与唾液酸(SA)标准溶液浓度之间建立标准工作曲线2;

(3) 待测样品溶液代替唾液酸(SA)标准溶液进行检测,检测的结果可由绘制出的标准工作曲线1和查2得。

一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的唾液酸生物传感器的制备与应用

技术领域

[0001] 本发明属于新型纳米材料制备与应用和生物免疫传感检测领域,具体设计了一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的生物传感器用于高灵敏检测唾液酸分子。

背景技术

[0002] 唾液酸分子(sialic acid, SA),是一种广泛存在于人体各种组织细胞的乙酰化的衍生物,与生物体的各种生物功能相关,参与生物体的多种生理过程。研究表明,人体血清内SA含量的升高与肿瘤的发展有着密切的关系,因此发展一种灵敏的实用性高的检测方法实现对血清中SA的检测对相关疾病的早期筛查和检测都有重要的意义。到目前为止,已经有一系列方法都可以用于SA含量的检测,比如:荧光分析、质谱分析、高效液相色谱等。但这些检测方法都需要昂贵的检测仪器,复杂的操作流程和繁冗的前期准备,因此很大程度上限制了其应用和发展。因此发展一种简单、快速、操作简单且准确度高,检测限低的SA的检测方法对临床医疗检测方面有着非常重大的现实意义。

[0003] 光电化学(PEC)传感器是近年来新出现并迅速发展的一种分析方法,是基于光敏材料的光电转换性能来确定待测物质含量的一类传感器。其基本的检测原理是:在一定波长的光照下,光敏材料经由电子激发及电荷转移而产生电信号,待测物质经过物理或化学作用而导致的相应电信号的改变,从而达到目标分析物的测定。由于检测信号-电信号和背景信号-光信号的完全分离,使得光电传感器的背景信号值大大减小,因此相比于传统的电化学传感器,光电传感器的灵敏度更高,检测限更低。除此之外,光电传感器还具有操作简便、易于小型化、可连续快速、自动化检测分析等优点,近年来在医疗检测,环境监测和食品安全等领域,PEC传感器都展现出独一无二的分析优势和广阔的应用前景。

[0004] 光热传感器是一种新兴的可用于生物分子灵敏检测的分析方法,是基于光热材料(比如普鲁士蓝,碳材料和金纳米材料等)的光热转换特性来确定待测分子含量的一类传感器。在红外光或者近红外光的照射下,光热材料会将光信号转换成温度信号,待测物量的改变引起温度信号的变化,据此可以实现对待测物的定量检测。检测信号的易读出和红外光的能量小对生物分子损伤小是光热传感器的两大优势,因此,光热传感器是一种便携式的,经济的,实用性强的分析检测工具。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的生物传感器及其制备方法和应用。

[0006] 为实现发明目的,本发明采用如下技术方案:

1. 一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的生物传感器的制备方法与应用,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 在湿润的麂皮上依次用50纳米和30纳米的氧化铝粉末对玻碳电极(GCE)进行机械

打磨抛光,直至电极表面光亮洁净,用去离子水冲洗电极表面残余的氧化铝粉末,最后用无水乙醇和二次去离子水进行彻底清洗;

(2) 滴加3 μ L浓度为3mg/mL的富勒烯(C₆₀)溶液至抛光干净的玻碳电极表面,放至红外灯箱内烘干后取出,室温下冷却,制得C₆₀修饰得玻碳电极;

(3) 滴加3 μ L浓度为3mg/mL的金纳米(Au)溶液于步骤(2)所制得的电极表面,放至红外灯箱内烘干,冷却至室温,制得Au/C₆₀修饰的玻碳电极;

(4) 滴加3 μ L浓度为5.0mM的巯基苯硼酸(MPBA)溶液至步骤(3)所制得的电极表面,室温下反应40min后用二次去离子水进行冲洗,除去电极表面的物理吸附,晾干备用,制得MBPA/Au/C₆₀修饰的玻碳电极;

(5) 滴加3 μ L不同浓度的唾液酸(SA)标准溶液至步骤(4)所获得的电极表面,于4 $^{\circ}$ C冰箱中孵育40 min,反应完成后用二次去离子水冲洗除去多余的SA分子,晾干,得到SA/MBPA/Au/C₆₀修饰的玻碳电极,并保存在4 $^{\circ}$ C冰箱中;

(6) 取3 μ L 浓度为 1.0 wt.% 的BSA 滴加到步骤 (5) 所制得的修饰电极表面并在4 $^{\circ}$ C冰箱中孵育40 min, 来封闭电极表面上非特异性活性位点,用去离子水冲洗电极表面洗去物理吸附,并保存在4 $^{\circ}$ C冰箱中;

(7) 最后滴加3 μ L相同浓度的聚合物点功能化的扇形金红型的二氧化钛标记的二抗溶液(R-TiO₂@TPP-Pdot @Ab₂)于步骤(6)所制得的电极表面,免疫识别40min后,用二次去离子水冲洗;晾干,制得R-TiO₂@TPP-Pdot @Ab₂/SA/MBPA/Au/C₆₀修饰的玻碳电极为待测电极。

[0007] 1. 上述的扇形金红石型的二氧化钛(R-TiO₂)由下述的方法制备:1g 十二烷基苯磺酸钠(SDBS)溶解于50 mL 2.2 mol/L HNO₃溶液,在漩涡混合器上振荡混匀数十分钟后加入1 mL钛酸异丙酯(TIP),然后在48 $^{\circ}$ C 的条件将上述的混合物下持续振荡24h,用去离子水和乙醇对反应后的混合物进行多次冲洗,经离心、60 $^{\circ}$ C干燥处理后在400 $^{\circ}$ C下煅烧1h,以去除产物中残留的有机物成分,得到最终产物。将所得产物均匀分散在1 mL去离子水中(使用超声混匀等方法使其分散均匀),将所得R-TiO₂溶液放置在4 $^{\circ}$ C冰箱中,储存备用。

[0008] 2. 上述的间四苯酚掺杂的聚合物点(TPP-pdot)的制备方法如下:将聚合物(PFBT),功能聚合物马来酸酐(PSMA)和增敏剂间四苯酚(TPP)分别溶解在四氢呋喃(THF)中,超声使其分散均匀。混合上述三种溶液,在混合液中,PFBT的浓度为200 μ g/mL,PSMA的浓度为40 μ g/mL,TPP的浓度为10 μ g/mL。随后将获得的混合溶液超声20min,形成均匀分散的溶液。在水浴超声条件下,将4 mL的上述混合物迅速加入到20 mL的去离子水中。用氮气吹扫溶液中的THF溶剂分子,最后将混合物在55 $^{\circ}$ C条件下旋转蒸发,来充分去除残余的THF分子,得到黄色透明的液体。

[0009] 3. 上述的聚合物点功能化的扇形金红型的二氧化钛标记的二抗溶液(R-TiO₂@TPP-Pdot @Ab₂)制备方法如下:1)0.5 mL浓度为5 mg/mL的R-TiO₂溶液和0.5 mL浓度为5 mg/mL步骤(2)所制得的TPP-pdot在室温下混合振荡4h,离心洗涤数次得到R-TiO₂@TPP-Pdot复合物溶液,将其重新分散在二次去离子水中;2)取体积比为2:1的1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺钠盐(NHS)的混合溶液50 μ L加入到200 μ L的上述复合物溶液中,反应30min,聚合物点上的羧基被活化;3)200 μ L的唾液酸抗体加入到步骤(2)中所得溶液中,利用酰胺键的作用,反应40min后得到被功能化的探针分子,离心洗涤数次后重新分散在pH等于7.4的磷酸缓冲溶液中,制得R-TiO₂@TPP-Pdot @Ab₂

的探针溶液,放至4°C的冰箱冷藏备用。

[0010] 4.上述方法制备了一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的免疫传感器。

[0011] 5.一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的免疫传感器的检测步骤如下:

(1)使用电化学工作站采用三电极体系进行测定,以上所述的一种基于聚合物点的具有光电和温度双信号响应的修饰电极为工作电极,Ag/AgCl为参比电极,铂丝电极为辅助电极,选用的电化学方法是时间电流法,在0.1 mol/mL pH 7.4的 PBS缓冲溶液中进行测试;

(2)在电流时间方法中,初始电位0.5V,采样间隔为0.1s,运行时间为400 s,静止时间为1s,电流灵敏度为1 μ A,初始频率为100000Hz,终止频率为0.1 Hz,对不同浓度的唾液酸(SA)标准溶液进行检测,通过电化学工作站来采集电流信息数据。通过光电流值与唾液酸(SA)标准溶液浓度之间的关系,绘制工作曲线1;用808nm的激光照射发生免疫识别后的工作电极,同时用红外测温仪实时记录温度变化,根据电极表面的温度与唾液酸(SA)标准溶液浓度之间建立标准工作曲线2;

(3)待测样品溶液代替唾液酸(SA)标准溶液进行检测,检测的结果可由绘制出的标准工作曲线1和2查得。

[0012] 本发明的显著优点为:

(1)具有双信号响应模式的传感器提供了一种可靠,方便,快速的检测方法,来实现对血清中SA含量的高灵敏检测。同一浓度的待测物质对应两种检测信号,方便实现对检测结果的自校准,很大程度上避免了假阳性或者假阴性的检测结果,实现对待测物的准确分析。

[0013] (2)本实验合成的聚合物点(TPP-pdot)既对扇形金红石型的二氧化钛(R-TiO₂)光电响应有良好的增敏作用,使其获得较大的光电流信号,为实现对SA超灵敏检测提供可能。另外TPP-pdot又具有优异的光热性能,其检测结果用温度计就可以实现定量分析,为建立一种便携式传感器提供可能。除此之外,合成的聚合物点分子上含有大量的羧基,可以标记大量的生物分子,进一步拓宽了该传感器的检测范围。

[0014] (3)本实验合成的金红石型的二氧化钛是一种良好的光电材料,在紫外光的激发下,可以产生稳定的光电流信号,保证了该生物传感器较高的稳定性和较好的重现性。

附图说明

[0015] 图1为合成的TPP-pdot的透射电镜图(TEM);

图2为合成的TPP-pdot紫外吸收(UV)和荧光发射图(FL);

图3 为双信号免疫传感器对标准的光电流值与唾液酸(SA)标准溶液浓度之间的关系图;

图4 为双信号免疫传感器的电极表面的温度与唾液酸(SA)标准溶液浓度之间的标准工作曲线图。

具体实施方式

[0016] 本发明用下列实施例来进一步说明本发明,但本发明的保护范围并不限于下列实施例。

[0017] 实施例1

1.一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的生物传感器的制备方法与应用,其特

征在于,包括以下步骤:

(1) 在湿润的麂皮上依次用50纳米和30纳米的氧化铝粉末对玻碳电极(GCE)进行机械打磨抛光,直至电极表面光亮洁净,用去离子水冲洗电极表面残余的氧化铝粉末,最后用无水乙醇和二次去离子水进行彻底清洗。

[0018] (2) 滴加3 μ L浓度为3mg/mL的富勒烯(C₆₀)溶液(溶剂为二甲基甲酰胺)于抛光干净的玻碳电极表面,放至红外灯箱内烘干后取出,室温下冷却,制得C₆₀修饰得玻碳电极;

(3) 滴加3 μ L浓度为3mg/mL的金纳米(Au)溶液于步骤(2)所制得的电极表面,放至红外灯箱内烘干,冷却至室温,制得Au/C₆₀修饰的玻碳电极;

(4) 滴加3 μ L浓度为5.0mM的巯基苯硼酸(MPBA)溶液至步骤(3)所制得的电极表面,室温下反应40min后用二次去离子水进行冲洗,除去电极表面的物理吸附,晾干备用,制得MBPA/Au/C₆₀修饰的玻碳电极;

(5) 滴加3 μ L不同浓度的唾液酸(SA)标准溶液至步骤(4)所获得的电极表面,于4 $^{\circ}$ C冰箱中孵育40 min,反应完成后用二次去离子水冲洗除去多余的SA分子,晾干,得到SA/MBPA/Au/C₆₀修饰的玻碳电极,并保存在4 $^{\circ}$ C冰箱中;

(6) 取3 μ L 浓度为 1.0 wt.% 的BSA 滴加到步骤 (5) 所制得的修饰电极表面并在4 $^{\circ}$ C冰箱中孵育40 min, 来封闭电极表面上非特异性活性位点,用去离子水冲洗电极表面洗去物理吸附,并保存在4 $^{\circ}$ C冰箱中;

(7) 最后滴加3 μ L相同浓度(5mg/mL)的聚合物点功能化的扇形金红型的二氧化钛标记的二抗溶液(R-TiO₂@TPP-Pdot @Ab₂)于步骤(6)所制得的电极表面,免疫识别40min后,用二次去离子水冲洗;晾干,制得R-TiO₂@TPP-Pdot @Ab₂/SA/MBPA/Au/C₆₀修饰的玻碳电极为待测电极。

[0019] 上述金锥纳米材料的制备:在旋涂聚苯乙烯珠之前,首先将teflon膜切割成正方形(1.5x1.5cm)并用乙醇和二次水冲洗,然后用等离子水清洗3分钟。吸取1mL浓度为2.5 w/v %的聚苯乙烯珠丙酮溶液并将其离心,再转移到乙醇和甲醇的体积比为2:1的混合溶液中。在溶液中加入体积分数为0.2 %的表面活性剂(TX100),接着将聚苯乙烯珠的浓度调节至约5 w/v %。然后将聚苯乙烯珠旋涂在清洁的teflon膜上,并在室温下放置几分钟,使溶剂干燥。用O₂等离子体蚀刻聚苯乙烯珠/teflon表面一定时间。最后通过热蒸发在该表面涂上50nm的金,得到金纳米材料。

[0020] 上述金纳米溶液的制备:取适量上述实验制得的金纳米材料溶解在去离子水中,得到3mg/mL的金纳米(Au)溶液。

[0021] 实施例2

上述实施例1所用的扇形金红石型的二氧化钛(R-TiO₂)由下述的方法制备:1g 十二烷基苯磺酸钠(SDBS)溶解于50 mL 2.2 mol/L HNO₃溶液,在漩涡混合器上振荡混匀数十分钟后加入1 mL钛酸异丙酯(TIP),然后在48 $^{\circ}$ C 的条件将上述的混合物下持续振荡24h,用去离子水和乙醇对反应后的混合物进行多次冲洗,经离心、60 $^{\circ}$ C干燥处理后在400 $^{\circ}$ C下煅烧1h,以去除产物中残留的有机物成分,得到最终产物。将所得产物均匀分散在1 mL去离子水中(使用超声混匀等方法使其分散均匀),将所得R-TiO₂溶液放置在4 $^{\circ}$ C冰箱中,储存备用。

[0022] 实施例3

上述实施例1所用的间四苯酚掺杂的聚合物点(TPP-pdot)的制备方法如下:将聚合物(PFBT),功能聚合物共马来酸酐(PSMA)和增敏剂间四苯酚(TPP)分别溶解在四氢呋喃(THF)中,超声使其分散均匀。混合上述三种溶液,在混合液中,PFBT的浓度为200 $\mu\text{g}/\text{mL}$,PSMA的浓度为40 $\mu\text{g}/\text{mL}$,TPP的浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。随后将获得的混合溶液超声20min,形成均匀分散的溶液。在水浴超声条件下,将4 mL的上述混合物迅速加入到20 mL的去离子水中。用氮气吹扫溶液中的THF溶剂分子,最后将混合物在55 $^{\circ}\text{C}$ 条件下旋转蒸发,来充分去除残余的THF分子,得到黄色透明的液体。

[0023] 上述实施例3所用的聚[(9,9-二辛基芴-2,7-二基)-交替-(2,1,3-苯并噻唑)](PFBT)、聚(苯乙烯-共马来酸酐)(PSMA)、增敏剂间四苯酚(TPP)购自西安宝莱特光电科技有限公司。

[0024] 实施例4

上述实施例1所用的聚合物点功能化的扇形金红石型二氧化钛标记的二抗溶液R-TiO₂@TPP-Pdot@Ab₂的制备方法如下:1)0.5 mL浓度为5 mg/mL的实施例2制得的R-TiO₂溶液和0.5 mL浓度为5 mg/mL的实施例3制得的TPP-pdot在室温下混合振荡4h,离心洗涤数次得到R-TiO₂@TPP-Pdot复合物溶液,将其重新分散在二次去离水中;2)取体积比为2:1的1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺钠盐(NHS)的混合溶液50 μL 加入到200 μL 的上述复合物溶液中,反应30min,聚合物点上的羧基被活化;3)200 μL 的唾液酸抗体加入到步骤2)中所得溶液中,利用酰胺间的作用,反应40min后得到被功能化的探针分子,离心洗涤数次后重新分散在pH等于7.4的磷酸缓冲溶液中,制得R-TiO₂@TPP-Pdot@Ab₂的探针溶液,放至4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱冷藏备用。

[0025] 实施例5

唾液酸(SA)的检测步骤:

(1)使用电化学工作站采用三电极体系进行测定,以实施例1制备的一种基于聚合物点的具有光电和温度双信号响应的修饰电极为工作电极,Ag/AgCl为参比电极,铂丝电极为辅助电极,选用的电化学方法是时间电流法,在0.1 mol/mL pH 7.4的PBS缓冲溶液中进行测试;

(2)在电流时间方法中,初始电位0.5V,采样间隔为0.1s,运行时间为400 s,静止时间为1s,电流灵敏度为1 μA ,初始频率为100000Hz,终止频率为0.1 Hz,对不同浓度的唾液酸(SA)标准溶液进行检测,通过电化学工作站来采集电流信息数据。通过光电流值与唾液酸(SA)标准溶液浓度之间的关系,绘制工作曲线1(见图3);用808nm的激光照射发生免疫识别后的工作电极,同时用红外测温仪实时记录温度变化,根据电极表面的温度与唾液酸(SA)标准溶液浓度之间建立标准工作曲线2(见图4);

待测样品溶液代替唾液酸(SA)标准溶液进行检测,检测的结果可由绘制出的标准工作曲线1和2查得。

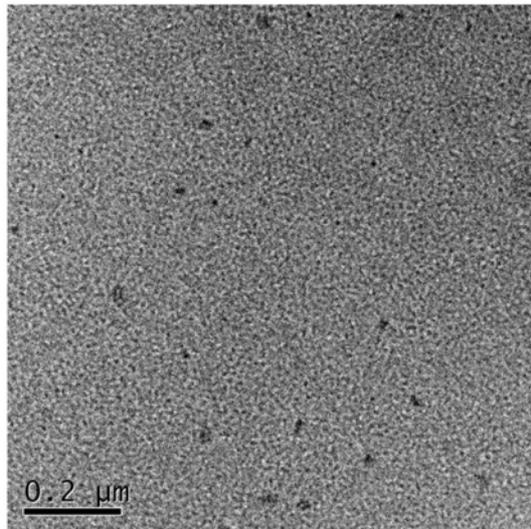


图1

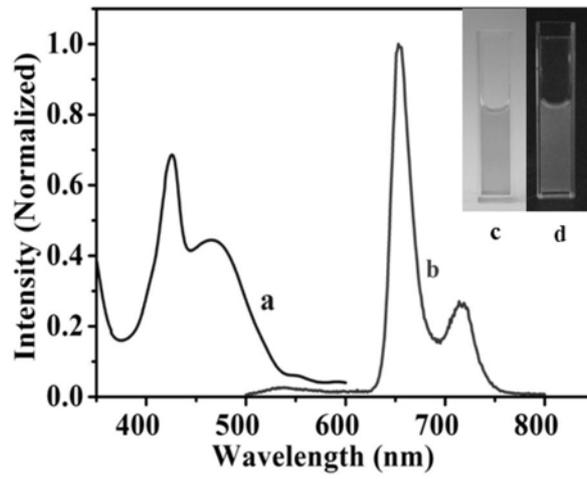


图2

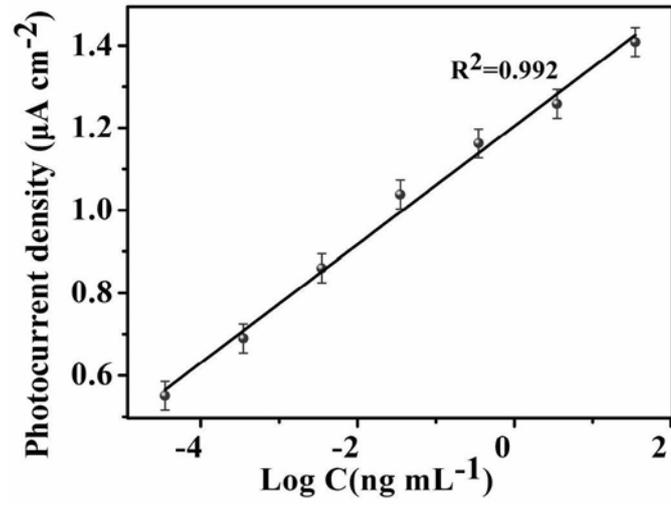


图3

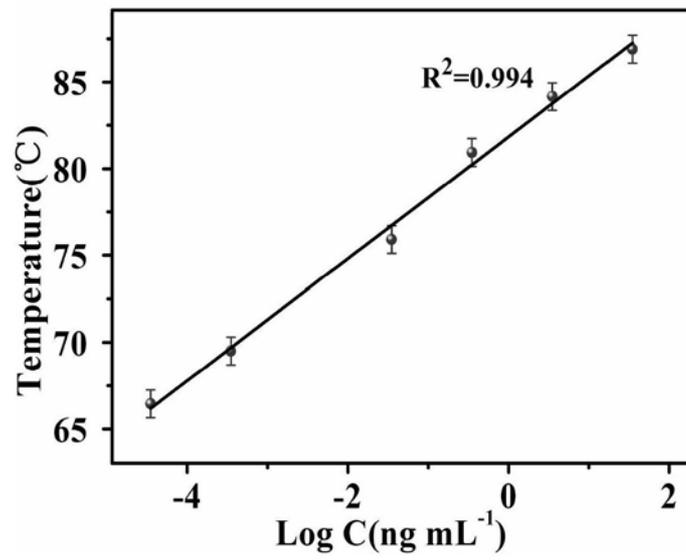


图4

专利名称(译)	一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的唾液酸生物传感器的制备与应用		
公开(公告)号	CN109813773A	公开(公告)日	2019-05-28
申请号	CN201910161493.X	申请日	2019-03-04
[标]申请(专利权)人(译)	福建师范大学		
申请(专利权)人(译)	福建师范大学		
当前申请(专利权)人(译)	福建师范大学		
[标]发明人	戴宏 陈妍洁 王佳妮 高利红 衣欢 郑祥钦 韩晴		
发明人	戴宏 陈妍洁 王佳妮 高利红 衣欢 宋建榕 郑祥钦 韩晴		
IPC分类号	G01N27/26 G01N27/30 G01N27/327 G01N33/531		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开一种基于聚合物点的光电和温度双信号响应的唾液酸生物传感器的制备与应用。该传感器利用富勒烯 (C60) 和金锥两种纳米材料作为传感器的基底, 利用Au-S键的键合作用固定巯基苯硼酸 (MPBA) 分子, 使其捕获大量的唾液酸 (SA) 分子。利用间四苯酚掺杂的聚合物点 (TPP-pdot) 功能化的扇形金红石型的二氧化钛 (R-TiO₂) 标记的抗体作为探针分子, 既具有优异的光电流响应又有良好的温度响应, 得到一种双信号读出模式。基于以上优点, 构制了一种双信号响应的生物传感器, 实现了对唾液酸的高灵敏检测, 该传感器相比于传统的单信号读出的传感器, 准确度更高, 稳定性更好, 很大程度上避免了检测结果的假阳性或者假阴性。

