



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101871933 A

(43) 申请公布日 2010. 10. 27

(21) 申请号 200910038815. 8

(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电容免疫传感器

(57) 摘要

本发明属于电化学免疫分析技术领域的一种基于玻璃毛细管构制的电容免疫传感器。首先通过银镜反应在玻璃毛细管内壁沉积一层银作为电极,然后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银电极上,注入非特异性蛋白,封闭活性吸附点,经过洗涤干燥后,将二根按上述方法同样构制的玻璃毛细管组合在一起,即得到免疫传感器。对应的免疫反应在玻璃毛细管里培育、洗涤后,插入酶的底物溶液中,酶标抗原(酶标抗体)催化底物沉积在毛细管内壁银电极表面上,导致电容降低,由此测量抗原(抗体)含量。

1. 一种电容型免疫传感器,其特征在于用玻璃毛细管构制免疫传感器,首先通过银镜反应在玻璃毛细管内壁沉积一层银作为电极,然后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银电极上,注入非特异性蛋白,封闭活性吸附点,经过洗涤干燥后,将二根按上述方法同样构制的玻璃毛细管组合在一起,即得到免疫传感器。

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。

一种基于玻璃毛细管构制的电容免疫传感器

技术领域

[0001] 本发明涉及一种电化学电容免疫传感器。

背景技术

[0002] 电容型免疫传感器是一种高灵敏免疫检测技术。当金属电极与电解质溶液接触时,在电极 / 溶液的界面存在双电层,它可以用类似于电容器的物理方程来描述:

[0003] $C = A \epsilon_0 \epsilon / d$;

[0004] 其中 C 为界面电容, ϵ_0 为真空介电常数, ϵ 为电极 / 溶液界面物质介电常数, A 是电极与溶液的接触面积, d 是界面层厚度。电极 / 溶液的界面电容能灵敏反应界面物理化学性质的变化,当极性低的物质吸附到电极表面上时, d 就会增大, ϵ 就会减小,从而使界面电容降低。电容型免疫传感器就是基于将抗体固定在电极表面,当抗原抗体在电极表面复合时,界面电容相应地降低,据此检测抗原的含量。这种免疫检测方法受到非特异吸附影响严重。酶可以高效地催化酶底物反应,一些底物经过酶催化反应后会生成沉淀,本发明利用这一现象,在电极表面设计免疫反应,引进酶标记物,通过竞争反应,将酶标记物固定在电极表面上,通过酶促使酶底物生成沉淀,降低界面电容,进而进行免疫分析。

发明内容

[0005] 1、免疫传感器构制

[0006] (1)、测量电极构制:将毛细管内壁清洗干净,注入葡萄糖和银氨溶液,通过银镜反应在玻璃毛细管内壁沉积一层银作为电极。

[0007] (2)、免疫试剂固定: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银电极上。

[0008] (3)、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。

[0009] (4)、组装:将二根按上述方法同样构制的玻璃毛细管组合在一起,即得到免疫传感器。

[0010] (5)、保存:将免疫传感器保存在 4℃ 的冰箱中备用。

[0011] 2、测量过程

[0012] 本发明电容型免疫传感器检测包括以下步骤:

[0013] (1)、免疫反应过程:选择酶标物,酶标物是标记有辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶的待测物,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电极上。

[0014] (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。

[0015] (3)、酶催化反应:将免疫传感器置于酶底物溶液中,让酶底物进入毛细管,酶底物经过酶标物催化,沉积在电极表面上。

[0016] (4)、测量：以插入酶底物溶液里的二根毛细管内壁的银作为电极，构成测量回路，记录酶底物进入毛细管后一定时间内电容值的相对变化，可以得到待测物浓度。

[0017] 本发明的优点是：

[0018] 1、免疫传感器构造简单、方便，在玻璃毛细管内构制银电极、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。

[0019] 2、通过银镜反应为免疫传感器提供一个均匀且重现性好的电极，用银量小，相对于毛细管里面的溶液体积，电极比表面积大，在灵敏度、响应时间和重现性方面都有较大的提高。

[0020] 3、检测信号是界面电容，所需的仪器设备简单，易于实现微型化、自动化、数字化。

[0021] 4、采用竞争免疫分析法，本电容免疫传感器装置具有良好的响应特异性。

[0022] 5、本免疫传感器结合了酶催化沉积效应，使传感器界面的电容改变值大大的提高，提高了传感器的灵敏度。

[0023] 6、本免疫传感技术无须昂贵的仪器设备，易于自动化，适合于家庭保健和临床初检。

[0024] 7、毛细管体积很少，检测所需试剂用量很少。

具体实施方式

[0025] 实施例 1：用于检测 IgM 的电容免疫传感器检测方法

[0026] (1)、银电极构制：在 5% 硝酸银溶液中逐滴加入浓氨水，直到产生的沉淀消失为止。再滴加 10% 的氢氧化钠溶液（每毫升硝酸银加一滴氢氧化钠溶液），再逐滴加入浓氨水，到沉淀再次消失为止。再用硝酸银溶液回滴到溶液略显浑浊为止。最后加入 2 倍体积的蒸馏水稀释。把银氨溶液和 0.2mol/L 葡萄糖溶液以 1：1 的体积比混合，缓慢均匀通过热的玻璃毛细管（长 80mm，内径 1mm），即在玻璃毛细管内壁沉积一层均匀的银。

[0027] (2)、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里，保持 20 分钟，在银电极表面引进氨基，清洗后，然后注入 10% 的戊二醛溶液，再注入 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。

[0028] (3)、注入 0.1% BSA 溶液，封闭活性吸附点，洗涤干燥。

[0029] (4)、组装：将二根按上述方法同样构制的玻璃毛细管组合在一起，即得到免疫传感器。

[0030] (5)、保存：将免疫传感器保存在 4℃ 的冰箱中备用。

[0031] (6)、免疫反应过程：将 0.1 μg/ml 的辣根过氧化物酶标记 IgM 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电极上。

[0032] (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。

[0033] (8)、酶催化反应：将免疫传感器置于 0.5M 的四甲基联苯胺+0.5M 的双氧水的磷酸缓冲溶液里，让酶底物进入毛细管，酶底物经过酶标物催化，沉积在电极表面上。

[0034] (9)、测量：记录酶底物进入毛细管后电容值的相对变化，以 20 分钟后电容相对变化值作为分析信号，得出待测 IgM 样品含量。通过线性回归分析，本免疫传感器可在 0.05～8 μg/mL 范围内定量检测 IgM 样品含量。

专利名称(译)	一种基于玻璃毛细管构制的电容免疫传感器		
公开(公告)号	CN101871933A	公开(公告)日	2010-10-27
申请号	CN200910038815.8	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的一种基于玻璃毛细管构制的电容免疫传感器。首先通过银镜反应在玻璃毛细管内壁沉积一层银作为电极，然后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银电极上，注入非特异性蛋白，封闭活性吸附点，经过洗涤干燥后，将二根按上述方法同样构制的玻璃毛细管组合在一起，即得到免疫传感器。对应的免疫反应在玻璃毛细管里培育、洗涤后，插入酶的底物溶液中，酶标抗原(酶标抗体)催化底物沉积在毛细管内壁银电极表面上，导致电容降低，由此测量抗原(抗体)含量。