



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108918627 A

(43)申请公布日 2018.11.30

(21)申请号 201810864574.1

(22)申请日 2018.08.01

(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 李璇 魏琴 李丽 李悦源
苗俊聪

(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 27/327(2006.01)

G01N 27/30(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页

(54)发明名称

一种基于MOFs材料竞争型电化学免疫传感器的制备方法及应用

(57)摘要

本发明涉及一种竞争型免疫传感器的制备与应用,具体说是一种以UiO-66,金纳米粒子(UiO-66/Au)的复合材料为传感平台,以NH₂-MIL-125为标记物的竞争型免疫传感器,本发明属于新型功能材料、生物传感技术领域。UiO-66/Au具有优异的导电性,大的比表面积,可以有效促进电子传递过程,起到放大电流信号,提高传感器灵敏度的作用。并且利用一锅法合成了NH₂-MIL-125,NH₂-MIL-125拥有较大的空间位阻从而可以阻碍电子传递,使电流信号降低,从而增加电流信号变化值,使得传感器可利用电化学信号变化来检测目标的含量,显著提高免疫传感器的稳定性和灵敏度,扩大检出范围,降低检出限。

1. 一种基于MOFs材料竞争型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6 μ L, 1~2 mg/mL UiO-66/Au纳米复合物溶液滴加在电极上,室温下干燥;

(3) 将6 μ L, 10~20 μ g/mL癌胚抗原(CEA)的抗体滴加在电极上,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 μ 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;

(5) 将6 μ L不同浓度的CEA滴加到电极上,室温下干燥并用PBS洗涤;

(6) 将6 μ L, 被NH₂-MIL-125 (1~2 mg/mL) 标记的CEA的混合溶液滴加于电极上,室温下干燥后用PBS洗去多余的抗原,室温下干燥,竞争型免疫传感器的制备完成。

2. 如权利1所述的一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器的制备方法及应用,其所述的UiO-66/Au复合材料的制备步骤如下:

(1) UiO-66的制备

将1~2 g四氯化锆和1~2g对苯二甲酸和10~20 mL盐酸超声溶解于100 mL的N,N-二甲基甲酰胺(DMF),然后转移至高压釜,在120 $^{\circ}$ C下反应12~24 h,反应结束后,将所得到的混合物在9000 r/min离心10 min,用N,N-二甲基甲酰胺和甲醇分别洗涤三次,弃去上清液,将离心管放入60 $^{\circ}$ C真空干燥箱干燥,最后经过研磨得到白色固体粉末UiO-66;

(2) UiO-66/Au的制备

称取0.1~0.2 g UiO-66在室温下超声分散于10~20 mL甲醇中,得到白色均匀乳浊液,加入0.3~0.4 mL氯金酸混合,在室温下搅拌5 h得到黄色乳浊液,称取0.06~0.07 g硼氢化钠超声溶解于10~20 mL甲醇后,逐滴加入到上述黄色乳浊液后迅速变为红棕色,此时Au³⁺被还原为Au,继续搅拌2 h,将所得到的混合物用9000 r/min离心5 min并用乙醇洗涤3次,将离心管放入60 $^{\circ}$ C真空干燥箱干燥12 h,最后经过研磨得到UiO-66/Au。

3. 如权利1所述的一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器的制备方法及应用,其所述的抗原标记物NH₂-MIL-125-CEA制备步骤如下:

(1) NH₂-MIL-125的制备

将0.7~0.9 g 2-氨基对苯二甲酸溶于DMF和乙醇混合溶剂(V_{DMF}:V_{乙醇}= 5:5)中;然后将0.5~1.0 mL钛酸异丙酯加入到溶液中,通过超声波震荡10分钟搅拌后,将混合物转移到25 mL高压釜中,并在静态条件下置于150 $^{\circ}$ C的烘箱中24 h,反应后,通过离心收集产物并用DMF和乙醇洗涤数次,然后在60 $^{\circ}$ C下干燥过夜;

(2) NH₂-MIL-125-CEA的制备

将上述NH₂-MIL-125取2~4 mg溶解在1~2 mL PBS缓冲液中并加入0.5 mL NHS和0.5 mL EDC,之后再加入1~2 mL CEA,在低温环境中将溶液振荡12 h以上,然后在4 $^{\circ}$ C下离心,除去上清液,将所得沉淀用PBS缓冲液离心洗涤,最后加入1~2 mL PBS缓冲液使沉淀溶解,得到NH₂-MIL-125-CEA。

4. 如权利1所述一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器的制备方法及应用,其特征在于,用于CEA的检验,检测步骤如下:

(1) 使用电化学工作站以三电极体系进行测试,饱和甘汞电极为参比电极,铂丝电极为辅助电极,所制备的电化学免疫传感器为工作电极;

(2) 使用方波伏安法,在15 mL、40~60 mmol/L、6.0~8.0 pH的铁氰化钾的PBS缓冲溶液中进行检测,输入电压为 $-0.2\sim 0.6$ V,灵敏度为 10^{-4} ,扫描速度为50 mV/s,绘制工作曲线;

(3) 将待测样品溶液代替CEA的标准溶液进行检测。

一种基于MOFs材料竞争型电化学免疫传感器的制备方法及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种电化学免疫传感器的制备与应用,具体说是一种以UiO-66/Au为传感平台,以NH₂-MIL-125为共轭标记物的竞争型免疫传感器,本发明属于新型功能材料、生物传感技术领域。

背景技术

[0002] 癌胚抗原(CEA)是属于肿瘤细胞表面结构的抗原^[6],它形成于细胞浆中,可以通过细胞膜渗透到细胞外进入周围体液中,因此可以在多种体液中检出。CEA作为最常见的一种肿瘤标记物,以及被广泛用作各种消化系肿瘤的诊断及监测中,在生物体中凡是内胚层产生的恶性肿瘤如结肠、直肠、食道、胃、肝和胰腺等的癌肿病人的血清中均有CEA存在,并含量明显的高于非肿瘤的病人,因此CEA的检测至关重要。不仅如此,CEA对治疗效果的观察上同样有着不可忽略的作用。所以CEA在临床中对于肿瘤疾病的诊断、治疗效果的判定和预后情况,都有非常重要的临床意义。

[0003] 电化学免疫传感器是将免疫技术与电化学传感技术相结合,同时具有高灵敏性、高选择性、高专一性和检出限低等优点。

[0004] 金属有机骨架材料(MOFs)是指由金属离子或金属簇与有机配体组装而来的一种多孔材料,选择不同的金属或者不同性质的有机配体可以改变MOFs的结构,从而使得MOFs具有结构多样化,功能可调和比表面积大等优点;UiO系列材料是以Zr基通过有机配体连接而成重现立方体结构的具有12配位的MOFs材料,且是为数不多的具有优异导电性的MOFs材料之一;除此之外UiO-66还具有比表面积大,化学稳定性和热稳定高等优点,通过原位还原的方法结合大量金纳米粒子(Au)。Au不仅拥有良好的电子转移性能而且可以与抗体通过Au-NH₂结合;因此将具有优良导电性和生物相容性的UiO-66与Au(UiO-66/Au)作为传感平台,显著提高了传感器的灵敏度。

[0005] 与UiO系列不同,MILs系列虽然也具有较大的孔径和比表面积,但是MILs的电子转移能力差,不利于电子传递。因此该发明利用一锅法合成NH₂-MIL-125,形成共轭体系,阻碍电子传递,增加电流信号值的变化,而且NH₂-MIL-125具有丰富的NH₂基团可以连接抗原抗体,从而增加传感器的灵敏度,降低检出限,扩大检测范围。

发明内容

[0006] 本发明的目的之一是制备一种以UiO-66/Au为传感平台,以NH₂-MIL-125为标记物的竞争型免疫传感器。

[0007] 本发明的目的之二是将该传感器用于CEA的高灵敏、特异性检测。

[0008] 本发明的技术方案如下:

1.一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器制备方法如下:

(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 $-0.2\sim 0.6$ V 电位下进行扫描,使峰电位的差值小于110 mV;

(2)将6 μL ,1~2 mg/mL UiO-66/Au纳米复合物溶液滴加在电极上,室温下干燥;

(3)将6 μL ,10~20 $\mu\text{g/mL}$ CEA的抗体滴加在电极上,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;

(5)将6 μL 不同浓度的CEA滴加到电极上,室温下干燥并用PBS洗涤;

(6)将6 μL ,被 $\text{NH}_2\text{-MIL-125}$ (1~2 mg/mL)标记的CEA的混合溶液滴加于电极上,室温下干燥后用PBS洗去多余的抗原,室温下干燥,竞争型免疫传感器的制备完成。

[0009] 2.一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器的UiO-66/Au复合材料的制备步骤如下:

(1)UiO-66的制备

将1~2 g四氯化锆和1~2g对苯二甲酸和10~20 mL盐酸超声溶解于100 mL的N,N-二甲基甲酰胺(DMF),然后转移至高压釜,在120 $^{\circ}\text{C}$ 下反应12~24 h,反应结束后,将所得到的混合物在9000 r/min离心10 min,用DMF和甲醇分别洗涤三次,弃去上清液,将离心管放入60 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥箱干燥,最后经过研磨得到白色固体粉末UiO-66;

(2)UiO-66/Au的制备

称取0.1~0.2 g UiO-66在室温下超声分散于10~20 mL甲醇中,得到白色均匀乳浊液,加入0.3~0.4 mL氯金酸混合,在室温下搅拌5 h得到黄色乳浊液,称取0.06~0.07 g硼氢化钠超声溶解于10~20 mL甲醇后,逐滴加入到上述黄色乳浊液后迅速变为红棕色,此时 Au^{3+} 被还原为Au,继续搅拌2 h,将所得到的混合物用9000 r/min离心5 min并用乙醇洗涤3次,将离心管放入60 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥箱干燥12 h,最后经过研磨得到UiO-66/Au。

[0010] 3.一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器的抗原标记物 $\text{NH}_2\text{-MIL-125-CEA}$ 制备步骤如下:

(1) $\text{NH}_2\text{-MIL-125}$ 的制备

将0.7~0.9 g 2-氨基对苯二甲酸溶于DMF和乙醇混合溶剂($V_{\text{DMF}}:V_{\text{乙醇}}=5:5$)中。然后将0.5~1.0 mL钛酸异丙酯加入到溶液中。通过超声波震荡10分钟搅拌后,将混合物转移到25 mL高压釜中,并在静态条件下置于150 $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中24 h,反应后,通过离心收集产物并用DMF和乙醇洗涤数次,然后在60 $^{\circ}\text{C}$ 下干燥过夜;

(2) $\text{NH}_2\text{-MIL-125-CEA}$ 的制备

将上述 $\text{NH}_2\text{-MIL-125}$ 取2~4 mg溶解在1~2 mL PBS缓冲液中并加入0.5 mL NHS和0.5 mL EDC,之后再加入1~2 mL CEA,在低温环境中将溶液振荡12 h以上,然后在4 $^{\circ}\text{C}$ 下离心,除去上清液,将所得沉淀用PBS缓冲液离心洗涤,最后加入1~2 mL PBS缓冲液使沉淀溶解,得到 $\text{NH}_2\text{-MIL-125-CEA}$ 。

[0011] 4.CEA的检验,步骤如下:

(1)使用电化学工作站以三电极体系进行测试,饱和甘汞电极为参比电极,铂丝电极为辅助电极,所制备的电化学免疫传感器为工作电极;

(2)使用方波伏安法,在15 mL、40~60 mmol/L、6.0~8.0 pH的铁氰化钾的PBS缓冲溶液中进行检测,输入电压为 $-0.2\sim 0.6$ V,灵敏度为 10^{-4} ,扫描速度为50 mV/s,绘制工作曲线;

(4)将待测样品溶液代替CEA抗原的标准溶液进行检测。

[0012] 本发明的有益成果

(1) 本发明将Au负载在UiO-66上,提高了传感器的导电性,而且Au与抗体形成Au-NH₂键从而将抗体固定在电极表面,提高了抗体的结合率。

[0013] (2) 本发明以NH₂-MIL-125为标记物,阻碍电子传递,增大电流信号值的变化,显著地提高了传感器的灵敏度,降低了传感器的检出限。

[0014] (3) 本发明利用抗原、抗体的免疫反应,提高了检测方法的特异性。

[0015] (4) 本发明制备的双信号竞争型免疫传感器利用UiO-66/Au传感平台的导电性和NH₂-MIL-125高的空间位阻进行CEA含量的检测,具有检测线低、线性范围宽、灵敏度高、操作简单、响应时间短,特异性检验等特点,对CEA的检测限可达0.34pg/mL。

具体实施方式

[0016] 实施例1 一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器的UiO-66/Au复合材料的制备步骤如下:

(1) UiO-66的制备

将1.25 g四氯化锆和1.23 g对苯二甲酸和10 mL盐酸超声溶解于100 mL的DMF,然后转移至高压釜,在120 °C下反应24 h,反应结束后,将所得到的混合物在9000 r/min离心10 min,用DMF和甲醇分别洗涤三次,弃去上清液,将离心管放入60 °C真空干燥箱干燥,最后经过研磨得到白色固体粉末UiO-66;

(2) UiO-66/Au的制备

称取0.1 g UiO-66在室温下超声分散于10 mL甲醇中,得到白色均匀乳浊液,加入0.3 mL氯金酸混合,在室温下搅拌5 h得到黄色乳浊液,称取0.07 g硼氢化钠超声溶解于10 mL甲醇后,逐滴加入到上述黄色乳浊液后迅速变为红棕色,此时Au³⁺被还原为Au,继续搅拌2 h,将所得到的混合物用9000 r/min离心5 min并用乙醇洗涤3次,将离心管放入60 °C真空干燥箱干燥12 h,最后经过研磨得到UiO-66/Au。

[0017] 实施例2 一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器的UiO-66/Au复合材料的制备步骤如下:

(1) UiO-66的制备

将1.5 g四氯化锆和2.0 g对苯二甲酸和15 mL盐酸超声溶解于100 mL的DMF,然后转移至高压釜,在120 °C下反应24 h,反应结束后,将所得到的混合物在9000 r/min离心10 min,用DMF和甲醇分别洗涤三次,弃去上清液,将离心管放入60 °C真空干燥箱干燥,最后经过研磨得到白色固体粉末UiO-66;

(2) UiO-66/Au的制备

称取0.15 g UiO-66在室温下超声分散于10 mL甲醇中,得到白色均匀乳浊液,加入0.35 mL氯金酸混合,在室温下搅拌5 h得到黄色乳浊液,称取0.06 g硼氢化钠超声溶解于10 mL甲醇后,逐滴加入到上述黄色乳浊液后迅速变为红棕色,此时Au³⁺被还原为Au,继续搅拌2 h,将所得到的混合物用9000 r/min离心5 min并用乙醇洗涤3次,将离心管放入60 °C真空干燥箱干燥12 h,最后经过研磨得到UiO-66/Au。

[0018] 实施例3 一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器的UiO-66/Au复合材料的制备步骤如下:

(1) UiO-66的制备

将1.5 g四氯化锆和1.0 g对苯二甲酸和20 mL盐酸超声溶解于100 mL的DMF,然后转移至高压釜,在120 °C下反应12 h,反应结束后,将所得到的混合物在9000 r/min离心10 min,用DMF和甲醇分别洗涤三次,弃去上清液,将离心管放入60 °C真空干燥箱干燥,最后经过研磨得到白色固体粉末UiO-66;

(2) UiO-66/Au的制备

称取0.2 g UiO-66在室温下超声分散于10 mL甲醇中,得到白色均匀乳浊液,加入0.4 mL氯金酸混合,在室温下搅拌5 h得到黄色乳浊液,称取0.065 g硼氢化钠超声溶解于10 mL甲醇后,逐滴加入到上述黄色乳浊液后迅速变为红棕色,此时 Au^{3+} 被还原为Au,继续搅拌2 h,将所得到的混合物用9000 r/min离心5 min并用乙醇洗涤3次,将离心管放入60 °C真空干燥箱干燥12 h,最后经过研磨得到UiO-66/Au。

[0019] 实施例4 一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器的抗原标记物 $\text{NH}_2\text{-MIL-125-CEA}$ 制备步骤如下:

(1) $\text{NH}_2\text{-MIL-125}$ 的制备

将0.7 g 2-氨基对苯二甲酸溶于DMF和乙醇混合溶剂($V_{\text{DMF}}:V_{\text{乙醇}}=5:5$)中。然后将0.75 mL钛酸异丙酯加入到溶液中,通过超声波震荡10分钟搅拌后,将混合物转移到25 mL高压釜中,并在静态条件下置于150 °C的烘箱中24 h,反应后,通过离心收集产物并用DMF和乙醇洗涤数次,然后在60 °C下干燥过夜;

(2) $\text{NH}_2\text{-MIL-125-CEA}$ 的制备

将上述 $\text{NH}_2\text{-MIL-125}$ 取2 mg溶解在1 mL PBS缓冲液中并加入0.5 mL NHS和0.5 mL EDC,之后再加入2 mL CEA,在低温环境中将溶液振荡12 h以上,然后在4 °C下离心,除去上清液,将所得沉淀用PBS缓冲液离心洗涤,最后加入1 mL PBS缓冲液使沉淀溶解,得到 $\text{NH}_2\text{-MIL-125-CEA}$ 。

[0020] 实施例5 一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器的抗原标记物 $\text{NH}_2\text{-MIL-125-CEA}$ 制备步骤如下:

(1) $\text{NH}_2\text{-MIL-125}$ 的制备

将0.9 g 2-氨基对苯二甲酸溶于DMF和乙醇混合溶剂($V_{\text{DMF}}:V_{\text{乙醇}}=5:5$)中。然后将1.0 mL钛酸异丙酯加入到溶液中,通过超声波震荡10分钟搅拌后,将混合物转移到25 mL高压釜中,并在静态条件下置于150 °C的烘箱中24 h,反应后,通过离心收集产物并用DMF和乙醇洗涤数次,然后在60 °C下干燥过夜;

(2) $\text{NH}_2\text{-MIL-125-CEA}$ 的制备

将上述 $\text{NH}_2\text{-MIL-125}$ 取4 mg溶解在1 mL PBS缓冲液中并加入0.5 mL NHS和0.5 mL EDC,之后再加入1 mL CEA,在低温环境中将溶液振荡12 h以上,然后在4 °C下离心,除去上清液,将所得沉淀用PBS缓冲液离心洗涤,最后加入1 mL PBS缓冲液使沉淀溶解,得到 $\text{NH}_2\text{-MIL-125-CEA}$ 。

[0021] 实施例6 一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器的抗原标记物 $\text{NH}_2\text{-MIL-125-CEA}$ 制备步骤如下:

(1) $\text{NH}_2\text{-MIL-125}$ 的制备

将0.8 g 2-氨基对苯二甲酸溶于DMF和乙醇混合溶剂($V_{\text{DMF}}:V_{\text{乙醇}}=5:5$)中。然后将0.8

mL 钛酸异丙酯加入到溶液中。通过超声波震荡10分钟搅拌后,将混合物转移到25 mL 高压釜中,并在静态条件下置于150 °C 的烘箱中24 h,反应后,通过离心收集产物并用DMF和乙醇洗涤数次,然后在60 °C 下干燥过夜;

(2) NH_2 -MIL-125-CEA的制备

将上述 NH_2 -MIL-125取2 mg溶解在1 mL PBS缓冲液中并加入0.5 mL NHS和0.5 mL EDC,之后再加入2 mL CEA,在低温环境中将溶液振荡12 h以上,然后在4 °C 下离心,除去上清液,将所得沉淀用PBS缓冲液离心洗涤,最后加入1 mL PBS缓冲液使沉淀溶解,得到 NH_2 -MIL-125-CEA。

[0022] 实施例7 一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器制备方法:

(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6 μL , 2 mg/mL UiO-66/Au纳米复合物溶液滴加在电极上,室温下干燥;

(3) 将6 μL , 10 $\mu\text{g/mL}$ CEA的抗体滴加在电极上,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;

(5) 将6 μL 不同浓度的CEA滴加到电极上,室温下干燥并用PBS洗涤;

(6) 将6 μL , 被 NH_2 -MIL-125 (2 mg/mL) 标记的CEA的混合溶液滴加于电极上,室温下干燥后用PBS洗去多余的抗原,室温下干燥,竞争型免疫传感器的制备完成。

[0023] 实施例8 一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器制备方法:

(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6 μL , 1 mg/mL UiO-66/Au纳米复合物溶液滴加在电极上,室温下干燥;

(3) 将6 μL , 20 $\mu\text{g/mL}$ CEA的抗体滴加在电极上,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;

(5) 将6 μL 不同浓度的CEA滴加到电极上,室温下干燥并用PBS洗涤;

(6) 将6 μL , 被 NH_2 -MIL-125 (1.5 mg/mL) 标记的CEA的混合溶液滴加于电极上,室温下干燥后用PBS洗去多余的抗原,室温下干燥,竞争型免疫传感器的制备完成。

[0024] 实施例9 一种基于MOFs材料竞争型免疫传感器制备方法:

(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6 μL , 1.5 mg/mL UiO-66/Au纳米复合物溶液滴加在电极上,室温下干燥;

(3) 将6 μL , 15 $\mu\text{g/mL}$ CEA的抗体滴加在电极上,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;

(5) 将6 μL 不同浓度的CEA滴加到电极上,室温下干燥并用PBS洗涤;

(6) 将6 μL , 被 $\text{NH}_2\text{-MIL-125}$ (1.5 mg/mL) 标记的CEA的混合溶液滴加于电极上, 室温下干燥后用PBS洗去多余的抗原, 室温下干燥, 竞争型免疫传感器的制备完成。

[0025] 实施例10 CEA的检验, 步骤如下:

(1) 使用电化学工作站以三电极体系进行测试, 饱和甘汞电极为参比电极, 铂丝电极为辅助电极, 所制备的电化学免疫传感器为工作电极;

(2) 使用方波伏安法, 在15 mL、40~60 mmol/L 、6.0~8.0 pH的铁氰化钾的PBS缓冲溶液中进行检测, 输入电压为-0.2~0.6 V, 灵敏度为 10^{-4} , 扫描速度为50 mV/s , 绘制工作曲线;

(3) 将待测样品溶液代替CEA抗原的标准溶液进行检测;

(4) CEA检测的线性范围是 10^{-3} ~100 ng/mL , 检测限是0.34 pg/mL 。

专利名称(译)	一种基于MOFs材料竞争型电化学免疫传感器的制备方法及应用		
公开(公告)号	CN108918627A	公开(公告)日	2018-11-30
申请号	CN201810864574.1	申请日	2018-08-01
[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 李璇 魏琴 李丽 李悦源 苗俊聪		
发明人	曹伟 李璇 魏琴 李丽 李悦源 苗俊聪		
IPC分类号	G01N27/327 G01N27/30 G01N33/531		
CPC分类号	G01N27/30 G01N27/3278 G01N33/531		
代理人(译)	高强		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种竞争型免疫传感器的制备与应用，具体说是一种以UiO-66，金纳米粒子（UiO-66/Au）的复合材料为传感平台，以NH₂-MIL-125为标记物的竞争型免疫传感器，本发明属于新型功能材料、生物传感技术领域。UiO-66/Au具有优异的导电性，大的比表面积，可以有效促进电子传递过程，起到放大电流信号，提高传感器灵敏度的作用。并且利用一锅法合成了NH₂-MIL-125，NH₂-MIL-125拥有较大的空间位阻从而可以阻碍电子传递，使电流信号降低，从而增加电流信号变化值，使得传感器可利用电化学信号变化来检测目标的含量，显著提高免疫传感器的稳定性和灵敏度，扩大检出范围，降低检出限。