



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105510599 B

(45)授权公告日 2017.08.04

(21)申请号 201610008706.1

(22)申请日 2016.01.07

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105510599 A

(43)申请公布日 2016.04.20

(73)专利权人 江苏大学

地址 212013 江苏省镇江市京口区学府路
301号

(72)发明人 由天艳 周丽敏

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/574(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

(56)对比文件

CN 104031634 A, 2014.09.10, 全文.

CN 102660259 A, 2012.09.12, 全文.

CN 102854183 A, 2013.01.02, 全文.

WO 2015110656 A1, 2015.07.30,

CN 102660259 A, 2012.09.12, 全文.

Ying Zhuo 等.Ulttrasensitive Apurinic/
Apyrimidinic Endonuclease IImmunosensing
Based on Self-Enhanced
Electrochemiluminescence of a Ru(II)
Complex.《analytical chemistry》.2013,第86
卷1053-1060.

Haijun Wang 等.A super intramolecular
self-enhanced electrochemiluminescence
immunosensor based on polymer chains
grafted on palladium nanocages.
《Nanoscale》.2014,第6卷10316-10322.

审查员 周洋

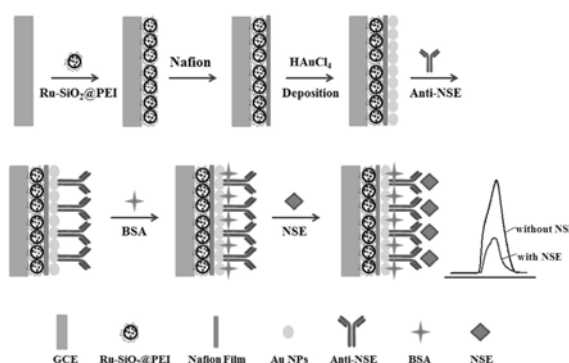
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54)发明名称

一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传
感器的制备方法及应用

(57)摘要

本发明提供了一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法,步骤如下:1)将Ru-SiO₂纳米粒子水分散液加入聚乙烯亚胺中,经搅拌、离心分离,所得产物水洗,得到Ru-SiO₂@PEI纳米粒子水分散液;2)将玻碳电极抛光打磨、水洗后,在其表面滴加Ru-SiO₂@PEI纳米粒子水分散液,晾干;再在玻碳电极表面滴加全氟磺酸溶液,晾干;随后将其放入氯金酸溶液中电镀,得到表面沉积有金纳米粒子的电极A;3)电极A在神经元特异性烯醇化酶抗体溶液中浸泡,4℃作用12h,随后对电极清洗,得到电极B;4)将电极B在牛血清白蛋白溶液中浸泡,清洗后制得基于Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器。该传感器主要用于神经元特异性烯醇化酶的检测,具有灵敏度高、线性范围宽、检测限低的特点。



1. 一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

S1: Ru-SiO₂@PEI纳米粒子溶液的制备: 将Ru-SiO₂纳米粒子水分散液加入聚乙烯亚胺(PEI)中,经搅拌、离心分离,所得产物水洗,得到Ru-SiO₂@PEI纳米粒子水分散液;

S2: 将玻碳电极抛光打磨、水洗后,在其表面滴加步骤S1中所述Ru-SiO₂@PEI纳米粒子水分散液,晾干;再在玻碳电极表面滴加全氟磺酸溶液,晾干;随后将其放入氯金酸溶液中电镀,得到表面沉积有金纳米粒子的电极A;

S3: 步骤S2中得到的电极A在神经元特异性烯醇化酶抗体溶液中浸泡,在4℃下作用12h,随后对电极清洗,得到电极B;

S4: 将步骤S3中得到的电极B在牛血清白蛋白溶液中浸泡,清洗后制得基于Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器。

2. 根据权利要求1所述的一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法,其特征在于,步骤S1中所述Ru-SiO₂纳米粒子的制备过程如下: 将7.08mL聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)、30mL环己烷、7.2mL正己醇和1.36mL水混合成油包水微乳滴混合液,然后加入320μL浓度为0.1mol/L的联吡啶钌(Ru(bpy)₃²⁺)溶液,搅拌30min后,使混合液混合均匀;接着依次加入400μL正硅酸乙酯和240μL氨水,持续搅拌24h;反应结束后,向体系中加入30mL丙酮,静置30min后,下层沉淀先用乙醇洗四次再用二次蒸馏水洗四次;制得Ru-SiO₂纳米粒子,最后将得到的Ru-SiO₂纳米粒子分散到10mL水中备用。

3. 根据权利要求1所述的一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法,其特征在于,步骤S1中Ru-SiO₂纳米粒子溶液的浓度为0.5mg/mL,所述聚乙烯亚胺(PEI)的浓度为5-40mg/mL,所述聚乙烯亚胺(PEI)和Ru-SiO₂纳米粒子溶液的体积比为1:1;搅拌的时间为9-15h;所得产物水洗3次以上。

4. 根据权利要求1所述的一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法,其特征在于,步骤S2中所述玻碳电极的直径为3mm,玻碳电极采用Al₂O₃抛光粉打磨、超纯水清洗;所述Ru-SiO₂@PEI纳米粒子水分散液的浓度为0.1-0.9mg/mL,体积为5μL;所述全氟磺酸溶液的质量浓度为0.04%,体积为2μL;玻碳电极在质量浓度为1%的氯金酸溶液中-0.2V下电镀15s。

5. 根据权利要求1所述的一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法,其特征在于,步骤S3中清洗电极的溶液为含0.5%Tween的0.01M的pH=7.4磷酸盐缓冲液。

6. 根据权利要求1所述的一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法,其特征在于,步骤S4中在37℃下,电极B在牛血清白蛋白溶液中浸泡1h,之后用含0.5%Tween的0.01M的pH=7.4磷酸盐缓冲液清洗;所述神经元特异性烯醇化酶抗体溶液的浓度为1μg/mL,体积为80μL。

一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法及应用

技术领域

[0001] 本发明属于新型功能材料和生物传感检测技术领域,尤其是涉及一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法及应用。

背景技术

[0002] 神经元特异性烯醇化酶(NSE)作为高特异性和高灵敏性的小细胞肺癌的肿瘤标记物,被广泛的应用于医疗诊断。而且,NSE活性水平改变同小细胞肺癌的临床过程具有很好的相关性。患者经治疗后,若肿瘤缩小,NSE水平明显降低,相反,若NSE在治疗过程中不降低,临床上肿瘤也不见治疗反应。由于对NSE含量的测定可以为疾病的诊断及治疗情况提供重要信息,目前已经发展了ELLSA法、荧光免疫法,电化学免疫法和化学发光法等对NSE水平进行分析检测。然而,每种方法都有其优缺点,发展新的简单灵敏的NSE检测方法仍然十分重要。

[0003] 电化学发光分析方法由于灵敏度高、操作简便和设备简单等优点被广泛用于环境监测、药物分析、生物传感等领域。由于电化学发光物本身产生的发光信号较低,通常会在体系中加入共反应剂来提高发光信号进而提高分析检测效果。近来,自增强电化学发光复合物将发光物及其共反应剂同时负载到复合物上,缩短了电子传递距离,提高了发光效率,使得体系发光信号大大提高的同时,避免了共反应剂的加入,从而进一步简化了电化学发光检测体系。基于自增强电化学发光复合物构建的传感器,灵敏度高,选择性好且制备过程简单。

发明内容

[0004] 针对现有技术中存在不足,本发明提供了一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法,主要用于神经元特异性烯醇化酶的检测,其具有灵敏度高、线性范围宽、检测限低的特点。

[0005] 本发明是通过以下技术手段实现上述技术目的的。

[0006] 一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法,包括如下步骤:

[0007] S1:Ru-SiO₂@PEI纳米粒子溶液的制备:将Ru-SiO₂纳米粒子水分散液加入聚乙烯亚胺(PEI)中,经搅拌、离心分离,所得产物水洗,得到Ru-SiO₂@PEI纳米粒子水分散液;

[0008] S2:将玻碳电极抛光打磨、水洗后,在其表面滴加步骤S1中所述Ru-SiO₂@PEI纳米粒子水分散液,晾干;再在玻碳电极表面滴加全氟磺酸溶液,晾干;随后将其放入氯金酸溶液中电镀,得到表面沉积有金纳米粒子的电极A;

[0009] S3:步骤S2中得到的电极A在神经元特异性烯醇化酶抗体溶液中浸泡,4℃作用12h,随后对电极清洗,得到电极B;

[0010] S4:将步骤S3中得到的电极B在牛血清白蛋白溶液中浸泡,清洗后制得基于Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器。

[0011] 优选的,步骤S1中所述Ru-SiO₂纳米粒子的制备过程如下:将7.08mL聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)、30mL环己烷、7.2mL正己醇和1.36mL水混合成油包水微乳滴混合液,然后加入320μL浓度为0.1mol/L的联吡啶钌(Ru(bpy)₃²⁺)溶液,搅拌30min后,使混合液混合均匀;接着依次加入400μL正硅酸乙酯和240μL氨水,持续搅拌24h;反应结束后,向体系中加入30mL丙酮,静置30min后,下层沉淀先用乙醇洗四次再用二次蒸馏水洗四次;制得Ru-SiO₂纳米粒子,最后将得到的Ru-SiO₂纳米粒子分散到10mL水中备用。

[0012] 优选的,步骤S1中Ru-SiO₂纳米粒子溶液的浓度为0.5mg/mL,所述聚乙烯亚胺(PEI)的浓度为5-40mg/mL,所述聚乙烯亚胺(PEI)和Ru-SiO₂纳米粒子溶液的体积比为1:1;搅拌的时间为9-15h;所得产物水洗3次以上。

[0013] 优选的,步骤S2中所述玻碳电极的直径为3mm,玻碳电极采用Al₂O₃抛光粉打磨、超纯水清洗;所述Ru-SiO₂@PEI纳米粒子水分散液的浓度为0.1-0.9mg/mL,体积为5μL;所述全氟磺酸溶液的质量浓度为0.04%,体积为2μL;玻碳电极在质量浓度为1%的氯金酸溶液中-0.2V下电镀15s。

[0014] 优选的,步骤S3中清洗电极的溶液为含0.5%Tween的0.01M的pH=7.4磷酸盐缓冲液。

[0015] 优选的,步骤S4中在37℃下,电极B在牛血清白蛋白溶液中浸泡1h,之后用含0.5%Tween的0.01M的pH=7.4磷酸盐缓冲液清洗;所述神经元特异性烯醇化酶抗体溶液的浓度为1μg/mL,体积为80μL。

[0016] 上述免疫传感器在检测神经元特异性烯醇化酶中的应用。

[0017] 优选的,包括如下步骤:

[0018] 将制得的传感器浸入到80μL的浓度为10fg/mL-10ng/mL的不同神经元特异性烯醇化酶溶液中,37℃下作用80min;之后用含0.5%Tween的0.01M的pH=7.4磷酸盐缓冲液对电极进行清洗,得到的电极作为工作电极,饱和Ag/AgCl电极作为参比电极,铂丝电极作为对电极,电化学发光信号由MPI-E电化学发光分析仪记录和检测;在0.1M的pH=7.5的磷酸盐缓冲液中进行测试;扫描电压范围0-1.35V,扫描速度0.1V·s⁻¹,光电倍增管高压设为800V。

[0019] 本发明的有益效果:

[0020] (1) 利用自增强电化学发光物构建免疫传感器,无需额外加入共反应剂,简化实验步骤,节约实验试剂。

[0021] (2) 本发明制备的电化学发光免疫传感器用于神经元特异性烯醇化酶的检测,最优条件下,检测线性范围为10fg/mL-10ng/mL,横跨七个数量级,检测限低至10fg/mL;将构建的传感器的分析效果与文献报道的其它方法进行比较,结果较好。

附图说明

[0022] 图1是Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的传感器制备工艺过程图。

[0023] 图2是本发明中制备的Ru-SiO₂@PEI纳米粒子的TEM图片。

具体实施方式

[0024] 下面结合附图以及具体实施例对本发明作进一步的说明,但本发明的保护范围并不限于此。

[0025] 实施例1

[0026] 如图1所示:

[0027] S1: Ru-SiO₂@PEI纳米粒子溶液的制备:

[0028] 将7.08mL聚乙二醇辛基苯基醚 (Triton X-100)、30mL环己烷、7.2mL正己醇和1.36mL水混合成油包水微乳滴混合液, 然后加入320μL浓度为0.1mol/L的联吡啶钌溶液, 搅拌30min后, 依次加入400μL正硅酸乙酯和240μL氨水, 持续搅拌24h; 反应结束后, 向体系中加入30mL丙酮, 静置30min后, 下层沉淀先用乙醇洗四次再用二次蒸馏水洗四次, 制得Ru-SiO₂纳米粒子, 最后将得到的Ru-SiO₂纳米粒子分散到10mL水中备用;

[0029] 取10mL浓度为0.5mg/mL上述Ru-SiO₂纳米粒子水分散液加入10mL浓度为5mg/mL、的聚乙烯亚胺 (PEI) 中, 搅拌9h, 离心并将所得产物用水洗涤3次, 得到Ru-SiO₂@PEI纳米粒子, 见图2;

[0030] S2: 将直径为3mm的玻碳电极经Al₂O₃抛光粉打磨、超纯水清洗; 取5μL 0.1mg/mL Ru-SiO₂@PEI纳米粒子溶液滴加到电极表面, 室温下晾干; 随后在电极表面滴加2μL质量浓度0.04%全氟磺酸溶液 (Nafion), 室温下晾干, 防止Ru-SiO₂@PEI纳米粒子从电极上掉落; ; 随后放入质量浓度为1%的氯金酸 (HAuCl₄) 溶液中, 在-0.2V下电镀15s, 表面沉积金纳米粒子, 用于连接目标抗原; 得到电极A;

[0031] S3: 将电极A在80μL 1μg/mL神经元特异性烯醇化酶抗体溶液中浸泡, 4℃下放置12h; 随后用包含0.5% Tween的0.01M的pH=7.4磷酸盐缓冲液 (PBS) 清洗电极, 得到电极B;

[0032] S4: 37℃下, 将电极B在80μL浓度为1%的牛血清白蛋白溶液 (BSA) 中浸泡1h, 封闭电极表面非特异性活性位点, 之后用含0.5% Tween的0.01M的pH=7.4磷酸盐缓冲液对电极进行清洗, 制得基于Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器。

[0033] 实施例2

[0034] S1: Ru-SiO₂@PEI纳米粒子溶液的制备:

[0035] 将7.08mL聚乙二醇辛基苯基醚 (Triton X-100)、30mL环己烷、7.2mL正己醇和1.36mL水混合成油包水微乳滴混合液, 然后加入320μL浓度为0.1mol/L的联吡啶钌溶液, 搅拌30min后, 依次加入400μL正硅酸乙酯和240μL氨水, 持续搅拌24h; 反应结束后, 向体系中加入30mL丙酮, 静置30min后, 下层沉淀先用乙醇洗四次再用二次蒸馏水洗四次, 制得Ru-SiO₂纳米粒子, 最后将得到的Ru-SiO₂纳米粒子分散到10mL水中备用;

[0036] 取10mL浓度为0.5mg/mL上述Ru-SiO₂纳米粒子水分散液加入10mL浓度为20mg/mL、的聚乙烯亚胺 (PEI) 中, 搅拌12h, 离心并将所得产物用水洗涤3次, 得到Ru-SiO₂@PEI纳米粒子;

[0037] S2: 将直径为3mm的玻碳电极经Al₂O₃抛光粉打磨、超纯水清洗; 取5μL 0.5mg/mL Ru-SiO₂@PEI纳米粒子溶液滴加到电极表面, 室温下晾干; 随后在电极表面滴加2μL质量浓度0.04%全氟磺酸溶液 (Nafion), 室温下晾干, 防止Ru-SiO₂@PEI纳米粒子从电极上掉落; ; 随后放入质量浓度为1%的氯金酸 (HAuCl₄) 溶液中, 在-0.2V下电镀15s, 表面沉积金纳米粒子, 用于连接目标抗原; 得到电极A;

[0038] S3: 将电极A在80μL 1μg/mL神经元特异性烯醇化酶抗体溶液中浸泡, 4℃下放置12h; 随后用包含0.5% Tween的0.01M的pH=7.4磷酸盐缓冲液 (PBS) 清洗电极, 得到电极B;

[0039] S4: 37℃下, 将电极B在80μL浓度为1%的牛血清白蛋白溶液 (BSA) 中浸泡1h, 封闭

电极表面非特异性活性位点,之后用含0.5%Tween的0.01M的pH=7.4磷酸盐缓冲液对电极进行清洗,制得基于Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器。

[0040] 实施例3

[0041] S1:Ru-SiO₂@PEI纳米粒子溶液的制备:

[0042] 将7.08mL聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)、30mL环己烷、7.2mL正己醇和1.36mL水混合成油包水微乳滴混合液,然后加入320μL浓度为0.1mol/L的联吡啶钌溶液,搅拌30min后,依次加入400μL正硅酸乙酯和240μL氨水,持续搅拌24h;反应结束后,向体系中加入30mL丙酮,静置30min后,下层沉淀先用乙醇洗四次再用二次蒸馏水洗四次,制得Ru-SiO₂纳米粒子,最后将得到的Ru-SiO₂纳米粒子分散到10mL水中备用;

[0043] 取10mL浓度为0.5mg/mL上述Ru-SiO₂纳米粒子水分散液加入10mL浓度为40mg/mL、的聚乙烯亚胺(PEI)中,搅拌15h,离心并将所得产物用水洗涤3次,得到Ru-SiO₂@PEI纳米粒子;

[0044] S2:将直径为3mm的玻碳电极经Al₂O₃抛光粉打磨、超纯水清洗;取5μL0.9mg/mL Ru-SiO₂@PEI纳米粒子溶液滴加到电极表面,室温下晾干;随后在电极表面滴加2μL质量浓度0.04%全氟磺酸溶液(Nafion),室温下晾干,防止Ru-SiO₂@PEI纳米粒子从电极上掉落;;随后放入质量浓度为1%的氯金酸(HAuCl₄)溶液中,在-0.2V下电镀15s,表面沉积金纳米粒子,用于连接目标抗原;得到电极A;

[0045] S3:将电极A在80μL 1μg/mL神经元特异性烯醇化酶抗体溶液中浸泡,4℃下放置12h;随后用包含0.5%Tween的0.01M的pH=7.4磷酸盐缓冲液(PBS)清洗电极,得到电极B;

[0046] S4:37℃下,将电极B在80μL浓度为1%的牛血清白蛋白溶液(BSA)中浸泡1h,封闭电极表面非特异性活性位点,之后用含0.5%Tween的0.01M的pH=7.4磷酸盐缓冲液对电极进行清洗,制得基于Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器。

[0047] 实施例2中所制备得到的传感器应用于检测神经元特异性烯醇化酶(NSE):

[0048] 1) 将实施例2中制得的传感器所制备得到的传感器作为工作电极,饱和Ag/AgCl电极为参比电极,铂丝电极为对电极,由MPI-E电化学发光分析仪记录和检测电化学发光信号;在0.1M PBS(pH=7.5)缓冲溶液中进行测试;扫描电压范围0-1.35V,扫描速度0.1Vs⁻¹,实验中光电倍增管高压设为800V;该信号记为I₀。

[0049] 2) 将实施例2制得的传感器浸入到80μL的浓度为10fg/mL-10ng/mL的不同神经元特异性烯醇化酶(NES)溶液中,37℃下作用80min,之后用含0.5%Tween的0.01M PBS(pH=7.4)对电极进行清洗,得到的电极作为工作电极;饱和Ag/AgCl电极为参比电极;铂丝电极为对电极;由MPI-E电化学发光分析仪记录和检测电化学发光信号;在0.1M PBS(pH=7.5)缓冲溶液中进行测试,扫描电压范围0-1.35V,扫描速度0.1Vs⁻¹,实验中光电倍增管高压设为800V;不同浓度的神经元特异性烯醇化酶溶液中作用后的电极信号记为I_x。

[0050] 由测试结果可以看出,随着NSE浓度的增加,电化学发光信号逐渐降低,降低的强度 $\Delta I = I_0 - I_x$ 。根据 ΔI 与神经元特异性烯醇化酶浓度之间的关系,绘制工作曲线为 $\Delta I = 207.51 \times \log C_{NSE} + 3599.03$,线性范围为10fg/mL-10ng/mL,检测限为10fg/mL。

[0051] 表1为本发明传感器对NSE的分析效果与其它文献报道方法的比较

[0052]

方法	线性范围(mg mL ⁻¹)	检测限(mg mL ⁻¹)	参考文献
阻抗免疫分析法	1.0×10 ⁻⁹ -5.0×10 ⁻⁸	5.0×10 ⁻¹⁰	1
LC-MS/MS 免疫分析法		2.1×10 ⁻⁷	2
NiHCFNPs 复合物放大电化 学信号法	1.0×10 ⁻⁹ -1.0×10 ⁻⁴	3.0×10 ⁻¹⁰	3
双色荧光量子点同时检测 多种标志物	3.0×10 ⁻⁶ -1.0×10 ⁻⁴	1.0×10 ⁻⁶	4
基于 ZnCdHgSe 量子点及离	1.0×10 ⁻⁹ -1.0×10 ⁻⁴	2.0×10 ⁻¹⁰	5

[0053]

子液体复合物的光电化学

免疫法

基于化学发光能量共振转	4.2×10 ⁻⁷ - 4.4×10 ⁻⁵	2.1×10 ⁻⁷	6
-------------	---	----------------------	---

移的微流控免疫分析

基于 CaCO ₃ /AuNCs 复合物	5.0×10 ⁻⁹ - 1.0×10 ⁻⁶	2.0×10 ⁻⁹	7
---------------------------------	---	----------------------	---

的荧光及电化学分析法	5.0×10 ⁻¹⁰ - 2.0×10 ⁻⁶	1.0×10 ⁻¹⁰	
------------	--	-----------------------	--

基于 Ru-SiO ₂ @PEI 复合物	1.0×10 ⁻¹¹ - 1.0×10 ⁻⁵	1.0×10 ⁻¹¹	本发明
---------------------------------	--	-----------------------	-----

的 ECL 免疫分析

[0054] 参考文献1:Barton,A.C.,Davis,F.&Higson,S.P.J.Labelless immunosensor assay for the stroke marker protein neuron specific enolase based upon an alternating current impedance protocol.Anal.Chem.80,9411-9416(2008) .

[0055] 参考文献2.Torsetnes,S.B.et al.Multiplexing determination of small cell lung cancer biomarkers and their isovariants in serum by immunocapture LC-MS/MS.Anal.Chem.86,6983-6992(2014) .

[0056] 参考文献3.Han,J.,Zhuo,Y.,Chai,Y.Q.,Yuan,Y.L.&Yuan,R.Novel electrochemical catalysis as signal amplified strategy for label-free detection of neuron-specific enolase.Biosens.Bioelectron.31,399-405(2012) .

[0057] 参考文献4.Li,H.,Cao,Z.,Zhang,Y.,Lau,C.&Lu,J.Simultaneous detection of two lung cancer biomarkers using dual-color fluorescence quantum dots.Analyst 136,1399-1405(2011) .

[0058] 参考文献5.Yu,X.et al.White-light-exciting,layer-by-layer-assembled ZnCdHgSe quantum dots/polymerized ionic liquid hybrid film for highly sensitive photoelectrochemical immunosensing of neuron specific enolase.Anal.Chem.87,4237-4244(2015) .

[0059] 参考文献6.Yang,T.,Vdovenko,M.,Jin,X.,Sakharov,I.Y.&Zhao,S.Highly sensitive microfluidic competitive enzyme immunoassay based on

chemiluminescence resonance energy transfer for the detection of neuron-specific enolase. Electrophoresis 35, 2022-2028 (2014).

[0060] 参考文献7. Peng, J. et al. Calcium carbonate-gold nanocluster hybrid spheres: synthesis and versatile application in immunoassays. Chem.-Eur. J. 18, 5261-5268 (2012).

[0061] 所述实施例为本发明的优选的实施方式,但本发明并不限于上述实施方式,在不背离本发明的实质内容的前提下,本领域技术人员能够做出的任何显而易见的改进、替换或变型均属于本发明的保护范围。

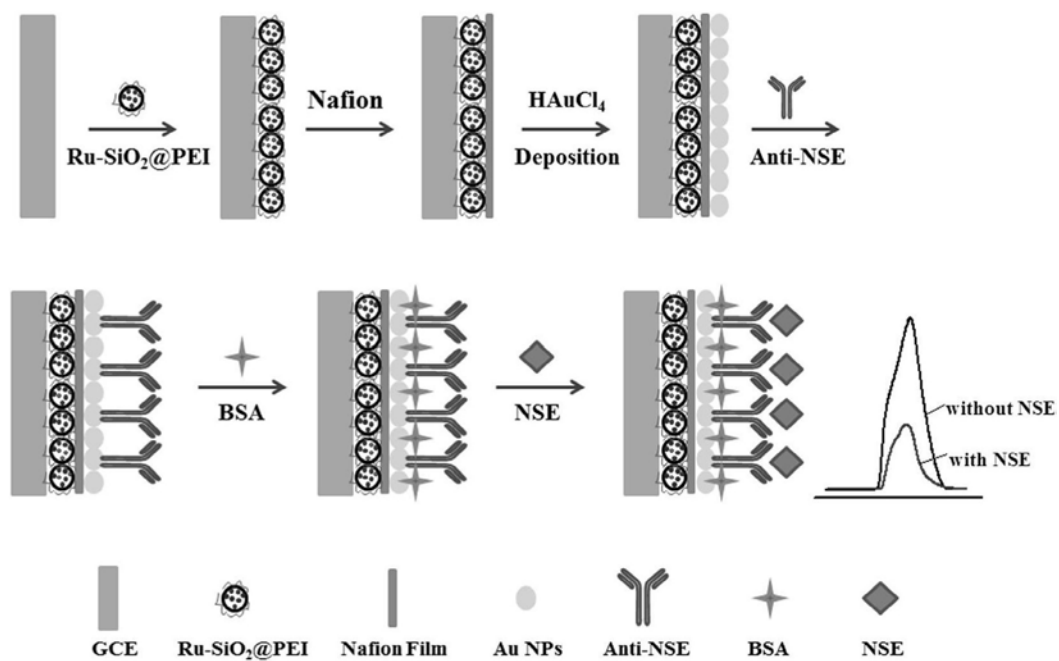


图1

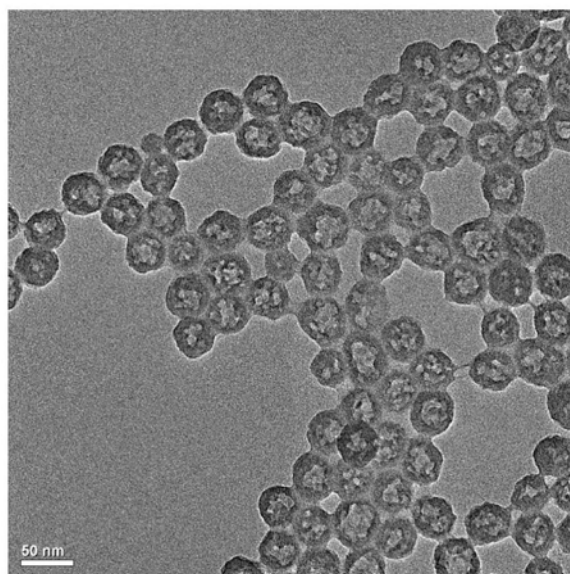


图2

专利名称(译)	一种Ru-SiO ₂ @PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法及应用		
公开(公告)号	CN105510599B	公开(公告)日	2017-08-04
申请号	CN201610008706.1	申请日	2016-01-07
[标]申请(专利权)人(译)	江苏大学		
申请(专利权)人(译)	江苏大学		
当前申请(专利权)人(译)	江苏大学		
[标]发明人	由天艳 周丽敏		
发明人	由天艳 周丽敏		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/574 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/57423 G01N33/68		
审查员(译)	周洋		
其他公开文献	CN105510599A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器的制备方法，步骤如下：1)将Ru-SiO₂纳米粒子水分散液加入聚乙烯亚胺中，经搅拌、离心分离，所得产物水洗，得到Ru-SiO₂@PEI纳米粒子水分散液；2)将玻碳电极抛光打磨、水洗后，在其表面滴加Ru-SiO₂@PEI纳米粒子水分散液，晾干；再在玻碳电极表面滴加全氟磺酸溶液，晾干；随后将其放入氯金酸溶液中电镀，得到表面沉积有金纳米粒子的电极A；3)电极A在神经元特异性烯醇化酶抗体溶液中浸泡，4℃作用12h，随后对电极清洗，得到电极B；4)将电极B在牛血清白蛋白溶液中浸泡，清洗后制得基于Ru-SiO₂@PEI纳米粒子构建的免疫传感器。该传感器主要用于神经元特异性烯醇化酶的检测，具有灵敏度高、线性范围宽、检测限低的特点。

