



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110632150 A

(43)申请公布日 2019.12.31

(21)申请号 201910935754.9

(22)申请日 2019.09.29

(71)申请人 惠州市钰芯电子材料有限公司
地址 510000 广东省惠州市大亚湾西区科
技创新园科技5号

(72)发明人 奚亚男 胡淑锦

(74)专利代理机构 佛山帮专知识产权代理事务
所(普通合伙) 44387

代理人 曾凤云

(51) Int. Cl.

G01N 27/327(2006.01)

G01N 27/48(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

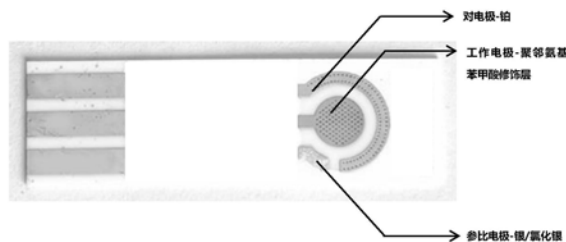
权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54)发明名称

一种可用于有机磷农药检测的免标记免疫
传感器及其制备方法

(57)摘要

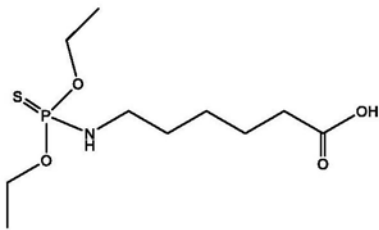
本发明提供了一种可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器及其制备方法。本发明利用ITO电极为基底电极,将对硫磷宽谱型多克隆抗体共价交联到聚邻氨基苯甲酸修饰ITO电极表面,并特异性包被弱亲和性抗原。当加入对硫磷抗原后,其与包被的抗原竞争抗体。本发明制备的免疫传感器在对硫磷为1~10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内具有较好的线性响应,相关系数为0.9985,检出限为0.073 $\mu\text{g/mL}$ 。



1. 一种可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器,其特征在于,所述免疫传感器以ITO电极为基底,包括工作电极,所述工作电极包括聚邻氨基苯甲酸修饰的ITO电极,以及可与目标待测物特异性结合的多克隆抗体、可与所述多克隆抗体特异性结合的包被抗原,所述多克隆抗体固定于聚邻氨基苯甲酸修饰层。

2. 一种权利要求1所述的多克隆抗体,其特征在于,所述多克隆抗体为抗二甲氧基硫代磷酸酯类农药的宽谱特异性抗体。

3. 一种权利要求1所述的包被抗原,其特征在于,所述包被抗原具体结构如式(1):



4. 根据权利要求1~3所述的可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1、在电极表面电聚合邻氨基苯甲酸,清洗干燥后得到聚邻氨基苯甲酸修饰的电极;

S2、将所述步骤S1制得的修饰电极活化后,将多克隆抗体滴加于活化后的电极表面,静置清洗干燥;

S3、将所述步骤S2得到的固定有多克隆抗体的修饰电极用乙醇胺溶液封闭,清洗干燥;

S4、在所述步骤S3得到的修饰电极置于包被抗原溶液,静置反应后清洗干燥,制得所述免疫传感器。

5. 根据权利要求4所述方法制备的可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器的制备方法,其特征在于,所述步骤S1中所述邻氨基苯甲酸使用1mol/L硫酸溶液配制,浓度为50mmol/L。

6. 根据权利要求4所述方法制备的一种可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器的制备方法,其特征在于,所述步骤S2中所述活化为取1mg/100 μ L的EDC/NHS溶液100 μ L,并将其滴加在所述步骤S1中制得的修饰电极表面,在室温下活化10~15min。

7. 根据权利要求4所述方法制备的一种可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器的制备方法,其特征在于,所述步骤S2中将10 μ g/mL的多克隆抗体滴加在所述步骤S1中制得的修饰电极表面,在室温下反应20~30min。

8. 根据权利要求4所述方法制备的一种可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器的制备方法,其特征在于,所述步骤S3中使用1mol/L的乙醇胺溶液进行封板反应,在室温下封板30min。

9. 根据权利要求4所述方法制备的一种可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器的制备方法,其特征在于,所述步骤S4中将所述步骤S3得到的修饰电极置入20 μ g/mL包被抗原溶液,在室温下反应60~80min。

一种可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于电化学免疫传感器技术领域,涉及一种免标记免疫传感器及其制备方法。

背景技术

[0002] 有机磷农药在农产品生产过程中被广泛使用与对虫害的控制,与之对应的,有机磷农药在食物链和生态环境中残留的问题也尤为突出。有机磷农药对人类及动物具有急性毒性,能够抑制胆碱酯酶活性或破坏内分泌系统,从而引起神经功能紊乱、语言失常等中毒症状。我国在2002年已经明令禁止或限制17种有机磷农药在蔬菜、果树、茶叶及中草药材上的使用。但有机磷农药引起的中毒事件仍时有发生,因此有必要建立有效快速的有机磷检测方法,以保障饮食安全。

[0003] 免疫分析法是一种灵敏、高效、低成本的微量农药残留检测手段。宽谱特异性免疫分析法可以将可识别单独目标待测物的多种抗体混合起来进行检测,但是更加常用的方法是制备一种宽谱特异性抗体,利用含有与多种待测物相同特征结构的通用半抗原来制备。例如抗二甲氧基硫代磷酸酯类宽谱特异性抗体可识别包被抗原以及多种二甲氧基硫代磷酸酯类农药。

[0004] 电化学免疫传感器是传感器研究的热点之一,它是基于抗原抗体的特异性反应进行定量或半定量分析的集成器件。其中抗原、抗体是分子识别元件,且与电化学传感元件直接接触,并通过传感元件把某种化学物质浓度信号转变成为相应的电信号。电化学免疫传感器具有免疫传感器选择性好、种类多、测试费用低、适合联机化的优点,以及电化学体系可实现在线检测、不受样品颜色、浊度的影响、所需仪器相对简单等优点,已被广泛应用于医疗、食品检测、环境检测等领域。

[0005] 因此,提供一种有效快速的有机磷检测方法,并将其应用于电化学免疫传感器,符合免疫传感器的应用需求与发展方向。

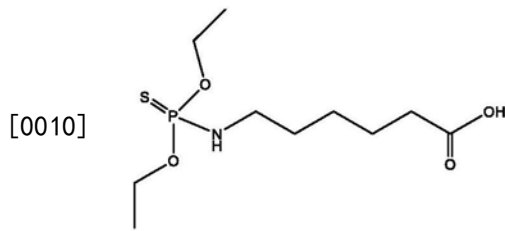
发明内容

[0006] 本发明的目的是要解决需要一种有效快速的有机磷检测方法的问题,而提供一种可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器。

[0007] 本发明提供的可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器,以ITO电极为基底,包括工作电极,工作电极包括聚邻氨基苯甲酸修饰的ITO电极,以及可与目标待测物特异性结合的多克隆抗体、可与所述多克隆抗体特异性结合的包被抗原,其中多克隆抗体固定于聚邻氨基苯甲酸修饰层。

[0008] 多克隆抗体为抗二甲氧基硫代磷酸酯类农药的宽谱特异性抗体。

[0009] 包被抗原具体结构如式(1):



[0011] 铟锡金属氧化物(Indium Tin Oxide,ITO)导电玻璃是一种良好的导电材料,它是在钠钙基或硅硼基片玻璃的基础上,利用磁控溅射的方法镀上一层ITO膜加工制作而成的半导体透明玻璃。ITO电极因具有导电性较高、电化学窗口较宽、电化学及物理性质稳定等特点。而且ITO电极成本低,可制成一次性电极,极大降低了检测成本及时间。

[0012] 本发明的另一目的是提供一种可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器的制备方法。

[0013] 具体包括以下步骤:

[0014] S1、在电极表面电聚合邻氨基苯甲酸,清洗干燥后得到聚邻氨基苯甲酸修饰的电极;

[0015] S2、将所述步骤S1制得的修饰电极活化后,将多克隆抗体滴加于活化后的电极表面,静置清洗干燥;

[0016] S3、将所述步骤S2得到的固定有多克隆抗体的修饰电极用乙醇胺溶液封闭,清洗干燥;

[0017] S4、在所述步骤S3得到的修饰电极置于包被抗原溶液,静置反应后清洗干燥,制得所述免疫传感器。

[0018] 本发明使用循环伏安法,在电极表面电聚合邻氨基苯甲酸,扫描范围为0~1.0V,扫描速度为100mV/s,扫描20圈后用PBS溶液清洗电极表面的硫酸溶液,得到聚邻氨基苯甲酸修饰的电极。

[0019] 进一步,所述步骤S1中所述邻氨基苯甲酸使用1mol/L硫酸溶液配制,浓度为50mmol/L。

[0020] 进一步,所述步骤S2中所述活化为取1mg/100 μ L的EDC/NHS溶液100 μ L,并将其滴加在所述步骤S1中制得的修饰电极表面,在室温下活化10~15min,优选为10min。

[0021] 活化反应完成后,抽去反应后的EDC/NHS溶液,在电极表面滴加多克隆抗体。通过EDC/NHS活化电极表面的羧基,交联多克隆抗体,使其固定在电极表面。经过测试发现,当抗体浓度小于5 μ g/mL时,由于电极表面生物膜较稀疏,对于探针分子的阻碍作用较小,免疫响应灵敏度较低;而当抗体浓度高于10 μ g/mL时,免疫响应趋于稳定,且此后不再随抗体浓度变化而升高。因此从响应灵敏度和节约成本方面考虑,选定多克隆抗体浓度为10 μ g/mL。

[0022] 进一步,所述步骤S2中将10 μ g/mL的多克隆抗体滴加在所述步骤S1中制得的修饰电极表面,在室温下反应20~30min,优选为20min。

[0023] 进一步,所述步骤S3中使用1mol/L的乙醇胺溶液进行封板反应,在室温下封板30min。

[0024] 将多克隆抗体固定在电极表面之后,通过抗原抗体的特异性结合将包被抗原连接到电极表面,形成包被层。经过测试发现,当包被抗原浓度较小时,形成抗原抗体复合物的量少,不易阻止探针分子在电极表面的传递;当包被抗原浓度为20 μ g/mL时,抗原抗体以较

适合的比例形成复合物,有效阻碍了电子传递,免疫响应反应最大;当包被抗原溶液浓度增加至100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,免疫响应反应减小。这是由于抗原抗体特异性反应具有一定的比例性,只有在两者比例合适时才会出现最强的免疫响应。因此选定包被抗原溶液浓度为20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

[0025] 抗原抗体的免疫反应时间一定程度上决定了免疫反应进行是否完全。在多克隆抗体浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$,包被抗原溶液浓度为20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 情况下进行测试,发现抗原-抗体免疫反应在60min后趋于平衡,因此选定包被抗原反应时间为60min。

[0026] 进一步,所述步骤S4中将所述步骤S3得到的修饰电极置入20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 包被抗原溶液,在室温下反应60~80min,优选为60min。

[0027] 二甲氧基硫代磷酸酯类农药多克隆抗体可特异性识别多种含有二甲氧基硫代磷酸酯类结构的农药分子,特异性识别谱宽且灵敏度较高。包被抗原是在卵清蛋白上交联采用含有目标待测物共有的二甲氧基硫代磷酸酯“次级结构”片段的半抗原。该包被抗原可与多克隆抗体特异性结合,但结合能力较农药分子(例如对硫磷等)弱,可通过竞争结合从抗体上置换下来。

[0028] 采用差分脉冲伏安法和交流阻抗对本发明制备的免疫传感器进行电化学特性检测。

[0029] 将本发明制备的免疫传感器置于1mmol/L的铁氰化钾溶液中进行差分脉冲伏安和交流阻抗检测。由于包被了一层大分子抗原,铁氰化钾在电极表面的电子传递能力受到阻碍较大,电流较小。此后再加入农药分子(对硫磷)。经过一定时间的温育后,由于农药分子与多克隆抗体的结合能力比包被抗原强,农药分子优先与抗体结合,而包被抗原游离到溶液中。到达竞争平衡阶段,农药小分子置换了部分包被抗原大分子并与电极表面的抗体结合,此时铁氰化钾在电极表面的电子传递能力增强,电流增大。电流的增量与待测物(对硫磷)浓度成正比,以此来确定对硫磷的浓度,实现对有机磷农药的检测。

[0030] 如附图2所示,以铁氰化钾为探针表征了免疫传感器的制备及免疫应答过程,对裸电极(a)、固定了多克隆抗体的修饰电极(b)、本发明制备的免疫传感器(c)、加入强抗原(对硫磷农药)的免疫传感器(d)进行差分脉冲伏安法表征。与裸电极(a)相比,固定了多克隆抗体的修饰电极(b)的电流响应减小,这是由于在ITO修饰电极表面固定化的抗体在一定程度上阻碍了铁氰化根离子在电极表面的氧化还原。

[0031] 当包被抗原与电极表面的抗体特异性结合并形成抗原-抗体复合物后,探针分子的响应电流大大减弱(c),这是由于包被抗原是蛋白质分子,能进一步阻碍探针分子与电极表面的电子传递。加入强抗原(对硫磷农药)后,由于其能与包被抗原竞争抗体的结合位点,使得部分包被抗原被取代并从抗体表面脱落,由于强抗原体积及分子量较包被抗原小得多,使得电极界面附近的电阻减少,故探针分子的响应电流有所增加(d)。

[0032] 如附图3所示,利用交流阻抗谱法对电极表面的修饰及免疫应答过程进行表征,得到裸电极(a)、固定了多克隆抗体的修饰电极(b)、本发明制备的免疫传感器(c)、加入强抗原(对硫磷农药)的免疫传感器(d)的电化学交流阻抗法表征图。裸电极(a)在高频部分出现一个半圆,其界面电阻(R_{ct})值为3500 Ω 。当电极表面先后修饰聚邻氨基苯甲酸及多克隆抗体之后(b),其界面电阻(R_{ct})值增大至4500 Ω ,表明抗体已经固定在电极表面。

[0033] 当包被抗原与多克隆抗体抗体反应后(c),其界面电阻(R_{ct})值进一步增大至9500 Ω ,表明固定的多克隆抗体保持了良好的生物活性,可与包被抗原进行特异性反应,生成的

免疫复合物进一步阻碍了探针分子向电极表面的传递。加入对硫磷农药后(d),其界面电阻(R_{ct})值减少为6500 Ω ,表明包被抗原部分脱离电极表面,而农药小分子对铁氰化根离子探针分子的阻碍能力较小,提高了铁氰化根离子在电极表面的电子传递能力。

[0034] 综上可证明,本发明制备的电化学免疫传感器遇到对硫磷农药后可以较好的置换出包被抗原,通过置换前后电流的差值可对农药分子的浓度进行定量测定。

[0035] 对本发明制备的免疫传感器进行有机磷农药的响应特性测试。

[0036] 如附图4所示,检测本发明制备的电化学免疫传感器对于对磷硫抗原的响应特性,得到标准曲线图。具体采用差分脉冲伏安法,记录加入对硫磷反应60min前后的DPV响应(分别为 I_1 及 I_2)。以 $\Delta I(\%) = (I_2 - I_1) / I_1 \times 100\%$ 来判断对硫磷分子的含量。结果表明, ΔI 与对硫磷抗原的浓度在0.01~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内呈S型曲线关系,在1~10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内具有较好的线性响应,相关系数为0.9986,并可计算出,本发明制备的电化学免疫传感器对对硫磷抗原浓度的最低检出浓度为0.073 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

[0037] 将本发明制备的修饰了多克隆抗体的电极在4 $^{\circ}\text{C}$ 环境下干态放置一周,然后结合包被抗原,对对硫磷抗原进行检测,响应电流下降约10%,可证明检测本发明制备的电化学免疫传感器稳定性较好。

[0038] 对本发明制备的电化学免疫传感器进行重现性测试,具体是将不同放置时间的免疫传感器对同一浓度的对硫磷溶液进行检测,相对标准偏差 $<4\%$,可证明检测本发明制备的电化学免疫传感器重现性较好。

[0039] 本发明采用强抗原置换弱抗原的方法,利用ITO电极制备了可以检测对硫磷农药的免标记免疫传感器。制备过程无需标记物,使用仪器较简单,ITO电极成本较低,可制成一次性电极,极大降低了检测成本及时间,同时可移动性也较强,适合野外采样直接测定。

[0040] 本发明的有益效果是:

[0041] (1) 本发明在ITO电极表面采用强抗原置换弱抗原的方法实现对硫磷农药的检测,并制成免疫传感器,传感器总体具有良好的重现性、稳定性及目标待测物响应性能。

[0042] (2) 本发明的免疫传感器制备方法无需标记物,使用仪器简单,简易可行,成本较低。

[0043] (3) 本发明制备的免疫传感器可作为一次性电极,极大降低了检测成本及时间。

附图说明

[0044] 利用附图对发明作进一步说明,但附图中的实施例不构成对本发明的任何限制,对于本领域的普通技术人员,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据以下附图获得其它附图。

[0045] 图1是本发明制备电化学免疫传感器使用的包被抗原的结构式。

[0046] 图2是裸电极(a)、固定了多克隆抗体的修饰电极(b)、本发明制备的免疫传感器(c)、加入强抗原(对硫磷农药)的免疫传感器(d)的差分脉冲伏安法表征图。

[0047] 图3是裸电极(a)、固定了多克隆抗体的修饰电极(b)、本发明制备的免疫传感器(c)、加入强抗原(对硫磷农药)的免疫传感器(d)的电化学交流阻抗法表征图。

[0048] 图4是本发明制备的电化学免疫传感器对于对磷硫抗原的响应特性检测图。

[0049] 图5是本发明制备的电化学免疫传感器的实物图。

具体实施方式

[0050] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚明白,结合以下具体实施例,并参照附图,对本发明进一步详细说明。

[0051] 实施例1

[0052] 电化学免疫传感器的制备:

[0053] (1) 修饰电极的制备

[0054] 将ITO电极,依次在丙酮,无水乙醇,纯水中超声清洗2min,晾干后置于50mmol/L邻氨基苯甲酸溶液中,使用循环伏安法在0~1.0V内以扫速100mV/s扫描20圈,然后用PBS溶液清洗电极2次,除去附在电极表面的硫酸溶液,即得到聚邻氨基苯甲酸修饰的ITO电极。

[0055] (2) 电极活化及抗体固定

[0056] 将步骤(1)制得的聚邻氨基苯甲酸修饰的ITO电极,在其表面滴加1mg/100 μ L的EDC/NHS溶液100 μ L,活化10min,抽去反应后的EDC/NHS溶液,滴加10 μ g/mL的多克隆抗体50 μ g,反应20min后,抽去反应后的抗体溶液,用含0.05% Tween 20的PBS溶液清洗电极三次,每次60 μ L。

[0057] (3) 电极封闭处理

[0058] 将步骤(2)得到的固定有多克隆抗体的修饰电极用1mol/L乙醇胺溶液(pH 8.5)封板30min,用PBS溶液清洗三次。

[0059] (4) 包被抗原修饰

[0060] 将步骤(3)得到的修饰电极置于含20 μ g/mL包被抗原的溶液中反应60min,取出后用含0.05% Tween 20的PBS溶液清洗三次,晾干,即制得免疫传感器。

[0061] (5) 电化学测试

[0062] 采用差分脉冲伏安法和交流阻抗对实施例1制备的免疫传感器进行电化学特性检测,设置参数为:扫描范围+0.6~-0.2V,初始电平为0.2V,频率范围为0.05~10⁵Hz,振幅为0.005V。

[0063] 将实施例1制备的电化学免疫传感器置于1mmol/L铁氰酸钾溶液(PBS溶液,含0.1mol/L氯化钾)中,进行差分脉冲伏安法测试,得到结果如图2。

[0064] 将实施例1制备的电化学免疫传感器置于1mmol/L铁氰酸钾溶液(PBS溶液,含0.1mol/L氯化钾)中,进行交流阻抗测试,得到结果如图3。

[0065] 电化学测试结果可证明本发明制备的电化学免疫传感器遇到对硫磷农药后可以较好的置换出包被抗原,通过置换前后电流的差值可对农药分子的浓度进行定量测定。

[0066] (6) 对磷硫响应特性检测

[0067] 采用差分脉冲伏安法对实施例1制备的免疫传感器进行电化学特性检测,记录加入对硫磷反应60min前后的DPV响应(分别为I₁及I₂)。以 $\Delta I(\%) = (I_2 - I_1) / I_1 \times 100\%$ 来判断对硫磷分子的含量。设置参数为:扫描范围+0.6~-0.2V,初始电平为0.2V,频率范围为0.05~10⁵Hz,振幅为0.005V。

[0068] 测试得到实施例1制备的电化学免疫传感器检测对磷硫抗原的标准曲线,得到结果如图4。计算得出实施例1制备的免疫传感器在对硫磷为1~10 μ g/mL浓度范围内具有较好的线性响应,检出限为0.073 μ g/mL。

[0069] (7) 重现性测试

[0070] 取实施例1制备的电化学免疫传感器,分批次制备并放置不同时间后对同一浓度的对硫磷溶液进行检测,得到结果如表1。

[0071] 表1.免疫传感器重现性测试结果

对硫磷浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	1	2	3	4	5	R. S. D. (%)
	ΔI (%)	ΔI (%)	ΔI (%)	ΔI (%)	ΔI (%)	
[0072] 1	3.76	3.90	4.08	3.97	4.05	3.3
5	19.29	19.18	18.96	19.25	20.06	2.2
8	25.98	25.76	25.32	26.43	26.32	1.7
10	32.46	33.23	32.86	33.62	33.49	1.4

[0073] 表1结果显示该免疫传感器具有良好的重现性。

[0074] (8) 稳定性测试

[0075] 将实施例1制备的步骤(3)制备后的修饰电极在4℃下干态放置一周,后进行步骤(4)结合包被抗原,对对硫磷抗原进行检测,得到检测结果,响应电流下降约10%,说明该免疫传感器具有良好的稳定性。

[0076] 实施例2

[0077] 电化学免疫传感器的制备:

[0078] (1) 修饰电极的制备

[0079] 将ITO电极,依次在丙酮,无水乙醇,纯水中超声清洗2min,晾干后置于50mmol/L邻氨基苯甲酸溶液中,使用循环伏安法在0~1.0V内以扫速100mV/s扫描20圈,然后用PBS溶液清洗电极2次,除去附在电极表面的硫酸溶液,即得到聚邻氨基苯甲酸修饰的ITO电极。

[0080] (2) 电极活化及抗体固定

[0081] 将步骤(1)制得的聚邻氨基苯甲酸修饰的ITO电极,在其表面滴加1mg/100 μL 的EDC/NHS溶液100 μL ,活化10min,抽去反应后的EDC/NHS溶液,滴加8 $\mu\text{g/mL}$ 的多克隆抗体50 μg ,反应25min后,抽去反应后的抗体溶液,用含0.05% Tween 20的PBS溶液清洗电极三次,每次60 μL 。

[0082] (3) 电极封闭处理

[0083] 将步骤(2)得到的固定有多克隆抗体的修饰电极用1mol/L乙醇胺溶液(pH 8.5)封板30min,用PBS溶液清洗三次。

[0084] (4) 包被抗原修饰

[0085] 将步骤(3)得到的修饰电极置于含20 $\mu\text{g/mL}$ 包被抗原的溶液中反应60min,取出后用含0.05% Tween 20的PBS溶液清洗三次,晾干,即制得免疫传感器。

[0086] 实施例3

[0087] 电化学免疫传感器的制备:

[0088] (1) 修饰电极的制备

[0089] 将ITO电极,依次在丙酮,无水乙醇,纯水中超声清洗2min,晾干后置于50mmol/L邻氨基苯甲酸溶液中,使用循环伏安法在0~1.0V内以扫速100mV/s扫描20圈,然后用PBS溶液清洗电极2次,除去附在电极表面的硫酸溶液,即得到聚邻氨基苯甲酸修饰的ITO电极。

[0090] (2) 电极活化及抗体固定

[0091] 将步骤(1)制得的聚邻氨基苯甲酸修饰的ITO电极,在其表面滴加1mg/100 μL 的

EDC/NHS溶液100 μ L,活化10min,抽去反应后的EDC/NHS溶液,滴加10 μ g/mL的多克隆抗体50 μ g,反应20min后,抽去反应后的抗体溶液,用含0.05%Tween 20的PBS溶液清洗电极三次,每次60 μ L。

[0092] (3) 电极封闭处理

[0093] 将步骤(2)得到的固定有多克隆抗体的修饰电极用1mol/L乙醇胺溶液(pH 8.5)封板30min,用PBS溶液清洗三次。

[0094] (4) 包被抗原修饰

[0095] 将步骤(3)得到的修饰电极置于含40 μ g/mL包被抗原的溶液中反应60min,取出后用含0.05%Tween 20的PBS溶液清洗三次,晾干,即制得免疫传感器。

[0096] 对于本领域技术人员而言,显然本发明不限于上述示范性实施例的细节,而且在不背离本发明的精神或基本特征的情况下,能够以其他的具体形式实现本发明。因此,无论从哪一点来看,均应将实施例看作是示范性的,而且是非限制性的,本发明的范围由所附权利要求而不是上述说明限定,因此旨在将落在权利要求的等同要件的含义和范围内的所有变化囊括在本发明内。

[0097] 此外,应当理解,虽然本说明书按照实施方式加以描述,但并非每个实施方式仅包含一个独立的技术方案,说明书的这种叙述方式仅仅是为清楚起见,本领域技术人员应当将说明书作为一个整体,各实施例中的技术方案也可以经过适当组合,形成本领域技术人员可以理解的其他实施方式。本发明中所未详细描述的技术细节,均可通过本领域中的任一现有技术实现。特别的,本发明中所有未详细描述的技术特点均可通过任一现有技术实现。

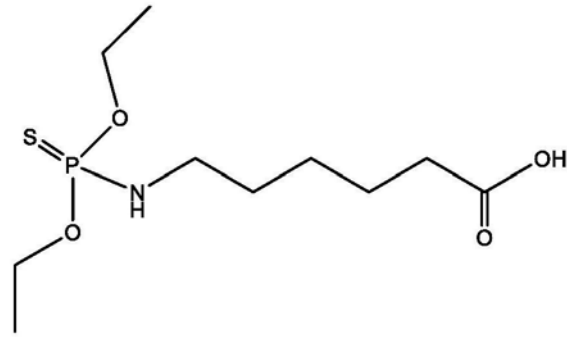


图1

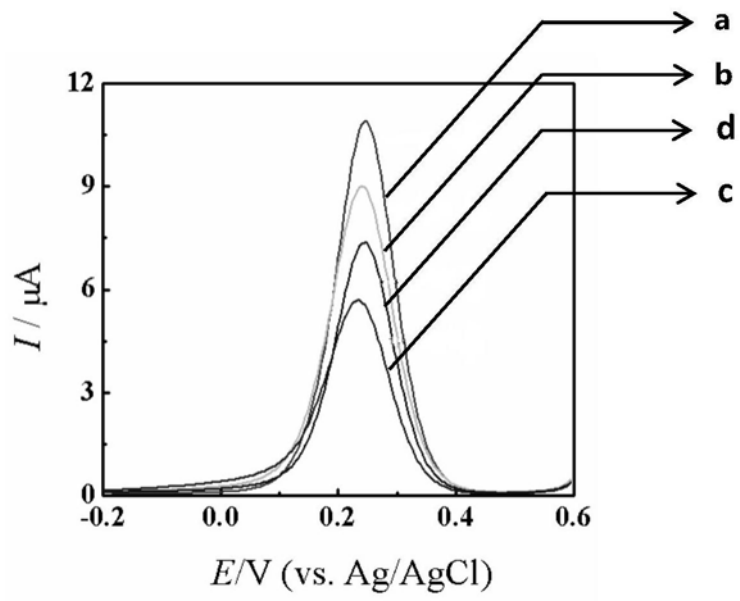


图2

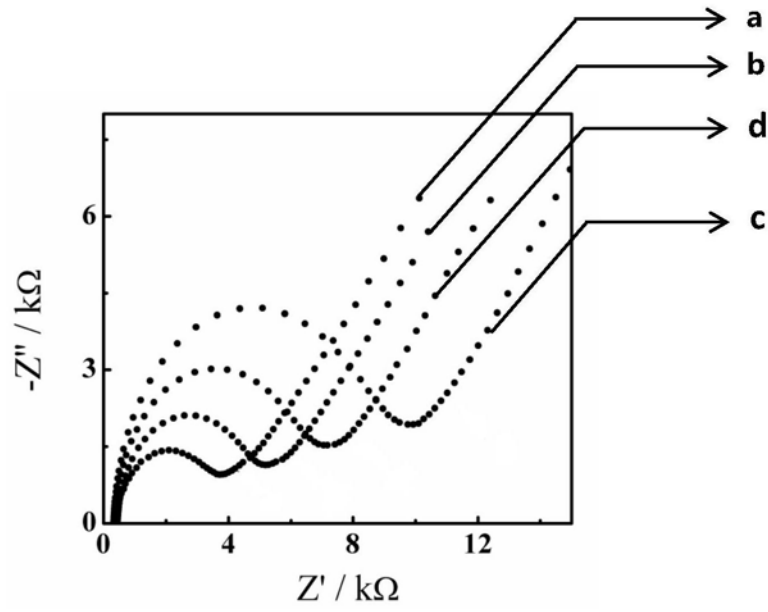


图3

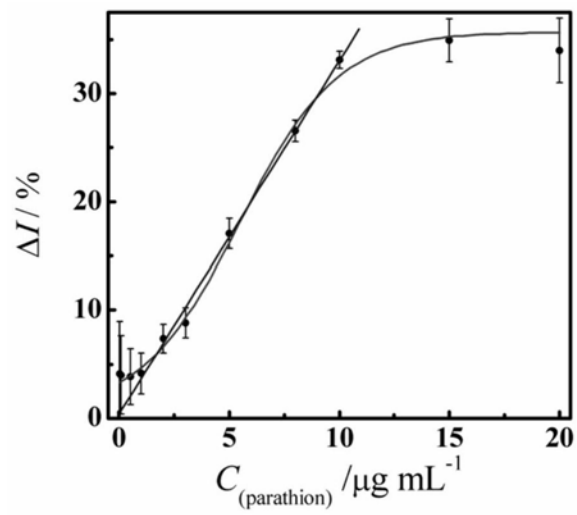


图4

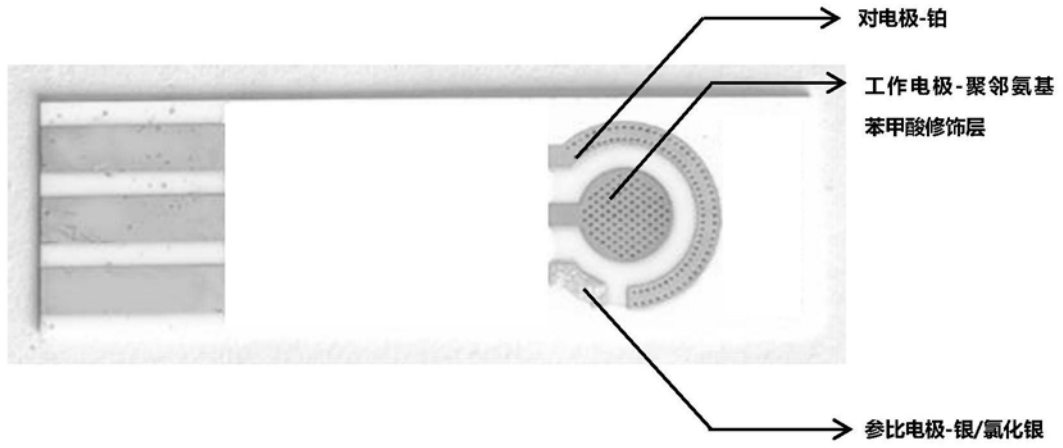


图5

专利名称(译)	一种可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器及其制备方法		
公开(公告)号	CN110632150A	公开(公告)日	2019-12-31
申请号	CN201910935754.9	申请日	2019-09-29
[标]发明人	奚亚男		
发明人	奚亚男 胡淑锦		
IPC分类号	G01N27/327 G01N27/48 G01N33/53 G01N33/68		
CPC分类号	G01N27/3275 G01N27/3277 G01N27/48 G01N33/53 G01N33/6854		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种可用于有机磷农药检测的免标记免疫传感器及其制备方法。本发明利用ITO电极为基底电极，将对硫磷宽谱型多克隆抗体共价交联到聚邻氨基苯甲酸修饰ITO电极表面，并特异性包被弱亲和性抗原。当加入对硫磷抗原后，其与包被的抗原竞争抗体。本发明制备的免疫传感器在对硫磷为1~10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内具有较好的线性响应，相关系数为0.9985，检出限为0.073 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

