



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108982837 A

(43)申请公布日 2018.12.11

(21)申请号 201810711500.4

(22)申请日 2018.07.03

(71)申请人 华南农业大学

地址 510642 广东省广州市天河区五山路
华南农业大学

(72)发明人 刘英菊 甘翠芬 常惟丹 蔡跃
刘伟鹏

(74)专利代理机构 广州嘉权专利商标事务所有
限公司 44205

代理人 胡辉

(51)Int.Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页
序列表1页 附图2页

(54)发明名称

一种纳米生物双重模拟酶传感器的制备及其应用

(57)摘要

本发明公开了一种 $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC-G}$ -四链体纳米生物双重模拟酶, $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC}$ 为超笼结构的 $\text{Cu}(\text{OH})_2$, 纳米生物双重模拟酶以 $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC}$ 为核心, $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC}$ 表面偶联有带G-四链体的DNA。本发明还公开了一种免疫传感器, 该免疫传感器中含有 $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC-G}$ -四链体纳米生物双重模拟酶和 $\text{SiO}_2@\text{Ni silicate}$ 核壳结构纳米材料, 该免疫传感器可以实现可视化检测, 具有检测灵敏度高, 信号效果好, 保存时间长的特点, 适合大规模的应用。

1. 一种Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶,Cu(OH)₂SC为超笼结构的Cu(OH)₂,其特征在于:所述纳米生物双重模拟酶以Cu(OH)₂SC为核心,Cu(OH)₂SC表面偶联有带G-四链体的DNA。

2. 一种免疫传感器,其特征在于:免疫传感器含有SiO₂@Ni silicate核壳结构纳米材料和权利要求1所述的Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶。

3. 根据权利要求2所述的免疫传感器,其特征在于:制备方法为:以氨基化的SiO₂@Ni silicate核壳结构纳米材料为传感器基底,固定抗原,加入待测样品和一抗,加入Cu(OH)₂SC-NH₂-Ab₂-S₀复合物,加入含G4的杂交链探针S₁和杂交链探针S₂经杂交链反应在Cu(OH)₂SC纳米笼表面形成带G-四链体的DNA得到Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶,加入血红素即可,其中Cu(OH)₂SC为超笼结构的Cu(OH)₂,Ab₂为二抗,S₀为醛基修饰的杂交链引物DNA。

4. 根据权利要求3所述的免疫传感器,其特征在于:合成Cu(OH)₂SC-NH₂-Ab₂-S₀复合物的方法为:取氨基化的Cu(OH)₂SC,加入Ab₂搅拌,加入S₀搅拌即可,其中Cu(OH)₂SC为超笼结构的Cu(OH)₂,Ab₂为二抗,S₀为醛基修饰的杂交链引物DNA。

5. 根据权利要求3或4所述的免疫传感器,其特征在于:S₀是5'-CHO-(CH₂)₆-GTA CTA CAG CAG CTG-3'(SEQ ID No.1)。

6. 根据权利要求5所述的免疫传感器,其特征在于:S₁的核苷酸序列为:5'-TGGG TAG GGC GGG TTG GGT ATC TCC TAA TAG CAG CAG CTG CTG TAG TAC-3'(SEQ ID No.2);S₂的核苷酸序列为:5'-CTG CTA TTA GGA GAT GTA CTA CAG CAG CTG-3'(SEQ ID No.3)。

7. 一种生物检测的方法,其特征在于:包括以下步骤:

1) 在氨基化的SiO₂@Ni silicate核壳结构纳米材料基底上加入抗原,封闭后加入待测样品和一抗Ab₁;

2) 加入Cu(OH)₂SC-NH₂-Ab₂-S₀复合物,加入含G4的杂交链探针S₁和杂交链探针S₂反应85~95min后加入血红素,反应后使用PBS缓冲液冲洗并用氮气吹干;

3) 加入ABTS和H₂O₂混合溶液进行催化显色反应,最后检测吸光度值;

4) 根据步骤1)~3)测定系列已知浓度的待测样品的吸光度值,建立标准曲线,根据标准曲线即可测定未知浓度的待测样品浓度。

8. 根据权利要求8所述的方法,其特征在于:催化显色时反应体系的pH值为5.5~6.5,催化显色时间为5.5~6.5min。

9. 根据权利要求8所述的方法,其特征在于:检测过程中的温度保持为25~45℃。

10. 根据权利要求7~9所述的方法,其特征在于:待测样品为微囊藻毒素。

一种纳米生物双重模拟酶传感器的制备及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种纳米生物双重模拟酶传感器的制备及其应用。

背景技术

[0002] 纳米材料的信号放大策略一般都会与酶催化技术联用,纳米材料的表面效应加上酶的高效催化作用,从而实现信号的多重放大。常用于免疫传感器的酶大多数都是天然酶,如辣根过氧化物酶 (HRP)、碱性磷酸化酶 (ALP)、葡萄糖氧化酶 (GOD) 等。这些天然酶虽然催化效率高、专一性强,但其作为蛋白质的一种,具有不稳定、易失活、对温度、酸碱度灵敏等缺点,而且天然酶在生物体内含量比较少,所以提纯难度比较大,价格比较昂贵。在免疫传感器中,“酶标”过程较为繁琐,所以科研人员不断探索和发现新模拟酶,如环糊精、杯芳烃、冠醚、卟啉类等。这些传统的模拟酶虽然稳定性和耐酸碱性都远优于天然酶,价格便宜,但是其催化效率不高。

[0003] 纳米模拟酶 (Nanozymes) 是一类具有催化活性,同时又具有纳米材料独特性能效应的模拟酶。因为其比表面积大,表面活化中心较多,所以其催化活性远大于传统模拟酶,而且纳米模拟酶稳定性很好,在严酷的环境下也不容易失活,可大量生产。正因为如此,纳米模拟酶在生物医药、生物传感、环境等领域表现出了广阔的前景。目前,已有较多的纳米材料被报道证实具有模拟酶催化活性,如 Fe_3O_4 、 Fe_2O_3 、 Co_3O_4 、 CuO 、 V_2O_5 、 MnO_2 、 CeO_2 、 CuS 、 FeS 和铁酸盐纳米材料等,均具有过氧化物酶活性,可催化过氧化氢氧化底物3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (TMB)、2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐 (ABTS) 和邻苯二胺 (OPD) 的显色反应,其中有些物质还具有氧化酶活性、超氧化物歧化酶等活性。因此,基于纳米生物双重模拟酶制备免疫传感器,并应用于可视化检测具有广阔的应用前景。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于公开一种纳米生物双重模拟酶、基于该纳米生物双重模拟酶的免疫传感器及其制备方法和应用。

[0005] 本发明所采取的技术方案是:

[0006] 一种 $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC-G}$ -四链体纳米生物双重模拟酶, $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC}$ 为超笼结构的 $\text{Cu}(\text{OH})_2$,其特征在于:所述纳米生物双重模拟酶以 $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC}$ 为核心, $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC}$ 表面偶联有带G-四链体的DNA。

[0007] 一种免疫传感器,其特征在于:免疫传感器含有 $\text{SiO}_2@\text{Ni silicate}$ 核壳结构纳米材料和上述 $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC-G}$ -四链体纳米生物双重模拟酶。

[0008] 进一步地,免疫传感器的制备方法为:以氨基化的 $\text{SiO}_2@\text{Ni silicate}$ 核壳结构纳米材料为传感器基底,固定抗原,加入待测样品和一抗,加入 $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC-NH}_2\text{-Ab}_2\text{-S}_0$ 复合物,加入含G4的杂交链探针 S_1 和杂交链探针 S_2 经杂交链反应在 $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC}$ 纳米笼表面形成带G-四链体的DNA得到 $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC-G}$ -四链体纳米生物双重模拟酶,加入血红素即可,其中 $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{SC}$ 为超笼结构的 $\text{Cu}(\text{OH})_2$, Ab_2 为二抗, S_0 为醛基修饰的杂交链引物DNA。

[0009] 进一步地,合成Cu(OH)₂SC-NH₂-Ab₂-S₀复合物的方法为:取氨基化的Cu(OH)₂SC,加入Ab₂搅拌,加入S₀搅拌即可,其中Cu(OH)₂SC为超笼结构的Cu(OH)₂,Ab₂为二抗,S₀为醛基修饰的杂交链引物DNA。

[0010] 进一步地,S₀是5'-CHO-(CH₂)₆-GTA CTA CAG CAG CTG-3'(SEQ ID No.1)。

[0011] 进一步地,S₁的核苷酸序列为:5'-TGGG TAG GGC GGG TTG GGT ATC TCC TAA TAG CAG CAG CTG CTG TAG TAC-3'(SEQ ID No.2);S₂的核苷酸序列为:5'-CTG CTA TTA GGA GAT GTA CTA CAG CAG CTG-3'(SEQ ID No.3)。

[0012] 一种生物检测的方法,其特征在于:包括以下步骤:

[0013] 1) 在氨基化的SiO₂@Ni silicate核壳结构纳米材料基底上加入抗原,封闭后加入待测样品和一抗Ab₁;

[0014] 2) 加入Cu(OH)₂SC-NH₂-Ab₂-S₀复合物,加入含G4的杂交链探针S₁和杂交链探针S₂反应85~95min后加入血红素,反应后使用PBS缓冲液冲洗并用氮气吹干;

[0015] 3) 加入ABTS和H₂O₂混合溶液进行催化显色反应,最后检测吸光度值,

[0016] 4) 根据步骤1)~3)测定系列已知浓度的待测样品的吸光度值,建立标准曲线,根据标准曲线即可测定未知浓度的待测样品浓度。

[0017] 进一步地,催化显色时反应体系的pH值为5.5~6.5,催化显色时间为5.5~6.5min。

[0018] 进一步地,检测过程中的温度保持为25~45℃。

[0019] 进一步地,待测样品为微囊藻毒素。

[0020] 本发明的有益效果是:本发明中公开了一种Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶,使用该Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶制备的免疫传感器可以实现可视化检测,具有检测灵敏度高,信号效果好,保存时间长的特点,适合大规模的应用。

附图说明

[0021] 图1是不同免疫传感器的紫外可见光谱信号大小对比图。

[0022] 图2是传感器测试条件优化的分析图。

[0023] 图3是纳米生物模拟酶免疫传感器的特异性测试数据图。

具体实施方式

[0024] 下面将结合实施例进一步阐述本发明,应理解,以下实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的保护范围。

[0025] 实施例1免疫传感器的制备

[0026] (1) 合成SiO₂@Ni silicate核壳结构纳米材料

[0027] 将0.8mL 28%的氨水加到含有36mL乙醇和5mL蒸馏水的混合液中,室温下搅拌10min,加入1mL的正硅酸乙酯(TEOS),搅拌3h,将产物SiO₂纳米球离心分离,洗涤后,将SiO₂纳米球加入到6mL无水乙醇中分散备用。

[0028] 将0.5g十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)加到75mL蒸馏水中,全部溶解后,加入0.8mL氨水,再滴加3mL上述制备好的SiO₂纳米球乙醇溶液,超声分散后加入20mL正己烷,在30℃下以搅拌12min后,把转速调到170rpm后缓慢滴加入2.5mL TEOS,然后继续在30℃下搅拌

9h,反应完毕后将产物离心分离,无水乙醇洗涤后,将产品重新分散到60mL丙酮中,在70℃下加热回流12h,除掉CTAB模板,离心分离,得到纳米介孔SiO₂,用无水乙醇洗涤后,将纳米介孔SiO₂分散到10mL无水乙醇中备用。

[0029] 移取2mL上述纳米介孔SiO₂溶液加入到27mL水中,再加入0.68g尿素(溶于4mL水中),超声10min后加入1mL 0.1M的Ni(NO₃)₂溶液,在90℃水浴磁力搅拌17h,收集产物,洗涤后将SiO₂@Ni silicate核壳结构纳米材料分散于7mL无水乙醇中。

[0030] (2) SiO₂@Ni silicate核壳结构纳米材料的氨基化

[0031] 移取5mL SiO₂@Ni silicate乙醇溶液于25mL的带盖玻璃瓶中,加入10mL无水乙醇,超声分散15min,30℃下边搅拌边慢慢滴加0.2mL 3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTES),在30℃恒温下继续磁力搅拌24h,离心分离、洗涤后,将氨基化的SiO₂@Ni silicate核壳结构纳米材料分散在5mL无水乙醇中备用。

[0032] (3) 合成无定型Cu(OH)₂纳米粒子(Cu(OH)₂NP)

[0033] 称量68mg二氯化铜,522mg PVP(M≈58000)于250mL锥形瓶中,再加入160mL无水乙醇,超声溶解10min后,恒温搅拌30min。将30.8g硼氢化钠溶于40mL无水乙醇中,超声溶解后快速加入到上述搅拌中的溶液中,继续搅拌72h后,收集产物,无水乙醇洗涤,溶于10mL无水乙醇中待用。

[0034] (4) 合成Cu(OH)₂超笼结构(Cu(OH)₂SC)

[0035] 铜氨溶液的配制:于烧杯中加入5mL Cu(NO₃)₂·3H₂O(其中Cu(NO₃)₂·3H₂O 24.16mg),再加15mL氨水(其中氨水464μL,DI水14.536mL)。

[0036] 移取Cu(OH)₂NP 2mL于锥形瓶中,加入20mg PVP(M≈1300000),再加入18mL去离子水,超声15min后,搅拌15min。

[0037] 在1min内将铜氨溶液加入到搅拌中的溶液中,继续搅拌10min。收集产物后,离心洗涤,溶于10mL甲醇中待用。

[0038] (5) 氨基化Cu(OH)₂SC(Cu(OH)₂SC-NH₂)

[0039] 移取7.2mL Cu(OH)₂SC于锥形瓶中,加入无水乙醇,超声30min后加入200μL APTES,超声10min后,30℃水浴中搅拌24h,离心,溶于4mL无水乙醇中。

[0040] (6) 合成Cu(OH)₂SC-NH₂-Ab₂-S₀复合物

[0041] 取上一步合成的2mL Cu(OH)₂SC-NH₂,离心后用10mM Tris-HAc洗涤,重新分散在2mL10mM Tris-HAc中,超声20min,加入二抗Ab₂,室温磁力搅拌20min后,加入S₀,S₀是醛基修饰的杂交链引物DNA:5'-CHO-(CH₂)₆-GTA CTACAG CAG CTG-3'(SEQ ID No.1),室温磁力搅拌30min后,移入4℃冰箱内继续搅拌过夜。

[0042] (7) 免疫传感器的构建过程

[0043] 在酶标板中加入50μL 1mg/mL聚多巴胺溶液(in Tris 8.5缓冲液),放入37℃恒温水箱30min,用N₂吹干,加入50μL氨基化的SiO₂@Ni silicate,然后加入稀释比为1:50的MC-LR抗原(原始浓度为0.4mg/mL)1h后滴加30μL封闭液,37℃恒温60min,用PBS缓冲液冲洗和氮气吹干后滴加30μLMC-LR和Ab₁混合液,37℃恒温60min,用PBS缓冲液冲洗和氮气吹干后滴加30μL的Cu(OH)₂SC-NH₂-Ab₂-S₀复合物,37℃恒温60min,用PBS缓冲液冲洗和氮气吹干后,滴加30μLS₁和S₂混合液,其中,S₁是含G₄的杂交链探针DNA:5'-TGGG TAG GGC GGG TTG GGT ATC TCC TAA TAG CAG CAG CTG CTG TAG TAC-3'(SEQ ID No.2);S₂是杂交链探针

DNA:5'-CTG CTA TTA GGA GAT GTA CTA CAG CAG CTG-3' (SEQ ID No.3)。37℃恒温60min后滴加30μL血红素,继续恒温60min,用PBS缓冲液冲洗和氮气吹干后,加入400μL含1.0mM ABTS和5.0mM H₂O₂的混合液进行催化显色反应,6min后取出上清液,用紫外-可见分光光度计检测在418nm处的吸光度。

[0044] 实施例2免疫传感器的信号放大

[0045] 本发明通过充分利用纳米材料的表面效应、模拟酶的高催化能力和稳定性、杂交链反应(HCR)扩增手段构建了具有多重信号放大效果的免疫传感器。本发明中的免疫传感器以氨基化的SiO₂@Ni Silicate为基底,以Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶标记二抗,可大大增强检测信号。

[0046] 图1为不同基底配合不同二抗标记物进行检测时的结果。酶标板上依次固定MC-LR抗原后加入待测MC-LR和Ab₁混合液,不发生ABTS的显色反应,紫外可见分光光度计也基本上检测不到任何信号(图1a)。当加入用Cu(OH)₂SC纳米笼标记的Ab₂时,在加入ABTS底物后,在418nm处的吸光度也变成了1.50(图1b)。当SiO₂@Ni Silicate固定到酶标板上作为传感器的基底材料来捕获抗原,Cu(OH)₂SC纳米笼作为Ab₂的标记物时,传感器在418nm处的吸光度信号增强至2.30(图1c)。当用Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶作为Ab₂的标记物,并加入血红素时,传感器的吸光度信号大大增强,达到3.31(图1d),这是因为在Cu(OH)₂SC纳米笼表面形成了两侧带G-四链体的长链DNA,通过加入血红素,长链DNA两侧可以形成多个具有催化ABTS显色反应的G-四链体/hemin DNA酶,和Cu(OH)₂SC串联后具有更多催化单元,大大增强了检测信号。

[0047] 实施例3免疫传感器检测条件的优化

[0048] 为了提高传感器的检测性能,研究了杂交链反应时间、测试溶液的pH值、ABTS的催化显色时间以及催化温度对传感器信号的影响,选出最佳的检测条件让传感器的性能达到最优。

[0049] 图2A是传感器响应信号(吸光度)与杂交链反应(HCR)时间的关系曲线,随着HCR步骤时间的增加而传感器的响应逐渐增加,到了90min后趋于稳定,这表明90min后杂交链反应所形成的双螺旋DNA长度不再增加,双螺旋DNA两侧的G-四链体也不再增加,从而检测信号达到稳定值,所以本实验最优的HCR时间是90min。

[0050] 测试溶液的pH值,也就是Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶催化ABTS显色反应的pH值,对模拟酶的催化活性有着明显的影响。选择合适的测试pH值才能让Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物模拟酶发挥最好的催化效果。图2B是传感器响应值与测试溶液pH值的关系曲线,在酸性条件下,吸光度随着测试溶液pH值的增加而逐渐增加,但pH值达到6后,吸光度开始下降,略偏碱性后则吸光度急剧下降,这是因为Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶在碱性条件下不能稳定存在,影响其催化效果。所以,最佳的测试溶液pH值是6。

[0051] ABTS的催化显色时间对传感器的检测信号影响比较大,如果催化显色时间较短,催化反应不完全,会导致检测信号偏低,降低灵敏度;相反,如果催化显色时间过长,不仅增加测试时间成本,还有可能会使显色催化反应向逆反应进行,产生褪色效应。图2C是传感器响应信号与ABTS的催化显色时间的关系曲线,吸光度随着催化显色时间的增加呈线性递增,当催化显色时间达到6分钟后,吸光度趋于平衡,甚至有一些缓慢下降趋势,所以,最佳的ABTS的催化显色时间是6分钟。

[0052] 在酶催反应中,温度对酶的活性影响较大,因此探讨了温度对Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶的催化活性影响。图2D是传感器响应信号与催化温度的关系曲线,从图中可以看出,当温度在25℃至45℃之间,信号都比较高,而且变化不大,45℃后信号随着温度的增加而下降,这表明该纳米生物模拟酶在一段比较宽的常规温度下都有较高的催化活性,这比天然酶适用温度范围宽(一般的天然酶,如HRP的最佳催化温度是37℃,温度过低催化效果不好,温度太高容易失活),所以本实验的催化温度在25℃至45℃间皆可。

[0053] 实施例4纳米生物双重模拟酶免疫传感器的性能

[0054] 在最优条件下,以SiO₂@Ni Silicate作为传感器基底,Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶作为标记物来构建免疫传感器来实现对MC-LR的可视化检测。在竞争免疫实验中,将已知浓度的MC-LR标准液加入到一定浓度的抗体PBS缓冲液中,快速混合后滴加到酶标板里。固定在酶标板表面的MC-LR抗原与游离的MC-LR相互竞争一抗,形成免疫复合体,再加入二抗标记的纳米生物模拟酶来催化底物ABTS的显色反应,从而产生检测信号。高浓度的MC-LR将减少酶标板表面固定的一抗的数量,即减少二抗标记的纳米生物模拟酶,使得检测的吸光度降低,酶标板上的溶液颜色也相对变浅。相反,低浓度的MC-LR可以获得高的吸光度响应值,酶标板上的溶液颜色也相对较深。在最佳测试条件下的纳米生物模拟酶免疫传感器的标准曲线,当MC-LR的浓度在0.007μg/L到75μg/L的范围内时,吸光度随着MC-LR的浓度的增加而降低,且MC-LR浓度的对数和吸光度之间具有良好的线性关系,标准曲线方程为: $Abs = (1.653 \pm 0.023) - (0.645 \pm 0.017) \times \lg C_{MC-LR}$,相关系数为99.2%,检测限为0.006μg/L,远低于WTO关于饮用水中MC-LR含量的检测标准(1μg/L)。随着MC-LR浓度的增加,酶标板上溶液的颜色越浅,而且辨识度比较高,通过观察酶标板上溶液的颜色可以大致判断MC-LR的浓度范围,通过吸光度值和标准曲线可实现MC-LR浓度的精确检测,本发明为MC-LR商品化检测试剂盒提供方法。

[0055] 特异性是免疫传感器的一项重要性质,为了验证该纳米生物模拟酶免疫传感器对MC-LR的特异性,选取了与MC-LR结构相似的化合物(MC-YR,MC-RR和节球藻毒素)作为干扰物,探索它们对MC-LR免疫传感器的特异性检测的影响。特异性通过这些干扰物的抑制率(IR)来表现,具体的计算公式如下:

[0056] $IR = (A_{[blank]} - A_{[Interferents]}) / (A_{[blank]} - A_{[MC-LR]}) \times 100\%$

[0057] 其中A[blank]是没加MC-LR待测物的空白样传感器的吸光度值,A[Interferents]是各个干扰物质在相同浓度(5μg/L)下构建的传感器的吸光度值。各种干扰物的抑制率如图3所示,MC-YR,MC-RR和节球藻毒素的IR值分别为18.60%,16.20%和7.03%。干扰物较低的IR值表明制备的免疫传感器具有较高特异性,因此这类相似的化合物在MC-LR的检测过程中干扰较小。

[0058] 通过测试放置一段时间的免疫传感器基底与标记物间的反应活性来研究免疫传感器的稳定性。具体做法如下:在酶标板里依次固定SiO₂@Ni Silicate、抗原和封闭液,在4℃的冰箱中放置14天后,加入Cu(OH)₂SC-NH₂-Ab₂-S₀复合物构建免疫传感器,检测到的信号是未放置前的94.1%,表明使用SiO₂@Ni Silicate固定抗原后能在较长时间内保持稳定。

[0059] 此外,放置了14天的Cu(OH)₂SC-NH₂-Ab₂-S₀复合物来构建此免疫传感器,其响应信号是原来未放置前的96.6%,表明Cu(OH)₂SC-NH₂-Ab₂-S₀性质稳定,可在低温环境长时间保藏。

SEQUENCE LISTING

<110> 华南农业大学

<120> 一种纳米生物双重模拟酶传感器的制备及其应用

<130> 2018.7.2

<160> 3

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 15

<212> DNA

<213> 人工合成

<400> 1

gtactacagc agctg 15

<210> 2

<211> 49

<212> DNA

<213> 人工合成

<400> 2

tgggtagggc gggttgggta tctcctaata gcagcagctg ctgtagtac 49

<210> 3

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工合成

<400> 3

ctgctattag gagatgtact acagcagctg 30

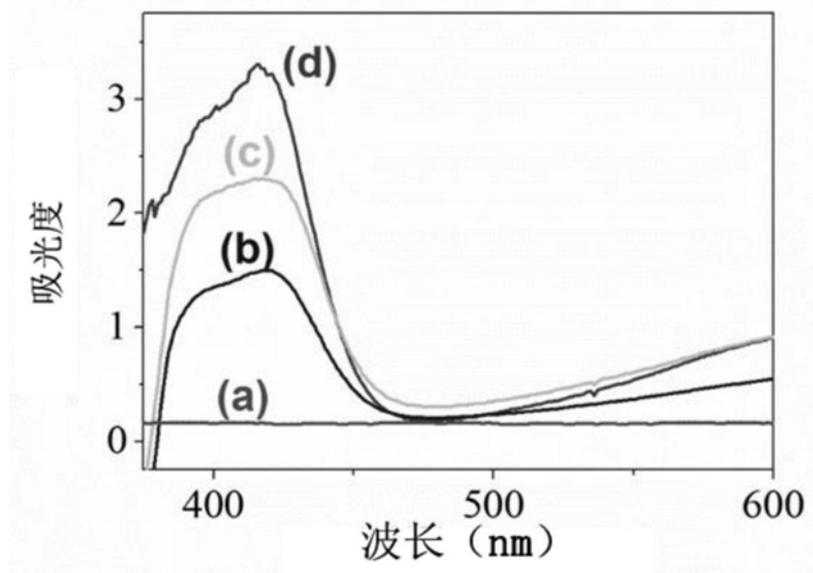


图1

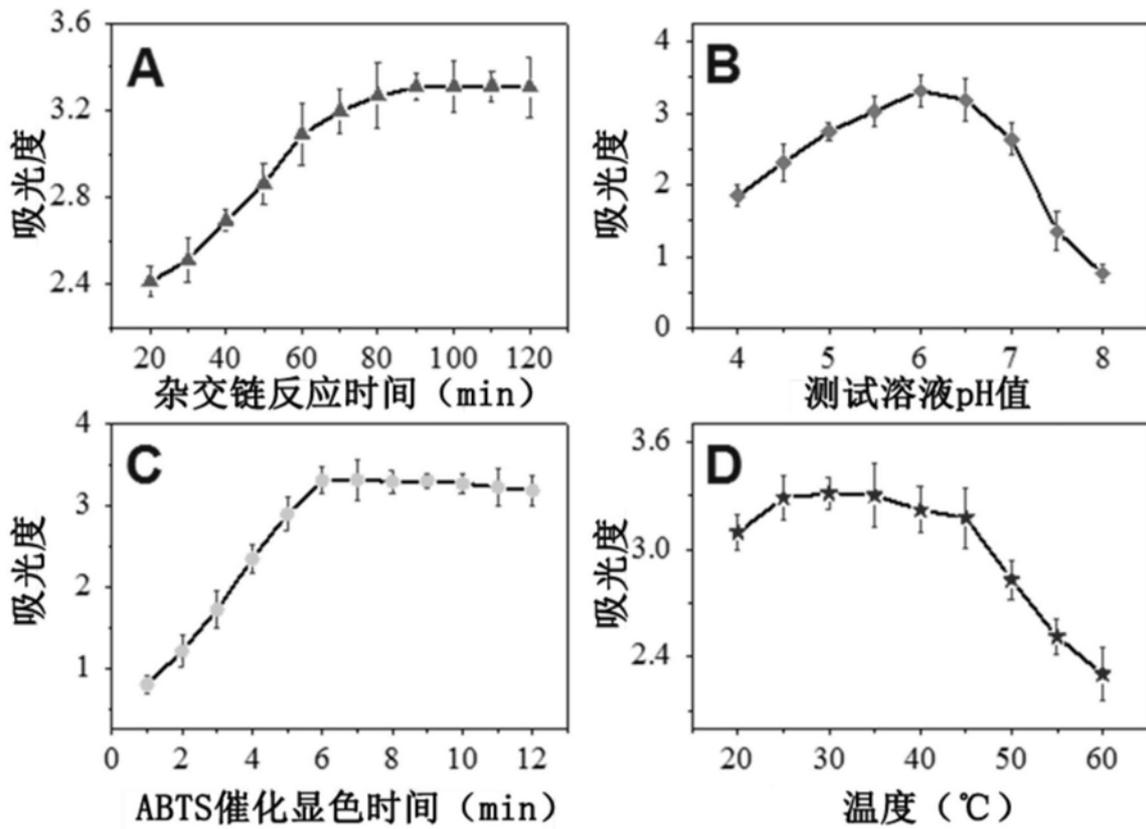


图2

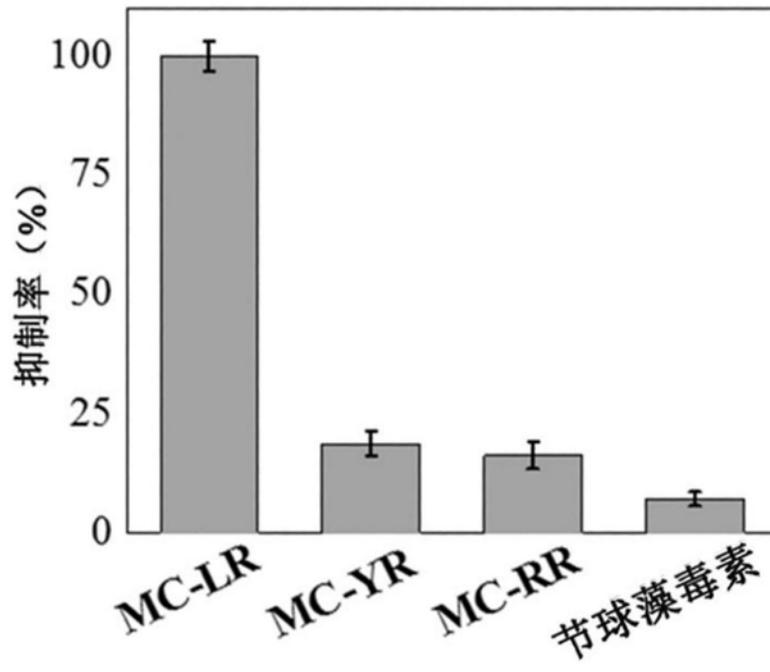


图3

专利名称(译)	一种纳米生物双重模拟酶传感器的制备及其应用		
公开(公告)号	CN108982837A	公开(公告)日	2018-12-11
申请号	CN201810711500.4	申请日	2018-07-03
[标]申请(专利权)人(译)	华南农业大学		
申请(专利权)人(译)	华南农业大学		
当前申请(专利权)人(译)	华南农业大学		
[标]发明人	刘英菊 甘翠芬 常惟丹 蔡跃 刘伟鹏		
发明人	刘英菊 甘翠芬 常惟丹 蔡跃 刘伟鹏		
IPC分类号	G01N33/535 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/54346		
代理人(译)	胡辉		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶，Cu(OH)₂SC为超笼结构的Cu(OH)₂，纳米生物双重模拟酶以Cu(OH)₂SC为核心，Cu(OH)₂SC表面偶联有带G-四链体的DNA。本发明还公开了一种免疫传感器，该免疫传感器中含有Cu(OH)₂SC-G-四链体纳米生物双重模拟酶和SiO₂@Ni silicate核壳结构纳米材料，该免疫传感器可以实现可视化检测，具有检测灵敏度高，信号效果好，保存时间长的特点，适合大规模的应用。

