



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103454417 A

(43) 申请公布日 2013. 12. 18

(21) 申请号 201310396759. 1

(22) 申请日 2013. 09. 04

(71) 申请人 济南大学

地址 250022 山东省济南市济微路 106 号

(72) 发明人 魏琴 吴丹 张勇 高健 李贺

杜斌 马洪敏 李燕

(51) Int. Cl.

G01N 33/574 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

G01N 27/327 (2006. 01)

权利要求书2页 说明书5页

(54) 发明名称

一种鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器的制备
方法及应用

(57) 摘要

本发明涉及一种鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器的制备方法及应用,属于新型纳米功能材料与生物传感技术领域。具体是基于氮掺杂石墨烯(N-GS)和Pd-Au/C负载型纳米催化剂,制备一种鳞状上皮细胞癌抗原的夹心型电化学免疫传感器,用于检测血清中的鳞状上皮细胞癌抗原。其特征在于:(1)氮掺杂石墨烯的制备;(2)Pd-Au/C-鳞状上皮细胞癌抗原的二抗复合物的制备;(3)电化学免疫传感器的制备。Pd-Au/C对H₂O₂具有很强的催化能力,有利于固定更多的二抗、保持物质生物活性,本发明制备的传感器优点在于,灵敏度高、特异性好、易于操作、检测限低。

1. 一种鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 氧化石墨烯的合成

在 0.1 ~ 0.6 g 石墨和 0.6 ~ 4.0g KMnO_4 中加入 40 mL H_2SO_4 - H_3PO_4 混合溶液, H_2SO_4 和 H_3PO_4 体积比 9 : 1,加热至 40 ~ 60 °C,持续 12 h,停止反应冷却到室温,在冰水浴中加入 0.1 ~ 0.5 mL、体积分数为 30% 的 H_2O_2 ,磁力搅拌 30 ~ 60 min,将混合物离心,分别用 0.2 mol · L⁻¹ HCl,乙醇,乙醚进行洗涤,洗涤 2 次;

(2) 氮掺杂石墨烯(N-GS)的合成

将氧化石墨烯分散于 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中,配成 0.5 ~ 2.0 mg/mL 溶液,超声 30 ~ 60 min,将混合液在 120 ~ 160 °C 条件下,搅拌回流 1 ~ 2 h,冷却到室温,在 9000 r/min 的转速下离心,50 ~ 60 °C 真空干燥;

(3) 钯-金/碳(Pd-Au/C)的合成

30 ~ 100 mg 活性炭,1.0 ~ 5.0 mL、0.50 mol · L⁻¹ 的 PdCl_2 溶液,0.5 ~ 1.0 mL、质量分数为 1% 的 HAuCl_4 溶液,依次加入 5mL 水和 5mL 四氢呋喃,超声 0.5 ~ 2 h 混匀,磁力搅拌 12 h,缓慢加入 10 ~ 30 mL 含有 0.1 mol · L⁻¹ NaBH_4 和 0.05 mol · L⁻¹ Na_2CO_3 的混合溶液,磁力搅拌 1 h,得到的固体依次用水和乙醇进行洗涤,洗涤完成后 50 ~ 60 °C 下真空干燥,制得钯-金/碳纳米材料(Pd-Au/C);

(4) Pd-Au/C-鳞状上皮细胞癌抗原二抗(Ab_2)的制备;

(5) 电化学免疫传感器的制备。

2. 如权利要求 1 所述的一种鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器的制备方法,其特征在于,所述的 Pd-Au/C- Ab_2 的制备,步骤如下:

分别配制 Pd-Au/C 溶液和 Ab_2 溶液,将 Pd-Au/C 溶液和 Ab_2 溶液按 1 : 1 ~ 2 的体积比进行混合,在 10°C 的光照培养箱内孵化震荡 12 ~ 24 h,制得的 Pd-Au/C- Ab_2 ,用 pH = 7.4 磷酸盐缓冲溶液清洗,保存在 4 °C 的冰箱内备用。

3. 如权利要求 2 所述的一种鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器的制备方法,其特征在于,所述的 Pd-Au/C 溶液的浓度为 5 ~ 15 mg · mL⁻¹,所述的 Ab_2 溶液的浓度为 5 ~ 15 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

4. 如权利要求 1 所述的一种鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器的制备方法,其特征在于,所述的电化学免疫传感器的制备,步骤如下:

(1) 将直径 4 mm 的玻碳电极依次用 1.0、0.3 和 0.05 mm 的三氧化二铝抛光粉抛光处理,乙醇超声清洗,再用超纯水冲洗干净,然后将电极置于 5 ~ 10 mmol · L⁻¹ 铁氰化钾溶液中,在 -0.2 ~ 0.6 V 电位下扫描,使峰电位差小于 80mV;

(2) 将 6 μL 、0.4 ~ 2.0 mg · mL⁻¹ 的 N-GS 溶液滴涂于电极表面,红外灯下干燥后,滴加 3 μL 、2.5% 的戊二醛溶液于电极表面,室温干燥;

(3) 将 6 μL 、5 ~ 15 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的鳞状上皮细胞癌抗原一抗(Ab_1)滴涂到步骤(2) N-GS 修饰的电极表面,置于 4°C 湿润条件下晾干,洗涤;

(4) 将浓度为 3 μL 、100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 牛血清白蛋白滴涂到步骤(3) Ab_1 修饰的电极表面,4°C 下湿润条件下晾干,洗涤;

(5) 将 6 μL 的鳞状上皮细胞癌抗原(SCCA)分别滴涂在步骤(4)牛血清白蛋白修饰的电极表面,4°C 下湿润条件下晾干,洗涤;

(6) 将 6 μL 的 Pd-Au/C- Ab_2 滴涂在步骤(5)SCCA 修饰的电极表面,4°C 下湿润条件下晾

干,电化学免疫传感器制备完成。

5. 如权利要求 1 所述的一种鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器的制备方法,其特征在于,所述制备的电化学免疫传感器用于 SCCA 的检测,步骤如下:

(1) 采用 $0.066 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH} = 7.4$ 的磷酸盐缓冲溶液,配制在 $5\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1} \sim 2\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内不同浓度的 SCCA 溶液,将 $6 \mu\text{L}$ 不同浓度的 SCCA 溶液分别滴涂至权利要求 4 中步骤(4)牛血清白蛋白修饰的电极表面,晾干后,按照权利要求 4 中步骤(6)修饰电极,连接至电化学工作站中,分别将电极置于 10 mL 含有 $3 \sim 6 \text{ mmol} \cdot \text{mL}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2$ 的 $\text{pH}=6.8$ 的 PBS 缓冲溶液中测定其电流变化;

(2) 根据所得电流差值与 SCCA 浓度呈线性关系,绘制工作曲线;

(3) 依据工作曲线的绘制方法进行样品检测,检测结果从工作曲线中查得。

一种鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器的制备方法及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器的制备方法及应用。具体是基于氮掺杂石墨烯(N-GS)和Pd-Au/C负载型纳米催化剂(Pd-Au/C),制备一种鳞状上皮细胞癌抗原的夹心型电化学免疫传感器,用于检测血清中的鳞状上皮细胞癌抗原,属于新型纳米功能材料与生物传感技术领域。

背景技术

[0002] 鳞状上皮细胞癌抗原(SCCA)是一种TA-4的亚型,并且属于丝氨酸蛋白酶抑制剂的卵白蛋白家族,广泛存在于不同器官正常组织(含量极微)和恶性病变的上皮细胞中,是一种诊断鳞癌的肿瘤标志物,本发明基于氮掺杂石墨烯(N-GS)以及Pd-Au/C制备鳞状上皮细胞癌抗原夹心型免疫传感器。

[0003] N-GS为一种通过化学方法,将石墨烯上的部分碳原子替换为氮原子后的一种物质。所谓“掺杂”,是指氮原子与碳原子在石墨烯骨架上共存的一种状态,具有高的还原水平,并且在多种溶剂中具有良好的分散性。N-GS是透明的薄纱状结构,并且具有大比表面积和良好的导电性。因此,由于N-GS具有良好的信号放大作用,使得N-GS被广泛用于制作电子的传输介质的电化学免疫传感器。

[0004] Pd-Au/C负载型纳米催化剂是一种活性碳负载的Pd-Au双金属合金催化剂,本发明利用Pd-Au/C负载型纳米催化剂作为二抗标记物,有利于固定更多的二抗、保持物质生物活性,并且对 H_2O_2 具有很强的催化能力。本发明制得的生物传感器的响应电流与SCCA浓度在 $0.0050 \sim 2.0$ ng/mL范围内保持良好的线性关系,检测限为 1.6 pg/mL。

[0005] 本发明制备的传感器具有灵敏度高、特异性好、检测成本低、能快速检测鳞状上皮细胞癌抗原等优势,有效克服了目前鳞状上皮细胞癌抗原检测方法的不足。

发明内容

[0006] 本发明的目的之一在于提供了一种快速准确检测鳞状上皮细胞癌抗原的电化学免疫传感器的制备方法。

[0007] 本发明的目的之二是将该电化学免疫传感器应用于鳞状上皮细胞癌抗原的检测。

[0008] 为了实现上述目的,本发明是通过以下措施来实现的。

[0009] 一种鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 氧化石墨烯的合成

在 $0.1 \sim 0.6$ g石墨和 $0.6 \sim 4.0$ g $KMnO_4$ 中加入 40 mL、 $H_2SO_4-H_3PO_4$ 混合溶液, H_2SO_4 和 H_3PO_4 体积比 $9:1$,加热至 $40 \sim 60$ °C,持续 12 h,停止反应冷却到室温,在冰水浴中加入 $0.1 \sim 0.5$ mL、体积分数为 30% 的 H_2O_2 ,磁力搅拌 $30 \sim 60$ min,将混合物离心,分别用 0.2 mol·L⁻¹ HCl,乙醇,乙醚进行洗涤,洗涤 2 次;

(2) 氮掺杂石墨烯(N-GS)的合成

将氧化石墨烯分散于N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中,配成 $0.5 \sim 2.0$ mg/mL溶液,超声

30 ~ 60 min, 将混合液在 120 ~ 160 °C 条件下, 搅拌回流 1 ~ 2 h, 冷却到室温, 在 9000 r/min 的转速下离心, 50 ~ 60 °C 真空干燥;

(3) 钯-金/碳(Pd-Au/C)的合成

30 ~ 100 mg 活性炭, 1.0 ~ 5.0 mL、0.50 mol · L⁻¹ 的 PdCl₂ 溶液, 0.5 ~ 1.0 mL、质量分数为 1% 的 HAuCl₄ 溶液, 依次加入 5mL 水和 5mL 四氢呋喃, 超声 0.5 ~ 2 h 混匀, 磁力搅拌 12 h, 缓慢加入 10 ~ 30 mL 含有 0.1 mol · L⁻¹ NaBH₄ 和 0.05 mol · L⁻¹ Na₂CO₃ 的混合溶液, 磁力搅拌 1 h, 得到的固体依次用水和乙醇进行洗涤, 洗涤完成后 50 ~ 60 °C 下真空干燥, 制得钯-金/碳纳米材料(Pd-Au/C);

(4) Pd-Au/C-鳞状上皮细胞癌抗原二抗(Ab₂)的制备

分别配制 Pd-Au/C 溶液和 Ab₂ 溶液, 将 Pd-Au/C 溶液和 Ab₂ 溶液按 1 : 1 ~ 2 的体积比进行混合, 在 10°C 的光照培养箱内孵化震荡 12 ~ 24 h, 制得的 Pd-Au/C-Ab₂, 用 pH = 7.4 磷酸盐缓冲溶液清洗, 保存在 4 °C 的冰箱内备用。

[0010] 所述的 Pd-Au/C 溶液的浓度为 5 ~ 15 mg · mL⁻¹, 所述的 Ab₂ 溶液的浓度为 5 ~ 15 μg · mL⁻¹。

[0011] (5) 电化学免疫传感器的制备方法

1) 将直径 4 mm 的玻碳电极依次用 1.0、0.3 和 0.05 mm 的三氧化二铝抛光粉抛光处理, 乙醇超声清洗, 再用超纯水冲洗干净, 然后将电极置于 5 ~ 10 mmol · L⁻¹ 铁氰化钾溶液中, 在 -0.2 ~ 0.6 V 电位下扫描, 使峰电位差小于 90 mV;

2) 将 6 μL、0.4 ~ 2.0 mg · mL⁻¹ 的 N-GS 溶液滴涂于电极表面, 滴加 3 μL、2.5% 的戊二醛溶液于电极表面, 室温干燥;

3) 将 6 μL、5 ~ 15 μg · mL⁻¹ 的鳞状上皮细胞癌抗原一抗(Ab₁)滴涂到步骤 2) N-GS 修饰的电极表面, 置于 4°C 湿润条件下晾干, 洗涤;

4) 将浓度为 3 μL、100 μg · mL⁻¹ 牛血清白蛋白滴涂到步骤 3) Ab₁ 修饰的电极表面, 4°C 下湿润条件下晾干;

5) 将 6 μL 的鳞状上皮细胞癌抗原(SCCA)分别滴涂在步骤 4) 牛血清白蛋白修饰的电极表面, 4°C 下湿润条件下晾干, 洗涤;

6) 将 6 μL 的 Pd-Au/C-Ab₂ 滴涂在步骤 5) SCCA 修饰的电极表面, 4°C 下湿润条件下晾干, 电化学免疫传感器制备完成。

[0012] (6) 所述制备的电化学免疫传感器用于 SCCA 的检测, 步骤如下:

1) 采用 0.066 mol · L⁻¹, pH = 7.4 的磷酸盐缓冲溶液, 配制在 5 pg · mL⁻¹ ~ 2 ng · mL⁻¹ 范围内不同浓度的 SCCA 溶液, 将 6 μL 不同浓度的 SCCA 溶液分别滴涂至上述步骤 4) 牛血清白蛋白修饰的电极表面, 晾干后, 按照步骤 6) 修饰电极, 连接至电化学工作站中, 分别将电极置于 10 mL 含有 3 ~ 6 mmol · mL⁻¹ H₂O₂ 的 pH=6.8 的 PBS 缓冲溶液中测定其电流变化;

2) 根据所得电流差值与 SCCA 浓度呈线性关系, 绘制工作曲线;

3) 依据工作曲线的绘制方法进行样品检测, 检测结果从工作曲线中查得。

[0013] 本发明的有益成果

(1) 鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器, 将 N-GS 引入到鳞状上皮细胞癌抗原生物的制备当中, 利用 N-GS 良好的电子传递能力, 显著改善了电极的性能。

[0014] (2) 将 Pd-Au/C 与肿瘤标志物二抗直接孵化, 利用钯金优异的生物相容性和高的

催化性能,在二抗的标记物中不必使用酶,避免了因酶的失活和泄漏造成的检测误差,简化了二抗标记物的制作步骤,显著提高了电化学免疫传感器的重现性和稳定性。

[0015] (3) 本发明所制备的电化学免疫传感器,操作简单,检测速度快,可在短时间内实现批量样品的测定。

具体实施方式

[0016] 实施例 1 氧化石墨烯的合成

在 0.1 ~ 0.6 g 石墨和 0.6 ~ 4.0g KMnO_4 中加入 40 mL、 H_2SO_4 - H_3PO_4 混合溶液, H_2SO_4 和 H_3PO_4 体积比 9 : 1,加热至 40~60 °C,持续 12h,停止反应冷却到室温,在冰水浴中加入 0.1 ~ 0.5 mL、体积分数为 30% 的 H_2O_2 ,磁力搅拌 30 ~ 60 min,将混合物离心,分别用 0.2 mol · L⁻¹ HCl,乙醇,乙醚进行洗涤,洗涤 2 次。

[0017] 实施例 2 氮掺杂石墨烯(N-GS)的合成

将氧化石墨烯分散于 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中,配成 0.5 mg/mL 溶液,超声 30 min,将混合液在 120 °C 条件下,搅拌回流 1 h,冷却到室温,在 9000 r/min 的转速下离心,50 °C 真空干燥。

[0018] 实施例 3 氮掺杂石墨烯(N-GS)的合成

将氧化石墨烯分散于 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中,配成 2.0 mg/mL 溶液,超声 60 min,将混合液在 160 °C 条件下,搅拌回流 2 h,冷却到室温,在 9000 r/min 的转速下离心,60 °C 真空干燥。

[0019] 实施例 4 氮掺杂石墨烯(N-GS)的合成

将氧化石墨烯分散于 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中,配成 1.0 mg/mL 溶液,超声 50 min,将混合液在 140 °C 条件下,搅拌回流 1.5h,冷却到室温,在 9000 r/min 的转速下离心,55°C 真空干燥。

[0020] 实施例 5 钯-金/碳(Pd-Au/C)的合成

30 mg 活性碳,1.0 mL、0.50 mol · L⁻¹ 的 PdCl_2 溶液,0.5 mL、质量分数为 1% 的 HAuCl_4 溶液,依次加入 5mL 水和 5mL 四氢呋喃,超声 0.5 h 混匀,磁力搅拌 12 h,缓慢加入 10mL 含有 0.1 mol · L⁻¹ NaBH_4 和 0.05 mol · L⁻¹ Na_2CO_3 的混合溶液,磁力搅拌 1 h,得到的固体依次用水和乙醇进行洗涤,洗涤完成后 50 °C 下真空干燥,制得钯-金/碳纳米材料(Pd-Au/C)。

[0021] 实施例 6 钯-金/碳(Pd-Au/C)的合成

100 mg 活性碳,5.0 mL、0.50 mol · L⁻¹ 的 PdCl_2 溶液,1.0 mL、质量分数为 1% 的 HAuCl_4 溶液,依次加入 5mL 水和 5mL 四氢呋喃,超声 2 h 混匀,磁力搅拌 12 h,缓慢加入 30 mL 含有 0.1 mol · L⁻¹ NaBH_4 和 0.05 mol · L⁻¹ Na_2CO_3 的混合溶液,磁力搅拌 1 h,得到的固体依次用水和乙醇进行洗涤,洗涤完成后 60 °C 下真空干燥,制得钯-金/碳纳米材料(Pd-Au/C)。

[0022] 实施例 7 钯-金/碳(Pd-Au/C)的合成

60 mg 活性碳,3.0 mL、0.50 mol · L⁻¹ 的 PdCl_2 溶液,0.7 mL、质量分数为 1% 的 HAuCl_4 溶液,依次加入 5mL 水和 5mL 四氢呋喃,超声 1.0 h 混匀,磁力搅拌 12 h,缓慢加入 20mL 含有 0.1 mol · L⁻¹ NaBH_4 和 0.05 mol · L⁻¹ Na_2CO_3 的混合溶液,磁力搅拌 1 h,得到的固体依次用水和乙醇进行洗涤,洗涤完成后 55 °C 下真空干燥,制得钯-金/碳纳米材料(Pd-Au/C)。

[0023] 实施例 8 Pd-Au/C-鳞状上皮细胞癌抗原二抗(Ab_2)的制备

分别配制 Pd-Au/C 溶液和 Ab₂ 溶液,将 Pd-Au/C 溶液和 Ab₂ 溶液按 1 : 1 的体积比进行混合,在 10℃ 的光照培养箱内孵化震荡 12 h,制得的 Pd-Au/C-Ab₂,用 pH = 7.4 磷酸盐缓冲溶液清洗,保存在 4℃ 的冰箱内备用。

[0024] 实施例 9 Pd-Au/C-鳞状上皮细胞癌抗原二抗(Ab₂)的制备

分别配制 Pd-Au/C 溶液和 Ab₂ 溶液,将 Pd-Au/C 溶液和 Ab₂ 溶液按 1 : 2 的体积比进行混合,在 10℃ 的光照培养箱内孵化震荡 24 h,制得的 Pd-Au/C-Ab₂,用 pH = 7.4 磷酸盐缓冲溶液清洗,保存在 4℃ 的冰箱内备用。

[0025] 实施例 10 Pd-Au/C-鳞状上皮细胞癌抗原二抗(Ab₂)的制备

分别配制 Pd-Au/C 溶液和 Ab₂ 溶液,将 Pd-Au/C 溶液和 Ab₂ 溶液按 1 : 1.5 的体积比进行混合,在 10℃ 的光照培养箱内孵化震荡 18 h,制得的 Pd-Au/C-Ab₂,用 pH = 7.4 磷酸盐缓冲溶液清洗,保存在 4℃ 的冰箱内备用。

[0026] 实施例 11 电化学免疫传感器的制备

(1) 将直径 4 mm 的玻碳电极依次用 1.0、0.3 和 0.05 mm 的三氧化二铝抛光粉抛光处理,乙醇超声清洗,再用超纯水冲洗干净,然后将电极置于 5 ~ 10 mmol · L⁻¹ 铁氰化钾溶液中,在 -0.2 ~ 0.6 V 电位下扫描,使峰电位差小于 80 mV ;

(2) 将 6 μL、0.4 mg · mL⁻¹ 的 N-GS 溶液滴涂于电极表面,红外灯下干燥后,滴加 3 μL、2.5% 的戊二醛溶液于电极表面,室温干燥 ;

(3) 将 6 μL、5 μg · mL⁻¹ 的鳞状上皮细胞癌抗原一抗(Ab₁)滴涂到步骤(2) N-GS 修饰的电极表面,置于 4℃ 湿润条件下晾干,洗涤 ;

(4) 将浓度为 3 μL、100 μg · mL⁻¹ 牛血清白蛋白滴涂到步骤(3) Ab₁ 修饰的电极表面,4℃ 下湿润条件下晾干 ;

(5) 将 6 μL 的鳞状上皮细胞癌抗原(SCCA)分别滴涂在步骤(4)牛血清白蛋白修饰的电极表面,4℃ 下湿润条件下晾干,洗涤 ;

(6) 将 6 μL 的 Pd-Au/C-Ab₂ 滴涂在步骤(5) SCCA 修饰的电极表面,4℃ 下湿润条件下晾干,电化学免疫传感器制备完成。

[0027] 实施例 12 电化学免疫传感器的制备

(1) 将直径 4 mm 的玻碳电极依次用 1.0、0.3 和 0.05 mm 的三氧化二铝抛光粉抛光处理,乙醇超声清洗,再用超纯水冲洗干净,然后将电极置于 5 ~ 10 mmol · L⁻¹ 铁氰化钾溶液中,在 -0.2 ~ 0.6 V 电位下扫描,使峰电位差小于 80 mV ;

(2) 将 6 μL、2.0 mg · mL⁻¹ 的 N-GS 溶液滴涂于电极表面,红外灯下干燥后,滴加 3 μL、2.5% 的戊二醛溶液于电极表面,室温干燥 ;

(3) 将 6 μL、15 μg · mL⁻¹ 的鳞状上皮细胞癌抗原一抗(Ab₁)滴涂到步骤(2) N-GS 修饰的电极表面,置于 4℃ 湿润条件下晾干,洗涤 ;

(4) 将浓度为 3 μL、100 μg · mL⁻¹ 牛血清白蛋白滴涂到步骤(3) Ab₁ 修饰的电极表面,4℃ 下湿润条件下晾干 ;

(5) 将 6 μL 的鳞状上皮细胞癌抗原(SCCA)分别滴涂在步骤(4)牛血清白蛋白修饰的电极表面,4℃ 下湿润条件下晾干,洗涤 ;

(6) 将 6 μL 的 Pd-Au/C-Ab₂ 滴涂在步骤(5) SCCA 修饰的电极表面,4℃ 下湿润条件下晾干,电化学免疫传感器制备完成。

[0028] 实施例 13 SCCA 的检测

(1) 采用 $0.066 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH} = 7.4$ 的磷酸盐缓冲溶液, 配制在 $5 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1} \sim 2 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内不同浓度的 SCCA 溶液, 将 $6 \text{ }\mu\text{L}$ 不同浓度的 SCCA 溶液分别滴涂至实施例 12 中步骤 (4) 牛血清白蛋白修饰的电极表面, 晾干后, 按照步骤 (6) 修饰电极, 连接至电化学工作站中, 分别将电极置于 10 mL 含有 $3 \sim 6 \text{ mmol} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$ 的 $\text{pH}=6.8$ 的 PBS 缓冲溶液中测定其电流变化;

(2) 根据所得电流差值与 SCCA 浓度呈线性关系, 绘制工作曲线;

(3) 依据工作曲线的绘制方法进行样品检测, 检测结果从工作曲线中查得。

专利名称(译)	一种鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器的制备方法及应用		
公开(公告)号	CN103454417A	公开(公告)日	2013-12-18
申请号	CN201310396759.1	申请日	2013-09-04
[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	魏琴 吴丹 张勇 高健 李贺 杜斌 马洪敏 李燕		
发明人	魏琴 吴丹 张勇 高健 李贺 杜斌 马洪敏 李燕		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/531 G01N27/327		
其他公开文献	CN103454417B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种鳞状上皮细胞癌抗原生物传感器的制备方法及应用，属于新型纳米功能材料与生物传感技术领域。具体是基于氮掺杂石墨烯(N-GS)和Pd-Au/C负载型纳米催化剂，制备一种鳞状上皮细胞癌抗原的夹心型电化学免疫传感器，用于检测血清中的鳞状上皮细胞癌抗原。其特征在于：(1)氮掺杂石墨烯的制备；(2)Pd-Au/C-鳞状上皮细胞癌抗原的二抗复合物的制备；(3)电化学免疫传感器的制备。Pd-Au/C对H₂O₂具有很强的催化能力，有利于固定更多的二抗、保持物质生物活性，本发明制备的传感器优点在于，灵敏度高、特异性好、易于操作、检测限低。