

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 27/327

G01N 27/333 G01N 33/53



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410054034.5

[43] 公开日 2005年3月2日

[11] 公开号 CN 1588028A

[22] 申请日 2004.8.26

[21] 申请号 200410054034.5

[71] 申请人 复旦大学

地址 200433 上海市邯郸路220号

[72] 发明人 孔继烈 江德臣 刘宝红 张松

[74] 专利代理机构 上海正旦专利代理有限公司

代理人 姚静芳 王福新

权利要求书1页 说明书9页 附图2页

[54] 发明名称 一种纳米溶胶-凝胶膜电极、其制备方法及应用

[57] 摘要

本发明涉及基本电器元件领域，提供了一种纳米溶胶-凝胶膜电极、其制备方法及应用。电化学免疫传感器是一种抗原测定新方法。目前，尽管电化学免疫法制备传感器突破了常用免疫分析方法需要对检测目标分子进行光学标记或酶标记、操作过程复杂、灵敏度不高等局限性，但是往往由于找不到适当的体系固定抗体而使其应用受到限制。本发明提供了一种覆盖有纳米溶胶凝胶膜的电极，电极上覆盖的膜为纳米溶胶凝胶膜，并用长链烷基醇封闭使之绝缘；凝胶中固定有抗体，并通过测定电极的电容变化检测待测物中可与抗体结合的物质含量。本发明的电极可用于制作检测生物分子的传感器，亦可用于制备可一次测定多种化合物浓度的电化学检测仪器。

1. 一种纳米溶胶-凝胶膜电极，其特征在于，该电极上覆盖的膜为 Al_2O_3 凝胶膜， Al_2O_3 凝胶膜中 Al_2O_3 与水的摩尔比为 1: 50-1: 300；并用长链烷基醇封闭使之绝缘；凝胶膜中固定有抗体，通过测定电极的电容变化检测待测物中可与抗体结合的物质含量。

2. 如权利要求 1 所述的电极，其特征在于电极上凝胶膜的厚度为 20-40nm。

3. 如权利要求 1 所述的电极，其特征在于，用于封闭作用的长链烷基醇为 12 硫醇，或 14 硫醇，或 16 硫醇，或 18 硫醇。

4. 一种如权利要求 1 所述电极的制备方法，其特征在于有以下制备步骤：

(1) 制备 Al_2O_3 溶胶；

(2) 将抗体溶液与 Al_2O_3 溶胶混合，形成含有抗体的 Al_2O_3 溶胶，溶胶中抗体的浓度为 10ng/ml-30mg/ml；

(3) 将上述含抗体的溶胶滴加在清洁后的电极表面，凝胶膜的厚度为 20-40nm， Al_2O_3 凝胶膜中 Al_2O_3 与水的摩尔比为 1: 50-1: 300；

(4) 用长链烷基醇对电极表面的凝胶膜进行封闭。

5. 一种权利要求 1 所述电极的应用，其特征在于，将该电极用于制备电化学免疫传感器。

6. 一种权利要求 1 所述电极的应用，其特征在于，将多个该电极与参比电极和对电极组合，形成可一次测定多种目的化合物的电化学检测仪器。

一种纳米溶胶-凝胶膜电极、其制备方法及应用

技术领域

本发明涉及基本电器元件领域，具体的说，本发明提供了一种含有纳米超薄溶胶-凝胶膜的电极及其制备方法。本发明还提供了该电极在制作电化学免疫传感器和检测疾病标志物的电化学仪器方面的应用。

背景技术

电化学免疫传感器是一种基于电化学测试手段和生物免疫识别反应的抗原测定新方法，其中涉及的关键步骤是将抗体固定在电极表面，以形成高活性的识别位点。近来，金电极表面自组装方法显示了巨大的潜力，结合共价固定反应可构建有序绝缘的单分子抗体绝缘膜，适合于电容免疫分析法的应用。但该方法利用共价键结合抗体分子，易于导致蛋白质结构的改变及抗体活力下降；同时该方法固定生物分子过程复杂，将增加分析误差。因此寻找简便易行，并能有效保持抗体分子活性的固定方法成为相关领域研究的重点。

溶胶-凝胶作为一种以无机多孔材料为载体的新型材料，具有较好的物理刚性和化学惰性，对光、化学、热和生物降解的稳定性高，包埋的生物分子可保持较高的生物活性和特异性；同时，溶胶-凝胶的孔径大小可调，可通过调节其大小提高生物化学反应的选择性；加之包埋过程条件温和，适用范围广泛。因此，该方法在目前生物传感器的研制中广受重视。

近年来，基于溶胶凝胶体系构建生物传感器的成功使得人们开始尝试利用该体系包埋抗体分子构建免疫传感器。1997年 Alisa Bronshtein 小组(Bronshtein A, Aharonson N, Avnir D, Turniansky A, Altstein M. Chem. Mater. 1997, 9, 2632)及 1998年 Joesph Wang 小组(Wang J, Pamidi PVA, Rogers KR. Anal. Chem. 1998, 70, 1171) 分别报道利用 SiO₂ 溶胶包埋抗体制备免疫传感器，采用了光学法、电流法检测目标抗原。结果表明小分子抗原可通过纳米材料的孔洞与包埋在凝胶体系内部抗体实现免疫反应。但利用以上免疫分析方法仍然存在检测目标分子需要进行光学标记或酶标记、操作过程复杂、灵敏度不高等局限性。电容免疫分析法作为一种高灵敏度、无标记免疫分析方法，已成功应用于基于自组装技术构建的免疫传感器，但迄今仍未有文献报道应用于溶胶凝胶电容型免疫传感

器。原因在于利用溶胶凝胶法固定抗体分子时通常制得的 SiO_2 生物膜较厚 (μm 级) (Jiang DC, Tang J, Liu BH, Yang PY, Shen XR, Kong JL, Biosens. Bioelectron., 2003, 18, 1183-1191), 使得电极表面嫁接层 d 值大于自组装构建单分子层厚度, 而电极电容将主要由该层电容决定, 因此这部分电容将掩盖抗原抗体结合产生的生物膜厚度改变所引起的电容变化。

发明内容

本发明的一个目的是提供一种纳米溶胶-凝胶膜电极, 该电极中的凝胶体系超薄绝缘并可用于固定生物分子, 通过电容变化检测待测物中可与生物分子相互作用的物质的含量。

本发明的另一个目的是提供一种上述电极的制备方法。

本发明的再一个目的是提供上述电极的应用。

对于溶胶凝胶体系, 纳米材料的表面积和其成膜厚度相关。通常表面积越大, 凝胶膜越薄。在各种溶胶凝胶体系中, $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ 具有较高的比表面积, 可有效降低成膜厚度, 因此有望应用于电容型溶胶凝胶免疫传感器的构建。在发明人以前的工作中, 该溶胶凝胶已成功包埋 HRP 生物分子和介体巯基制备安培型过氧化氢生物传感器过程用于检测苯酚分子, 取得较高的灵敏度 (Liu ZJ, Liu BH, Kong JL, Deng JQ. *Anal. Chem.* 2000, 72, 4707)。因此本发明选用这种凝胶体系包埋免疫分析通用模型一免疫球蛋白抗体, 构建免疫传感器来证实以上膜越薄, 测得的电容变化越灵敏的设想。在此基础上, 利用该体系包埋肝纤维化标志物的抗体以用于相关抗原分子的检测。

在本发明的一个方面, 提供了一种纳米溶胶-凝胶膜电极, 电极上覆盖的膜为 Al_2O_3 凝胶膜, Al_2O_3 凝胶膜中 Al_2O_3 与水的摩尔比为 1: 50-1: 300; 并用长链烷基醇封闭使之绝缘; 凝胶膜中固定有抗体, 并通过测定电极的电容变化检测待测物中可与抗体结合的物质含量并用长链烷基醇封闭使之绝缘; 凝胶中固定有抗体, 并通过测定电极的电容变化检测待测物中可与抗体结合的物质含量。

本发明的电极上 Al_2O_3 凝胶膜的厚度为 20-40nm。

本发明中, 用于封闭作用的长链烷基醇可以是 12 硫醇、14 硫醇、16 硫醇 或 18 硫醇等。

可与本发明中的抗体结合的物质包括核酸、蛋白质、脂肪、糖类或微生物等抗原物质。

本发明使用的基础电极可以是碳电极（包括石墨电极和玻碳电极）、金电极、铂电极等。

对于电容型免疫传感器，电极表面生物膜的厚度对于传感器灵敏度具有至关重要的作用。对于凝胶体系，溶胶中水的含量将直接影响最终凝胶生物膜的厚度。因此本发明分别测定具有不同水含量的 Al_2O_3 -Ab, SiO_2 -Ab生物膜厚度，结果表明，对于 Al_2O_3 溶胶体系， $\text{Al}:\text{H}_2\text{O}=1:50\sim 1:300$ 时可形成生物膜厚度约为40~20 nm，亦可适用于制作检测生物分子的传感器。

与此相比，对于 SiO_2 生物膜，通常用于包埋生物分子的 SiO_2 溶胶中 $\text{Si}:\text{H}_2\text{O}$ 摩尔比为1:10，该层膜的厚度为350~370nm，而且单纯的依靠增加 SiO_2 体系中水的含量不能降低该层膜的厚度。同时，由于进一步增加 SiO_2 中水的含量将使该生物凝胶膜产生一蓬松结构，并延长陈化时间，不易于包埋生物分子构建生物传感器（Jiang DC, Tang J, Liu BH, Yang PY, Shen XR, Kong JL, *Biosens. Bioelectron.*, 2003, 18, 1183-1191）。本发明的电极上 Al_2O_3 凝胶膜厚为20~40 nm，与金电极自组装方法构建的电容型生物膜的厚度相当，又能较好的保持所包埋生物分子的活性，因此可应用于电容免疫分析方法。

构建电容型免疫传感器的另一关键在于使固定有抗体的生物膜处于绝缘状态。在本发明的一个实施例中，利用 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 作为氧化还原探针监控该绝缘层的形成阶段。图1a为裸金电极在5mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液中的循环伏安图。当不加抗体的溶胶直接滴在电极表面，干燥后的凝胶膜循环伏安图（图1b）显示其电流值小于裸金电极状态，表明凝胶膜能够有效的固定在电极表面。混合抗体分子和溶胶在电极表面，干燥后的电极电流进一步降低，如图1c所示，证明抗体分子已成功固定在凝胶体系中。循环伏安图形状呈现正S形，表现出微电极特征。为绝缘该层生物膜，可用长链烷基醇封闭电极表面没有被凝胶粒子覆盖的部分。图1d为16-巯醇封闭后的金电极循环伏安图， $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 氧化还原峰消失，表明电极表面的针孔已被长链的巯基化合物遮盖，形成一层致密的电绝缘物质。

本发明中电化学工作站为多通道电化学仪CHI1030(CH Instrument, USA)。

本发明的另一方面，提供了一种纳米溶胶-凝胶膜电极的制备方法，包括以

下步骤:

- (1) 制备 Al_2O_3 溶胶;
- (2) 将抗体溶液与 Al_2O_3 溶胶混合, 形成含有抗体的 Al_2O_3 溶胶, 溶胶中抗体的浓度为 10ng/ml – 30mg/ml ;
- (3) 将上述含抗体的溶胶滴加在清洁后的电极表面, 凝胶膜的厚度为 $20\text{--}40\text{nm}$, Al_2O_3 凝胶膜中 Al_2O_3 与水的摩尔比为 $1:50$ – $1:300$;
- (4) 用长链烷基醇对电极表面的凝胶膜进行封闭。

具体而言, 首先, 用氧化铝抛光粉研磨电极, 并在超声波中洗涤, 同分子干燥备用; 同时, 将异丙醇铝等铝盐原料配成均质溶液, 经加热水解等化学反应, 生成 Al_2O_3 溶胶; 将待固定的抗体溶液加入到 Al_2O_3 溶胶中, 用微型移液管将混合有抗体的凝胶滴加在清洁后的电极表面, 待干燥聚合后, 抗体就被包埋在凝胶中; 洗涤覆盖有凝胶膜的电极, 并在 PBS 等溶液中搅拌使其本底电流下降至稳定水平; 最后, 将包被有抗体的凝胶膜电极置于长链烷基醇溶液中, 进行封闭。这样, 本发明的电极就制备完成了。

本发明的另一个方面, 提供了一种上述纳米溶胶凝胶膜电极的应用, 即将该电极用于制备电化学免疫传感器。

本发明的电极亦可与多个上述纳米溶胶凝胶膜电极与参比电极和对电极组合, 形成可一次测得多种目的化合物浓度的电化学检测仪器。

多通道、多目标临床检测是免疫分析发展的方向及要求。目前关于多通道检测方法的研究主要集中在荧光标记法、SPR 及 ELISA 方法。这些方法存在的主要问题在于检测过程复杂, 或需要荧光标记, 酶联标记, 或需要如表面等离子共振等大型仪器, 在临床应用上有一定的难度。而应用电位阶跃法测定免疫传感器电容值变化可在微秒时间范围内实现检测, 因此如在该体系上附加一套多通道采点体系, 即可实现多通道多目标物检测; 且无需标记免疫分子及复杂仪器, 有较好的应用前景。

多通道电位阶跃体系检测原理也基于电极体系可模拟为简单 RC 电路。由于金电极表面的生物凝胶膜处于绝缘状态, 在施加 50mV 电压后极短时间内, 可将其等效电路图简化为设想 RC 电路。图6 显示八通道电极阵列的电位阶跃线性拟和图, 即将前 10 个电流值取对数对时间作图, 其线性相关系数优于 0.99。该值接近于 1, 证实电极体系与理想等效电路图相似, 表明多通道电位阶跃法适用于本体系的电

容测定。表2 显示了免疫传感器组装过程中的电容值。电容值不断降低证实免疫传感器组装过程如设想构建。利用16-巯醇封闭后，电极的电容值显著减小到150nF左右，表明通过长链巯醇封闭电极裸露部分，可明显增加电极表面生物膜的绝缘性。

附图说明

图 1 为基于溶胶凝胶体系的电容型免疫传感器构建不同阶段循环伏安图。其中，a. 裸金电极；b. 表面覆盖有凝胶膜的金电极；c. 表面覆盖有凝胶-抗体膜的金电极；d. 16-巯醇封闭后的金电极。

图 2 为 Al_2O_3 凝胶中不同水含量构建的电容型免疫传感器对 IgG 抗原的响应图。其中，(e) 1 ngmL^{-1} (f) 5 ngmL^{-1} (g) 50 ngmL^{-1} 。

图 3 为 SiO_2 凝胶中不同水含量构建的电容型免疫传感器对 IgG 抗原的响应图。其中，(h) 1 ngmL^{-1} (i) 5 ngmL^{-1} (j) 200 ngmL^{-1} 。

图 4 为含不同水含量的凝胶膜制备 LN 免疫传感器对抗原的响应图。其中，水与凝胶含水摩尔比分别是：l 为 100:1，m 为 200:1，n 为 300:1，o 为 50:1。

图 5 为免疫传感阵列对混合抗原的响应图。其中，p 为透明质酸免疫传感器对透明质酸(HA)的响应，q 为层粘连蛋白免疫传感器对层粘连蛋白(LN)的响应。

图 6 为溶胶凝胶电容型免疫传感阵列八通道电位阶跃线性拟合图。其中，抗原浓度分别为：u) 0 ng/mL v) 10 ng/mL w) 100 ng/mL 。

具体实施方式

实施例 1 溶胶凝胶体系中水含量对最终凝胶生物膜厚度的影响

凝胶体系，溶胶中水的含量将直接影响最终凝胶生物膜的厚度。因此本发明分别测定具有不同水含量的 Al_2O_3 -Ab, SiO_2 -Ab 生物膜厚度，列表如下：

表1： 具有不同水含量(摩尔比)的 Al_2O_3 -Ab, SiO_2 -Ab生物膜的厚度

	Al_2O_3 (nm)		SiO_2 (nm)	
	(Al/water 1:100)	(1:300)	(Si/water 1:10)	(1:100)
1.	31 ± 3	22 ± 2	370 ± 37	250 ± 25
2.	42 ± 4	19 ± 2	350 ± 35	260 ± 36
3.	37 ± 4	21 ± 2	350 ± 35	270 ± 37
4.	40 ± 4	19 ± 2	370 ± 37	250 ± 25

5. 41 ± 4 24 ± 2 370 ± 37 250 ± 25

结果表明, 对于 Al_2O_3 溶胶体系, $Al: H_2O=1:100$ 时可形成生物膜厚度约为 40 nm。进一步增加溶胶中水的含量至 $1:300$, 生物膜的厚度下降至20 nm左右。与此相比, 对于 SiO_2 生物膜, 通常用于包埋生物分子的 SiO_2 溶胶中 $Si: H_2O$ 为 $1: 10$, 该层膜的厚度为 350 ~370nm, 与选用SEM方法测定结果相似(Liu ZJ, Liu BH, Kong JL, Deng JQ. *Anal. Chem.* 2000, 72, 4707)。增加水的含量到 $1: 100$, 生物膜的厚度没有明显减小, 为250 ~270nm。该厚度仍然远远超过 Al_2O_3 凝胶生物膜, 表明单纯的依靠增加 SiO_2 体系中水的含量不能降低该层膜的厚度。同时, 由于进一步增加 SiO_2 中水的含量将使该生物凝胶膜产生一蓬松结构, 并延长陈化时间, 不易于包埋生物分子构建生物传感器(Jiang DC, Huang S, Tang J, Liu BH, Huang YP, Kong JL, *Chin.J Anal. Chem.* 2003, 31, 713-715)因此基于 SiO_2 溶胶凝胶体系构建免疫型传感器不利于电容免疫分析法。而 Al_2O_3 凝胶膜厚为20~ 40 nm, 与金电极自组装方法构建的电容型生物膜的厚度相当, 因此有可能应用于电容免疫分析方法。

实施例2 进一步减小 Al_2O_3 凝胶生物膜的厚度

Al_2O_3 凝胶生物膜的厚度虽然远小于 SiO_2 体系, 但是相对于自组装层而言仍然较厚, 而其最终电容值大于基于巯基化合物自组装构建的免疫传感器电容(表2)。因此可在生物膜较厚的情况下有效的增加电极电容值, 进而增加其RC常数。该值的增加对于实现多通道的采点分析至关重要。因为对于多通道电位阶跃而言, 仪器的A/D噪音将大于单通道状态。为保证拟合曲线具有良好的线性, 免疫传感器的RC常数必须增大, 以使实际体系更加接近RC模型, 进而实现多通道采点分析。表4同时列出所构建的免疫传感器数据, 其拟合线性变差, 显示采用 Al_2O_3 无机材料构建电容型免疫传感器具有较大的优势。相同条件下, 我们构建 SiO_2 电容型免疫传感器, 由于 SiO_2 的介电常数相对较小(~ 3.9), 加之该层生物膜远厚于 Al_2O_3 生物膜, 使得体系在电阻没有什么变化, 电容值下降, RC常数被较大程度的减小, 使体系偏离理想状态, 不适合多通道电容免疫分析。

表 2: 基于 Al_2O_3 , SiO_2 及 SAMs 体系的免疫传感器电容、电阻值

Methods	capacitance(nF)	resistance(Ω)	correlation coefficient	RC time constant(μ s)
Al_2O_3 sol-gel-derived	154	4172	0.995	642
SAMs	28.9	3292	0.989	95.1
SiO_2 sol-gel-derived	57.7	4430	0.990	255

实施例3 长链烷基醇封闭后的传感器生物膜处于绝缘状态

本实验中利用 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 作为氧化还原探针监控该绝缘层的形成阶段。用常规方法检测,结果如图1所示。图1a为裸金电极在5mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液中的循环伏安图。当不加抗体的溶胶直接滴在电极表面,干燥后的凝胶膜循环伏安图(图1b)显示其电流值小于裸金电极状态,表明凝胶膜能够有效的固定在电极表面。混合抗体分子和溶胶在电极表面,干燥后的电极电流进一步降低,如图1c所示,证明抗体分子已成功固定在凝胶体系中。循环伏安图形状呈现正S形,表现出微电极特征。其原因在于 Al_2O_3 溶胶在此条件下表面带有正电荷,能够通过静电吸引包埋带负电的生物分子形成一层致密膜。其仍然存在氧化还原电流的原因在于纳米 Al_2O_3 粒子组成的生物膜仍然具有一定的针孔,使 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 离子可以到达电极表面。为绝缘该层生物膜,16-巯醇用于封闭电极表面没有被凝胶粒子覆盖的部分。图1d为16-巯醇封闭后的金电极循环伏安图, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 氧化还原峰消失,表明电极表面的针孔已被长链的巯基化合物遮盖,形成一层致密的电绝缘物质。

表3显示了免疫传感器组装过程中的电容值。电容值不断降低证实免疫传感器组装过程如设想构建。利用16-巯醇封闭后,电极的电容值显著减小到150nF左右,表明通过长链巯醇封闭电极裸漏部分,可明显增加电极表面生物膜的绝缘性。

表 3: 溶胶凝胶免疫传感器构建不同阶段电容值

步骤	电容 /nF
裸金电极	1040
电极包被凝胶后	446
包被有抗体的 Al_2O_3 凝胶	275
用 16-巯醇包被电击后	154

实施例4 透明质酸免疫传感器的构建

在临床检测透明质酸过程中,透明质酸结合蛋白和透明质酸的结合力大于透明质酸抗体与抗原的作用,利用其识别透明质酸抗原分子可将灵敏度提高两个数量级,通常被选定为临床检测透明质酸的结合分子。

实验中首先进行电极的清洁。即直径为3毫米的玻璃碳电极依次用0.3、0.1及0.05 μm 的 Al_2O_3 抛光粉研磨,再在超声波中依次用体积比为1:1的硝酸/丙酮溶

液及蒸馏水清洗5分钟。最后通风干燥24小时以上备用。

同时,制备包埋有抗体的 Al_2O_3 凝胶。以 $Al:H_2O$ 的摩尔比为1:100的凝胶为例。将2克异丙醇铝溶于44.0毫升蒸馏水中,80℃搅拌45分钟后加入1M HCl 1.2毫升。然后将混合物加热至90℃,将容器打开2小时排放异丙醇蒸汽。将混合物在90℃下回流16小时后,就得到了 $\gamma-Al_2O_3$ 溶胶。在每10 μ l上述 Al_2O_3 溶胶中加入10 μ l 0.1mg/ml的透明质酸抗体溶液。用微型移液管将20 μ l胶体混合物滴在玻碳电极表面,干燥一天使溶胶聚合。

然后,用双蒸水彻底清洗并置于pH=7.4的PBS中搅拌至少2分钟,使电极的本底电流下降并达到稳定状态。置于4℃备用。

最后,将涂布有凝胶的玻碳电极置于16-硫醇溶液中封闭,4℃,过夜。

将上述构建的透明质酸免疫传感器分别与透明质酸发生反应,并测定电容变化值。图4显示含有不同水含量的 Al_2O_3 凝胶生物膜构建的LN免疫传感器对抗原的响应。结果显示当 $Al:H_2O$ 的比例为1:100时,免疫传感器对抗原的电容响应值最大。检测下限为0.5 $ngmL^{-1}$ 。优于金电极自组装技术获得的免疫传感器结果。相同的结论对于层粘连蛋白免疫传感器同样可以得到。该结果进一步证明实验中已成功构建电容型免疫传感器。

实施例5 透明质酸、层粘连蛋白免疫传感器阵列

实验中利用优化的实验条件构建透明质酸、层粘连蛋白免疫传感器阵列,测定混合样品中两种抗原的浓度。其电容值的变化与浓度的关系图显示在图5中。在0.5 ~ 50 $ngmL^{-1}$, 1 ~ 50 $ngmL^{-1}$ 范围内可分别得到LN, HA的线性响应。四根电极之间的相对标准偏差为10% (n = 4, HA) and 12% (n = 4, LN), 该线性响应范围与正常人体中抗原HA浓度(44.23 ± 23.06 $ngmL^{-1}$) and LN (99.10 ± 12.96 $ngmL^{-1}$) 匹配, 表明构建的免疫传感器能够满足临床检测的需要。其中LN的电容变化大于HA的原因在于: LN的分子量(90kDa) 大于HA (30kDa), 这使得抗体层结合单位抗原分子产生较大的膜厚变化, 进而产生更大的电容变化。将以上结果与IgG免疫传感器的分析结果相比, 虽然IgG分子量较小, 但其对单位浓度抗原的电容变化较大, 这表明分子量只是影响电容变化的重要因素, 而非全部因素。其它如抗原抗体的活性及结合力也是考虑的因素之一。

将免疫传感器阵列对抗原的响应与单一传感器对抗原特异性响应的数据进行比较(表4), 在10 ~ 100 ng/mL 范围内, 由混合抗原产生的电容偏差在15%以内,

符合常规分析的要求。当抗原量被进一步的稀释，分析偏差不断增大。

表4. 混合抗原产生对免疫传感器阵列分析误差的影响

($-\Delta C1$ 指对混合抗原的响应； $-\Delta C2$ 指对单一抗原响应)

浓度 (ng/mL)	$-\Delta C1$ (nF)	$-\Delta C2$ (nF)	derivation(%)
0.5	6.5962	5.24	20.56
5	12.35	10.0	19.02
10	13.90	14.0	-1.06
50	22.23	22.97	-3.28
100	21.39	22.58	-5.60

实施例6 多通道电位阶跃体系

多通道电位阶跃体系检测原理也基于电极体系可模拟为简单RC电路。由于金电极表面的生物凝胶膜处于绝缘状态，在施加50mV电压后极短时间内，可将其等效电路图简化为设想RC电路。图6 显示八通道电极阵列的电位阶跃线性拟和图，即将前10个电流值取对数对时间作图，其线性相关系数优于0.99。该值接近于1，证实电极体系与理想等效电路图相似，表明多通道电位阶跃法适用于本体系的电容测定。

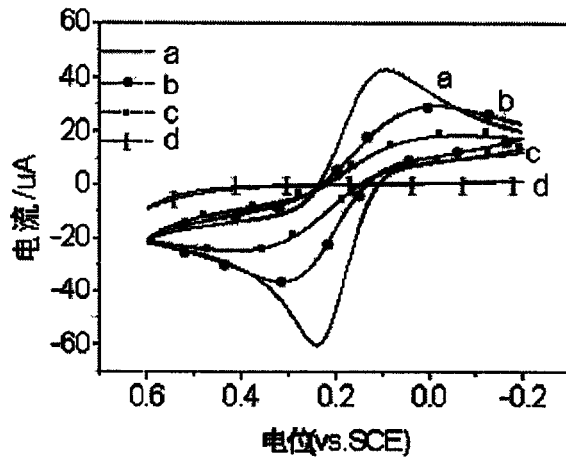


图 1

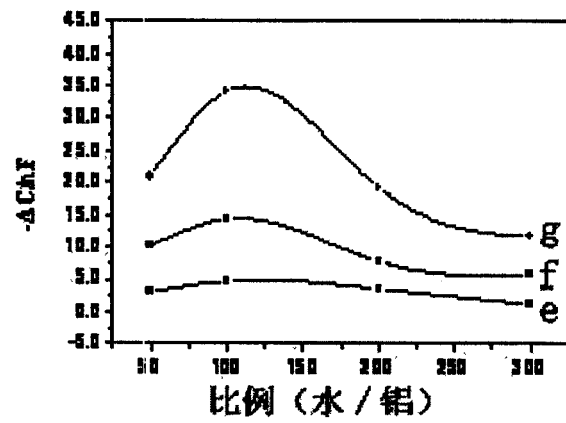


图 2

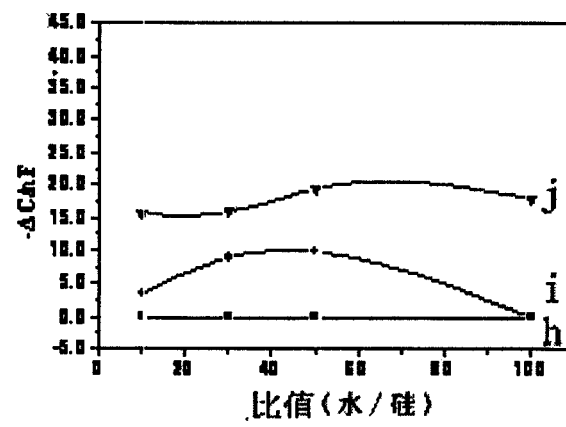


图 3

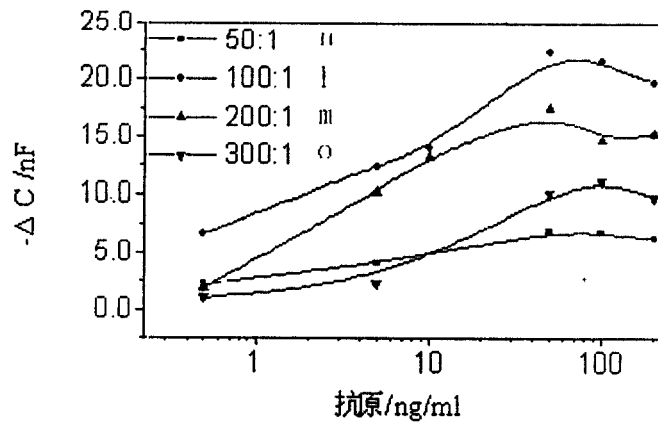


图 4

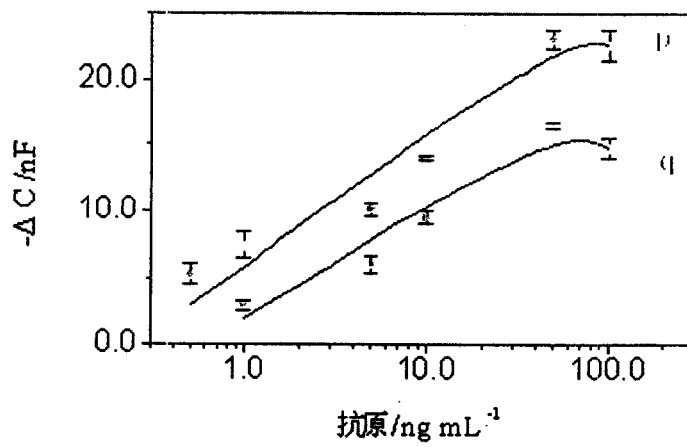


图 5

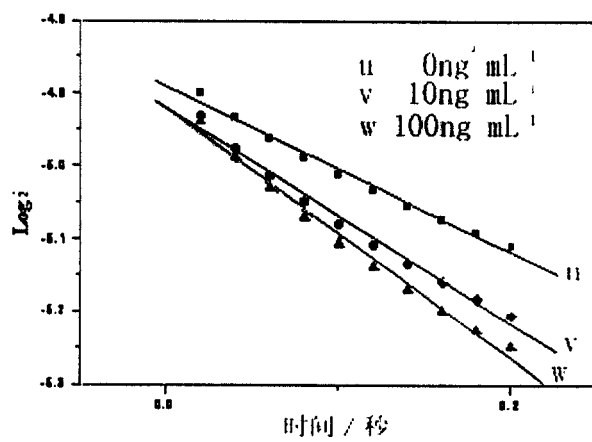


图 6

专利名称(译)	一种纳米溶胶 - 凝胶膜电极、其制备方法及应用		
公开(公告)号	CN1588028A	公开(公告)日	2005-03-02
申请号	CN200410054034.5	申请日	2004-08-26
[标]申请(专利权)人(译)	复旦大学		
申请(专利权)人(译)	复旦大学		
当前申请(专利权)人(译)	复旦大学		
[标]发明人	孔继烈 江德臣 刘宝红 张松		
发明人	孔继烈 江德臣 刘宝红 张松		
IPC分类号	G01N27/327 G01N27/333 G01N33/53		
代理人(译)	王福新		
其他公开文献	CN1258086C		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及基本电器元件领域，提供了一种纳米溶胶 - 凝胶膜电极、其制备方法及应用。电化学免疫传感器是一种抗原测定新方法。目前，尽管电化学免疫法制备传感器突破了常用免疫分析方法需要对检测目标分子进行光学标记或酶标记、操作过程复杂、灵敏度不高等局限性，但是往往由于找不到适当的体系固定抗体而使其应用受到限制。本发明提供了一种覆盖有纳米溶胶凝胶膜的电极，电极上覆盖的膜为纳米溶胶凝胶膜，并用长链烷基醇封闭使之绝缘；凝胶中固定有抗体，并通过测定电极的电容变化检测待测物中可与抗体结合的物质含量。本发明的电极可用于制作检测生物分子的传感器，亦可用于制备可一次测定多种化合物浓度的的电化学检测仪器。

