



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109060905 A

(43)申请公布日 2018.12.21

(21)申请号 201810707272.3

(22)申请日 2018.07.02

(71)申请人 济南大学

地址 250022 山东省济南市市中区南辛庄  
西路336号

(72)发明人 魏琴 徐芮 张勇 吴丹 王超  
杜斌

(74)专利代理机构 济南誉丰专利代理事务所  
(普通合伙企业) 37240

代理人 高强

(51)Int.Cl.

G01N 27/30(2006.01)

G01N 27/327(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

权利要求书2页 说明书7页

(54)发明名称

锰掺杂硒化镉增强钨酸铋-硫化镉 $\beta$ 淀粉样蛋白的竞争型光电化学传感器的制备方法

(57)摘要

本发明涉及基于锰掺杂硒化镉增强钨酸铋-硫化镉 $\beta$ 淀粉样蛋白的竞争型光电化学传感器的制备方法。本发明以钨酸铋-硫化镉作为基底材料来获取光电流,经硫化镉敏化后的花状钨酸铋,光电转换效率得到极大提高。以锰掺杂的硒化镉作为标记物标记 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原,通过标记的抗原和无标记的抗原与抗体的竞争型免疫反应提高了传感器的灵敏度,实现了对淀粉样蛋白的灵敏检测。其检测限为0.068 pg/mL。

1. 基于锰掺杂硒化镉增强钨酸铋-硫化镉 $\beta$ 淀粉样蛋白的竞争型光电化学传感器的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 花状钨酸铋材料的制备

取0.5~1.0 g钨酸钠溶于30mL 水中得溶液A;取1.0 ~ 3.0 g硝酸铋溶于10 ~ 30 mL水中,得溶液B;将A和B两溶液混合均匀后,转入高压反应釜中,在140 ~ 200 °C下反应16 ~ 24 h,反应结束后,自然冷却,产物用无水乙醇和超纯水各洗涤3次,在30 ~ 50 °C下真空干燥10 ~14 h,制得花状钨酸铋材料;

(2) 硫化镉量子点的制备

取0.3 ~ 0.5 g九水合硫化钠溶解于10 ~ 30 mL超纯水中,取0.4 ~ 0.5 g乙酸镉溶解于10 ~ 30 mL超纯水中;将两溶液混合均匀后,转入反应釜中,在160 ~ 200 °C条件下水热反应20 ~ 24 h,冷却至室温后,所得产物用无水乙醇和超纯水各洗涤3次,在40 ~ 60 °C下真空干燥12 h,制得硫化镉量子点;

(3) 锰掺杂硒化镉纳米材料的制备

取0.05 ~ 0.1 g氯化镉和0.001 ~ 0.002 g氯化锰溶解于20 ~ 50 mL超纯水后,加入40 ~ 60  $\mu$ L 3-巯基丙酸,搅拌5分钟后,用1 M的氢氧化钠溶液调节溶液pH至6 ~ 10,得溶液A;取0.03 ~ 0.06 g硒粉和0.3 ~ 0.4 g硼氢化钠与3 ~ 7 mL超纯水共溶,在 $N_2$ 气氛下持续搅拌至澄清,得溶液B;将溶液B迅速倒入溶液A中,搅拌10 ~ 30 min后,转入反应釜中,于150 ~ 200 °C下反应30 ~ 60 min;反应结束后自然冷却至室温,用无水乙醇和超纯水洗涤,之后在40 ~ 60 °C下真空干燥10 ~ 12 h,制得锰掺杂的硒化镉纳米材料;

(4) 锰掺杂的硒化镉标记的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原的制备

取2 ~ 6 mg锰掺杂的硒化镉固体溶于1 mL pH为7.0的PBS缓冲溶液中,之后加入10 ~ 20 mg 1-乙基-(3-二甲基氨基丙级) 碳二亚胺盐酸盐,于室温下震荡10 ~ 30 min,之后加入300 ~ 800  $\mu$ L 浓度为5 ~ 20  $\mu$ g/mL 的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原,在10 ~ 40 °C下孵化1 ~ 5 h后,在4 °C冰箱中放置10 ~ 15 h, 离心,洗涤,溶解于2mL的PBS缓冲溶液中储存备用;

(5) 光电化学传感器的制备

1) 将导电玻璃依次用洗衣粉、丙酮、乙醇和超纯水超声清洗,氮气吹干;

2) 取6  $\mu$ L、2 ~ 6 mg/mL的钨酸铋水溶液滴加到ITO导电玻璃的导电面,红外灯下晾干;

3) 在修饰的电极表面继续滴加6  $\mu$ L、2 ~ 6 mg/mL的硫化镉水溶液,自然晾干;

4) 在修饰电极表面滴加体积比为1:1的10 ~ 50 mg/mL的1-乙基-(3-二甲基氨基丙级) 碳二亚胺盐酸盐和5 ~ 30 mg/mL N-羟基琥珀酰亚胺的混合液4  $\mu$ L;超纯水冲洗电极表面,室温下自然晾至湿润薄膜状态;

5) 滴加4  $\mu$ L、5 ~ 20  $\mu$ g/mL的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗体,超纯水清洗,室温下自然晾至湿润薄膜状态;

6) 滴加3  $\mu$ L、用pH为7.0的PBS缓冲溶液配置的质量分数为1% ~ 3%的牛血清白蛋白溶液于修饰电极表面,超纯水冲洗电极表面,4 °C冰箱中晾干;

7) 滴加6  $\mu$ L、体积比为1:1的0.2  $\mu$ g/mL ~ 50 ng/mL  $\beta$ 淀粉样蛋白抗原和锰掺杂的硒化镉标记的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原混合溶液,超纯水冲洗电极表面,4 °C冰箱中自然晾干,制得一种检测 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原的光电化学传感器。

2. 如权利要求1所述制备的光电化学传感器的检测方法,其特征在于,步骤如下:

(1) 使用电化学工作站以三电极体系进行测试,饱和甘汞电极为参比电极,铂丝电极为辅助电极,制备的ITO修饰的传感器为工作电极,在10 mL、pH 5.0 ~ 8.0的PBS,0.01 ~ 0.5 mol/L的抗坏血酸缓冲溶液中进行测试;

(2) 用时间-电流法对β淀粉样蛋白抗原进行检测,设置电压为-0.1 ~ 0.1 V,运行时间120 s,光源波长为400 ~ 450 nm;

(3) 电极放置好之后,每隔20 s开灯持续照射20 s,记录光电流,绘制工作曲线;

(4) 将待测的β淀粉样蛋白抗原样品溶液代替β淀粉样蛋白抗原标准溶液进行检测。

## 锰掺杂硒化镉增强钨酸铋-硫化镉 $\beta$ 淀粉样蛋白的竞争型光电化学传感器的制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及基于锰掺杂硒化镉增强钨酸铋-硫化镉 $\beta$ 淀粉样蛋白(1 ~ 42)的竞争型光电化学传感器的制备方法。具体是采用硫化镉敏化的钨酸铋作为基底光敏材料,用锰掺杂的硒化镉作为标记物标记抗原,标记的抗原与无标记的抗原和抗体之间存在竞争免疫反应,制备了一种检测 $\beta$ 淀粉样蛋白(1 ~ 42)的竞争型光电化学传感器,属于新型功能材料与生物传感检测技术领域。

### 背景技术

[0002] 近年来,阿尔茨海默病(AD)发病率逐年上升,它是一种起病隐匿的进行性发展的神经系统退行性疾病。临床上以记忆障碍、失语、失用、失认、视空间技能损害、执行功能障碍以及人格和行为改变等全面性痴呆表现为特征,严重影响了人们的生产和生活。 $\beta$ 淀粉样蛋白(AB)是由淀粉样前体蛋白经 $\beta$ -和 $\gamma$ -分泌酶的蛋白水解作用而产生的含有39 ~ 43个氨基酸的多肽。它可由多种细胞产生,循环于血液、脑脊液和脑间质液中,大多与伴侣蛋白分子结合,少数以游离状态存在。人体内AB最常见的亚型是AB1~40和AB1~42。在人脑脊液和血中,AB1~40分别比AB1~42的含量水平高10倍和1.5倍,AB1~42具有更强的毒性,且更容易聚集,从而形成AB沉淀的核心,引发神经毒性作用。当阿尔兹海默病发病时,AB1~42的含量迅速会升高,是AD病人脑内老年斑周边神经元变性和死亡的主要原因。 $\beta$ 淀粉样蛋白(1~42)水平测试稳定性,重复性好,并且无创伤,十分有助于阿尔兹海默症的诊断,监测治疗反应及判断预后。因此,建立一种快速、准确地检测 $\beta$ 淀粉样蛋白的分析方法非常必要。目前已有的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原的检测方法有很多,如酶联免疫分析、荧光分析、电化学发光分析等。但酶联免疫分析操作繁琐;荧光分析可控性差、毒性大;电化学发光分析检测时间长。本发明设计了一种新型的竞争型光电化学传感器,竞争型传感器在其他检测方法如,电致化学发光和电化学方法中也多有涉及,其分析速度快,操作简单,稳定性好,本发明设计的竞争型光电化学传感器对 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原的检测限达到0.068 pg/mL。

[0003] 钨酸铋,一种典型的半导体材料,具有良好的光催化性能,制作成本低,无毒,具有一定的光稳定性和热稳定性,在可见光照射下,会产生光生电荷,进而形成光电流,但由于其带隙窄,光生电子空穴易于复合,使得其本身光电转换效率并不高。硫化镉作为一种优异的敏化材料,制备简单,产量高,生物相容性好。花状钨酸铋比表面积大,经硫化镉敏化,能够附载大量的硫化镉纳米颗粒,从而获得极好的光电性能。硒化镉作为另一种良好的光敏化材料,与钨酸铋和硫化镉具有良好的能级匹配,并且,经锰离子掺杂之后,锰离子所形成的中间能级能够很好地阻碍导带上的光生电子与价带上的光生空穴复合,同时调控了硒化镉纳米颗粒形貌的均匀性,从而更好地提高了光电转换效率。锰掺杂的硒化镉标记的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原与未标记的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原和 $\beta$ 淀粉样蛋白抗体之间存在竞争的免疫反应,使得该传感器的检测灵敏度大大提高。

[0004] 光电化学传感器是基于物质的光电转换特性来确定待测物浓度的一类检测装置。

光电化学检测方法具有设备简单、灵敏度高、易于微型化的特点,已经发展成为一种极具应用潜力的分析方法,在食品、环境、医药等领域具有广阔的应用前景。钨酸铋材料在光电化学传感器方面的应用未见报道。本发明基于锰掺杂的硒化镉增强钨酸铋-硫化镉材料成功构建了在可见光下检测β淀粉样蛋白的竞争型光电化学传感器。该传感器以硫化镉敏化的花状钨酸铋作为基底光敏材料,以锰掺杂的硒化镉作为抗原标记物,根据有标记和无标记的抗原与抗体的竞争免疫反应以及不同浓度的待测物对电信号强度影响的不同,实现了对β淀粉样蛋白抗原的灵敏检测。本发明制备的光电化学传感器,具有低成本、高灵敏、特异性好、快速检测、易于制备等优点,实现了在可见光区域对β淀粉样蛋白抗原的快速、高灵敏检测,有效克服了目前β淀粉样蛋白(1~ 42)检测方法的不足。

## 发明内容

[0005] 本发明目的之一是利用硫化镉敏化的花状钨酸铋材料作为光敏材料。该光敏材料表现出优异的光电性能,在可见光下具有极大的光电转换效率。

[0006] 本发明目的之二是用锰掺杂的硒化镉作为标记物标记β淀粉样蛋白(1~42)。锰掺杂的硒化镉和硫化镉与钨酸铋具有良好的匹配能级,光电性能双重增大,使检测的准确性进一步提高。

[0007] 本发明目的之三是利用锰掺杂的硒化镉标记的β淀粉样蛋白抗原和无标记的β淀粉样蛋白抗原与β淀粉样蛋白抗体之间的竞争免疫反应,实现对β淀粉样蛋白抗原的灵敏检测。

[0008] 本发明目的之四是以钨酸铋-硫化镉作为基底,以锰掺杂的硒化镉作为抗原标记物,制备一种灵敏度高、稳定性好、检测速度快的光电化学传感器,实现了在可见光条件下对β淀粉样蛋白(1 ~ 42)灵敏检测的目的。

[0009] 本发明的技术方案如下:

1、基于锰掺杂硒化镉增强钨酸铋-硫化镉β淀粉样蛋白(1~42)的竞争型光电化学传感器的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

### (1) 花状钨酸铋材料的制备

取0.5~1.0 g钨酸钠溶于30mL 水中得溶液A;取1.0 ~ 3.0 g硝酸铋溶于10 ~ 30 mL水中,得溶液B;将A和B两溶液混合均匀后,转入高压反应釜中,在140 ~ 200 °C下反应16 ~ 24 h,反应结束后,自然冷却,产物用无水乙醇和超纯水各洗涤3次,在30 ~ 50 °C下真空干燥10 ~1 4 h,制得花状钨酸铋材料;

### (2) 硫化镉量子点的制备

取0.3 ~ 0.5 g九水合硫化钠溶解于10 ~ 30 mL超纯水中,取0.4 ~ 0.5 g乙酸镉溶解于10 ~ 30 mL超纯水中;将两溶液混合均匀后,转入反应釜中,在160~ 200 °C条件下水热反应20 ~ 24 h,冷却至室温后,所得产物用无水乙醇和超纯水各洗涤3次,在40 ~ 60 °C下真空干燥12 h,制得硫化镉量子点;

### (3) 锰掺杂硒化镉纳米材料的制备

取0.05 ~ 0.1 g氯化镉和0.001 ~ 0.002 g氯化锰溶解于20 ~ 50 mL超纯水后,加入40 ~ 60 μL 3-巯基丙酸,搅拌5分钟后,用1 M的氢氧化钠溶液调节溶液pH至6 ~ 10,得溶液A;取0.03 ~ 0.06 g硒粉和0.3 ~ 0.4 g硼氢化钠与3 ~ 7 mL超纯水共溶,在N<sub>2</sub>气氛下持

续搅拌至澄清,得溶液B;将溶液B迅速倒入溶液A中,搅拌10 ~ 30 min后,转入反应釜中,于150 ~ 200 °C下反应30 ~ 60 min;反应结束后自然冷却至室温,用无水乙醇和超纯水洗涤,之后在40 ~ 60 °C下真空干燥10 ~ 12 h,制得锰掺杂的硒化镉纳米材料;

#### (4) 锰掺杂的硒化镉标记的β淀粉样蛋白抗原的制备

取2 ~ 6 mg锰掺杂的硒化镉固体溶于1 mL pH为7.0的PBS缓冲溶液中,之后加入10 ~ 20 mg 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐,于室温下震荡10 ~ 30 min,之后加入300 ~ 800 μL 浓度为5 ~ 20 μg/mL 的β淀粉样蛋白抗原,在10 ~ 40 °C下孵化1 ~ 5 h后,在4 °C冰箱中放置10 ~ 15 h,离心,洗涤,溶解于2mL的PBS缓冲溶液中储存备用;

#### (5) 光电化学传感器的制备

- 1) 将导电玻璃依次用洗衣粉、丙酮、乙醇和超纯水超声清洗,氮气吹干;
- 2) 取6 μL、2 ~ 6 mg/mL的钨酸铋水溶液滴加到ITO导电玻璃的导电面,红外灯下晾干;
- 3) 在修饰的电极表面继续滴加6 μL、2 ~ 6 mg/mL的硫化镉量子点水溶液,自然晾干;
- 4) 在修饰电极表面滴加体积比为1:1的10 ~ 50 mg/mL的1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐和5 ~ 30 mg/mL N-羧基琥珀酰亚胺的混合液4 μL;超纯水冲洗电极表面,室温下自然晾至湿润薄膜状态;
- 5) 滴加4 μL、5 ~ 20 μg/mL的β淀粉样蛋白抗体,超纯水清洗,室温下自然晾至湿润薄膜状态;
- 6) 滴加3 μL、用pH为7.0的PBS缓冲溶液配置的质量分数为1% ~ 3%的牛血清白蛋白溶液于修饰电极表面,超纯水冲洗电极表面,4 °C冰箱中晾干;
- 7) 滴加6 μL、体积比为1:1的0.2 pg/mL ~ 50 ng/mL β淀粉样蛋白抗原和锰掺杂的硒化镉标记的β淀粉样蛋白抗原混合溶液,超纯水冲洗电极表面,4 °C冰箱中自然晾干,制得一种检测β淀粉样蛋白抗原的光电化学传感器。

[0010] 2. 光电化学传感器的检测方法如下:

(1) 使用电化学工作站以三电极体系进行测试,饱和甘汞电极为参比电极,铂丝电极为辅助电极,制备的ITO修饰传感器为工作电极,在10 mL、pH 5.0 ~ 8.0的PBS,0.01 ~ 0.5 mol/L的抗坏血酸缓冲溶液中进行测试;

(2) 用时间-电流法对β淀粉样蛋白抗原标准溶液进行检测,设置电压为-0.1 ~ 0.1 V,运行时间120 s,光源波长为400 ~ 450 nm;

(3) 电极放置好之后,每隔20 s开灯持续照射20 s,记录光电流,绘制工作曲线;

(4) 将待测的β淀粉样蛋白抗原样品溶液代替β淀粉样蛋白抗原标准溶液进行检测。

[0011] 本传感器对β淀粉样蛋白的检测线性范围为0.2 pg/mL ~ 50 ng/mL,检测限达0.068 pg/mL。

[0012] 材料合成所需要的化学试剂均为当地试剂店购得,没有经过再处理。

[0013] 本发明的有益成果

(1) 本发明成功合成具有一定光电性能的花状钨酸铋材料,该材料成本低,无毒,比表面积大;利用硫化镉良好的敏化作用对钨酸铋进行敏化,获得了极好的光电性能,解决了单纯钨酸铋和单纯硫化镉光电转换效率低的问题。

[0014] (2) 利用锰掺杂的硒化镉作为标记物,锰离子的掺杂不仅使光生电子-空穴复合率降低,同时很好地调控了硒化镉的形貌;此外,锰掺杂的硒化镉与钨酸铋和硫化镉具有良好

的能级匹配,实现了更高的光电转化效率,获得了更高的光电性能。

[0015] (3) 本发明利用锰掺杂的硒化镉标记的抗原和未带标记物的抗原与抗体之间的竞争型免疫反应,提高了检测的灵敏性和特异性。

[0016] (4) 本发明制备的光电化学传感器,用于 $\beta$ 淀粉样蛋白(1~42)的检测,响应时间短,线性范围宽,检测限低,稳定性和重现性好,可实现简单、快捷、高灵敏和特异性的检测。本发明对 $\beta$ 淀粉样蛋白的检测线性范围为0.2 pg/mL ~ 50 ng/mL,检测限达0.068 pg/mL。

[0017] 具体实施方案

#### 实施例1 光电化学传感器的制备

##### (1) 花状钨酸铋材料的制备

取0.5 g钨酸钠溶于30 mL水中得溶液A;取1.0 g硝酸铋溶于10 mL水中溶液B;将A和B两溶液混合均匀后,转入高压反应釜中,在140 °C下反应16 h,反应结束后;自然冷却,产物用无水乙醇和超纯水各洗涤3次,在30 °C下真空干燥10 h,制得花状钨酸铋材料;

##### (2) 硫化镉量子点的制备

取0.3 g九水合硫化钠溶解于10 mL超纯水中,取0.4 g乙酸镉溶解于10 mL超纯水中;将两溶液混合均匀后,转入反应釜中,在160 °C条件下水热反应20 h;冷却至室温后,所得产物用无水乙醇和超纯水各洗涤3次;在40 °C下真空干燥12 h,制得硫化镉量子点;

##### (3) 锰掺杂硒化镉纳米材料的制备

取0.05 g氯化镉和0.001 g氯化锰溶解于20 mL超后,加入40  $\mu$ L 3-巯基丙酸,搅拌5分钟后,用1 M的氢氧化钠溶液调节溶液pH至6,得溶液A;取0.03 g硒粉和0.3 g硼氢化钠与3.0 mL超纯水共溶,在 $N_2$ 气氛下持续搅拌至澄清,得溶液B;将溶液B迅速倒入溶液A中,搅拌10 min后,转入反应釜中,于150 °C下反应30 min;反应结束后自然冷却至室温,用无水乙醇和超纯水洗涤,之后在40 °C下真空干燥10 h,制得锰掺杂的硒化镉纳米材料;

##### (4) 锰掺杂的硒化镉标记的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原的制备

取2 mg锰掺杂的硒化镉固体溶于1 mL pH为7.0的PBS缓冲溶液中,之后加入10 mg 1-乙基-(3-二甲基氨基丙级)碳二亚胺盐酸盐,于室温下震荡10 min,之后加入300  $\mu$ L 浓度为5  $\mu$ g/mL的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原,在10 °C下孵化1 h后,在4 °C冰箱中放置10 h,离心,洗涤,溶解于2mL的PBS缓冲溶液中储存备用;

##### (5) 光电化学传感器的制备

- 1) 将导电玻璃依次用洗洁精、丙酮、乙醇和超纯水超声清洗,氮气吹干;
- 2) 取6  $\mu$ L、2 mg/mL的钨酸铋水溶液滴加到ITO导电玻璃的导电面,红外灯下晾干;
- 3) 在修饰的电极表面继续滴加6  $\mu$ L、2 mg/mL的硫化镉量子点水溶液,自然晾干;
- 4) 在修饰电极表面滴加体积比为1:1的10 mg/mL 1-乙基-(3-二甲基氨基丙级)碳二亚胺盐酸盐和5 mg/mL N-羟基琥珀酰亚胺的混合液4  $\mu$ L;超纯水冲洗电极表面,室温下自然晾至湿润薄膜状态;
- 5) 滴加4  $\mu$ L、5  $\mu$ g/mL的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗体,超纯水清洗,室温下自然晾至湿润薄膜状态;
- 6) 滴加3  $\mu$ L、用pH为7.0的PBS缓冲溶液配制的质量分数为1 %的牛血清白蛋白溶液于修饰电极表面,超纯水冲洗电极表面,4 °C冰箱中晾干;
- 7) 滴加6  $\mu$ L、体积比为1:1的0.2 pg/mL ~ 50 ng/mL  $\beta$ 淀粉样蛋白抗原和锰掺杂的硒

化镉标记的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原混合溶液,超纯水冲洗电极表面,4 °C冰箱中自然晾干,制得一种检测 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原光电化学传感器。

#### [0018] 实施例2 光电化学传感器的制备

##### (1) 花状钨酸铋材料的制备

取0.6 g钨酸钠溶于30 mL水中得溶液A;取1.5 g硝酸铋溶于15 mL水中得溶液B;将A和B两溶液混合均匀后,转入高压反应釜中,在150 °C下反应17 h,反应结束后;自然冷却,产物用无水乙醇和超纯水各洗涤3次,在30 °C下真空干燥10 h,制得花状钨酸铋材料;

##### (2) 硫化镉量子点的制备

取0.35 g九水合硫化钠溶解于15 mL超纯水中,取0.4 g乙酸镉溶解于15 mL超纯水中;将两溶液混合均匀后,转入反应釜中,在170 °C条件下水热反应21 h;冷却至室温后,所得产物用无水乙醇和超纯水各洗涤3次;在40 °C下真空干燥12 h,制得硫化镉量子点;

##### (3) 锰掺杂硒化镉纳米材料的制备

取0.05 g氯化镉和0.0015 g氯化锰溶解于30 mL超纯水后,加入45  $\mu$ L 3-巯基丙酸,搅拌5分钟后,用1 M的氢氧化钠溶液调节溶液pH至7,得溶液A;取0.04 g硒粉和0.3 g硼氢化钠与4 mL超纯水共溶,在 $N_2$ 气氛下持续搅拌至澄清,得溶液B;将溶液B迅速倒入溶液A中,搅拌15 min后,转入反应釜中,于160 °C下反35 min;反应结束后自然冷却至室温,用无水乙醇和超纯水洗涤,之后在40 °C下真空干燥10 h,制得锰掺杂的硒化镉纳米材料;

##### (4) 锰掺杂的硒化镉标记的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原的制备

取4 mg锰掺杂的硒化镉固体溶于1 mL pH为7.0的PBS缓冲溶液中,之后加入15 mg 1-乙基-(3-二甲基氨基丙级)碳二亚胺盐酸盐,于室温下震荡20 min,之后加入500  $\mu$ L 浓度为10  $\mu$ g/mL的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原,在20 °C下孵化3 h后,在4 °C冰箱中放置12 h,离心,洗涤,溶解于2mL的PBS缓冲溶液中储存备用;

##### (5) 光电化学传感器的制备

- 1) 将导电玻璃依次用洗衣粉、丙酮、乙醇和超纯水超声清洗,氮气吹干;
- 2) 取6  $\mu$ L、3 mg/mL的钨酸铋水溶液滴加到ITO导电玻璃的导电面,红外灯下晾干;
- 3) 在修饰的电极表面继续滴加6  $\mu$ L、3 mg/mL的硫化镉溶液,自然晾干;
- 4) 在修饰电极表面滴加体积比为1:1的20 mg/mL 1-乙基-(3-二甲基氨基丙级)碳二亚胺盐酸盐和9 mg/mL N-羟基琥珀酰亚胺的混合液4  $\mu$ L,超纯水冲洗电极表面,室温下自然晾至湿润薄膜状态;
- 5) 滴加4  $\mu$ L、10  $\mu$ g/mL的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗体,超纯水清洗,室温下自然晾至湿润薄膜状态;

6) 滴加3  $\mu$ L、用pH为7.0的PBS缓冲溶液配制的质量分数为1.5 %的牛血清白蛋白溶液于修饰电极表面,超纯水冲洗电极表面,4 °C冰箱中晾干;

7) 滴加6  $\mu$ L、体积比为1:1的0.2 pg/mL ~ 50 ng/mL  $\beta$ 淀粉样蛋白抗原和锰掺杂的硒化镉标记的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原混合溶液,超纯水冲洗电极表面,4 °C冰箱中自然晾干,制得一种检测 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原光电化学传感器。

#### [0019] 实施例3 光电化学传感器的制备

##### (1) 花状钨酸铋材料的制备

取0.8 g钨酸钠溶于30 mL水中得溶液A;取2.0 g硝酸铋溶于25 mL水中得溶液B;将A和



B两溶液混合均匀后,转入高压反应釜中,在180 °C下反应18 h,反应结束后;自然冷却,产物用无水乙醇和超纯水各洗涤3次,在40 °C下真空干燥12 h,制得花状钨酸铋材料;

#### (2) 硫化镉量子点的制备

取0.4 g九水合硫化钠溶于25 mL超纯水中,取0.45 g乙酸镉溶解于20 mL超纯水中;将两溶液混合均匀后,转入反应釜中,在180 °C条件下水热反应22 h;冷却至室温后,所得产物用无水乙醇和超纯水各洗涤3次;在50 °C下真空干燥12 h,制得硫化镉量子点;

#### (3) 锰掺杂硒化镉纳米材料的制备

取0.08 g氯化镉和0.0018 g氯化锰溶解于40 mL超纯水后,加入50  $\mu$ L 3-巯基丙酸,搅拌5分钟后,用1 M的氢氧化钠溶液调节溶液pH至8,得溶液A;取0.05 g硒粉和0.37 g硼氢化钠与6 mL超纯水共溶,在N<sub>2</sub>气氛下持续搅拌至澄清,得溶液B;将溶液B迅速倒入溶液A中,搅拌10 min后,转入反应釜中,于190 °C下反应50 min;反应结束后自然冷却至室温,用无水乙醇和超纯水洗涤,之后在50 °C下真空干燥12 h,制得锰掺杂的硒化镉材料;

#### (4) 锰掺杂的硒化镉标记的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原的制备

取6 mg锰掺杂的硒化镉固体溶于1 mL pH为7.0的PBS缓冲溶液中,之后加入20 mg 1-乙基-(3-二甲基氨基丙级)碳二亚胺盐酸盐,于室温下震荡30 min,之后加入800  $\mu$ L 浓度为20  $\mu$ g/mL的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原,在40 °C下孵化5 h后,在4 °C冰箱中放置15 h,离心,洗涤,溶解于2mL的PBS缓冲溶液中储存备用。

#### [0020] (5) 光电化学传感器的制备

- 1) 将导电玻璃依次用洗衣粉、丙酮、乙醇和超纯水超声清洗,氮气吹干;
- 2) 取6  $\mu$ L、4 mg/mL的钨酸铋水溶液滴加到ITO导电玻璃的导电面,红外灯下晾干;
- 3) 在修饰的电极表面继续滴加6  $\mu$ L、4 mg/mL的硫化镉溶液,自然晾干;
- 4) 在修饰电极表面滴加体积比为1:1的40 mg/mL 1-乙基-(3-二甲基氨基丙级)碳二亚胺盐酸盐和25 mg/mL N-羟基琥珀酰亚胺的混合液4  $\mu$ L;超纯水冲洗电极表面,室温下自然晾至湿润薄膜状态;
- 5) 滴加4  $\mu$ L、15  $\mu$ g/mL的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗体,超纯水清洗,室温下自然晾至湿润薄膜状态;
- 6) 滴加3  $\mu$ L、用pH为7.0的PBS缓冲溶液配制的质量分数为2 %的牛血清白蛋白溶液于修饰电极表面,超纯水冲洗电极表面,4 °C冰箱中晾干;
- 7) 滴加6  $\mu$ L、体积比为1:1的0.2  $\mu$ g/mL ~ 50 ng/mL  $\beta$ 淀粉样蛋白抗原和锰掺杂的硒化镉标记的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原混合溶液,超纯水冲洗电极表面,4 °C冰箱中自然晾干,制得一种检测淀粉样蛋白抗原光电化学传感器。

#### [0021] 实施例4 $\beta$ 淀粉样蛋白的检测

(1) 使用电化学工作站以三电极体系进行测试,饱和甘汞电极为参比电极,铂丝电极为辅助电极,制备的ITO修饰传感器为工作电极,在10 mL、pH 5.0的PBS,0.01 mol/L的抗坏血酸缓冲溶液中进行测试;

(2) 用时间-电流法对 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原进行检测,设置电压为-0.1 V,运行时间120 s,光源波长为400 nm;

(3) 电极放置好之后,每隔20 s开灯持续照射20 s,记录光电流,绘制工作曲线;

(4) 将待测的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原样品溶液代替 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原标准溶液进行检测。

**[0022] 实施例5  $\beta$ 淀粉样蛋白的检测**

(1) 使用电化学工作站以三电极体系进行测试,饱和甘汞电极为参比电极,铂丝电极为辅助电极,制备的ITO修饰传感器为工作电极,在10 mL、pH 7.0的PBS,0.1 mol/L的抗坏血酸缓冲溶液中进行测试;

(2) 用时间-电流法对 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原进行检测,设置电压为0 V,运行时间120 s,光源波长为430 nm;

(3) 电极放置好之后,每隔20 s开灯持续照射20 s,记录光电流,绘制工作曲线;

(4) 将待测的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原样品溶液代替 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原标准溶液进行检测。

**[0023] 实施例6  $\beta$ 淀粉样蛋白的检测**

(1) 使用电化学工作站以三电极体系进行测试,饱和甘汞电极为参比电极,铂丝电极为辅助电极,制备的ITO修饰传感器为工作电极,在10 mL、pH 8.0的PBS,0.3 mol/L的抗坏血酸缓冲溶液中进行测试;

(2) 用时间-电流法对 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原进行检测,设置电压为0.1 V,运行时间120 s,光源波长为450 nm;

(3) 电极放置好之后,每隔20 s开灯持续照射20 s,记录光电流,绘制工作曲线;

(4) 将待测的 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原样品溶液代替 $\beta$ 淀粉样蛋白抗原标准溶液进行检测。

专利名称(译)	锰掺杂硒化镉增强钨酸铋-硫化镉β淀粉样蛋白的竞争型光电化学传感器的制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN109060905A</a>	公开(公告)日	2018-12-21
申请号	CN201810707272.3	申请日	2018-07-02
[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 徐芮 张勇 吴丹 王超 杜斌		
发明人	魏琴 徐芮 张勇 吴丹 王超 杜斌		
IPC分类号	G01N27/30 G01N27/327 G01N33/531		
CPC分类号	G01N27/30 G01N27/327 G01N33/531		
代理人(译)	高强		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及基于锰掺杂硒化镉增强钨酸铋-硫化镉β淀粉样蛋白的竞争型光电化学传感器的制备方法。本发明以钨酸铋-硫化镉作为基底材料来获取光电流，经硫化镉敏化后的花状钨酸铋，光电转换效率得到极大提高。以锰掺杂的硒化镉作为标记物标记β淀粉样蛋白抗原，通过标记的抗原和无标记的抗原与抗体的竞争型免疫反应提高了传感器的灵敏度，实现了对淀粉样蛋白的灵敏检测。其检测限为0.068 pg/mL。