



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101929978 A

(43) 申请公布日 2010.12.29

(21) 申请号 200910087886.7

(22) 申请日 2009.06.24

(71) 申请人 中国科学院电子学研究所

地址 100080 北京市海淀区北四环西路 19 号

(72) 发明人 夏善红 薛茜男 边超 孙辑舟
张虹

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任
公司 11021

代理人 周长兴

(51) Int. Cl.

G01N 27/327(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

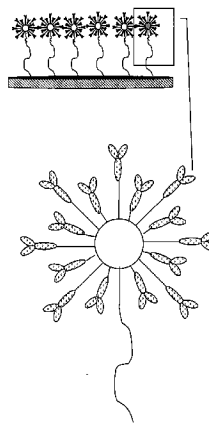
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 2 页

(54) 发明名称

自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜及制法

(57) 摘要

一种自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜及制法,利用表面修饰有二元混合自组装修饰的纳米金颗粒的球状结构,在经自组装单分子层修饰的金电极上阵列式排布,固定生物大分子形成生物敏感膜;由下述方法得到:A)将两种一端功能团为羧基的不同碳链长度的硫醇溶剂按等比例混合,制成硫醇混合溶液;B)将工作电极置于步骤A的混合溶液中浸泡;C)在纳米金溶胶溶液中按摩尔比加入相同或过量的硫醇混合溶液,再加入表面活性剂,制成由混合自组装膜饱和修饰的纳米金溶胶;D)将步骤B的工作电极放入步骤C的纳米金溶胶中浸泡;E)在步骤D的工作电极面滴加生物大分子溶液,静置,形成生物敏感膜。



1. 一种自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜,利用表面修饰有二元混合自组装修饰膜的纳米金颗粒的球状结构,在经自组装单分子层修饰的金电极上阵列式排布,固定生物大分子形成生物敏感膜;

所述的生物敏感膜由下述方法得到:

A) 将两种一端功能团为羧基的不同碳链长度的硫醇溶剂按等比例混合,制成硫醇混合溶液;

B) 将工作电极置于步骤 A 的混合溶液中浸泡;

C) 在纳米金溶胶溶液中按摩尔比加入相同或过量的硫醇混合溶液,再加入表面活性剂,制成由混合自组装膜饱和修饰的纳米金溶胶;

D) 将步骤 B 的工作电极放入步骤 C 的纳米金溶胶中浸泡;

E) 在步骤 D 的工作电极面滴加生物大分子溶液,静置,形成生物敏感膜。

2. 制备权利要求 1 所述的自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜的方法,其主要步骤为:

A) 将两种一端功能团为羧基的不同碳链长度的硫醇溶剂按等比例混合,制成硫醇混合溶液;

B) 将工作电极置于步骤 A 的混合溶液中浸泡 5-10 小时;

C) 在纳米金溶胶溶液中按摩尔比加入相同或过量的硫醇混合溶液,再加入与硫醇溶液等摩尔量的表面活性剂,制成由混合自组装膜饱和修饰的纳米金溶胶;

D) 将步骤 B 的工作电极放入步骤 C 的纳米金溶胶中浸泡 2-3 小时;

E) 在步骤 D 的工作电极面滴加生物大分子溶液,静置,形成生物敏感膜。

3. 如权利要求 2 所述的制备方法,其中,步骤 A 中所述的两种一端功能团为羧基的不同碳链长度的硫醇,其中一种为巯基丙酸,另一种为 11-巯基十一烷基酸或 16-巯基十六烷基酸。

4. 如权利要求 2 所述的制备方法,其中,步骤 A 中的硫醇混合溶液为水溶液或乙醇溶液。

5. 如权利要求 2 所述的制备方法,其中,步骤 C 中的表面活性剂为二氯乙烷和 N-羟基琥珀酰亚胺。

在进行步骤 D 之前将工作电极清洗后吹干。

6. 如权利要求 2 所述的制备方法,其中,步骤 E 中滴加生物大分子溶液时,工作电极的表面保持潮湿。

7. 如权利要求 2 所述的制备方法,其中,步骤 E 滴加的生物大分子溶液为人免疫球蛋白抗体溶液或糖化血红蛋白抗体溶液。

自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜及制法

技术领域

[0001] 本发明属于电位型免疫传感器技术领域,详细地说是涉及一种基于混合自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜及制法。

背景技术

[0002] 随着生物技术的发展,利用抗原抗体的特异性结合,免疫传感器以其高专一性和高选择性的优势受到了广泛的研究和关注。目前免疫传感器有荧光免疫传感器、光纤免疫传感器、酶联免疫传感器等。荧光免疫传感器、光纤免疫传感器、酶联免疫传感器实现了生物化学痕量检测,并且使得微量生物量信号的临床免疫检测成为可能。

[0003] 电位型免疫传感器是基于离子选择电极原理而发展起来的。将生物识别反应转换为与待测物浓度的对数成正比的电信号,遵循能斯特方程。因而,电位型离子选择电极的选择性渗透离子导电膜可设计成与待测离子相关的产生电位信号的敏感膜。电位型免疫传感器以其响应快速,直观准确,操作简便,利于集成化和微型化,受到广泛关注。但是,信号噪声比低、易受其他离子的干扰、信号漂移等也是电位型免疫传感器面临的一些亟待解决的问题。传感器的敏感膜是影响这些性能的关键因素。

[0004] 生物大分子的固定是免疫传感器制备的重要步骤。传统生物大分子固定方法的吸附法虽然操作简单,对生物大分子活性影响较小,但由于生物大分子与载体结合力弱,较易脱落;交联法对生物大分子的定向性差,容易造成生物大分子的失活。

[0005] 自组装单分子层与生物大分子以分子键结合,性能稳定,并且生物相容性强,可以控制生物大分子的取向。另外,自组装单分子层是一层表面带有特定基团致密的绝缘膜,用其作为电位型离子选择电极的选择性渗透离子导电膜,可起到很好的传递特定离子信号、消除非特异性信号的作用。然而单一成份的自组装分子层容易造成较大的空间位阻,阻碍生物大分子的固定效率。

[0006] 由于纳米材料具有比表面积大、吸附力强、生物相容性高,对生物大分子固定效率高,并能提高生化反应的速度,广泛应用在生化分析研究中。然而,纳米金粒子表面活性位点是非特异性的,容易引入非特异信号的干扰,使得传感器的特异性减弱。而且,金纳米粒子组装在基底上的分散性欠佳,影响生物大分子在电极表面固定的均匀性和一致性。此外,根据电位型传感器要求有选择型的离子传递的特点,纳米金粒子强的电化学活性不利于特定电位信号的传递。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种基于混合自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜。

[0008] 本发明的又一目的在于提供一种制备上述生物敏感膜的方法。

[0009] 为实现上述目的,本发明提供的自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜,是利用表面修饰有二元混合自组装膜的纳米金颗粒的球状结构,在经自组装单分子层修饰

的金电极上阵列式排布,固定生物大分子形成生物敏感膜;所述的生物敏感膜由下述方法得到:

[0010] A) 将两种一端功能团为羧基的不同碳链长度的硫醇溶剂按等比例混合,制成硫醇混合溶液;

[0011] B) 将工作电极置于步骤 A 的混合溶液中浸泡;

[0012] C) 在纳米金溶胶溶液中按摩尔比加入相同或过量的硫醇混合溶液,再加入表面活性剂,制成由混合自组装膜饱和修饰的纳米金溶胶;表面活性剂可以选用二氯乙烷和 N- 羧基琥珀酰亚胺;

[0013] D) 将步骤 B 的工作电极放入步骤 C 的纳米金溶胶中浸泡;

[0014] E) 在步骤 D 的工作电极面滴加生物大分子溶液,静置,形成生物敏感膜。

[0015] 本发明提供的制备上述生物敏感膜的方法,其主要步骤为:

[0016] A) 将两种一端功能团为羧基的不同碳链长度的硫醇溶剂按等比例混合,制成硫醇混合溶液;所述的两种一端功能团为羧基的不同碳链长度的硫醇,其中一种优选为巯基丙酸,另一种优选为 11- 巯基十一烷基酸或 16- 巯基十六烷基酸;该硫醇混合溶液为水溶液或乙醇溶液。

[0017] B) 将工作电极置于步骤 A 的混合溶液中浸泡 5-10 小时;

[0018] C) 在纳米金溶胶溶液中按摩尔比加入相同或过量的硫醇混合溶液,再加入于硫醇溶液等摩尔量的表面活性剂,制成由混合自组装膜饱和修饰的纳米金溶胶;

[0019] D) 将步骤 B 的工作电极放入步骤 C 的纳米金溶胶中浸泡 2-3 小时;

[0020] E) 在步骤 D 的工作电极面滴加生物大分子溶液,静置,形成生物敏感膜。

[0021] 本发明制备方法中,在进行步骤 D 之前先将工作电极清洗后吹干再进行步骤 D。

[0022] 本发明的制备方法中,在步骤 E 中滴加生物大分子溶液时,工作电极的表面保持潮湿,滴加的生物大分子溶液为人免疫球蛋白抗体溶液或糖化血红蛋白抗体溶液。

[0023] 本发明提供的基于混合自组装膜制备“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列-生物大分子”的敏感膜,电极表面和纳米金表面均经自组装修饰,二者不仅具有稳定的连接,而且能够形成致密的绝缘膜结构,起到屏蔽噪声信号,提高传感器稳定性的作用。同时利用纳米金颗粒在有限的微型基底上最大限度地固定生物大分子,固定的生物大分子空间分布和定向性好,可以保持生物大分子的免疫活性,有利于提高传感器的检测灵敏度。

[0024] 本发明的特点是:

[0025] 本发明基于纳米金颗粒表面二元混合自组装的球状结构,在微型金电极上阵列式排布形成“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列-生物大分子”的仿生敏感膜。纳米金由混合自组装膜完全包裹能够有效的抑制纳米金颗粒在溶液中的团聚,在溶液中呈现均相分布的状态,从而有利于纳米金球状体在电极表面形成分散均匀的阵列结构。该纳米金球状体阵列结构的优点在于:

[0026] 1) 经过混合自组装膜的完全包裹及改性,其表面具有特定的功能团,能够有效消除纳米金表面的非特异性位点,增加传感器的特异性;

[0027] 2) 这种结构利用纳米金比表面积大的特点,能够增加生物大分子的固定量提高传感器的灵敏度;

[0028] 3) 纳米金表面混合自组装膜形成的参差结构能够减小空间位阻,提高生物大分子的负载率;

[0029] 4) 由于电极表面和纳米金表面均经自组装修饰,二者不仅具有稳定的连接,而且能够形成致密的绝缘膜结构,满足电位型传感器的要求,起到屏蔽噪声信号,提高传感器稳定性的作用。

[0030] 本发明基于混合自组装修饰的纳米金球状体阵列敏感膜,不仅可以用于研制适用于电位型免疫传感器的高稳定和高灵敏的生物敏感膜,而且可以推广应用于其它类型免疫传感器的研制。对于适于临床、医学、生物、环境、农业、工业、分析等领域的免疫传感器的研制,起到很好的促进作用。

附图说明

[0031] 图 1 是微型电位型免疫传感器结构示意图;

[0032] 图 2 是本发明实施例生物分子敏感膜的制备方法流程图;其中

[0033] 图 2a 是纳米金表面形成的混合自组装膜;

[0034] 图 2b 是清洗后洁净的工作电极;

[0035] 图 2c 是工作电极及在工作电极表面形成的自组装膜;

[0036] 图 2d 是工作电极及在工作电极表面形成的“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列”膜;

[0037] 图 2e 是工作电极及在工作电极表面形成的“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列-生物大分子”生物分子敏感膜。

具体实施方式

[0038] 本发明所述的自组装单分子层为巯基乙胺,混合自组装膜由巯基丙酸和 11-巯基十一烷基酸或 16-巯基十六烷基酸两种不同碳链长度的硫醇试剂所组成。表面活性剂为二氯乙烷和 N-羟基琥珀酰亚胺。

[0039] 基于混合自组装修饰的纳米金球状体阵列的微型生物传感器金电极敏感膜固定方法,包括以下步骤:

[0040] 首先,将两种一端功能团为羧基的不同碳链长度的硫醇以乙醇为溶剂溶解,等比例混合。在纳米金溶胶溶液中按摩尔比加入足够过量的硫醇混合溶液,搅拌 5-10 小时 (h) 制成由混合自组装膜饱和修饰的纳米金溶胶。与此同时,将金工作电极置于一端功能团为氨基的硫醇溶液中,浸泡 5-10h。

[0041] 将二氯乙烷和 N-羟基琥珀酰亚胺混合溶液加入到混合自组装膜修饰过的纳米金溶胶中,于室温反应 15min。将由一端功能团为氨基的硫醇修饰过的金电极用去离子水清洗,吹干后放入该混合溶液中室温搅拌浸泡 2h。取出保持电极面潮湿,滴加生物大分子溶液,在 4℃ 条件下静置 1-3h,生物大分子被吸附于纳米金膜表面,形成“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列-生物大分子”膜。

[0042] 本发明提出的基于混合自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜固定方法,用于电位型免疫传感器的制备,现结合附图及实施例进一步说明如下:

[0043] 基于混合自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜的微型电位型免疫传感

器,如图 1 所示:

[0044] 该传感器采用微纳米加工技术制备,包括微型工作电极 a 和参比电极 b 以及在金薄膜工作电极上固定的“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列-生物大分子”生物分子敏感膜 c。

[0045] 首先,将两种一端功能团为羧基的不同碳链长度的硫醇以乙醇为溶剂溶解,等比例混合。在纳米金溶胶溶液中按摩尔比加入足够过量的硫醇混合溶液,搅拌 5-10h 制成由混合自组装膜饱和修饰的纳米金溶胶(图 2(a))。与此同时,将金工作电极(图 2b)置于一端功能团为氨基的硫醇溶液中,浸泡 5-10h 成为“金电极-自组装单分子层”膜(图 2c)。

[0046] 将二氯乙烷和 N-羟基琥珀酰亚胺混合溶液加入到混合自组装膜修饰过的纳米金溶胶中,于室温反应 15min。将由一端功能团为氨基的硫醇修饰过的金电极用去离子水清洗,吹干后放入该混合溶液中室温搅拌浸泡 2h 后取出,及为“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列”膜(图 2d)。保持电极面潮湿,滴加生物大分子溶液,在 4℃条件下静置 1-3h,生物大分子被吸附于纳米金膜表面,形成“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列-生物大分子”膜(图 2e)。

[0047] 实施例 1

[0048] 下面以人免疫球蛋白的测定为例说明基于混合自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜固定方法的制备方法。

[0049] 基于混合自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜的微型电位型免疫传感器,如图 1 所示:

[0050] 该传感器采用微纳米加工技术制备,包括微型工作电极 a 和参比电极 b 以及在金薄膜工作电极上固定的“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列-生物大分子”生物分子敏感膜 c。

[0051] 基于混合自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜的流程图,如图 2 所示:首先将巯基丙酸和 11-巯基十一烷基酸两种巯基化合物分别溶解在去离子水或无水乙醇溶液中,均配置成浓度 10mmol/l 的溶液,混合。取 10nmol/l 的纳米金溶胶加入巯基丙酸和 11-巯基十一烷基酸混合溶液中按 1:1 混合,搅拌 5-10h 制成由混合自组装膜饱和修饰的纳米金溶胶(图 2a)。

[0052] 与此同时,在工作电极表面用丙酮、乙醇及去离子水各超声处理 30 秒得到洁净的工作电极表面(图 2b);将工作电极置于 10mmol/l 巯基乙胺溶液中,浸泡 5-10h,在金电极表面形成 3-巯基丙胺自组装膜(图 2c)。

[0053] 将浓度为 40mg/ml 的二氯乙烷和 N-羟基琥珀酰亚胺混合溶液加入到修饰过的纳米金溶胶中室温反应 15min。将自组装过巯基丙胺的金电极用去离子水清洗,吹干后放入该混合溶液中室温搅拌浸泡 2h,得到“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列”膜(图 2d)。取出电极,保持电极表面潮湿,滴加人免疫球蛋白抗体溶液,在 4℃条件下静置 1-3 小时,抗体被吸附于纳米金膜表面,形成“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列-生物大分子”膜(图 2e)。

[0054] 实施例 2

[0055] 下面以糖化血红蛋白的测定为例说明基于混合自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜固定方法的制备方法。糖化血红蛋白是糖尿病检测的金指标。

[0056] 基于混合自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜的微型电位型免疫传感器,如图 1 所示:

[0057] 该传感器采用微纳米加工技术制备,包括微型工作电极 a 和参比电极 b 以及在金薄膜工作电极上固定的“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列-生物大分子”生物分子敏感膜 c。

[0058] 基于混合自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜的流程图,如图 2 所示:首先将巯基丙酸和 16-巯基十六烷基酸两种巯基化合物分别溶解在去离子水或无水乙醇溶液中,均配置成浓度 10mmol/l 的溶液,混合。取 10nmol/l 的纳米金溶胶加入巯基丙酸和 16-巯基十六烷基酸混合溶液中按 1:1 混合,搅拌 5-10h 制成由混合自组装膜饱和修饰的纳米金溶胶(图 2a)。

[0059] 与此同时,在工作电极表面用丙酮、乙醇及去离子水各超声处理 30 秒得到洁净的工作电极表面(图 2b);将工作电极置于 10mmol/l 巯基乙胺溶液中,浸泡 5-10h,在金电极表面形成巯基乙胺自组装膜(图 2c)。

[0060] 将浓度为 40mg/ml 的二氯乙烷和 N-羟基琥珀酰亚胺混合溶液加入到修饰过的纳米金溶胶中室温反应 15min。将自组装过巯基乙胺的金电极用去离子水清洗,吹干后放入该混合溶液中室温搅拌浸泡 2h,得到“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列”膜(图 2d)。取出电极,保持电极表面潮湿,滴加糖化血红蛋白抗体溶液,在 4℃条件下静置 1-3 小时,抗体被吸附于纳米金膜表面,形成“金电极-自组装单分子层-混合自组装修饰的纳米金球状体阵列-生物大分子”膜(图 2e)。

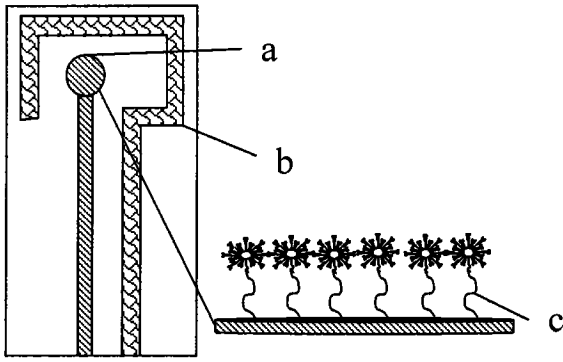


图 1

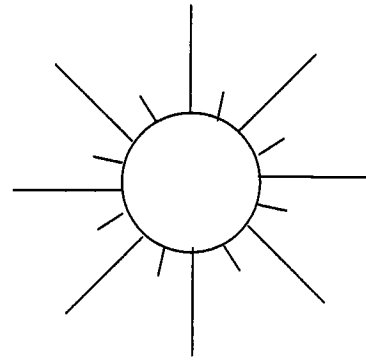


图 2a



图 2b

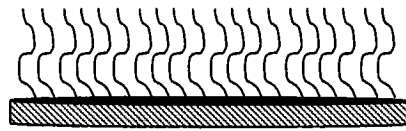


图 2c

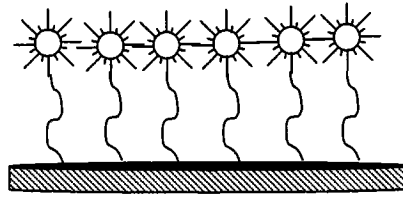


图 2d

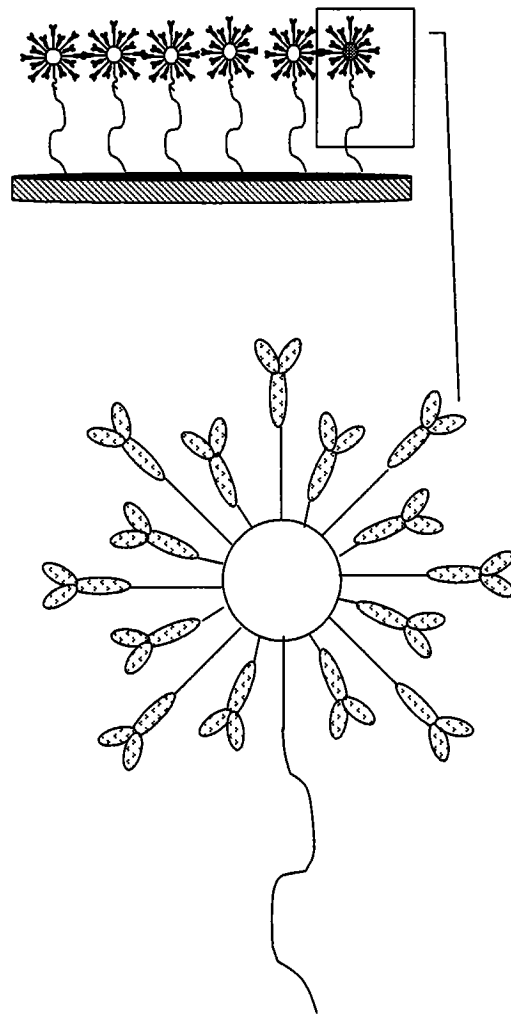


图 2e

专利名称(译)	自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜及制法		
公开(公告)号	CN101929978A	公开(公告)日	2010-12-29
申请号	CN200910087886.7	申请日	2009-06-24
[标]申请(专利权)人(译)	中国科学院电子学研究所		
申请(专利权)人(译)	中国科学院电子学研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国科学院电子学研究所		
[标]发明人	夏善红 薛茜男 边超 孙辑舟 张虹		
发明人	夏善红 薛茜男 边超 孙辑舟 张虹		
IPC分类号	G01N27/327 G01N33/53		
代理人(译)	周长兴		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种自组装修饰的纳米金球状体阵列的生物敏感膜及制法，利用表面修饰有二元混合自组装膜的纳米金颗粒的球状结构，在经自组装单分子层修饰的金电极上阵列式排布，固定生物大分子形成生物敏感膜；由下述方法得到：A)将两种一端功能团为羧基的不同碳链长度的硫醇溶剂按等比例混合，制成硫醇混合溶液；B)将工作电极置于步骤A的混合溶液中浸泡；C)在纳米金溶胶溶液中按摩尔比加入相同或过量的硫醇混合溶液，再加入表面活性剂，制成由混合自组装膜饱和和修饰的纳米金溶胶；D)将步骤B的工作电极放入步骤C的纳米金溶胶中浸泡；E)在步骤D的工作电极面滴加生物大分子溶液，静置，形成生物敏感膜。

