



# (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114813885 B

(45) 授权公告日 2023.03.14

(21) 申请号 202210348215.7

CN 109613098 A, 2019.04.12

(22) 申请日 2022.04.01

CN 106268950 A, 2017.01.04

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 112630282 A, 2021.04.09

申请公布号 CN 114813885 A

CN 109546107 A, 2019.03.29

(43) 申请公布日 2022.07.29

US 2021247349 A1, 2021.08.12

(73) 专利权人 上海大学

RO 132196 A0, 2017.10.30

地址 200444 上海市宝山区上大路99号

赖微栋等.ZnO/ZnFe2O4@RG0纳米复合材料的制备及其储锂性能.《中国稀土学会2020学术年会暨江西(赣州)稀土资源绿色开发与高效利用大会》.2020,全文.

(72) 发明人 张源 诸昊 应孜 邓名仕 薛厂  
高兴华

Dongyue Wang et al..Ammonia sensing properties of metal-organic frameworks-derived zinc oxide/reduced graphene oxide nanocomposite.《Journal of Materials Science: Materials in Electronics》.2020, 第31卷4463-4472.

(74) 专利代理机构 北京东方盛凡知识产权代理有限公司 11562

专利代理师 李瑞雨

审查员 张楠喆

(51) Int.Cl.

G01N 27/416 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 107064277 A, 2017.08.18

权利要求书2页 说明书7页 附图3页

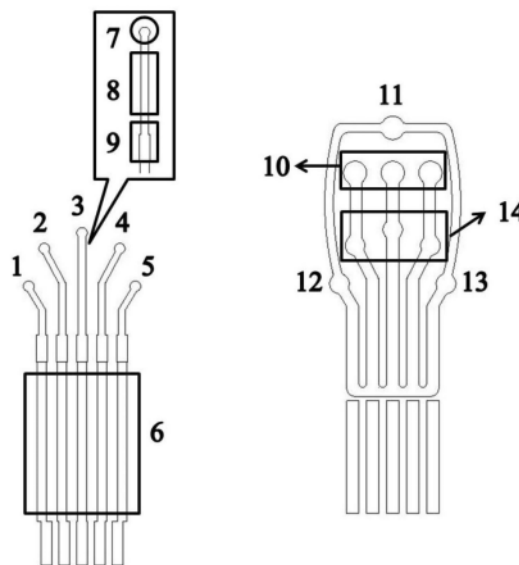
(54) 发明名称

一种多通道微流控电化学传感芯片的制备方法及应用

(57) 摘要

本发明公开了一种多通道微流控电化学传感芯片的制备方法及应用,属于纳米材料和电化学传感技术领域。所述多通道微流控电化学传感芯片通过先制备敏感的复合材料,再利用该材料制备油墨涂覆于传感器芯片的工作电极表面,进一步与微流控通道复合,封装,制得多通道微流控电化学传感芯片。本发明通过多通道电极芯片表面集成微流控通道,对微量的样品进行精确操控,进而方便开展各种多通道和系列化操作与实验,更适于在复杂环境中对痕量待测物进行检测研究。批量印制的电化学传感芯片阵列,结合微流控技术,可开发适用于多个待测物并行、联合检测的微型电化学传感器。

CN 114813885 B



1. 一种多通道微流控电化学传感芯片的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 在基体材料表面形成氧化石墨烯膜层;

(2) 于所述氧化石墨烯膜层表面涂覆锌盐溶液,干燥后煅烧,得到结合氧化锌/氧化石墨烯复合层的基体材料;

(3) 将步骤(2)所得结合氧化锌/氧化石墨烯复合层的基体材料浸入溶有金属盐、聚乙烯吡咯烷酮、形貌控制剂和内消旋-四(4-羧基苯基)吡吩的混合溶液中,反应后干燥,剥离基体材料上生长的复合材料;

(4) 在柔性聚合物基底上制备含有参比电极、对电极和多个工作电极的多通道电极;

(5) 以步骤(3)所得复合材料配制油墨,涂覆于步骤(4)所得多通道电极的工作电极表面,干燥,制得多通道电极芯片;

(6) 根据步骤(5)所得多通道电极芯片制备微流控通道,所述微流控通道上设置有放置参比电极、对电极和多个工作电极的通道,与多个工作电极分别联通的注入池I,与参比电极和对电极联通的注入池II;

(7) 将步骤(5)所得多通道电极芯片置于步骤(6)所得微流控通道下方,封装,制得多通道微流控电化学传感芯片。

2. 根据权利要求1所述的多通道微流控电化学传感芯片的制备方法,其特征在于,步骤(1)中所述氧化石墨烯膜层的生长步骤包括:先将氧化石墨烯均匀分散于无水乙醇中,再将所得氧化石墨烯分散液涂覆于所述基体材料表面,干燥,得到氧化石墨烯膜层。

3. 根据权利要求1所述的多通道微流控电化学传感芯片的制备方法,其特征在于,步骤(2)中所述锌盐溶液为溶有无水醋酸锌的无水乙醇溶液;所述煅烧的温度为350℃,时间为30min。

4. 根据权利要求1所述的多通道微流控电化学传感芯片的制备方法,其特征在于,步骤(3)中所述金属盐包括硝酸锌、氯化锌、硝酸铜或氯化铜;当所述金属盐为硝酸锌或氯化锌时,所述形貌控制剂为吡嗪,其中,金属盐、聚乙烯吡咯烷酮、吡嗪和内消旋-四(4-羧基苯基)吡吩的质量比5.6:25:1:5;当所述金属盐为硝酸铜或氯化铜时,所述形貌控制剂为三氟乙酸,其中,金属盐、聚乙烯吡咯烷酮、三氟乙酸和内消旋(4-羧基苯基)吡吩的质量比为9:25:3:10;所述混合溶液的溶剂为无水乙醇与N,N-二甲基甲酰胺按体积比3:1配制的混合液;所述聚乙烯吡咯烷酮的平均分子量为40000。

5. 根据权利要求1所述的多通道微流控电化学传感芯片的制备方法,其特征在于,步骤(4)中所述参比电极的材质为银/氯化银;所述工作电极和所述对电极的材质为石墨。

6. 根据权利要求1所述的多通道微流控电化学传感芯片的制备方法,其特征在于,步骤(5)中所述油墨为步骤(3)所得复合材料分散于无水乙醇和全氟磺酸型聚合物溶液的均匀分散液,其中无水乙醇与全氟磺酸型聚合物溶液的体积比为(2~12):1,所述复合材料在分散液中的浓度为1~50mg/mL。

7. 根据权利要求1所述的多通道微流控电化学传感芯片的制备方法,其特征在于,步骤(6)中所述微流控通道由聚二甲基硅氧烷单体聚合得到。

8. 根据权利要求1所述的多通道微流控电化学传感芯片的制备方法,其特征在于,步骤(7)中所述封装采用等离子封接。

9. 一种根据权利要求1~8任一项所述多通道微流控电化学传感芯片的制备方法制得

的多通道微流控电化学传感芯片。

10. 权利要求9所述多通道微流控电化学传感芯片在电化学免疫生物传感器中的应用。

## 一种多通道微流控电化学传感芯片的制备方法及应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及纳米材料和电化学传感技术领域,特别涉及一种多通道微流控电化学传感芯片的制备方法及应用。

### 背景技术

[0002] 电化学生物传感器通过将生物信息转换为电信号从而检测生物实体,在液体活检中应用最为广泛,具有样本获取方便、侵入性小(血液、尿液、唾液等)、响应快速、成本低、可多个样本同时检测等诸多优点。然而,液体活检所面临的一大挑战就是待测物往往处于复杂的体液环境中,如血清、血浆等,其中存在的杂质蛋白等生物大分子可能会非特异吸附在传感器表面,降低传感器的选择性和灵敏度,因此需要考虑构建高灵敏度、抗污染传感界面。

### 发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种多通道微流控电化学传感芯片的制备方法及应用。

[0004] 为实现上述目的,本发明提供了如下技术方案:

[0005] 本发明技术方案之一:提供一种多通道微流控电化学传感芯片的制备方法,包括以下步骤:

[0006] (1) 在基体材料表面形成氧化石墨烯膜层;

[0007] (2) 于所述氧化石墨烯膜层表面涂覆锌盐溶液,干燥后煅烧,得到结合氧化锌/氧化石墨烯复合层的基体材料;

[0008] (3) 将步骤(2)所得结合氧化锌/氧化石墨烯复合层的基体材料浸入溶有金属盐、聚乙烯吡咯烷酮、形貌控制剂和内消旋-四(4-羧基苯基)吡吩(TCPP)的混合溶液中,反应后干燥,剥离基体材料上生长的复合材料;

[0009] (4) 在柔性聚合物基底上制备含有参比电极、对电极和多个工作电极的多通道电极;

[0010] (5) 以步骤(3)所得复合材料配制油墨,涂覆于步骤(4)所得多通道电极的工作电极表面,干燥,制得多通道电极芯片;

[0011] (6) 根据步骤(5)所得多通道电极芯片制备微流控通道,所述微流控通道上设置有放置参比电极、对电极和多个工作电极的通道,与多个工作电极分别联通的注入池I,与参比电极和对电极联通的注入池II;

[0012] (7) 将步骤(5)所得多通道电极芯片置于步骤(6)所得微流控通道下方,封装,制得多通道微流控电化学传感芯片。

[0013] 本发明中的多通道微流控电化学传感芯片在使用过程中需要排液时,可从注入池的通道排出液体。

[0014] 优选地,步骤(1)中所述氧化石墨烯膜层的生长步骤包括:先将氧化石墨烯均匀分散于无水乙醇中,再将所得氧化石墨烯分散液涂覆于所述基体材料表面,干燥,得到氧化石

墨烯膜层。

[0015] 优选地,步骤(2)中所述锌盐溶液为溶有无水醋酸锌的无水乙醇溶液;所述煅烧的温度为350℃,时间为30min。

[0016] 优选地,步骤(3)中所述金属盐包括硝酸锌、氯化锌、硝酸铜或氯化铜;当所述金属盐为硝酸锌或氯化锌时,所述形貌控制剂为吡嗪,其中,金属盐、聚乙烯吡咯烷酮、吡嗪和内消旋-四(4-羧基苯基)吡吩的质量比5.6:25:1:5;当所述金属盐为硝酸铜或氯化铜时,所述形貌控制剂为三氟乙酸,其中,金属盐、聚乙烯吡咯烷酮、三氟乙酸和内消旋(4-羧基苯基)吡吩的质量比为9:25:3:10;所述混合溶液的溶剂为无水乙醇与N,N-二甲基甲酰胺按体积比3:1配制的混合液;所述聚乙烯吡咯烷酮的平均分子量为40000。

[0017] 优选地,步骤(4)中所述参比电极的材质为银/氯化银;所述工作电极和所述对电极的材质为石墨。

[0018] 优选地,步骤(4)中所述柔性聚合物基底包括:聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、聚酰亚胺(PI)、聚丙烯(PP)中的任一种。

[0019] 优选地,步骤(4)中各个电极的厚度为20 $\mu$ m~5mm;制备各电极的方法为丝网印刷法,步骤包括:使用导电银浆于柔性聚合物基底上印刷电极导线,后将其放置于110~130℃烘箱中干燥5~15min;待浆料完全干燥后,继续丝网印刷银/氯化银浆料,于120~140℃烘箱中干燥3~5min,获得参比电极;随后使用导电碳浆印制工作电极和对电极,110~130℃烘箱中干燥5~10min得到完整的丝网印刷电极。

[0020] 优选地,步骤(5)中所述油墨为步骤(3)所得复合材料分散于无水乙醇和全氟磺酸型聚合物(Nafion)溶液的均匀分散液,其中无水乙醇与全氟磺酸型聚合物溶液的体积比为(2~12):1,所述复合材料在分散液中的浓度为1~50mg/mL。

[0021] 优选地,步骤(6)中所述微流控通道的由聚二甲基硅氧烷(PDMS)单体聚合得到。

[0022] 更优选地,所述微流控通道通过紫外固化3D打印技术制得,步骤包括:将PDMS单体及引发剂以9:1~13:1体积比混合均匀后,倒置在制得的模板上,并用真空烘箱设备抽除混合溶液内的气泡;随后置于60~80℃烘箱内烘烤0.5~2h,最后使用手术刀将PDMS裁剪下来,即获得所需的微流控通道。

[0023] 优选地,步骤(7)中所述封装采用等离子封接。

[0024] 本发明技术方案之二:一种根据上述制备方法制得的多通道微流控电化学传感芯片。

[0025] 本发明技术方案之三:上述多通道微流控电化学传感芯片在电化学免疫生物传感器中的应用。

[0026] 本发明所述多通道微流控电化学传感芯片在检测抗原或抗体时,先将1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)/吗啉乙磺酸缓冲液(MES)和N-羟基琥珀酰亚胺钠盐(NHS)/磷酸缓冲盐溶液通过通道注入工作电极所在腔室,在室温下活化复合材料表面羧基10~30min,再将蛋白封闭剂通过通道注入到工作电极腔室,并在37℃下孵育2~12h以构建防污传感界面,然后用磷酸缓冲溶液冲洗除去残留的蛋白封闭剂,随后将ProteinA通入到工作电极腔室,4℃孵育10~14h以与复合材料中金属离子络合,孵育完成后用磷酸缓冲溶液冲洗除去残留的ProteinA,然后将识别抗体溶液通入工作电极腔室,并于37℃恒温孵育40~80min,然后用磷酸缓冲溶液冲洗除去残留的识别抗体溶液,最后将待测抗原溶

液通入工作电极腔室,并于37℃恒温孵育40~80min即可进行测试。

[0027] 上述抗体溶液、蛋白封闭剂溶液及抗原溶液均由磷酸缓冲溶液配制得到,上述的磷酸缓冲溶液pH值为6.8~7.4。

[0028] 本发明所述多通道微流控电化学传感芯片在使用时,可通过在传感界面修饰防污多肽以减少非特异性吸附,从而提高传感器的性能。

[0029] 本发明的有益技术效果如下:

[0030] 本发明制备的多通道电极芯片上沉积的复合材料具有高孔隙率、低密度、大比表面积、孔道规则、孔隙可调、结构多样性及可裁剪等优点;复合材料超大的开放性表面,可以为生物分子的识别和固定提供丰富的、暴露的活性位点,这些活性位点既可实现生物识别分子的定向固定,又可用于抗污染蛋白封闭剂分子的有效偶联,有利于功能性传感界面的构建;复合材料中结合的氧化石墨烯具有良好的导电性,该复合材料兼具无机材料和有机材料的优势和性能,有助于增强多通道电极芯片的电子传递和物质运输能力。

[0031] 进一步地,通过多通道电极芯片表面集成微流控通道,对微量的样品进行精确操控,进而方便开展各种多通道和系列化操作与实验,更适于在复杂环境中对痕量待测物进行检测研究。本发明,采用丝网印刷技术在柔性基底上设计并批量印制电化学传感芯片阵列,再结合微流控技术,可开发适用于多个待测物并行、联合检测的微型电化学传感器。

## 附图说明

[0032] 图1为本发明实施例构建的多通道微流控电化学传感芯片的示意图。

[0033] 图2为实施例1制备的Zn-TCPP/ZnO/GO的扫描电镜图。

[0034] 图3为实施例2制备的Cu-TCPP/ZnO/GO的扫描电镜图。

[0035] 图4为实施例1制备的多通道微流控电化学传感芯片对不同浓度羊抗人IgG的检测结果。

[0036] 图5为实施例1制备的多通道微流控电化学传感芯片在BSA环境下有无修饰防污多肽的情况下的DPV测试结果,其中a为无防污多肽修饰时在BSA中的DPV曲线,b为有防污多肽修饰时在BSA中的DPV曲线。

[0037] 其中,1为参比电极,2、3、4为工作电极,5为对电极,6为导线,7为各电极的圆形电极头,8为各电极头的电极引线,9为电极引线与导线接触部分,10为注入池I,11为样品注入池II,12为微流控通道中对应参比电极的腔室,13为微流控通道中对应对电极的腔室,14为微流控通道中对应工作电极的腔室。

## 具体实施方式

[0038] 现详细说明本发明的多种示例性实施方式,该详细说明不应认为是对本发明的限制,而应理解为是对本发明的某些方面、特性和实施方案的更详细的描述。应理解本发明中所述的术语仅仅是为描述特别的实施方式,并非用于限制本发明。

[0039] 另外,对于本发明中的数值范围,应理解为还具体公开了该范围的上限和下限之间的每个中间值。在任何陈述值或陈述范围内的中间值,以及任何其他陈述值或在所述范围内的中间值之间的每个较小的范围也包括在本发明内。这些较小范围的上限和下限可独立地包括或排除在范围内。

[0040] 除非另有说明,否则本文使用的所有技术和科学术语具有本发明所述领域的常规技术人员通常理解的含义。虽然本发明仅描述了优选的方法和材料,但是在本发明的实施或测试中也可以使用与本文所述相似或等同的任何方法和材料。

[0041] 关于本文中所使用的“包含”、“包括”、“具有”、“含有”等等,均为开放性的用语,即意指包含但不限于。

[0042] 本发明实施例构建的多通道微流控电化学传感芯片的示意图见图1。其中,1为参比电极,2、3、4为工作电极,5为对电极,6为导线,7为各电极的圆形电极头,8为各电极头的电极引线,9为电极引线与导线接触部分,10为注入池I,11为样品注入池II,12为微流控通道中对应参比电极的腔室,13为微流控通道中对应对电极的腔室,14为微流控通道中对应工作电极的腔室。

[0043] 图1中电极层厚度为 $20\mu\text{m}\sim 5\text{mm}$ ,电极上圆形电极头半径为 $0.5\sim 0.8\text{mm}$ ,电极头延伸导线宽度为 $0.3\sim 1.0\text{mm}$ ,电极与导线接触部分宽度为 $1\sim 1.4\text{mm}$ ;所述的导线宽度为 $0.8\sim 1.2\text{mm}$ ;微流控通道中通道高度为 $350\sim 600\mu\text{m}$ ,宽度为 $1.0\sim 1.4\text{mm}$ ,宽度尺寸要求大于丝网印刷电极导线宽度;所述的微流控通道中腔室半径为 $0.8\sim 1.3\text{mm}$ ,尺寸要求大于对应的丝网印刷电极的电极头半径;所述的微流控通道中注入池I和II的半径为 $1.0\sim 1.8\text{mm}$ 。

[0044] 实施例1

[0045] Zn-TCPP/ZnO/GO多通道微流控电化学传感芯片的制备:

[0046] A、将5mg氧化石墨烯均匀分散在13mL无水乙醇中,超声处理10min后,得到均匀的氧化石墨烯分散液,将该分散液均匀涂覆在硅片表面,并待其干燥,形成氧化石墨烯膜层;

[0047] B、将浓度为4mM的无水醋酸锌的无水乙醇溶液涂覆在步骤A所得硅片上结合的氧化石墨烯膜层上,干燥,得到依次结合氧化石墨烯膜层和醋酸锌膜层的硅片;然后在 $350^{\circ}\text{C}$ 温度条件下,进行煅烧30min,取出硅片后自然冷却,得到结合氧化锌/氧化石墨烯复合材料的硅片;

[0048] C、在无水乙醇:N,N-二甲基甲酰胺(DMF)体积比为3:1的体系中配制含22.5mg硝酸锌、100mg聚乙烯吡咯烷酮(平均分子量40000)、4mg吡嗪和20mgTCPP的混合溶液,将步骤B所得硅片置于该混合溶液中,密封后在 $80^{\circ}\text{C}$ 温度条件下反应16h;而后干燥即得到Zn-TCPP/ZnO/GO复合材料,扫描电镜图见图2。

[0049] D、使用导电银浆于PET基底上印刷电极导线,后将其放置于 $120^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥10min;待浆料完全干燥后,继续丝网印刷银/氯化银浆料,于 $130^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥5min,获得参比电极1;随后使用导电碳浆印制工作电极3、工作电极4、工作电极5和对电极2, $120^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥10min得到完整的多通道电极。

[0050] E、将2mg步骤C制备的Zn-TCPP/ZnO/GO复合材料分散在50 $\mu\text{L}$ 无水乙醇和12.5 $\mu\text{L}$  Nafion溶液中,超声处理30min获得分散均匀油墨,将该油墨涂覆于步骤D制备的多通道电极中工作电极的表面,于室温下干燥后,即得到Zn-TCPP/ZnO/GO复合材料修饰的多通道电极芯片。

[0051] F、将PDMS单体及引发剂SYLGARD 184SILICONE ELASTOMER灌封胶以9:1体积比混合均匀后,倒置在制得的模板(模板根据步骤E中得到的多通道电极芯片进行设计)上,并用真空烘箱设备抽除混合溶液内的气泡;随后置于 $70^{\circ}\text{C}$ 烘箱内烘烤1h,最后使用手术刀将PDMS裁剪下来,即获得所需的微流控通道。

[0052] G、通过等离子封接技术将步骤E制备的多通道电极芯片和步骤F制备的微流控通道封装,制得Zn-TCPP/ZnO/GO多通道微流控电化学传感芯片。

[0053] 实施例1制备的Zn-TCPP/ZnO/GO多通道微流控电化学传感芯片中电极层厚度为1.0mm,电极的圆形电极头7半径为0.5mm,电极头延伸导线8宽度为0.5mm,电极与导线接触部分9宽度为1.0mm;所述的导线宽度为1.0mm;微流控通道中通道高度为500 $\mu$ m,宽度为1.2mm,宽度尺寸要求大于丝网印刷电极导线宽度;微流控通道中对应参比电极的腔室12、对应对电极的腔室13和对应工作电极的腔室14半径为1.0mm,尺寸要求大于对应的丝网印刷电极的电极头半径;微流控通道中注入池I10和注入池II 11的半径为1.5mm。

[0054] 实施例2

[0055] Cu-TCPP/ZnO/GO多通道微流控电化学传感芯片的制备:

[0056] A.将5mg氧化石墨烯均匀分散在13mL无水乙醇中,超声处理10min后,得到均匀的氧化石墨烯分散溶液,将该分散液均匀涂覆在硅片表面,并待其干燥,形成氧化石墨烯膜层;

[0057] B.将浓度为4mM的无水醋酸锌的无水乙醇溶液涂覆在步骤A所得硅片上结合的氧化石墨烯膜层上,干燥,得到依次结合氧化石墨烯膜层和醋酸锌膜层的硅片;然后在350 $^{\circ}$ C温度条件下,进行煅烧30min,取出硅片后自然冷却,得到结合氧化锌/氧化石墨烯复合材料的硅片;

[0058] C.在无水乙醇:N,N-二甲基甲酰胺(DMF)体积比为3:1的体系中配制含18mg硝酸铜、50mg聚乙烯吡咯烷酮(平均分子量40000)、含6mg三氟乙酸的三氟乙酸水溶液50 $\mu$ L、20mgTCPP的混合溶液,将步骤B所得硅片置于该混合溶液中,密封后在80 $^{\circ}$ C温度条件下反应8h;而后干燥即得到Cu-TCPP/ZnO/GO复合材料,扫描电镜图见图3。

[0059] D、使用导电银浆于PET基底上印刷电极导线,后将其放置于120 $^{\circ}$ C烘箱中干燥10min;待浆料完全干燥后,继续丝网印刷银/氯化银浆料,于130 $^{\circ}$ C烘箱中干燥5min,获得参比电极1;随后使用导电碳浆印制工作电极3、工作电极4、工作电极5和对电极2,120 $^{\circ}$ C烘箱中干燥10min得到完整的多通道电极。

[0060] E、将2mg步骤C制备的Cu-TCPP/ZnO/GO复合材料分散在50 $\mu$ L无水乙醇和12.5 $\mu$ L Nafion溶液中,超声处理30min获得分散均匀油墨,将该油墨沉积于步骤D制备的多通道电极中工作电极的表面,于室温下干燥后,即得到Cu-TCPP/ZnO/GO复合材料修饰的多通道电极芯片。

[0061] F、将PDMS单体及引发剂SYLGARD 184SILICONE ELASTOMER灌封胶以9:1体积比混合均匀后,倒置在制得的模板上,并用真空烘箱设备抽除混合溶液内的气泡;随后置于70 $^{\circ}$ C烘箱内烘烤1h,最后使用手术刀将PDMS裁剪下来,即获得所需的微流控通道。

[0062] G、通过等离子封接技术将步骤E制备的多通道电极芯片和步骤F制备的微流控通道封装,制得Cu-TCPP/ZnO/GO多通道微流控电化学传感芯片。

[0063] 实施例2制备的Cu-TCPP/ZnO/GO多通道微流控电化学传感芯片中电极层厚度为1.0mm,电极的圆形电极头7半径为0.5mm,电极头延伸导线8宽度为0.5mm,电极与导线接触部分9宽度为1.0mm;所述的导线宽度为1.0mm;微流控通道中通道高度为500 $\mu$ m,宽度为1.2mm,宽度尺寸要求大于丝网印刷电极导线宽度;微流控通道中对应参比电极的腔室12、对应对电极的腔室13和对应工作电极的腔室14半径为1.0mm,尺寸要求大于对应的丝网印



刷电极的电极头半径;微流控通道中注入池I10和注入池II 11的半径为1.5mm。

[0064] 实施例3

[0065] 实施例1制备的多通道微流控电化学传感芯片检测羊抗人IgG:

[0066] A、将ProteinA/PBS溶液 (pH=7.4) 经注入池I10通入电化学传感芯片通道内,随后将电化学传感芯片置于4℃下过夜孵育,ProteinA与多通道电极芯片表面金属离子络合,为后续固定抗体起到桥梁作用;

[0067] B、将磷酸缓冲盐溶液经注入池II 11缓慢通入电化学传感芯片通道内以清洗整个通道;

[0068] C、将羊抗人IgG抗体/PBS溶液经注入池I10通入电化学传感芯片通道内,要求将通道内先前的磷酸缓冲盐溶液排出通道,随后将电化学传感芯片置于37℃下孵育1h,通过ProteinA结合抗体Fc端从而实现抗体在传感界面的固定;

[0069] D、将磷酸缓冲盐溶液经注入池II 11缓慢通入电化学传感芯片通道内以清洗整个通道;

[0070] E、将羊抗人IgG/PBS溶液经注入池I10通入电化学传感芯片通道内,要求将通道内先前的磷酸缓冲盐溶液排出通道,随后将电化学传感芯片置于37℃下孵育1h。通过ProteinA固定在电极表面的羊抗人IgG和抗原间发生的抗原抗体特异性反应,在电极表面形成敏感材料、ProteinA、IgG抗体、IgG的复合物;

[0071] F、将电化学传感芯片接入电化学工作站,采用差分脉冲伏安法在0~0.6V电位区间内测试对羊抗人IgG的电化学响应性能,测定结果见图4。

[0072] 从图4中可以看出,该基于Zn-TCPP/ZnO/GO复合材料的电化学免疫传感器对羊抗人IgG检测限可以达到20ng/mL。并且随着羊抗人IgG浓度的增加,DPV曲线中的电流响应信号逐渐降低,说明传感器对不同浓度的羊抗人IgG有着良好的选择性。

[0073] 实施例4

[0074] 实施例1制备的多通道微流控电化学传感芯片修饰Peptide后有无BSA的情况下的DPV曲线:

[0075] A、将3mM 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐(EDC)/吗啉乙磺酸缓冲液(MES) (PH值为5.5) 溶液经注入池I10通入电化学传感芯片通道内,要求注入的溶液必须注满对应工作电极的腔室,室温活化Zn-TCPP/ZnO/GO复合材料配体羧基5min,然后将等浓度的N-羟基琥珀酰亚胺钠盐(NHS)/磷酸缓冲盐溶液(PBS,PH值为7.4) 经注入池I10以10 $\mu$ L/min通入电化学传感芯片通道内,室温下孵育15min;

[0076] B、将磷酸缓冲盐溶液经注入池II 11缓慢通入电化学传感芯片通道内以清洗整个通道;

[0077] C、将多肽/PBS溶液经注入池I10通入电化学传感芯片通道内,要求将通道内先前的磷酸缓冲盐溶液排出通道,将电化学传感芯片置于37℃下孵育2h,通过在传感器表面修饰防污多肽(氨基酸序列为EREREREGGGG的短链多肽)防止非特异性吸附;

[0078] D、将磷酸缓冲盐溶液经注入池II 11缓慢通入电化学传感芯片通道内以清洗整个通道;

[0079] E、将牛血清白蛋白(BSA) 经注入池I10通入电化学传感芯片通道内,要求将通道内先前的磷酸缓冲盐溶液排出通道,随后将电化学传感芯片置于37℃下孵育1h;

[0080] F、将电化学传感芯片接入电化学工作站,采用差分脉冲伏安法在0~0.6V电位区间内测试在不同浓度的BSA下的DPV响应,测定结果见图5,a为无防污多肽修饰时在BSA环境下的DPV曲线,b为有多肽修饰时在BSA环境下的DPV曲线。

[0081] 从图5中可以看出,未经防污多肽修饰的电化学传感器在BSA中的响应电流远低于其在PBS中的响应电流,信号损失程度达到了45%,而经防污多肽修饰的电化学传感器在BSA中的响应电流略低于其在PBS中的响应电流,信号损失程度只有7.4%,这说明经防污多肽修饰的电化学传感器具有优秀的防止非特异性吸附的能力,可以实现在复杂生物基质环境中对目标待测物的痕量检测。

[0082] 以上所述的实施例仅是对本发明的优选方式进行描述,并非对本发明的范围进行限定,在不脱离本发明设计精神的前提下,本领域普通技术人员对本发明的技术方案做出的各种变形和改进,均应落入本发明权利要求书确定的保护范围内。

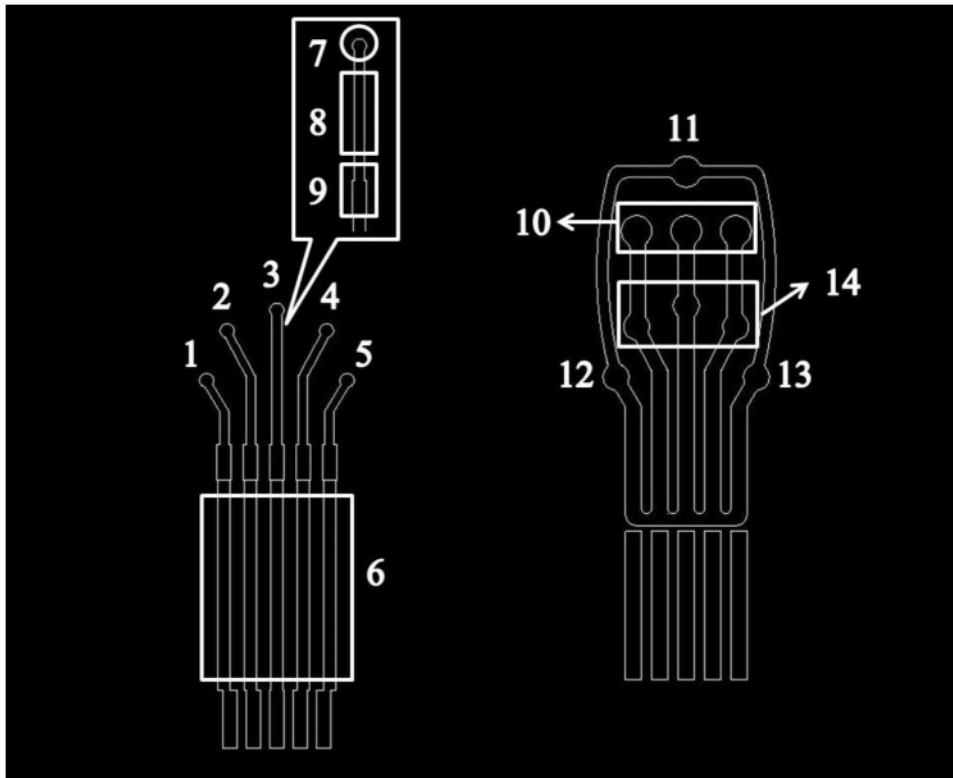


图1

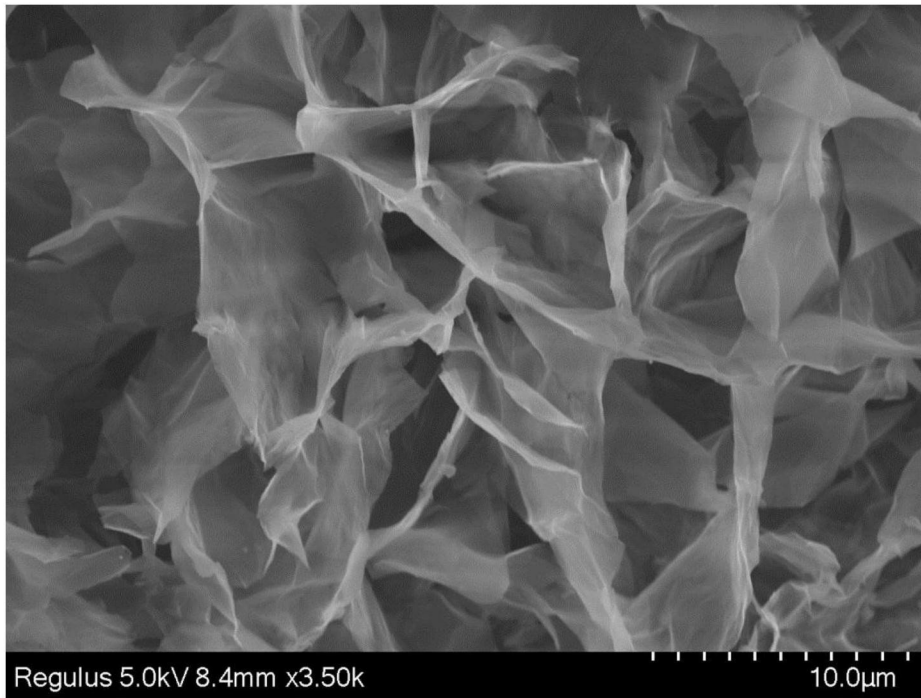


图2

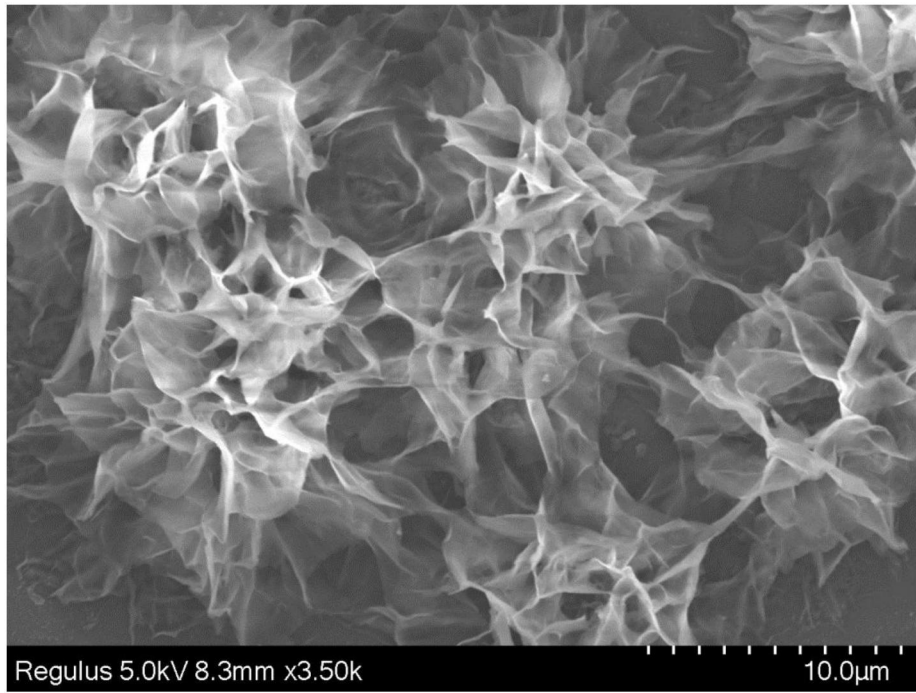


图3

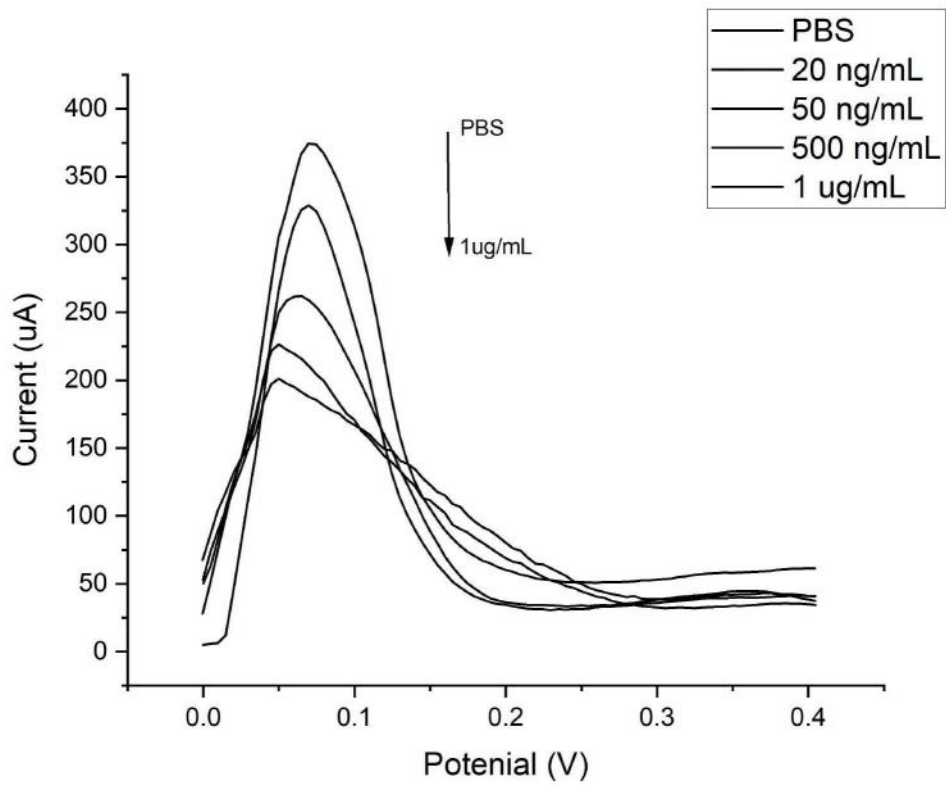


图4

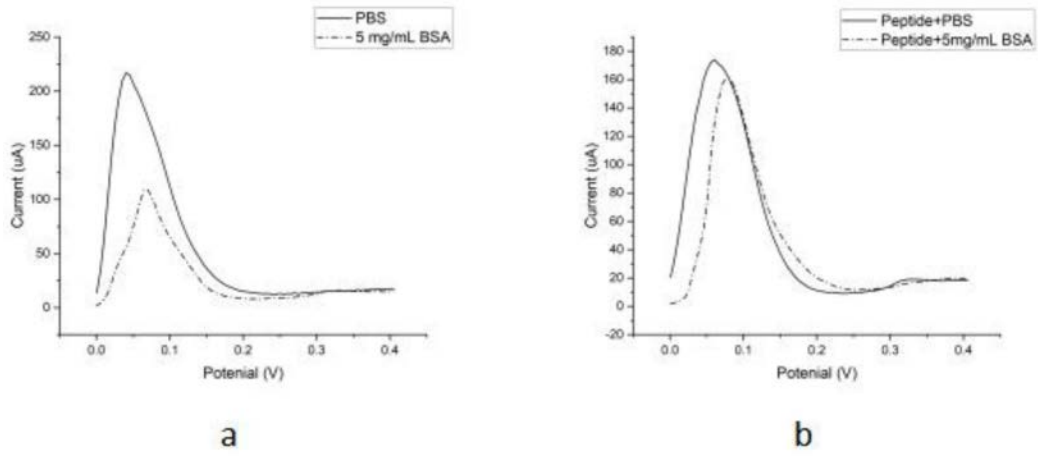


图5