

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.⁷
G01N 27/22
G01N 33/50



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02146054. X

[43] 公开日 2003 年 3 月 26 日

[11] 公开号 CN 1405557A

[22] 申请日 2002.10.28 [21] 申请号 02146054. X

[71] 申请人 中国科学院长春应用化学研究所

地址 130022 吉林省长春市人民大街 159 号

[72] 发明人 杨秀荣 齐 斌

权利要求书 1 页 说明书 4 页

[54] 发明名称 电容生物传感器的制备方法

[57] 摘要

本发明属于电容生物传感器的制备方法。采用铜片或不锈钢片作为传感片的基底，利用聚乙烯亚胺的粘附性及其上带有的亚氨基，并利用戊二醛对氨基的交联作用，将抗体分子连接到聚乙烯亚胺膜上，制成生物传感器。通过该方法制得的传感器对相应抗原的检测灵敏度可达微克级，在 4℃ 下可以保存 50 - 70 天。本发明由于采用铜片或不锈钢片，使传感器成本降低，且制备工艺简单，节省时间，易保存，具有很好的实用性。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种电容生物传感器的制备方法，其特征在于整个制备过程分为以下三步：

(1) 基底的选择与预处理：选取铜片或不锈钢片，加工成所需的形状，依次用丙酮、乙醇、二次水、稀盐酸清洗干净，氮气中吹干备用；

(2) 聚乙烯亚胺绝缘膜的形成：聚乙烯亚胺用甲醇溶解，其浓度为10-70g/l，采用自转式旋涂法在基底表面旋涂3-4次，转速为1000-10000rpm，形成绝缘膜；

(3) 抗体的固定化：在已成膜的基底表面滴加 0.1-0.2mol/L 戊二醛溶液，在 25°C-37°C 下反应 40-50 分钟，用水洗净后自然晾干；再将效价比为 1: 10-30 的抗体溶液滴于基底表面，在 25°C-37°C 反应 1-2 小时，然后用 pH7.0-7.4 的 5-30mmol/L 磷酸盐缓冲液及水清洗干净，以牛血清白蛋白封闭未反应的醛基。

电容生物传感器的制备方法

技术领域：本发明属于电容生物传感器的制备方法。

背景技术：通常电化学生物传感器所测定的电信号都是基于电流、电位或者电导而进行的，测定电容的报道则相对较少。电容值的测量主要有循环伏安法、电桥平衡法、电化学交流阻抗法以及暂态电位法等技术，这些方法虽然准确但也有其自身的局限性，目前常用的一种新型电容测定装置，是将膜电容通过频率转换器转换成频率的方式，然后测定由于敏感膜表面物质的吸附或者脱离引起循环充放电周期改变而测定其电容值。它具有装置简单、灵敏度高、快速检测、无须标记、可动态监测等一系列优点。这就要求在导电基底上形成具有高阻抗的薄膜，为电容测量提供很好的条件。Christine berggren 等利用自组装方法设计了以硫醇为高阻抗的薄膜的电容生物传感器。

《Christine berggren and Gillis Johansson , Capacitance Measurements of Antibody-Antigen Internactions in a Flow System Anal Chem。 1997, 69, 3651-3657》。但此种方法对基底的要求很高,且成本昂贵。

发明内容：本发明的目的是提供一种电容生物传感器的制备方法。

本发明采用铜片或不锈钢片作为传感片的基底，充分利用聚乙烯亚胺的粘附性及其上带有的亚氨基，利用戊二醛对氨基的交联作用，

将抗体分子连接到聚乙烯亚胺膜上，制成生物传感器。整个制备的过程分为以下三步：

(1) 基底的选择与预处理：选取铜片或不锈钢片，加工成所需的形状，依次用丙酮、乙醇、二次水、稀盐酸清洗干净，氮气中吹干备用；

(2) 聚乙烯亚胺绝缘膜的形成：聚乙烯亚胺用甲醇溶解，其浓度为10-70g/l，采用自转式旋涂法在基底表面旋涂3-4次，转速为1000-10000rpm，形成绝缘膜；

(3) 抗体的固定化：在已成膜的基底表面滴加0.1-0.2mol/L戊二醛溶液，在25°C-37°C下反应40-50分钟，用水洗净后自然晾干；再将效价比为1: 10-30的抗体溶液滴于基底表面，在25°C-37°C反应1-2小时，然后用pH7.0-7.4的5-30mmol/L磷酸盐缓冲液及水清洗干净，以牛血清白蛋白封闭未反应的醛基。制得的传感器灵敏度可达微克级，在4°C下可以保存50-70天。

本发明由于采用铜片或不锈钢片，使传感器成本降低，且制备工艺简单，节省时间，易保存，具有很好的实用性。

具体实施方式如下：

实施例1：采用铜片为基底，聚乙烯亚胺用甲醇溶解，其浓度为10g/l，采用自转式旋涂法在基底表面旋涂3次形成绝缘膜，转速为1000rpm；于25°C条件下在已成膜的基底表面滴加0.1mol/L戊二醛溶液，反应40分钟，用水洗净后自然晾干；再将效价比为1: 10的羊抗小鼠IgG溶液滴于基底表面，于30°C条件下反应1.5小时；用pH7.0的

5mmol/L磷酸盐缓冲液及水清洗干净，最后用牛血清白蛋白封闭未反应的醛基。制成的传感器基底电容为18nF左右，利用此传感器对小鼠IgG进行检测，灵敏度达到了微克级水平。

实施例2：采用铜片为基底，聚乙烯亚胺用甲醇溶解，其浓度为20g/l，采用自转式旋涂法在基底表面旋涂4次形成绝缘膜，转速为3000rpm；于37℃条件下在已成膜的基底表面滴加0.2mol/L戊二醛溶液，反应50分钟，用水洗净后自然晾干；再将效价比为1:15的羊抗小鼠IgG溶液滴于基底表面，于30℃条件下反应1小时；用pH7.2的15mmol/L磷酸盐缓冲液及水清洗干净，最后用牛血清白蛋白封闭未反应的醛基。制成的传感器基底电容为18nF左右，利用此传感器对小鼠IgG进行检测，灵敏度达到了微克级水平。

实施例3：采用不锈钢片为基底，聚乙烯亚胺用甲醇溶解，其浓度为50g/l，采用自转式旋涂法在基底表面旋涂3次形成绝缘膜，转速为6000rpm；于30℃条件下在已成膜的基底表面滴加0.1mol/L戊二醛溶液，反应40分钟，用水洗净后自然晾干；再将效价比为1:20的羊抗小鼠IgG溶液滴于基底表面，于37℃条件下反应1小时；用pH7.3的25mmol/L磷酸盐缓冲液及水清洗干净，最后用牛血清白蛋白封闭未反应的醛基。制成的传感器基底电容为18nF左右，利用此传感器对小鼠IgG进行检测，灵敏度达到了微克级水平。

实施例4：采用不锈钢片为基底，在10000rpm条件下，聚乙烯亚胺用甲醇溶解，其浓度为70g/l，采用自转式旋涂法在基底表面旋涂4次形成绝缘膜；于37℃条件下在已成膜的基底表面滴加0.2mol/L戊二

醛溶液，反应50分钟，用水洗净后自然晾干；再将效价比为1:30的羊抗小鼠IgG溶液滴于基底表面，于25℃条件下反应1小时；用pH7.4的30mmol/L磷酸盐缓冲液及水清洗干净，最后用牛血清白蛋白封闭未反应的醛基。制成的传感器基底电容为18nF左右，利用此传感器对小鼠IgG进行检测，灵敏度达到了微克级水平。