



(21) 申请号 202411440414.6

(22) 申请日 2024.10.16

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 118961819 A

(43) 申请公布日 2024.11.15

(73) 专利权人 天津市协和医药科技集团有限公司

地址 300450 天津市滨海新区滨海科技园
高新五路38号

专利权人 协和生物制药(天津)有限公司

(72) 发明人 阎尔坤 师钰博 杨思思 李烜

(51) Int. Cl.

G01N 27/12 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 117191906 A, 2023.12.08

杨婕;冯媛媛;杨涛;焦奎.DNA在纳米金修饰聚2,6-吡啶二甲酸膜电极上的固定杂交及与3-氨基酚噻嗪的相互作用.青岛科技大学学报(自然科学版).2007,(第01期),1-5.

审查员 汤敏

权利要求书2页 说明书6页

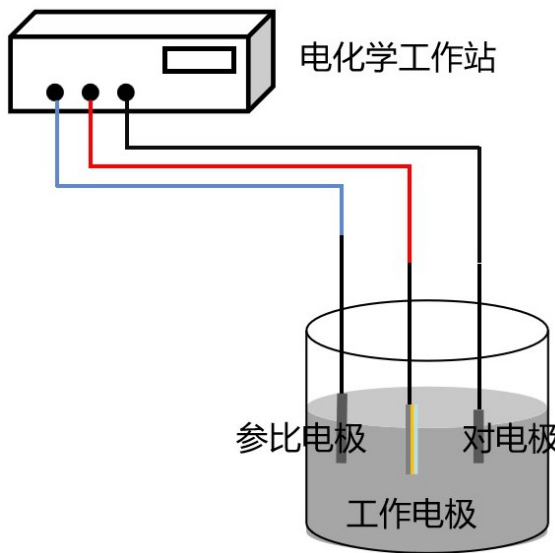
序列表(电子公布) 附图4页

(54) 发明名称

一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器及其应用

(57) 摘要

本发明提供了一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器及其应用,属于电化学生物传感器领域。所述纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器由以纳米粒子修饰的多孔膜为基底,在多孔膜上沉积金属膜组成,然后利用纳米孔道内的羧基官能团与带有氨基的捕获探针之间的共价键链接,成功将纳米孔道功能化,接着用牛血清蛋白对活性位点进行封闭,得到纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器。该传感器具有阻抗小、测量精确度高、导电性高、制备步骤简单、检测时间短等优点。



1. 一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器, 其特征在于, 以含有多个纳米孔道的聚合物膜为基材, 在聚合物膜的纳米孔道内壁修饰纳米粒子, 然后将金属氧化物沉积在聚合物膜纳米孔道尖端表面, 制成纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜, 然后在膜的纳米孔道表面修饰捕获探针DNA, 最后封闭活性位点, 得到基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器;

所述多孔膜具有多个纳米孔道, 可以提供大量的活性位点, 促进电极表面的电子转换, 纳米粒子进一步提高孔道的导电性, 在此基础上负载金属膜可以减小纳米粒子修饰多孔膜的电化学阻抗, 从而最大程度上提高导电率, 同时利用封闭剂封闭活性位点, 更进一步提高传感器的特异性和灵敏度。

2. 根据权利要求1所述的一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器的制备方法, 其特征在于, 主要步骤如下: (1) 在直线加速器上, 用重离子辐照聚合物膜, 将聚合物膜每一面在紫外灯下暴露, 使其敏化; (2) 将聚合物膜包埋在电导池的两个腔间, 一个腔内填充蚀刻液, 另一个腔内填充阻止液, 然后在膜上施加电压, 刻蚀过程停止在一个所需的电流值对应于一定的尖端直径; (3) 将多孔膜在含有纳米粒子水溶液中浸泡, 然后取出修饰有纳米粒子的多孔膜, 用水冲洗, 在空气中晾干; (4) 将纳米粒子修饰的多孔膜置于工作电极上, 然后将计数电极和参比电极与工作电极一起置于电解池中, 使用电化学工作站对金属氧化物进行电沉积, 然后用去离子水中冲洗负载过金属膜的多孔膜, 并在室温下干燥; (5) 将纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜置于1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳酰二亚胺(EDC)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS) 水溶液中浸泡2小时, 并用纯水彻底冲洗, 冲洗完成后进行干燥, 然后将处理后的膜浸入带有氨基的捕获探针溶液过夜, 最后用蒸馏水对修饰过的膜进行三次洗涤, 并在室温下干燥; (6) 最后, 将捕获探针功能化的复合膜浸入牛血清蛋白(BSA) 水溶液中, 然后用去离子水清洗, 在空气中干燥, 即制成了纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器。

3. 根据权利要求2所述的一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器的制备方法, 其特征在于, 所述步骤(1) 中聚合物膜为聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET) 膜、聚碳酸酯(PC) 膜或聚酰亚胺(PI) 膜, 纳米孔道的形状为锥状, 厚度为 $10 \sim 50 \mu\text{m}$, 其表面孔道的孔径为 $0.1 \sim 5 \mu\text{m}$, 孔密度为 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^{15} \text{个}/\text{cm}^2$, 紫外光的波长 $300 \sim 400 \text{nm}$, 照射时间为2小时。

4. 根据权利要求2所述的一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器的制备方法, 其特征在于, 所述步骤(2) 中化学刻蚀液为氢氧化钠溶液, 浓度为 $6 \text{mol/L} \sim 9 \text{mol/L}$, 阻止液为 $1 \text{mol/L} \sim 3 \text{mol/L}$ 的氯化钾和 $1 \text{mol/L} \sim 3 \text{mol/L}$ 的甲酸, 施加电压为1V, 在 30°C 条件下进行, 所需电流值对应尖端直径根据 $d_{\text{tip}} = 4LI / \pi k(c)UD$ 来计算, 其中L为孔长; I是电流; U为施加电压; d_{tip} 和D分别为尖端直径和基部直径; $k(c)$ 是电解质的比电导率, 对于 25°C 下的 1mol/L 的氯化钾溶液, 其 $k(c)$ 为 $0.11173 \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$ 。

5. 根据权利要求2所述的一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器的制备方法, 其特征在于, 所述步骤(3) 中纳米粒子为直径 $10 \sim 20 \text{nm}$ 的金纳米粒子, 浸泡时间为10分钟。

6. 根据权利要求2所述的一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器的制备方法, 其特征在于, 所述步骤(4) 中工作电极为ITO导电玻璃衬底, 铂丝为对电极,

Ag/AgCl为参比电极,电化学工作站为CHI660E,电解质溶液为4mol/L~6mol/L的金属氧化物溶液,通过恒温器将沉积浴温度保持在30℃。

7.根据权利要求2所述的一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器的制备方法,其特征在于,所述步骤(5)中EDC的浓度为10mg/L~15mg/L,NHS的浓度为3mg/L~5mg/L,探针DNA水溶液浓度为2 μ mol/L~5 μ mol/L,pH 7.0~8.0,探针反应时间为12小时,在室温下进行。

8.根据权利要求2所述的一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器的制备方法,其特征在于,所述步骤(6)中BSA水溶液浓度为8mg/mL~10mg/mL,pH 7.0~8.0,浸泡时间为1小时,在室温下进行。

一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于电化学生物传感器领域,具体涉及一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器及其应用。

背景技术

[0002] 电化学生物传感器属于新兴的电化学生物电子学学科,这是一个涉及生物学、化学、材料、医学以及纳米技术、微电子学、信息技术和其他多个学科技术的跨学科领域。电化学生物传感器是借助电化学活性传感器原件-电极,分析由生物组成成分或生物受体产生的电活性物质,并且可以将产生的电活性物质直接转换为电子信号进行检测的一种分析方法,具有快速、灵敏、操作简便等特点,已广泛应用于检验的各个方面。然而常规电化学生物传感器导电性差、电荷转移电阻大、检测精确低,因此需要设计一个导电性强,电荷转移电阻小,检测精确度高的电化学生物传感器。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供了一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器及其应用,通过在ITO玻璃电极上放置此复合膜作为工作电极,实现经典三电极体系,进行检测应用的一种新技术。

[0004] 本发明的技术方案具体如下:基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器的制备方法,包括如下步骤;(1)多孔膜的预处理;首先,在直线加速器上,用能量为单个重离子辐照聚合物,得到具有离子径迹的薄膜,然后用紫外光照射对其进行敏化;(2)多孔膜的制备;将聚合物膜包埋在电导池的两个腔间,一个腔内填充蚀刻液,另一个腔内填充停止液,然后在膜上施加电压,刻蚀过程停止在一个所需的电流值对应于一定的尖端直径,得到含有多个纳米孔道的薄膜;(3)纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的制备;首先将含有多个纳米孔道的薄膜浸入纳米粒子水溶液中,然后冲洗并在空气中晾干,得到纳米粒子修饰的多孔膜;然后纳米粒子修饰的多孔膜置于工作电极上,将计数电极和参比电极与工作电极一起置于电解池中,使用电化学工作站对金属氧化物进行电沉积,然后用去离子水中冲洗负载过金属膜的多孔膜,并在室温下干燥;(4)捕获探针功能化的纳米孔道复合膜的制备;将纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜置于1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺(EDC)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)水溶液中浸泡2小时,并用纯水彻底冲洗,冲洗完成后进行干燥,然后将处理后的膜浸入带有氨基的捕获探针溶液过夜,最后用蒸馏水对改性后的膜进行三次洗涤,并在室温下进行干燥;(5)纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器的制备;最后,将捕获探针功能化的复合膜浸入牛血清蛋白(BSA)水溶液中,然后用去离子水清洗,在空气中干燥,即制成了纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器。

[0005] 进一步的,所述步骤(1)中,聚合物膜为聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)膜、聚碳酸酯

(PC)膜或聚酰亚胺(PI)膜,纳米孔道的形状为锥状,厚度为10~50 μm ,其表面孔道的孔径为0.1~5 μm ,孔密度为 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^{15}$ 个/ cm^2 ,紫外光的波长300~400 nm,照射时间为2小时。

[0006] 进一步的,所述步骤(2)中,化学刻蚀液为氢氧化钠溶液,浓度为6 mol/L~9 mol/L,阻止液为1 mol/L~3 mol/L的氯化钾和1 mol/L~3 mol/L的甲酸,施加电压为1V,在30°C条件下进行,所需电流值对应尖端直径根据 $d_{\text{tip}} = 4LI / \pi k(c)UD$ 来计算,其中L为孔长;I是电流;U为施加电压; d_{tip} 和D分别为尖端直径和基部直径;k(c)是电解质的比电导率,对于25°C下的1 mol/L~3 mol/L的氯化钾溶液,其k(c)为 $0.11173 \Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$ 。

[0007] 进一步的,所述步骤(3)中,纳米粒子为直径10~20 nm的金纳米粒子,浸泡时间为10分钟。工作电极为ITO导电玻璃衬底,铂丝为对电极,Ag/AgCl为参比电极,电化学工作站为CHI660E,电解质溶液为4 mol/L~6 mol/L的金属氧化物溶液,通过恒温器将沉积浴温度保持在30°C。

[0008] 进一步的,所述步骤(4)中,EDC的浓度为10 mg/L~20 mg/L,NHS的浓度为3 mg/L~5 mg/L,探针DNA水溶液浓度为2 μM /L~5 μM /L,pH 7.0~8.0,探针反应时间为12小时,在室温下进行。

[0009] 进一步的,所述步骤(5)中,BSA水溶液浓度为8 mg/mL~10 mg/mL,pH 7.0~8.0,浸泡时间为1小时,在室温下进行。

[0010] 本发明还涉及一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器及其应用,其特征在于,具体检测过程如下:(1)所有电化学测试均在三电极池中进行,将纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器置于ITO导电玻璃上制成工作电极,将对电极和参比电极与工作电极一起置于电解池中,在电解池中加入电解质溶液,频率设为 $10^{-2} \sim 10^5 \text{Hz}$,交流振幅为3 mV~5 mV,使用电化学工作站进行电化学阻抗测试;(2)将修饰过探针的复合膜置于ITO导电玻璃上制成工作电极进行电化学阻抗测试,获得孵育前的阻抗响应;(3)将目标物标准样品作为孵育液加入电化学生物传感器的cDNA功能化的纳米孔道中,在35°C~40°C条件下孵育100~120分钟后,将孵育液吸出,用去离子水清洗,加入电解质溶液,频率和交流振幅和之前均一致,进行电化学阻抗测试;(4)对比孵育前后电化学阻抗变化分析目标物和探针是否结合。

[0011] 进一步的,所述步骤1中,铂丝为对电极,Ag/AgCl为参比电极,电化学工作站为CHI660E,电解质溶液为1 mol/L~2 mol/L的硫酸钠。

[0012] 进一步的,所述步骤2中,将复合膜和ITO导电玻璃用工作电极夹固定在一起。

[0013] 进一步的,所述步骤3中,杂交缓冲液为tris缓冲液,浓度为0.1 μmol /L~0.5 μmol /L,目标物的浓度为0.5 μmol /L~2 μmol /L,所述目标物为核酸、蛋白、生物小分子等,所有测试在室温下进行。

[0014] 进一步的,所述步骤4中,目标物与探针相结合产生阻抗,从而引起变化。

[0015] 此外,本发明的检测原理为:采用离子径迹-刻蚀技术制备了具有纳米孔道的聚合物膜,在未修饰的聚合物膜纳米孔道表面暴露电离的羧基官能团,它们可以被1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺(EDC)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)激活,形成胺反应性酯中间体;然后这些活性酯通过形成共价键与带有氨基的捕获探针进一步缩合,进而得到修饰捕获探针的纳米孔道,最后用带有负电荷的牛血清白蛋白对含有修饰了捕获探针功能化的纳米孔道进行活性位点封闭,从而得到一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生

物传感器,然后目标物与捕获探针相结合会堵塞纳米孔道,使电化学阻抗增大,进而影响纳米孔道内离子的跨膜运动,通过电化学工作站进行电化学阻抗测试来检测探针和靶标之间的杂交。

[0016] 与现有技术相比,本发明有益效果至少在于:本发明提供的纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器适用于检测核酸、蛋白、生物分子等,本发明利用纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜作为工作电极;多孔膜具有多个纳米孔道,可以提供大量的活性位点,促进电极表面的电子转换,纳米粒子进一步提高孔道的导电性,在此基础上负载金属膜可以减小纳米粒子修饰多孔膜的电化学阻抗,从而最大程度上提高导电率;此外在纳米孔道内壁具有大量的羧基官能团,通过活化剂进行活化,然后用氨基化的捕获探针修饰纳米孔道内壁,可以达到靶向检测目标物;本发明还利用封闭剂封闭探针与电极表面特异性结合的位点,进一步提高了传感器的特异性和灵敏度。

附图说明

[0017] 图1为为电化学生物传感器检测装置示意图。

[0018] 图2为多孔膜电镜图。

[0019] 图3为纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜示意图。

[0020] 图4为基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器检测目标物的电化学传感原理图。

[0021] 图5为基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器制备过程的EIS图。

[0022] 图6为不同浓度目标物响应的EIS图。

[0023] 图7为特异性识别图。

[0024] 图8为稳定性探究图。

[0025] 图9为实验条件优化图(时间、PH、温度)。

具体实施方式

[0026] 为了使本发明所述的内容更加便于理解,下面结合具体实施方式对本发明所述的技术方案作进一步的说明,但是本发明不仅限于此。

[0027] 下述实施例中,DNA固定缓冲液的配方为:10 mM Tris,1 mM EDTA • 2Na, 50 mM NaCl,1 mM KCl,pH 8.00。

[0028] 下述实施例中,所涉及的核酸序列如表1所示;

[0029]

	名称	序列
探针	捕获探针	5'-NH ₂ - TCAACATCAGTCTGATAAGCTA-3'
靶标	互补	5'-UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA-3'
干扰序列	单碱基错配	5'-UAGCUUAUCAGACUAAUGUUGA-3'
	三碱基错配	5'-UAACUUAUCAAAACUAAUGUUGA-3'
	十五碱基错配	5'-UAGCUUAATTCTAGTCATGCAT-3'
	非互补	5'-ATTGAAAATTCTAGTCATGCAT-3'

实施例

[0030] 1、一种基于纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器的制备方法,具体步骤如下;(1)在直线加速器上使用重离子轰击膜材料(厚度约为15 μm的PET膜),得到含有重离子径迹膜,留存备用;(2)使用含有波长为360 nm的紫外灯照射含有重离子径迹膜时间为2小时,得到敏化后的重离子径迹膜;(3)将敏化后的重离子径迹膜包埋在电导池的两个腔间,一个腔内填充蚀刻液6 mol/L,另一个腔内填充停止液(1 mol/L的氯化钾和1 mol/L的甲酸),然后在膜上施加电压(1 V),在30℃条件下进行,刻蚀过程停止在一个所需的电流值对应于一定的尖端直径。

[0031] 对上述聚合物膜进行电镜检测,图二结果显示,该膜具有贯穿的柱状纳米孔道,孔隙率为30%,在相同条件下,对100组孔道的孔径进行统计,得到所构筑的纳米孔道孔径为0.1 μm~5 μm,纳米孔道的形状为锥形,孔密度为 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^{15} / \text{cm}^2$ 。

[0032] 2、(1)将上述多孔膜浸入含有纳米粒子溶液中5分钟,然后冲洗并在空气中晾干,将纳米粒子修饰的多孔膜置于工作电极上,将对电极和参比电极与工作电极一起置于电解池中,使用电化学工作站对金属氧化物进行电沉积沉积后,薄膜在去离子水中冲洗,并在室温下干燥,得到纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜,其示意图如图三;(2)将纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜置于1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺(EDC)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)水溶液中浸泡2小时,并用纯水彻底冲洗,冲洗完成后进行干燥,然后将处理后的膜浸入带有氨基的捕获探针溶液过夜,最后用蒸馏水对改性后的膜进行三次洗涤,并在室温下进行干燥;(3)将捕获探针功能化的复合膜膜浸入牛血清蛋白(BSA)水溶液中,然后用去离子水清洗,在空气中干燥,即制成了纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的电化学生物传感器,最终得到含有封闭活性位点的纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜的DNA探针功能化纳米孔道,利用EIS测试对其进行表征,制备过程中EIS测试如图五所示;

[0033] 上述步骤中工作电极为在ITO导电玻璃上固定纳米粒子修饰多孔膜负载金属膜,铂丝为对电极,Ag/AgCl为参比电极,电化学工作站为CHI660E,电解质溶液为4 mol/L的金属氧化物溶液,通过恒温器将沉积浴温度保持在30℃。EDC的浓度为15 mg/L,NHSS的浓度为3 mg/L,探针DNA水溶液浓度为(2 μM/L,pH 7.0),探针反应时间为12小时,在室温下进行。BSA水溶液浓度为(10 mg/mL,pH 7.0),浸泡时间为1小时,在室温下进行进行EIS测试所用

的电解质溶液均为4 mol/L的氯化钾溶液;每次修饰步骤完成后,均需要先将纳米孔道膜用去离子水冲洗,滤纸擦干,然后再进行EIS测试。

[0034] 本发明基于电化学生物传感器,利用其cDNA功能化的纳米孔道信号为模板,通过调控纳米孔道DNA杂交反应,可以实现对于生物分子的高灵敏、快速、定量检测。本发明以miRNA-21为例,具体检测步骤为:将杂交缓冲液为tris缓冲液300 μ L与不同浓度的miRNA-21标准品置于去离子水中,得到孵育液2 mL,其中杂交液的组成由10 mM Tris,1 mM EDTA $\cdot$ 2Na, 50 mM NaCl,1 mM KCl,pH 8.00。

[0035] 3、将上述电化学生物传感器浸泡在孵育液中,在37 $^{\circ}$ C下反应1小时,反应结束后将孵育液吸出,用去离子水冲洗,滤纸擦干,加入电解质溶液为1 mol/L的硫酸钠溶液,PH为7.0,进行EIS测试,结果如图六所示,随着浓度的不断增加,电阻也随之不断增加,分别计算孵育前后电阻变化率的值,得到以目标物的浓度和电流变化率的值绘制标准曲线(图六),从而可以根据标准曲线计算待测样品中目标物的浓度。

[0036] 其中,标准曲线的线性回归方程 $(R_1 - R_0) / R_0 = 37.035 + 2.276 \times \log C$ (R_0 和 R_1 分别为孵育前后在1 V下测得的电阻值),线性相关系数 $R^2 = 0.99764$ 。

[0037] 4、特异性实验:使用完全非互补DNA、单碱基错配、三碱基错配、十五碱基错配和互补DNA来进行验证该电化学生物传感器的选择性;将修饰过探针的复合膜浸入含有浓度为2 μ mol/L的待测目标物和浓度为0.1 μ mol/L的tris杂交缓冲液,在37 $^{\circ}$ C环境下反应1小时,反应完成后,用去离子水洗涤并擦干,然后将孵育完成的复合膜固定在工作电极上,然后加入电解质溶液的浓度为1 mol/L,PH为7.0的硫酸钠溶液,用电化学工作站进行EIS测试,记录电阻变化值;然后依次进行目标物miR-223和干扰物miR-21、miR-26a、miR-27a、miR-122作为对照组在相同条件进行反应和测试。

[0038] 如图七所示,当存在目标物时电化学生物传感器的电阻率显著上升,当存在干扰物的时电化学生物传感器的电流无明显变化;如前文所述, R_0 和 R_1 分别为纳米孔道内与待测目标物响应前后的电阻值(即孵育前后的电阻值),以1 V电压下的电流变化率 $(R_1 - R_0) / R_0$ (即孵育前后电阻的变化率)进行计算,评估该电化学生物传感器的选择性响应性能;如图七所示,该电化学生物传感器传感器在与miR-192、反应后其在-1 V时的电流变化率达到3.09,明显高于其他miRNA。该结果表明,由于核酸杂交的高度序列依赖性,该电化学传感器对目标物的检测具有良好的选择性。

[0039] 5、稳定性实验:在电化学生物传感器与互补DNA杂交后,将上述电化学生物传感器置于去离子水环境中进行EIS测试,考察其电阻变化率。接着将相同条件的电化学生物传感器依次进行五次测试,得到电阻变化率与检测周期数的关系如图八所示;结果表明该传感器具备优异的稳定性。

[0040] 6、优化实验;将上述电化学生物传感器置于去离子水环境中,调整电解质溶液的PH值,依次为5、6、7、8、9,每天同一时间进行EIS测试,连续测试五天,以1 V电压下的电阻变化率做电阻变化率与PH关系的柱状图(图九),说明该电化学生物传感器在PH为7的时候性能最好;将上述电化学生物传感器置于去离子水环境中,调整培育时间值,依次为20、40、60、80、100分钟,每天同一时间进行EIS测试,连续测试六天,以1 V电压下的电阻变化率做电阻变化率与时间关系的柱状图(图九),说明该电化学生物传感器在杂交时间60分钟后趋于稳定,所以取杂交时间60分钟作为实验最佳条件;将上述电化学生物传感器置于去离子水

环境中,调整培育温度值,依次为25、30、35、40、50、45℃,每天同一时间进行EIS测试,连续测试六天,以1 V电压下的电阻变化率做电阻变化率与温度关系的柱状图(图九),说明该电化学传感器在杂交温度为37℃的时候性能最好。

[0041] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,凡依本发明申请专利范围所做的均等变化与修饰,皆应属本发明的涵盖范围。

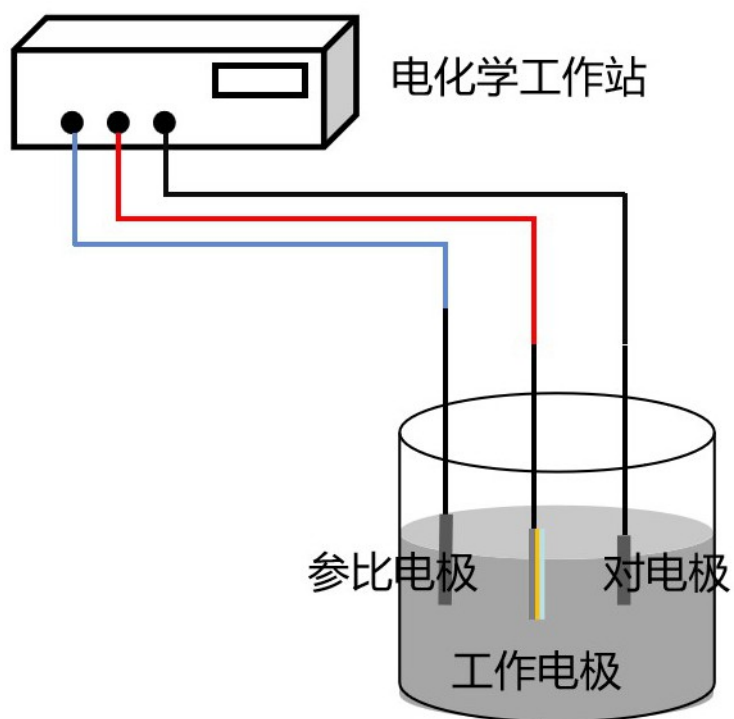


图 1

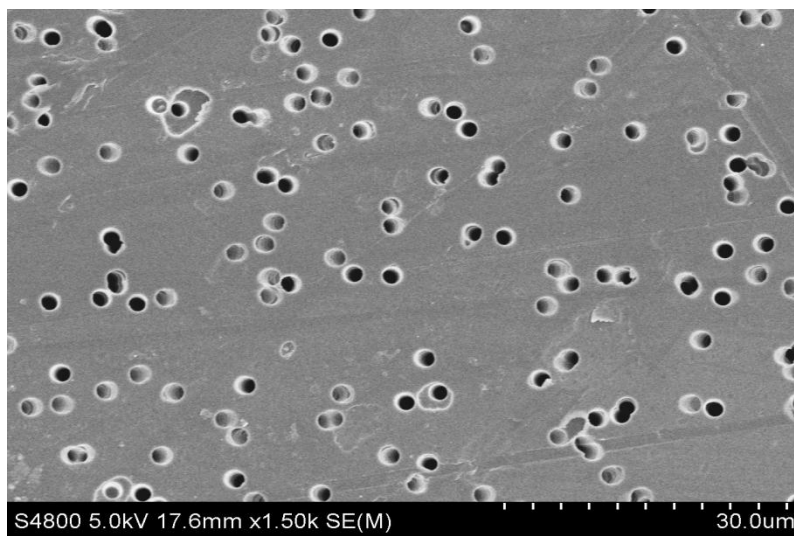


图 2

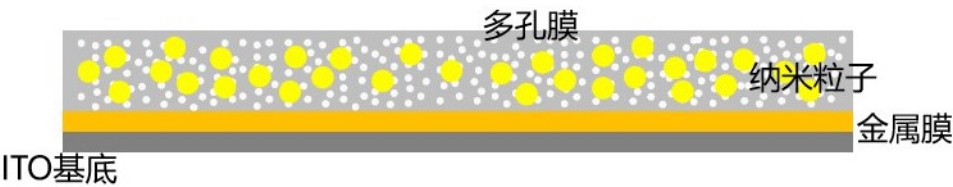


图 3

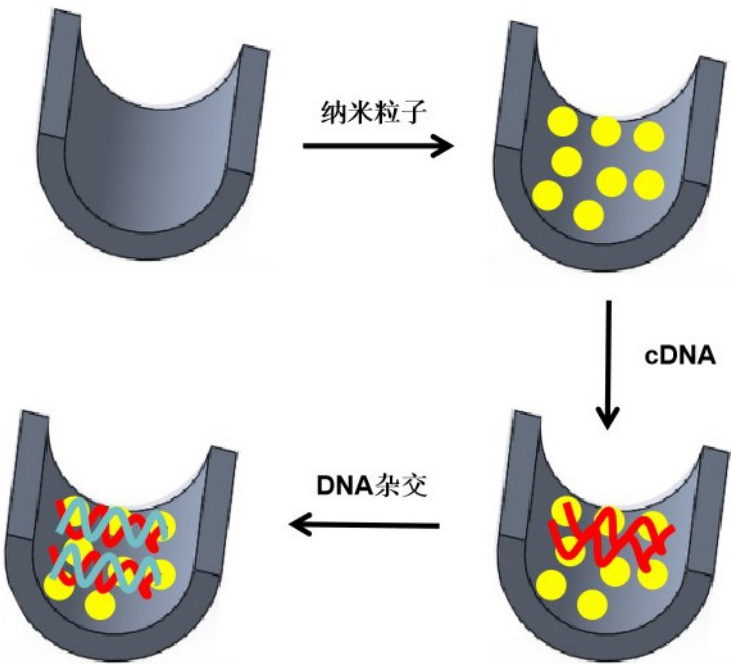


图 4

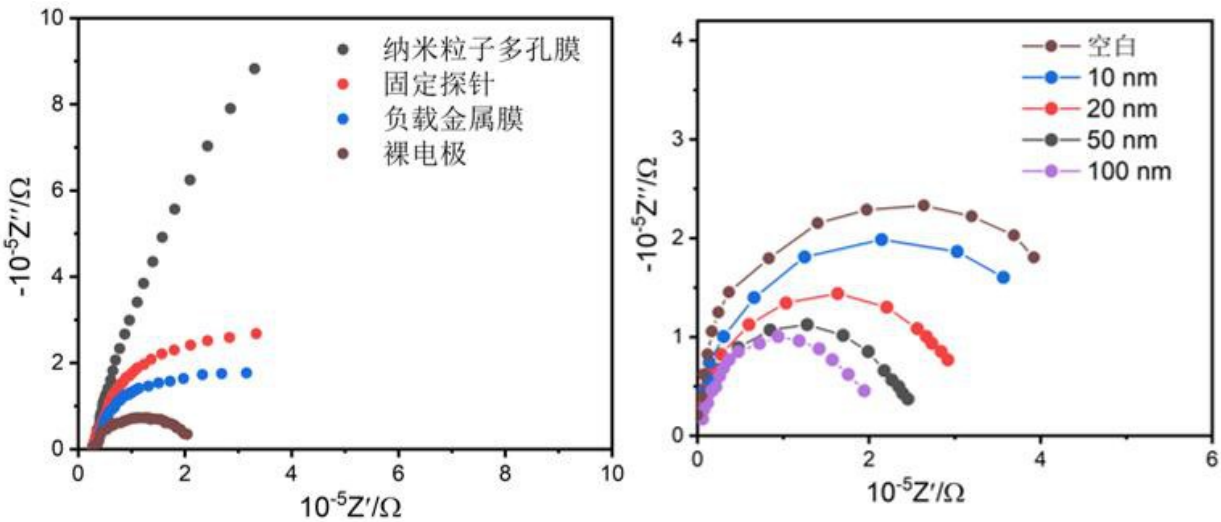


图 5

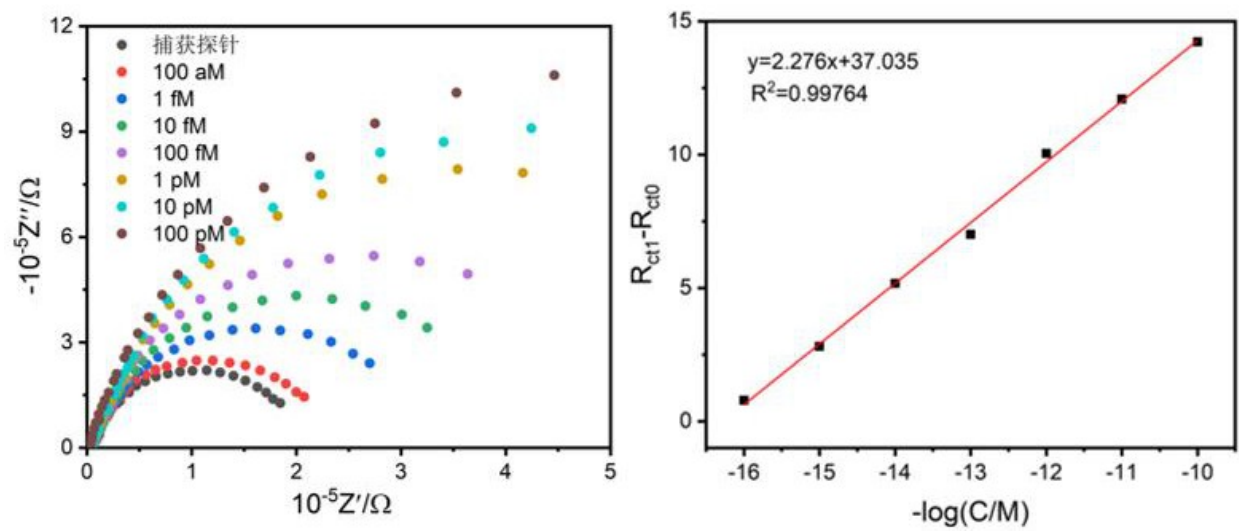


图 6

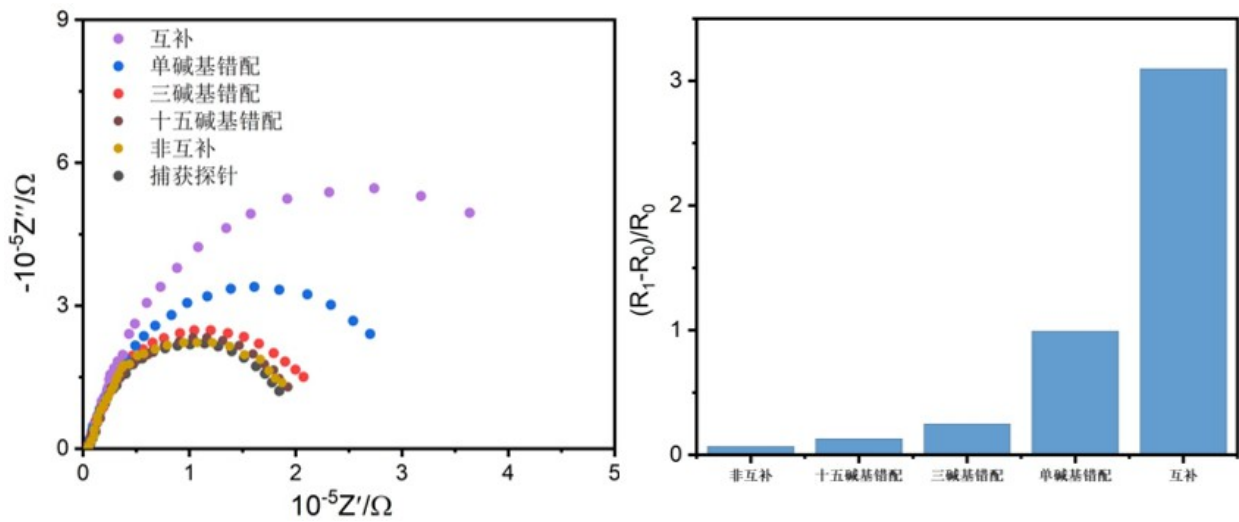


图 7

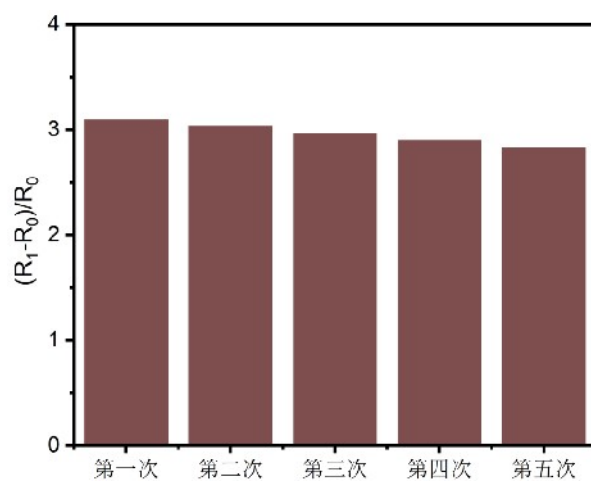


图 8

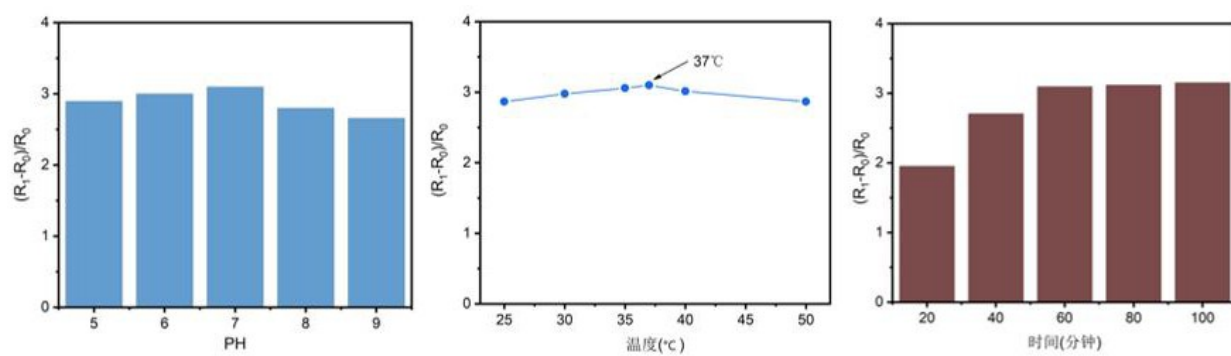


图 9