

银-磷酸钛纳米复合膜的构建及其电化学生物传感

王新莹 蔡文怡 姜立萍* 朱俊杰
(南京大学化学化工学院, 南京 210093)

摘要: 利用 ITO 基底上层组装构建的多层内嵌银纳米粒子的磷酸钛薄膜固定了血红蛋白并且用于生物传感研究。由于银纳米粒子与磷酸钛膜的协同作用, 实验中可以观察到 Hb 的直接电子传递。研究表明所制备的 Hb-Ag-TiP/PDDA/ITO 电极对 H_2O_2 响应迅速、稳定, 检测限达 $3.3 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

关键词: 层层组装; 生物传感; Ag 纳米粒子; 磷酸钛; 血红蛋白; 过氧化氢

中图分类号: O611.4; O614.41* 文献标识码: A 文章编号: 1001-4861(2008)12-1923-05

The Construction of Ag NPs-Titanium Phosphate Hybrid Ultrathin Film and its Electrochemical Biosensing

WANG Xin-Ying CAI Wen-Yi JIANG Li-Ping* ZHU Jun-Jie

(Key Lab of Analytical Chemistry for Life Science(MOE), School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210093)

Abstract: Hb was immobilized on the ITO electrode modified with Ag NPs-titanium phosphate hybrid films which were prepared with layer-by-layer technique and then the prepared electrode was used for electrochemical biosensing. The direct electron transfer of Hb could be observed due to the synergic effect of titanium phosphate and Ag NPs. The results showed that the as-prepared biosensor exhibited a fast and stable amperometric response to H_2O_2 with a detection limit of $3.3 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Key words: layer-by-layer; biosensing; Ag NPs; titanium phosphate; hemoglobin; H_2O_2

近年来, 纳米材料的兴起为生物传感器的发展提供了无穷的想象空间。这主要是由于纳米材料的量子尺寸效应、表面效应以及宏观量子隧道效应等极大地提高了传感器的性能水平^[1,2], 使其不仅体积小, 而且速度快、精度高、可靠性好, 还能实现多功能化和选择性检测。因此, 分析领域的许多科研工作者正在致力于发现具有生物相容性较好的纳米材料, 并且用于构建新型的生物传感器^[3,4]。

纳米复合材料是由两种或两种以上不同化学成分、不同性能的材料组成的。复合材料用于生物传感

器方面其效果明显优于各种纳米粒子单独使用时对生物传感器的增强作用, 其原因是复合纳米材料在保持各个组分材料的某些特点的基础上, 具有组分间协同作用所产生的综合性能, 因此更易于形成连续势场, 能降低电子在电极和固定化酶之间的迁移阻力, 提高电子迁移率, 有效加速了酶的再生过程^[5-7]。因此, 制备具有良好的导电性和生物相容性的纳米复合材料引起了人们的广泛关注。

银纳米粒子具有较好的导电性、催化性能以及吸附能力, 使它在生物传感器中能够发挥独特作

收稿日期: 2008-07-16。收修改稿日期: 2008-09-09。

国家自然科学基金资助项目(No.20635020, 20605011)。

*通讯联系人。E-mail: Jianglp@nju.edu.cn

第一作者: 王新莹, 女, 26岁, 硕士; 研究方向: 纳米电化学。

用^[89]。Van Duyne 等便是用银纳米粒子构建了可以用于病床护理和医学诊断的纳米生物传感器^[10,11]。

层层自组装技术 (Layer-by-Layer self-assembly technique, LBL) 是基于聚电解质阴阳离子所带正负电荷间相互作用的一种自组装超分子技术^[12-14]。应用该方法制备的多层膜上所负载的物质的种类与数量都将大大增加,丰富了生物传感器的功能并可以实现功能的集成^[15-18]。此外这种方法还具有以下几个优点^[19-25]:(1)在层层自组装的过程中,可以将不同种类、不同性质的各种物质按照一定顺序进行组装,这将赋予层层组装结构新的功能;(2)适用于任何形状和任何材料的电极;(3)基于层层组装所制备的膜能在分子水平上精确控制电活性物质在电极表面沉积的量,使重复性大大提高。因此,该技术在生物医用材料领域的研究中得到广泛的应用。Sun^[26,27]等人便是使用层层吸附以及反应的方法制备了磷酸钛超薄膜,并将银纳米粒子内嵌在磷酸钛多层薄膜中,制备了内嵌银纳米粒子的磷酸钛薄膜,但仅研究了其抗菌方面的性能。本文便是采用层层组装的方法在 ITO 玻璃基底上构建了 5 层内嵌银纳米粒子的磷酸钛薄膜结构,在此基础上研究了 Hb 在 Ag-磷酸钛复合薄膜修饰电极表面的电化学行为,并且构建了过氧化氢生物传感器。实验表明,由于 Ag 纳米粒子与磷酸钛膜的协同作用,可以观察到 Hb 的直接电子传递。所制备的 Hb-Ag-磷酸钛薄膜对 H₂O₂ 有明显的催化作用。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

试剂: Poly (diallyldimethylammonium chloride) (PDPA)水溶液, 血红蛋白(Hb), Sigma-Aldrich 公司; 磷酸钛(Ti(SO₄)₂), 南汇彭镇营房化工厂; 磷酸二氢钠(NaH₂PO₄·12H₂O), 磷酸氢二钠(Na₂HPO₄·2H₂O), 南京化学试剂有限公司; 硝酸银(AgNO₃), 上海申博化工有限公司; 硼氢化钠(NaBH₄), 天津市化学试剂研究所; 过氧化氢水溶液(H₂O₂ 30wt%), 国药集团化学试剂有限公司。以上试剂均为分析纯。实验中用水均为超纯水, 磷酸盐缓冲溶液(PBS)(磷酸二氢钠和磷酸氢二钠的混合溶液), 浓度为 0.1 mol·L⁻¹。

仪器: UV-3600 型紫外分光光度计 (SHIMADZU); Model pHs-2C 型酸度仪 (上海大中分析仪器厂); 原子力显微镜 (Agilent 5500); CHI600a 工作站 (上海晨华公司); 三电极体系: 铂电极作为对电极,

饱和甘汞电极作为参比电极, 修饰了 Hb 的磷酸钛-Ag-ITO 薄膜作为工作电极。电解质溶液在实验前以及实验过程中均通 N₂ 除 O₂。

1.2 磷酸钛膜的制备

将 ITO 玻璃基底依次用洗衣粉, 自来水, 二次水、乙醇、丙酮等超声洗涤后, 浸泡在 5 mol·L⁻¹ NaOH 溶液中 10 h, 再用二次水冲洗至中性。磷酸钛膜的制备方法参照了文献^[26], 过程如下: 将羟基化的 ITO 玻璃基底浸泡于 1.0 mg·mL⁻¹ 的 PDPA 溶液 20 min, 使铵阳离子修饰于 ITO 表面。再将其浸泡于 10 mmol·L⁻¹ 的 Ti(SO₄)₂ (0.1 mol·L⁻¹ H₂SO₄ 溶液) 中 5 min 后取出并浸入 pH4.0 的磷酸盐缓冲液中大约 10 s, 用超纯水冲洗后再浸入 pH4.0 的磷酸盐缓冲液 5 min。最后, 将 ITO 取出, 用水冲洗, 并用 N₂ 吹干。这样便将第一层磷酸钛组装机于 ITO 上, 将该电极再依次经过上述相同条件下的 Ti (SO₄)₂-H₂SO₄ 及磷酸盐缓冲液的浸泡过程便可将第二层甚至更多层的磷酸钛沉积在电极上, 从而制得多层磷酸钛膜, 且根据文献^[26]的分析, 薄膜中 n_{Ti}/n_P 比例约为 1/2.2。以下将多层磷酸钛薄膜修饰的 ITO 玻璃基底简称为 TiP/PDPA/ITO。

1.3 将银离子交换入膜并实时制备成银纳米粒子

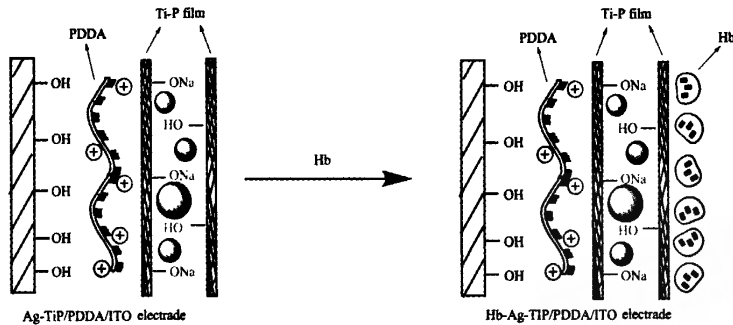
该制备过程参考了文献^[27], 过程如下: 将上述制备的磷酸钛膜浸入 10 mmol·L⁻¹ AgNO₃ 溶液, 并放置于 50℃水浴 24 h。然后将 ITO 基底取出, 并用超纯水冲洗 1 min, 再用 N₂ 吹干。将含有银离子的磷酸钛薄膜浸泡于新鲜配置的 10 mmol·L⁻¹ NaBH₄ 溶液 5 min, 然后取出用超纯水冲洗 1 min 再用 N₂ 吹干。这样就制备成了内嵌银纳米粒子的 TiP/PDPA/ITO, 以下简称为 Ag-TiP/PDPA/ITO 薄膜。

1.4 血红蛋白(Hb)在电极表面的组装及生物传感器的电化学性质研究

将制备好的 Ag-TiP/PDPA/ITO 电极浸泡于 10 mg·mL⁻¹ 的 Hb 溶液中, 在 25℃避光条件下震荡 2 h, 便可制得 Hb-Ag-TiP/PDPA/ITO 膜电极。其制备过程示意图如 Scheme 1 所示(以两层磷酸钛膜为例)。所构建的生物传感器的电化学性质实验在 CHI600a 工作站上(上海辰华公司)进行(氮气氛围)。实验采用三电极系统, 铂电极为对电极, 饱和甘汞电极为参比电极, Hb-Ag-TiP/PDPA/ITO 薄膜为工作电极。

1.5 表征

紫外吸收光谱采用 UV-3600 紫外光谱仪。原子力显微镜采用 Agilent 5500 型号。



Scheme 1 Preparation of Hb-Ag-TiP/PDDA/ITO Ultrathin Films Electrode

2 结果与讨论

2.1 内嵌银粒子的磷酸钛多层膜结构表征

2.1.1 ATR 表征磷酸钛薄膜的形成

在组装 5 层磷酸钛之后,进行衰减反射光谱 (Attenuated Total Reflection Spectra, ATR) 表征。由图 1 可以看到该片子在 920, 1 209 cm^{-1} 有较明显的红外吸收。根据相关文献提供的数据,上述两处峰的吸收归因于 P-OH 中 P-O 的对称/反对称伸缩振动^[28]。在 850 cm^{-1} 处没有发现对应于 Ti-O-Ti 伸缩振动的吸收峰^[29,30],因此可以推断出磷酸钛薄膜中 Ti 离子是被磷酸盐分隔开的。

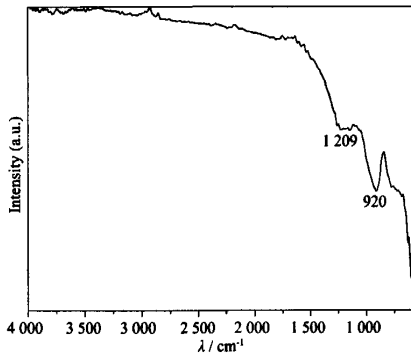


图 1 TiP-PDDA/ITO 玻璃的 ATR 图谱

Fig.1 ATR spectrum of TiP-PDDA/ITO

2.1.2 50 °C 将银离子交换入磷酸钛膜

分层的磷酸钛有较强的嵌入作用,因为层状结构中的质子可以和不同的阳离子进行交换^[31,32]。组装在 ITO 表面的磷酸钛膜同样具有这种性质。实验中制备的磷酸钛膜含有大量的羟基。同时,磷酸钛膜的多孔结构也促进了银离子与羟基质子的交换进程。图 2 是 5 层磷酸钛膜以及浸入 AgNO_3 溶液后并用 NaBH_4 还原之后的紫外吸收光谱比较。由图示可以

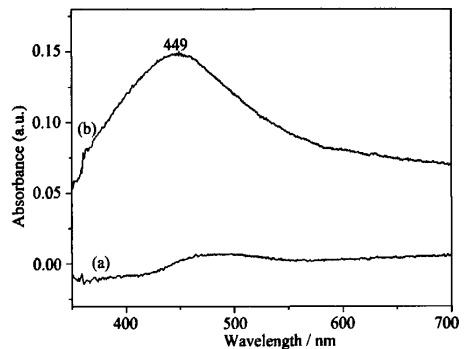


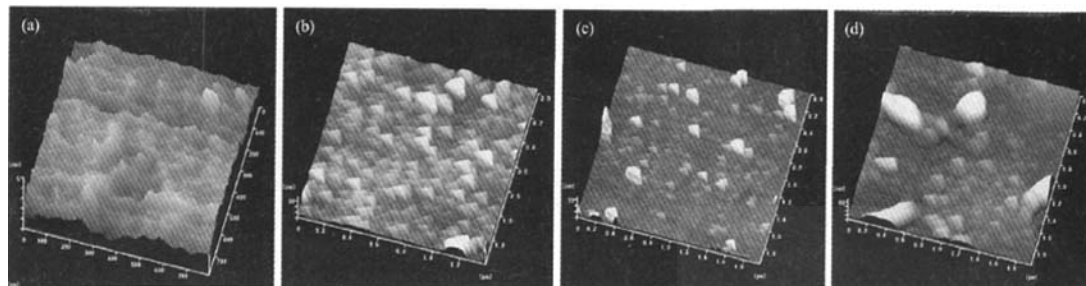
图 2 (a) TiP/PDDA/ITO 薄膜、(b) Ag-TiP/PDDA/ITO 薄膜的紫外吸收光谱

Fig.2 UV-Vis absorption spectra of a titanium phosphate film before (a) and after (b) immersion in an aqueous 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ AgNO_3 solution at 50 °C for 24 h which then reduced by NaBH_4

看出,反应过后,450 nm 处的吸收明显增强,表明银离子成功的进行了交换并被还原为银纳米粒子。

2.1.3 原子力显微镜膜表征

我们采用原子力显微镜对银-磷酸钛复合膜的形成过程以及 Hb 在复合膜上的组装过程进行了研究。如图 3 所示,a 图是表面修饰了一层 PDDA 后的 ITO 玻璃,可以看出 PDDA 组装的较为均匀。在组装了 5 层磷酸钛膜之后,图上出现了分布较为均匀的三角形亮块,这可能是磷酸钛多孔层状结构的膜所体现的表面性质。c 图为 Ag^+ 交换入磷酸钛膜,并被 NaBH_4 实时还原为 Ag 纳米粒子后的原子力显微镜图,从图中可以看出,内嵌了 Ag 胶之后的磷酸钛膜三角形亮块数目明显减少,这可能是由于生成的银纳米粒子填充了部分磷酸钛多孔结构。d 图是在 TiP-Ag 薄膜上进一步修饰 Hb 之后的原子力显微镜图,从图中的明显突起的块状分布,证明血红蛋白已经修饰在了复合薄膜表面。



(a) PDDA/ITO; (b) TiP/PDDA/ITO; (c) Ag-TiP/PDDA/ITO; (d) Hb-Ag-TiP/PDDA/ITO

图 3 原子力显微镜照片

Fig.3 AFM images

2.2 Hb-Ag-TiP/PDDA/ITO 电极的直接电化学性质

我们采用循环伏安法对固定在银-磷酸钛复合膜表面的 Hb 的电化学行为进行了研究。图 4 是 Hb-Ag-TiP/PDDA 薄膜修饰的 ITO 电极在 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS (pH 7.0 磷酸二氢钠和磷酸氢二钠的混合溶液) 缓冲液中的循环伏安曲线, 可以观察到一对稳定的氧化还原峰, 分别位于 -0.165 V 和 -0.256 V , 这是一对由固定在电极上的 Hb 的直接电化学现象产生的氧化还原峰, 其电极过程可以表示如下^[33]: $\text{HbFe(III)} + \text{H}^+ + \text{e}^- = \text{HbFe(II)}$ 。而在同样条件下, 空白 ITO 电极, ITO-PDDA 电极, ITO-PDDA-TiP-Ag 电极表面观察不到明显的氧化还原峰, 这表明 Ag-TiP 薄膜的存在能给生物分子提供生物相容性较好的微环境, 从而促进了 Hb 和电极之间的电子传递。

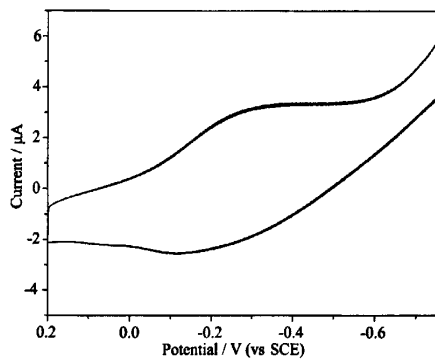
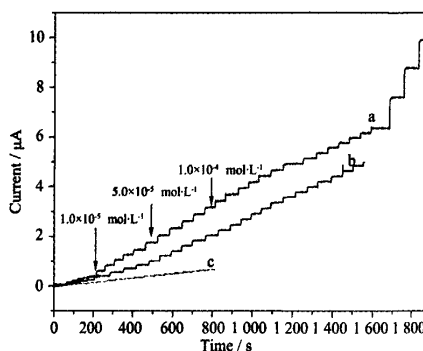


图 4 Hb-Ag-TiP/PDDA 修饰的 ITO 电极在 pH 7.0, $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 溶液中, 扫速 $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 条件下的循环伏安图

Fig.4 Cyclic voltammogram of Hb-Ag-TiP/PDDA modified ITO in $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 7.0 PBS at $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$

我们进一步研究了 Ag-TiP/PDDA/ITO 表面吸附 Hb 后制备的传感器的电流响应。图 5 是 5 层 TiP/PDDA/ITO、Ag-TiP/PDDA/ITO 与 Hb-Ag-TiP/PDDA/



(a) Hb-Ag-TiP/PDDA/ITO; (b) Ag-TiP/PDDA/ITO; (c) TiP/PDDA/ITO

图 5 不同物质修饰的 ITO 电极对 H_2O_2 电流响应比较
Fig.5 Comparison of the $I-t$ response to H_2O_2 on different ITO modification

ITO 电极对 H_2O_2 的安培响应曲线。采用 -250 mV 作为工作电位, 向不断搅拌的 pH 7.0 PBS 溶液当中连续滴加 H_2O_2 。由图 5 可以看出磷酸钛膜本身对 H_2O_2 就有一定的响应, 而在膜内嵌入 Ag 纳米粒子之后响应有所增强。酶的修饰大大增强了 Ag-磷酸钛复合膜体系对 H_2O_2 的响应电流。

因此, 我们推测, Hb-Ag-TiP/PDDA/ITO 传感器对 H_2O_2 催化作用可能是由于 Ag 纳米粒子和磷酸钛薄膜的协同作用引起的。一方面, 磷酸钛和银胶表面都具有含氧基团, 如 PO_4^{3-} , COO^- 等, 这些基团能够促进 Hb 的亚铁血红素在复合膜材料表面的定向。另一方面, Hill 研究组的研究^[34]发现一些阳离子如 Mg^{2+} 等可以促进蛋白的异相电子传递。因此 Hb 在 Ag-TiP/PDDA/ITO 复合膜材料上的直接电化学现象可能是银纳米粒子与磷酸钛协同作用的结果。

图 5a 是 Hb-Ag-TiP/PDDA/ITO 传感器在 -250 mV 工作电位下连续加入过氧化氢的动力学响应。该曲线表明传感器对过氧化氢响应灵敏, 电流响应快速,

5 s 内达到稳定响应。当连续加入 H_2O_2 后,随着 H_2O_2 浓度的增大,催化电流逐渐增大。图 6 是在最佳实验条件下测得的线性关系图, H_2O_2 浓度的线性范围为 $1.0 \times 10^{-5} \sim 2.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 检测限为 $3.3 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

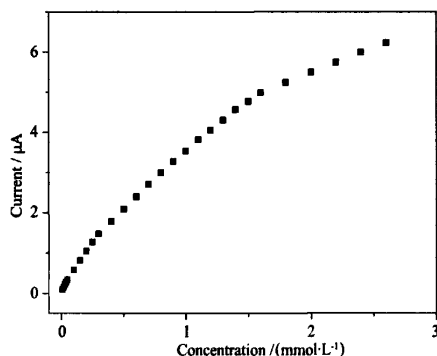


图 6 Hb-Ag-TiP/PDDA/ITO 电极对 H_2O_2 的安培线性响应范围

Fig.6 Calibration curves of Hb-Ag-TiP/PDDA/ITO electrode

3 结 论

本文利用 ITO 基底上构建的内嵌银纳米粒子的磷酸钛薄膜固定了血红蛋白,成功的制备了 Hb-Ag-TiP/PDDA/ITO 生物传感器,研究表明 Ag-磷酸钛薄膜的存在能促进 Hb 和电极之间的直接电子传递。实验结果表明该传感器对过氧化氢响应迅速,线性范围为 $1.0 \times 10^{-5} \sim 2.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 检测限为 $3.3 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,稳定性和重复性好。

参考文献:

- [1] Valentini F, Palleschi G. *Anal. Lett.*, **2008**,**41**(4):479~520
- [2] Shi J J, Zhu Y F, Zhang X R, et al. *Trend Anal. Chem.*, **2004**,**23**(5):351~360
- [3] Okuno J, Maehashi K, Kerman K, et al. *Biosens. Bioelectron.*, **2007**,**22**(9~10):2377~2381
- [4] Guo X S, Fang X S, Yang X L, et al. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, **2005**,**2**(1):1260~1263
- [5] Ji T H, Lirtsman V G, Avny Y, et al. *Adv. Mater.*, **2001**,**13**(16):1253~1256
- [6] Sun X M, Li Y D. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**,**43**(5):597~601
- [7] Tang F Q, Meng X W, Ran J G, et al. *Science in China (B series)*, **2000**,**43**(3):268~274
- [8] Jensen T R, Malinsky D, Haynes C L, et al. *J. Phys. Chem. B*, **2000**,**104**(45):10549~10556
- [9] Malinsky M D, Kelly K L, Schatz G C, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**,**123**(7):1471~1482
- [10] Haes A J, Van Duyne R P. *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **2002**, **723**,03.1.1~03.1.6.
- [11] Haes A J, Van Duyne R P. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**,**124**(35):10596~10604
- [12] Zamborini F P, Hicks J F, Murray R W. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**,**122**(18):4514~4515
- [13] Sarathy K V, Thomas P J, Kulkarni G U, et al. *J. Phys. Chem. B*, **1999**,**103**(3):399~401
- [14] Musick M D, Keating C D, Keefe M H, et al. *Chem. Mater.*, **1997**,**9**(7):1499~1501
- [15] Mamedov A A, Belov A, Giersig M, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**,**123**(31):7738~7739
- [16] Lvov Y, Munge B, Giraldo O, et al. *Langmuir*, **2000**,**16**(23):8850~8857
- [17] Liu Y, Wang A B, Claus R O. *Appl. Phys. Lett.*, **1997**,**71**(16):2265~2267
- [18] Ostrander J W, Mamedov A A, Kotov N A. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**,**123**(6):1101~1110
- [19] Chung A J, Rubner M F. *Langmuir*, **2002**,**18**(4):1176~1183
- [20] Qiu X, Leporatti S, Mohwald H. *Langmuir*, **2001**,**17**(17):5375~5380
- [21] Pei R J, Cui X, Yang X R, et al. *Biomacromolecules*, **2001**, **2**(2):463~468
- [22] Lvov Y M, Sukhrukov G B. *Membr. Cell Biol.*, **1997**,**11**(3):277~279
- [23] Chluba J, Voegel J C, Decher G, et al. *Biomacromolecules*, **2001**,**2**(3):800~805
- [24] Vazquez E, Dewitt D M, Hammond P T, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**,**124**(47):13992~13993
- [25] Lvov Y, Lu Z, Schenkman J B, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**,**120**(17):4073~4080
- [26] Wang Q F, Zhong L, Sun J Q, et al. *Chem. Mater.*, **2005**,**17**(13):3563~3569
- [27] Wang Q F, Yu H J, Zhong L, et al. *Chem. Mater.*, **2006**,**18**(7):1988~1994
- [28] Stanghellini P L, Boccaleri E, Diana E, et al. *Inorg. Chem.*, **2004**,**43**(18):5698~5703
- [29] Yu J C, Zhang L Z, Zheng Z, et al. *Chem. Mater.*, **2003**,**15**(11):2280~2286
- [30] Sigaev V N, Pernice P, Aronne A, et al. *J. Non-Cryst. Solids*, **1990**,**126**(3):202~208
- [31] Clearfield A. *Chem. Rev.*, **1988**,**88**(1):125~148
- [32] Gao G, Rabenberg L K, Nunn C M, et al. *Chem. Mater.*, **1991**, **3**(1):149~156
- [33] Murray R W, Dekker M. *Electroanalytical Chemistry*, vol. 13, Bard A J. Ed, New York: Marcel Dekker INC., **1984**.191~202
- [34] Armstrong F A, Hill H A O, Oliver B B, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**,**106**(4):921~923

银-磷酸钛纳米复合膜的构建及其电化学生物传感

作者: [王新莹](#), [蔡文怡](#), [姜立萍](#), [朱俊杰](#), [WANG Xin-Ying](#), [CAI Wen-Yi](#), [JIANG Li-Ping](#),
[ZHU Jun-Jie](#)
作者单位: [南京大学化学化工学院, 南京, 210093](#)
刊名: [无机化学学报](#) **ISTIC** **SCI** **PKU**
英文刊名: [CHINESE JOURNAL OF INORGANIC CHEMISTRY](#)
年, 卷(期): 2008, 24(12)
被引用次数: 0次

参考文献(34条)

1. [Valentini F. Palleschi G](#) [查看详情](#) 2008(04)
2. [Shi J J. Zhu Y F. Zhang X R](#) [查看详情](#) 2004(05)
3. [Okuno J. Maehashi K. Kerman K](#) [查看详情](#) 2007(9-10)
4. [Guo X S. Fang X S. Yang X L](#) [查看详情](#) 2005(01)
5. [Ji T H. Lirtsman V G. Avny Y](#) [查看详情](#) 2001(16)
6. [Sun X M. Li Y D](#) [查看详情](#) 2004(05)
7. [Tang F Q. Meng X W. Ran J G](#) [查看详情](#) 2000(03)
8. [Jensen T R. Malinsky D. Haynes C L](#) [查看详情](#) 2000(45)
9. [Malinsky M D. Kelly K L. Schatz G C](#) [查看详情](#) 2001(07)
10. [Haes A J. Van Duyne R P](#) [查看详情](#) 2002
11. [Haes A J. Van Duyne R P](#) [查看详情](#) 2002(35)
12. [Zamborini F P. Hicks J F. Murray R W](#) [查看详情](#) 2000(18)
13. [Sarathy K V. Thomas P J. Kulkarni G U](#) [查看详情](#) 1999(03)
14. [Musiek M D. Keating C D. Keefe M H](#) [查看详情](#) 1997(07)
15. [Mamedov A A. Belov A. Giersig M](#) [查看详情](#) 2001(31)
16. [Lvov Y. Munge B. Giraldo O](#) [查看详情](#) 2000(23)
17. [Liu Y. Wang A B. Claus R O](#) [查看详情](#) 1997(16)
18. [Ostrander J W. Mamedov A A. Kotov N A](#) [查看详情](#) 2001(06)
19. [Chung A J. Rubner M F](#) [查看详情](#) 2002(04)
20. [Qiu X. Leporatti S. Mohwald H](#) [查看详情](#) 2001(17)
21. [Pei R J. Cui X. Yang X R](#) [查看详情](#) 2001(02)
22. [Lvov Y M. Sukhrukov G B](#) [查看详情](#) 1997(03)
23. [Chluba J. Voegel J C. Decher G](#) [查看详情](#) 2001(03)
24. [Vazquez E. Dewitt D M. Hammond P T](#) [查看详情](#) 2002(47)
25. [Lvov Y. Lu Z. Schenkman J B](#) [查看详情](#) 1998(17)
26. [Wang Q F. Zhong L. Sun J Q](#) [查看详情](#) 2005(13)
27. [Wang Q F. Yu H J. Zhong L](#) [查看详情](#) 2006(07)
28. [Stanghellini P L. Bocealeri E. Diana E](#) [查看详情](#) 2004(18)
29. [Yu J C. Zhang L Z. Zheng Z](#) [查看详情](#) 2003(11)
30. [Sigaev V N. Pernice P. Aronne A](#) [查看详情](#) 1990(03)

31. [Clearfield A 查看详情](#) 1988 (01)
32. [Gao G, Rabenberg L K, Nunn C M 查看详情](#) 1991 (01)
33. [Murray R W, Dekker M, Bard A J Electroanalytical Chemistry](#) 1984
34. [Armstrong F A, Hill H A O, Oliver B B 查看详情](#) 1984 (04)

相似文献(10条)

1. 学位论文 咸洋 新型纳米生物传感界面的设计与应用研究 2007

生物传感器是一个非常活跃的研究和工程技术领域,它与生物信息学、生物芯片、生物控制论、仿生学、生物计算机等学科一起,处在生命科学和信息科学的交叉区域。它的研究起源于20世纪的60年代,1967年Updike和Hicks把葡萄糖氧化酶(GOD)固定化膜和氧电极组装在一起,制成了第一只生物传感器,即葡萄糖酶电极。到80年代生物传感器研究领域已基本形成,其标志性事件是1985年“生物传感器”国际刊物在英国创刊;1990年首届世界生物传感器学术大会在新加坡召开,并且确定以后每隔两年召开一次。

生物分子的固定是生物传感器探讨的一个非常重要的研究方向,已经越来越受到科学工作者的关注,例如可控地固定蛋白质对于探索蛋白质分子的结构和功能、研究蛋白质电子传递机理、酶催化以及第三代生物传感器的研制和疾病诊断的研究都具有重要的意义。层层组装成膜技术,由于其制备方法简单,且每一层的组成、厚度、取向可以巧妙地控制和操作,为生物功能纳米材料的开发提供了新的技术支持,为下一代分子器件的开发与研究提供了新的思路。

本论文的工作主要集中在新型纳米生物传感器界面的设计与应用研究。论文重点研究了基于单层、多层自组装技术进行生物传感器界面的设计,构筑了多种新型的具有纳米结构的生物传感器,并将其应用于生物分子的分析检测,为生命科学及其相关领域的研究提供许多重要的分析方法。论文工作致力于纳米材料组装技术,生命科学和电分析化学三者的结合。具体内容如下:

第一章绪论

层层自组方法(Layer-by-layer assembly, LbL assembly)是一种重要的有机超薄膜制备技术,鉴于此,通过LbL方法交替组装构筑具有特殊功能和结构的介孔材料、蛋白质组装膜具有重要的研究意义。本部分从自组装多层膜制备、表征方法以及层层组装膜法在固载生物分子和在生物分析中的应用方面进行了综述。

第二章血红蛋白在介孔材料SBA-15修饰电极上的固载直接电化学生行为及其应用研究介孔材料SBA-15系列是一种基于SiO₂的新型材料,它具有规则的孔道结构,大的比表面积,可调的孔道尺寸和体积,优良的机械强度。介孔SBA-15这样的结构特性有望用于酶的固定。我们通过静电吸附将Hb组装在SBA-15孔道中, SBA-15能够为Hb提供一个“近水”的微环境,阻止了Hb与电极表面的直接接触,具有良好的生物兼容性。

实验着重研究了Hb固载在SBA-15或Au-SBA-15修饰电极上的电化学生活性和对H₂O₂的催化效果。结果表明,由于材料Au-SBA-15中纳米Au粒子的存在,使其对H₂O₂的催化效果更佳。故选择Hb/Au-SBA-15修饰电极制成葡萄糖生物传感器,该生物传感器在5.0×10⁻⁴~1.0×10⁻¹mol/L浓度范围内,葡萄糖的浓度与其响应电流呈良好的线性关系,检测下限为1.0×10⁻⁵mol/L(S/N=3)。第三章层层组装介孔材料SBA-15修饰电极在抗坏血酸共存下选择性测定神经递质多巴胺(DA)是存在于神经系统中的一种重要的神经递质,与许多疾病的产生有密切的关系。因此,DA的准确测定具有重要的意义。本实验中,我们采用层层组装技术制备层层组装介孔材料SBA-15修饰电极。实验结果表明:通过利用SBA-15的离子筛功能,PDAA(PAA/SBA-15)层层自组膜可以消除抗坏血酸对多巴胺测定中的干扰。多巴胺在SBA-15多层自组膜上有一对可逆性良好的氧化还原峰,其氧化峰电流与多巴胺的浓度在1.0×10⁻⁹~1.0×10⁻⁴mol/L的范围内呈线性关系,检出限为5.0×10⁻¹⁰mol/L。

第四章层层组装(PB/PDAA)固定化酶传感器检测乙酰胆碱的研究乙酰胆碱这类神经递质是从神经细胞中释放出来的化学物质,它们能将信息传递给其他神经细胞。神经细胞之间的这种信息通信,不仅对于大脑,对于整个身体的健康都是十分重要的。

本实验采用了高分子模板法将PB纳米粒子组装到聚电解质膜中,并将乙酰胆碱酯酶(AChE)和胆碱氧化酶(ChOx)共同固定于的聚电解质表面,制备了乙酰胆碱传感器(AChE—ChO/PDAA/PB)n。通过分析酶反应过程中所产生的H₂O₂的响应电流来测定乙酰胆碱的量。实验中研究了膜厚度、pH值、温度和工作电位的变化对酶电极响应的影响。实验结果表明,该传感器具备响应时间短,线性范围宽,干扰小等优点特性,在一定的浓度范围内,乙酰胆碱的浓度与其响应电流呈良好的线性关系,检测下限为5.0×10⁻⁹mol/L(S/N=3)。

2. 学位论文 冯九菊 介孔与纳米杂化材料生物膜的构建及其生物传感 2006

氧化还原蛋白质与电极之间的直接电子传递具有重要的理论意义和实用价值。通常,蛋白质与固体电极表面的直接接触不利于蛋白质定向,无法实现蛋白质的电活性中心和电极之间的直接电子传递,易于丧失其生物活性和生物功能。为了克服上述不足,需要对电极表面或蛋白质本身进行修饰。在电极表面形成的介孔材料薄膜提供了一个类天然生物微环境来保持固定化的蛋白质的生物活性,为蛋白质在电极表面的自由取向提供了更多的空间。同时,介孔材料的孔道结构促进了蛋白质的电活性中心和电极之间的直接电子传递。本论文以血红蛋白为生物模型分子,就介孔材料薄膜的构建、表征及被固定的血红蛋白的吸附、电子传递和生物传感应用开展了以下研究工作。

1. 二氧化锡介孔薄膜的构建及血红蛋白的直接电子传递和电催化

本文以葡聚糖硫酸盐(DS)为连接剂,将介孔二氧化锡(Meso-SnO₂)纳米粒子层层组装到对氨基苯甲酸修饰的玻碳电极表面,形成了均匀稳定的Meso-SnO₂薄膜,并将其用来吸附血红蛋白(Hb)。我们采用同样的方法构建了非介孔二氧化锡(Nonmeso-SnO₂)纳米薄膜作为对照。利用UV-vis吸收光谱、原子力显微镜及其电化学方法等手段对两种膜进行了表征。电化学交流阻抗结果表明Meso-SnO₂/DS膜的阻抗值随组装层数的增加而线性增加;但比相同条件下Nonmeso-SnO₂/DS膜的阻抗值小得多。UV-vis吸收光谱结果表明,被固定的蛋白质在两种膜上均能保持其生物活性,由于Meso-SnO₂的比表面积较大,Meso-SnO₂/DS薄膜与Nonmeso-SnO₂/DS膜相比,能够明显地提高蛋白质的固载量。循环伏安结果表明,被固定的蛋白质在Meso-SnO₂/DS多层膜修饰电极上呈现出良好的电化学生行为,并对氧气、过氧化氢等底物表现出优良的电催化能力。蛋白质在(Meso-SnO₂/DS)6膜上电子传递效率,与其在(Nonmeso-SnO₂/DS)6膜上相比提高了3倍。

2. 介孔二氧化锡-血红蛋白生物膜的构建及其直接电子传递和电催化

采用硫酸软骨素(CS)作为分散剂,介孔二氧化锡(Meso-SnO₂)能够有效地分散在CS水溶液中(CS: Meso-SnO₂)。然后,利用层层组装技术,将基质材料交替放入该分散液和血红蛋白(Hb)溶液中构建了(CS: Meso-SnO₂/Hb)_n多层膜,并采用多种技术对其进行表征。结果表明,制备的(CS: Meso-SnO₂/Hb)_n膜均匀、稳定。当组装层数增加到6时被固定的Hb显示出良好的电化学生行为,并对氧气、过氧化氢、三氯乙酸和亚硝酸根均显示出较高的电催化行为。介孔材料的使用使膜中蛋白质的固载量大大提高,并有效地避免了蛋白质渗漏,介孔微环境使蛋白质的生物活性在较高温度下得以保持(例如,能够在76℃高温下浸泡150min而不失活),从而使制备的生物传感器具有较好的性能。

3. 介孔磷酸锡-血红蛋白生物膜的构建及其电催化

首先在玻碳电极表面电沉积一层壳聚糖超薄膜作为连接剂,然后利用层层组装技术将介孔磷酸锡(Meso-SnP)和血红蛋白(Hb)交替组装到电极表面,从而制备了均匀、稳定的(Hb/Meso-SnP)_n膜。UV-vis吸收光谱实验证实被固定的Hb能够保持其生物活性,相对吸光度随组装层数的增加而线性增加。利用电化学交流阻抗和循环伏安法来研究被固定的Hb的电化学生行为。在pH 7.0 PBS中,以100 mV s⁻¹扫描时在电位窗内出现一对明显的氧化还原峰(-370 mV, -274 mV)。实验还证明该修饰电极对过氧化氢和氧气的还原显示出良好的催化能力并具有较高的热稳定性(可达80℃);电子传递效率是同样条件下Hb吸附在非介孔SnP

4. 介孔碳-血红蛋白生物膜的构建及其直接电子传递和电催化

利用层层组装技术将介孔碳(CMK-3)和血红蛋白(Hb)交替组装到预先通过电沉积而形成了一层壳聚糖超薄膜的玻碳电极表面,制备了均匀、稳定的(Hb/CMK-3)_n膜。利用扫描电子显微镜、UV-vis吸收光谱、电化学交流阻抗及循环伏安法等技术来表征该膜的构建过程。结果表明制备的(Hb/CMK-3)_n膜能够保持蛋白质的生物活性。CMK-3还能有效地提高蛋白质的固载量,促进了蛋白质和电极之间的直接电子传递,这是由于CMK-3具有优良的导电性。

5. 吸附在电沉积三氧化钨介孔膜的血红蛋白的直接电子传递和电催化

血红蛋白(Hb)成功地固定在通过一步电沉积法而形成的介孔三氧化钨(Meso-WO₃)薄膜上。UV-vis吸收光谱结果表明, Hb在Meso-WO₃膜上能够保持其生物活性。电化学交流阻抗谱和循环伏安法用于表征蛋白质的吸附过程其在电极表面的电化学反应。在pH 6.0缓冲溶液中, 扫描100 mV s⁻¹时吸附的Hb在电位窗内可观察到一对稳定且对称性较好的氧化还原峰(-174 mV, -284 mV), 并对氧气、亚硝酸根、过氧化氢及三氯乙酸都表现出较强的电催化能力。Meso-WO₃膜有效地促进了蛋白质和电极之间的直接电子传递, 提高了被固定蛋白质的热稳定性(可达73℃), 并且Meso-WO₃能够有效避免蛋白质在电极表面的渗漏从而使制备的电极具有较好的性能。

6. 磷酸锆和金纳米粒子的协同效应促进血红蛋白的直接电子传递

基于磷酸锆(α -ZrP)和金纳米粒子的协同效应, 血红蛋白(Hb)能够在ZrP-金纳米杂化材料(ZrP-Au)修饰的玻碳电极上实现直接电子传递。利用UV-vis吸收光谱及电化学方法研究了Hb和ZrP-Au之间的相互作用。在pH6.0的缓冲溶液中Hb在循环伏安图上呈现一对稳定且对称性较好的氧化还原峰(0.035 V, -0.134V), 并且对H2O2还原显示出很强的电催化能力, 可用于H2O2测定。其线性范围为15 μ M-0.48 mM, 检测限为7.4 μ M, 米氏常数为0.65 mM。

3. 学位论文 常竹 基于纳米材料和环糊精的新型DNA电化学生物传感器的研究 2008

随着基因的结构与功能的研究不断深入, 特别是人类基因组计划(HGP)的发展, 基因的分离及分析检测在卫生防疫、医学诊断、药物研究、环境科学及生物工程等领域发挥着越来越重要的作用。许多新的生物技术的开发, 为发展高灵敏度、高特异性的生物分析检测方法注入了活力, 其中利用DNA分子间的特异性互补配对规律发展起来的各种DNA生物传感技术, 引起了国内外生物分析工作者的广泛关注。电化学DNA检测方法以其灵敏度高、轻巧便宜、携带方便、耗能少、能与现代微电子技术联用, 易于实现微型化等优点, 受到了研究者的广泛关注, 俨然成为当今生物学、医学领域的前沿性课题。

纳米技术的出现为纳米材料在分析化学领域的发展和开新的思路。纳米颗粒的比表面积大、表面反应活性高、催化效率高、吸附能力强等优异性质, 在催化、光吸收、生物医药、介质及新材料等方面得到了广泛的应用, 为生物医学研究提供了新的研究途径, 同时也推动了化学和生物传感器的迅速发展。纳米粒子的独特性质与生物分子杂交反应和电化学检测方法相结合, 使其应用范围更加广阔(例如: 纳米生物电子)。纳米粒子生物分子连接可能用于DNA疾病的诊断, 并且对生物分析化学产生巨大的影响。

超分子化学是基于分子间的非共价键相互作用而形成的分子聚集体化学, 在与材料科学、生命科学、信息科学、纳米科学与交叉学科的交叉融合中, 超分子化学已发展成为超分子科学。并成为创造新物质、实现新功能的一种新的重要途径, 被认为是21世纪新概念和高技术的重要源头之一。环糊精作为超分子化学的重要主体化合物以其独特的性质而倍受关注。对它的研究也逐渐从主客体识别形成包合物的机理转移到其在分析化学、医药、环境保护和传感器等领域的应用研究中。

本论文的主要创新之处就是将纳米技术、层层组装技术、超分子包合作用等与电化学分析技术相结合用于核酸分子杂交或凝血酶蛋白的分析检测, 研制出高灵敏度高选择性的新型电化学生物传感器, 成功地应用于对特定序列DNA片断的选择性测定和对DNA链中的碱基尤其是单个碱基突变的快速、灵敏和准确的识别, 为基因的快速分析测定提供了一种简便、快捷、廉价的检测装置。第一章绪论首先系统介绍了DNA生物传感器及其研究进展。介绍了DNA生物传感器的原理(包括DNA探针及其分子识别原理和DNA在固体基质表面的固定化)和分类(包括电化学DNA生物传感器, 压电DNA生物传感器及光学DNA生物传感器)1, 其中着重介绍了电化学DNA生物传感器的原理和研究进展, 叙述了DNA电化学生物传感器在基因检测等方面的应用, 对今后的发展方向和趋势进行了展望。接着介绍了纳米材料在生物传感器中的一系列应用。最后阐述了本论文的目的和意义, 指出论文的创新之处及主要内容。

第二章基于纳米颗粒SiO₂包裹Ru(bpy)₃²⁺标记的DNA电致发光生物传感器研究首次以SiO₂包裹Ru(bpy)₃²⁺标记DNA分子, 制备成高效的电致发光探针, 实现对目标DNA的高灵敏度特异性识别。我们合成了SiO₂包裹Ru(bpy)₃²⁺核壳式纳米颗粒, 以此作为新型的ECL标记物。利用一个纳米颗粒中可包裹多个Ru(bpy)₃²⁺分子来达到放大ECL信号的目的, 为分析检测更高的灵敏度。根据DNA的碱基互补配对原则、核酸适配体对蛋白质的特异性识别能力, 采用Ru(bpy)₃²⁺-SiO₂纳米颗粒作为标记物设计ECL生物传感器, 希望能将ECL方法、纳米颗粒带来的高灵敏度与生物识别的高特异性进行有机的结合, 实现对DNA序列以及蛋白质进行高灵敏、高特异性的研究分析。

第三章基于钯纳米粒子/碳纳米管增强的DNA电化学生物传感器研究首次将钯纳米颗粒与羧基化碳纳米管结合用于DNA生物传感器的研究, 借助钯的良好催化活性和碳纳米管的较大的比表面积、极端的导电性等实现超灵敏的DNA检测。合成了直径为3~4nm的钯(Pd)纳米粒子, 将其与末端羧基化的多壁碳纳米管(COOH-MWCNT)结合, 制得灵敏度增强的电化学生物传感器。首先将一定量的NaFion、COOH-MWCNT及Pd纳米粒子的混合液涂布在玻碳电极(GCE)表面, 制得MWCNT/Pd修饰电极, 对该电极进行了电化学特性的研究。然后通过5'端氨基修饰的寡核苷酸(5'-NH₂-DNA)与碳纳米管末端的羧基(-COOH)之间形成酰胺键而将ssDNA固定在MWCNT/Pd修饰电极上。与目标DNA杂交后, 以亚甲基蓝(MB)为电化学杂指示剂, 实现对互补序列、非互补序列的识别和电化学测定。在亚甲基蓝的电化学反应中, 由于碳纳米管具有很好的电子传递能力同时Pd纳米粒子具有很好的催化活性, 可以使电化学生物传感器的灵敏度大大提高。对目标DNA的检测下限可以达到1.2 × 10⁻¹³ M。第四章基于层层组装技术实现DNA放大检测的电化学生物传感器研究将层层组装技术用于金纳米颗粒标记的DNA生物传感器的研究中, 通过电极表面的多次电荷翻转达到富集大量的目标DNA分子的目的, 以此获得放大的DNA杂交信息。本文介绍了聚二烯丙基二甲基胺盐酸盐(PDDA)分子与DNA经过层层组装(layer-by-layer, LBE)的方法, 以DNA探针分子上标记的金纳米颗粒为电化学检测手段, 实现对目标DNA杂交信号的放大。运用交流阻抗技术(EIS)和紫外吸收光谱法(UV-Vis)对LBL的过程进行研究, 实验结果表明多层膜都能够均匀规则地组装在聚吡咯(PPy)修饰的电极表面, 并通过层层组装将杂交信号放大。在优化条件下, 组装层为6层时, 其检测限达到3.20 × 10⁻¹⁴ M, 该方法具有高灵敏度和特异性。通过采用干扰序列消除非特异性吸附, 这种传感器表现出良好的稳定性和重现性。

第五章基于 β -环糊精主客体识别作用的DNA电化学生物传感器研究首次将主客体识别作用应用于DNA生物传感器的研究中, 以 β -环糊精对客体分子间甲基苯甲胺(mTA)的高效识别性成功地实现了对DNA分子的检测。将 β -环糊精采用电化学方法聚合在氯乙酰胺修饰的玻碳电极表面, 以mTA作为客体分子标记于5'端氨基修饰寡核苷酸片段上, 通过电化学交流阻抗对 β -环糊精修饰电极捕获mTA标记的DNA进行了表征。其结果显示该电极对mTA标记的DNA探针分子具有很强的包合作用, 能够通过主客体的识别将ssDNA和dsDNA捕获到电极表面。分别采用金纳米颗粒标记探针和以亚甲基蓝为杂指示剂对目标DNA检测, 均能通过主客体识别的方法获得良好的检测限。研究表明, β -环糊精修饰电极具有优良的再生性, 可重复多次用于DNA的杂交检测。第六章基于金纳米颗粒聚集富集亚甲基蓝的DNA与蛋白质的电化学生物传感器的研究首次采用金纳米颗粒标记特定序列的寡核苷酸片段, 设计了可用于DNA检测又能实现对特殊蛋白质放大检测的研究方法。采用特殊设计的两段寡核苷酸片段, 其一端均以金纳米颗粒标记, 另一端均含有一段可以与凝血酶蛋白产生特异性结合的核酸适配体(适体)片段。当与目标分子(DNA或凝血酶蛋白)产生特异性结合作用时, 该探针能与目标分子形成含有多个金纳米颗粒聚集, 将金纳米颗粒聚集体自组装在硫代三聚氰酸修饰的金电极表面, 通过探针上的鸟嘌呤富集MB分子, 实现对目标物的检测。探针上识别凝血酶的寡核苷酸片段含有多个鸟嘌呤碱基, 它能与MB有很强的结合作用, 因此富含鸟嘌呤的探针能够富集大量的MB分子在纳米颗粒聚集体上, 同时, 由于金纳米颗粒聚集体能加速MB氧化还原反应过程的电子传递, 使得MB的氧化还原反应更容易进行, 因此, 对目标物的检测具有非常高的灵敏度。

4. 学位论文 郭懷麗 碳纳米管基化学生物传感研究及细胞传感界面的构建 2006

碳纳米管自1991年被发现以来, 由于其独特的纳米-维管状结构、优良的力学、电学及电学等性质, 在物理、化学和材料科学等诸多领域具有非常广阔的应用前景。另外, 细胞体外分析对细胞生理行为的研究及药物的体外筛选都具有重要意义, 细胞相容性界面的构建对促进细胞传感器的研制、组织工程的发展和组织工程材料的临床应用都起着十分关键的作用。本论文在碳纳米管基化学生物传感和细胞传感界面构建两个方面开展了一系列研究, 取得了一些很有价值的成果。本论文的主要研究工作如下:

1. 基于DNA碱基上的氨基和羧基化碳纳米管表面的羧基之间的共价结合作用, 将小牛胸腺DNA固定于多壁碳纳米管表面。用循环伏安和电化学阻抗技术表征了DNA的固定过程。固定化双链DNA能够与小分子溴化乙锭发生相互作用, 表明在碳纳米管表面固定化的DNA仍保留其生物活性。
2. 基于静电相互作用, 以阳离子聚电解质为中介, 将小牛胸腺DNA静电组装在羧基化多壁碳纳米管表面。用压电石英晶体阻抗技术实时监测了DNA在碳纳米管表面的静电组装过程, 并用电化学阻抗技术对DNA分子的层层组装进行了研究。探讨了固定化DNA与药物小分子盐酸氯丙嗪之间的相互作用, 计算了结合常数和结合位点数。
3. 基于层层组装技术, 将胆固醇氧化酶组装在羧基化多壁碳纳米管修饰金电极表面, 制备了胆固醇安培型生物传感器。结果表明, 用碳纳米管对电极表面进行修饰显著地增大了过氧化氢在电极上的安培响应; 在酶电极外层电聚合聚苯胺二胺不导电膜有利于提高酶电极的抗干扰能力。此外, 研究了被测溶液pH值对胆固醇安培响应的的影响, 在最优条件下得到了测定胆固醇的校正曲线, 并计算了表观米氏常数。
4. 基于恒电流电聚合技术, 制备了聚苯胺/碳纳米管复合物修饰电极, 并首次对该复合物的电催化性能进行了研究。用扫描电子显微镜对复合膜的表面形貌进行了表征。电化学研究结果表明该复合膜对亚硝酸盐的还原具有优良的电催化性能。此外, 考察了影响修饰电极对亚硝酸盐安培响应的因素, 优化了测试条件, 在最优条件下得到了测定亚硝酸盐的校正曲线, 并提出了可能的电催化机理。与聚苯胺修饰电极相比, 该复合膜修饰电极对亚硝酸盐的测定具有较高的灵敏度、较低的检测限和较宽的线性范围。且具有令人满意的存储稳定性。
5. 采用电化学阻抗技术, 以Fe(CN)₆^{3-/4-}为氧化还原探针, 监测了人肝癌细胞BEL7404的生长过程, 评价了抗癌药物吉西他宾和环境污染物的

Hg²⁺的细胞毒性作用。本文选用氧化锡导电玻璃为工作电极及细胞培养基底，其透明性便于细胞生长过程中的形态观察；采用自制检测池进行电化学阻抗测试，简化了电极处理步骤。电化学阻抗实验结果与显微镜观察结果之间具有较好的一致性。该技术为体外研究细胞的生长过程及药物筛选提供了一种简便、廉价、有效的方法。

6. 首次将电聚合卟啉膜用于哺乳动物细胞体外培养的基底，研究了人乳腺癌细胞MCF-7在电聚合卟啉膜上的粘附、铺展和增殖。本文以氧化锡导电玻璃为电聚合膜的基底，用扫描电子显微镜技术和接触角测试法对电聚合膜进行了表征。细胞形态观察、细胞计数和MTT比色法研究结果表明，电聚合卟啉膜可显著地促进MCF-7细胞的粘附、铺展和增殖。荧光染色观察证实，细胞在电聚合膜上的健康情况较好，未发生凋亡。因此，该聚合物膜可用作细胞体外培养的基底，且可作细胞传感器中细胞的固定基底。

7. 基于电聚合卟啉膜优良的细胞相容性，将其应用于细胞压电传感研究。通过电聚合方法在压电石英晶体金电极表面制备电聚合卟啉膜，用压电石英晶体谐振技术实时监测了MCF-7细胞的生长过程，研究了化学药品的细胞毒性。通过荧光染色法观察了石英晶体金电极表面电聚合膜上细胞的增殖和健康情况，发现显微镜观察结果与压电石英晶体谐振实验结果之间具有较好的一致性。此外，压电石英晶体金电极表面的电聚合卟啉膜易于去除，极大地提高了石英晶体金电极的重复使用性。

8. 本文提出了一种简便、快速、廉价但有效的方法，对壳聚糖膜进行改性以促进其细胞相容性。将金属纳米粒子(铂和金)自组装在壳聚糖膜上，研究了四种类型哺乳动物细胞在复合膜上的增殖。结果表明，将铂和金纳米粒子自组装在壳聚糖膜上显著地促进了人脐静脉内皮细胞(HUVECs)和人乳腺癌细胞(MCF-7和MDA-MB-231)的粘附、铺展和增殖。此外，考察了纳米粒子自组装时间和金纳米粒子的尺寸对细胞铺展行为的影响。本研究有望促进壳聚糖在生物传感器研制及组织工程材料中的应用。

5. 学位论文 刘逸 基于层层组装和电活性指示剂的DNA损伤的电化学检测和体外模拟 2009

发展快速、灵敏、简便的检测DNA损伤的分析方法，对于疾病早期诊断、环境保护、药物筛选和新化合物毒性筛查等都具有重要的意义。本文构筑了基于天然DNA层层组装薄膜和电活性指示剂的电化学DNA生物传感系统，以循环伏安法(CV)检测DNA的损伤。并以此为体外模型来模拟生命体内的DNA损伤过程、酶对DNA的保护作用和对损伤的放大作用等。

简述了研究DNA损伤的重要意义，以及建立快速、灵敏、简便的DNA损伤检测方法的必要性。对DNA分子的组成、结构和性质，以及各种引起DNA损伤的原因，尤其是DNA氧化损伤的机理进行了综述。简述了电化学检测DNA损伤的各种方法，尤其是基于电活性指示剂的检测方法。对DNA损伤的保护、修复及其相关的电化学检测也进行了综述。

第二章 (Chitosan/DNA) n层层组装薄膜对负电荷靛蓝探针的吸入/释放行为及其在DNA损伤的电化学检测中的应用

带正电荷的壳聚糖(CS)与带负电荷的DNA可以在热解石墨(PG)电极上构建(CS/DNA) n层层组装薄膜。CV实验表明，带负电荷的电活性探针9，10-蒽醌-2，6-二磺酸二钠盐(AQDS)可以从其溶液中被固定到(CS/DNA) n薄膜中，形成(CS/DNA) n-AQDS薄膜修饰电极，而当薄膜电极放入空白缓冲溶液中后AQDS又可以从薄膜中逐渐释放出来。(CS/dsDNA和(CS/ssDNA) n薄膜对AQDS的吸入/释放行为表现出明显差别，这里dsDNA和ssDNA分别代表双链DNA和单链DNA。AQDS从(CS/dsDNA) n薄膜中释放的速率要明显慢于其相应的ssDNA薄膜，这可能是由于AQDS和DNA都带有负电荷，它们之间的静电排斥作用使得ssDNA薄膜无法长时间保留AQDS，而dsDNA的双螺旋结构则使AQDS可以通过嵌入作用而比较稳定地固定在dsDNA薄膜中。(CS/DNA) n薄膜对AQDS的吸入/释放行为可以识别薄膜中的dsDNA和ssDNA，并进一步被运用到电化学检测Fenton试剂引起的薄膜内天然DNA的损伤中。为了更深入地了解(CS/DNA) n薄膜对AQDS吸入/释放过程中所涉及的各种作用力，设计了两组对比实验：一是以带正电荷的壳聚糖(BCB)代替AQDS作为电活性探针，二是以电荷密度较高的聚二甲基丙烯基氯化铵(PDDA)代替电荷密度较低的CS作为固定DNA的层层组装材料。这种DNA薄膜对电活性嵌入剂的吸入/释放行为可能为电化学生物识别dsDNA和ssDNA，并进而检测DNA的损伤。

第三章电化学研究丙酮对DNA氧化损伤的增强作用及薄膜电极上过氧化氢酶对DNA氧化损伤的保护作用

构筑了(CS/DNA) 3-AQDS、(CSTDNA) 3-AQDS-Cat两种薄膜修饰电极，其中Cat为过氧化氢酶。以(CS/DNA) 3-AQDS薄膜修饰电极为检测DNA损伤的手段，建立了一个在体外模拟生命体内丙酮(ACN)由无毒转变为基因毒性的模型。单独的ACN不能引起DNA的损伤，但是当Fenton试剂存在时，加入ACN会引起DNA损伤程度的加深。以(CS/DNA) 3-AQDS-Cat薄膜修饰电极为体外模型，模拟生命体内Cat对DNA的保护作用。在Fenton试剂及Fenton+ACN体系中都可以观察到外层Cat对(CS/DNA) 3-AQDS-Cat薄膜中DNA具有明显的保护作用，这可能是由于Cat可以高效分解H₂O₂，从而大大减小了DNA的损伤程度。

第四章电化学检测ferritin/抗坏血酸/H₂O₂引起的天然DNA损伤及核酸内切酶Fpg对DNA损伤的放大作用

带相反电荷的壳聚糖(CS)和天然DNA可以在电极表面构建(CS/DNA) n层层组装薄膜，利用溶液中的Ru(bpy)₃²⁺(bpy=bipyridyl)电活性探针检测DNA的催化氧化损伤了ferritin/AA/H₂O₂溶液引起的(CS/DNA) n薄膜中的DNA损伤，其中AA代表抗坏血酸。ferritin/AA/H₂O₂体系损伤DNA的机理和Fenton试剂类似，即AA可以促进Fe(II)离子从铁蛋白中的释放，而释放出的Fe(II)离子可以和H₂O₂进一步反应产生羟基自由基，并造成DNA的氧化损伤。该体系提供了一个体外模型，可以模拟生命体内铁蛋白间接引起的DNA损伤。甲酰胺嘧啶-DNA-糖基化酶(Fpg)是一种修复DNA氧化损伤的核酸内切酶，可以将被损伤的DNA中的被氧化的嘌呤碱基转化为单链断裂，从而放大ferritin/AA/H₂O₂体系引起的DNA损伤。本章将具有高灵敏度的以Ru(bpy)₃²⁺为催化剂的检测DNA损伤的方法与Fpg酶对DNA损伤的放大作用相结合，可能为更加灵敏的检测天然DNA的损伤提供一个新思路。

6. 期刊论文 张朝晖, 胡宇芳, 张华斌, 曹娇, 姚守拙, Zhang, Zhaohui, Hu, Yufang, Zhang, Huabin, Cao, Jiao, Yao.

Shouzhao 新型多壁碳纳米管/白藜芦醇印迹溶胶-凝胶层层组装电化学传感器研究-化学学报2010, 68(5)

采用电化学沉积方法将印迹溶胶-凝胶膜沉积到功能化碳纳米管(MWNT-COOH)修饰的碳电极表面,成功研制一种新型多壁碳纳米管/白藜芦醇印迹溶胶-凝胶电化学传感器。采用扫描电镜(SEM),循环伏安法(CV),方波伏安法(SWV)和计时电流法(i-t)详细考察该印迹溶胶-凝胶膜的形态和电化学性能。结果表明该传感器对白藜芦醇具有较高的选择性和亲和性。与无多壁碳纳米管修饰的印迹传感器比较,MWNT修饰的印迹传感器电流响应信号明显提高。白藜芦醇与印迹溶胶-凝胶膜的特性结合使传感器的电流发生变化,电流变化与白藜芦醇浓度在5.0×10⁻⁷~8.0×10⁻⁶ mol·L⁻¹范围内呈良好线性关系,检测限为5.1×10⁻⁸ mol·L⁻¹,该传感器成功应用于葡萄酒中白藜芦醇含量的检测。

7. 期刊论文 艾晖晖, 费俊杰, 周金平 血红蛋白/纤维素季铵盐层层组装膜直接电化学及其生物传感研究-分析化学

2009, 37(z1)

蛋白质与电极间的直接电子交换可以为生物活体内蛋白质的电子转移机制提供模型,同时也为构筑新型的生物传感器奠定基础〔1〕。层层组装技术是近年来兴起的构建蛋白质多层薄膜的方法,该技术构建生物电化学传感器主要依靠聚阳离子与生物阴离子的静电引力在电极表面形成有序的多层薄膜〔2〕。周金平等将纤维素与3-氯-2-羟丙基三甲基进行反应合成了一种新型的纤维素季铵盐〔3〕,它是一种聚阳离子电解质。而通过pH的调节可使血红蛋白带上不同的电荷〔4〕。基于血红蛋白和纤维素季铵盐之间的静电引力,通过层层组装技术将血红蛋白和纤维素季铵盐逐层固定在玻碳电极表面,形成了有序排列的多层薄膜并实现了血红蛋白的直接电化学,在此基础上制备了H₂O₂无中继体电化学传感器。

8. 学位论文 赵图 功能化纳米材料的合成、组装及其生物传感 2006

金属氧化物纳米材料由于具有良好的生物兼容性和对蛋白质强的亲和作用,在生物传感器中的应用已引起人们的广泛关注。这些材料的合成途径和在电极表面的固定化方式对后续生物分子的固定及其以此构建的生物传感器的性能有着至关重要的影响。因此,选择适宜的合成途径,发展新的固定化生物载体材料的方法,以及改善传统纳米材料制备过程中的不足是十分重要的。本文选取了几种具有代表性的金属氧化物纳米材料,如ZrO₂, ZnO,特别是Fe₃O₄纳米材料,采用了不同的方法构建单层或者多层氧化物薄膜,用于制备性能优良的生物传感器。开展了以下的工作:

1. 血红素类蛋白质在ZrO₂纳米粒子修饰电极上的直接电化学在功能化的玻碳电极表面组装了ZrO₂纳米粒子和血红素类蛋白质,固定的血红蛋白(Hb)和肌红蛋白(Mb)显示出良好的直接电化学生物学,在pH 6.0的PBS缓冲溶液中,式量电位分别为-0.032 V和-0.026 V。采用电化学阻抗谱和循环伏安法研究了自组装过程和固定的蛋白质的电化学生物学。紫外可见光谱表明,固定在ZrO₂膜内的蛋白质保持了生物活性,因此对H₂O₂的电化学还原显示出良好的催化性。基于此,建立了一种测定H₂O₂的优良生物传感器。这种传感器对H₂O₂响应迅速(<10s),并且具有高的稳定性、重现性和较长的使用寿命。

2. Mb在电沉积多孔ZnO膜修饰石墨电极上的固定及其生物传感利用简易的电化学沉积方法在石墨电极表面制备了生物兼容性的纳米多孔ZnO薄膜。由于ZnO膜能够提供一生物友好环境,并且具有强的吸附能力,它可以作为固定肌红蛋白(Mb)的基体材料。固定的Mb实现了和电极之间的直接电子传输,并显示出对H₂O₂、NO₂⁻和三氯乙酸(TCA)良好的电催化活性,可用于制备无媒介体的生物传感器。采用原子力显微镜(AFM)、紫外可见光谱、电化学阻抗谱和循环伏安技术等对电沉积的ZnO膜及吸附的Mb进行了表征。与其他方法相比,电化学沉积法是制备传感器中生物兼容性多孔材料的更为简单、便利

的方法。

3. 普鲁士蓝修饰Fe3O4纳米材料的合成、表征及其对H2O2的催化还原用化学方法合成了电活性普鲁士蓝(PB)修饰的Fe3O4纳米粒子(PB-Fe3O4),并用透射电镜(TEM)、X射线粉末衍射(XRD)、X射线光电子能谱(XPS)和超导量子磁性测定(SQUID)等手段对得到的材料进行了表征。结果表明,合成的PB-Fe3O4纳米材料为尖晶石结构,并且保持了Fe3O4纳米粒子本身的超顺磁性,即在室温下无矫顽力和剩磁,而在低于磁阻塞温度时有磁滞回线,并且经普鲁士蓝修饰后的纳米粒子的饱和磁化率和磁阻塞温度都要低于未修饰的纳米粒子,说明普鲁士蓝的修饰减弱了单纯磁性纳米粒子之间的作用力,这种作用力的减弱有利于阻止它们团聚,提高纳米粒子的稳定性。此外,我们将制得的PB-Fe3O4纳米材料修饰于玻碳电极表面,研究了它的电催化行为和对H2O2还原的电催化行为,为建立一种新型的第三代生物传感器提供了依据。

4. Fe3O4磁性纳米材料多层薄膜的构建、表征及对血红蛋白直接电子传输的促进作用Fe3O4纳米粒子可以稳定地分散于壳聚糖溶液中,通过电沉积的方法将其固定于电极表面,然后与植酸溶液进行层层组装,并分别在玻碳电极、ITO导电玻璃和铝箔三种基体材料表面构建了Fe3O4多层膜。采用扫描电镜(SEM)、电化学阻抗(EIS)、超导量子磁性测定(SQUID)等手段对多层膜进行了表征。结果表明,Fe3O4纳米粒子在多层膜中保持了原有的超顺磁性,并且饱和磁化率的大小可以通过改变组装层数来调节。由于多层膜具有良好的生物相容性,吸附在膜上的血红蛋白(Hb)实现了和电极之间的直接电子传递,并保持了很好的催化活性。将Fe3O4纳米粒子分散在壳聚糖溶液中的方法避免了对Fe3O4表面进行化学修饰的复杂步骤,而且这种将电沉积与层层组装相结合的方法,是一种简单、通用的可在多种导电基体上制备生物传感器的方法。

5. 肌红蛋白(Mb)在阴极沉积的Fe3O4-PDDA膜上的固定及其电化学性质利用阴极电解沉积方法在玻碳电极表面制备了具有生物相容性的Fe3O4-PDDA杂化膜。这种膜对肌红蛋白(Mb)和血红蛋白(Hb)有很强的吸附能力,并能实现它们与电极表面的直接电子传输。采用X射线光电子能谱、原子力显微镜、紫外光谱、电化学阻抗谱和循环伏安等手段对沉积的复合物膜进行了表征,并研究了Mb和Fe3O4-PDDA之间的相互作用力。这种阴极电解沉积制备氧化物-聚合物膜的方法操作简单快捷,可在聚合物基体中现场合成氧化物膜。因此,在制备好的固定蛋白质的基体材料和制备传感器方面有很好的应用前景。

9. 期刊论文 [李永军,周宥辰,孙世刚 层层组装法制备核壳SiO2/Pt粒子及其CO电化学和原位电化学FTIR光谱](#) -物理化学学报2010, 26(7)

采用层层组装法合成了核壳SiO2/Pt粒子,用电化学循环伏安法(CV)和原位电化学傅里叶变换红外(FTIR)光谱研究了SiO2/Pt粒子对CO分子的氧化和吸附行为。透射电子显微研究表明:包覆SiO2的Pt壳是由团聚的n纳米微粒构成,其平均厚度大约为26 nm。CO在SiO2/Pt粒子修饰的玻碳(GC)电极上的主氧化峰为0.49 V(vsSCE),表现出比本体Pt金属好的催化性能。电化学FHR光谱研究发现:线性CO在SiO2/Pt粒子上的IR吸收带的方向发生倒反,而且在不同的研究电位下,每个吸收带劈裂为两个间隔约为14 cm⁻¹的吸收带,这种劈裂现象在饱和吸附CO的Pt金属表面上是很难观察到的。这些异常的红外吸收现象可能是由SiO2/Pt粒子的结构效应导致的。

10. 会议论文 [刘梅川,赵国华,忻伊利,董希立 层层组装{量子点/DNA}n生物传感器的构筑及其在污染物毒性分析中的应用研究](#) 2008

随着工业的快速发展,越来越多的化学物质进入环境中,不可避免地导致环境污染物的种类、数量不断增加,对生态环境和人类健康造成极大威胁。简便、灵敏的毒性分析因此成为环境风险评估和环境污染控制的重要核心工作。传统的生物毒性测试手段的发展已较为成熟,但普遍存在周期长、成本高、操作复杂等局限性,不能满足对环境质量实时预报预警、突发毒物泄漏应急处置、污染处理设施在线监控等的需要,同时难以在分子水平上提供关于化合物结构与毒性关系的信息。

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_wjhx200812001.aspx

授权使用: 赵华(wfnjdx), 授权号: 1b435199-8bc2-4cd4-85a9-9df600c37b16

下载时间: 2010年9月19日