

纳米材料在电化学免疫传感器中的应用研究

孔粉英, 王 伟

(盐城工学院 化学与生物工程学院, 江苏 盐城 224051)

摘要:近几十年来, 纳米材料的研究已经成为了全球材料、物理、化学领域的热点, 其潜在的重要性毋庸置疑。纳米材料, 因其具有大的比表面积、良好的生物相容性、强的吸附力及高催化效率等优异特性, 在免疫传感器中被广泛地应用于生物分子的固定、待测物质的富集和浓缩、信号的检测和放大, 使免疫传感器的响应灵敏度得到了大大的提高。简要介绍了几种纳米材料在免疫传感器中的应用, 并展望了其应用前景。

关键词:纳米材料; 免疫传感器; 应用

中图分类号: TP212

文献标识码: A

文章编号: 1671-5322(2013)02-0013-07

近几十年来, 纳米材料的研究已经成为全球材料领域的热点, 并享有“跨世纪的新材料”之称。早在1991年, 我国著名科学家钱学森院士就指出: “纳米左右和纳米以下的结构将是下一阶段科技发展的特点, 会是一次技术革命, 从而将是21世纪的又一次产业革命时代的核心”。纳米材料由于其颗粒尺寸达到纳米量级, 使得其具有表面效应、小尺寸效应、量子尺寸效应和宏观量子隧道效应等, 从而表现出与宏观材料明显不同的物理化学特性, 比如高催化性、高耐蚀性、高比热和低熔点、高电磁性、极强的吸波性、高强度和高韧性等。因此, 纳米材料具有广阔的应用前景。

随着纳米材料的制备技术和表征手段的日趋成熟, 纳米材料为免疫传感器的研究和应用带来了新的契机, 创造了更为广阔的空间, 推动免疫传感器迅速发展。纳米材料可以是纳米管、纳米纤维、纳米颗粒、纳米薄膜和介孔纳米材料等。纳米材料因具有良好的生物相容性、优异的电子传输性、强的吸附能力、大的比表面积、正(或负)的电荷环境等, 在免疫传感器中可广泛应用于生物分子的固定、待测物质的富集和浓缩, 信号的检测和放大, 固定量的增加以及反应速度的提高等。纳米材料的应用, 使免疫传感器更体现出多功能、微型化、集成化和一次性快速检测的优点, 可实现高通量的实时检测分析。

1 纳米材料在免疫传感器中的应用

1.1 金纳米粒子

在众多纳米材料中, 金纳米粒子是研究比较早而且比较成熟的一种。金纳米粒子除了具有一般纳米粒子所具有的特性以外, 还能与巯基间通过 Au-S 键发生超强的共价键合作用。另外, 由于金纳米粒子的球形状态, 对蛋白质有很强的吸附功能, 可以与葡萄球菌 A 蛋白、毒素、酶、BSA 等非共价结合, 因此还被广泛应用于活性纳米界面的构建^[1-6]。Wang 等^[7]用聚多巴胺和金纳米粒子修饰 ITO 电极作为传感平台, 在聚多巴胺包裹的多壁碳纳米管上原位还原金纳米粒子作为抗体和酶的载体, 构建了夹心型的免疫传感器, 线性范围为 $4.0 \sim 8.0 \times 10^2$ pg/mL, 检测下限低至 1 pg/mL。Xia 等^[8]也基于金纳米粒子良好的生物相容性与强的吸附能力, 制备了检测乙肝表面抗原(HBsAb)的电化学免疫传感器。该传感器制备简单, 线性范围为 50.0 pg/mL ~ 305 ng/mL, 检测限为 16 pg/mL。

由于金纳米粒子本质上依然是金属金以原子形式组成的球形纳米颗粒, 故具有良好的氧化/还原能力, 利用这一性质可以制备出高灵敏的电化学免疫传感器。这种方法的基本思路是将结合到载体上的金纳米粒子采用化学方法溶解后, 再通

收稿日期: 2013-04-23

作者简介: 孔粉英(1979-), 女, 讲师, 博士, 河北邢台人, 主要研究方向为功能纳米材料的合成及其生物传感。

过溶出伏安法测定溶液中金离子的含量,从而实现间接测定抗原的目的。Dequaire^[9]等首次将这种方法引入到免疫分析中,采用非竞争夹心免疫分析模式,结合溶出伏安法测量技术,可以检测到 3 pmol/L 的羊免疫球蛋白(IgG)。此后,基于该原理发展了多种高灵敏的电化学免疫传感器。若在这种金纳米粒子标记生物分子的方法中进一步引入金属金^[10]、银^[11,12]或铜^[13,14],则可得到信号的二次放大。

另外在免疫传感器中,金纳米粒子还可用作标记物载体来放大信号,提高检测的灵敏度。例如,Tang 等^[15]报道了一种采用辣根过氧化物酶(HRP)包裹金纳米粒子空心微球来标记癌胚抗原(CEA)抗体,构建了一种原位放大电化学信号的 CEA 电化学免疫传感器。金纳米粒子空心微球作为酶的载体,可携带大量的酶,达到放大检测信号,提高传感器灵敏度的目的。Chen 等^[16]采用碳纳米粒子功能化的仿生界面作为传感平台,不规则金纳米粒子携带的酶标抗体作为示踪物,高灵敏的检测了甲胎蛋白(AFP)。同球形金纳米粒子负载酶标抗体和 HRP 直接标记抗体作为示踪物相比,用该纳米复合物作为示踪物对酶基质呈现出了高的生物电催化活性和宽的动力学范围,使检测限达到 10 pg/mL。

1.2 碳纳米管

碳纳米管的发现是世界科学史上的里程碑。在纳米材料中,碳纳米管被称为纳米之王或超级纳米材料。碳纳米管分为单壁碳纳米管(SWNT)和多壁碳纳米管(MWNT)。碳纳米管特殊的中空管状结构使之具有较大的比表面积,经酸处理后的碳纳米管具有更多的活性位点,其上的羧基易与蛋白质上的氨基结合,同时还能够很好保持蛋白的活性。因而将碳纳米管用于生物分子的固定可以增加固定量,从而增强反应信号。另外碳纳米管的表面原子活性高,易与周围的物质之间实现电子传递,因此碳纳米管是制作免疫传感器的理想材料。

近年来,以碳纳米管作为基体材料制得的免疫传感器常见报道^[17-23]。张书圣研究小组^[22]利用碳纳米管良好的电子传递能力和电催化活性成功的制备了用于检测肿瘤标志物 AFP 的电化学免疫传感器,该免疫传感器显示出了较高的灵敏度和较低的检测限。Yuan 等^[23]将导电聚合物 2,6-二氨基吡啶组装在多壁碳纳米管上,并用来

固定金纳米粒子,进而将人绒毛膜促性激素抗体高活性的固定在生物传感界面上,然后基于样品中的分析物和电极上的抗体结合后,导致电流变小来实现肿瘤标志物的直接检测。这些研究充分说明碳纳米管是一种很好的免疫传感器电极材料。

在免疫传感器的构建中,碳纳米管不但可以作为基体材料用来构建生物传感界面,还常常被作为标记物载体来携带大量的电活性物质^[24-28]。Rusling 等^[25]利用碳纳米管作为电极的固载基质和二抗的标记物载体,构建了高灵敏的免疫传感器。在组装免疫传感器的过程中,首先利用单壁碳纳米管比表面积大的特点来固定吸附大量的一抗,然后将吸附大量 HRP 的多壁碳纳米管标记于二抗之上。实验表明,每 100 nm 的多壁碳纳米管上可携带 106 个 HRP,极大地增强了传感器的响应信号,使其检测限低至 0.5 pg/mL。

1.3 石墨烯

石墨烯是 2004 年才发现的一种新型二维平面纳米材料,具有独特的结构和优异的性能。它比表面积大、机械强度超高、电子传导能力超强,可加工性甚好且成本低廉。经过功能化的石墨烯既可溶于水又可溶于有机溶剂,因此在传感器的应用方面比碳纳米管更有优势^[29],能够有效实现电子的高效传导。石墨烯还具有良好的生物相容性,有利于生物敏感膜的固定,因此近年来石墨烯在免疫传感器中的应用研究逐渐成为热点^[30-39]。例如,Tang 等^[30]将壳聚糖、石墨烯和纳米金修饰的玻碳电极作为生物传感界面来固定 HRP 标记的 AFP 抗体,采用直接模式对 AFP 进行了检测。Du 等^[38]采用石墨烯、亚甲基蓝、壳聚糖为电极修饰材料,构建了高灵敏检测前列腺癌特异性抗原(PSA)的免疫传感器。实验表明,该纳米复合物对生物分子显示了极高的亲和性,增加了抗体的固定量。Zhu 等^[39]利用二甲基功能化石墨烯和纳米金,三明治模式制备以 HRP 为标记物的用于检测人 IgG 的免疫传感器。该免疫传感器的线性范围为 0.10 ~ 200 ng/mL,检出限为 50 pg/mL。

石墨烯由于具有巨大的比表面积,在免疫传感器中也经常作为标记物载体来负载大量的酶或者电活性物质^[40-43],达到高灵敏检测分析物的目的。Lin 等^[43]以氧化石墨烯为纳米携带者,利用多酶放大策略超灵敏检测了肿瘤抑制蛋白 p53。

实验表明,把 HRP 和 p53 抗体连接到功能化的氧化石墨烯表面大大的提高了检测的灵敏度,使检测限低至 10 pmol,比传统的三明治电化学测定 p53 灵敏 10 倍之多。

1.4 半导体纳米粒子

半导体纳米粒子是一种由 II-VI 族或者 III-V 族元素组成的纳米颗粒,粒径一般在 2~8 nm 之间。半导体纳米粒子具有性质稳定,生物相容性良好和相比贵金属纳米材料更加廉价等特点,也是一类在免疫传感器领域中常用的纳米粒子。更由于 CdS、PbS、ZnS 等半导体纳米粒子具有良好氧化还原性、可分辨的峰电位以及它们能被溶出伏安法灵敏检出的特性,基于这些半导体纳米粒子可构建高通量高灵敏的电化学免疫传感器^[44,45]。Ho 研究小组^[46]提出了以 CdS 半导体纳米粒子标记二抗,在夹心免疫反应之后,通过酸解作用将 CdS 中的 Cd^{2+} 洗脱到测试池中,再通过电化学溶出伏安法测定 Cd^{2+} 的含量,实现对抗原蛋白的间接检测。Liu 等^[47]基于 Si/CdTe 作为标记物构建了超灵敏检测兔 IgG 的免疫传感器。由于在 Si 纳米球上键合了高密度的 CdTe 半导体纳米粒子,使电化学信号大大的得到了提高,检测限达到了 0.6 pg/mL。Zhu 等^[48]利用了 CdTe 半导体纳米粒子为荧光信号和电信号的标记物制备了可同时检测光信号和电信号的免疫传感器。实验发现,以光信号检测 HIgG 的线性范围为 0.10~500 ng/mL;以电信号检测 HIgG 的线性范围为 5.00 pg/mL~100 ng/mL,检测限为 5 pg/mL。Xu 等^[49]以磁珠为抗体的固定基质, CdS/DNA 和 PbS/DNA 纳米链做为标记物,实现了肿瘤标志物 CEA 和 AFP 的高灵敏同时测定。

1.5 磁性纳米粒子

近年来,兼具纳米颗粒的众多特性和磁响应性的磁性纳米粒子引起了人们越来越多的兴趣。磁性纳米粒子是指含磁性金属或金属氧化物并具有磁响应性的超细微粒。由于磁性纳米粒子的比表面积大,可通过表面修饰提供足够多的表面结合位点以与抗体等生物分子结合,故使用磁性纳米粒子作为载体可以显著提高免疫检测的灵敏度。磁性粒子用于免疫检测的另外一个优势就是磁性粒子在外加磁场的作用下能快速富集,在短期内能得到浓缩、纯净的样品,减少了检测中不必要的麻烦,有助于缩短检测时间,提高检测效率。在磁性纳米粒子中, Fe_3O_4 纳米粒子因具有制备

工艺简单,价格低廉,饱和磁化强度高,低毒性等特性^[50],成为免疫传感器中研究和应用最多的磁性纳米材料。Yuan 等^[51]以 Fe_3O_4 纳米颗粒为核,普鲁士蓝(PB)为中间层并作为电活性物质, Au 为外壳,制得了 Au-PB- Fe_3O_4 纳米壳核材料。该多层结构纳米材料不仅能够有效催化 H_2O_2 放大电流信号,使得免疫传感器在灵敏度上得到提高,而且还具有 Fe_3O_4 所特有的磁性,与传统的免疫传感器相比再生性得到了极大的提高。Rusling 等^[52]在直径为 1 μm 的磁珠上共价键合了约 7 500 个 HRP,并用来标记 PSA 的二抗蛋白。利用夹心免疫模式对 PSA 进行了检测,由于标记的 HRP 负载量大大提高,该免疫传感器的电化学响应信号显著增强。用该方法检测 PSA 的检测限下降到 0.5 pg/mL。

1.6 SiO_2 纳米粒子

以 SiO_2 为代表的无机纳米颗粒具有比表面大、表面能高、生物亲和性高、吸附力强、毒性小和稳定性好等特点,且纳米 SiO_2 表面因缺氧而偏离了稳态的硅氧结构,形成严重的配位不足,易于与其他供电子功能基团发生键合作用^[53],从而实现 SiO_2 表面的功能化。由此可见,基于具有高的表面能、好的生物相容性和表面易于功能化等优势, SiO_2 纳米粒子是蛋白质和酶固定化的优良载体之一。Yuan 课题组^[54]利用水包油技术制备了包覆二茂铁的 SiO_2 纳米粒子,将该纳米粒子组装到电极表面后,可形成稳定性高、生物相容性好、表面能高的活性界面,并且还具有良好的氧化还原电活性。基于该活性界面成功的构建了检测 CA 15-3 蛋白的免疫传感器。该课题组还把 Ag- Ag_2O 吸附在 SiO_2 表面,制得了 $[\text{Ag}-\text{Ag}_2\text{O}]/\text{SiO}_2$ 纳米复合物,并基于该纳米复合物成功研制了无标记的 CEA 电化学免疫传感器^[55]。Tang 等^[56]利用反胶束方法合成了电活性物质硫堇和酶掺杂的 SiO_2 纳米粒子,将其用来标记抗体,构建了高灵敏的糖类抗原 CA 125 免疫传感器。 SiO_2 携带的大量的酶可以显著的增大响应信号,提高检测的灵敏度;同时 SiO_2 携带的大量的硫堇可以作为酶活性中心与电极表面的电子转移的媒介体,提高了传感器的响应速度。该免疫传感器线性范围为 0.10~450 U/mL,检测限为 0.1 U/mL。

1.7 脂质体

脂质体作为一种仿生生物膜,是磷脂分子分散于水相介质中形成的密闭的双层或多层的囊

泡。因其膜内可包容大量的标记物分子(如酶、化学发光剂、荧光素等),故脂质体具有很高的信号放大作用。Viswanathan^[57]等提出了一种脂质体包裹 $K_3[Fe(CN)_6]$ 作为标记物的电化学免疫传感器。免疫反应后,包有 $K_3[Fe(CN)_6]$ 的脂质体便被捕捉于电极表面;向电极表面滴加少量的曲通 100 使 $K_3[Fe(CN)_6]$ 释放出来并吸附于电极表面,然后采用方波伏安法对其进行测定,这种方法具有很高的灵敏度。Zhong 等^[58]将不同的电活性分子抗坏血酸(AA)和尿酸(UA)分别包覆到标记有不同抗体的脂质体内部,根据 AA 和 UA 峰电位的差异,实现了对两种不同抗原蛋白的同时、快速、灵敏检测。

1.8 复合纳米材料

随着对纳米材料的研究不断深入,由两种或两种以上的材料,通过各种工艺手段组合而成的新型复合纳米材料,成为材料科学研究领域的一个热点,引起人们的极大关注。另外,复合纳米材料为免疫传感器的研究带来了新的机遇。复合纳米材料的最大优点是能将不同性能的纳米材料结合起来,在同一种材料上体现出更多更特殊的性能,同时具有独特的力学、热学、光学和电学性质,由于其良好的稳定性、独特的生物亲和性,以及其表面易功能化等特点,在免疫传感器中被广

泛地应用于生物分子的固定、信号的检测和放大等。Zhu 等^[59]利用三维的纳米金/碳球复合纳米材料作为抗体的固载基质,与 HRP 标记的抗体进行夹心免疫反应。制备的 IgG 免疫传感器表现出了良好的稳定性和生物催化活性。Lin 等^[32]利用功能化的纳米碳球固定抗体,并且用纳米碳球来标记 HRP 联接的二抗,制备得到了双重信号放大的 AFP 免疫传感器。该方法灵敏度较高,重现性较好。Zhu 等^[60]引用纳米金功能化的聚苯乙烯微球作为载体组装抗体和 ALP,从而制得了用于夹心免疫反应的生物耦合物探针,该探针显著放大了生物识别反应信号,检测下限可达到 10 pg/mL。

2 结论与展望

总之,由于纳米材料的诸多特性,将纳米材料引入到免疫传感器中,极大地改善了免疫传感器的性能,提高了检测的灵敏度,有助于制造出综合性能稳定、可靠性高、体积小、重量轻的敏感元件,使免疫传感器不断向着微型化、集成化、智能化、高附加值的方向发展。因此,纳米材料能够在免疫传感器中尤其是电化学免疫传感器中得到广泛应用,同时纳米材料也将为生物医学、生物检测、食品加工、环境监测等领域提供更有利的工具。

参考文献:

- [1] Jain P K, Huang X H, El - Sayed I H, et al. Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine[J]. *Acc. Chem. Res.*, 2008, 41: 1 578 - 1 580.
- [2] Scodeller P, Flexer V, Szamocki R, et al. Wired - enzyme core - shell Au nanoparticle biosensor[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130: 12 690 - 12 695.
- [3] Giannetto M, Elviri L, Careri M, et al. A voltammetric immunosensor based on nanobiocomposite materials for the determination of alpha - fetoprotein in serum[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2011, 26: 2 232 - 2 235.
- [4] Huang K J, Niu D J, Xie W Z, et al. A disposable electrochemical immunosensor for carcinoembryonic antigen based on nano - Au/multi - walled carbon nanotubes - chitosans nanocomposite film modified glassy carbon electrode[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2010, 659: 102 - 107.
- [5] Jiang W, Yuan R, Chai Y Q, et al. Amperometric immunosensor based on multiwalled carbon nanotubes/prussian blue/nanogold - modified electrode for determination of α - fetoprotein[J]. *Anal. Biochem.*, 2010, 407: 65 - 69.
- [6] Zhang N D, Xiao F, Bai J, et al. Label - free immunoassay for chloramphenicol based on hollow gold nanospheres/chitosan composite[J]. *Talanta*, 2011, 87: 100 - 107.
- [7] Wang G F, Huang H, Zhang G, et al. Dual amplification strategy for the fabrication of highly sensitive interleukin - 6 amperometric immunosensor based on poly - dopamine[J]. *Langmuir*, 2010, 27: 1 224 - 1 228.
- [8] Qiu J D, Liang R P, Wang R, et al. A label - free amperometric immunosensor based on biocompatible conductive redox chitosan - ferrocene/gold nanoparticles matrix[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2009, 25: 852 - 856.
- [9] Dequaire M, Degrand C, Limoges B. An electrochemical metalloimmunoassay based on a colloidal gold label[J]. *Anal. Chem.*, 2000, 72: 5 521 - 5 527.

- [10] Liao K T, Huang H J. Femtomolar immunoassay based on coupling gold nanoparticle enlargement with square wave stripping voltammetry[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2005,538:159 – 164.
- [11] Chu X, Fu X, Chen K, et al. An electrochemical stripping metalloimmunoassay based on silver – enhanced gold nanoparticle label[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2005,20:1 805 – 1 809.
- [12] Chu X, Xiang Z F, Fu X, et al. Silver – enhanced colloidal gold metalloimmunoassay for schistosoma japonicum antibody detection[J]. *J. Immunological Methods*, 2005,301:77 – 79.
- [13] Mao X, Jiang J H, Luo Y, et al. Copper – enhanced gold nanoparticle tags for electrochemical stripping detection of human IgG[J]. *Talanta*, 2007,73:420 – 424.
- [14] Shen G Y, Zhang Y. Highly sensitive electrochemical stripping detection of hepatitis B surface antigen based on copper – enhanced gold nanoparticle tags and magnetic nanoparticles[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2010,674:27 – 32.
- [15] Tang D P, Ren J. J. In Situ amplified electrochemical immunoassay for carcinoembryonic antigen using horseradish peroxidase – encapsulated nanogold hollow microspheres as labels[J]. *Anal. Chem.*, 2008,80:8 064 – 8 069.
- [16] Tang J, Su B L, Tang D P, et al. Conductive carbon nanoparticles – based electrochemical immunosensor with enhanced sensitivity for α – fetoprotein using irregular – shaped gold nanoparticles – labeled enzyme – linked antibodies as signal improvement[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2010,25:2 657 – 2 663.
- [17] Liu G Z, Wang S, Liu J Q, et al. An electrochemical immunosensor based on chemical assembly of vertically aligned carbon nanotubes on carbon substrates for direct detection of the pesticide endosulfan in environmental water[J]. *Anal. Chem.*, 2012,84:3 921 – 3 926.
- [18] Qiu J D, Huang H, Liang R P. Signal – enhanced amperometric immunosensor based on ferrocene – branched poly(allylamine)/multiwalled carbon nanotubes redox – active composite[J]. *Electroanal.*, 2011,23:1 975 – 1 980.
- [19] Tang J, Tang D P, Su B L, et al. Enzyme – free electrochemical immunoassay with catalytic reduction of p – nitrophenol and recycling of p – aminophenol using gold nanoparticles – coated carbon nanotubes as nanocatalysts[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2011,26:3 219 – 3 225.
- [20] Zarei H, Ghouchian H, Eskandari K, et al. Magnetic nanocomposite of anti – human IgG/COOH – multiwalled carbon nanotubes/Fe₃O₄ as a platform for electrochemical immunoassay[J]. *Anal. Biochem.*, 2012,421:446 – 450.
- [21] Chikkaveerai B V, Bhirde A, Malhotra R, et al. Single – wall carbon nanotube forest arrays for immunoelectrochemical measurement of four protein biomarkers for prostate cancer[J]. *Anal. Chem.*, 2009,81:9 129 – 9 135.
- [22] Lin J H, He C Y, Zhang L J, et al. Sensitive amperometric immunosensor for α – fetoprotein based on carbon nanotube/gold nanoparticle doped chitosan film[J]. *Anal. Biochem.*, 2009,384:130 – 138.
- [23] Wang J F, Yuan R, Chai Y Q, et al. A novel immunosensor based on gold nanoparticles and poly – (2,6 – pyridinediamine)/multiwall carbon nanotubes composite for immunoassay of human chorionic gonadotrophin[J]. *Biochem. Eng. J.*, 2010,51:95 – 99.
- [24] Yu X, Munge B, Patel V, et al. Carbon nanotube amplification strategies for highly sensitive immunodetection of cancer biomarkers[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006,128:11 199 – 11 205.
- [25] Malhotra R, Patel V, Vaque J P, et al. Ultrasensitive electrochemical immunosensor for oral cancer biomarker IL – 6 using carbon nanotube forest electrodes and multilabel amplification[J]. *Anal. Chem.*, 2010,82:3 118 – 3 124.
- [26] Chunglok W, Khownarumit P, Rijiravanich P, et al. Electrochemical immunoassay platform for high sensitivity protein detection based on redox – modified carbon nanotube labels[J]. *Analyst*, 2011,136:2 969 – 2 975.
- [27] Tang D P, Tang J, Su B L, et al. Ultrasensitive electrochemical immunoassay of staphylococcal enterotoxin B in food using enzyme – nanosilica – doped carbon nanotubes for signal amplification[J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2010,58:10 824 – 10 829.
- [28] Zhu Y, Koh W C A, Shim Y B. An amperometric immunosensor for IgG based on conducting polymer and carbon nanotube – linked hydrazine label[J]. *Electroanal.*, 2010,22:2 908 – 2 915.
- [29] Shen J F, Hu Y Z, Li C, et al. Synthesis of amphiphilic graphene nanoplatelets[J]. *Small*, 2009,5:82 – 91.
- [30] Su B L, Tang J, Huang J X, et al. Graphene and nanogold – functionalized immunosensing interface with enhanced sensitivity for one – step electrochemical immunoassay of alpha – fetoprotein in human serum[J]. *Electroanal.*, 2010,22:2 720 – 2 729.
- [31] Kong F Y, Xu M T, Xu J J, et al. A novel lable – free electrochemical immunosensor for carcinoembryonic antigen based

- on gold nanoparticles – thionine – reduced graphene oxide nanocomposite film modified glassy carbon electrode[J]. *Talanta*, 2011,85:2 620 – 2 628.
- [32] Kong F Y, Xu B Y, Du Y, et al. A branched electrode based electrochemical platform: towards new label – free and reagentless simultaneous detection of two biomarkers[J]. *Chem. Commun.*, 2013,49:1 052 – 1 058.
- [33] Huang K J, Niu D J, Sun J Y, et al. An electrochemical amperometric immunobiosensor for label – free detection of α – fetoprotein based on amine – functionalized graphene and gold nanoparticles modified carbon ionic liquid electrode[J]. *J. Electroanal. Chem.*, 2011,656:72 – 77.
- [34] Haque A J, Park H, Sung D, et al. An electrochemically reduced graphene oxide – based electrochemical immunosensing platform for ultrasensitive antigen detection[J]. *Anal. Chem.*, 2012,84:1 871 – 1 877.
- [35] Wei Q, Xin X D, Du B, et al. Electrochemical immunosensor for norethisterone based on signal amplification strategy of graphene sheets and multienzyme functionalized mesoporous silica nanoparticles[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2010,26:723 – 729.
- [36] Yang M H, Gong S Q. Immunosensor for the detection of cancer biomarker based on percolated graphene thin film[J]. *Chem. Commun.*, 2010,46:5 796 – 5 801.
- [37] Lin D J, Wu J, Wang M, et al. Triple signal amplification of graphene film, polybead carried gold nanoparticles as tracing tag and silver deposition for ultrasensitive electrochemical immunosensing[J]. *Anal. Chem.*, 2012,84:3 662 – 3 669.
- [38] Mao K X, Wu D, Li Y, et al. Label – free electrochemical immunosensor based on graphene/methylene blue nanocomposite[J]. *Anal. Biochem.*, 2012,422:22 – 25.
- [39] Liu K P, Zhang J J, Wang C M, et al. Graphene – assisted dual amplification strategy for the fabrication of sensitive amperometric immunosensor[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2011,26:3 627 – 3 635.
- [40] Zhong Z Y, Wu W, Wang D, et al. Nanogold – enwrapped graphene nanocomposites as trace labels for sensitivity enhancement of electrochemical immunosensors in clinical immunoassays: Carcinoembryonic antigen as a model[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2010,25:2 379 – 2 385.
- [41] Yang M H, Javadi A, Gong S Q. Sensitive electrochemical immunosensor for the detection of cancer biomarker using quantum dot functionalized graphene sheets as labels[J]. *Sens. Actuators, B*, 2011,155:357 – 363.
- [42] Chen H F, Tang D P, Zhang B, et al. Electrochemical immunosensor for carcinoembryonic antigen based on nanosilver – coated magnetic beads and gold – graphene nanolabels[J]. *Talanta*, 2012,91:95 – 99.
- [43] Du D, Wang L M, Shao Y Y, et al. Functionalized graphene oxide as a nanocarrier in a multienzyme labeling amplification strategy for ultrasensitive electrochemical immunoassay of phosphorylated p53 (S392)[J]. *Anal. Chem.*, 2011,83: 746 – 751.
- [44] Wang J. Nanoparticle – based electrochemical bioassays of proteins[J]. *Electroanal.*, 2007,19:769 – 774.
- [45] Liu G, Wang J, Wu H, et al. Nanovehicles based bioassay labels[J]. *Electroanal.*, 2007,19:777 – 785.
- [46] Ho J A, Lin Y C, Wang L S, et al. Carbon nanoparticle – enhanced immunoelectrochemical detection for protein tumor marker with cadmium sulfide biotracers[J]. *Anal. Chem.*, 2009,81:1 340 – 1 347.
- [47] Cui R J, Pan H C, Zhu J J, et al. Versatile immunosensor using CdTe quantum dots as electrochemical and fluorescent labels[J]. *Anal. Chem.*, 2007,79:8 494 – 8 499.
- [48] Kong F Y, Xu B Y, Xu J J, et al. Simultaneous electrochemical immunoassay using CdS/DNA and PbS/DNA nanochains as labels[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2013,39:177 – 183.
- [49] Wang S F, Tan Y M, Zhao D M, et al. Amperometric tyrosinase biosensor based on Fe_3O_4 nanoparticles – chitosan nanocomposite[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2008,23:1 781. – 1 787
- [50] Zhuo Y, Yuan P X, Yuan R, et al. Bienzyme functionalized three – layer composite magnetic nanoparticles for electrochemical immunosensors[J]. *Biomaterials*, 2009,30:2 284 – 2 288.
- [51] Mani V, Chikkaveeraiah B V, Patel V, et al. Ultrasensitive immunosensor for cancer biomarker proteins using gold nanoparticle film electrodes and multienzyme – particle amplification[J]. *ACS Nano.*, 2009,3:585 – 589.
- [52] Pasqua L, Cundari L S, Ceresa C, et al. Recent development, applications, and perspectives of mesoporous silica particles in medicine and biotechnology[J]. *Curr. Med. Chem.*, 2009,16:3 054 – 3 058.
- [53] Hong C L, Yuan R, Chai Y Q, et al. Ferrocenyl – doped silica nanoparticles as an immobilized affinity support for electrochemical immunoassay of cancer antigen 15 – 3[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2009,633:244 – 249.

- [54] Yuan Y L, Yuan R, Chai Y Q, et al. A novel label - free electrochemical immunosensor for carcinoembryonic antigen detection based on the $[Ag - Ag_2O]/SiO_2$ nanocomposite material as a redox probe[J]. J. Electroanal. Chem. , 2010,643: 15 - 21.
- [55] Tang D P, Su B L, Tang J, et al. Nanoparticle - based sandwich electrochemical immunoassay for carbohydrate antigen 125 with signal enhancement using enzyme - coated nanometer - sized enzyme - doped silica beads[J]. Anal. Chem. , 2010,82:1 527 - 1 532.
- [56] Viswanathan S, Wu L, Huang M R. Electrochemical immunosensor for cholera toxin using liposomes and poly (3, 4 - ethylenedioxythiophene) - coated carbon nanotubes[J]. Anal. Chem. , 2006,78:1 115 - 1 121.
- [57] Zhong Z Y, Peng N, Qing Y, et al. An electrochemical immunosensor for simultaneous multiplexed detection of neuron - specific enolase and pro - gastrin - releasing peptide using liposomes as enhancer[J]. Electrochim. Acta, 2011,56:5 624 - 5 631.
- [58] Cui R J, Zhu J J. Fabrication of a novel electrochemical immunosensor based on the gold nanoparticles/colloidal carbon nanosphere hybrid material[J]. Electrochim. Acta, 2010,55:7 814 - 7 821.
- [59] Yin Z Z, Liu Y, Jiang L P, et al. Electrochemical immunosensor of tumor necrosis factor α based on alkaline phosphatase functionalized nanospheres[J]. Biosens. Bioelectron. , 2011,26:1 890 - 1 898.

The Applications of Nanomaterials in Electrochemical Immunosensors

KONG Fen-ying, WANG Wei

(Yancheng Institute of Technology, School of Chemical and Biological Engineering, Jiangsu Yancheng 224051, China)

Abstract: In recent decades, the research of nanomaterials in the fields of materials science, physics and chemistry has become a global hottest topics, its potential importance is unquestioned. Nanomaterials with large surface areas, high surface - activity, good biocompatibility, strong adsorption capacity and great catalytic activity have been widely used to immobilize the biomolecules, concentrate the analytes, detect and amplify the signals. Thus the sensitivity of immunosensors can be enhanced. This review addresses recent advances in nanomaterials - based electrochemical immunosensors and summarizes the main functions of nanomaterials in these sensor systems.

Keywords: Nanomaterials; Immunosensor; Application

(责任编辑:沈建新)