

凝血启发新法制备纤维蛋白-石墨烯导电生物纳米复合物用于电化学生物传感

张琳¹, 刘子瑜², 傅迎春^{1,*}, 雷春阳¹, 谢青季², 姚守拙², 李延斌^{1,3}

¹ 生物系统工程与食品科学学院, 浙江大学, 杭州 310058

² 化学生物学及中药分析教育部重点实验室, 化学化工学院, 湖南师范大学, 长沙 410081

³ Department of Biological and Agricultural Engineering, University of Arkansas, AR 72701, USA

受生理凝血启发, 基于纤维蛋白 (fibrin) 网状结构对纳米材料的超高固定能力和石墨烯 (rGO) 优异的导电性质, 我们开发了纤维蛋白-石墨烯导电生物纳米复合物 (Fibrin-adhered-rGO conductive bionanocomposites), 并高效负载铂纳米粒子 (PtNPs) 及葡萄糖氧化酶 (GOx) 用于电催化及电化学生物传感。生物纳米复合物呈三维网状支撑的多孔结构, 电化学测试其修饰电极的导电能力接近裸金电极。PtNPs负载率接近100%, 催化H₂O₂氧化电位负移, 灵敏度达578 $\mu\text{A cm}^{-2} \text{mM}^{-1}$, 负载GOx后检测葡萄糖的灵敏度 (93 $\mu\text{A cm}^{-2} \text{mM}^{-1}$) 也明显高于同类传感器。本研究基于生理特性, 一步制备了蛋白质-石墨烯基导电纳米复合材料, 成功整合了导电与生物功能, 可望发展为通用方法制备生物导电材料并应用于催化和检测等领域。

背景

- 导电纳米材料在催化和检测等领域有广泛的应用前景。然而, 由于导电材料严苛的制备环境和生物绝缘材料对导电性能的影响, 导电生物纳米复合物 (CBNCs) 常采用后修饰制备以生物功能化, 限制了生物材料的负载效率和功能协同。一步原位制备兼具良好导电及生物功能的复合材料仍是难点。
- 生理凝血过程产生的纤维蛋白呈三维网状结构, 具有良好的生物相容性、结构可控性及对纳米材料超高的固定能力, 是生物成分及其他功能材料的优良固定基底。

制备方法

可溶的纤维蛋白原 (fibrinogen) 被凝血酶 (thrombin) 剪切成纤维蛋白单体, 单体相互连接成多聚体并交联成不溶的纤维蛋白纤维网络结构, 过程中直接原位包埋进大量rGO纳米片、PtNPs及酶等功能纳米材料。

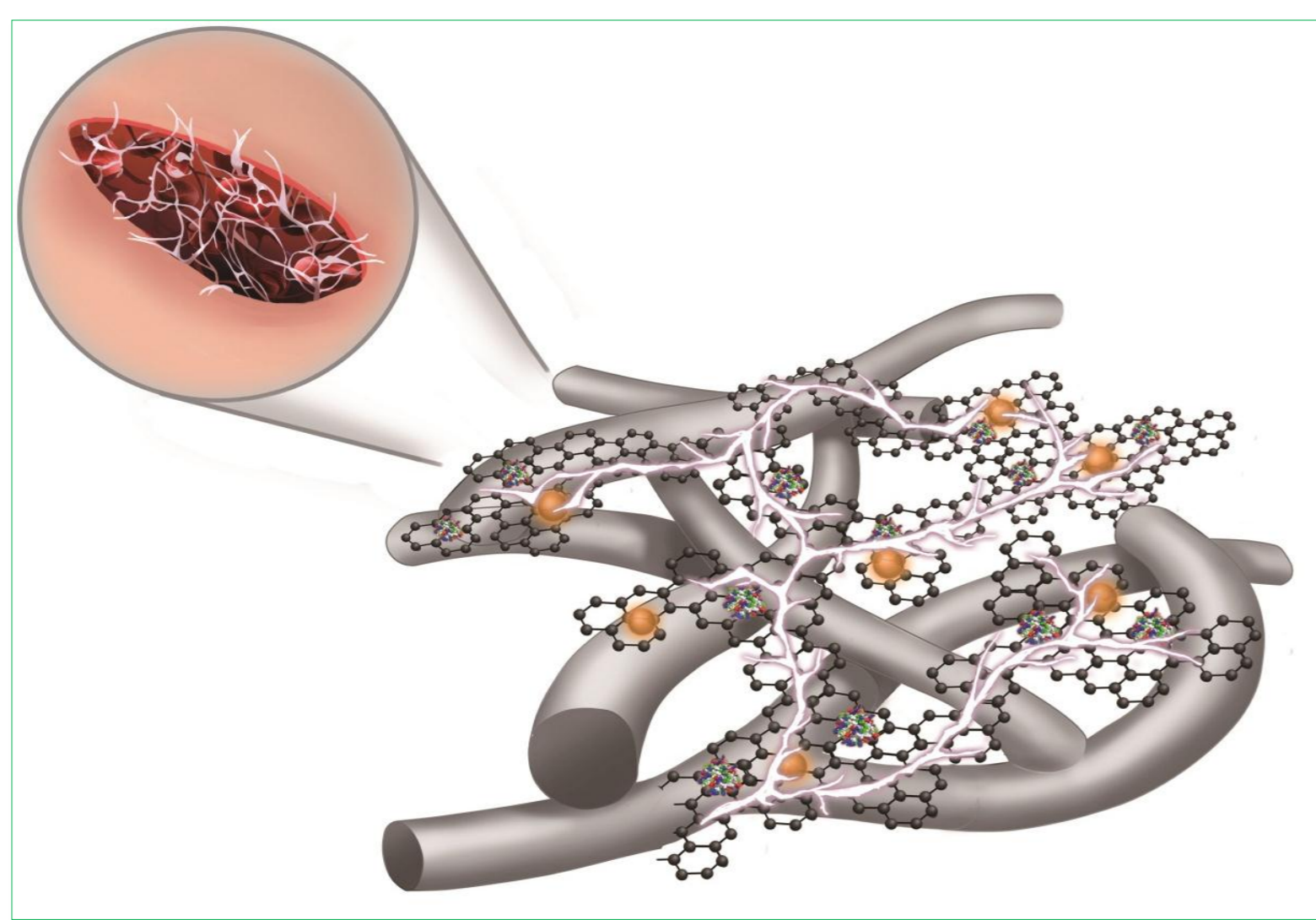


Fig. 1. Illustration of the architecture of fibrin-adhered-rGO-PtNPs-GOx CBNCs.

结果与讨论

Fibrin-adhered-rGO CBNCs外观呈完整黑色均一凝胶状, 最高可负载0.64 mg mL⁻¹ rGO。

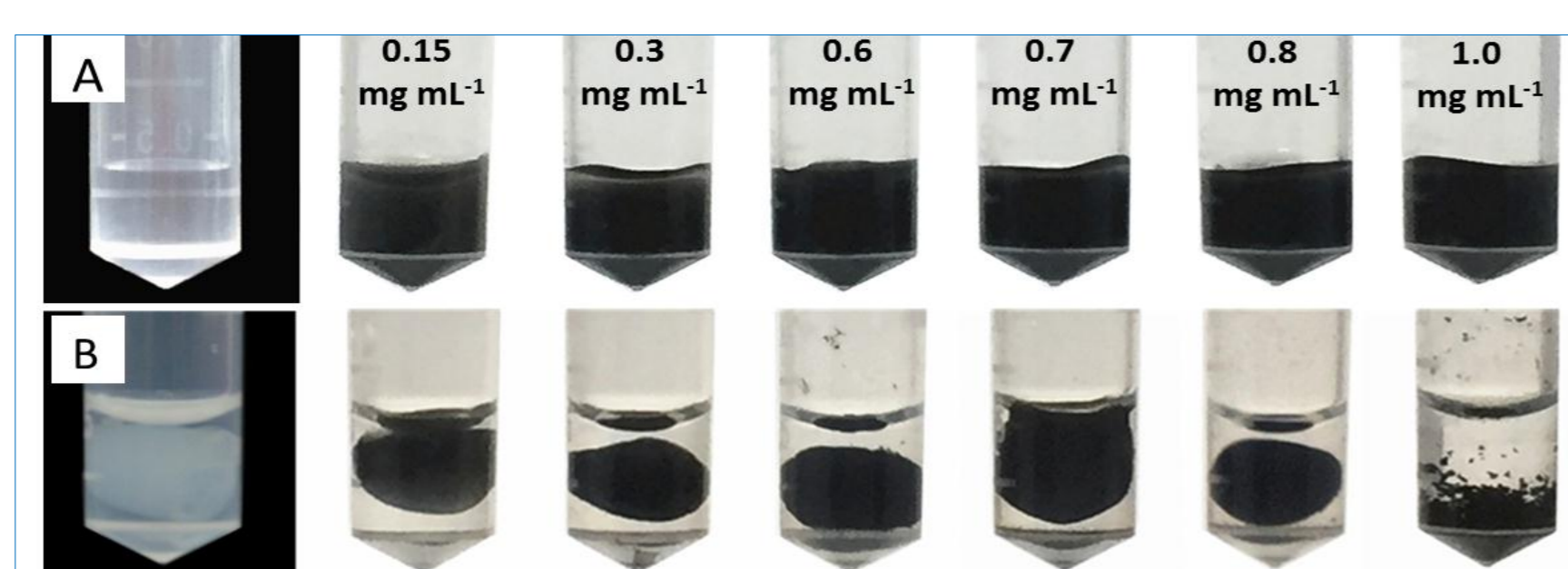


Fig. 2. Photographs of fibrin and fibrin-adhered-rGO CBNCs before (A) and after (B) the coagulation.

Fibrin-adhered-rGO CBNCs具有三维网状支撑的多孔结构, 纤维蛋白纤维支撑并交联相邻的rGO纳米片, 使得其修饰电极具有良好的导电能力和电化学活性。

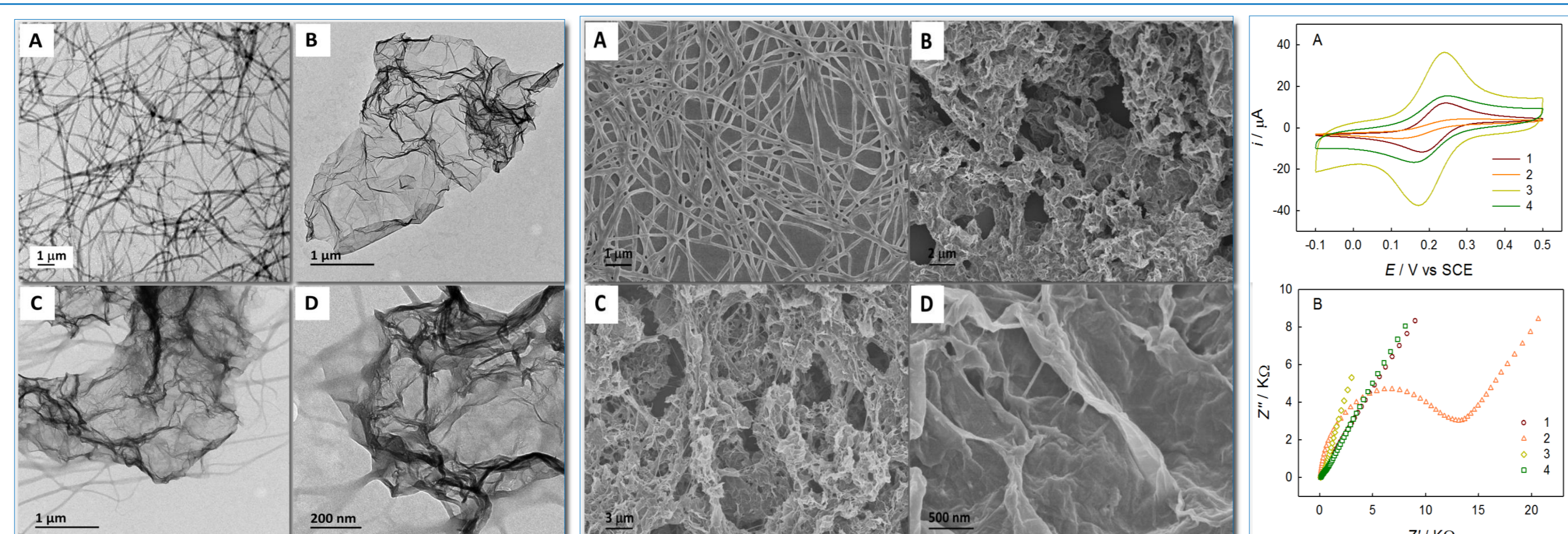


Fig. 3. (Left) TEM and (middle) SEM images of (A) fibrin, (B) rGO and (C, D) fibrin-adhered-rGO CBNCs. (Right) Cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy of (1) bare Au, (2) fibrin/Au, (3) rGO/Au, (4) fibrin-adhered-rGO CBNCs/Au electrodes.

- 得益于fibrin及rGO对PtNPs的超高固定能力, Fibrin-adhered-rGO CBNCs对PtNPs (5.2 mg L⁻¹) 的负载率高达95%。
- 大量PtNPs较均匀地负载在rGO纳米片上并与rGO协同发挥催化作用, 降低了H₂O₂氧化电位, 检测H₂O₂灵敏度高达578 $\mu\text{A cm}^{-2} \text{mM}^{-1}$ 、线性范围0.5 μM -5.6 mM、检测限0.5 μM (S/N=3), 性能优于大多数同类传感器。

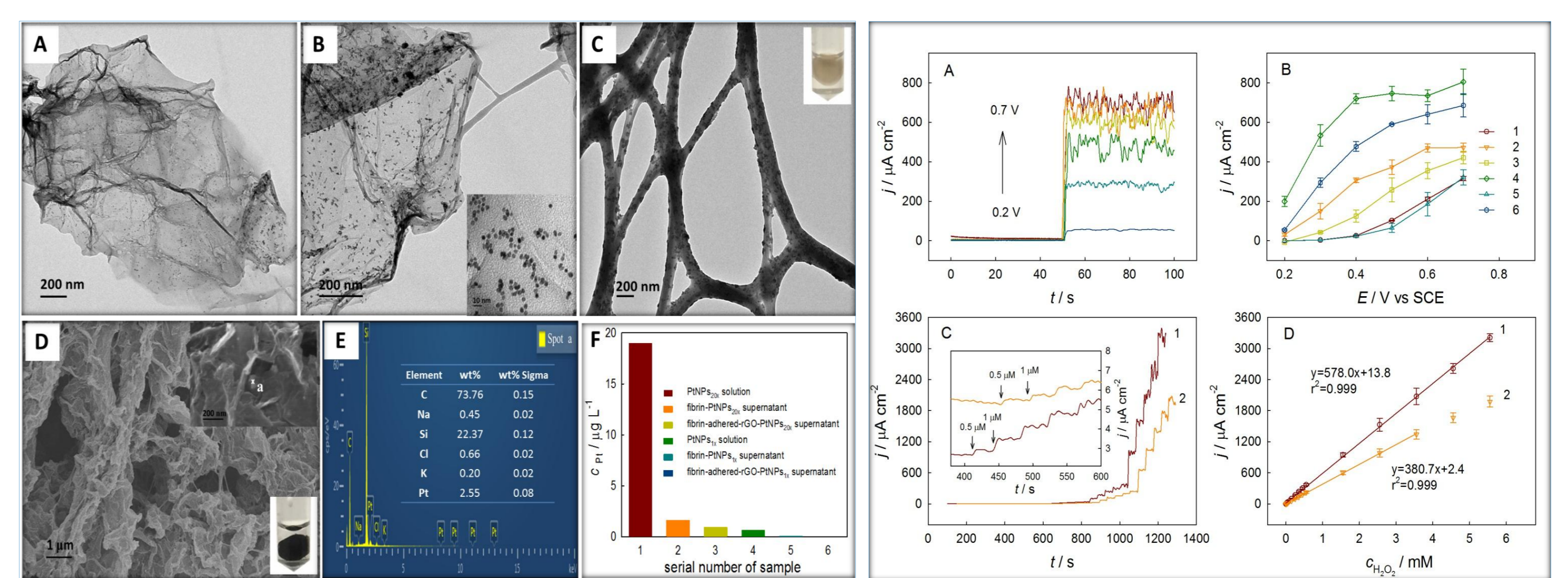


Fig. 4. (Left) (A, B) TEM, (D) SEM images and (E) energy dispersive spectrometer mapping of fibrin-adhered-rGO-PtNPs CBNCs. (C) TEM image of fibrin-PtNPs biocomposites. (F) ICP-MS results for the supernatant of different bionanocomposites. All the supernatant were diluted before the measurements. (Right) (A) Chronoamperometric responses of fibrin-adhered-rGO-PtNPs CBNCs/Au electrodes to 1 mM H₂O₂. (B) The static current responses of (1) fibrin, (2) rGO, (3) fibrin-adhered-rGO CBNCs, (4) PtNPs, (5) fibrin-PtNPs biocomposites, (6) fibrin-adhered-rGO-PtNPs CBNCs modified Au electrodes to 1 mM H₂O₂. (C) Chronoamperometric responses to successive additions of H₂O₂ at 0.7 V and (D) calibration curves on (1) fibrin-adhered-rGO-PtNPs CBNCs/Au and (2) fibrin-adhered-rGO CBNCs/Au electrodes.

Fibrin-adhered-rGO CBNCs较任一成分 (fibrin或rGO) 对GOx有高的负载效率, 检测葡萄糖性能也明显高于其他同类传感器。

	Sensitivity ($\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$)	LDR (μM)	LOD (μM)
1	92.8	10-2550	0.5
2	64.7	10-1550	0.7
3	43.5	10-1550	0.8

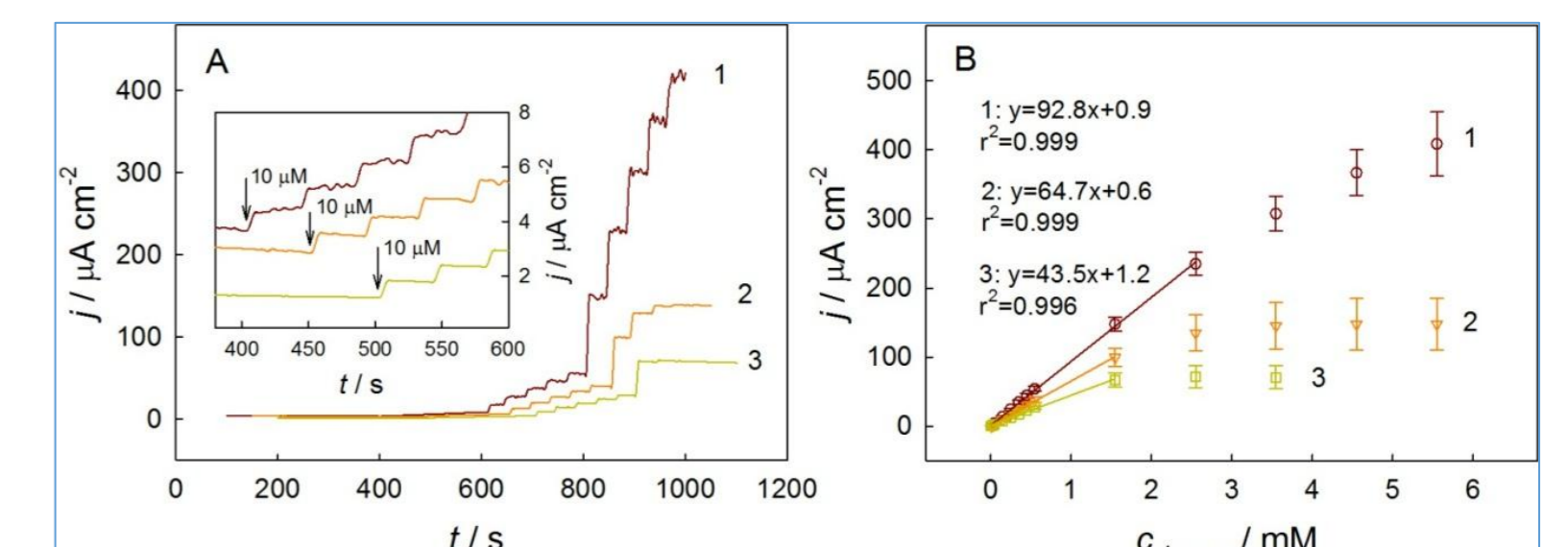


Table 1 Biosensing performances of fibrin (1) fibrin-adhered-rGO-PtNPs-GOx CBNCs, (2) fibrin-adhered-rGO-GOx CBNCs and (3) fibrin-GOx biocomposites based biosensors.

Fig. 5 Chronoamperometric responses to successive additions of glucose at 0.7 V on (1) fibrin-adhered-rGO-PtNPs-GOx CBNCs/Au, (2) fibrin-adhered-rGO-GOx CBNCs/Au and (3) fibrin-GOx BNCs/Au electrodes.

结论

- 温和条件下, 通过一步原位酶触发反应制备了纤维蛋白-石墨烯导电生物纳米复合物, 该方法有望发展为通用方法制备性能良好的导电生物材料。
- 该纤维蛋白-石墨烯导电生物纳米复合物集成了良好的导电/电化学性能与生物传感性能 (对生物材料及其他功能材料有极高的固定能力), 有望应用于高性能电化学生物传感领域。

参考文献

Han, F.; Qi, X.; Li, L.; Bu, L.; Fu, Y.; Xie, Q.; Guo, M.; Li, Y.; Ying, Y. and Yao, S., Adv. Funct. Mater., 2014, 24: 5011-5018.

致谢

本研究由国家自然科学基金委 (No.21105026, 21505120), 沃尔玛百货公司国际合作研究项目“优质优禽计划” (0402-70013-21-0000) 资助。

Contact: Dr. Yingchun Fu; ycfu@zju.edu.cn; Zhejiang University.