实验步骤（体积减半?）

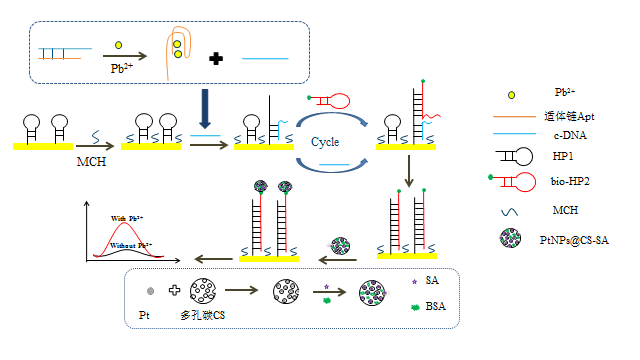
适体链序列：

Apt:5’-GGGTGGGTGGGTGGGTAT-3’（18bp）

c-Apt:5’-TCATACCCACCCACC-3’（15bp）

HP1: 5’- SH-TTTTGGGTGGGTATGACCACCGCCCACCCA-3’ (30bp)

HP2:5’-bio-TACTGGGTATGACTTGGGTGGGCGGTGGTCATACCCAC-3’(38bp)



材料：PdPtNPs-CS（SA、BSA）

1.适体链序列：1:1比例杂交（10μL，2.5μM）进行退火处理 母液100μM

2.（HP1在室温下在黑暗中通过TCEP将二硫键降低2小时）

HP1和HP2 发夹结构在95℃加热5分钟并缓慢冷却（2h）以形成茎-环结构。（10μL，2.5μM）。

3.电极清洗活化后，将HP1滴加到电极上孵育16h（室温），之后冲洗电极以除去未结合的HP1。加入（10μL，1.0μM ）MCH封闭电极（30min）。清洗电极后10μL向电极上添加适体链与互补链和不同浓度Pb2+的混合物（37℃温育1.5h），缓冲溶液冲洗， HP2 添加到电极上（37℃温育1.5h） （同时添加？2h）

最后将材料添加到电极上。

4.缓冲液Tric-HCL，工作缓冲液PBS（pH=7.4）

溶液的配制：

1. Apt的溶解：购买的核酸适体统一在冰箱 -20°C下存放，取出使用时以10000 r/min速度离心 2 min。打开管盖，向管中加入 28 μL已经灭菌的Tris-HCl缓冲液 (pH7.4、0.2 mol/L NaCl、1.0 mmol/L EDTA) ，盖上盖用涡旋混匀仪震荡摇匀，即配置100 μmol/L的母液。进行分装，之后将母液进行浓度稀释，各配制成所需浓度的工作液，-20℃保存备用。
2. cDNA的溶解：购买的核酸适体统一在冰箱 -20℃下存放，取出使用时以10000 r/min速度离心 2 min。打开管盖，向管中加入 93 μL已经灭菌的Tris-HCl缓冲液 (pH7.4、0.2 mol/L NaCl、1.0 mmol/L EDTA) ，盖上盖用涡旋混匀仪震荡摇匀，即配置100 μmol/L的母液，-20 ℃保存备用。
3. 5 μmol/L的Apt：用移液枪取 10 μL、100 μmol/L的母液于1 mL离心管中，再取 190 μL Tris-HCl缓冲液加入其中，盖上盖子，用可调式涡旋混匀仪震荡混匀，-20 ℃保存备用。使用前要拿到冰箱上层解冻。
4. 0.1 mmol/L的MCH：用移液枪取 4 μL MCH加入 10 mL的棕色试剂瓶中，再取 3996 μL无水乙醇加入其中，用涡旋混匀仪混匀备用。
5. 0.5 mol/L的H2SO4：用分析天平准确称取24.520 g的H2SO4溶液，用蒸馏水在烧杯中稀释，再定容到500 mL容量瓶中，备用。
6. 5 mmol/L的K3[Fe(CN)6]溶液(0.05 mol/L的KCl)：用分析天平准确称取 1.646 g的K3[Fe(CN)6]固体和3.728 g的KCl固体，在烧杯中加蒸馏水溶解，再定容至1000 mL的容量瓶中，备用。（测CV）
7. 10 mmol/L的K3[Fe(CN)6]溶液(其中含0.10 mol/L的KCl) ：用分析天平准确称取3.293 g的K3[Fe(CN)6]固体、4.224 g的K4Fe(CN)6•3H2O和7.455 g的KCl固体，在烧杯中加蒸馏水溶解，再定容至 1000 mL的容量瓶中制成，备用。（测ESI）
8. 50 mmol/L的Tris-HCl (pH7.4、0.2 mol/L NaCl、1.0 mmol/L EDTA) ：用分析天平称取 6.056 g Tris，11.688 g NaCl，0.292 g EDTA，在烧杯中加蒸馏水溶解，然后定容至1000 mL棕色容量瓶中，高压灭菌后，待至室温，用精密酸度计滴加HCl调至pH为7.4，室温保存备用。
9. 0.5 mmol/L的Th溶液：称取 0.014 g Th固体，在烧杯中加蒸馏水溶解，定容到100 mL的棕色容量瓶中，备用。
10. 10 mg/mL的Th溶液：称取0.100 g Th固体，在烧杯中加蒸馏水溶解，然后定容到10 mL的棕色容量瓶中，备用。
11. 1 μg/mL的Pb2+溶液：用量程为 10 μL的移液枪取1 μL、1 mg/mL的OTA溶液于 2 mL离心管中，再用量程为 1000 μL的移液枪取 999 μL Tris-HCl缓冲液于其中，用涡旋混匀仪混匀之后放在冰箱上层保存，备用。
12. 0.01 mol/L SDS：称取 0.0288 g SDS在烧杯中加蒸馏水溶解，定容到 10 mL的容量瓶中，备用。
13. 0.01 mol/L AA：称取 0.0176 g AA在烧杯中加蒸馏水溶解，定容到 10 mL的棕色容量瓶中，备用。
14. 0.01 mol/L AgNO3溶液：称取 0.017 g AgNO3在烧杯中加蒸馏水溶解，定容到 10 mL的棕色容量瓶中，备用。
15. 1.5% 柠檬酸三钠溶液：称取 1.500 gC6H5Na3O7•2H2O在烧杯中加蒸馏水溶解，定容到 100 mL的容量瓶中，备用。
16. 1 mol/L HCl溶液：称取 0.365 g HCl于烧杯中加蒸馏水溶解，定容到 10 mL的容量瓶中，备用。
17. 0.1 mol/L HAuCl4：购买的HAuCl4常用规格是 1 g/瓶，若购买的是HAuCl4•3H2O规格，只需要加 25 mL冰冻超纯水即配成0.1 mol/L HAuCl4溶液；若购买的是HAuCl4•4H2O规格，只需要加24 mL冰冻超纯水即配成0.1 mol/L HAuCl4溶液。
18. 1 wt% HAuCl4：用移液枪吸取 2.4 mL 0.1 mol/L HAuCl4加7.6mL冰冻超纯水即配成1wt% HAuCl4溶液。
19. 1mmol/L HAuCl4：用移液枪吸取500 μL 0.1 mol/L HAuCl4加 49.5 mL冰冻超纯水即配成1 mmol/L HAuCl4溶液。
20. 10mg/mL CTAB：称取 0.100 g CTAB于烧杯中加蒸馏水溶解，定容到 100 mL的容量瓶中，备用。
21. 0.1 mol/L乙酸溶液：称取 0.150 g 乙酸于烧杯中加蒸馏水溶解，定容到 25 mL的容量瓶中，备用。
22. 1% 壳聚糖(CS)溶液：称取 5.000 g CS于烧杯中加 0.1 mol/L乙酸溶液溶解，定容到 500 mL的容量瓶中，备用。
23. PBS缓冲溶液
24. BSA
25. SA
26. TCEP

47.作为脱氧核糖核酸酶杂交缓冲液的TNaK缓冲液含有20mM Tris-HCL，140mM NaCl，5mM KCl（pH7.4）。

CHA反应缓冲液：20mM Tris-HCl，140mM NaCl，5mM KCl，1mM CaCl 2和1mM MgCl 2（pH7.4）。

电化学阻抗谱（EIS）缓冲液：0.1M PBS，10mM [Fe（CN）6] 3- / 4-和0.1M KCl（pH7.4）。

差示脉冲伏安法（DPV）和循环伏安法（CV）缓冲液：20mM Tris-HCl，140mM NaCl和5mM MgCl 2（pH7.4）。

65. 1×TE缓冲液（10mM三羟甲基氨基甲烷盐酸盐（Tris-HCl）和1.0mM乙二胺四乙酸（EDTA），pH8.0），其用于溶解所有寡核苷酸。

72. 首先，为了获得10μM的部分DNA双链体（S1 / S3），将10μLS1（10μM，HB）和10μLS3（10μM，HB）的混合物加热至95℃。 5分钟后自然冷却至室温。

47.10mM TCEP缓冲液（10mM TCEP，20mM Tris-HCl，140mM NaCl，5.0mM KCl，pH7.4）

适体，铅，互补链，HP2同时加？

47. 将4μL酶链和底物链杂合化合物与4μL不同浓度的Pb2 +在37℃下反应60分钟。在此过程中，Pb2 +特异性DNAzyme获得其切割活性，并在'rA'位点将SS切割成两个片段。加入2μL发夹信号DNA（H2的最终浓度为0.8μM）后，将混合物滴加到Au电极表面并在37℃在黑暗中温育2小时。

61.将10μL包含H 2（2μM）和不同浓度的miRNA-155（靶标）的混合物溶液滴加到修饰电极中，然后在37℃下孵育120分钟。

62.将制备的电极浸入各种浓度的10μLmiR-122标准溶液和10μL示踪生物缀合物的混合物中，并在45℃温育75分钟。

63. 将含有15μL生物素化的H2（2μm）和10μL不同浓度的靶miRNA的混合物在修饰的电极上于37℃温育2小时。

94. 将10μLMUC1-aptemer化合物和10μLH2同时滴加到HT / H1 / AuNPs / TiO 2 / GCE上

96.DNAzyme铅互补链1.5h,之后加入H2 1.5h。

97. 并 在H1 / AuNPs / WO 3 -Gr / GCE 上加入 8μL 含有不同浓度的靶miRNA和H 2（T-H 2）的混合物，并在37 ℃下孵育90min