



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110514825 A

(43)申请公布日 2019. 11. 29

(21)申请号 201910895003.9

(22)申请日 2019.09.20

(71)申请人 复旦大学

地址 200433 上海市杨浦区邯郸路220号

申请人 中山泰辉生物科技有限公司

(72)发明人 李富友 刘青昀 冯玮 吴勇

(74)专利代理机构 北京慕达星云知识产权代理
事务所(特殊普通合伙)
11465

代理人 赵徐平

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

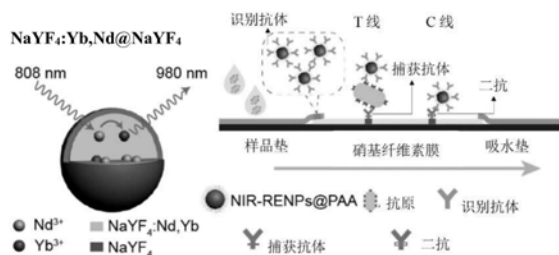
权利要求书1页 说明书11页 附图14页

(54)发明名称

一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫
层析检测方法

(57)摘要

本发明公开了一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法,以近红外发光稀土纳米材料作为免疫荧光标记物标记识别抗体,进行免疫层析检测;近红外发光稀土纳米材料具有如下特征:(1)激发光和发射光均位于700-1700nm的近红外光区域;(2)激发波长小于发射波长,为正斯托克斯位移发光,且斯托克斯位移大于150nm;(3)荧光量子效率QY高于1%;(4)荧光寿命大于10微秒;(5)光稳定性优于有机染料。使用本发明方法进行免疫层析检测,荧光标记物的稳定性更好、荧光发射更强,检测结果具有更好的重复性。



1. 一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法,其特征在于,以近红外发光稀土纳米材料作为免疫荧光标记物标记识别抗体,进行免疫层析检测;所述近红外发光稀土纳米材料具有如下特征:

- (1) 激发光和发射光均位于700-1700nm的近红外光区域;
- (2) 激发波长小于发射波长,为正斯托克斯位移发光,且斯托克斯位移大于150nm;
- (3) 荧光量子效率QY高于1%;
- (4) 荧光寿命大于10微秒;
- (5) 光稳定性优于有机染料。

2. 根据权利要求1所述的一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法,其特征在于,所述近红外发光稀土纳米材料激发光波长为 $730 \pm 10\text{nm}$ 、 $800 \pm 10\text{nm}$ 、 $915 \pm 10\text{nm}$ 或 $980 \pm 10\text{nm}$,发射光波长为 $890 \pm 50\text{nm}$ 、 $980 \pm 50\text{nm}$ 、 $1060 \pm 50\text{nm}$ 、 $1150 \pm 50\text{nm}$ 或 $1530 \pm 50\text{nm}$ 。

3. 根据权利要求1所述的一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法,其特征在于,所述近红外发光稀土纳米材料包括内核,并且所述内核为无机基质掺杂离子;

所述无机基质包括 NaLnF_4 、 LiLnF_4 或 LnF_3 ,其中 $\text{Ln}=\text{Y}$ 、 Yb 、 Gd 或 Lu ;

所述掺杂的离子包括 Nd^{3+} 、 Yb^{3+} 、 Er^{3+} 、 Ho^{3+} 或 Ce^{3+} 中的任意一种或多种。

4. 根据权利要求3所述的一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法,其特征在于,所述近红外发光稀土纳米材料还包括壳层;所述壳层为一层或多层,包覆于所述内核外;

所述壳层的基质为包括 NaLnF_4 、 LiLnF_4 或 CaF_2 ,其中 $\text{Ln}=\text{Y}$ 、 Yb 、 Gd 或 Lu 。

5. 根据权利要求4所述的一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法,其特征在于,所述壳层的基质掺杂离子,所述掺杂的离子包括 Nd^{3+} 、 Yb^{3+} 、 Er^{3+} 、 Ho^{3+} 或 Ce^{3+} 中的任意一种或多种。

6. 根据权利要求1所述的一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法,其特征在于,包括如下步骤:

- (1) 合成近红外发光稀土纳米材料;
- (2) 对近红外发光稀土纳米材料进行表面功能化修饰;
- (3) 使用经表面功能化修饰的近红外发光稀土纳米材料偶联识别抗体;
- (4) 制备包被检测抗体的硝基纤维素膜;
- (5) 将硝基纤维素膜组装成试纸条;
- (6) 以近红外发光稀土纳米材料作为识别抗体荧光标记进行抗原检测。

一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于免疫层析检测技术领域,具体涉及一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法。

背景技术

[0002] 血液等生物样本对近红外光的吸收和散射远弱于可见光,且生物样本在近红外光区域内无明显的自发荧光,使用近红外作为检测信号可以降低背景干扰、减少信号衰减。因此,近红外发光材料逐渐被应用到免疫层析领域中。

[0003] 目前大多数研究人员选择近红外发光有机染料用于免疫层析;然而近红外有机染料在水溶液中发光量子效率通常非常低,且光学稳定性差,主要表现在易出现光漂白和光降解等现象,不可长时间放置在正常灯光照射下;此外,近红外有机染料化学稳定性差,配制成溶液极易分解,不能长时间保存,通常会带来发光强度的衰减或者发射波长的位移。因此使用近红外有机染料作为荧光标志物时需要更加苛刻的检测条件,且检测结果的可重复性差。

[0004] 与之相比,近红外发光稀土纳米材料稳定性良好,且发光强度几乎不受溶剂、光照等外界因素的影响,有利于实现近红外免疫层析的高灵敏检测。然而现有的近红外发光稀土纳米材料发光量子效率非常低,通常低于1%,材料的发光亮度非常有限,对免疫层析检测的灵敏度会造成较大影响。

[0005] 因此,如何将近红外发光稀土纳米材料应用于免疫层析检测中,提供一种背景荧光低、检测信噪比高,检测灵敏度高的检测方法是本领域亟待解决的问题。

发明内容

[0006] 本发明公开了一种利用正斯托克斯位移发光的近红外发光稀土纳米材料作为标记物进行免疫层析检测;与已有的近红外免疫层析方法相比,其荧光标记物的稳定性更好、荧光发射更强,检测结果具有更好的重复性。

[0007] 为了实现上述目的,本发明采用如下技术方案:

[0008] 一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法,以近红外发光稀土纳米材料作为免疫荧光标记物标记识别抗体,进行免疫层析检测;近红外发光稀土纳米材料具有如下特征:

[0009] (1) 激发光和发射光均位于700-1700nm的近红外光区域;

[0010] (2) 激发波长小于发射波长,为正斯托克斯位移发光,且斯托克斯位移大于150nm;

[0011] (3) 荧光量子效率QY高于1%;

[0012] (4) 荧光寿命大于10微秒;

[0013] (5) 光稳定性优于有机染料。

[0014] 优选地,近红外发光稀土纳米材料激发光波长为 $730 \pm 10\text{nm}$ 、 $800 \pm 10\text{nm}$ 、 $915 \pm 10\text{nm}$ 或 $980 \pm 10\text{nm}$,发射光波长为 $890 \pm 50\text{nm}$ 、 $980 \pm 50\text{nm}$ 、 $1060 \pm 50\text{nm}$ 、 $1150 \pm 50\text{nm}$ 或 $1530 \pm$

50nm。

[0015] 优选地,近红外发光稀土纳米材料荧光寿命大于10微秒。

[0016] 进一步优选地,近红外发光稀土纳米材料荧光寿命大于100微秒。

[0017] 优选地,近红外发光稀土纳米材料尺寸小于200nm。

[0018] 进一步优选地,近红外发光稀土纳米材料尺寸小于80nm。

[0019] 进一步优选地,近红外发光稀土纳米材料斯托克斯位移大于500nm。

[0020] 优选地,近红外发光稀土纳米材料包括内核,并且内核为无机基质掺杂离子;

[0021] 无机基质包括 NaLnF_4 , LiLnF_4 或 LnF_3 ,其中 $\text{Ln}=\text{Y}$ 、 Yb 、 Gd 或 Lu ;

[0022] 掺杂的离子包括 Nd^{3+} 、 Yb^{3+} 、 Er^{3+} 、 Ho^{3+} 或 Ce^{3+} 中的任意一种或多种。

[0023] 优选地,近红外发光稀土纳米材料还包括壳层;壳层为一层或多层,包覆于内核外;

[0024] 壳层的基质为包括 NaLnF_4 , LiLnF_4 或 CaF_2 ,其中 $\text{Ln}=\text{Y}$ 、 Yb 、 Gd 或 Lu 。

[0025] 优选地,壳层的基质掺杂离子,掺杂的离子包括 Nd^{3+} 、 Yb^{3+} 、 Er^{3+} 、 Ho^{3+} 或 Ce^{3+} 中的任意一种或多种。

[0026] 进一步优选地,掺杂的离子或离子对包括: Nd^{3+} , $\text{Nd}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$, $\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$, $\text{Nd}^{3+}/\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$, $\text{Yb}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$ 等。

[0027] 优选地,上述基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法,包括如下步骤:

[0028] (1) 合成近红外发光稀土纳米材料;

[0029] (2) 对近红外发光稀土纳米材料进行表面功能化修饰;

[0030] (3) 使用经表面功能化修饰的近红外发光稀土纳米材料偶联识别抗体;

[0031] (4) 制备包被检测抗体的硝基纤维素膜;

[0032] (5) 将硝基纤维素膜组装成试纸条;

[0033] (6) 以近红外发光稀土纳米材料作为识别抗体荧光标记进行抗原检测。

[0034] 进一步优选地,步骤(2)中的功能化修饰为羧基修饰,修饰方法包括通过电荷相互作用吸附;通过硅源物质水解在近红外发光稀土纳米材料表面形成二氧化硅壳层,并在二氧化硅壳层引入羧基;通过配体氧化引入羧基;通过超分子主客体自组装引入羧基。

[0035] 步骤(3)具体为:取经表面功能化修饰的近红外发光稀土纳米材料,加缓冲液离心,沉淀分散于缓冲液中,加入羧基氨基偶联催化剂,活化10-60min。离心取沉淀,使用缓冲液分散,加入识别抗体,室温下反应3-24h,之后加入封闭剂进行封闭。离心取沉淀,即为近红外发光稀土纳米材料标记的识别抗体,分散于缓冲液中,4℃保存。

[0036] 步骤(4)具体为:将硝基纤维素膜粘贴在PVC底板的中间,将T线和C线的抗体分别用缓冲溶液稀释至一定浓度,用划膜仪将抗体划到硝基纤维素膜上进行包被。划好的膜放置在37℃烘箱处理3-24h。

[0037] 步骤(5)具体为:在粘贴了硝基纤维素膜的PVC底板的一端粘贴样品垫/结合垫(与硝基纤维素膜部分重叠),另一端粘贴吸水垫(与硝基纤维素膜部分重叠),得到试纸板。将试纸板切割成小条,并将小条装载于塑料外壳内,得到免疫层析试纸条。

[0038] 样品垫为抗原与近红外发光稀土纳米材料标记的识别抗体混合加样;结合垫是由偶联了可识别抗原的识别抗体的稀土纳米材料配制成混合溶液,喷涂于玻璃纤维膜上制得;加样时加入待测抗原即可。

[0039] 综上,本发明利用正斯托克斯位移发光的近红外发光稀土纳米材料作为免疫层析标记物,通过近红外光激发、近红外光发射进行免疫层析检测。该方法与可见光荧光免疫层析法相比,背景荧光低,检测信噪比高,检测灵敏度高。与现有的近红外免疫层析方法相比,荧光标记物的稳定性好、荧光发射更强,检测结果重复性强。

附图说明

- [0040] 图1.实施例1中 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}$ 和 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的TEM照片。
- [0041] 图2.实施例1中 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的荧光光谱图。
- [0042] 图3.实施例1中 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的荧光寿命谱图。
- [0043] 图4.实施例2中 $\text{LiYF}_4:\text{Nd}$ 的TEM照片。
- [0044] 图5.实施例2中 $\text{LiYF}_4:\text{Nd}$ 在808nm的激光照射下的荧光光谱图。
- [0045] 图6.实施例2中 $\text{LiYF}_4:\text{Nd}$ 在730nm的激光照射下的的荧光光谱图。
- [0046] 图7.实施例3中 $\text{NaYbF}_4:\text{Er},\text{Ce}@\text{NaYF}_4:\text{Yb}@\text{NaYbF}_4:\text{Nd}@\text{CaF}_2$ 的TEM照片。
- [0047] 图8.实施例3中 $\text{NaYbF}_4:\text{Er},\text{Ce}@\text{NaYF}_4:\text{Yb}@\text{NaYbF}_4:\text{Nd}@\text{CaF}_2$ 的荧光光谱图。
- [0048] 图9.实施例4中 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Ho}$ 的TEM照片。
- [0049] 图10.实施例4中 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Ho}$ 的荧光光谱图。
- [0050] 图11.实施例5中 $\text{NaYbF}_4:\text{Er},\text{Ce}@\text{NaYF}_4$ 的TEM照片。
- [0051] 图12.实施例5中 $\text{NaYbF}_4:\text{Er},\text{Ce}@\text{NaYF}_4$ 的荧光光谱图。
- [0052] 图13.实施例6中成像仪上 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Tm}@\text{NaYF}_4$ 和 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的信号强度对比。
- [0053] 图14.实施例7中对照组可见光发光材料的发射光谱图。
- [0054] 图15.实施例7中FBS对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 和可见光发光材料(Eu-PS)的荧光信号的影响。
- [0055] 图16.实施例8中对照组有机染料花菁Cy7的吸收和发射光谱,最大吸收峰位于780nm,最大发射峰位于800nm。
- [0056] 图17.实施例8中用相同功率、相同波长的激光照射有机染料和 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$,其荧光信号随时间的变化曲线。
- [0057] 图18.实施例9中聚丙烯酸分子结构图。
- [0058] 图19.实施例9中聚丙烯酸修饰的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的红外光谱图。
- [0059] 图20.实施例11中羧基乙基三醇钠盐分子结构图。
- [0060] 图21.实施例11中修饰有羧基功能化二氧化硅壳层的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的红外光谱图。
- [0061] 图22.实施例13中葫芦脲[7]分子结构图。
- [0062] 图23.实施例14中羧基化稀土纳米材料偶联识别抗体的示意图。
- [0063] 图24.实施例14中免疫层析试纸条加样示意图。
- [0064] 图25.实施例14中随着甲胎蛋白抗原浓度的变化,试纸条上T线和C线信号强度的变化图像。
- [0065] 图26.实施例14中 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 近红外稀土纳米材料用于甲胎蛋白的免疫层析检测的标准曲线。

[0066] 图27. 实施例15中 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 近红外稀土纳米材料用于C反应蛋白的免疫层析检测的标准曲线。

[0067] 图28. 实施例16中 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 近红外稀土纳米材料用于转铁蛋白的免疫层析检测的标准曲线。

具体实施方式

[0068] 下面对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0069] 实施例1: $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 近红外稀土纳米材料的制备及其发光性质

[0070] (1) 用溶剂热法合成 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$

[0071] 制备内核 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}$:

[0072] 称取1mmol的稀土醋酸盐 $\text{Ln}(\text{CH}_3\text{COO})_3$ (其中醋酸钇 $\text{Y}(\text{CH}_3\text{COO})_3$ 占33%,醋酸镱 $\text{Yb}(\text{CH}_3\text{COO})_3$ 占7%, $\text{Nd}(\text{CH}_3\text{COO})_3$ 占60%)投入100mL的三口瓶中,加入6mL油酸和15mL 1-十八烯;在氮气氛围下升温至120℃,搅拌直至固体完全溶解。

[0073] 随后停止加热,将溶液冷却至室温,加入含2.5mmol NaOH和4mmol NH_4F 的甲醇溶液10mL;在氮气吹扫下,将溶液升温至120℃以除去溶液中的甲醇;最后将溶液升温至300℃并维持1h。

[0074] 反应完成后,体系冷却至室温,将溶液离心获得的沉淀即为内核 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}$;将 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}$ 分散在环己烷中备用。

[0075] 合成 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 核壳结构:

[0076] 取1mmol醋酸钇 $\text{Y}(\text{CH}_3\text{COO})_3$,投入100mL的三口瓶中,加入6mL油酸和15mL 1-十八烯;在氮气氛围下升温至120℃,搅拌直至固体完全溶解。

[0077] 随后停止加热,将溶液冷却至室温,加入含2.5mmol NaOH和4mmol NH_4F 的甲醇溶液10mL,同时将分散于环己烷中 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}$ 投入三口瓶中;在氮气吹扫下,将溶液升温至120℃以除去溶液中的甲醇;最后将溶液升温至300℃并维持1h。

[0078] 反应完成后,体系冷却至室温,将溶液离心获得的沉淀即为 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$,使用该方法获得的纳米材料表面具有油酸配体配位;将 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 分散在环己烷中备用。

[0079] 用透射电镜表征 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}$ 和 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的形貌,结果如图1所示,内核 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}$ 的粒径为19.2nm,核壳结构 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的粒径为28.6nm。

[0080] (2) 发光性质研究

[0081] 对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 进行光谱表征:在荧光光谱仪上,用一束808nm的激光照射样品,采集900-1200nm范围内的光谱。结果如图2所示,最大发射波长位于980nm,激发光与发射光的斯托克斯位移为172nm。

[0082] 对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 进行荧光寿命表征:在荧光光谱仪上,用808nm脉冲激光照射样品,采集 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 在980nm处发射光的荧光寿命。结果如图3所示,拟合得到 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 在980nm处发射光的荧光寿命为365.26 μs 。利用积分球和公式 $\text{QY}(\%) =$

$(N_{em}/N_{abs}) \times 100\%$ 可计算得出绝对荧光量子效率为20%。(其中 N_{em} 是材料吸收的光子数, N_{abs} 是材料发射的光子数)

[0083] 实施例2:LiYF₄:Nd近红外稀土发光纳米材料的制备及发光性质

[0084] (1) LiYF₄:Nd的合成

[0085] 称取0.95mmolYCl₃,0.05molNdCl₃,油酸6mL,1-十八烯15mL投入100mL三口瓶中;抽真空以除去体系中的氧气和水,升温至130℃,直至固体完全溶解,溶液澄清透明。

[0086] 随后将溶液冷却至室温,滴加含0.106g LiOH和0.148gNH₄F的甲醇溶液8mL。通氮气,将溶液升温至120℃除甲醇,30min后将反应体系密闭,快速升温至300℃,维持90min。反应完成后,体系冷却至室温,将溶液离心获得的沉淀即为LiYF₄:Nd;将LiYF₄:Nd分散在环己烷中备用。

[0087] 用透射电镜表征材料的形貌,结果如图4所示,LiYF₄:Nd形貌为多面体形状,尺寸为17.9×26.6nm。

[0088] (2) 发光性质研究

[0089] 对LiYF₄:Nd进行光谱表征:在荧光光谱仪上,用一束808nm的激光照射样品,采集830-1400nm范围内的光谱。结果如图5所示,最大发射波长为1060nm,激发光与发射光的斯托克斯位移是252nm。利用积分球和公式 $QY(\%) = (N_{em}/N_{abs}) \times 100\%$ 可计算得出绝对荧光量子效率为28%。(其中 N_{em} 是材料吸收的光子数, N_{abs} 是材料发射的光子数)

[0090] 此外,用一束730nm的激光照射样品,同样采集830-1400nm范围内的光谱,结果如图6所示,发射峰位于890nm、1060nm、1330nm,激发光与发射光的斯托克斯位移是160nm、330nm、600nm。

[0091] 实施例3:NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb@NaYbF₄:Nd@CaF₂近红外发光纳米材料的制备及发光性质

[0092] (1) NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb@NaYbF₄:Nd@CaF₂的合成

[0093] 称取1mmol稀土三氟乙酸盐Ln(CF₃COO)₃(其中Yb(CF₃COO)₃占93%,Er(CF₃COO)₃占2%,Ce(CF₃COO)₃占5%)投入100mL三口瓶中,加入10mmol油酸、10mmol油胺和20mmol1-十八烯;在氮气氛围下升温至120℃,搅拌直至固体完全溶解。随后停止加热,将溶液冷却至室温,加入含2.5mmolNaOH和4mmolNH₄F的甲醇溶液10mL;在氮气吹扫下,将溶液升温至120℃以除去溶液中的甲醇;最后将溶液升温至300℃,维持30min。待反应完成后,体系冷却至室温,将溶液离心获得的沉淀即为NaYbF₄:Er,Ce;将NaYbF₄:Er,Ce分散在环己烷中备用。

[0094] 称取1mmol稀土三氟乙酸盐Ln(CF₃COO)₃(其中Y(CF₃COO)₃占90%,Yb(CF₃COO)₃占10%)、10mmol油酸、10mmol 1-十八烯,投入100mL三口瓶中,加入含2.5mmolNaOH和4mmolNH₄F的甲醇溶液10mL,并投入分散在环己烷中的NaYbF₄:Er,Ce。将混合物置于氮气氛围下升温至120℃,除去溶液中的环己烷,搅拌直至固体完全溶解。随后封闭反应体系,溶液升温至300℃,维持30min。待反应完成后,体系冷却至室温,将溶液离心获得的沉淀即为NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb;将NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb分散在环己烷中备用。

[0095] 称取1mmol稀土三氟乙酸盐Ln(CF₃COO)₃(其中Yb(CF₃COO)₃占70%,Nd(CF₃COO)₃占30%)、10mmol油酸、10mmol 1-十八烯,投入100mL三口瓶中,加入含2.5mmolNaOH和4mmolNH₄F的甲醇溶液10mL,并投入分散在环己烷中的NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb。将混合物置于氮气氛围下升温至120℃,除去溶液中的环己烷,搅拌直至固体完全溶解。随后封闭反应

体系,溶液升温至300℃,维持30min。待反应完成后,体系冷却至室温,将溶液离心获得的沉淀即为NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb@NaYbF₄:Nd;将NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb@NaYbF₄:Nd分散在环己烷中备用。

[0096] 称取1mmol Ca(CF₃COO)₂、10mmol油酸、10mmol 1-十八烯,投入100mL三口瓶中,并投入分散在环己烷中的NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb@NaYbF₄:Nd。将混合物置于氮气氛围下升温至120℃,除去溶液中的环己烷,搅拌直至固体完全溶解。随后封闭反应体系,溶液升温至300℃,维持30min。待反应完成后,体系冷却至室温,溶液离心获得的沉淀即为NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb@NaYbF₄:Nd@CaF₂;NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb@NaYbF₄:Nd@CaF₂分散在环己烷中备用。

[0097] 用透射电镜表征NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb@NaYbF₄:Nd@CaF₂的形貌,结果如图7所示,最终得到的多层核壳结构NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb@NaYbF₄:Nd@CaF₂的尺寸为17.7nm。

[0098] (2) 发光性质研究

[0099] 对NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄:Yb@NaYbF₄:Nd@CaF₂进行光谱表征:在荧光光谱仪上,用一束808nm的激光照射样品,采集1200-1600nm范围内的光谱。结果如图8所示,最大发射波长为1530nm,激发光与发射光的斯托克斯位移是722nm。

[0100] 实施例4:NaYF₄:Yb,Ho近红外发光纳米材料的制备及发光性质

[0101] (1) NaYF₄:Yb,Ho的合成

[0102] 称取1mmol的稀土醋酸盐Ln(CH₃COO)₃(其中醋酸钇Y(CH₃COO)₃占79%,醋酸镱Yb(CH₃COO)₃占20%,Ho(CH₃COO)₃占1%)投入100mL的三口瓶中,加入6mL油酸和15mL 1-十八烯。将混合物在氮气氛围下升温至120℃,搅拌直至固体完全溶解。随后关闭加热,将溶液冷却至室温,加入含2.5mmol NaOH和4mmol NH₄F的甲醇溶液10mL。之后在氮气吹扫下,将溶液升温至120℃以除去溶液中的甲醇。最后溶液升温至300℃并维持1h。反应完成后,体系冷却至室温,溶液离心获得的沉淀即为NaYF₄:Yb,Ho;将NaYF₄:Yb,Ho分散在环己烷中备用。

[0103] 用透射电镜表征材料的形貌,结果如图9所示,NaYF₄:Yb,Ho的尺寸为28.8nm。

[0104] (2) 发光性质研究

[0105] 对NaYF₄:Yb,Ho进行光谱表征:在荧光光谱仪上,用一束915nm的激光照射样品,采集950-1300nm范围内的光谱。结果如图10所示,最大发射波长为1160nm,激发光与发射光的斯托克斯位移是245nm。

[0106] 实施例5:NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄近红外稀土纳米材料的制备及发光性质

[0107] (1) NaYbF₄:Er,Ce@NaYF₄的合成

[0108] 称取1mmol稀土醋酸盐Ln(CH₃COO)₃(其中Yb(CH₃COO)₃占93%,Er(CH₃COO)₃占2%,Ce(CH₃COO)₃占5%)投入100mL三口瓶中,加入6mL油酸和15mL 1-十八烯。将混合物在氮气氛围下升温至120℃,搅拌直至固体完全溶解。随后关闭加热,将溶液冷却至室温,加入含2.5mmol NaOH和4mmol NH₄F的甲醇溶液10mL。之后在氮气吹扫下,将溶液升温至120℃以除去溶液中的甲醇。最后溶液升温至300℃并维持1h。待反应完成后,体系冷却至室温,将溶液离心获得的沉淀即为NaYbF₄:Er,Ce;将NaYbF₄:Er,Ce分散在环己烷中备用。

[0109] 将前驱体换成1mmol醋酸钇Y(CH₃COO)₃,投入100mL三口瓶中,加入6mL油酸和15mL 1-十八烯。将混合物在氮气氛围下升温至120℃,搅拌直至固体完全溶解。随后关闭加热,将溶液冷却至室温,加入含2.5mmol NaOH和4mmol NH₄F的甲醇溶液10mL,并投入分散在环己烷

中的 $\text{NaYbF}_4:\text{Er},\text{Ce}$ 。之后在氮气吹扫下,将溶液升温至 120°C 以除去溶液中的环己烷。最后溶液升温至 300°C 并维持1h。待反应完成后,体系冷却至室温,将溶液离心获得的沉淀即为 $\text{NaYbF}_4:\text{Er},\text{Ce}@\text{NaYF}_4$;将 $\text{NaYbF}_4:\text{Er},\text{Ce}@\text{NaYF}_4$ 分散在环己烷中备用。

[0110] 用透射电镜表征材料的形貌,结果如图11所示,内核尺寸为 19.8nm ,核壳结构的尺寸为 28.4nm 。

[0111] (2) 发光性质研究

[0112] 对 $\text{NaYbF}_4:\text{Er},\text{Ce}@\text{NaYF}_4$ 进行光谱表征。在荧光光谱仪上,用一束 980nm 的激光照射样品,采集 $1200\text{--}1650\text{nm}$ 范围内的光谱。结果如图12所示,材料的最大发射波长为 1530nm ,激发光与发射光的斯托克斯位移是 550nm 。

[0113] 实施例6: $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 近红外稀土纳米材料与 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Tm}@\text{NaYF}_4$ 的近红外发光量子效率的对比

[0114] 为了验证具有正斯托克斯位移发光的近红外稀土纳米材料,其发光量子效率及发光亮度高于上转换发光的近红外稀土纳米材料,在成像仪上对二者进行对比。

[0115] 以实施例1制备的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 作为实验组,其激发光位于 808nm ,发射光位于 980nm 。同时,选用 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Tm}@\text{NaYF}_4$ 作为对照组(制备过程同实施例1,区别在于以 $\text{Tm}(\text{CH}_3\text{COO})_3$ 替代 $\text{Nd}(\text{CH}_3\text{COO})_3$),其激发光位于 980nm 且近红外发射光位于 808nm ,属于反斯托克斯位移的上转换发光材料。

[0116] 将同样浓度的两种材料用划线笔划在硝基纤维素膜上,并用同样功率的 808nm 和 980nm 激光分别进行照射,采集相应的发射光。结果如图13所示。 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的信号最强值为6253,而对照组 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Tm}@\text{NaYF}_4$ 的信号最强值为2003,显然 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的发光强度高于 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Tm}@\text{NaYF}_4$ 。

[0117] 实施例7: $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 近红外稀土纳米材料与可见光材料的抗生物样本干扰能力的对比

[0118] 以实施例1制备的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 作为实验组,其激发光位于 808nm ,发射光位于 980nm 。选用商用材料 Eu-PS 作为对照组,其发射光谱如图14所示,激发光为 365nm ,发射光为 610nm 。

[0119] 将相同浓度的两种材料喷涂在硝基纤维素膜上,分别在膜上滴加纯水或者胎牛血清(FBS),比较滴加纯水和FBS后两种材料的荧光信号的变化,结果如图15所示,加入FBS后,近红外发光材料的荧光不受影响,可见光材料的荧光出现了 12.44% 的衰减。证明实施例1制备的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的荧光信号不易受到生物样本的影响,其信号抗干扰能力优于可见光材料。

[0120] 实施例8: $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 近红外稀土纳米材料与近红外有机染料的光稳定性对比

[0121] 以实施例1制备的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 作为实验组,其激发光位于 808nm ,发射光位于 980nm 。选用花菁Cy7染料作为对照组,其吸收和发射光谱如图16所示。

[0122] 用功率为 $1.4\text{W}/\text{cm}^2$ 的 808nm 激光照射以上两种材料,每隔 1min 测其发射光谱,分别测试 15min 以上,对比不同时间下二者的荧光强度变化。结果如图17所示,有机染料Cy7在照射 8min 后,荧光信号几乎衰减为零,而 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的信号强度几乎不变。证明实施例1制备的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 光稳定性优于近红外发光有机染料。

[0123] 实施例9:利用聚丙烯酸吸附法对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@ \text{NaYF}_4$ 进行表面羧基修饰

[0124] 聚丙烯酸(PAA)是由丙烯酸聚合得到的聚合物,拥有丰富的羧基官能团,其分子结构如图18所示。通过羧基与稀土离子的电荷相互作用,PAA可以吸附在稀土纳米材料的表面。PAA改性后的稀土纳米材料具有非常好的水溶性,且游离的羧基能帮助材料进一步进行表面修饰。

[0125] 取含20mg实施例1 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@ \text{NaYF}_4$ 的环己烷溶液1mL,加入5mL的亚硝酰四氟硼酸盐(2mol/L)的二氯甲烷溶液,混匀后进行离心分离,获得的沉淀为无油酸配体的稀土纳米材料;将沉淀分散在5mLDMF中,加入150mg聚丙烯酸溶液,升温至80℃,维持3h。反应结束后进行离心分离,沉淀分散在5mL纯水中备用。

[0126] 对上述经聚丙烯酸修饰获得的材料(记为 $\text{NIR-RENPs}@ \text{PAA}$)进行红外光谱表征,结果如图19所示,与无油酸配体的稀土纳米材料相比,修饰完的材料具有聚丙烯酸特征的C-H键吸收峰(2959cm^{-1})和羧基中的羰基吸收峰(1720cm^{-1}),表明聚丙烯酸成功修饰在 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@ \text{NaYF}_4$ 的表面。

[0127] 实施例10:利用柠檬酸吸附法对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@ \text{NaYF}_4$ 进行表面羧基修饰

[0128] 柠檬酸三钠羧基官能团可通过电荷相互作用吸附在稀土纳米材料的表面,从而使纳米材料表面携带羧基官能团。

[0129] 取含20mg实施例1 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@ \text{NaYF}_4$ 的环己烷溶液1mL,加入5mL的亚硝酰四氟硼酸盐(2mol/L)的二氯甲烷溶液,混匀后进行离心分离;将沉淀分散在5mL纯水中,加入150mg柠檬酸三钠水溶液,搅拌3h后离心除去上清,沉淀分散在5mL纯水。所得材料即为修饰了羧基的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@ \text{NaYF}_4$ 。

[0130] 实施例11:利用包硅法对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@ \text{NaYF}_4$ 进行表面羧基修饰

[0131] 正硅酸乙酯在稀土纳米材料表面发生水解反应,形成致密的二氧化硅壳层,随后再通过羧基乙基三醇钠盐与硅层表面的硅羟基发生缩合反应,可形成表面带有羧基的二氧化硅层。羧基乙基三醇钠盐的分子式如图20所示。

[0132] 取含20mg实施例1 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@ \text{NaYF}_4$ 的环己烷溶液1mL于50mL锥形瓶内,加入5mL环己烷稀释,常温下超声20min,得到溶液A。另外称取1.0g的表面活性剂CO-520于50mL锥形瓶,加入5mL环己烷,置于摇床中200rpm振荡20min进行溶解,得到溶液B。将溶液A滴加到溶液B中,混匀后加入80μL氨水,继续在摇床中混匀;振荡3h后加入正硅酸乙酯40μL,继续振荡24h;加入20μL羧基乙基三醇钠盐水溶液(25%wt),继续振荡24h。反应结束后,加入10mL乙醇破乳,离心分离除去上清液,沉淀用大量水和乙醇洗涤,最后分散在10mL纯水中,4℃保存。

[0133] 对以上经修饰获得的材料进行红外光谱表征,结果如图21所示,修饰完的材料具有特征的二氧化硅吸收峰(1101cm^{-1})和羧基中的羰基吸收峰(1720cm^{-1}),表明羧基功能化的二氧化硅壳层成功修饰在 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@ \text{NaYF}_4$ 的表面。

[0134] 实施例12:利用配体氧化法对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@ \text{NaYF}_4$ 进行表面羧基修饰

[0135] 取实施例1制备的表面有油酸配体的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Nd}@ \text{NaYF}_4$ 0.1g分散在100mL环己烷中,加入70mL叔丁醇、10mL水和5mL碳酸钾水溶液(5%wt),室温下搅拌30min后,加入20mL Lemieux-von Rudloff试剂(5.7mM高锰酸钾和0.105mM高碘酸钠),用于氧化油酸的碳碳双键,并将其断裂成两个羧基。将上述混合溶液在40℃搅拌48h以上,冷却,离心。产物依次用

蒸馏水、丙酮、乙醇洗涤。之后将沉淀分散于稀盐酸溶液中 ($\text{pH}=4-5$) 搅拌大约30min, 离心, 并用蒸馏水洗涤。终产物分散在纯水中备用, 得到的产物表面修饰了羧基官能团。

[0136] 实施例13: 利用超分子主客体自组装对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 进行表面羧基修饰

[0137] 葫芦脲($\text{CB}[n]$) 是不同昔脲单元通过亚甲基连接而成的穴状化合物, $\text{CB}[n]$ 的空腔疏水, 两端开口且大小相同, 两头小中间大且由羰基环绕而成。 $\text{CB}[n]$ 结构具有刚性, 进行主客体结合时有出色的结合强度和结合选择性。能够通过空腔的疏水作用、羰基的氢键作用等来键合各种有机分子。葫芦脲[7] ($\text{CB}[7]$) 的分子式如图22所示。

[0138] 取含20mg实施例1 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的环己烷溶液1mL加入到10mL的氯仿溶液中, 再加入3mL $\text{CB}[7]$ 的水溶液。混合溶液在室温下震荡12h, 随后进行离心, 除去上清液。沉淀分散在水中, 并离心洗涤以除去多余的 $\text{CB}[7]$ 分子。最终将修饰了 $\text{CB}[7]$ 的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 分散在纯水中, 即完成了对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 的表面羧基化修饰。

[0139] 实施例14: $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Nd}@\text{NaYF}_4$ 近红外稀土纳米材料用于甲胎蛋白的免疫层析检测技术

[0140] (1) 偶联识别抗体

[0141] 取1mg实施例9中的羧基化稀土纳米材料, 加0.5mLBBS缓冲液 (0.2M , $\text{pH}=7.4$) 13400rpm离心10min。沉淀分散于0.9mLBBS缓冲液中, 加入Sulfo-NHS 95.5 μg , EDC 168 μg , 活化反应60min。11000rpm离心10min, 加1mLBBS缓冲液, 超声功率45W分散1min。加入49.2 μg 甲胎蛋白 (AFP) 的一抗, 室温下反应3h, 之后加入100 μL BSA (5%) 封闭1h。离心, 沉淀分散于1mL含1%蔗糖和0.1%Proclin300的水溶液中, 4°C 保存。识别抗体偶联的示意图如图23所示。

[0142] (2) 硝基纤维素膜的处理和蛋白的固定

[0143] 将硝基纤维素膜粘贴在PVC底板的中间部位。将甲胎蛋白抗体稀释到1.8mg/mL, 兔抗甲胎蛋白抗体稀释到2.1mg/mL, 用划膜仪分别划于硝基纤维素膜上获得T线 (测试线) 和C线 (质控线), 在 37°C 烘箱处理12h。

[0144] (3) 试纸条的组装

[0145] 取出固定好抗体的硝基纤维素膜, 在PVC底板的两端粘贴样品垫和吸水垫, 样品垫和吸水垫分别与硝基纤维素膜重叠1mm, 即组装好试纸板。用自动切膜机将组装好的试纸板切割成3.9mm宽的小条, 将小条装载于塑料外壳内, 得到免疫层析试纸条。

[0146] (4) 样品的测试和结果的判读

[0147] 配制一系列浓度梯度的AFP抗原标准溶液, 如1ng/mL, 2ng/mL, 3ng/mL, 6ng/mL, 9ng/mL, 27ng/mL, 135ng/mL, 270ng/mL, 540ng/mL, 677ng/mL, 842ng/mL, 1082ng/mL。取10 μL 待测AFP抗原加入到100 μL 样品稀释液中, 样品稀释液为含有1%NaCl、1%BSA和0.5%Tween-20的PB缓冲溶液 ($\text{pH}=7.4$, 0.1M)。向稀释的抗原溶液中加入4 μg 稀土纳米材料标记的识别抗体溶液, 待溶液充分混匀后, 取100 μL 混合液加入到试纸条样品垫处 (如图24所示), 反应10min后进行读数。

[0148] 采用808nm激光照射层析膜区域, 用近红外相机对试纸条进行成像拍摄并读取T线和C线的荧光强度, 试纸条的拍摄结果如图25所示。分别将T/C的荧光强度及对应的抗原浓度做标准曲线 (如图26所示)。该方法的检测灵敏度为1ng/mL, 批间重复重新性好, 放置一年时间仍可用于检测。

[0149] 实施例15:NaYF₄:Yb,Nd@NaYF₄近红外稀土纳米材料用于C反应蛋白的免疫层析检测技术

[0150] (1) 偶联识别抗体

[0151] 取1mg实施例9中的羧基化稀土纳米材料,加0.5mLBBS缓冲液(0.2M,pH=7.4)13400rpm离心10min,沉淀分散于0.9mLBBS缓冲液溶液中。加入Sulfo-NHS 100μg,EDC 100μg,活化反应60min。11000rpm离心10min,加1mLBBS缓冲液,超声功率45W分散1min。加入50μg C反应蛋白(CRP)的一抗,室温下反应3h,之后加入100μLBSA(5%)封闭1h。离心,沉淀分散于1mL含1%蔗糖和0.1%Proclin300的水溶液中,4℃保存。

[0152] 按上述同样方法,取羧基化稀土纳米材料与IgY抗体进行偶联。

[0153] (2) 硝基纤维素膜的处理和蛋白的固定

[0154] 将硝基纤维素膜粘贴在PVC底板的中间部位。将C反应蛋白的一抗稀释到2.3mg/mL,IgY抗体稀释到2.6mg/mL,用划膜仪分别划于硝基纤维素膜上获得T线和C线,在37℃烘箱处理12h。

[0155] (3) 结合垫的处理

[0156] 将偶联了IgY抗体和C反应蛋白一抗的稀土纳米材料配制成15mg/mL的混合溶液,其中偶联IgY抗体的稀土纳米材料重量占5%。用喷金仪将混合溶液喷涂在玻璃纤维膜上(2μL/cm),晾干后裁剪成18mm宽,溶剂前沿距离边缘大约1.5mm。

[0157] (4) 试纸条的组装

[0158] 取出固定好抗体的硝基纤维素膜,在PVC底板的两端分别粘贴结合垫和吸水垫,结合垫和吸水垫与硝基纤维素膜分别重叠1mm,即完成试纸板的组装。用自动切膜机将组装好的试纸板切割成3.9mm宽的小条,将小条装载于塑料外壳内,得到免疫层析试纸条。

[0159] (5) 样品的测试和结果的判读

[0160] 配制一系列浓度梯度的C反应蛋白抗原标准溶液,如0.5ng/mL,1ng/mL,2ng/mL,5ng/mL,10ng/mL,20ng/mL,40ng/mL,80ng/mL,160ng/mL,320ng/mL。取10μL待测C反应蛋白抗原加入到100μL样品稀释液中,样品稀释液为含有0.5%NaCl、1%BSA和1%Tween-20的PBS缓冲溶液(pH=7.4,0.1M)。取100μL稀释的抗原溶液加入到试纸条结合垫处,反应10min后进行读数。

[0161] 采用808nm激光照射层析膜区域,用近红外相机对试纸条进行成像拍摄并读取T线和C线的荧光强度,分别将T/C的荧光强度及对应的抗原浓度做标准曲线(如图27所示)。该方法最低可检测0.5ng/mL的抗原,具有非常好的重复性。

[0162] 实施例16:NaYF₄:Yb,Nd@NaYF₄近红外稀土纳米材料用于转铁蛋白的免疫层析检测技术

[0163] (1) 偶联识别抗体

[0164] 取1mg实施例9中的羧基化稀土纳米材料,加0.5mLBBS缓冲液(0.2M,pH=7.4)13400rpm离心10min,沉淀分散于0.9mLBBS缓冲液中。加入Sulfo-NHS 100μg,EDC 100μg,活化反应60min。11000rpm离心10min,加1mLBBS缓冲液,超声功率45W分散1min。加入50μg转铁蛋白(TRF)的一抗,室温下反应3h,之后加入100μLBSA(5%)封闭1h。离心,沉淀分散于1mL含1%蔗糖和0.1%Proclin300的水溶液中,4℃保存。

[0165] 按上述同样方法,取羧基化稀土纳米材料与IgY抗体进行偶联。

[0166] (2) 硝基纤维素膜的处理和蛋白的固定

[0167] 将硝基纤维素膜粘贴在PVC底板的中间部位。将转铁蛋白的一抗稀释到2.4mg/mL, IgY抗体稀释到2.6mg/mL, 用划膜仪分别划于硝基纤维素膜上获得T线和C线, 在37℃烘箱处理12h。

[0168] (3) 结合垫的处理

[0169] 将偶联了IgY抗体和转铁蛋白一抗的稀土纳米材料配制成15mg/mL的混合溶液, 其中偶联IgY抗体的稀土纳米材料重量占5%。用喷金仪将混合溶液喷涂在玻璃纤维膜上(2μL/cm), 晾干后裁剪成18mm宽, 溶剂前沿距离边缘大约1.5mm。

[0170] (4) 试纸条的组装

[0171] 取出固定好抗体的硝基纤维素膜, 在PVC底板的两端分别粘贴结合垫和吸水垫, 结合垫和吸水垫与硝基纤维素膜分别重叠1mm, 即完成试纸板的组装。用自动切膜机将组装好的试纸板切割成3.9mm宽的小条, 将小条装载于塑料外壳内, 得到免疫层析试纸条。

[0172] (5) 样品的测试和结果的判读

[0173] 配制一系列浓度梯度的转铁蛋白抗原标准溶液。取10μL待测转铁蛋白抗原加入到100μL样品稀释液中, 样品稀释液为含有0.5%NaCl、1%BSA和1%Tween-20的PBS缓冲溶液(pH=7.4, 0.1M)。取100μL稀释的抗原溶液加入到试纸条结合垫处, 反应10min后进行读数。

[0174] 采用808nm激光照射层析膜区域, 用近红外相机对试纸条进行成像拍摄并读取T线和C线的荧光强度, 分别将T/C的荧光强度及对应的抗原浓度做标准曲线(如图28所示)。该方法最低可检测0.04ng/mL的抗原, 具有非常好的重复性。

[0175] 本说明书中各个实施例采用递进的方式描述, 每个实施例重点说明的都是与其他实施例的不同之处, 各个实施例之间相同相似部分互相参见即可。

[0176] 对所公开的实施例的上述说明, 使本领域专业技术人员能够实现或使用本发明。对上述实施例的多种修改对本领域的专业技术人员来说将是显而易见的, 本文中所定义的一般原理可以在不脱离本发明的精神或范围的情况下, 在其它实施例中实现。因此, 本发明将不会被限制于本文所示的这些实施例, 而是要符合与本文所公开的原理和新颖特点相一致的最宽的范围。

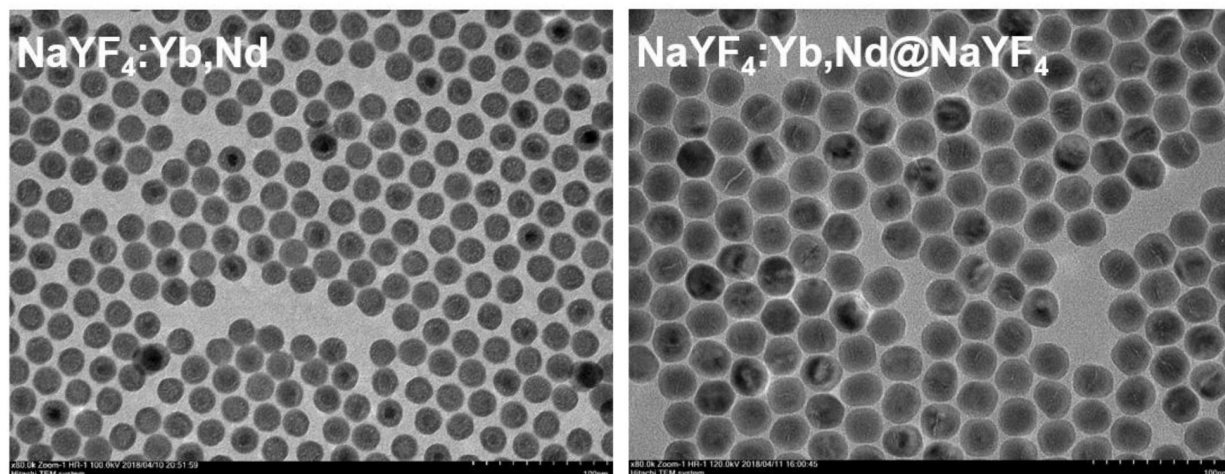


图1

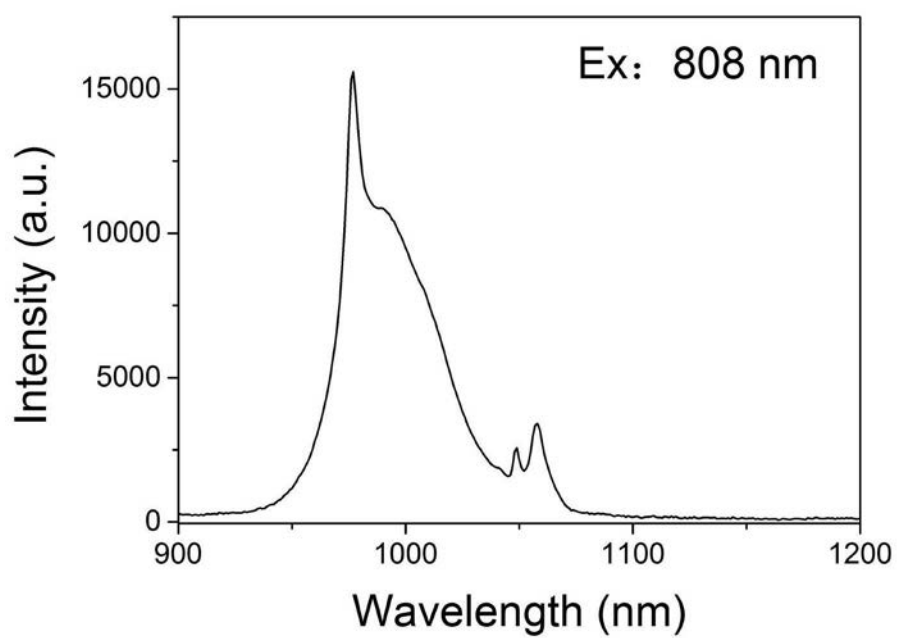


图2

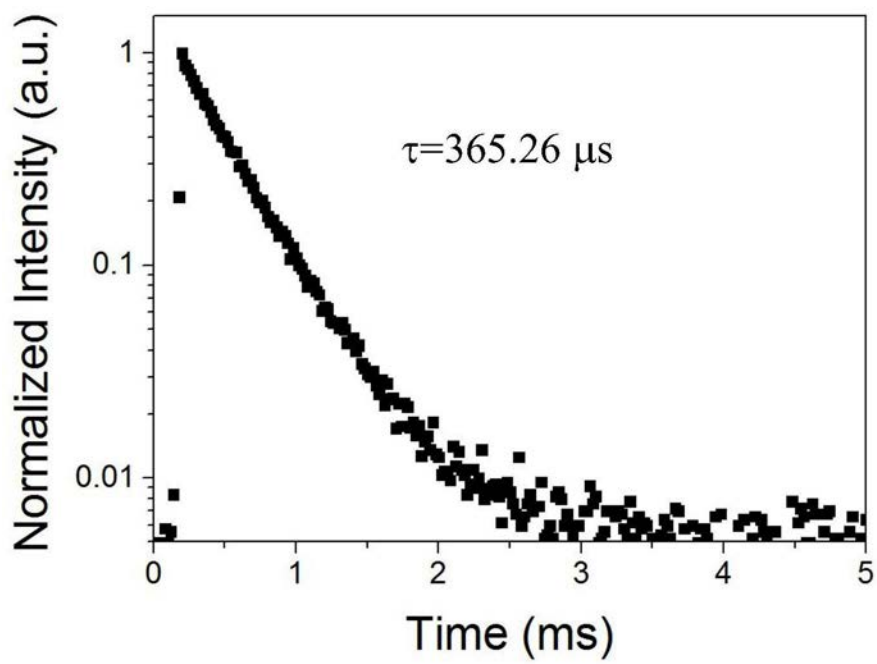


图3

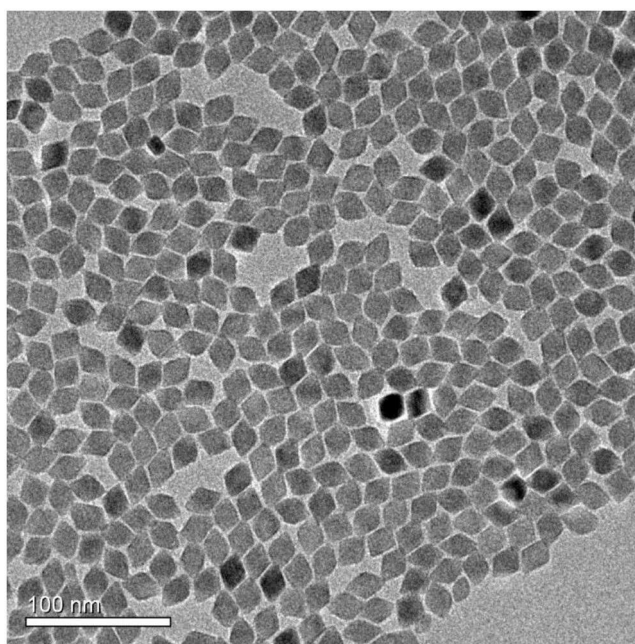


图4

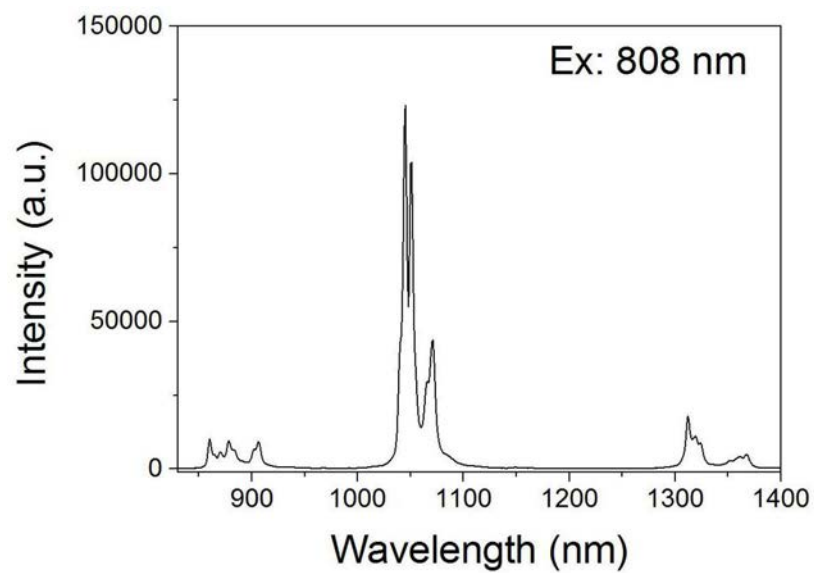


图5

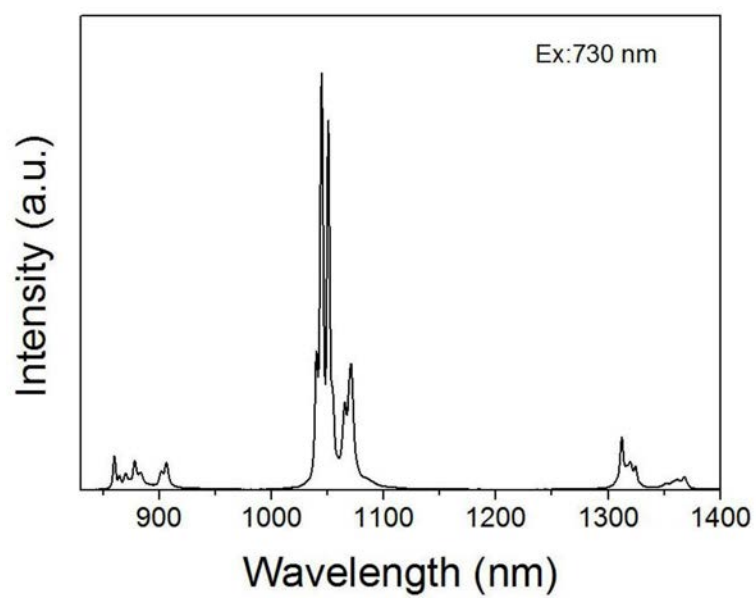


图6

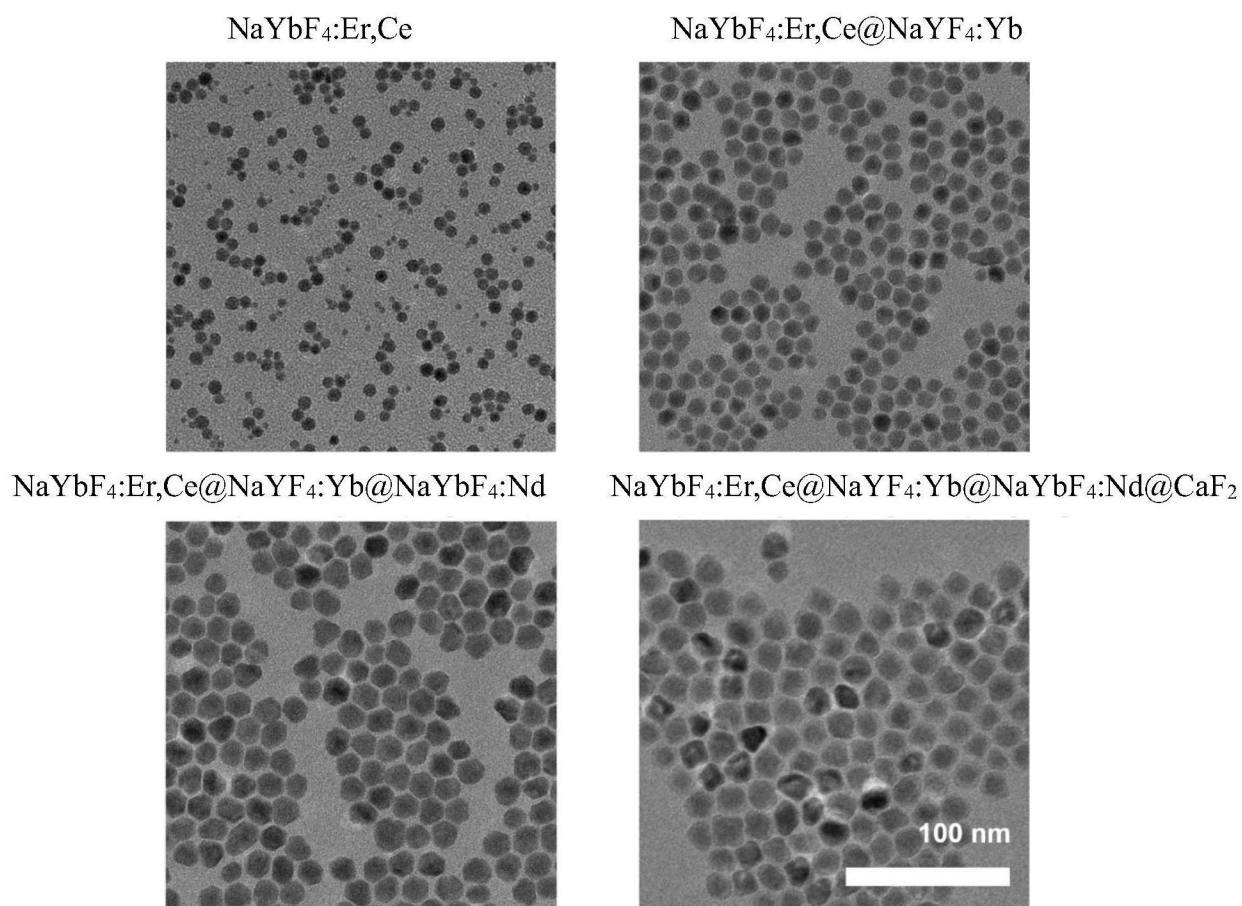


图7

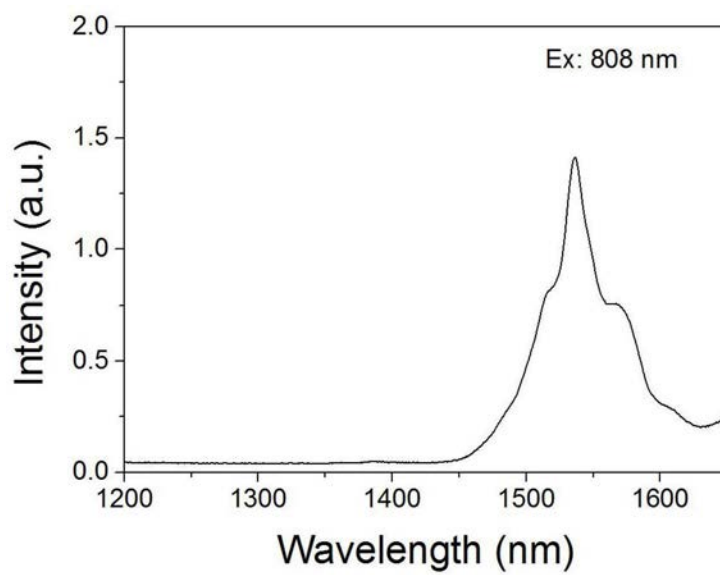


图8

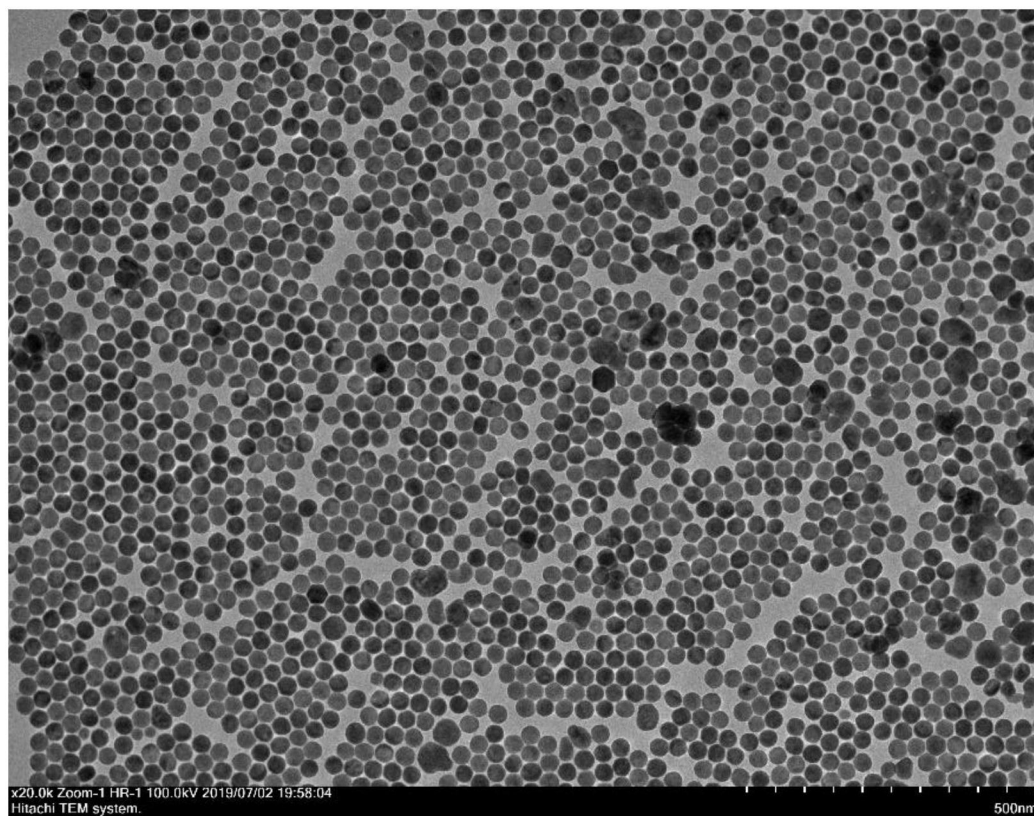


图9

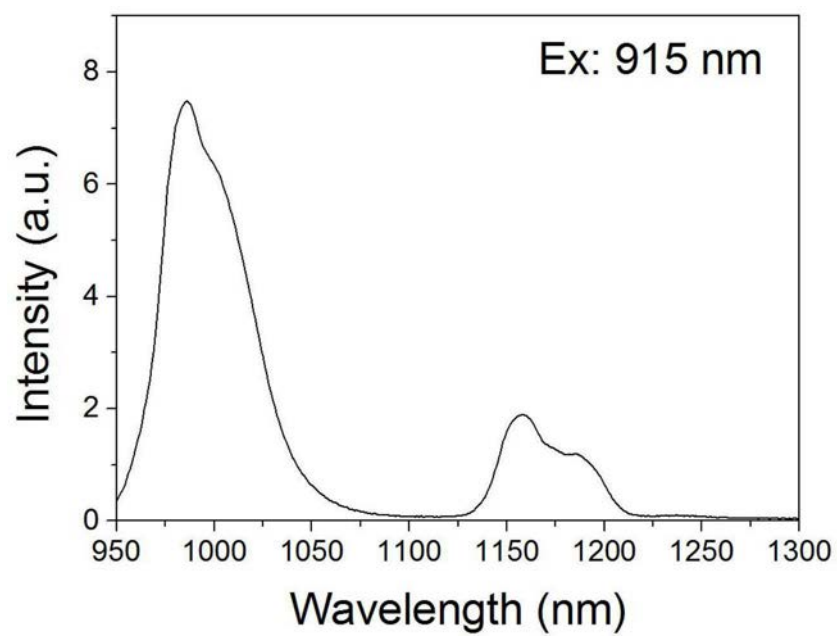


图10

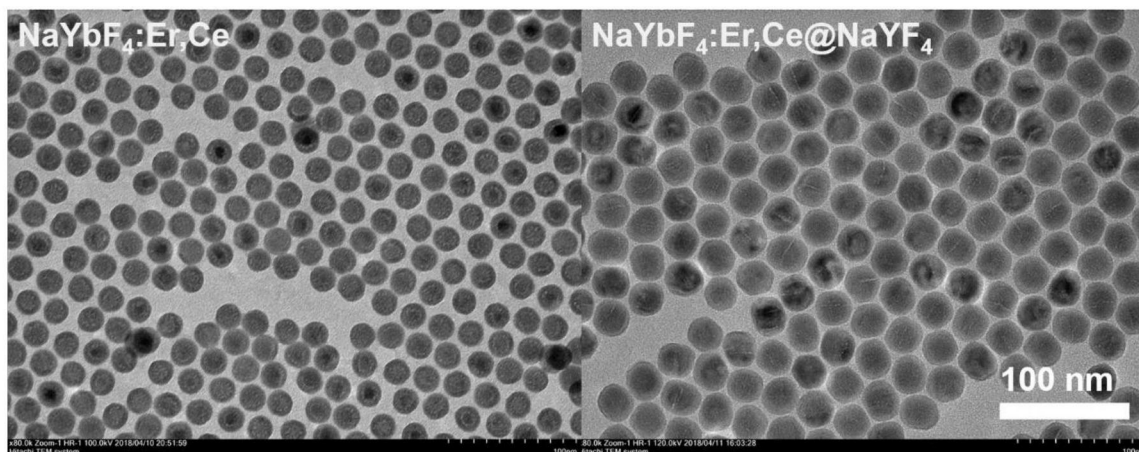


图11

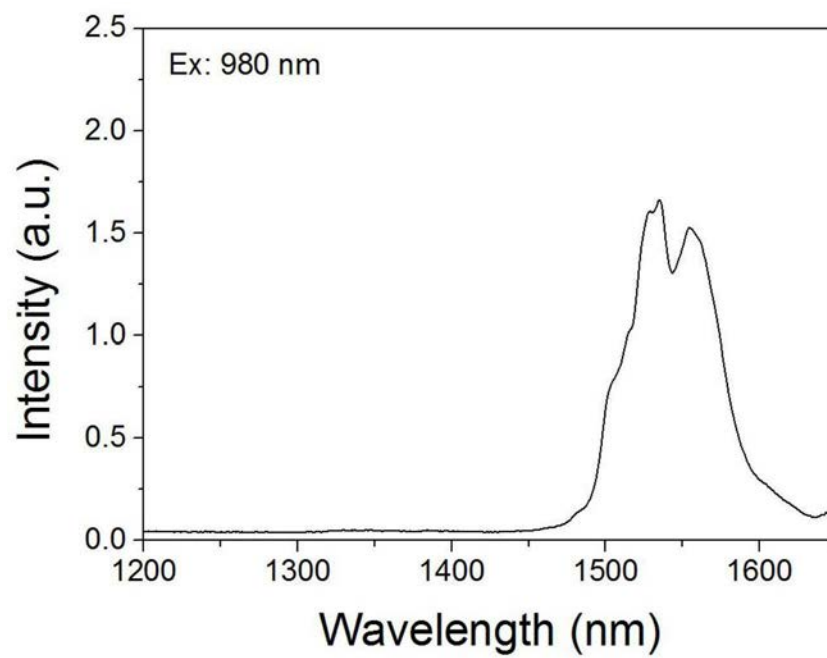


图12

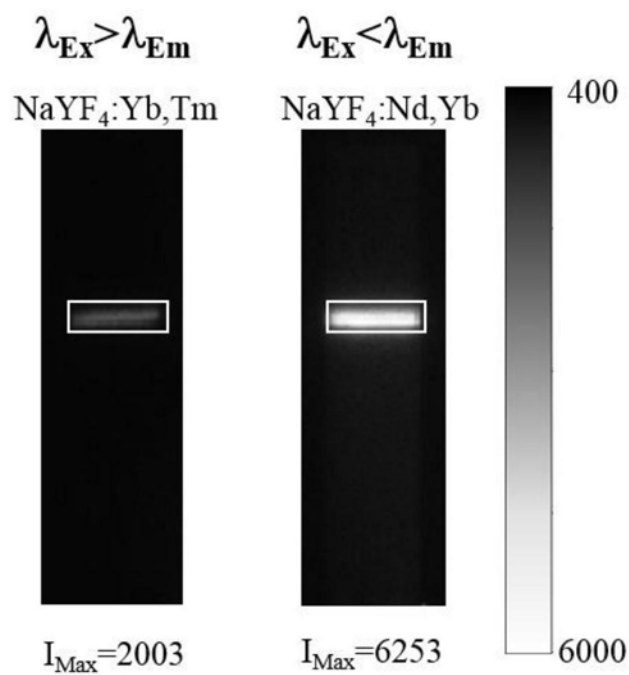


图13

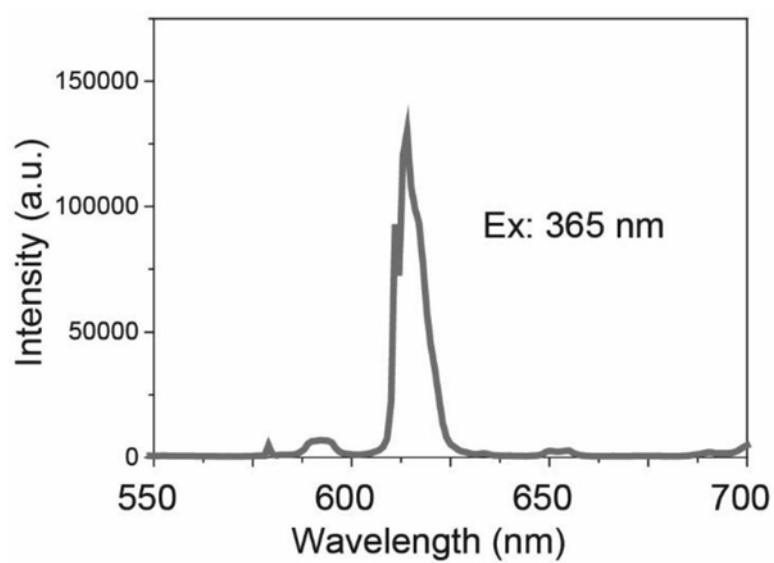


图14

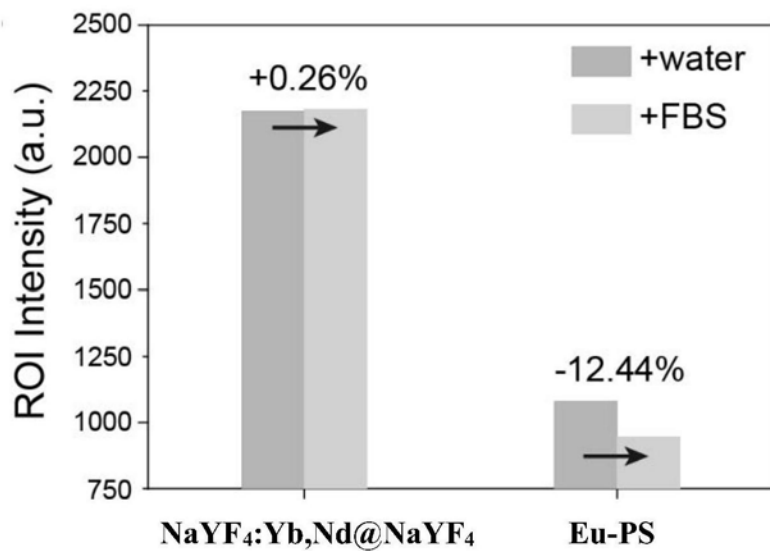


图15

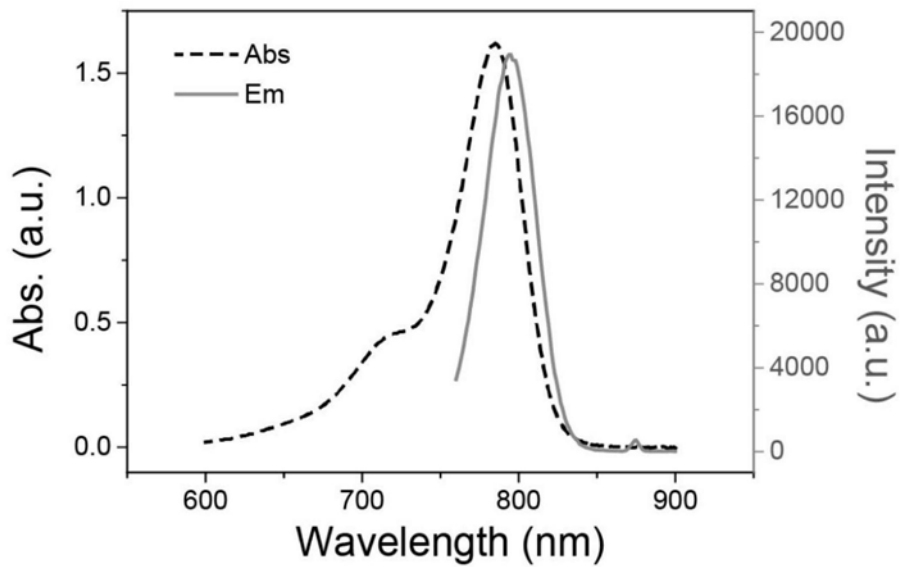


图16

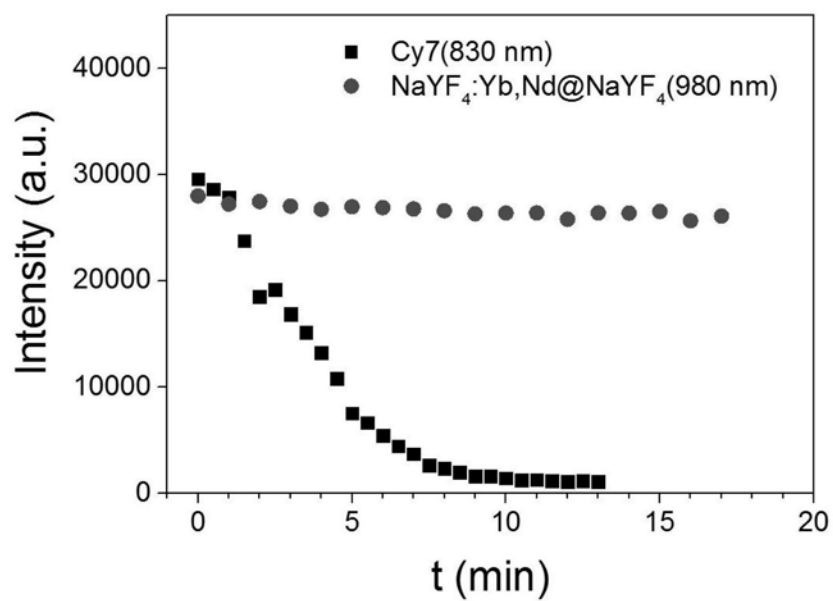


图17

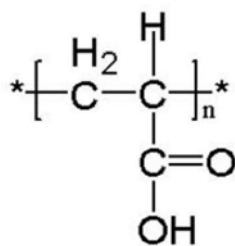


图18

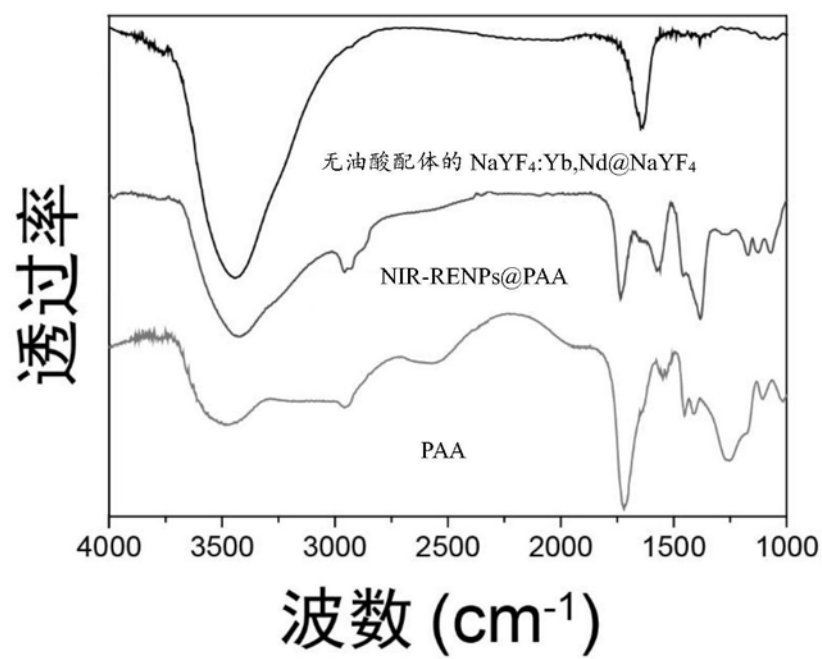


图19

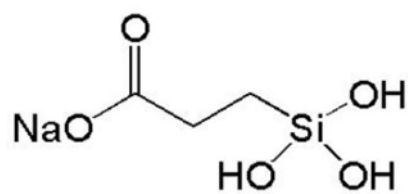


图20

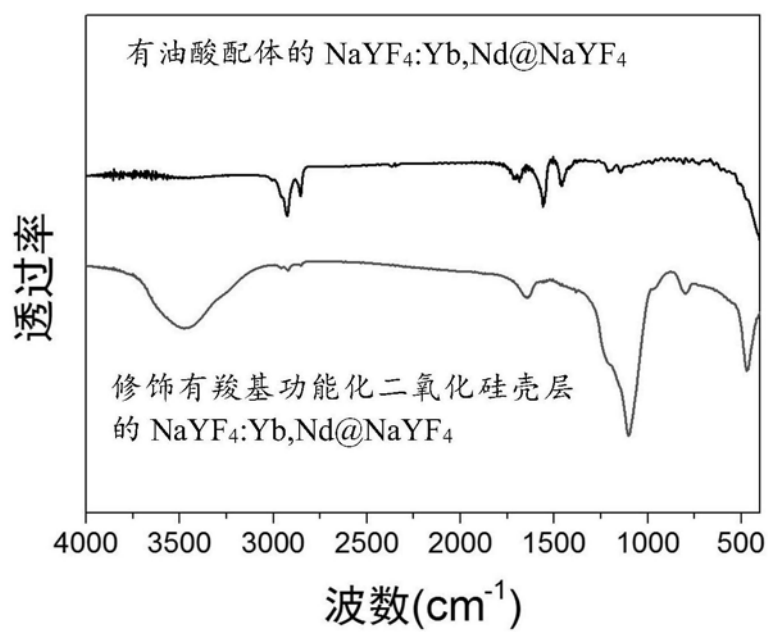


图21

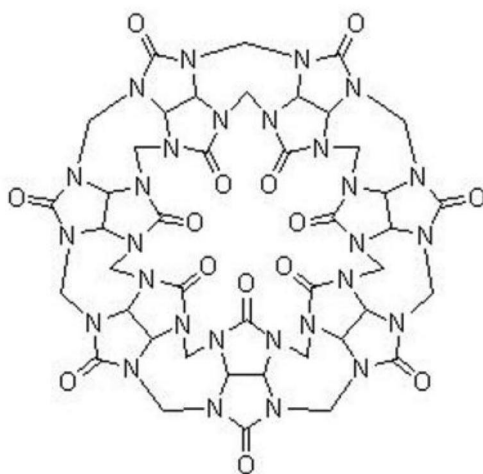


图22

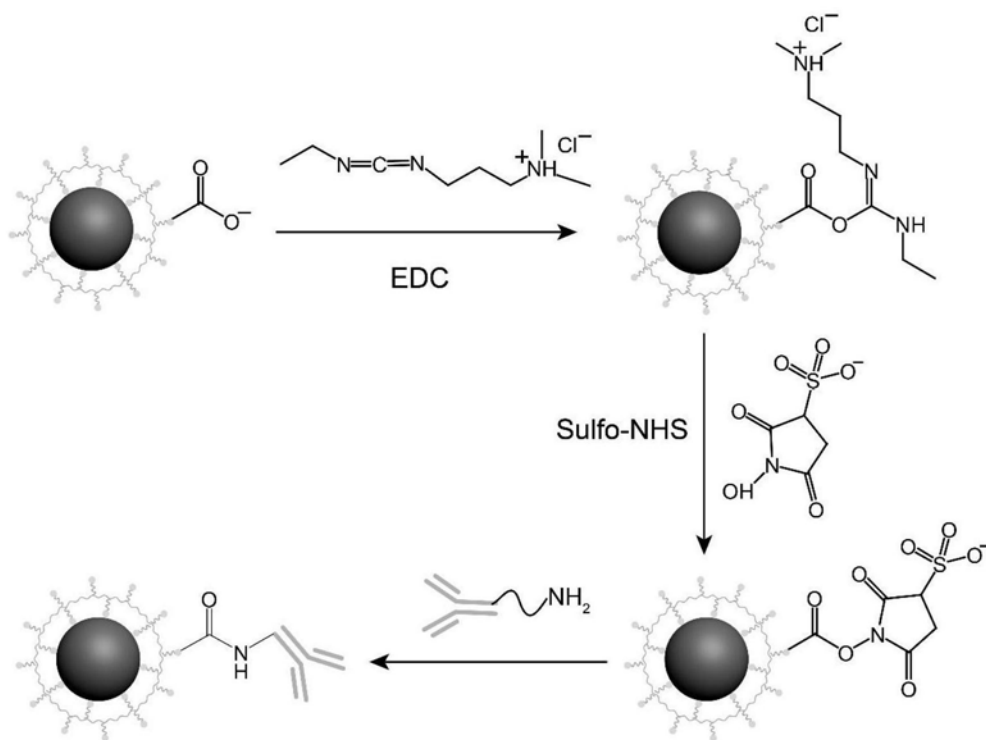


图23

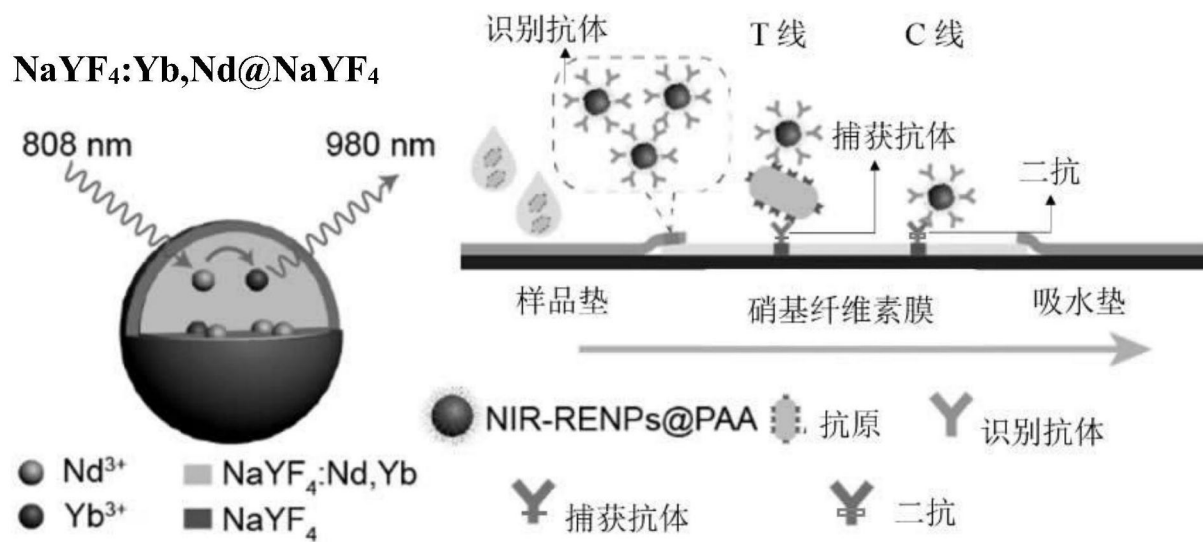


图24

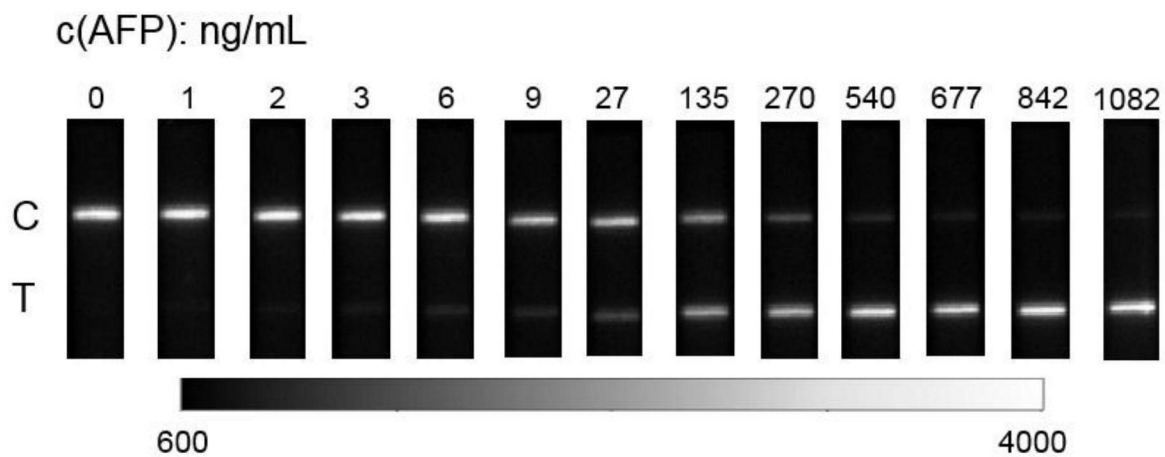


图25

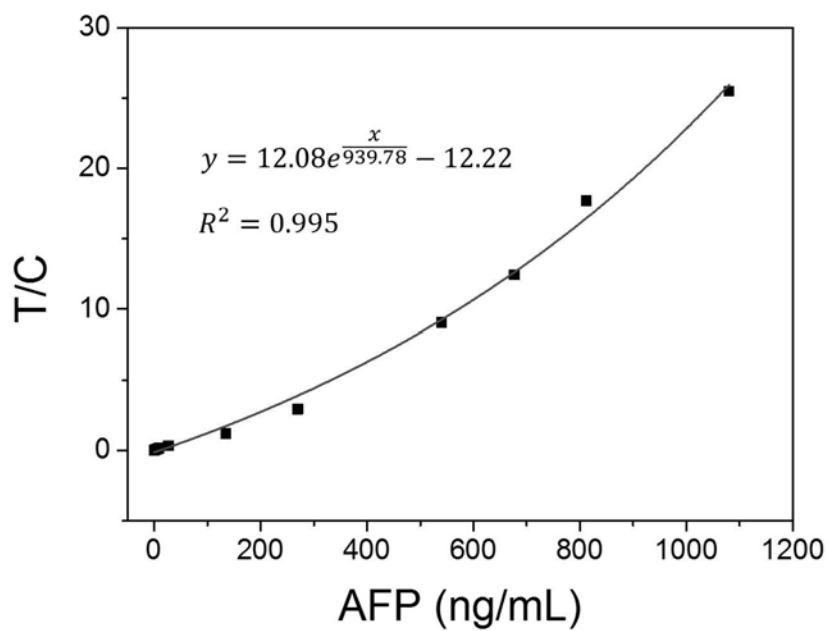


图26

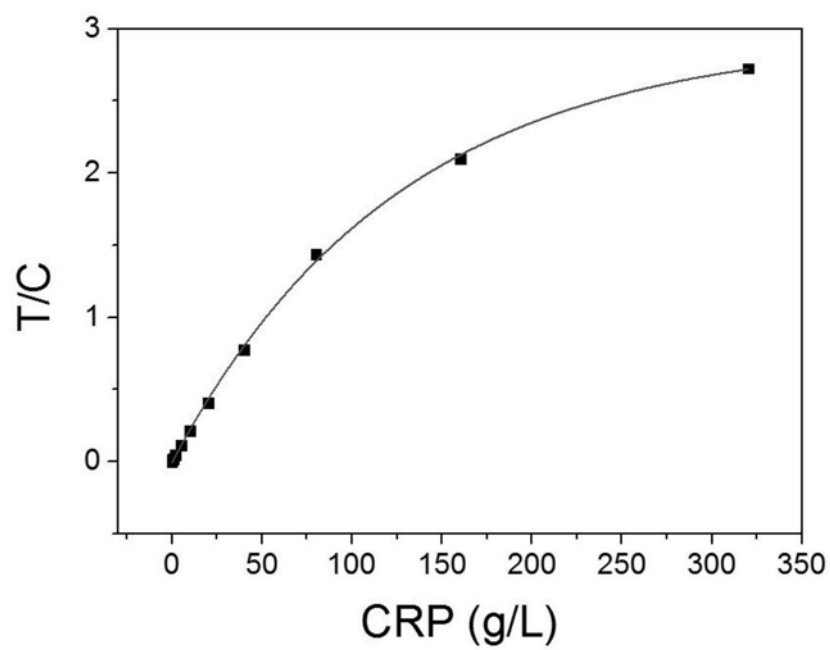


图27

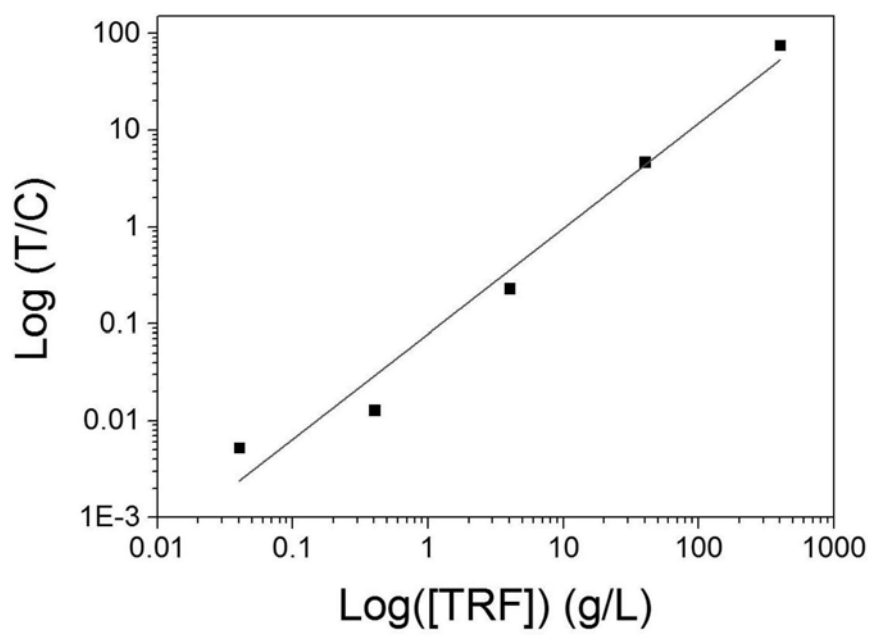


图28

专利名称(译)	一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法		
公开(公告)号	CN110514825A	公开(公告)日	2019-11-29
申请号	CN201910895003.9	申请日	2019-09-20
[标]申请(专利权)人(译)	复旦大学		
申请(专利权)人(译)	复旦大学		
当前申请(专利权)人(译)	复旦大学		
[标]发明人	李富友 冯玮 吴勇		
发明人	李富友 刘青昀 冯玮 吴勇		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/68		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种基于近红外发光稀土纳米材料的免疫层析检测方法，以近红外发光稀土纳米材料作为免疫荧光标记物标记识别抗体，进行免疫层析检测；近红外发光稀土纳米材料具有如下特征：(1)激发光和发射光均位于700-1700nm的近红外光区域；(2)激发波长小于发射波长，为正斯托克斯位移发光，且斯托克斯位移大于150nm；(3)荧光量子效率QY高于1%；(4)荧光寿命大于10微秒；(5)光稳定性优于有机染料。使用本发明方法进行免疫层析检测，荧光标记物的稳定性更好、荧光发射更强，检测结果具有更好的重复性。

