



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110531071 A

(43)申请公布日 2019.12.03

(21)申请号 201910825549.7

(22)申请日 2019.09.03

(71)申请人 上海交通大学

地址 200240 上海市闵行区东川路800号

(72)发明人 叶坚 徐宏 谭自扬 古宏晨

(74)专利代理机构 上海旭诚知识产权代理有限公司 31220

代理人 郑立

(51)Int.Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

G01N 21/65(2006.01)

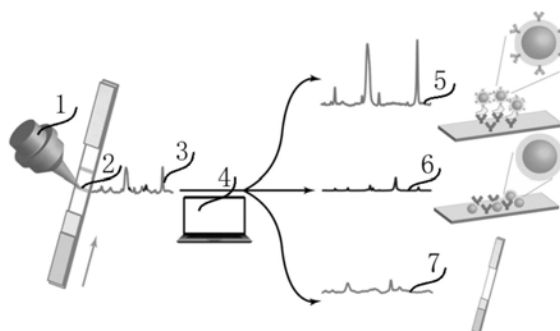
权利要求书2页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

一种高灵敏侧流层析免疫检测试纸的制备和应用

(57)摘要

本发明公开了一种高灵敏侧流层析免疫检测试纸的制备和应用,涉及生物医学检测技术领域,包括结合垫、双探针校准体系和检测线,所述结合垫上设有所述双探针校准体系,所述检测线用于测量拉曼信号,所述双探针校准体系包括信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针,所述校准表面增强拉曼探针用于对所述信号表面增强拉曼探针进行信号校准。本发明制备的探针信号强,稳定性好,双探针校准体系灵敏度高,抗干扰能力强,可重复性好,实现了试纸基底的高灵敏可重复的目标物定量检测。



1. 一种高灵敏侧流层析免疫检测试纸, 其特征在于, 包括结合垫、双探针校准体系和检测线, 所述结合垫上设有所述双探针校准体系, 所述检测线用于测量拉曼信号, 所述双探针校准体系包括信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针, 所述校准表面增强拉曼探针用于对所述信号表面增强拉曼探针进行信号校准。

2. 如权利要求1所述的高灵敏侧流层析免疫检测试纸, 其特征在于, 所述表面增强拉曼探针所使用的增强颗粒为金纳米结构, 内嵌信号分子; 所述信号表面增强拉曼探针表面修饰抗体, 所述校准表面增强拉曼探针表面不修饰抗体, 且与所述信号表面增强拉曼探针发射不同种类的拉曼信号。

3. 如权利要求2所述的高灵敏侧流层析免疫检测试纸, 其特征在于, 所述金纳米结构包括金纳米球、金纳米棒、金纳米星和核壳结构金纳米颗粒中的一种或多种, 所述信号分子为1,4-苯二硫醇、4,4'-联苯二硫醇和4-硝基苯硫醇中的一种或多种。

4. 如权利要求2所述的高灵敏侧流层析免疫检测试纸, 其特征在于, 所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针的拉曼信号强度相近。

5. 如权利要求4所述的高灵敏侧流层析免疫检测试纸, 其特征在于, 所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针由在制备过程中控制拉曼信号分子的吸附时间实现所述拉曼信号强度相近。

6. 如权利要求5所述的高灵敏侧流层析免疫检测试纸, 其特征在于, 在所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针制备过程中, 所述拉曼信号分子的吸附时间具体为: 20mL, 1nM的所述金纳米结构与1mL, 10mM的1,4-苯二硫醇、4,4'-联苯二硫醇和4-硝基苯硫醇吸附时间分别为27小时、19小时和10分钟。

7. 如权利要求2所述的高灵敏侧流层析免疫检测试纸的制备和应用方法, 其特征在于, 所述方法包括以下步骤:

步骤1、将表面修饰了抗体的所述信号表面增强拉曼探针, 与表面没有修饰抗体的所述校准表面增强拉曼探针混合, 并按所需计量加在试纸的所述结合垫上;

步骤2、将步骤1所得的所述结合垫组装入试纸, 将试纸的进样端浸入待测样品中, 平放静置一段时间, 接着测量所述检测线上的拉曼信号混合光谱;

步骤3、对所述拉曼信号混合光谱进行拟合, 使用拉曼光谱分解方法分解出所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针的信号强度, 用所述校准表面增强拉曼探针的信号对所述信号表面增强拉曼探针的信号进行校准, 去除试纸对表面增强拉曼探针非特异性吸附的影响, 从而确定待检目标物的浓度。

8. 如权利要求7所述的高灵敏侧流层析免疫检测试纸的制备和应用方法, 其特征在于, 所述步骤3中的所述拉曼光谱分解方法包括经典最小二乘法、非负矩阵分解法、卷积神经网络法、最小绝对值收敛和选择算子回归法中的一种。

9. 如权利要求7所述的高灵敏侧流层析免疫检测试纸的制备和应用方法, 其特征在于, 所述步骤3中的所述用所述校准表面增强拉曼探针的信号对所述信号表面增强拉曼探针的信号进行校准的方法, 包括所述信号表面增强拉曼探针的信号与所述校准表面增强拉曼探针的信号相减、相除、所述信号表面增强拉曼探针的信号占两种信号加和的比例中的一种。

10. 如权利要求7所述的高灵敏侧流层析免疫检测试纸的制备和应用方法, 其特征在于, 所述方法具体包括以下步骤:

步骤1、所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针混合,分散在由蔗糖、海藻糖,吐温20组成的缓冲液中,得到所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针混合液;将结合垫用含有牛血清白蛋白、氯化钠、吐温20的缓冲液中浸泡30分钟,37℃烘干过夜或至完全干燥,在得到的结合垫上加入一定计量的所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针混合液,37℃烘干过夜或至完全干燥;

步骤2、将步骤1所得的所述结合垫组装入试纸,将试纸的进样端浸入待测样品中,平放静置30分钟或至试纸完全干燥,置于拉曼光谱仪下扫面所述检测线区域,收集拉曼信号混合光谱;

步骤3、将步骤2所得的所述拉曼信号混合光谱数据进行平滑和去基线处理,接着用所述拉曼光谱分解方法分解出所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针的信号强度,用所述校准表面增强拉曼探针的信号对所述信号表面增强拉曼探针的信号进行校准,代入事先绘制好的工作曲线,计算出待检物的浓度。

一种高灵敏侧流层析免疫检测试纸的制备和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物医学检测技术领域,尤其涉及一种高灵敏侧流层析免疫检测试纸的制备和应用。

背景技术

[0002] 侧流层析免疫检测试纸是一种纸基检测手段,目前被广泛应用与及时现场检测当中,它的优点在于检测时间短、使用方便、成本低廉和易于存储。侧流层析免疫检测试纸一般由以下几个部分组成:衬底、样品垫、结合垫、反应膜和吸水垫,其中,反应膜一般为硝酸纤维素膜,上有检测线和控制线,两线上搭载了对应的抗体,结合垫上会有偶联了抗体的标记物。传统的标记物为红色的胶体金纳米颗粒。这种金纳米颗粒的表面修饰有目标待检物对应的抗体,当含有目标待检物的溶液经过结合垫,金纳米颗粒上的抗体就会捕获目标待检物,形成金纳米颗粒-目标待检物复合体。该复合体会进一步被检测线上的另一抗体所捕获,形成一个抗体-待检物-抗体的夹心结构,因此待检物存在时检测线上呈现胶体金纳米颗粒的红色。使用者可以通过检测线上红色的深浅判断待检物的浓度。而未捕获待检物的金纳米颗粒会在控制线上被捕获,因此无论是否有待检物,控制线都应在试纸使用后呈现红色,否则可以认为试纸已经失效。虽然这种基于胶体金显色的试纸体系已经应用于诸多领域,但它的定量分析灵敏性仍然存在很大的局限。要解决这个问题,就需要换用性能更好的标记物,并搭配对应的信号读取装置。

[0003] 表面增强拉曼光谱(SERS)技术具有信号强、特异性好、光稳定性好等优势。将SERS探针作为标记物的试纸已经受到了很多关注,这种试纸将上述的传统胶体金试纸中的胶体金纳米颗粒换成了带有SERS信号的纳米颗粒,通过检测SERS信号,使用者可以实现对待检物的高灵敏检测。然而,实际应用当中,SERS试纸的可重复性不佳。这是由于SERS探针的拉曼信号分子吸附在了纳米颗粒表面,而纸基上的纳米颗粒很容易团聚在一起,发生“热点”现象。“热点”现象是指当两个金属纳米结构距离很近时,表面等离子激元共振形成的电场相互叠加,发生了很大的增强,相应的,拉曼信号由于电场的增强会发生极大的增强。而这种增强的不均匀出现导致了SERS试纸的可重复性不佳。

[0004] 缝隙增强拉曼探针可以很好的解决上述的“热点”现象导致的可重复性不佳问题。缝隙增强拉曼探针与SERS探针不同的是,拉曼信号分子被内嵌在了核壳结构之间一个纳米级的缝隙当中。由于“热点”只影响金属纳米颗粒表面的电场,而缝隙中的电场相对而言十分稳定,因此缝隙增强拉曼探针应用于试纸检测时,不仅有高灵敏性,可重复性也得到了保证。B.N.Khlebtsov等人在近日发表的文献《SERS-based lateral flow immunoassay of troponin I by using gap-enhanced Raman tags》(Nano Research 12.2 (2019):413-420.)中报道了基于缝隙增强拉曼探针的试纸检测实验,这种试纸在检测心肌肌钙蛋白I(cTnI)时的灵敏度达到了0.1ng/mL,这一灵敏度达到了cTnI的临床诊断要求,并且比传统的胶体金显色试纸的灵敏度提升了30倍。但即使缝隙增强拉曼探针解决了“热点”现象导致的可重复性差问题,试纸检测中的非特异性吸附问题仍然没能得到解决。非特异性吸附问

题是指探针在检测线上,除了因为抗原抗体的特异性偶联而被捕获之外,还会由于静电作用而物理吸附在硝酸纤维素膜上。这些非特异性吸附的信号与待检物的浓度无关,并且会随机波动,大大限制了试纸的灵敏度。目前还没有基于上述缝隙增强拉曼探针的试纸体系能够解决非特异性吸附问题,并进一步提高灵敏度。

[0005] 因此,本领域的技术人员致力于开发一种高灵敏侧流层析免疫检测试纸的制备和应用,通过从信号表面增强拉曼探针信号中消除由非特异性吸附产生的信号,进一步提升表面增强拉曼探针试纸体系的灵敏度。

发明内容

[0006] 有鉴于现有技术的上述缺陷,本发明所要解决的技术问题是使用一种能够消除非特异性吸附对试纸灵敏度影响的策略,并根据策略的需要,制备符合要求的表面增强拉曼探针。

[0007] 为实现上述目的,本发明提供了一种高灵敏侧流层析免疫检测试纸,其特征在于,包括结合垫、双探针校准体系和检测线,所述结合垫上设有所述双探针校准体系,所述检测线用于测量拉曼信号,所述双探针校准体系包括信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针,所述校准表面增强拉曼探针用于对所述信号表面增强拉曼探针进行信号校准。

[0008] 进一步地,所述表面增强拉曼探针所使用的增强颗粒为金纳米结构,内嵌信号分子;所述信号表面增强拉曼探针表面修饰抗体,所述校准表面增强拉曼探针表面不修饰抗体,且与所述信号表面增强拉曼探针发射不同种类的拉曼信号。

[0009] 进一步地,所述金纳米结构包括金纳米球、金纳米棒、金纳米星和核壳结构金纳米颗粒中的一种或多种,所述信号分子为1,4-苯二硫醇、4,4'-联苯二硫醇和4-硝基苯硫醇中的一种或多种。

[0010] 进一步地,所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针的拉曼信号强度相近。

[0011] 进一步地,所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针由在制备过程中控制拉曼信号分子的吸附时间实现所述拉曼信号强度相近。

[0012] 进一步地,在所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针制备过程中,所述拉曼信号分子的吸附时间具体为:20mL,1nM的所述金纳米结构与1mL,10mM的1,4-苯二硫醇、4,4'-联苯二硫醇和4-硝基苯硫醇吸附时间分别为27小时、19小时和10分钟。

[0013] 本发明还提供了一种高灵敏侧流层析免疫检测试纸的制备和应用方法,其特征在于,所述方法包括以下步骤:

[0014] 步骤1、将表面修饰了抗体的所述信号表面增强拉曼探针,与表面没有修饰抗体的所述校准表面增强拉曼探针混合,并按所需计量加在试纸的所述结合垫上;

[0015] 步骤2、将步骤1所得的所述结合垫组装入试纸,将试纸的进样端浸入待测样品中,平放静置一段时间,接着测量所述检测线上的拉曼信号混合光谱;

[0016] 步骤3、对所述拉曼信号混合光谱进行拟合,使用拉曼光谱分解方法分解出所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针的信号强度,用所述校准表面增强拉曼探针的信号对所述信号表面增强拉曼探针的信号进行校准,去除试纸对表面增强拉曼探针非特异性吸附的影响,从而确定待检目标物的浓度。

[0017] 进一步地,所述步骤3中的所述拉曼光谱分解方法包括经典最小二乘法、非负矩阵分解法、卷积神经网络法、最小绝对值收敛和选择算子回归法中的一种。

[0018] 进一步地,所述步骤3中的所述用所述校准表面增强拉曼探针的信号对所述信号表面增强拉曼探针的信号进行校准的方法,包括所述信号表面增强拉曼探针的信号与所述校准表面增强拉曼探针的信号相减、相除、所述信号表面增强拉曼探针的信号占两种信号加和的比例中的一种。

[0019] 进一步地,所述方法具体包括以下步骤:

[0020] 步骤1、所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针混合,分散在由蔗糖、海藻糖,吐温20组成的缓冲液中,得到所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针混合液;将结合垫用含有牛血清白蛋白、氯化钠、吐温20的缓冲液中浸泡30分钟,37℃烘干过夜或至完全干燥,在得到的结合垫上加入一定计量的所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针混合液,37℃烘干过夜或至完全干燥;

[0021] 步骤2、将步骤1所得的所述结合垫组装入试纸,将试纸的进样端浸入待测样品中,平放静置30分钟或至试纸完全干燥,置于拉曼光谱仪下扫面所述检测线区域,收集拉曼信号混合光谱;

[0022] 步骤3、将步骤2所得的所述拉曼信号混合光谱数据进行平滑和去基线处理,接着用所述拉曼光谱分解方法分解出所述信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针的信号强度,用所述校准表面增强拉曼探针的信号对所述信号表面增强拉曼探针的信号进行校准,代入事先绘制好的工作曲线,计算出待检物的浓度。

[0023] 与现有技术相比,本发明的显著优点是:

[0024] (1) 传统的侧流层析免疫检测试纸标记物是红色的胶体金颗粒,它通过检测线红色的深浅来判断待检物存在与否,难以做到灵敏的定量检测。本发明使用表面增强探针,检测的是拉曼信号,可以做到高灵敏的定量检测。

[0025] (2) 基于SERS探针的试纸,SERS探针的拉曼信号分子吸附在金属颗粒的表面,会受到“热点”现象的影响,可重复性差。本发明采用的表面增强拉曼探针,拉曼信号分子内嵌在核壳结构之间的缝隙当中,不受“热点”现象的影响,可重复性好。

[0026] (3) 基于单探针的表面增强拉曼探针试纸,由于反应膜上物理吸附作用导致的非特异性探针吸附,使得试纸的检测灵敏度受限。本发明采用的双探针校准体系表面增强拉曼探针试纸,使用了校准探针来消除非特异性吸附的影响,从而实现极高灵敏的检测。

[0027] 以下将结合附图对本发明的构思、具体结构及产生的技术效果作进一步说明,以充分地了解本发明的目的、特征和效果。

附图说明

[0028] 图1是本发明的一个较佳实施例的技术路线的总体示意图;

[0029] 图2是本发明的一个较佳实施例所使用的三种表面增强拉曼探针的拉曼光谱;

[0030] 图3是本发明的一个较佳实施例在检测梯度浓度的cTnI时测得的拉曼信号混合光谱;

[0031] 图4是本发明的一个较佳实施例用于检测cTnI时所绘制的信号校准前的工作曲线;

[0032] 图5是本发明的一个较佳实施例用于检测cTnI时所绘制的信号校准后的工作曲线。

具体实施方式

[0033] 以下参考说明书附图介绍本发明的多个优选实施例,使其技术内容更加清楚和便于理解。本发明可以通过许多不同形式的实施例来得以体现,本发明的保护范围并非仅限于文中提到的实施例。

[0034] 本发明公开了一种基于表面增强拉曼探针和双探针校准体系的侧流层析免疫检测试纸的制备和应用。双探针校准体系包含信号表面增强拉曼探针(简称信号探针)和校准表面增强拉曼探针(简称校准探针),其中,信号探针上偶联抗体,用来定量待检物浓度,校准探针不偶联抗体,用来定量由非特异性吸附产生的信号。所使用的表面增强拉曼探针,介孔二氧化硅包覆的核壳结构金纳米颗粒表面有着抗体修饰,且发出不同信号的多种探针有着相似的信号强度。所使用的双探针校准体系,同时使用信号探针和校准探针,并通过算法将采集到的两种探针的信号分离,基于校准探针的信号来消除非特异性吸附对信号探针的信号的影响。信号探针和校准探针以一定比例同时滴加在免疫侧流层析试纸的结合垫上,使用时,待检样品中的目标抗原在检测线上被捕获。随后,通过对检测线上拉曼信号的检测和数学方法的分析,可以得到高灵敏定量检测结果。本发明制备的探针信号强,稳定性好,双探针校准体系灵敏度高,抗干扰能力强,可重复性好,实现了试纸基底的高灵敏可重复的目标物定量检测。

[0035] 为了克服现有公开技术因存在非特异性吸附而无法实现超灵敏检测的问题,本发明采用具有相同拉曼信号强度,但拉曼特征峰位置不同的两种表面增强拉曼探针分别作为信号探针和校准探针,同时结合了计算方法,共同构成了双探针拉曼侧流层析检测体系以提升抗原检测的灵敏度。具体来说,如图1所示,本发明用上述两种探针组装了双探针校准体系的试纸,接着在实际检测时,采用激发激光1激发样品试纸,在拉曼光谱仪下扫描检测线2区域,收集拉曼信号混合光谱3,使用拉曼光谱分解方法4分离出信号探针的信号5、校准探针的信号6和试纸背景信号7。

[0036] 图2是本发明所使用的三种表面增强拉曼探针的拉曼光谱,其中,NBT是4-硝基苯硫醇的简称,BPDT是4,4'-联苯二硫醇的简称,BDT是1,4-苯二硫醇的简称。

[0037] 按照本发明,所述的SERS探针的制备方法可参照公布号为CN105727316A中国专利“一种表面增强拉曼探针的制备及其在生物医学成像中的应用”。

[0038] 实施例1:制备内嵌4,4'-联苯二硫醇(4,4'-BPDT)分子的核壳结构金纳米颗粒

[0039] 将20mL,1nM的20纳米金颗粒与1mL,10mM的4,4'-联苯二硫醇混合吸附19小时,接着离心并分散在20mL,0.05M的十六烷基三甲基氯化铵溶液中,然后取1mL上述吸附后的产物,与20mL,0.05M十六烷基三甲基氯化铵,1mL,5mM氯金酸和800μL,0.04M抗坏血酸混合震荡,得到核壳结构内嵌1,4-苯二硫醇分子的金纳米颗粒。

[0040] 实施例2:制备内嵌4-硝基苯硫醇(4-NBT)分子的核壳结构金纳米颗粒

[0041] 将20mL,1nM的20纳米金颗粒与1mL,10mM的4-硝基苯硫醇混合吸附10分钟,接着离心并分散在20mL,0.05M的十六烷基三甲基氯化铵溶液中,然后取1mL上述吸附后的产物,与16mL,0.05M十六烷基三甲基氯化铵,800μL,5mM氯金酸和500μL,0.04M抗坏血酸混合震荡,

得到核壳结构内嵌4-硝基苯硫醇分子的金纳米颗粒。

[0042] 实施例3:制备表面吸附有1,4-苯二硫醇(1,4-BDT)分子的金纳米棒颗粒

[0043] 步骤一:将5mL,0.45mM氯金酸溶液与5mL,0.2M十六烷基溴化铵混合,加入0.5mL,0.01M冰冻硼氢化钠溶液,搅拌2分钟,静置2小时,得到金种溶液。

[0044] 步骤二:将5mL,0.2M十六烷基溴化铵,5mL,1mM氯金酸溶液,0.5mL,1mM硝酸银与0.08mL,0.1M抗坏血酸混合,搅拌2分钟。

[0045] 步骤三:向步骤二得到的溶液中加入0.012mL步骤一得到的金种溶液,搅拌2分钟,室温静置3小时,得到金纳米棒溶液。

[0046] 步骤四:取20mL,1nM步骤三得到的金纳米棒溶液,与1mL,10mM的1,4-苯二硫醇混合吸附27小时,离心洗涤,得到表面吸附有1,4-苯二硫醇的金纳米棒颗粒。

[0047] 实施例4:制备表面吸附有4-硝基苯硫醇(4-NBT)分子的金纳米棒颗粒

[0048] 步骤一:按照实施例3中的步骤一至三,合成金纳米棒溶液。

[0049] 步骤二:取20mL,1nM步骤一得到的金纳米棒溶液,与1mL,10mM的4-硝基苯硫醇混合吸附10分钟,离心洗涤,得到表面吸附有4-硝基苯硫醇的金纳米棒颗粒。

[0050] 实施例5:制备表面吸附有4,4'-联苯二硫醇(4,4'-BPDT)分子的金纳米星颗粒

[0051] 步骤一:按照实施例3的步骤一合成金种溶液。

[0052] 步骤二:将0.1mL步骤一得到的金种溶液加入0.1mL,100mM氯金酸,0.22mL,1%质量分数的柠檬酸钠溶液和10mL,33mM对苯二酚溶液中,室温下搅拌30分钟,得到金纳米星溶液。

[0053] 步骤三:取20mL,1nM步骤二得到的金纳米星溶液,与1mL,10mM的4,4'-联苯二硫醇混合吸附19小时,离心洗涤,得到表面吸附有4,4'-联苯二硫醇的金纳米星颗粒。

[0054] 实施例6:制备表面吸附有1,4-苯二硫醇(1,4-BDT)分子的金纳米星颗粒

[0055] 步骤一:按照实施例5的步骤一至二合成金纳米星溶液。

[0056] 步骤二:取20mL,1nM步骤一得到的金纳米星溶液,与1mL,10mM的1,4-苯二硫醇混合吸附27小时,离心洗涤,得到表面吸附有1,4-苯二硫醇的金纳米星颗粒。

[0057] 实施例7:双SERS探针的侧流层析免疫检测试纸用于检测心肌钙蛋白I(cTnI)

[0058] 步骤一:使用实施例1所述颗粒作为信号探针,其上修饰cTnI抗体,使用实施例2所述颗粒为校准探针,两种探针按照1:1的浓度比例混合,分散在流动缓冲液当中。将硝基纤维素膜裁剪成约10mm×3mm,用结合垫缓冲液浸泡30分钟,37℃烘干过夜或至完全干燥。在结合垫上滴加10μL,0.6nM的信号探针-校准探针混合液,37℃烘干过夜或至完全干燥。

[0059] 步骤二:将步骤一所得的结合垫按照经典顺序组装入cTnI检测试纸,将该试纸的进样端浸入含有cTnI抗原的待测样品中,平放静置30分钟或至试纸完全干燥,置于拉曼光谱仪下扫描检测线区域,收集信号,测得的拉曼信号如图3所示。

[0060] 步骤三:将步骤二所得到的拉曼光谱数据进行平滑和去基线处理,接着用拉曼光谱分解方法分解出信号探针和校准探针的信号强度,用信号探针信号占两种信号加和的比例作为cTnI定量的标准,绘制工作曲线,使用校准探针的信号校准前后结果如图4和图5所示,其中, R^2 表示拟合度,LOD表示检出限。

[0061] 实施例8:双SERS探针的侧流层析免疫检测试纸用于检测脑尿钠肽(BNP)

[0062] 步骤一:使用实施例3所述颗粒为信号探针,其上修饰BNP抗体,使用实施例4所述

颗粒为校准探针,两种探针按照2:1的浓度比例混合,分散在流动缓冲液当中。将硝基纤维素膜裁剪成约10mm×3mm,用结合垫缓冲液浸泡30分钟,37℃烘干过夜或至完全干燥。在结合垫上滴加10μL,0.6nM的信号探针-校准探针混合液,37℃烘干过夜或至完全干燥。

[0063] 步骤二:将步骤一所得的结合垫按照经典顺序组装入BNP检测试纸,将该试纸的进样端浸入含有BNP抗原的待测样品中,平放静置30分钟或至试纸完全干燥,置于拉曼光谱仪下扫面检测线区域,收集信号。

[0064] 步骤三:将步骤二所得到的拉曼光谱数据进行平滑和去基线处理,接着用拉曼光谱分解方法分解出信号探针和校准探针的信号强度,用信号探针信号与校准探针信号的比作为BNP定量的标准,绘制工作曲线。

[0065] 实施例9:双SERS探针的侧流层析免疫检测试纸用于检测人绒毛膜促性腺激素(HCG)

[0066] 步骤一:使用实施例5所述颗粒为信号探针,其上修饰HCG抗体,使用实施例6所述颗粒为校准探针,两种探针按照1:1.5的浓度比例混合,分散在流动缓冲液当中。将硝基纤维素膜裁剪成约10mm×3mm,用结合垫缓冲液浸泡30分钟,37℃烘干过夜或至完全干燥。在结合垫上滴加10μL,1nM的信号探针-校准探针混合液,37℃烘干过夜或至完全干燥。

[0067] 步骤二:将步骤一所得的结合垫按照经典顺序组装入HCG检测试纸,将该试纸的进样端浸入含有HCG抗原的待测样品中,平放静置30分钟或至试纸完全干燥,置于拉曼光谱仪下扫面检测线区域,收集信号。

[0068] 步骤三:将步骤二所得到的拉曼光谱数据进行平滑和去基线处理,接着用拉曼光谱分解方法分解出信号探针和校准探针的信号强度,用信号探针信号与校准探针信号的比作为HCG定量的标准,绘制工作曲线。

[0069] 以上详细描述了本发明的较佳具体实施例。应当理解,本领域的普通技术无需创造性劳动就可以根据本发明的构思作出诸多修改和变化。因此,凡本技术领域技术人员依本发明的构思在现有技术的基础上通过逻辑分析、推理或者有限的实验可以得到的技术方案,皆应在由权利要求书所确定的保护范围内。

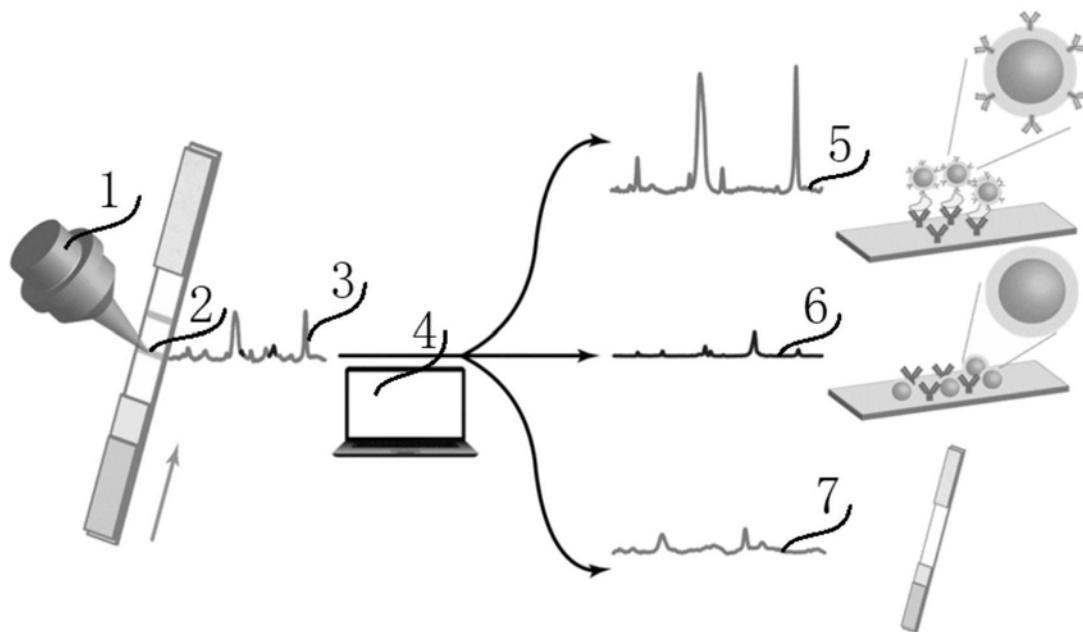


图1

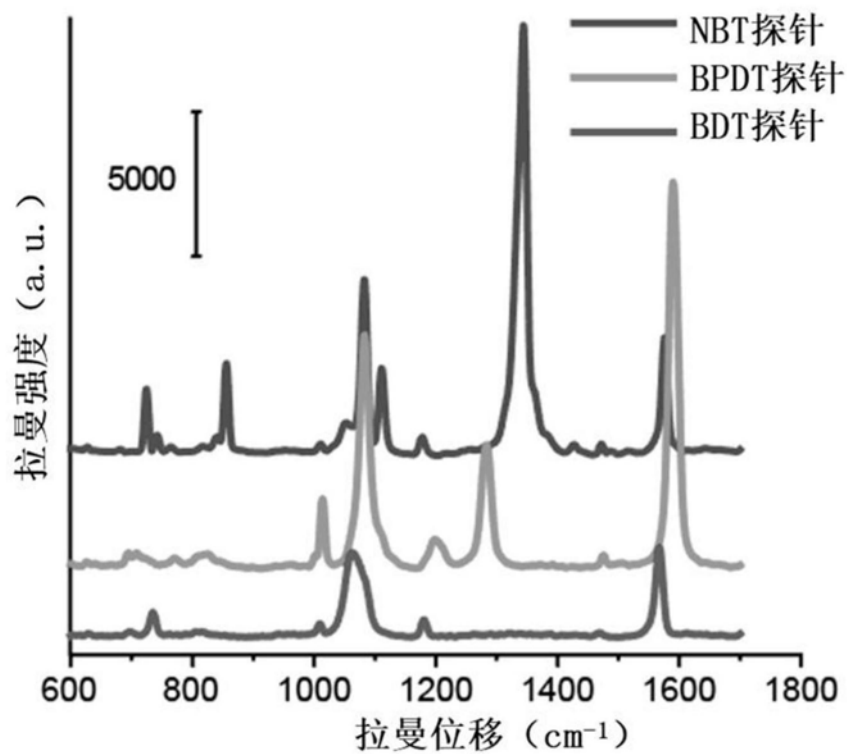


图2

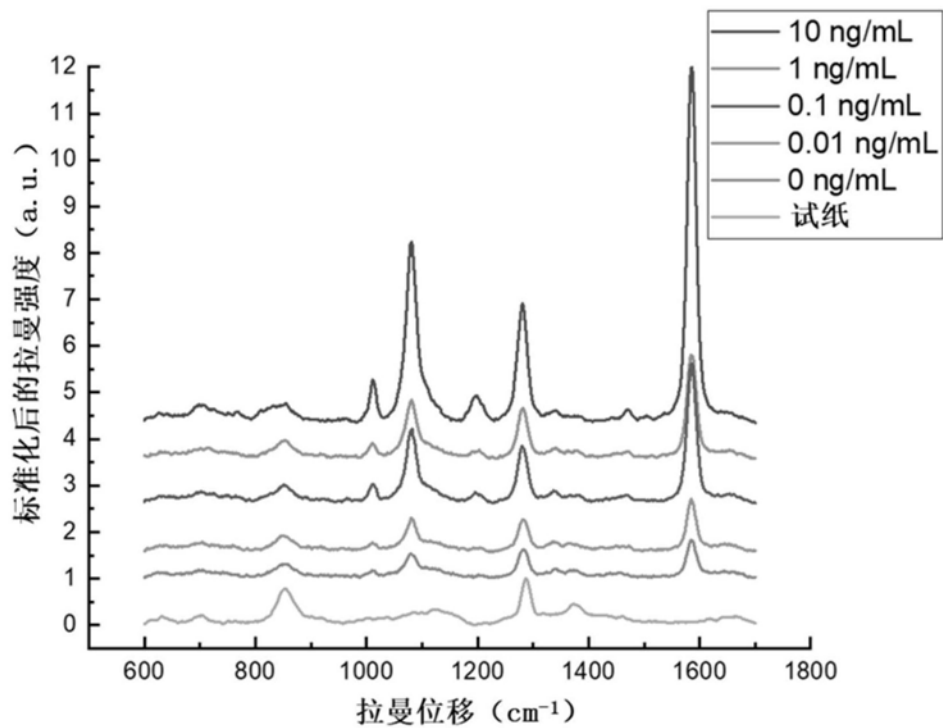


图3

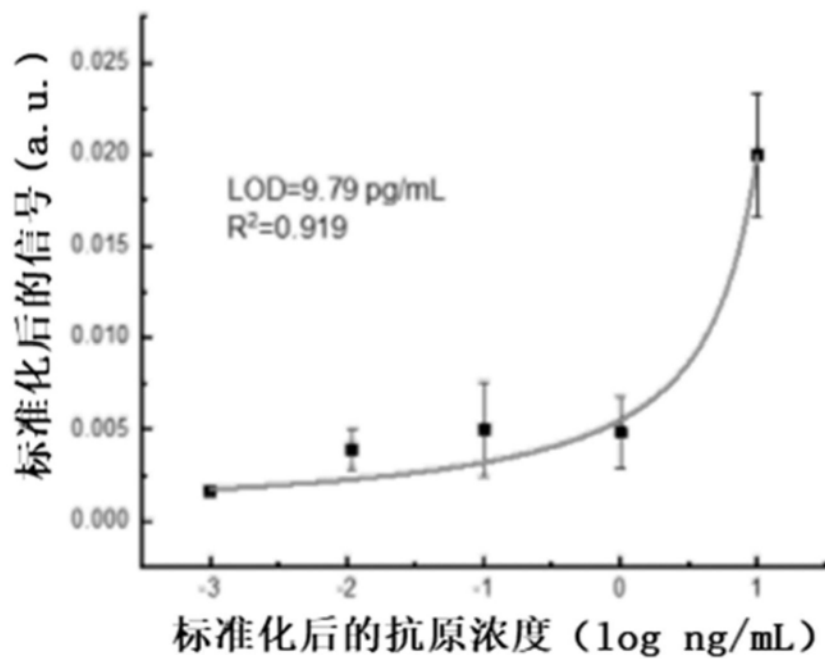


图4

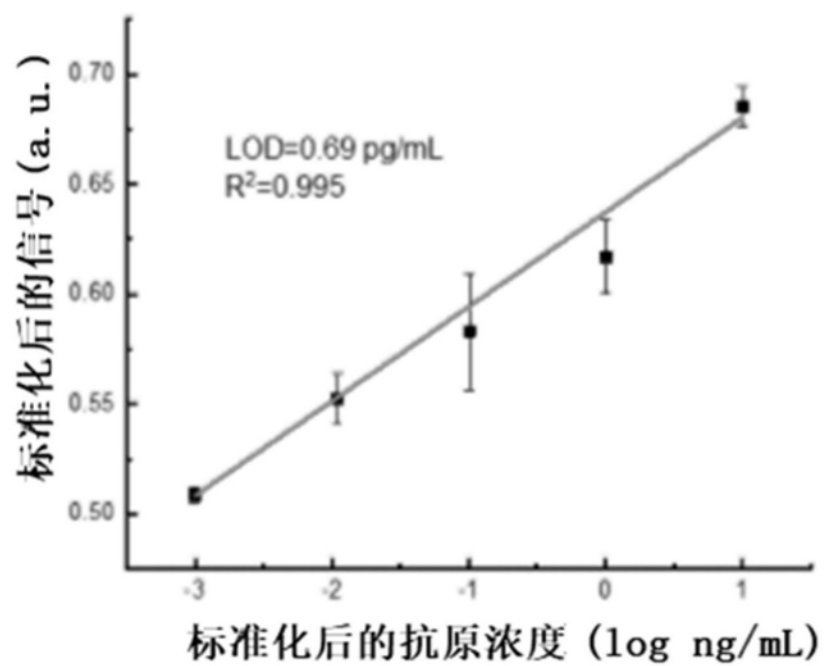


图5

专利名称(译)	一种高灵敏侧流层析免疫检测试纸的制备和应用		
公开(公告)号	CN110531071A	公开(公告)日	2019-12-03
申请号	CN201910825549.7	申请日	2019-09-03
[标]申请(专利权)人(译)	上海交通大学		
申请(专利权)人(译)	上海交通大学		
当前申请(专利权)人(译)	上海交通大学		
[标]发明人	叶坚 徐宏 古宏晨		
发明人	叶坚 徐宏 谭自扬 古宏晨		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/532 G01N21/65		
CPC分类号	G01N21/658 G01N33/532 G01N33/558		
代理人(译)	郑立		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种高灵敏侧流层析免疫检测试纸的制备和应用，涉及生物医学检测技术领域，包括结合垫、双探针校准体系和检测线，所述结合垫上设有所述双探针校准体系，所述检测线用于测量拉曼信号，所述双探针校准体系包括信号表面增强拉曼探针和校准表面增强拉曼探针，所述校准表面增强拉曼探针用于对所述信号表面增强拉曼探针进行信号校准。本发明制备的探针信号强，稳定性好，双探针校准体系灵敏度高，抗干扰能力强，可重复性好，实现了试纸基底的高灵敏可重复的目标物定量检测。

