



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109738629 A

(43)申请公布日 2019.05.10

(21)申请号 201910020330.X

(22)申请日 2019.01.09

(71)申请人 中国人民解放军军事科学院军事医学研究院

地址 100000 北京市海淀区太平路27号院
东门

(72)发明人 肖瑞 贾小飞 荣振 王柯莉

(74)专利代理机构 北京超凡志成知识产权代理
事务所(普通合伙) 11371

代理人 严诚

(51)Int.Cl.

G01N 33/532(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页 附图3页

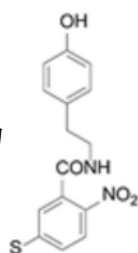
(54)发明名称

一种基于新型SERS探针的拉曼免疫检测方法

(57)摘要

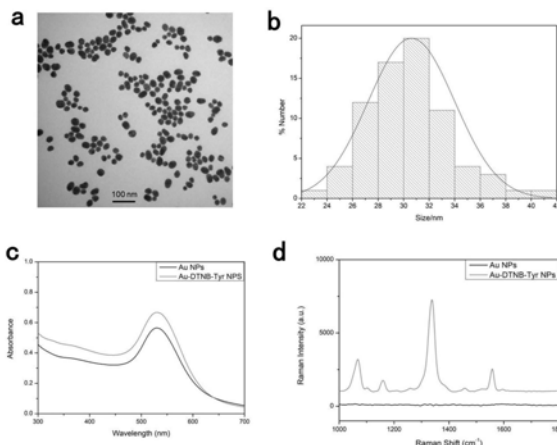
本发明涉及免疫学检测领域,具体而言,涉及一种基于新型SERS探针的拉曼免疫检测方法。

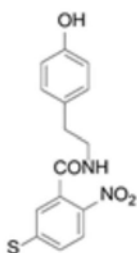
一种SERS探针,为



中的硫与金纳米颗粒

粒偶联的物质。本发明提供SERS免疫检测新技术,引入了新型的SERS检测探针Au-DTNB-Tyr NPs,再结合金标银染技术,在SERS检测探针周围引入银颗粒,起到增强SERS信号的作用。通过上述SERS检测探针和金标银染技术的引入,可高灵敏定量检测待检测物,其检测限为10pg/mL。





1. 一种SERS探针,其特征在于,为 中的硫与金纳米颗粒偶联的物质;

进一步地,所述金纳米颗粒的粒径为28-35nm。

2. 权利要求1所述的SERS探针的制备方法,其特征在于,DTNB-Tyr的乙醇溶液与金纳米颗粒混合反应,分离即得。

3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,所述金纳米颗粒通过柠檬酸钠还原氯金酸的方法制备;

进一步地,DTNB-Tyr由DTNB和Tyr通过酰胺反应而合成。

4. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,所述分离采用6000-8000rpm,离心5-10min;

进一步地,分离后还包括洗涤的步骤;

进一步地,所述洗涤采用BBS进行;

进一步地,洗涤后的SERS探针保存在BBS中,备用;

进一步地,BBS的浓度均为1.5-3mM。

5. 一种SERS检测试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括权利要求1所述的探针、与待检测物配对的第一抗体和第二抗体;

所述第二抗体标记HRP;

所述试剂盒以“支持物-第一抗体-待检测物-第二抗体-标记物”形式完成检测;

所述标记物以HRP-权利要求1所述的探针-银颗粒的形式存在。

6. 根据权利要求5所述的试剂盒,其特征在于,所述试剂盒还包括支持物、银染试剂、PBST、双蒸水中的任一种或多种;

进一步地,所述支持物上固定有所述第一抗体;

进一步地,所述支持物为硅片基底,优选为醛基化单晶硅片;

进一步地,所述待检测物为人IgM,所述第一抗体为动物源抗人IgM,所述第二抗体为动物源抗人IgM-HRP;

进一步地,所述第一抗体为羊抗人IgM,所述第二抗体为羊抗人IgM-HRP;

进一步地,所述支持物为醛基化硅片基底。

7. SERS免疫检测方法,其特征在于,包括以下步骤:

- (a) 第一抗体固定在支持物上,晾干;
- (b) 加入待检测物,反应,洗涤,晾干;
- (c) 加入第二抗体,反应,洗涤,晾干;
- (d) 加入权利要求1所述的探针,反应,洗涤,晾干;
- (e) 加入银染试剂,反应,洗涤并晾干;
- (f) 拉曼信号采集;

其中,所述第一抗体与所述第二抗体与待检测物配对,所述第二抗体标记HRP。

8. 根据权利要求7所述的检测方法,其特征在于,所述待检测物为人IgM,所述第一抗体为动物源抗人IgM,所述第二抗体为动物源抗人IgM-HRP,所述支持物为醛基化硅片基底,优选为醛基化单晶硅片;

进一步地,所述第一抗体为羊抗人IgM,所述第二抗体为羊抗人IgM-HRP;

进一步地,羊抗人IgM-HRP的工作浓度为1:1000。

9. 根据权利要求7所述的检测方法,其特征在于,步骤(a)-(e)中,所述洗涤均采用 $1 \times$ PBST洗涤;

进一步地,步骤(a)-(e)中,所述洗涤均洗涤2-3次;

进一步地,步骤(a)-(d)中,所述反应均为 $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 反应25-40min。

10. 根据权利要求7-9任一项所述的检测方法,其特征在于,步骤(f)中,信号采集的功率10毫瓦,信号采集时间5秒,选取反应区的4-7个点进行信号采集,并在 1337cm^{-1} 波段时读取峰值。

一种基于新型SERS探针的拉曼免疫检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫学检测领域,具体而言,涉及一种基于新型SERS探针的拉曼免疫检测方法。

背景技术

[0002] 免疫分析作为一种可靠,简单且便宜的方法,用于鉴定和定量复杂溶液样品中特定抗体或抗原的存在。这种基于抗体与抗原特异性结合的检测方法已广泛应用于生化研究、临床诊断、环境监测和食品安全检测等领域。

[0003] 表面增强拉曼散射(SERS)光谱具有光谱带窄、灵敏度高、多通道检测的优点,结合免疫检测技术,可以应用于蛋白质、病毒、细菌等的检测。目前,基于SERS的免疫检测技术通常依赖于液态SERS免疫磁珠基底、固态SERS免疫芯片基底和SERS免疫层析基底。

[0004] 在国内外的研究中,用于制备SERS免疫磁珠的磁性纳米颗粒包括银壳磁珠、金壳磁珠、以及普通的羧基化磁珠,其中银壳磁珠和金壳磁珠具有SERS增强能力。基于免疫磁珠的SERS免疫检测一般可实现单通道和双通道检测。而固态SERS免疫芯片基底由于具有预定义的多个孔阵列,可实现多通道检测。固态SERS免疫芯片基底包括金膜基底、银膜基底、石英玻璃基底等,其中金膜基底/银膜基底可以与SERS检测探针之间形成热点效应,达到高灵敏检测的目的;但是金膜基底/银膜基底制备复杂,价格昂贵。石英玻璃是一种最简单的检测基底,但本身无SERS增强能力,只能依靠具有极强信号的SERS检测探针达到高灵敏检测的目的。SERS-免疫层析检测技术是以条状纤维层析膜为固相基底,将SERS检测探针与免疫层析技术相结合的快速、高灵敏免疫分析方法,但也较难实现多通道和集成化检测。

[0005] 有鉴于此,特提出本发明。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种基于新型SERS探针的拉曼免疫检测方法,该探针配合HPR标记的抗体能有效放大SERS信号,达到高灵敏检测的目的;此外,固态硅片基底具有高通量检测的潜力,此方法的建立可为多种相关疾病的集成化检测奠定基础。

[0007] 为了实现本发明的上述目的,特采用以下技术方案:

[0008] 一种SERS探针,为  中的硫与金纳米颗粒偶联的物质。

[0009] 进一步地,所述金纳米颗粒的粒径为28-35nm。

[0010] 选取合适粒径大小的Au纳米颗粒制备SERS检测探针,因为太小的胶体金,SERS增强作用太弱,太大的胶体金会有空间位阻,所以选取30nm左右大小的Au NPs (Au纳米颗粒)。

[0011] 本发明还提供了所述的SERS探针的制备方法,DTNB-Tyr的乙醇溶液与金纳米颗粒

混合反应,分离即得。

[0012] 本发明中选用DTNB与Tyr能反应得到DTNB-Tyr,但是MBA与Tyr反应难以合成得到MBA-Tyr。

[0013] 进一步地,所述金纳米颗粒通过柠檬酸钠还原氯金酸的方法制备。

[0014] 具体可按以下步骤制备:

[0015] 将100mL 0.01wt%的氯金酸溶液加热煮沸,搅拌;然后,快速加入1.5mL 1wt%的柠檬酸钠溶液,继续加热20分钟,制备出约31nm左右的Au NPs溶液。各原料的用量根据需求进行调整即可。

[0016] 进一步地,DTNB-Tyr由DTNB和Tyr通过酰胺反应而合成。

[0017] 合成的新型化合物DTNB-Tyr,既具有拉曼分子的特征,又具有HRP催化底物的性质;DTNB-Tyr修饰Au NPs制备的新型SERS检测探针,既可以提供拉曼信号,又可以被HRP催化发生沉积。

[0018] 进一步地,所述反应为:静置反应3小时。

[0019] 进一步地,所述分离采用6000-8000rpm,离心5-10min。

[0020] 进一步地,分离后还包括洗涤的步骤。

[0021] 进一步地,所述洗涤采用BBS进行。

[0022] BBS为硼酸钠缓冲液的缩写。

[0023] 进一步地,洗涤后的SERS探针保存在BBS中,备用。

[0024] 进一步地,BBS的浓度均为1.5-3mM。

[0025] 即,分离的整体程序为:反应完成后,先离心,弃上清,然后用BBS洗涤,之后保存在BBS中。

[0026] 本发明还提供了一种SERS检测试剂盒,所述试剂盒包括上述的探针、与待检测物配对的第一抗体和第二抗体;

[0027] 所述第二抗体标记HRP;

[0028] 所述试剂盒以“支持物-第一抗体-待检测物-第二抗体-标记物”形式完成检测;

[0029] 所述标记物以HRP-上述的探针-银颗粒的形式存在。

[0030] 本发明提供SERS免疫检测新技术,引入了新型的SERS检测探针Au-DTNB-Tyr NPs,再结合金标银染技术,在SERS检测探针周围引入银颗粒,起到增强SERS信号的作用。通过上述SERS检测探针和金标银染技术的引入,可高灵敏定量检测待检测物,其检测限为10pg/mL。

[0031] 进一步地,所述试剂盒还包括支持物、银染试剂、PBST、双蒸水中的任一种或多种。

[0032] 进一步地,所述支持物上固定有所述第一抗体。

[0033] 进一步地,所述支持物为硅片基底,优选为醛基化单晶硅片。

[0034] 进一步地,所述待检测物为人IgM,所述第一抗体为动物源抗人IgM,所述第二抗体为动物源抗人IgM-HRP。

[0035] 进一步地,所述第一抗体为羊抗人IgM,所述第二抗体为羊抗人IgM-HRP。

[0036] 进一步地,所述支持物为醛基化硅片基底,优选为醛基化单晶硅片。

[0037] 本发明把硅片基底醛基化,通过醛基与氨基结合,能更好的固定捕获抗体。

[0038] 本发明还提供了SERS免疫检测方法,包括以下步骤:

- [0039] (a) 第一抗体固定在支持物上,晾干;
- [0040] (b) 加入待检测物,反应,洗涤,晾干;
- [0041] (c) 加入第二抗体,反应,洗涤,晾干;
- [0042] (d) 加入权利要求1所述的探针,反应,洗涤,晾干;
- [0043] (e) 加入银染试剂,反应,洗涤并晾干;
- [0044] (f) 拉曼信号采集;
- [0045] 其中,所述第一抗体与所述第二抗体与待检测物配对,所述第二抗体标记HRP。
- [0046] 进一步地,所述待检测物为人IgM,所述第一抗体为动物源抗人IgM,所述第二抗体为动物源抗人IgM-HRP,所述支持物为醛基化硅片基底,优选为醛基化单晶硅片。
- [0047] 本发明把硅片基底醛基化,能更好的固定捕获抗体。
- [0048] 进一步地,所述第一抗体为羊抗人IgM,所述第二抗体为羊抗人IgM-HRP。
- [0049] 进一步地,羊抗人IgM-HRP的工作浓度为1:1000。
- [0050] 本发明中,羊抗人IgM-HRP的工作浓度是以sigma购买的货号为A6907为基准,按照稀释比例为1:1000进行的稀释,得到的溶液即为工作液。
- [0051] 辣根过氧化物酶(HRP)可以催化底物酪胺(Tyr)发生沉积,但是在反应过程中不被消耗,所需量比较小。为了达到高灵敏和定量检测的目的,对免疫检测中所用的检测抗体(羊抗人IgM-HRP)的浓度进行了优化,其最佳工作浓度为1:1000。
- [0052] 进一步地,步骤(a)-(e)中,所述洗涤均采用 $1\times$ PBST洗涤。
- [0053] 进一步地,步骤(a)-(e)中,所述洗涤均洗涤2-3次。
- [0054] 进一步地,步骤(a)-(d)中,所述反应均为 $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 反应25-40min。
- [0055] 本发明中银染试剂包括A液(硝酸银水溶液)和B液(氢醌柠檬酸缓冲溶液)。本发明中银染反应按照常规方法进行。
- [0056] 进一步地,步骤(f)中,信号采集的功率10毫瓦,信号采集时间5秒,选取反应区的4-7个点进行信号采集,并在 1337cm^{-1} 波段时读取峰值。
- [0057] 本发明在硅片基底上进行免疫检测人IgM,引入辣根过氧化物酶标记的检测抗体(羊抗人IgM-HRP),HRP催化5,5'-二巯基代双(2-硝基苯甲酸)-酪胺{DTNB-Tyr}标记的SERS检测探针(Au-DTNB-Tyr NPs)沉积,提供拉曼信号;利用金标银染技术,在金颗粒周围引入银颗粒,放大SERS信号,达到高灵敏检测的目的。并且固态硅片基底具有高通量检测的潜力,此方法的建立可为多种相关疾病的集成化检测奠定基础。
- [0058] 与现有技术相比,本发明的有益效果为:
- [0059] (1) 在本发明中,醛基化单晶硅片作为SERS免疫检测基底,具有背景噪声低、性质均一和修饰方法简单等优点。
- [0060] (2) 选取合适粒径大小的Au纳米颗粒制备SERS检测探针,因为太小的胶体金,SERS增强作用太弱,太大的胶体金会有空间位阻,所以选取30nm左右大小的Au NPs。
- [0061] (3) 本发明提供的新型化合物DTNB-Tyr,既具有拉曼分子的特征,又具有HRP催化底物的性质,DTNB-Tyr修饰Au NPs制备的新型SERS检测探针,既可以提供拉曼信号,又可以被HRP催化发生沉积。
- [0062] (4) 本发明抗体上标记的辣根过氧化物酶(HRP)可以不断催化底物酪胺(Tyr)发生沉积,但是在反应过程中不被消耗,所需量比较小。为了达到高灵敏和定量检测的目的,对

免疫检测中所用的检测抗体(羊抗人IgM-HRP)的浓度进行了优化,其最佳工作浓度为1:1000。

[0063] (5) 在银染前,SERS检测探针沉积在免疫反应区域,沉积的量与所检测人IgM的浓度有关,浓度越高(1 μ g/mL),沉积的量越多;浓度越低(10ng/mL),沉积的量越少。在银染后,大量的银颗粒被还原在SERS检测探针周围,银颗粒的沉积量与SERS检测探针的量也呈正相关。所以,此种SERS免疫检测方法可以达到定量和高灵敏检测人IgM的目的。

[0064] (6) 本发明基于固态硅片基底的SERS免疫检测新技术,引入了新型的SERS检测探针Au-DTNB-Tyr NPs,再结合金标银染技术,在SERS检测探针周围引入银颗粒,起到增强SERS信号的作用。通过上述SERS检测探针和金标银染技术的引入,可高灵敏定量检测人IgM,其检测限为10pg/mL。

[0065] (7) 本研究中的SERS检测探针Au-DTNB-Tyr NPs可作为通用的探针,结合固态基底的多通道特征,具有实现多种抗原或者病原体的集成化检测的潜力。

附图说明

[0066] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,以下将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍。

[0067] 图1为本发明实施例涉及的基于醛基化硅片固态基底的SERS免疫检测原理图;

[0068] 图2为本发明实施例1中SERS检测探针的表征相关图;

[0069] 图3为本发明实施例2中不同羊抗人IgM-HRP稀释比例下的拉曼光谱(a)和在主峰1337 cm^{-1} 位移处的相对信号强度(b);

[0070] 图4为本发明实施例3中基于固态硅片基底的SERS免疫检测不同浓度人IgM的拉曼光谱图(a)和人IgM浓度为10pg/mL-1 μ g/mL时在1337 cm^{-1} 位移处的SERS信号强度与浓度对数之间的校正曲线图(b);

[0071] 图5为本发明实施例3中基于硅片固态基底的SERS免疫检测浓度10ng/mL和1 μ g/mL人IgM的扫描电镜图。

具体实施方式

[0072] 以检测人IgM为例,本发明基于醛基化硅片固态基底的SERS免疫检测原理见图1。在醛基化硅片的相应孔里包被捕获抗体,制备SERS免疫固态芯片,在反应孔里免疫检测人IgM,形成免疫复合物(抗人IgM-人IgM-抗人IgM-HRP),引入HRP,HRP催化酪胺偶联的SERS检测探针(Au-DTNB-Tyr NPs)沉积,利用金标银染技术,在反应孔里发生还原反应,大量银离子被催化还原成银颗粒,起到放大SERS信号的作用,达到高灵敏和定量检测人IgM的目的。

[0073] 下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述,但是本领域技术人员将会理解,下列实施例仅用于说明本发明,而不应视为限制本发明的范围。实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市售购买获得的常规产品。

[0074] 实施例1

[0075] 1.1材料

[0076] 试剂:氯金酸(国药集团);硝酸银(国药集团);柠檬酸钠(国药集团);羊抗人IgM

(Sigma);人IgM(Sigma);羊抗人IgM-HRP(Sigma);5,5'-二巯基代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)(Sigma);酪胺(Tyramine,Tyr)(Sigma);DTNB-Tyr;银染试剂(实验室配制):A液(硝酸银水溶液),B液(氢醌柠檬酸缓冲溶液);单晶硅片(浙江立晶)。

[0077] 仪器:加热磁力搅拌器(北京世纪华科);离心机(德国Eppendorf);Milli-Q超纯水系统(美国Millipore);Hitachi H-7650透射电镜(日本日立);Shimadzu 2600紫外分光光度计(日本岛津);i-Raman Plus BWS465-785H拉曼光谱仪(美国B&W Tek);ZEISS EVO LS10扫描电镜(德国蔡司)。

[0078] 1.2 SERS检测探针的制备

[0079] 首先,利用柠檬酸钠还原氯金酸的方法制备Au纳米颗粒(Au NPs):将100mL 0.01wt%的氯金酸溶液加热煮沸,搅拌;然后,快速加入1.5mL 1wt%的柠檬酸钠溶液,继续加热20分钟,制备出约31nm左右的Au NPs溶液。

[0080] SERS检测探针(Au-DTNB-Tyr NPs)的制备:将2.5μL 10mM的DTNB-Tyr/乙醇溶液加入到1mL Au NPs溶液中,至终浓度25μM,静置反应3小时;7000rpm,离心8min,弃上清,用2mM 硼酸钠缓冲液(BBS)洗涤一次;最后,SERS探针沉淀保存在2mM BBS溶液里,备用。

[0081] 1.3 SERS检测探针的表征

[0082] 图2a的透射电镜图显示Au NPs大小均匀,分散性良好,适合制备SERS检测探针。图2b粒径分布图表明Au NPs的粒径大小31nm左右,与预测的大小相符。DTNB-Tyr通过金-硫键与Au NPs结合,制备Au-DTNB-Tyr NPs,图2c的紫外-可见吸收光谱结果表明,与Au NPs溶液相比,Au-DTNB-Tyr NPs溶液的吸收峰并未发生变化。图2d的拉曼光谱信号表明,Au-DTNB-Tyr NPs表现出DTNB的特征峰。以上结果均说明SERS检测探针Au-DTNB-Tyr NPs制备成功。

[0083] 实施例2

[0084] 免疫芯片的制备:在醛基化硅片的各个孔阵列中央滴加1μL 1mg/mL的捕获抗体(羊抗人IgM),孵育过夜;然后加入5μL 1wt%BSA溶液,37℃孵育2小时,以封闭未结合抗体的区域;使用1×PBST洗涤,晾干,备用。

[0085] SERS免疫检测:在免疫芯片的相应孔里加入5μL不同浓度的人IgM(1μg/mL),PBS作为空白对照,37℃反应30min,1×PBST洗涤3次,晾干;在每个孔里加入5μL的检测抗体(羊抗人IgM-HRP),37℃反应30min,1×PBST洗涤3次,晾干;在每个孔里加入5μL的SERS检测探针,37℃反应30min,1×PBST洗涤2次,水洗一次,晾干;在每个孔里加入5μL的银染试剂(A液和B液等比例混合),避光反应2分钟,水洗涤1次,晾干。

[0086] 本实施例中,选择不同稀释比例(1:500-1:5000)的羊抗人IgM-HRP进行实验。

[0087] SERS信号的采集:使用便携式拉曼光谱仪,功率10毫瓦,采集时间5秒,任意选取反应区的5个点进行信号采集,在检测仪器上通过软件在1337cm⁻¹位移处读取峰值,在检测人IgM时,峰值越高表明人IgM浓度越高。

[0088] 获得拉曼光谱图(图3a),绘制不同浓度羊抗人IgM-HRP条件下的相对信号强度值(图3b)。结果表明,羊抗人IgM-HRP的用量决定了拉曼信号的强度,以DTNB位于1337cm⁻¹位移处的主峰用于比较SERS信号的强弱,其浓度在1:500至1:1000时拉曼信号强度较强,并且强度基本一致;当稀释至1:1000以下时,拉曼信号强度急剧下降。所以,本研究选取羊抗人IgM-HRP的工作浓度为1:1000。

[0089] 实施例3

[0090] 免疫芯片的制备:在醛基化硅片的各个孔阵列中央滴加1 μ L 1mg/mL的捕获抗体(羊抗人IgM),孵育过夜;然后加入5 μ L 1wt%BSA溶液,37 $^{\circ}$ C孵育2小时,以封闭未结合抗体的区域;使用1 \times PBST洗涤,晾干,备用。

[0091] SERS免疫检测:在免疫芯片的相应孔里加入5 μ L不同浓度的人IgM(1 μ g/mL、100ng/mL、10ng/mL、1ng/mL、100pg/mL、10pg/mL),PBS作为空白对照,37 $^{\circ}$ C反应30min,1 \times PBST洗涤3次,晾干;在每个孔里加入5 μ L的检测抗体(羊抗人IgM-HRP),37 $^{\circ}$ C反应30min,1 \times PBST洗涤3次,晾干;在每个孔里加入5 μ L的SERS检测探针,37 $^{\circ}$ C反应30min,1 \times PBST洗涤2次,水洗一次,晾干;在每个孔里加入5 μ L的银染试剂(A液和B液等比例混合),避光反应2分钟,水洗涤1次,晾干。

[0092] SERS信号的采集:使用便携式拉曼光谱仪,功率10毫瓦,采集时间5秒,任意选取反应区的5个点进行信号采集,在检测仪器上通过软件在1337 cm^{-1} 位移处读取峰值,在检测人IgM时,峰值越高表明人IgM浓度越高。

[0093] 由图4a可见,当人IgM浓度降低时,免疫反应区域的SERS信号变弱,当人IgM浓度下降至10pg/mL时,1337 cm^{-1} 位移处的主峰显著,空白对照几乎无信号。因此,基于硅片固态基底的SERS免疫检测人IgM,其检测限是10pg/mL。

[0094] 绘制以拉曼主峰1337 cm^{-1} 位移处的SERS信号强度和入IgM浓度(10pg/mL-1 μ g/mL)对数之间的校正曲线,如图4b所示,在人IgM浓度为10pg/mL到1 μ g/mL时具有良好的线性关系($R^2=0.993$),误差线代表了五次独立测量值的标准差。

[0095] 图5是基于硅片固态基底的SERS免疫检测浓度10ng/mL和1 μ g/mL人IgM的扫描电镜图,显示了银染前(图5a,c)和银染后(图5b,d)SERS检测探针和银颗粒的沉积情况,其沉积量与人IgM的浓度呈正相关。

[0096] 尽管已用具体实施例来说明和描述了本发明,然而应意识到,在不背离本发明的精神和范围的情况下可以作出许多其它的更改和修改。因此,这意味着在所附权利要求中包括属于本发明范围内的所有这些变化和修改。

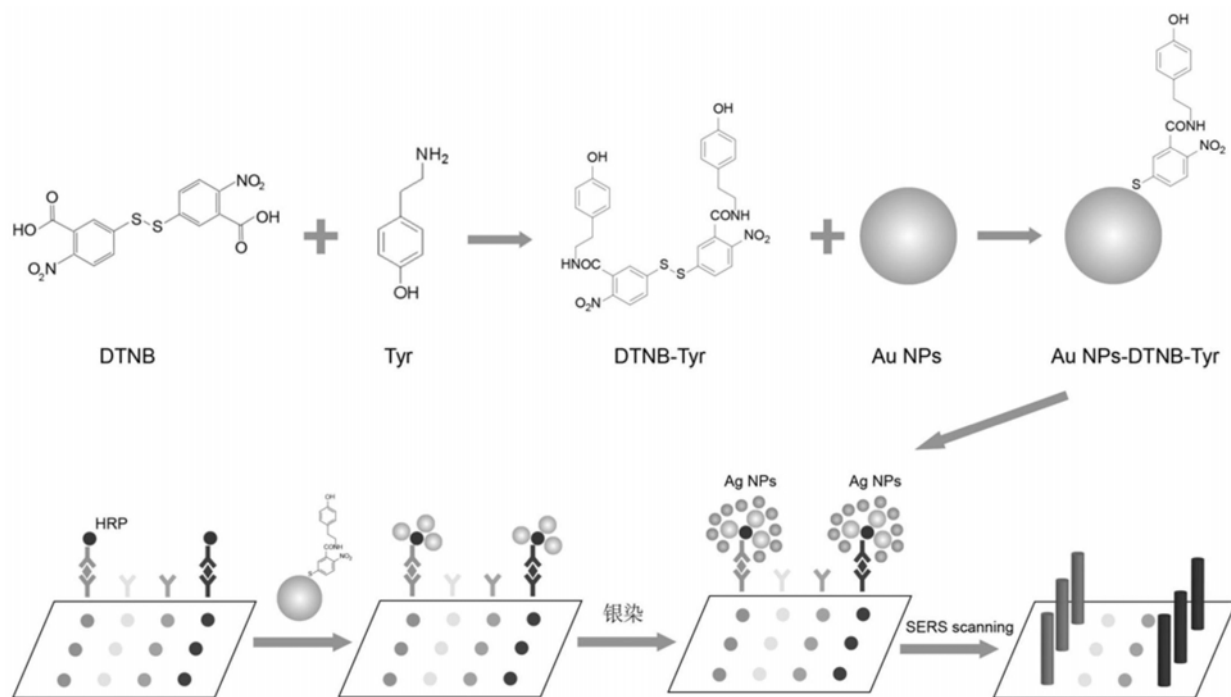


图1

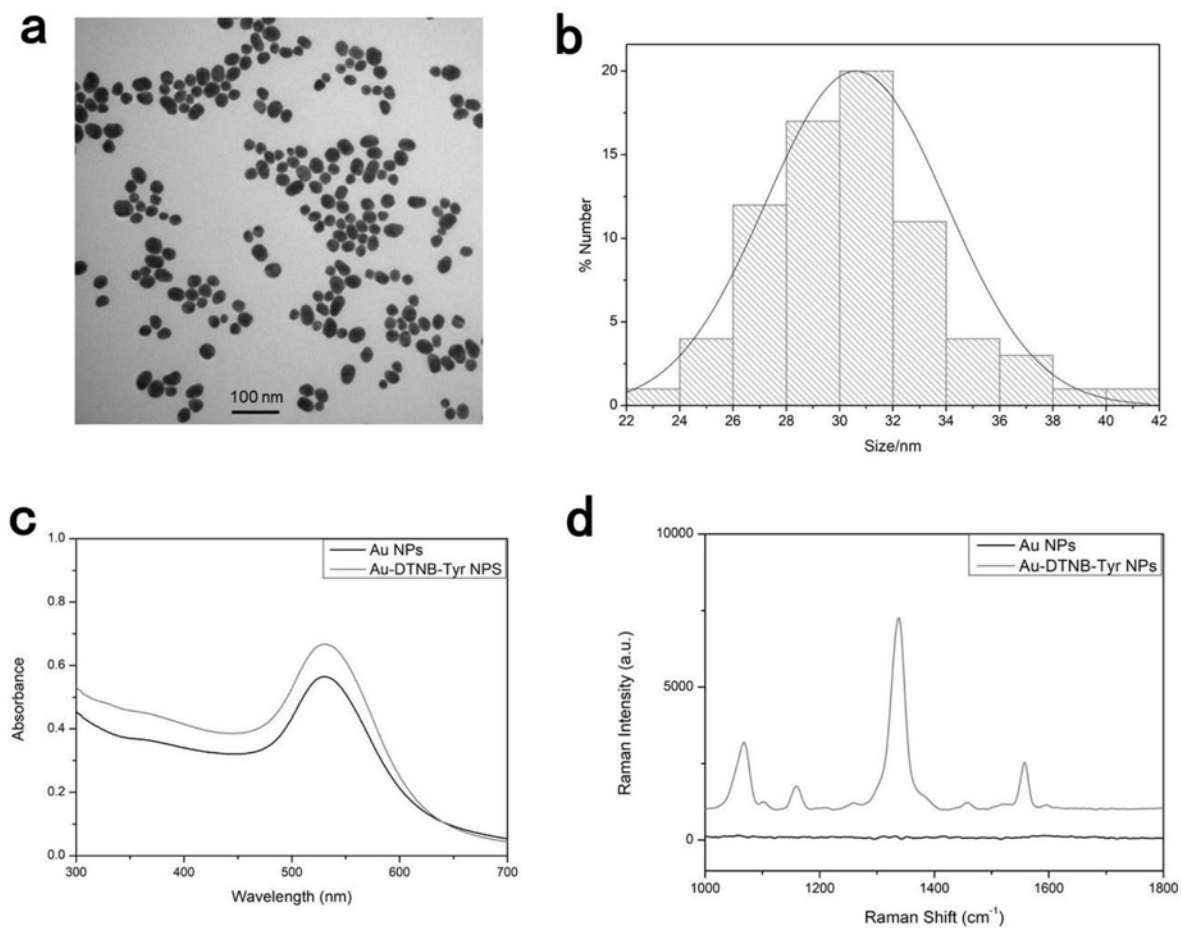


图2

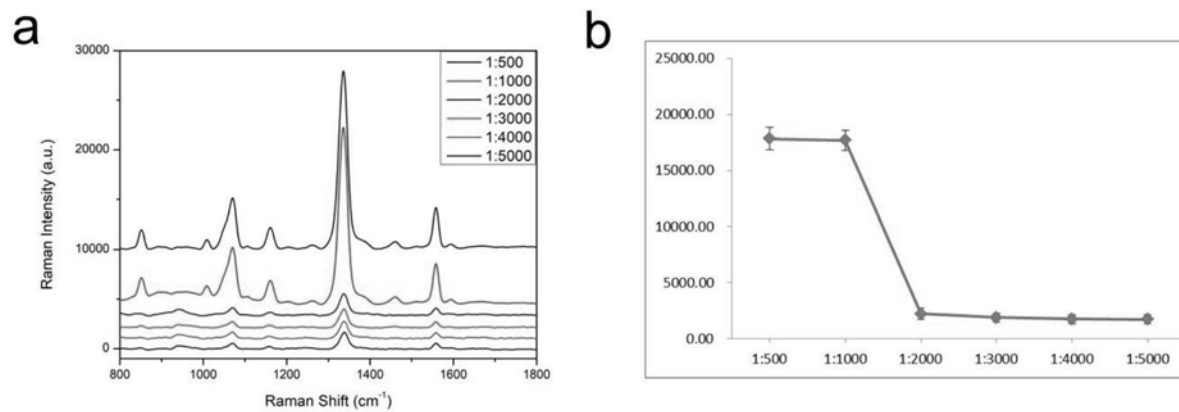


图3

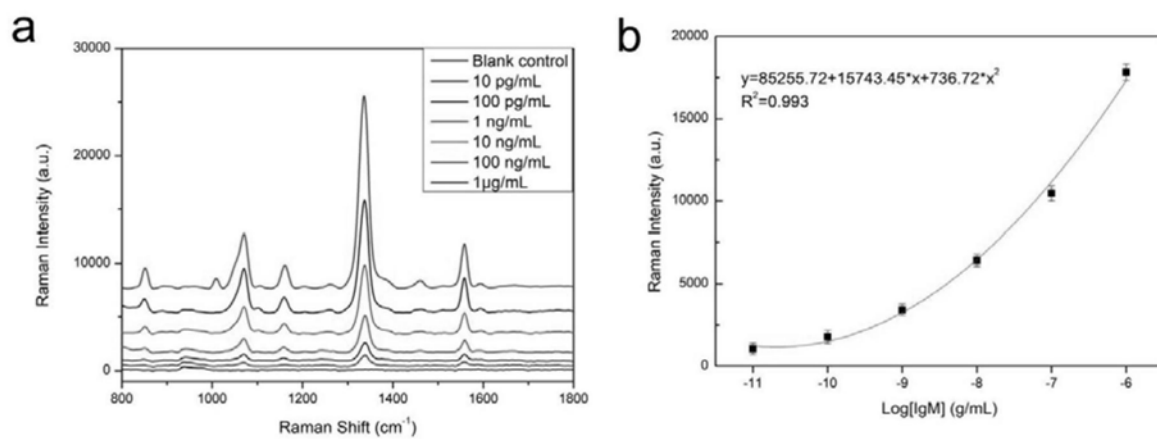


图4

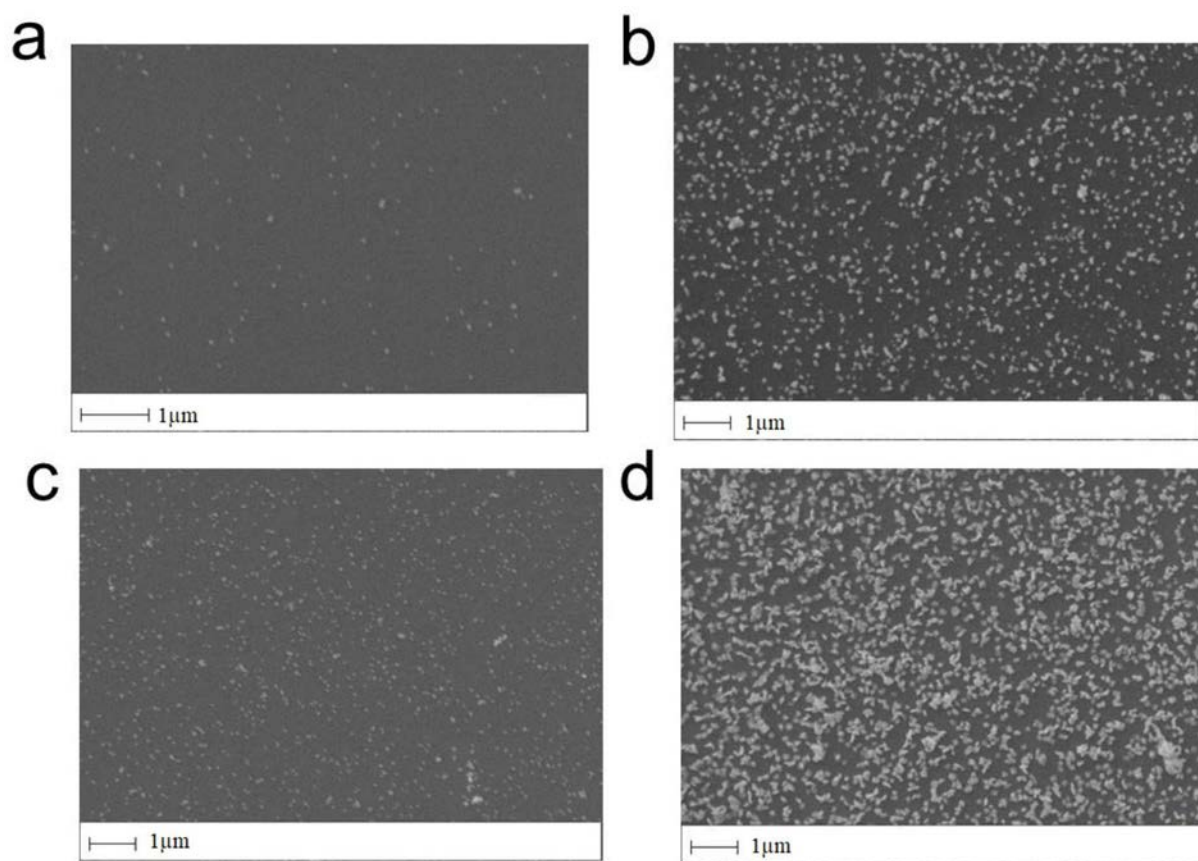


图5

专利名称(译)	一种基于新型SERS探针的拉曼免疫检测方法		
公开(公告)号	CN109738629A	公开(公告)日	2019-05-10
申请号	CN201910020330.X	申请日	2019-01-09
[标]发明人	肖瑞 贾小飞 荣振		
发明人	肖瑞 贾小飞 荣振 王柯莉		
IPC分类号	G01N33/532 G01N33/543 G01N33/58		
代理人(译)	严诚		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及免疫学检测领域，具体而言，涉及一种基于新型SERS探针的拉曼免疫检测方法。一种SERS探针，为中的硫与金纳米颗粒偶联的物质。本发明提供SERS免疫检测新技术，引入了新型的SERS检测探针Au-DTNB-Tyr NPs，再结合金标银染技术，在SERS检测探针周围引入银颗粒，起到增强SERS信号的作用。通过上述SERS检测探针和金标银染技术的引入，可高灵敏定量检测待检测物，其检测限为10pg/mL。

