文章编号:1000-7032(2018)08-1059-07

基于近红外上转换纳米探针的固相免疫检测研究

周 进^{1,2},张美玲^{1,2},张 俐³,李翠霞¹,赵慧颖³,张友林¹,夏安东⁴,孔祥贵^{1*} (1.发光学及应用国家重点实验室中国科学院长春光学精密机械与物理研究所,吉林长春 130033;

2. 中国科学院大学,北京 100049; 3. 吉林大学,长春 130012; 4. 中国科学院化学研究所,北京 100190)

摘要:以氯化物为原料通过溶剂热法合成了尺寸均匀的 NaYF₄:Yb³⁺,Tm³⁺上转换纳米粒子(UCNPs),利用 聚丙烯酸(PAA)取代 UCNPs 表面的油酸配体,引入羧基和人 IgG 的氨基共价结合(H 端),再用蛋白 G(protein G)作"桥"将兔抗羊 IgG(r-a-g IgG)修饰在硅片表面(R 端),以消除由于硅片"刚性"表面与 r-a-g IgG 分子直 接偶联而导致其结构或构象的变化,从而实现硅片表面与 r-a-g IgG 的"柔性"生物偶联。利用抗原抗体的特 异性免疫反应,将 H 端和 R 端通过羊抗人 IgG(g-a-h IgC)结合,建立了简单高效和快速灵敏检测溶液中 g-a-h IgG 的新型免疫分析方法。实验结果表明:g-a-h IgG 在 5 ~ 400 nmol/L 浓度范围内与上转换荧光强度具有良 好的线性关系,该传感器检测限为 1.82 nmol/L,并表现出优秀的检测特异性。本项研究为临床各种重大疾病 的免疫分析诊断提供了一种宽线性范围和高特异性的新型免疫方法和平台。

关 键 词:上转换; 夹心免疫; 生物传感器; 特异性 中图分类号: 0482.31 **文献标识码:** A **DOI**: 10.3788/fgxb20183908.1059

Studies of Solid Phase Immunoassay Based on Near Infrared Upconversion Nanoprobe

ZHOU Jin^{1,2}, ZHANG Mei-ling^{1,2}, ZHANG Li³, LI Cui-xia¹,

ZHAO Hui-ying³, ZHANG You-lin¹, XIA An-dong⁴, KONG Xiang-gui^{1*}

(1. State Key Laboratory of Luminescence and Applications, Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Jilin University, Changchun 130012, China;

4. Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China)

* Corresponding Author, E-mail: xgkong14@ ciomp. ac. cn

Abstract: Uniformed NaYF₄: Yb³⁺, Tm³⁺ nanoparticles were synthesized through solvent thermal method in chloride. PAA-based ligand replace strategies were carried out to introduce free carboxylic acid groups which allowed further conjugation with NH₂-containing human IgG. The silicon wafer was modified with rabbit anti-goat IgG by using protein G as "bridge", which contributed to eliminate structural or conformational changes of IgG. Owing to the specific antibody recognition to the antigenic, a simple, rapid, efficient and sensitive immunoassay method was developed. The experimental results demonstrate that there is a very good linear correlation between the upconversion luminescence intensity and the amount of goat anti-human IgG in the range of 5 ~400 nmol/L. The detection limit is as low as 1.82 nmol/L. Our developed detection system shows excellent detection

基金项目:国家自然科学基金(61575194,11474278,11504371,11674316,11604331,11374297);中国科学院长春光学精密机械与物 理研究所发光学及应用国家重点实验室开放课题(SKLA-2016-03)资助项目

收稿日期: 2018-01-13;修订日期: 2018-02-24

Supported by National Natural Science Foundation of China(61575194,11474278,11504371,11674316,11604331,11374297); Open Projects of State Key Laboratory of Luminescence and Applications, Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences(SKLA-2016-03)

specificity and sensitivity, which provides a new detection method and platform with wide linear range and high sensitivity for diagnosis of major clinical diseases in the future.

Key words: upconversion; sandwich immunoassay; biosensor; specificity

1引言

血液免疫检测是医学临床疾病诊断的重要手 段^[1]。在各种血液免疫检测方法中,荧光标记物 为基础的光学免疫检测由于其检测方法相对简单 并且具有较高的灵敏度在临床疾病诊断及监测中 得到了广泛的应用^[23]。目前普遍应用的荧光标 志物的激发光均为紫外或可见光,血液中检测时, 会激发血液产生荧光背景,湮灭探针的荧光信 号^[4]。因此,目前临床应用的光学检测技术,都 必须预先进行血清/血浆分离,而多次的分离及清 洗过程不可避免地会对待测生物分子的结构或构 象造成破坏,从而对检测的准确性造成影响,导致 错误的治疗方案,后果极其严重。

基于此,找到一种可以克服上述缺点的新的 荧光标记材料显得尤为重要。稀土元素掺杂的上 转换纳米粒子(UCNPs,例如 NaYF₄: Yb, Er/Tm) 能够吸收红外光(980 nm) 替代以往的紫外和可 见光激发,通过多光子吸收过程将近红外光子上 转换到可见光/近红外区域^[5]。由于生物分子本 身对近红外光吸收较弱,这种低能量的非入侵式 激发会将对生物样品的光损伤降到很小,同时也 意味着背景荧光和杂散光的信号极其微弱。另 外,由于稀土离子(例如 Er³⁺、Tm³⁺和 Yb³⁺)的 4f 电子受到最外层5s电子屏蔽作用,其发光性质受 环境变化的影响很小,具有发射谱线窄、光学性质 稳定、荧光寿命长、生物毒性低、光谱峰位随掺杂 稀土离子变化可调等特点[6-10],在细胞及生物体 成像[11]、核酸分子检测[12]以及光动力学治疗方 面^[13]都得到了广泛的应用。尤其最近,UCNPs作 为一种新型的荧光标记材料已经成为研究的热 点。如何发展基于 UCNPs 的高特异性、高灵敏度 固相免疫载体成为科学研究及应用方面亟待解决 的问题。

在本文中,我们选择 NaYF₄: Yb³⁺,Tm³⁺上转 换发光纳米粒子作为标记物,其激发(980 nm)和 发射(800 nm)波段均位于生物窗口内,可以有效 避免生物荧光背景的产生。进一步,利用这种近 红外发光探针及生物功能化修饰的硅片构筑双抗 体发光免疫夹心检测体系。首先,以共价偶联的 方式把 human IgG 修饰到聚丙烯酸包覆的 UCNPs 的表面,作为发光探针(H端);特别地,为了提高 r-a-g IgG 分子活性以及控制其活性端的取向,我 们创新性地引入 protein G 作"桥"将 r-a-g IgG 修 饰在硅片表面(R端)。当把修饰好的硅片植入 含有 g-a-h IgG 检测溶液中时,利用抗原抗体的特 异性结合反应,会将 UCNPs 连接到硅片上。通过 测量硅片上的上转换发光,从而实现 g-a-h IgG 的 高特异性、高灵敏的检测。

2 实 验

2.1 实验材料与仪器

实验中使用的试剂如下:YCl₃ · 6H₂O (99.9%)、 YbCl₃ · 6H₂O (99.99%)、TmCl₃ · 6H₂O (99.99%)、 油酸(90%)、1-十八烯 (90%)、PAA 等材料购 自 Sigma-Aldrich。戊二醛、human IgG、r-a-g IgG、 g-a-h IgG 和兔抗鼠 IgG(r-a-m IgG)购自北京鼎 国生物试剂公司,均为分析纯或化学纯级别。

实验中使用的仪器如下:台式离心机(型号为GT10-1);980 nm 半导体二极管激光器;X 射线 衍射仪(Bruker D8-advance);纳米粒径电位分析 仪(Nano-ZS Zetasizer ZEN3600);原子力显微镜 (Bruker Multimode 8);日立 F-4500 荧光光谱仪。

2.2 NaYF₄: 24.7% Yb³⁺, 0.3% Tm³⁺ 上转换纳 米粒子的合成

将 0.75 mmol 的 YCl₃、0.247 mmol 的 YbCl₃、 0.003 mmol 的 TmCl₃ 粉末和6 mL 油酸、15 mL 的 1-十八烯依次加入到 100 mL 的三颈瓶中,通氩气 并搅拌,缓慢升温到 160 ℃。稀土氯化物完全溶 解后,降温到 30 ℃,加入含 100 mg NaOH 和 148 mg NH₄F 的甲醇溶液。将体系升温到 70 ℃,保持 50 min 以完全除去溶液中的甲醇。缓慢升温至 300 ℃(10 ℃/min),反应 1.5 h 后降温至 30 ℃, 得到的溶液用丙酮进行沉化,离心 3 遍后分散在 8 mL 环己烷中备用。

2.3 上转换纳米粒子表面修饰 human IgG

将上述制备的溶液 8 mL(含有 160 mg UCNPs)

加入8 mL HCl 溶液(0.1 mol/L)中,振荡12 h,抽取 下层盐酸溶液离心2次(11 500 r/min 离心20 min)。 然后加入1 mL PAA 溶液(质量分数2.5%,pH 值用 5 mol/L 的 NaOH 调至9),超声3 min 溶解后室温振 荡过夜,离心后得到 PAA 修饰的 UCNPs(UCNPs-PAA),在 PBS 中具有良好的分散性。将 EDC (4 mmol/L)和 NHS(10 mmol/L)加入2 mL PBS 溶 液中(5 mg PAA-UCNPs)活化羧基,再加入0.5 mg human IgG,室温振荡2 h 后离心,得到 human IgG 修 饰的 UCNPs(UCNPs-PAA-h-IgG)。

2.4 固相载体表面修饰 r-a-g IgG

依次用丙酮、三氯乙烯和乙醇等清洗硅片,加 人浓盐酸和甲醇混合液(V: V = 1:1),反应 30 min,干 燥后加入过氧化氢和浓硫酸混合液(V: V = 3:7) 进行羟基化,缓慢油浴升温至 80 °C,反应 2 h,冲 洗烘干。再分别用 10% 的 APTES 乙醇溶液和 5% 的戊二醛甲醇溶液(加入 0.1% 质量分数的氰 基硼氢化钠)进行氨基和醛基化修饰,清洗后置 入 0.1 mg/mL 的 protein G 溶液中,4 °C 过夜。然 后加入 0.2 mg/mL r-a-g IgG,4 °C 下反应 12 h 后 加入 1% 的 BSA 封闭未结合位点,反应 2 h,得到 r-a-g IgG 修饰的硅片。

2.5 缓冲液中 g-a-h IgG 的定量免疫检测

将 g-a-h IgG 加入 UCNPs-PAA-h-IgG 溶液,最终 浓度分别为 5,10,20,50,100,200,300,400,500,600 nmol/L。将 r-a-g IgG 修饰的硅片插入 400 nmol/L 的溶液中,每隔 10 min 测一次 980 nm 激发下硅片的 上转换发光光谱(即 10,20,30,40 min),直到发光强 度饱和,以此确定最佳检测时间。然后将功能化硅 片插入上述不同浓度的 g-a-h IgG 溶液,充分反应后 测量硅片的上转换发光光谱,每个浓度均进行 5 次 独立实验以保证结果准确性。

2.6 免疫检测的特异性研究

按照上述方法分别配制 2 mg/mL 的 rabbit IgG 溶液、2 mg/mL 的 r-a-m IgG 溶液和 20 mg/mL 的 BSA 溶液,将功能化硅片分别插入,测量反应 后的上转换发光光谱。

3 结果与讨论

3.1 上转换纳米粒子的表征

本实验中,我们以氯化物为原料通过溶剂热 法合成了尺寸均匀的 NaYF₄:Yb³⁺,Tm³⁺上转换 纳米粒子。图1(a)给出了 UCNPs 的扫描电镜图 像,其显示纳米粒子尺寸分布为(23±1) nm。由 此获得尺寸均匀的纳米颗粒为后续荧光标记免疫 检测的重复性和精确性奠定了良好的材料基础。

样品的 X 射线衍射(XRD)图如图 1(b)所示,其 X 衍射峰位置与标准卡片 JCPDS No. 16-0334 相一致,表明合成的样品是纯六角相,由于六角相 UCNPs 的发光效率比立方相高近一个数量级,这为后续的高灵敏检测提供了条件。



- 图 1 (a) NaYF₄: Yb³⁺, Tm³⁺上转换纳米粒子的扫描电镜 照片;(b) NaYF₄: Yb³⁺, Tm³⁺上转换纳米粒子的 XRD 衍射图。
- Fig. 1 SEM image(a) and XRD pattern(b) of $\rm NaYF_4$: $\rm Yb^{3+}$, $\rm Tm^{3+}$ UCNPs

3.2 上转换纳米粒子与 human IgG 蛋白偶联 (H端)

我们利用去配体法将 UCNPs 从油相转移为 水相,并且通过 PAA 引入了可以进一步生物功能 化修饰的活性基团——羧基,和 human IgG 表面 的氨基进行偶联。

我们通过动态光散射技术(DLS)对其进行表征,DLS是通过测量散射颗粒产生的微小频移及 其角度依赖性来获取粒子的尺寸分布,广泛应用 于纳米粒子表面修饰的表征。由于 DLS 测得的 结果是流体动力学直径,并不是粒子的真实直径, 在粒子表面基团的作用下,测得的粒子尺寸比 SEM 测得的要大,但是仍可以用来定性表征粒子 的尺寸变化^[14]。图 2 是 UCNPs-PAA 和 UCNPs-



- 图 2 (a) PAA 修饰的的 NaYF₄: Yb³⁺, Tm³⁺上转换纳米粒子的 DLS 粒径分布图;(b)在(a) 基础上继续偶联 human IgG 的上转换纳米粒子的 DLS 粒径分布图。
- Fig. 2 Particle size distribution image of UCNPs-PAA(a) and UCNPs-PAA-h-IgG(b) by DLS $\label{eq:2.1}$

PAA-h-IgG 的 DLS 粒径分布图,显示偶联 human IgG 后,粒子流体动力学直径由 90 nm 增大至 290 nm,说明 human IgG 已经成功偶联在 UCNPs 表面^[15]。

3.3 硅片上修饰 r-a-g IgG 蛋白(R 端)

同时,我们利用 Protein G 作"桥",将 r-a-g IgG 修饰在硅片表面,以此提高 r-a-g IgG 分子活 性以及控制其活性端的取向。由于原子力显微镜 (AFM)具有原子级的高分辨率,我们利用 AFM 对硅片表面抗体偶联进行了表征。经过多步清洗 过程,我们排除了物理性吸附的分子对结果的影 响。硅片表面平整度约为1~2 nm(图3(a)),连 接 protein G 后高度约为4~6 nm(图3(b)),说明 在硅片上成功修饰上 protein G。在此基础上继续 修饰 r-a-g IgG,高度约为 15~17 nm(图 3(c))。考 虑 protein G, r-a-g IgG 的高度分别约为3 nm 和14 nm,表征结果略小于该高度,这可能是由于测试 过程中探针针端的压力引起的。由于 protein G 特异性结合抗体的 Fc 区域(Fab 区域为抗体抗原 结合位点),实现了硅片和抗体的"柔性偶联",为 后续检测的高灵敏度提供了有力保障。



- 图 3 (a)硅片表面的原子力显微镜成像图;(b)硅片表 面修饰 protein G 的原子力显微镜成像图;(c)在 (b)基础上继续修饰 r-a-g IgG 的原子力显微镜成 像图。
- Fig. 3 AFM images of the silicon wafer surface(a), silicon wafer surface modified with protein G(b); silicon wafer surface modified with protein G and r-a-g IgG (c), respectively.

3.4 检测物 g-a-h IgG 的定量检测

我们对缓冲液中的 g-a-h IgG 进行了定量检 测分析,游离 g-a-h IgG 先和上转换表面的 human IgG(H端)结合,将功能化硅片插入到 g-a-h IgG 溶液中后,硅片表面的 r-a-g IgG(R端)通过 g-a-h IgG 和 H端相结合,在 980 nm 激光的激发下,可 以从硅片表面上测得 UCNPs 的发光,最后通过 800 nm 发光强度来定量计算检测物 g-a-h IgG 蛋 白的浓度,结果如图 4 所示。首先,我们讨论了不 同检测反应时间对检测结果的影响。图 4(a)及 (b)给出了 g-a-h IgG 浓度为 400 nmol/L 时,经过 不同反应时间后,硅片表面的上转换发光增强情 况。随着反应时间的延长,越来越多的上转换纳 米粒子被结合到硅片表面,引起上转换发光的持 续增强,当反应时间达到 30 min 后,上转换的发



- 图 4 (a)功能化硅片在 g-a-h IgG 溶液中反应不同时间的上转换发光光谱(400 nmol/L);(b)功能化硅片在 g-a-h IgG 溶 液中反应不同时间的发光强度变化(400 nmol/L,800 nm);(c)不同浓度 g-a-h IgG 检测的荧光光谱(30 min);(d) 荧光强度与 g-a-h IgG 浓度的关系图(30 min,800 nm)。
- Fig. 4 (a) Upconversion luminescence spectra of the bio-functional substrate at different reaction time in buffer (400 nmol/L).
 (b) Fluorescence intensity on reaction time with the concentration of g-a-h IgG of 400 nmol/L (at 800 nm). (c) Upconversion luminescence spectra of the bio-functional silicon wafer with increasing g-a-h IgG concentrations (30 min). (d) Relationship between the fluorescence intensity at 800 nm and the concentration of g-a-h IgG (30 min).

我们进一步研究了这种方法的线性检测范 围。图4(c)和(d)给出了不同浓度 g-a-h IgG 下, 功能化硅片的上转换发光增强情况。随着溶液中 g-a-h IgG 浓度的增加,硅片表面连接的上转换纳 米粒子增多,荧光强度越来越大,当 g-a-h IgG 浓 度达到 400 nmol/L 时,发光达到饱和,此后 g-a-h IgG 浓度增加,上转换光强几乎不再发生变化。 在 5~400 nmol/L 的浓度范围内,上转换发光强 度和 IgG 浓度呈现出良好的线性关系,相关系数 达 0.993。根据 3σ IUPAC 标准计算得出该检测 系统的检测限为 1.82 nmol/L。

3.5 固相生物传感器的特异性研究

为了评价构建的固相生物传感器检测蛋白的 特异性,我们用上述方法对 g-a-h IgG(0.1 mg/ mL)、rabbit IgG(2 mg/mL)、r-a-m IgG(2 mg/mL)



光增强达到饱和,此后随着反应时间的延长,上转

换发光几乎不再变化。因此我们采用 30 min 作

为后续检测反应时间。

g-a-h lgG rabbit lgG r-a-m lgG BSA

- 图 5 固相生物传感器用于不同分析物检测的上转换荧光强度,由左至右依次为g-a-h IgG(0.1 mg/mL)、rabbit IgG (2 mg/mL)、r-a-m IgG(2 mg/mL)和BSA(20 mg/mL)。
- Fig. 5 Upconversion luminescence intensity of the bio-functional substrate in the presence of different analytes. From left to right: g-a-h IgG(0.1 mg/mL), rabbit IgG(2 mg/mL), r-a-m IgG(2 mg/mL), and BSA (20 mg/mL), respectively.

和 BSA 蛋白(20 mg/mL)溶液分别进行检测,反应 30 min 后,将硅片用 PBS 缓冲液冲洗 3 次,检测上转换发光,结果如图 5 所示。在 980 nm 激光的激发下,对于有特异性结合 g-a-h IgG 蛋白的检测,硅片上可以看到有明显的上转换发光,而其他 3 个硅片上几乎没有发光。上述结果表明这种夹心结构的生物传感器具有良好的特异性。

4 结 论

采用溶剂热法合成了尺寸均匀的 NaYF₄:

Yb³⁺,Tm³⁺上转换纳米粒子,基于这种激发和发 射均位于近红外区域的发光探针构建了固相生物 传感器,通过双抗体夹心免疫反应,实现了对溶液 中 IgG 的检测。该系统检测限为1.82 nmol/L,并 实现了 5~400 nmol/L 的宽范围检测,同时表现 出了优秀的检测特异性。这一工作有望用于多种 抗原抗体和 DNA,为血液中疾病相关生物分子的 快速灵敏检测提供了一个具有广阔前景的方法和 平台。

参考文献:

- [1] CAMARGO M E, MOURA M E, LESER P G. Toxoplasmosis serology: an efficient hemagglutination procedure to detect IgG and IgM antibodies [J]. Revista Do Instituto De Medicina Tropical De São Paulo, 1989, 31(4):279-285.
- [2] LI C, JING Z, LI Q, et al. One-step in situ, solid-substrate-based whole blood immunoassay based on FRET between upconversion and gold nanoparticles [J]. Biosens. Bioelectron., 2017, 92:335-341.
- [3] WU J, FU Z, YAN F, et al. Biomedical and clinical applications of immunoassays and immunosensors for tumor markers
 [J]. TrAC Trends Anal. Chem., 2007, 26(7):679-688.
- [4] CHERMONT Q L M D, SEGUIN J, TREJEAN, et al. Nanoprobes with near-infrared persistent luminescence for in vivo imaging [J]. Proc. Nation. Acad. Sci. Unit. States Am., 2007, 104(22):9266-9271.
- [5] SCHENKELAYLAND K, RIEMANN I, DAMOUR O, et al. Two-photon microscopes and in vivo multiphoton tomographs—powerful diagnostic tools for tissue engineering and drug delivery [J]. Adv. Drug Deliv. Rev., 2006, 58(7):878.
- [6]何奇,樊君,胡晓云,等. NaYF₄: Er³⁺的水热合成及其紫外上转换发光性能 [J]. 发光学报, 2012, 33(2): 122-127.
 HE Q, FAN J, HU X Y, *et al.*. Hydrothermal synthesis of NaYF₄: Er³⁺ and its ultraviolet up-conversion light emitting
- property [J]. Chin. J. Lumin., 2012, 33(2):122-127. (in Chinese).
 [7]于放达,陈欢,赵丹,等.利用核壳结构实现纳米颗粒的多色上转换发光 [J].发光学报, 2014, 35(2):165-171.
 YUFD, CHENH, ZHAOD, et al. Multicolor upconversion luminescence from core-shell structured nanoparticles [J].
- Chin. J. Lumin., 2014, 35(2):165-171. (in Chinese).
 [8]张喜生,晏春愉,郑海荣.光谱学方法研究Tm³⁺离子的上转换发光影响因素[J].光子学报, 2010, 39(8):1515-1518.

ZHANG X S, YAN C Y, ZHENG H R. Spectroscopic study of the upconversion effect of Tm³⁺ ions [J]. Acta Photon. Sinica, 2010, 39(8):1515-1518. (in Chinese).

[9]何春凤,赵丹,秦冠仕,等.Tm³⁺/Yb³⁺共掺杂ZBLAN 玻璃的多光子紫外上转换发光 [J]. 光子学报, 2011, 40(1):61-63. HE C F, ZHAO D, QIN G S, *et al.*. Multi-photon UV upconversion luminescence of Yb³⁺ and Tm³⁺ co-doped ZBLAN

glass [J]. Acta Photon. Sinica, 2011, 40(1):61-63. (in Chinese).

[10] 李慧,杨魁胜,祁宁,等. Yb³⁺/Er³⁺掺杂氟氧化物微晶玻璃的制备与发光性能 [J]. 中国光学, 2011, 4(6):672-677.

LI H, YANG K S, QI N, *et al.*. Preparation and luminescence properties of Yb^{3+}/Er^{3+} -codoped oxyfluoride glass ceramics [J]. *Chin. Opt.*, 2011, 4(6):672-677. (in Chinese).

- [11] CHATTERJEE D K, RUFAIHAH A J, ZHANG Y. Upconversion fluorescence imaging of cells and small animals using lanthanide doped nanocrystals [J]. Biomaterials, 2008, 29(7):937-943.
- [12] CORSTJENS P, ZUIDERWIJK M, BRINK A, et al. . Use of up-converting phosphor reporters in lateral-flow assays to

detect specific nucleic acid sequences: a rapid, sensitive DNA test to identify human papillomavirus type 16 infection [J]. Clinic. Chem., 2001, 47(10):1885-1893.

- [13] QIAN H S, GUO H C, HO P C L, et al. Mesoporous-silica-coated up-conversion fluorescent nanoparticles for photodynamic therapy [J]. Small, 2009, 5(20):2285-2290.
- [14] SHE W, LUO K, ZHANG C, et al. The potential of self-assembled, pH-responsive nanoparticles of mPEGylated peptide dendron-doxorubicin conjugates for cancer therapy [J]. Biomaterials, 2013, 34(5):1613-1623.
- [15] KIM S, KIM C A M, PYO H B, et al. Synthesis of anionic sulfate functionalized polystyrene latex and protein adsorption for application as a biosensor [J]. J. Nanosci. Nanotechnol., 2009, 9(12):7171-7176.



周进(1993 -),男,安徽铜陵人,硕 士研究生,2015 年于南开大学获得 学士学位,主要从事纳米稀土上转 换发光材料方面的研究。 E-mail: m15222507399@163.com



孔祥贵(1955-),男,山东曲阜人,博 士,研究员,博士研究生导师,1998年 于中国科学院长春物理研究所获得博 士学位,主要从事稀土上转换发光纳 米材料及应用的研究。

E-mail: xgkong14@ ciomp. ac. cn