

编者按: 以提高人才培养质量为目标, 坚持化学实验教学高标准, 将教学型仪器的研制&改进与实验教学相结合, 丰富实验教学内容, 拓展学生的创新思维和实践动手能力, 进一步优化实验教学课程体系, 同时促进教师和实验技术人员技术水平的提高, 推动实验室建设。为此, 《大学化学》编辑部推出“教学型仪器的研制&改进与实验教学”专题。稿件内容包括新教学仪器的设计、研制, 现有教学仪器的改进, 自制科研仪器转化为实验教学项目, 仪器自搭建特色实验等。全国各高校从事化学实验工作的老师们积极投稿、分享经验, 在此精选17篇案例, 以飨读者。希望能以点带面推动大学化学实验教学整体水平提升。

新冠病毒光热/比色双模态定量综合性实验设计

曾景斌¹, 王文静¹, 赵田雨¹, 郭庚辰¹, 矫春鹏¹, 江永忠², 温聪颖^{1,*}

¹ 中国石油大学(华东)化学化工学院, 山东 青岛 266580

² 湖北省疾病预防控制中心, 武汉 430065

摘要: 设计了“新冠病毒光热/比色双模态定量综合性实验”, 通过开发在近红外光下具有高效光热转换效率的标记纳米探针, 结合自行搭建的小型光热成像仪, 有效克服了商用胶体金试纸条灵敏度低和不能准确定量的问题。该法操作简便快速, 只需15 min即可完成, 能够实现裸眼比色定性和光热信号定量检测, 检测限低至 $1.2 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 相比于胶体金试纸条, 不仅实现了准确定量, 且灵敏度提高了近10000倍, 极大地缩短了病毒检测的窗口期。教学实践表明, 该实验能够提高学生的综合能力、开拓其学术视野, 并培养学生的科研素养和创新潜能。

关键词: Au_{shell}-Fe₃O₄纳米粒子; 比色检测; 光热检测; 试纸条; 新冠病毒

中图分类号: O6; G64

Design of a Comprehensive Experiment for Photothermal/Colorimetric Dual-Mode Quantification of SARS-CoV-2

Jingbin Zeng¹, Wenjing Wang¹, Tianyu Zhao¹, Gengchen Guo¹, Chunpeng Jiao¹, Yongzhong Jiang², Congying Wen^{1,*}

¹ College of Chemistry and Chemical Engineering, China University of Petroleum (East China), Qingdao 266580, Shandong Province, China.

² Hubei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Wuhan 430065, China.

Abstract: We have designed a comprehensive experiment for the photothermal/colorimetric dual-mode quantification of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). By developing label nanoprobe with high photothermal conversion efficiency under near-infrared light and integrating them with a self-built small photothermal imager, we have effectively addressed the limitations of commercial colloidal gold test strips, such as low sensitivity and inability to quantify. This method is rapid and user-friendly, requiring only 15 minutes to complete, and enables both naked-eye colorimetric qualification and photothermal accurate quantification. With a detection limit as low as $1.2 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$, this method surpasses commercial colloidal gold test strips by achieving accurate quantitative

收稿: 2024-02-08; 录用: 2024-04-15; 网络发表: 2024-09-20

*通讯作者, Email: fleyxt@163.com

基金资助: 国家自然科学基金面上项目(21876206, 22376218); 山东省自然科学基金面上项目(ZR2020MB064); 山东省重大基础研究项目(ZR2020ZD13); 中国石油大学教学改革项目(CM2022027, CZ2022009)

detection and improving sensitivity by nearly 10,000 times, significantly reducing the detection window period. Teaching practices have shown that this experiment enhances students' comprehensive abilities, expands their academic horizons, and nurtures their scientific research literacy and innovation potential.

Key Words: Au_{shell}-Fe₃O₄ nanoparticles; Colorimetric detection; Photothermal detection; Test strip; SARS-CoV-2

1 引言

传统实验教学有助于学生掌握相关理论知识和基本实验技能,但其往往内容单一,只是重复展示已有的科学现象和规律,不利于培养学生的科研创新及生产实践能力^[1-3]。依托教师的科研成果,开展合适的综合性实验,可以极大地丰富实验内容,并提高学生综合能力,已经成为传统实验教学有益且必要的补充^[3-5]。

过去三年里,新冠病毒的传播给人们的生命健康带来了巨大的危害^[6]。目前,已经在全世界造成了超过7.6亿人感染,695万人死亡^[7]。侧流免疫层析技术,又称试纸条技术,是一种广泛应用于医院、诊所、家庭等场所的新型免疫分析技术,可检测特定抗原、抗体以及基因扩增产物,具有成本低廉、操作简便、诊断快速、用户友好等优势^[8-10]。但传统试纸条都是以纳米金为信标材料,纳米金性质稳定、易于合成修饰、显色效果好,但灵敏度低、只能比色定性、难以准确定量^[11-13]。寻找新的信标材料并开发配套的便携式检测仪器已成为改善试纸条性能的重要解决思路^[14-16],作为相关专业的本科生是非常有必要了解这方面的科学前沿。

基于此,在课题组前期工作基础上^[17-19],本文自行搭建了小型光热成像仪,并制备了在近红外光下具有高效光热转换效率的Au_{shell}-Fe₃O₄纳米粒子,进而实现了比色光热双模式试纸条检测新冠病毒抗原。Au_{shell}-Fe₃O₄具有良好的光热效应,即该材料能够对光产生强烈的吸收,并转换为热量,进而使周围的温度升高。将其作为试纸条的新型信标材料,通过肉眼观察进行定性检测,通过测量激光照射后的温度信号,实现了准确定量分析,且极大地提高了检测灵敏度,相比于市售试纸条,检测限降低了将近10000倍。由于该方法具有良好的稳定性和重现性,内容完整,操作简便,我们基于此开发了综合性实验,涵盖了材料制备、化学修饰、生物识别、定量检测、仪器分析等操作以及相关的实验方法和技术,适合在材料、化学、生物、医学、仪器科学与技术等相关专业高年级本科生中开展。目前,已在我校化学专业学生中成功实践三届,教学效果良好,极大地提高了学生综合运用知识的能力,并培养了学生的科研素养。

2 实验设计

实验的整体设计如图1所示,学生首先通过阅读文献确定实验方案,然后实施实验,包括仪器组装、材料制备、修饰、表征和检测应用,再到数据处理、论文撰写和学术答辩,让学生经历一套完整的科研训练过程,从而训练学生的综合实验能力,并培养学生的科研素养。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

试剂:羰基铁(Fe(CO)₅)购自北京鑫鹏飞科技有限公司,四甲基氢氧化铵(TMAH)、柠檬酸三钠(TSC)、氯金酸(HAuCl₄)、硝酸银(AgNO₃)、盐酸羟胺、碳酸钾(K₂CO₃)、吐温-20(tween-20)购自上海麦克林化学试剂有限公司,油酸、1-十八烯、牛血清白蛋白(BSA)购自美国Sigma-Aldrich公司,小鼠源新冠病毒N蛋白检测抗体、小鼠源新冠病毒N蛋白包被抗体、山羊抗小鼠抗体、新冠病毒N蛋白购自北京义翘神州生物技术有限公司,甲型流感H1和H3N2灭活病毒、乙型流感Yamagata和Victoria灭活病毒由湖北省疾病预防控制中心提供。聚氯乙烯底板、硝酸纤维素膜(NC膜)、吸水垫和样品垫购自上海捷宁生物科技有限公司。

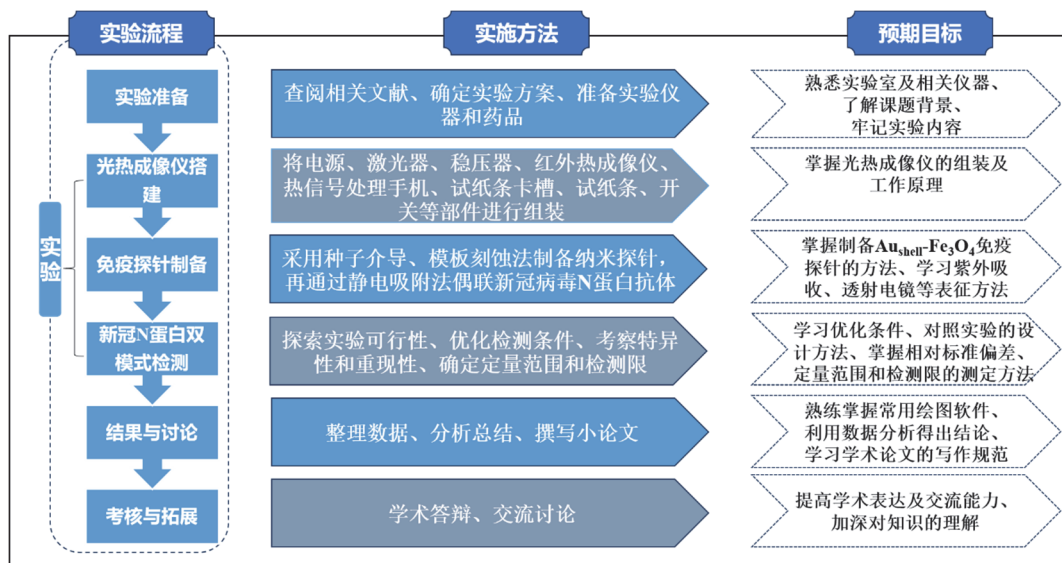


图1 实验流程、实施方法和预期目标

仪器: 电子分析天平(SARTORIUS, BSA224S), 透射电子显微镜(FEI, Tecnai G2 20 TWIN), 离心机(Eppendorf, 5430), 控温磁力搅拌器(郑州长城, SZCL-A), 电热恒温鼓风干燥箱(上海森信实验仪器有限公司, DGG-9030G), 808 nm近红外激光器(深圳富镭科技有限公司, FU808AD2000-F34), 红外热成像仪(飞础科智慧科技(上海)有限公司, FOTRIC 226s), 划膜喷金标机(杭州峰航科技有限公司, HGS510), 高速切条机(杭州峰航科技有限公司, HGS210)。

3.2 Fe₃O₄纳米粒子的制备

将2.4 mL油酸和20 mL 1-十八烯加到三口圆底烧瓶中, 磁力搅拌下加热到100 °C, 同时通入氮气鼓泡。30 min后, 注入0.4 mL Fe(CO)₅ (3.04 mmol), 加热至295 °C, 反应1 h。将反应体系冷却至室温, 产物通过异丙醇离心洗涤三次后, 分散在20 mL TMAH (10%)溶液中, 超声处理直至澄清, 离心后将沉淀分散在20 mL超纯水中。

3.3 Ag-Fe₃O₄纳米粒子的制备

(1) Ag_{seed}-Fe₃O₄的制备: 在磁力搅拌下, 将40 mL去离子水、1 mL Fe₃O₄和1 mL 1% TSC的混合物加热至60 °C。再缓慢加入500 μL AgNO₃溶液(0.17%)反应2 h。冷却至室温, 将溶液在254 nm紫外光下照射0.5 h。然后加入4 mL 1% TSC, 重新加热至60 °C, 再在1 h内加入3.75 mL AgNO₃溶液(0.17%)。继续反应0.5 h, 即得到Ag_{seed}-Fe₃O₄。

(2) Ag-Fe₃O₄纳米粒子的制备: 将10 mL Ag_{seed}-Fe₃O₄、7.2 mL 1% TSC和40 mL超纯水混合, 在磁力搅拌下加热到60 °C。然后在3.4 h内加入7.2 mL AgNO₃溶液(0.17%), 反应1 h, 制得Ag-Fe₃O₄纳米粒子。

3.4 Au_{shell}-Fe₃O₄纳米粒子的制备

将5 mL Ag-Fe₃O₄纳米粒子与5 mL盐酸羟胺(6.25 mmol·L⁻¹)在磁力搅拌下混合。然后在12.5 min内加入5 mL HAuCl₄ (0.465 mmol·L⁻¹)。当颜色稳定在蓝色后, 将溶液与30%的过氧化氢以体积比50 : 1混合, 反应1.25 h, 即得Au_{shell}-Fe₃O₄。

3.5 Au_{shell}-Fe₃O₄的抗体修饰

将35 μL、0.1 mol·L⁻¹ K₂CO₃溶液加到1 mL Au_{shell}-Fe₃O₄溶液中, 在室温下振荡5 min。再向其中加入10 μg N蛋白检测抗体, 在常温下剧烈振荡2 h。最后将获得的纳米探针(Au_{shell}-Fe₃O₄-Ab)用0.01 mol·L⁻¹ pH = 7.4磷酸缓冲溶液(PBS)洗涤, 并重新分散在PBS中, 存于4 °C备用。图2a展示了Au_{shell}-Fe₃O₄的制备和修饰过程示意图。

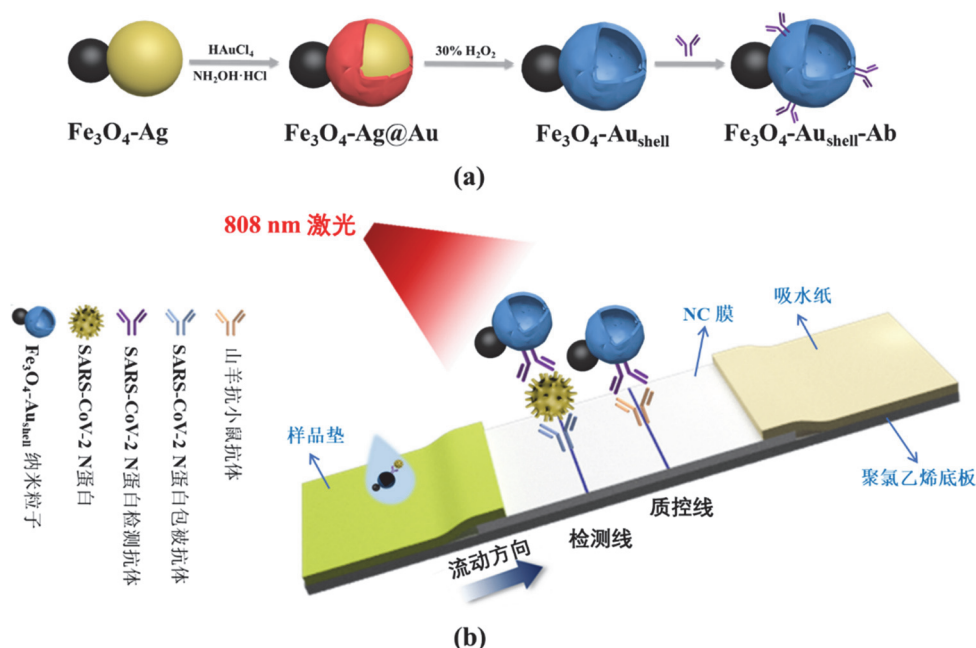


图2 (a) $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 纳米粒子的制备和修饰示意图；
(b) 基于 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 比色光热双模式检测新冠病毒试纸条的结构和检测原理示意图

3.6 新冠病毒N蛋白检测试纸的制备

将样品垫、NC膜和吸水垫交叠粘贴在聚氯乙烯底板上，交叠部分为2 mm (图2b)。在检测线(T线)上以 $1 \mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}$ 的速率喷涂 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的新冠病毒N蛋白包被抗体。在控制线(C线)上以 $1 \mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}$ 的速率喷涂 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的山羊抗小鼠抗体(二抗)。然后将试纸条放置在 37°C 下干燥2 h，用高速切条机切割成宽度为3 mm的小条，存放在棕色干燥器。

3.7 新冠病毒N蛋白的检测方法及条件优化

(1) 基本方案：在微孔板中，加入 $20 \mu\text{L}$ 待检样品和 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4\text{-Ab}$ 并混合均匀，然后加入运行溶液(含有0.5% tween-20, 1% BSA的PBS)，使溶液总体积为 $50 \mu\text{L}$ 。轻摇孵育后，将试纸条的样品垫一端插入微孔板的溶液中。通过目视观察T线和C线的颜色变化进行定性检测。并用搭建的光热成像仪测定T线上的温度信号，按式(1)计算光热信号：

$$\Delta T = T_1 - T_0 \quad (1)$$

其中 ΔT 为最终记录温度信号， T_1 为样品试纸条T线温度值， T_0 为空白试纸条(没有使用过的试纸条)T线温度值。根据 ΔT 可以实现定量检测。

(2) 条件优化：采用单因素变量法对近红外光激光器激发功率密度、激发时间、 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4\text{-Ab}$ 用量、NC膜种类、 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4\text{-Ab}$ 与抗原反应时间、制备探针时抗体用量进行优化。在实验中，只改变待优化条件，固定其他条件不变，按照上述步骤测试 ΔT 。其中激光器激发功率密度分别为 0.7 、 1.2 、 1.7 、 $2 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ ；激发时间分别为 0 、 10 、 20 、 30 、 40 、 50 、 60 、 70 、 80 、 90 、 100 s ； $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4\text{-Ab}$ 用量分别为 20 、 25 、 30 、 35 、 $40 \mu\text{L}$ ；NC膜种类分别为PV120和CN140； $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4\text{-Ab}$ 与抗原反应时间分别为 1 、 5 、 10 、 15 、 20 min ；制备探针时抗体用量分别为 1 、 5 、 10 、 15 、 $20 \mu\text{g}$ 。

3.8 模拟实际样品的处理及检测

采集志愿者的咽拭子，在其中加入不同浓度的新冠病毒N蛋白模拟实际样品。然后按照3.7(1)所述步骤进行测试。此外，为了与市售试纸条的检测效果进行对比，还利用胶体金试纸条按照说明书对每个样品进行了检测。

4 结果与讨论

4.1 小型光热成像仪搭建

该小型光热成像仪主要由电源、激光器、稳压器、红外热成像仪、热成像信号处理手机、试纸条卡槽、开关等七部分组成，仪器示意图和实物图如图3所示。使用时，先将试纸条插入到试纸条卡槽内，然后打开热成像仪信号采集系统，同时开启808 nm激光器照射试纸条的T线，通过热成像仪及手机进行T线的温度数据的读取和处理，进而实现检测结果定量数值输出。

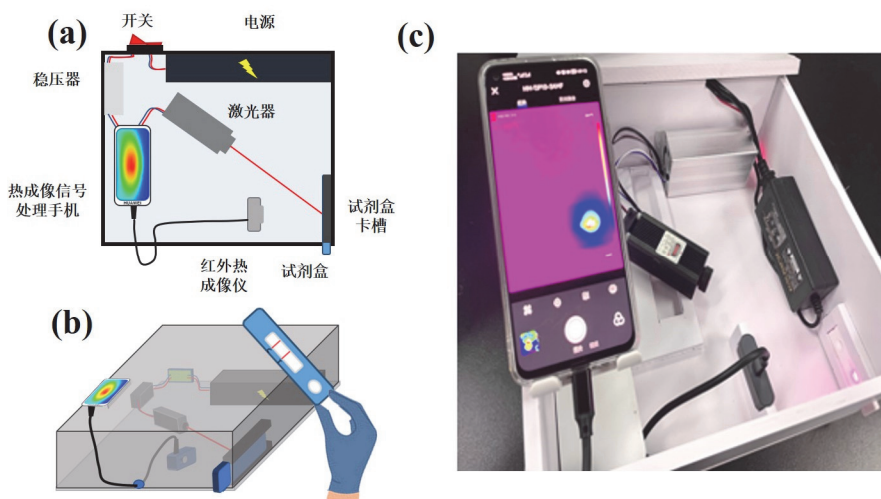


图3 (a, b) 实验室自制小型光热检测仪仪器示意图; (c) 小型光热检测仪实物图

4.2 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 试纸条比色光热双模式检测新冠病毒N蛋白的原理

检测原理如图2b所示， $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4\text{-Ab}$ 和N蛋白通过抗原-抗体作用发生特异性结合，然后将其加载到试纸条样品垫上进行层析，被T线上的N蛋白包被抗体捕获，形成三明治夹心结构。 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4\text{-Ab}$ 在T线上聚集，产生颜色条带。而游离 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4\text{-Ab}$ 继续向前移动并被C线上的二抗捕获从而显色。即当样品中含有N蛋白时，T线和C线都显色，会出现两条色带。而阴性样品中只有游离的探针，只会发生探针与C线的结合，因此阴性样品只有C线显色。当C线不显色时，表示探针上的抗体不能与C线的二抗结合，表明试纸条失效，则检测结果无效。因此，通过肉眼观察条带显色情况进行定性检测，进而利用搭建的小型光热成像仪采集T线的温度信号进行定量分析。

4.3 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 纳米粒子的表征

如图4a所示，制得的 Fe_3O_4 纳米粒子分布均匀，尺寸在20 nm左右。进而利用TSC和 Fe^{2+} 还原 Ag^+ ，在 Fe_3O_4 纳米粒子表面形成Ag纳米粒子，如图4b所示， $\text{Ag-Fe}_3\text{O}_4$ 呈现一对一哑铃型二聚体结构。然后根据置换理论，在盐酸羟胺的辅助下，将 Au^{3+} 离子还原，在Ag纳米粒子表面形成Au层。最后，在 H_2O_2 的存在下，Ag核被氧化成 Ag^+ ，留下空心的Au壳层。如图4c所示， $\text{Ag-Fe}_3\text{O}_4$ 纳米结构中的原始Ag核已被刻蚀，形成厚度约为10 nm的空心壳(图4d)。进一步，对所得 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 进行了高角度环形暗场成像和能量色散X射线元素分析(图4e-4i)，金元素(图4f，蓝色)呈现壳状结构，Fe元素(图4g，黄色)和O元素(图4h，红色)基本重叠形成 Fe_3O_4 结构， Au_{shell} 与 Fe_3O_4 呈现出一对一哑铃型结构(图4i)。以上表征证明我们成功制备了 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 结构。

进一步，对 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 纳米粒子的光热性能进行了研究。 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 的紫外-可见吸收光谱的最大吸收波长在790 nm (图5a)，与808 nm激光器匹配较好。将该材料喷涂在试纸条上，用自搭光热成像仪采集光热信号。如图5b所示，喷涂线呈现明显的高温条带，温度可升高近45 °C，表明 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 具有良好的光热活性，利用 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 作为试纸条的信标材料，可以通过提取温度信号实现定量检测，并有望提高检测的灵敏度。

4.4 最优检测条件的探讨

为了达到最好的检测效果，对相关检测条件进行了优化。如图6a所示，随着激发功率密度的增大，温度信号增强，但采用 $2\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 时，试纸条升温超过 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，可能会损坏试纸条，出于安全以及保护试纸条的考虑，选用 $1.7\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的激发功率密度为最优条件。激发时间对 ΔT 的影响展示于图6b，可以看出在90 s左右，温度信号值已经稳定且基本达到最大值，故选择90 s为最优激发时间。由于探针 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4\text{-Ab}$ 用量、NC膜种类、反应时间和偶联抗体用量会同时影响到阳性组和阴性组的温度信号，因此对于这几个条件的优化，取阳性组 ΔT 与阴性组 ΔT 之比(信噪比)最大的条件为最优条件。如图6c–6f所示，取得最大信噪比的条件分别为 $35\text{ }\mu\text{L}$ 探针、CN140 NC膜、反应15 min、偶联时采用 $10\text{ }\mu\text{g}$ 抗体。因此，在后续检测中即采取上述条件进行实验。

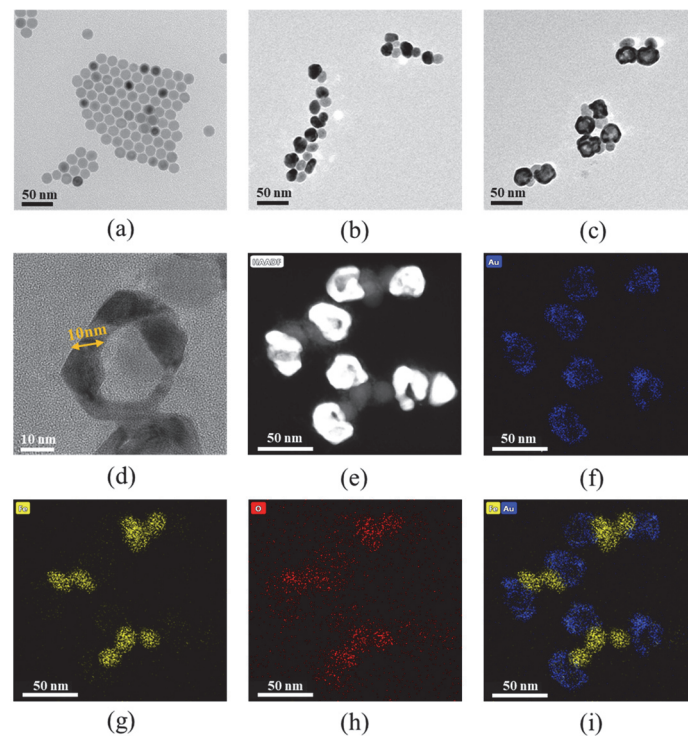


图4 (a–d) Fe_3O_4 、 $\text{Ag-Fe}_3\text{O}_4$ 、 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 和其上 Au_{shell} 的透射电镜图；(e) $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 的高角度环形暗场图；(f–i) Au、Fe、O元素及其叠加的能量色散X射线元素分析图

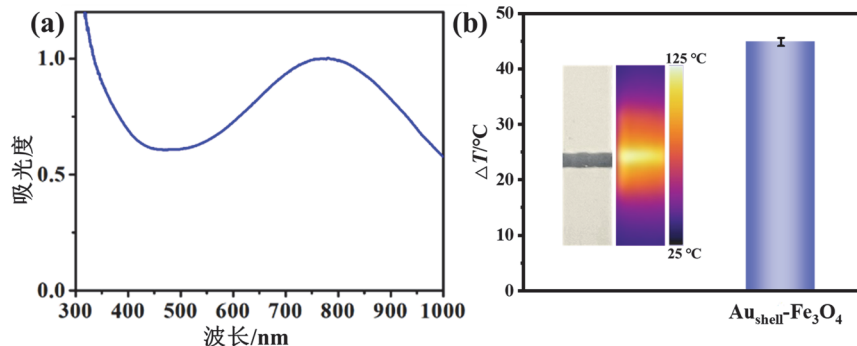


图5 (a) $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 纳米粒子的紫外-可见吸收光谱；(b) 喷涂在试纸条上的 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 纳米粒子在激光照射下的温度升高值

(b)插图为对应试纸条的照片(左)和光热图像(右)，误差线 = \pm 标准偏差(重复3次)

4.5 Au_{shell}-Fe₃O₄试纸条定性以及定量检测新冠病毒N蛋白

在最优条件下,用该方法检测不同浓度的新冠病毒N蛋白,如图7a所示,当样品中没有N蛋白时,只有C线显色,T线不显色,当N蛋白的浓度增加至100 pg·mL⁻¹时,T线开始出现微弱的颜色条带,随着浓度的继续增大,T线显色越来越深,即该试纸条的裸眼检测限为100 pg·mL⁻¹。进一步,测定了以上试纸条T线的光热信号,如图7b所示,阳性样本的T线呈现出明显的高温区域,将读取的温度信号对N蛋白的浓度作图(图7c),在10⁻¹⁰~10⁵ pg·mL⁻¹范围内,温度信号和浓度表现出良好的线性关系。以空白样品信号的平均值与其3倍标准偏差的和为可测量的最小检测信号^[20],带入到标准曲线的方程中,算出光热信号的检测限为0.7 pg·mL⁻¹,相比于裸眼检测,降低了超过100倍。

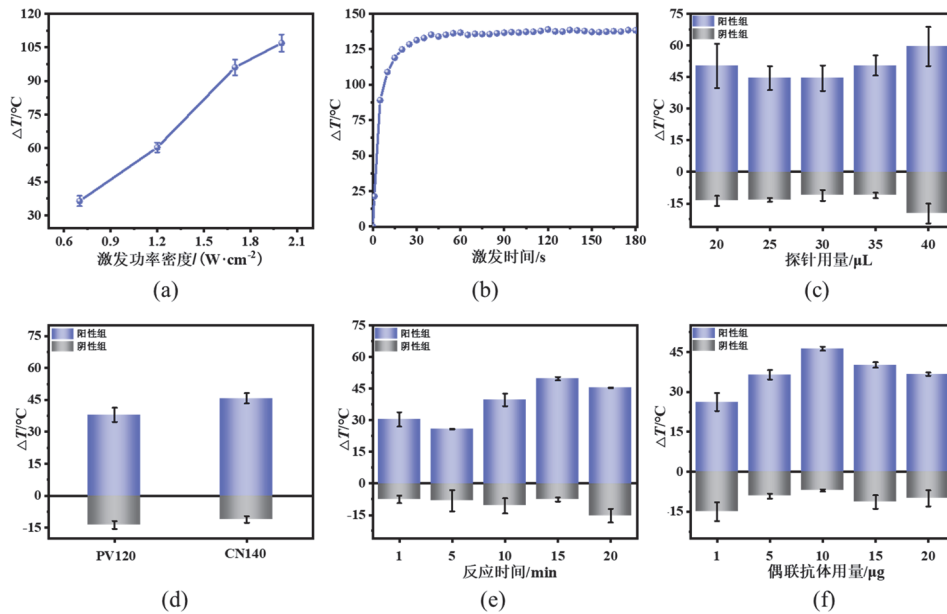


图6 检测条件的优化

(a) 激发功率密度对 ΔT 的影响; (b) 激发时间对 ΔT 的影响;
 (c) 检测时探针用量对 ΔT 的影响; (d) NC膜种类对 ΔT 的影响; (e) 反应时间对 ΔT 的影响;
 (f) 偶联时抗体用量对 ΔT 的影响。误差线 = \pm 标准偏差(重复三次)

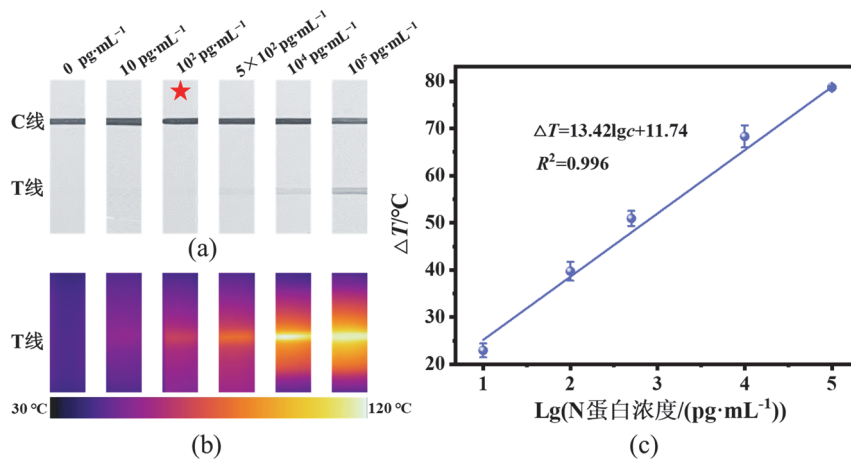


图7 Au_{shell}-Fe₃O₄试纸条检测缓冲溶液样品

(a) 检测不同浓度N蛋白的试纸条照片; (b) 检测不同浓度N蛋白的试纸条光热图像;
 (c) ΔT 对N蛋白浓度的标准曲线。五角星代表检测限, 误差线 = \pm 标准偏差(重复三次)

4.6 Au_{shell}-Fe₃O₄试纸条检测新冠病毒N蛋白的特异性和重现性

为了考察该方法的特异性,使用Au_{shell}-Fe₃O₄试纸条在相同的条件下分别测定几种流感病毒,并与检测N蛋白的结果进行对比。如图8所示,检测新冠病毒N蛋白时,T线和C线都出现明显的颜色条带,而检测其他病毒时,只有C线显色,T线不显色,即呈现阴性结果。进一步测定T线的光热信号,新冠病毒N蛋白组的 ΔT 明显高于其他病毒组。因此,无论是从肉眼观察还是通过测量光热信号,该方法都表现出良好的特异性。进一步利用同一批次Au_{shell}-Fe₃O₄-Ab进行组内重复性实验、不同批次Au_{shell}-Fe₃O₄-Ab进行组间重复性实验,如表1所示,组内和组间相对标准偏差分别为4.45%和6.79%,表明该方法具有良好的重现性。

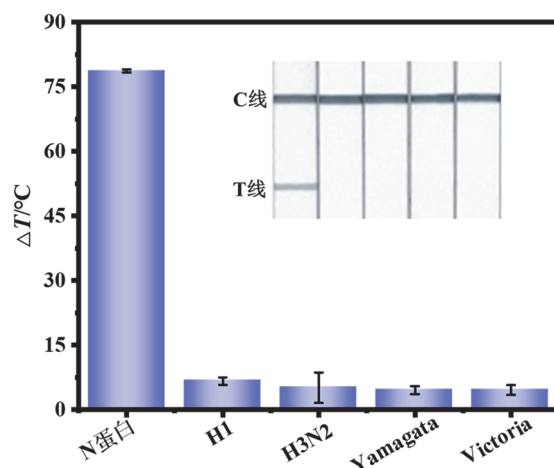


图8 Au_{shell}-Fe₃O₄试纸条检测不同病毒的 ΔT 柱状图

插图是对应的试纸条照片;误差线 = \pm 标准偏差(重复三次)

表1 Au_{shell}-Fe₃O₄试纸条检测N蛋白的重现性

N蛋白浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	组内实验			组间实验		
	平均值	标准偏差	相对标准偏差/%	平均值	标准偏差	相对标准偏差/%
10^{-1}	72.78	2.36	3.24	70.75	2.73	3.86
10^{-2}	66.41	3.25	4.89	66.18	5.80	8.76
10^{-3}	60.08	3.14	5.23	58.04	4.50	7.75
组内相对标准偏差4.45%			组间相对标准偏差6.79%			

4.7 Au_{shell}-Fe₃O₄试纸条检测模拟实际样品

为了考察该试纸条在实际样品中的适用性,我们采集了志愿者的咽拭子,将其与不同量的N蛋白标准品混合,制成含有不同浓度N蛋白的模拟样品,对其进行检测。如图9所示,肉眼检测限在 $100 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (图9a),阳性样本的T线呈现明显的高温区域(图9b),在 $10\text{--}10^5 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内,温度信号和浓度呈现良好的线性关系(图9c),算得光热信号的检测限为 $1.2 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。由此可以看出,Au_{shell}-Fe₃O₄试纸条在模拟复杂样品中的检测效果与检测缓冲溶液样品相差不大,表明该试纸条在实际样品中具有良好的适用性。进一步,用市售胶体金试纸条对上述样本进行了测试,如图10所示,样本中N蛋白的浓度要达到 $10^4 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,T线才开始微弱显色,即胶体金试纸条的检测限为 $10^4 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$,而Au_{shell}-Fe₃O₄试纸条的光热检测限达到 $1.2 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$,比胶体金试纸条低了将近10000倍。因此,Au_{shell}-Fe₃O₄试纸条不仅实现了肉眼定性和光热定量双模式检测,更极大地提高了灵敏度,从而有效克服了胶体金试纸条的缺点,在实际检测中展现出较大的应用潜力。

5 实验的实施与反馈

该实验主要为高年级本科生开设，时间安排在大三第三学期(暑假小学期)，学生在小学期的课程比较少，有较充裕的时间集中开展实验。实验以小组为单位进行，每组3-5人。整个实验周期大概在7-10天。实验开始前，教师引导学生查阅试纸条相关文献，了解课题背景，熟悉实验内容和相关仪器的操作。实验进行中，教师及时和学生交流，引导学生完成仪器搭建、 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 材料制备、修饰和表征，以及检测条件优化、试纸条检测和分析性能评价。同时教授学生数据处理和分析方法。然后教师介绍写作规范并强调学术诚信，学生进行论文撰写。最后在答辩阶段，学生进行PPT汇报，评委据此综合考量学生的课题完成情况。

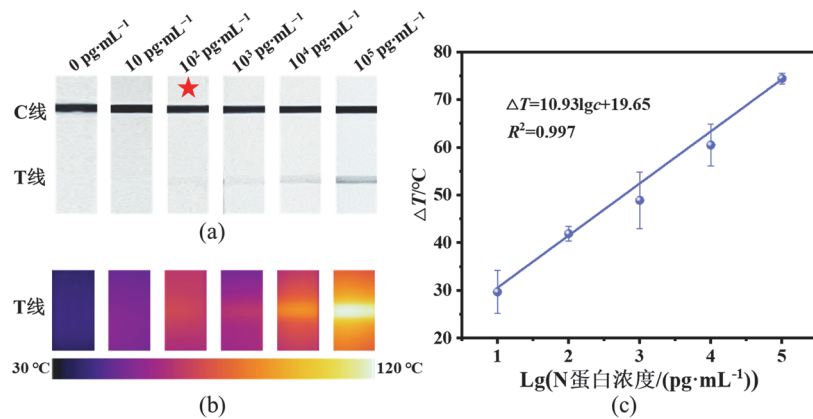


图9 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 试纸条检测模拟样品

(a) 检测不同浓度N蛋白的试纸条照片；(b) 检测不同浓度N蛋白的试纸条光热图像；(c) ΔT 对N蛋白浓度的标准曲线

五角星代表检测限，误差线 = \pm 标准偏差(重复三次)

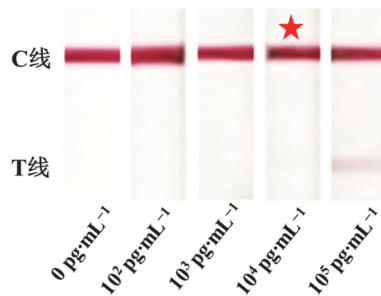


图10 胶体金试纸条检测模拟样品的照片

五角星代表检测限

本实验已在我校开展3年，学生能基本完成实验内容，部分学生由于时间问题没有进行条件优化实验，后续可以考虑减少待优化的条件种类或者直接采用最优条件进行检测，这样可以缩短整个实验周期，而且几乎不会减弱整个实验对学生能力的锻炼效果。通过开展这一综合实验，学生掌握了试纸条的制备技术、测量原理、操作方法及光热仪器的搭建，极大地提高了学生的综合实验能力，并培养了学术交流能力和团队协作精神。而且学生普遍反映通过近距离接触科研热点问题，能够体会到科学研究的魅力，进而激发科研兴趣。

6 结语

本实验自行搭建了适用于试纸条信号读取的光热成像仪，并合成了具有比色和光热性能的

$\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 异二聚体纳米结构, 将其作为试纸条的新型信标材料, 实现了新冠病毒N蛋白的裸眼定性检测和光热定量分析, 并通过与市售胶体金试纸条进行对比, 证明 $\text{Au}_{\text{shell}}\text{-Fe}_3\text{O}_4$ 试纸条的检测性能明显优于胶体金试纸条。本实验围绕病毒检测这一社会热点问题, 密切联系学术前沿, 融合了化学、生物、医学、材料、仪器分析等多个学科, 具有高度的交叉性、综合性和前沿性。在我校化学专业本科生中取得了良好的教学效果, 学生通过实验掌握了试纸条的制备技术、检测原理、操作方法及相关仪器设备的搭建, 提高了综合实验能力。同时了解传统试纸条缺点的基础上通过查阅文献进而思考如何改善试纸条性能, 培养了学生分析问题和解决问题的能力。经过这一整套的科研训练提高了学生的科研素养, 激发了学生科学研究的积极性。此外, 我们在教学中还以助力疫情防控为契机引入思政教育, 传承“经世致用”的优秀文化传统, 培养学生的社会责任感和奋发精神。

参 考 文 献

- [1] Barr, C. A.; Brodeur, D. R.; Kumar, U.; Heilman, D. W. *J. Chem. Educ.* **2022**, *99*, 3899.
- [2] 贾琼, 马玖彤, 许海. 化学教育(中英文), **2021**, *42* (24), 54.
- [3] 温聪颖, 瞿敏, 张瑞巧, 赵令今. 实验室研究与探索, **2021**, *40* (6), 11.
- [4] Mutambuki, J. M.; Fynewever, H.; Douglass, K.; Cobern, W. W.; Obare, S. O. *J. Chem. Educ.* **2019**, *96*, 1591.
- [5] 邱玉婷, 史成坤, 齐海涛, 赵立冬. 实验技术与管理, **2021**, *38* (4), 250.
- [6] Morens, D. M.; Fauci, A. C. *Cell* **2020**, *182*, 1077.
- [7] Coronavirus Disease (COVID-19) Situation Dashboard. [2024-03-03]. <https://covid19.who.int/>
- [8] Bahadır, E. B.; Sezgentürk, M. K. *TrAC-Trend. Anal. Chem.* **2016**, *82*, 286.
- [9] Wu, K.; Green, A. A. *Nat. Biomed. Eng.* **2022**, *6*, 928.
- [10] Kim, K.; Lee, B. B.; Park, J. H.; Lee, K. J.; Kwak, T. J.; Son, T.; Shin, Y. B.; Im, H.; Kim, M. J. *Mater. Horiz.* **2023**, *10*, 1697.
- [11] Huang, X.; Aguilar, Z. P.; Xu, H.; Lai, W.; Xiong, Y. *Biosens. Bioelectron.* **2016**, *75*, 166.
- [12] Daniel, Q. J.; Arben, M. *Biosens. Bioelectron.* **2015**, *73*, 47.
- [13] Claudio, P.; Amadeo, S. T.; José, F. B.; Enric, C.; Celia, F. C.; Hu, L. M.; Lourdes, R.; Ruslan, Á. D.; Emily, P. N.; Stefano, C.; *et al.* *Nat. Protoc.* **2020**, *15*, 3788.
- [14] Geertruida, A. P. T.; Jan, H. W.; Marjo, K.; Lucienne, B. J. M. B.; Aart, V. A. *Anal. Chim. Acta.* **2012**, *402*, 593.
- [15] Taranova, N. A.; Berlina, A. N.; Zherdev, A. V.; Dzantiev, B. B. *Biosens. Bioelectron.* **2015**, *63*, 255.
- [16] Hu, J.; Jiang, Y. Z.; Tang, M.; Wu, L. L.; Xie, H. Y.; Zhang, Z. L.; Pang, D. W. *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 1178.
- [17] Liang, P.; Guo, Q.; Zhao, T.; Wen, C. Y.; Tian, Z.; Shang, Y.; Xing, J.; Jiang, Y.; Zeng, J. *Anal. Chem.* **2022**, *94*, 8466.
- [18] Li, J.; Liang, P.; Zhao, T.; Guo, G.; Zhu, J.; Wen, C.; Zeng, J. *Anal. Bioanal. Chem.* **2023**, *415*, 545.
- [19] Zhao, T.; Liang, P.; Ren, J.; Zhu, J.; Yang, X.; Bian, H.; Li, J.; Cui, X.; Fu, C.; Xing, J.; *et al.* *Anal. Chim. Acta.* **2023**, *1255*, 341102.
- [20] 曾泳淮, 林树昌. 分析化学(仪器分析部分). 第2版. 北京: 高等教育出版社, 2004: 76-77.