

# 时间分辨荧光免疫层析法检测新型冠状病毒抗原

常宇<sup>1</sup>, 刘作家<sup>1</sup>, 叶育鑫<sup>2</sup>, 刘思奇<sup>2</sup>, 潘利华<sup>1</sup>

(1. 中国科学院 长春应用化学研究所, 长春 130022; 2. 苏州星源生物技术有限公司, 江苏 苏州 215028)

**摘要:** 利用稀土小分子螯合剂制备新型冠状病毒抗体标记物, 并用时间分辨荧光免疫层析法检测新型冠状病毒抗原。实验结果表明: 该方法线性范围为 0.04~100 ng/mL, 线性方程为  $y=0.0072x+0.0332$ , 相关系数  $R^2=0.9995$ , 检出限为 0.028 ng/mL, 批内和批间变异系数小于 6.72%, 回收率为 94.35%~103.00%。该方法具有精准、快速(小于 20 min)、成本低和操作简单等优点。

**关键词:** 时间分辨荧光免疫层析法; 新型冠状病毒抗原; 小分子螯合剂标记抗体; 即时检测  
**中图分类号:** O655 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-5489(2025)06-1795-08

## Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Antigen by Time-Resolved Fluorescence Immunochromatography

CHANG Yu<sup>1</sup>, LIU Zuoja<sup>1</sup>, YE Yuxin<sup>2</sup>, LIU Siqi<sup>2</sup>, PAN Lihua<sup>1</sup>

(1. Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China;  
2. Suzhou Xingyuan Biotechnology Co., Ltd., Suzhou 215028, Jiangsu Province, China)

**Abstract:** Rare-earth small molecule chelator was used to prepare antibody markers of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), and SARS-CoV-2 antigen was detected by time-resolved fluorescence immunochromatography. The experimental results show that the linear range of the method is 0.04–100 ng/mL, the linear equation is  $y=0.0072x+0.0332$ , the correlation coefficient  $R^2=0.9995$ . The detection limit is 0.028 ng/mL. The intra-assay and inter-assay coefficients of variation are less than 6.72%, and the recovery rate is 94.35%–103.00%. The method has the advantages such as good precision, low detection time (less than 20 min), low cost, and simple operation.

**Keywords:** time-resolved fluorescence immunochromatography; severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antigen; labeling antibodies with small molecule chelator; point-of-care testing

新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 感染导致的疫情对全球公共健康、社会和经济运转产生了重大影响, 核酸检测在一定程度上遏制了疫情扩散, 但核酸检测仍存在问题<sup>[1]</sup>: “假阴性”频发, 如潜伏期采样可能因病毒数量少导致“假阴性”; 如采样的鼻咽部并非主要感染部位, 病毒含量少不能作为诊断依据; RNA 不稳定易降解, 样品处理繁琐、检测时间长, 无法在病毒感染早期提供快速准确的检测结果等。

收稿日期: 2025-01-03. 网络首发日期: 2025-04-08.

第一作者简介: 常宇(1982—), 女, 汉族, 硕士, 工程师, 从事时间分辨荧光的研究, E-mail: changyu@ciac.ac.cn. 通信作者简介: 潘利华(1952—), 女, 汉族, 研究员, 从事时间分辨荧光免疫分析技术的研究, E-mail: lihuap@ciac.ac.cn.

基金项目: 吉林省科技厅重点研发项目(批准号: 20224094094XY).

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/22.1340.o.20250407.1123.001>.

由于 SARS-CoV-2 环境生存能力较强并且不断变异,现在已像流感病毒一样常态化,因此该病毒将与人类长期共存. SARS-CoV-2 可在人流量较大的公共场所以气溶胶形式传播,在冷链物流中通过污染表面传播以及通过城市污染水体传播等,疫情的发展变化对 SARS-CoV-2 病毒检测提出了新要求,需研发高灵敏度、高准确度、快速、低成本的检测产品.

时间分辨荧光免疫分析(time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA)技术以稀土元素为荧光标记物进行检测,具有高灵敏度、低背景<sup>[2-4]</sup>的特点.侧流免疫层析技术(lateral flow immunochromatographic assay, LFIA)是一种即时诊断(point-of-care testing, POCT)现场使用的技术<sup>[5-7]</sup>,具有快速、便捷的优势<sup>[8-9]</sup>.时间分辨荧光免疫层析技术(time-resolved fluorescence lateral flow immunoassay, TRF-LFIA)融合了 TRFIA 和 LFIA 的优点,目前稀土纳米微球在体外诊断<sup>[10-11]</sup>、环境监测和食品安全等领域应用广泛<sup>[12-15]</sup>.但纳米微球在高浓度状态下存在聚集诱导淬灭和尺寸均质性差等问题,不能满足灵敏度高、重复性好的精准检测要求<sup>[16]</sup>.

本文用小分子稀土螯合剂 4,4'-双(1'',1'',1'',2'',2'',3'',3''-七氟-4'',6''-己二酮-6''-基)氯磺基-*o*-三联苯(BHHCT)<sup>[17-18]</sup>制备稀土荧光标记物<sup>[19-20]</sup>,建立 SARS-CoV-2 抗原的 TRF-LFIA 检测方法,获得低变异系数产品,可满足 SARS-CoV-2 病毒精准检测的需求,为制备高灵敏度、高准确度、快速、低成本的传染病临床检测产品提供了新途径.

## 1 实验

### 1.1 仪器和试剂

时间分辨荧光免疫层析仪(对国产 WR-1608 型高敏荧光免疫层析仪改装而成);HM3035 型 XYZ 三维划膜喷金仪和 ZQ2002 型微电脑自动斩切机(上海金标生物科技有限公司);UV-3600 型紫外分光光度计和 RF-6000 型荧光分光光度计(日本岛津公司);Unity-400M 型核磁共振仪(美国 Varian 公司);Vertex 70 型 Fourier 变换红外光谱仪(德国 BRUKER 公司);DZF-6050 型真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);5430R 型冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司).

鼠抗 SARS-CoV-2 N25 和 N32 单克隆抗体(北京四正柏生物科技有限公司);鼠抗 SARS-CoV-2 N2 和 N40 单克隆抗体、SARS-CoV-2 抗原和羊抗鼠 IgG(洛阳佰奥通生物技术有限公司);硝酸纤维素膜(NC 膜,德国赛多利斯公司);吸水垫(CH37 型)、样品垫(SB06 型)、结合垫(SB08 型)和 PVC 底板(SMNF31-25 型)(上海金标生物科技有限公司);Sephadex G-50 葡聚糖(国药集团化学试剂有限公司).所有试剂均为分析纯试剂;实验用水为超纯水.

### 1.2 方法

#### 1.2.1 BHHCT 的合成

参考文献[21]合成 BHHCT,并对其进行核磁共振氢谱(<sup>1</sup>H NMR)和 Fourier 变换红外光谱(FT-IR)表征.<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 6.59 (s, 2H), 7.30~7.33 (m, 4H), 7.73 (d, 1H), 7.89~7.91 (m, 4H), 8.13 (d, 1H), 8.17 (dd, 1H); FT-IR (KBr) σ/cm<sup>-1</sup>: 612, 1 122, 1 178, 1 231, 1 350, 1 382, 1 608, 3 071, 3 424.谱图数据与文献[21]数据一致.

#### 1.2.2 标记物的制备

SARS-CoV-2 抗体与 BHHCT 结合原理如图 1 所示.由图 1 可见, BHHCT 分子结构中含有氯磺基团,可与 SARS-CoV-2 抗体表面的氨基以共价键结合.

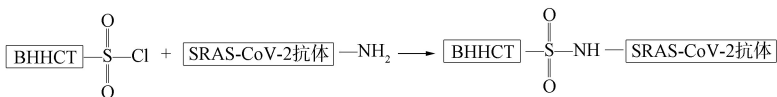


图 1 SARS-CoV-2 抗体与 BHHCT 结合原理

Fig. 1 Principle of combining SARS-CoV-2 antibodies with BHHCT

将 BHHCT 用二甲基亚砷溶解后,先加入碳酸盐(CBS)缓冲液稀释,再加入 SARS-CoV-2 抗体,于 37 °C 温育 1~2 h.用 Sephadex G-50 葡聚糖凝胶分离纯化,选择 280 nm 吸收峰接管收集,加入

EuCl<sub>3</sub> 溶液, 室温反应 1~2 h, 得到 SARS-CoV-2 抗体-BHHCT-Eu<sup>3+</sup> 标记物。

1.2.3 试纸条的制备

免疫层析试纸条包含样品垫、结合垫、NC 膜和吸水垫: 样品垫用于加样(血清或全血); 结合垫中含 SARS-CoV-2 抗体-BHHCT-Eu<sup>3+</sup> 标记物; NC 膜上划有检测线(T 线)和质控线(C 线), 分别包被了 SARS-CoV-2 抗体和羊抗鼠 IgG。

1.2.4 检测原理与流程

时间分辨荧光免疫层析法检测 SARS-CoV-2 N 抗原原理如图 2 所示。由图 2 可见: 当血清样品加入样品垫后, 在毛细作用下流经结合垫, 血清中的 SARS-CoV-2 抗原与结合垫上的标记物结合形成抗原抗体复合物, 在流经 T 线时与包被的 SARS-CoV-2 抗体结合, 产生 T 线信号; 结合垫中过量的标记物继续前行, 当到达 C 线时被羊抗鼠 IgG 捕获, 产生 C 线信号。

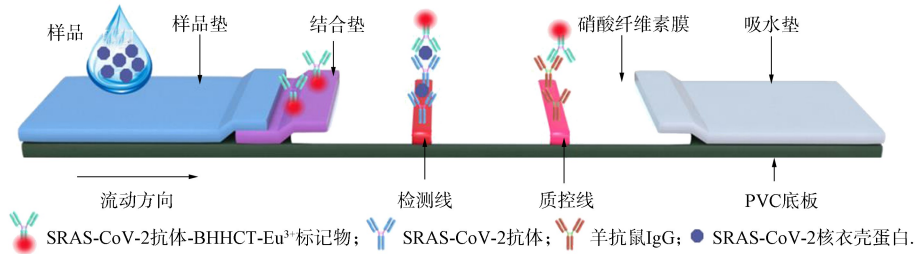


图 2 时间分辨荧光免疫层析法检测 SARS-CoV-2 N 抗原的原理

Fig. 2 Principle of time-resolved fluorescence immunoassay for detecting SARS-CoV-2 N antigen

在样品垫上滴加待测样品 15~20 min 后, 利用时间分辨荧光免疫层析仪读取 T 线与 C 线处的荧光强度, 得出 T/C 值, 实现对新型冠状病毒 N 抗原的定量检测。

2 结果与讨论

2.1 抗原检测方法

SARS-CoV-2 是一种正链 RNA 病毒, 结构蛋白是其特异性标志物, 基因组编码 4 种结构蛋白, 分别为刺突蛋白(S 蛋白)、包膜蛋白(E 蛋白)、膜蛋白(M 蛋白)和核衣壳蛋白(N 蛋白)。其中, N 蛋白在不同 SARS-CoV-2 病毒株系中高度保守, 具有良好的免疫原性, 且 N 蛋白为病毒侵染细胞后表达量最高的结构蛋白<sup>[22]</sup>, 是良好的检测生物标志物<sup>[23]</sup>。一个 SARS-CoV-2 病毒粒子仅含有 1 条 RNA, 而 N 蛋白平均含量为 3 000 多个<sup>[24]</sup>, 以此计算, 当 SARS-CoV-2 N 蛋白抗原检出限为 40~200 pg/mL 时, SARS-CoV-2 的检测灵敏度即等于核酸检测(200~1 000 拷贝/mL, 即 3~15 pg/mL)。因此, 只要检出限足够低, 抗原检测的可靠性和检出率可达到甚至更好于核酸检测的水平。本文方法对 SARS-CoV-2 N 蛋白抗原检出限为 28 pg/mL, 好于核酸检测水平。

新型冠状病毒 3 种检测方法的比较列于表 1。由表 1 可见, 病毒抗原检测不仅具备核酸检测的早期诊断和可信度高等优点, 还具有快速、简单、便捷、经济、不需设备以及对操作人员要求较低等优点。

表 1 新型冠状病毒 3 种检测方法的比较

Table 1 Comparison of three detection methods for SARS-CoV-2

检测方法	核酸检测	抗体检测	抗原检测
检测靶标	病毒核酸	血清抗体	病毒蛋白(抗原)
最早可检出时段	早期(感染第 1 天后)	中晚期(感染第 10 天后)	早期(同核酸检测)
检测时长	6~8 h	10~15 min	10~15 min
人员要求	需专业操作人员	无	无
专业实验室	是	否	否
昂贵设备	是	否	否
灵敏度	高		高
假阳性率	低	相对较高	低

## 2.2 鼠抗 SARS-CoV-2 单克隆抗体对的筛选

采用同一批次试纸条对 4 株鼠抗 SARS-CoV-2 单克隆抗体进行标记组合配对, 每个组合分别对质量浓度为 200 ng/mL 的 SARS-CoV-2 抗原溶液进行检测, 得到相应的 T 线荧光强度值. 不同包被抗体、标记抗体配对与对应的 T 线荧光强度列于表 2. 由表 2 可见, 当 N25 作为包被抗体, N32 作为标记抗体时, T 线荧光强度最大, 因此选择该配对抗体作为荧光免疫层析试纸条的抗体对.

表 2 不同包被抗体、标记抗体配对与对应的 T 线荧光强度

Table 2 Different coated antibodies and labeled antibodies pairs with corresponding T-line fluorescence intensities

标记抗体	包被抗体			
	N2	N40	N25	N32
N2	—	1 179 307	562 759	216 561
N40	533 002	—	205 058	269 764
N25	273 496	386 459	—	264 776
N32	554 658	1 324 395	1 644 571	—

## 2.3 SARS-CoV-2 抗体标记物的特征

### 2.3.1 标记物的光谱特征

以鼠抗 SARS-CoV-2 N32 单克隆抗体为标记抗体, 制备 SARS-CoV-2 抗体-BHHCT-Eu<sup>3+</sup> 标记物, 其激发光谱和发射光谱如图 3(A)所示, 其中激发峰值为 340 nm, 发射峰值为 615 nm. 4 株鼠抗 SARS-CoV-2 单克隆抗体标记物的紫外吸收谱如图 3(B)所示, 其中 N32 抗体标记物吸光度最大. 由图 3(B)可见, BHHCT-Eu<sup>3+</sup> 螯合物在 328 nm 处有最大紫外吸收, 在 280 nm 处有部分吸收<sup>[21]</sup>, 与抗体的紫外吸收峰出现的位置一致.

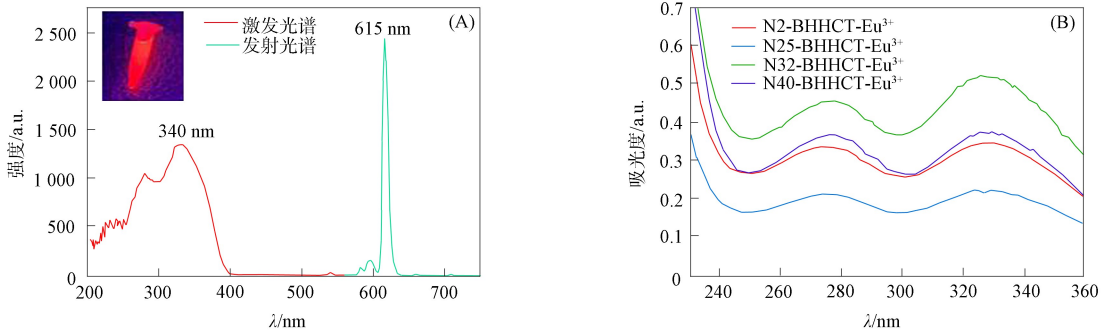


图 3 鼠抗 SARS-CoV-2 N32 单克隆抗体-BHHCT-Eu<sup>3+</sup> 标记物的荧光激发光谱及发射光谱(A)和 4 株荧光标记物的紫外吸收谱(B)

Fig. 3 Fluorescence excitation spectrum and emission spectrum of mouse anti-SARS-CoV-2 N32 monoclonal antibody-BHHCT-Eu<sup>3+</sup> marker (A) and UV absorption spectra of four fluorescent markers (B)

### 2.3.2 标记比(F/P)

标记比(F/P)定义为每个 SARS-CoV-2 抗体上连接 BHHCT-Eu<sup>3+</sup> 的数量, 即标记物中 BHHCT-Eu<sup>3+</sup> 与抗体的浓度比值, 计算公式为

$$\frac{F}{P} = \frac{A_{328} / \epsilon_{\text{BHHCT-Eu}^{3+}}^{328}}{(A_{280} - A_1) / \epsilon_{\text{N32}}^{280}}, \quad (1)$$

其中  $A_{328}$  为鼠抗 SARS-CoV-2 N32 单克隆抗体-BHHCT-Eu<sup>3+</sup> 标记物在 328 nm 处的吸光度,  $A_{280}$  为标记物在 280 nm 处的吸光度,  $A_1$  为 BHHCT-Eu<sup>3+</sup> 在 280 nm 的部分吸收,  $\epsilon_{\text{BHHCT-Eu}^{3+}}^{328}$  为 BHHCT-Eu<sup>3+</sup> 在 328 nm 处的摩尔消光系数,  $\epsilon_{\text{N32}}^{280}$  为 N32 抗体在 280 nm 处的摩尔消光系数. 实验测得  $A_{328} = 0.52$ ,  $A_{280} = 0.49$ , 代入式(1)计算得到 BHHCT-Eu<sup>3+</sup> 的浓度为  $1.7 \times 10^{-5}$  mol/L, 鼠抗 SARS-CoV-2 N32 单克隆抗体的浓度为  $5.7 \times 10^{-7}$  mol/L, 标记比为 30.

### 2.3.3 蛋白回收率

标记物中的抗体浓度与投入的抗体浓度比值即为蛋白回收率. 实验读取 N32-BHHCT-Eu<sup>3+</sup> 在 328 nm 处的吸光度  $A_{328} = 0.52$ , 计算得到蛋白回收率为 69%.

### 2.4 方法评价

#### 2.4.1 标准曲线

将 N 抗原用 PBS 溶液(0.01 mol/L, pH=7.2)梯度稀释, 配制质量浓度分别为 800,600,400,200,100,50,20,10,5,2,1,0.5,0.2,0.1,0.05,0.02 ng/mL 的标准溶液, 分别滴加 70 μL 至样品垫上, 反应 15 min 后用时间分辨荧光免疫层析仪读取荧光信号值. 每个质量浓度平行测定 3 次, 取平均值, 以 N 抗原浓度为横坐标, T/C 值为纵坐标, 用 Origin 软件绘制线性拟合方程并确定线性范围.

图 4(A)为 SARS-CoV-2 N 抗原检测的荧光试纸条照片. 图 4(B)为荧光强度比值(T/C)与 N 抗原浓度的线性关系. 由图 4(B)可见, 在 0.04~100 ng/mL 质量浓度内, N 抗原浓度与 T/C 值呈良好的线性关系, 线性方程为  $y=0.0072x+0.0332$ , 相关系数  $R^2=0.9995$ .

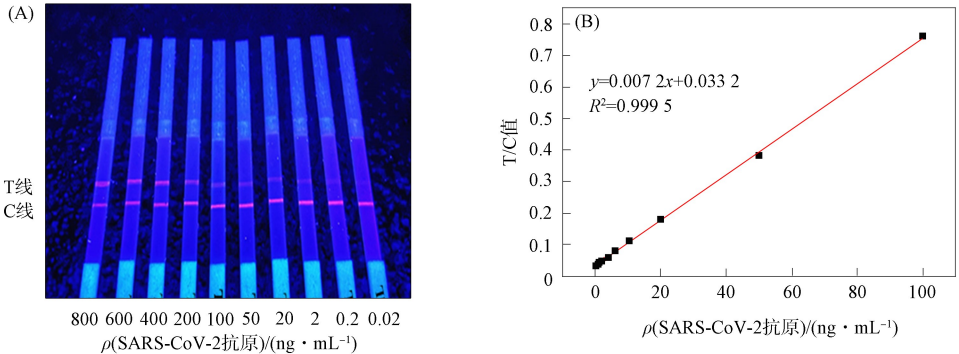


图 4 不同 N 抗原浓度的荧光免疫层析试纸条在紫外灯(365 nm)下的照片(A)和荧光强度比值(T/C)与 N 抗原浓度的线性关系(B)

Fig. 4 Image of fluorescence immunochromatographic test strips with different N antigen concentrations under UV-lamp (365nm) (A) and linear relationship of fluorescense intensity ratio (T/C) against N antigen concentration (B)

#### 2.4.2 检出限

采用同一批次的试纸条对阴性样品检测 20 次, 得到 T/C 平均值( $\bar{x}$ )和标准偏差(SD), 根据标准曲线计算  $\bar{x}+2SD$  对应的质量浓度, 得到检出限为 0.028 ng/mL.

#### 2.4.3 精密度

制备 3 批试纸条, 对高中低 3 种质量浓度(100,20,4 ng/mL)的 SARS-CoV-2 N 抗原溶液进行检测, 每种浓度重复检测 10 次, 计算批内和批间变异系数, 对试纸条进行精密度评价结果列于表 3. 由表 3 可见, 对高中低 3 种质量浓度检测的批间变异系数分别为 4.91%,6.72%和 5.73%, 批内和批间变异系数均不高于 6.72%.

表 3 试纸条精密度评价结果

Table 3 Precision evaluation results of test strips

批次和批间	样品质量浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> )	T/C 平均值	标准偏差	变异系数/%
1	4	0.065 0	0.003 2	4.92
	20	0.176 5	0.010 6	6.01
	100	0.756 8	0.036 1	4.77
2	4	0.063 1	0.002 9	4.60
	20	0.173 2	0.011 2	6.47
	100	0.770 5	0.027 9	3.62
3	4	0.060 4	0.003 2	5.30
	20	0.177 5	0.011 7	6.59
	100	0.827 4	0.021 2	2.56
批间	4	0.062 8	0.003 6	5.73
	20	0.175 7	0.011 8	6.72
	100	0.784 9	0.038 5	4.91

### 2.4.4 特异性评价

分别将 70  $\mu\text{L}$  SARS-CoV-2 N 抗原溶液(100 ng/mL)、甲型流感重组抗原溶液(100 ng/mL)、乙型流感重组抗原溶液(100 ng/mL)和呼吸道合胞病毒重组抗原溶液(100 ng/mL)滴加至样品垫上, 15 min 后检测, 并进行特异性评价, 结果如图 5 所示. 由图 5 可见, 检测 SARS-CoV-2 N 抗原与甲型流感、乙型流感和呼吸道合胞病毒均无交叉反应, 表明该方法特异性较好, 可满足新型冠状病毒的检测要求.

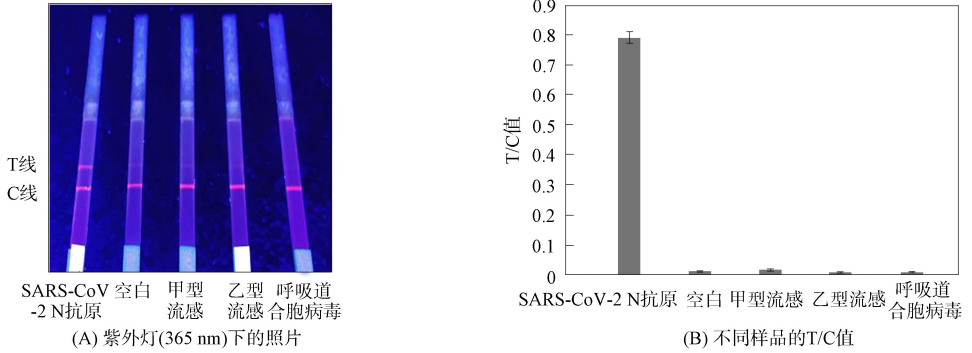


图 5 荧光免疫层析试纸条特异性检测结果

Fig. 5 Specific detection results of fluorescence immunochromatographic test strips

### 2.4.5 加标回收实验

采用同一批次制备的试纸条对高中低 3 种质量浓度(100, 20, 4 ng/mL)的 SARS-CoV-2 N 抗原溶液进行检测, 结果列于表 4. 由表 4 可见, 各质量浓度的回收率为 94.35%~103.00%( $n=10$ ).

表 4 加标回收实验结果

Table 4 Results of spike-and-recovery experiment

加标质量浓度/(ng · mL <sup>-1</sup> )	测定质量浓度/(ng · mL <sup>-1</sup> )	回收率/%	相对标准偏差/%
4	4.13	103.00	5.69
20	18.87	94.35	6.25
100	97.53	97.53	4.67

### 2.4.6 稳定性评价

将同一批次制备的试纸条密封, 分别在 4, 37  $^{\circ}\text{C}$  条件下避光保存, 在第 0, 3, 5, 7, 10, 20, 40, 60 天分别滴加质量浓度为 2, 20 ng/mL 的 N 抗原溶液进行检测, 根据 T/C 值变化评价试纸条的稳定性, 结果如图 6 所示. 由图 6 可见, 在 4, 37  $^{\circ}\text{C}$  的条件下, 对同一质量浓度的检测样品, 60 d 内测得的 T/C 值保持平稳, 其下降幅度均不超过 15%, 表明该试纸条具有较好的稳定性.

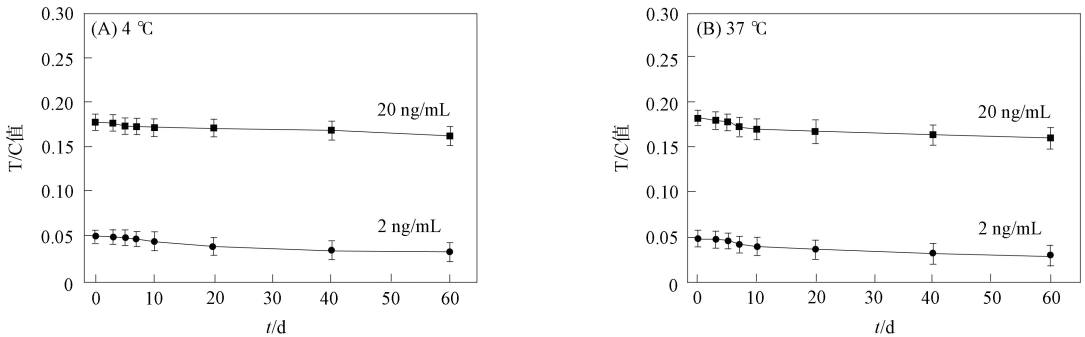


图 6 荧光免疫层析试纸条稳定性检测结果

Fig. 6 Stability testing results of fluorescence immunochromatographic test strips

综上, 本文利用稀土小分子螯合剂 BHHCT 制备稀土荧光标记物, 建立了 SARS-CoV-2 N 蛋白抗原的时间分辨荧光免疫层析定量检测方法. 实验结果表明, 在 0.04~100 ng/mL 内, SARS-CoV-2 N 蛋白抗原的质量浓度与 T/C 值呈良好的线性关系, 线性方程为  $y=0.0072x+0.0332$  ( $R^2=0.9995$ ),

检出限为 0.028 ng/mL。高中低 3 种不同质量浓度的批间和批内变异系数 CV 均不高于 6.72%, 回收率为 94.35%~103.00%。该方法与稀土微球荧光免疫层析法相比, 可实现精准检测; 与 RT-PCR 核酸检测相比, 可突破现有检测技术对人员和场所的限制, 检测更高效(<20 min)。本文方法具有方便、快速和低价等优势, 可满足大规模人群筛查和在欠发达地区应用的需求, 为传染病筛查提供了一种精准快速检测的新方法。

### 参 考 文 献

- [1] ZHANG J, DING N, SONG Y Z, et al. Phylogenomic Tracing of Asymptomatic Transmission in a COVID-19 Outbreak [J]. *The Innovation*, 2021, 2(2): 100099-1-100099-6.
- [2] DIAMANDIS E P. Immunoassays with Time-Resolved Fluorescence Spectroscopy: Principles and Applications [J]. *Clinical Biochemistry*, 1988, 21(2): 139-150.
- [3] KAO S B, LIU X B, JIN J, et al. Development of a Time-Resolved Fluoroimmunoassay for Rituximab and Its Application to Therapeutic Drug Monitoring [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2025, 568: 120142-1-120142-8.
- [4] MA H Y, MAO Q, ZHU Y B, et al. Time-Resolved Fluorescence Immunoassay (TRFIA) for the Simultaneous Detection of hs-CRP and Lipoprotein (a) in Serum [J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2022, 69(6): 2617-2623.
- [5] NARDO F D, CHIARELLO M, CAVALERA S, et al. Ten Years of Lateral Flow Immunoassay Technique Applications: Trends, Challenges and Future Perspectives [J]. *Sensors*, 2021, 21(15): 5185-1-5185-33.
- [6] YE L Y, XU X X, SONG S S, et al. Rapid Colloidal Gold Immunochromatographic Assay for the Detection of SARS-CoV-2 Total Antibodies after Vaccination [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2022, 10(11): 1786-1794.
- [7] ZHOU S, HU J, CHEN X R, et al. Hydrazide-Assisted Directional Antibody Conjugation of Gold Nanoparticles to Enhance Immunochromatographic Assay [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2021, 1168: 338623-1-338623-9.
- [8] GAO S P, ZHENG X Y, ZHU J, et al. Magnetic Nanoprobe-Enabled Lateral Flow Assays in the Applications of Food Safety and *in vitro* Diagnostic [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2025, 534: 216588-1-216588-24.
- [9] LIU T T, LAI X C, GUO P, et al. Sensitive Lateral Flow Immunoassay Strips Based on Fe<sup>3+</sup>-Chelated Polydopamine Nanospheres for the Detection of Kanamycin [J]. *Food Chemistry*, 2023, 411: 135511-1-135511-9.
- [10] NATARAJAN S, JOSEPH J. A Novel Time-Resolved Fluorescent Lateral Flow Immunoassay for Quantitative Detection of the Trauma Brain Injury Biomarker-Glial Fibrillary Acidic Protein [J]. *Sensors & Diagnostics*, 2022, 1(1): 193-197.
- [11] NATARAJAN S, SAATCI E, JOSEPH J. Development and Evaluation of Europium-Based Quantitative Lateral Flow Immunoassay for the Chronic Kidney Disease Marker Cystatin-C [J]. *Journal of Fluorescence*, 2022, 32(2): 419-426.
- [12] CHEN J J, CHEN L D, ZHANG Y Y, et al. Development of a Time-Resolved Fluorescent Microsphere Test Strip for Rapid, On-Site, and Sensitive Detection of Picoxystrobin in Vegetables [J]. *Foods*, 2024, 13(3): 423-1-423-14.
- [13] WEI T, ZHANG Y Y, HUANG J X, et al. Rapid Detection of Multiple Sildenafil and Tadalafil Adulterants in Dietary Supplements by Dual-Labeled Probe Time-Resolved Fluorescence Immunochromatography Assay [J]. *Food Bioscience*, 2024, 59: 103905-1-103905-10.
- [14] XU Z H, ZHU M S, JIANG W X, et al. A Simple Synthesis Method of Microsphere Immunochromatographic Test Strip for Time-Resolved Luminescence Detection of Folic Acid [J]. *Food Chemistry*, 2023, 413: 135599-1-135599-10.
- [15] ZHANG T N, BAI W J, ZHAO K. Detection of Aflatoxin B<sub>1</sub> by a Magnetic Capture Separator with Time-Resolved Fluorescent Microspheres [J]. *Microchemical Journal*, 2024, 199: 110040-1-110040-7.
- [16] LU J H, WU Z, LIU B C, et al. A Time-Resolved Fluorescence Lateral Flow Immunoassay for Rapid and Quantitative Serodiagnosis of *Brucella* Infection in Humans [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical*, 2021,

200; 114071-1-114071-7.

- [17] ZHU N H, WANG X K, ZHANG Y J, et al. Self-calibrated Magnetic Aptamer Sensor with Dual Lanthanide-Assisted Time-Resolved Luminescence for High-Sensitive Detection of Melanoma Exosomal PD-L1 [J]. *Materials and Design*, 2023, 227: 111714-1-111714-11.
- [18] DONG Z Y, SONG B, MA H, et al. A Strategy to Enhance the Water Solubility of Luminescent  $\beta$ -Diketonate-Europium(III) Complexes for Time-Gated Luminescence Bioassays [J]. *Talanta*, 2024, 274: 126000-1-126000-8.
- [19] 潘利华, 安锦龙, 谢文兵, 等. 稀土螯合物 BCPDA-Eu<sup>3+</sup> 标记蛋白质研究 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2004, 24(7): 795-798. (PAN L H, AN J L, XIE W B, et al. Study of Rare Earth Bifunctional Chelate BCPDA-Eu<sup>3+</sup> Labeling Protein [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2004, 24(7): 795-798.)
- [20] 钱宇峰, 李云辉, 曹雪, 等. 稀土配合物荧光探针的合成 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2019, 26(1): 147-152. (QIAN Y F, LI Y H, CAO X, et al. Synthesis of Lanthanide Complex-Based Luminescent Probes [J]. *Labeled Immunoassays & Clinical Medicine*, 2019, 26(1): 147-152.)
- [21] SAYYADI N, CONNALLY R E, TRY A. A Novel Biocompatible Europium Ligand for Sensitive Time-Gated Immunodetection [J]. *Chemcomm Communication*, 2016, 52(6): 1154-1157.
- [22] 陈晨, 胡劲超, 曹姗姗, 等. 新型冠状病毒抗原快速检测研发现状及展望 [J]. *中国生物工程杂志*, 2021, 41(6): 119-128. (CHEN C, HU J C, CAO S S, et al. The Development of Antigen Testing for SARS-CoV-2 [J]. *China Biotechnology*, 2021, 41(6): 119-128.)
- [23] 高原, 陈川, 王晶. 2019 新型冠状病毒的抗原抗体检测 [J]. *计量学报*, 2020, 41(5): 513-517. (GAO Y, CHEN C, WANG J. Antigen and Antibody Detection of SARS-CoV-2 [J]. *Acta Metrologica Sinica*, 2020, 41(5): 513-517.)
- [24] YAO H P, SONG Y T, CHEN Y, et al. Molecular Architecture of the SARS-CoV-2 Virus [J]. *Cell*, 2020, 183(3): 730-738.

(责任编辑: 单 凝)