

基于垂直流向纸基微流控芯片检测人尿液中 IgG 蛋白

李欣茹^{1#}, 王欣怡^{1#}, 魏紫玉¹, 张芑汇¹, 徐婧雯², 许浪², 郑非凡¹,
杨真威³, 陈媛媛³, 邱宪波¹, 张璐璐^{1*}

1 北京化工大学信息科学与技术学院, 北京 100029

2 北京化工大学化学工程学院, 北京 100029

3 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101

李欣茹, 王欣怡, 魏紫玉, 张芑汇, 徐婧雯, 许浪, 郑非凡, 杨真威, 陈媛媛, 邱宪波, 张璐璐. 基于垂直流向纸基微流控芯片检测人尿液中 IgG 蛋白[J]. 生物工程学报, 2023, 39(1): 337-346.

LI Xinru, WANG Xinyi, WEI Ziyu, ZHANG Penghui, XU Jingwen, XU Lang, ZHENG Feifan, YANG Zhenwui, CHEN Yuanyuan, QIU Xianbo, ZHANG Lulu. Detection of IgG protein in human urine based on vertical flow paper microfluidic chip[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(1): 337-346.

摘要: 肾脏是人体最重要的器官, 可以通过检测尿液中的蛋白成分来诊断某些疾病。尿液中 IgG 蛋白的含量可以用来判断肾功能受损伤程度。本研究采用垂直流向的纸基微流控芯片, 利用双抗夹心免疫反应显色, 手机拍摄图像处理的方法对人尿液中 IgG 蛋白进行了检测。结果表明, 在 IgG 抗体浓度为 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 金标抗体浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的条件下图像信号在 IgG 浓度为 0.2–3.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内具有良好的线性关系, $R^2=0.9733$ 。设计了一套完整的检测装置, 并且该检测方法具有良好的非特异性。

关键词: 垂直流; 纸芯片; IgG 蛋白检测; 人尿液; 图片处理; 检测装置

资助项目: 北京市自然科学基金(4202053); 国家自然科学基金(61971026); 大学生创新创业训练计划(202110010063)
This work was supported by the Beijing Natural Science Foundation (4202053), the National Natural Science Foundation of China (61971026), and the College Students' Innovative Entrepreneurial Training Plan Program (202110010063).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. E-mail: llzhang@mail.buct.edu.cn

Received: 2022-04-02; Accepted: 2022-07-26; Published online: 2022-08-02

Detection of IgG protein in human urine based on vertical flow paper microfluidic chip

LI Xinru^{1#}, WANG Xinyi^{1#}, WEI Ziyu¹, ZHANG Penghui¹, XU Jingwen², XU Lang², ZHENG Feifan¹, YANG Zhenwei³, CHEN Yuanyuan³, QIU Xianbo¹, ZHANG Lulu^{1*}

1 College of Information Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

2 School of Chemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

3 Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: The kidney is the body's most important organ and the protein components in urine could be detected for diagnosing certain diseases. The amount of IgG protein in urine could be used to determine the degree of kidney function damage. IgG protein in human urine was detected by vertical flow paper-based microfluidic chip, double-antibody sandwich immunoreaction, and cell phone image processing. The results showed that using an IgG antibody concentration of 500 $\mu\text{g/mL}$ and a gold standard antibody concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$, the image signal showed a good linear relationship in the range of IgG concentration of 0.2–3.2 $\mu\text{g/mL}$, with $R^2=0.973$ achieved. A complete set of detection devices were designed and the detection method showed good non-specificity.

Keywords: vertical flow; paper-based microfluidic devices; detection of IgG protein; human urine; image processing; detection device

大量医学研究表明, 肾病患者的尿液中蛋白质含量较高^[1], 因此尿蛋白检测是肾脏诊断和治疗的常规临床项目, 其中尿液中血清免疫球蛋白 G 蛋白(immunoglobulin G, IgG)是可以判断肾功能受损伤程度的^[2]。因此能够有效检测尿液中的 IgG 蛋白含量, 对判断肾脏疾病有重大意义。除此之外尿液中 IgG 蛋白含量的确定也可以辅助诊断妊娠子痫前期^[3]、糖尿病并发症^[4]等疾病。

近年来微流控技术得到了快速的发展, 与大型检测系统相比, 微流控技术具有试剂消耗低^[5]、微尺度液体精确操纵^[6]、同质反应、增加结合事件的速率^[7-8]等诸多显著优势。其中微流体生化分析平台的一个显著进展是纸基微流控芯片(paper-based microfluidic analytical devices, μPADs), 它通常以纤维素纸为基材进

行制造。纸基芯片上的微模式通道可以通过毛细吸湿、光刻、3D 打印等技术开发^[2], 能够进行半定量和定性分析^[9-10]。纤维素纸具有来源丰富、结构多孔、重量轻、生物降解性好、生物相容性好等优点。因此, 基于纸张的微流体芯片成本低, 操作简单, 在生化分析中备受青睐^[11-12]。对于不需要鲁棒性和长期稳定性的检测, 生物分子的非共价相互作用、范德华力以及亲疏水相互作用等可以成功创建功能性生物界面完成检测^[13]。而 IgG 蛋白的检测正好符合纸基微流控检测的特点, 且芯片流道设计简单, 检测便捷。

以验孕棒为代表的免疫色层分析试纸, 即侧向层析检测(lateral flow assay, LFA)是纸芯片技术发展中的一块里程碑^[14]。侧向层析检测是基于膜的一次性诊断设备, 用于快速检测

血液、尿液、唾液和食物等样本中的生物标志物^[15-18]。其测试原理是基于免疫原理通过显色反应反映检测结果。大部分市场上流通的尿蛋白检测试纸利用的就是侧向层析的方式,但利用的是干化学蛋白质遇染色试剂显色的方法实现对尿液有无尿蛋白或相对多少做出定性检查,我们查到市面产品大多是测尿蛋白或者微白蛋白的,其中微白蛋白检测试纸最低检测限度只能做到 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,检测结果是定性分析,灵敏度有所欠缺。Jiang 等^[19]在一张纸上进行测流免疫层析鉴定时讨论了条带宽度的影响,结果表明更宽的条带宽度可以得到更高的灵敏度,侧面说明了增大有效反应面积可以增加检测的灵敏度,因此我们设计了较大的圆形检测区域。

本研究在双抗夹心免疫原理^[20]的基础上,设计了一种垂直流向流道的纸芯片应用于尿液中的蛋白检测。相比于市面上利用 LFA 根据在控制线上有无颜色反应来对尿蛋白进行定性判断的检测试纸来说,本文设计的垂直流向的流道接触面积更大,可以在低浓度范围内实现对特定蛋白 IgG 的定量测定。本文设计的亲疏水图案可以将待检测溶液更好地约束在检测区域,避免了市面检测试纸待测溶液流动带来的目标检测物质的流失。本文设计的检测流程还可以有望应用于其他不同蛋白比如 IgM、IgE 等的检测,具有可扩展性。由此探索出一套完整的检测体系,有望实现家庭或者个人的测量,避免在医院测量的繁琐与耗时。

1 材料与方 法

1.1 材料及设备

材料:BioTrace 层析纸购自 Solarbio;人 IgG 蛋白抗体、人 IgG 蛋白、胶体金标记的抗体

购自北京博奥森生物技术有限公司;牛血清蛋白购自 Sigma-Aldrich;从志愿者身上采集健康人的尿液样本,收集的尿液样本在 4 $^{\circ}\text{C}$ 环境下以 13 000 r/min 的转速离心 8 min,然后取上清备用。

设备:蜡打印机(富士施乐),加热板(Fisher Scientific),烘箱(郑州长城科工贸有限公司),离心机(上海安亭科学仪器厂)。

实验条件:实验在室温下进行(18–26 $^{\circ}\text{C}$),纸芯片反应区的 pH 值采用 PBS 缓冲液控制在 7.4 左右^[21]。

1.2 纸基微流控芯片制备

喷蜡印花法操作简单快速且成本较低,材料石蜡又易于获得性质稳定,在纸芯片制作上得到广泛应用。蜡打印的主要步骤为:(1) 电脑设计图案结构;(2) 利用蜡打印机将石蜡打印在纸基上;(3) 利用加热板对纸芯片进行加热,使石蜡融入纸基的孔隙中以达到疏水的目的。采用这种方式在芯片上加工亲疏水微流道,在 100 $^{\circ}\text{C}$ 条件下加热 30 s 左右至蜡迹变浅融入纸层。设计的流道结构如图 1 所示。芯片的尺寸为 30 mm \times 40 mm,反应区的直径为 2 mm。为了减少背景光源噪声的影响,在纸基中心打印了一个红色的参照点。

1.3 模拟尿样的制备

利用在健康人尿液样品中加入人 IgG 蛋白来模拟病人尿样,模拟尿样的制备方法如下:将健康人尿液样品离心后取上层清液,用磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)溶液稀释 10 倍,之后根据计算好的浓度要求向稀释后的尿样中加入人 IgG 蛋白,将浓度为 1 mg/mL 的 IgG 蛋白标准样品稀释成 0.20、1.28、3.20、8.00、20.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的待测模拟尿样。

1.4 压紧装置和隔光装置

为了加速检测过程，设计了一款纸芯片的压紧装置。纸芯片制备完成后在其下方垫好吸水棉放入压紧装置中，以确保芯片与吸水棉紧密接触，以加快待测样品垂流过的速度。压紧装置采用3D打印的方法制作，如图2所示。

为了进一步减小环境背景光变化对检测结果的影响，还设计制作了隔离环境光线的装置。反应区显色后将纸芯片连同压紧装置一起置于隔光装置中，利用手机对结果图像进行拍摄，

由于拍摄时处于一个“暗室”环境，可以在一定程度上减小环境光源变化给检测结果带来的影响。抽拉式结构也方便待测样品的取放，装置内部有设计好的通道，可以保证待测样品处于拍摄窗口正下方。隔光装置的上方固定一个可以遥控开关的补光灯，以便后续探究没有光源和增加固定光源两种情况对检测结果的影响。固定装置可以固定拍摄的距离和角度，减少其他干扰因素。装置如图3所示，采用激光雕刻的方法制作。

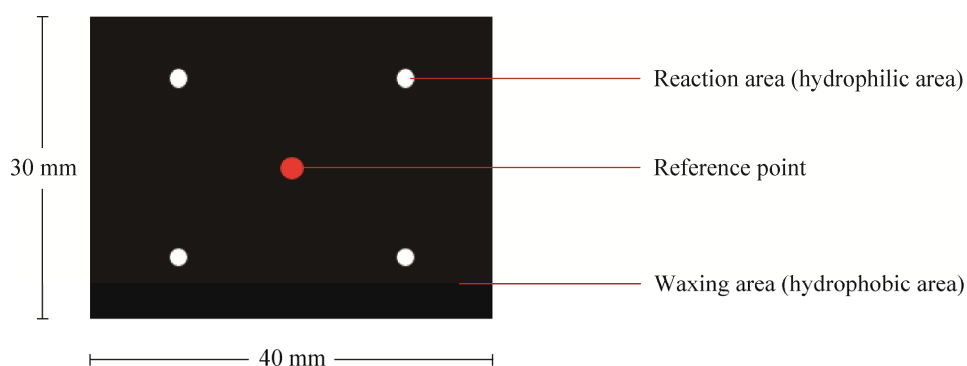


图1 纸基微流控芯片结构图

Figure 1 Structure diagram of μ PADs.

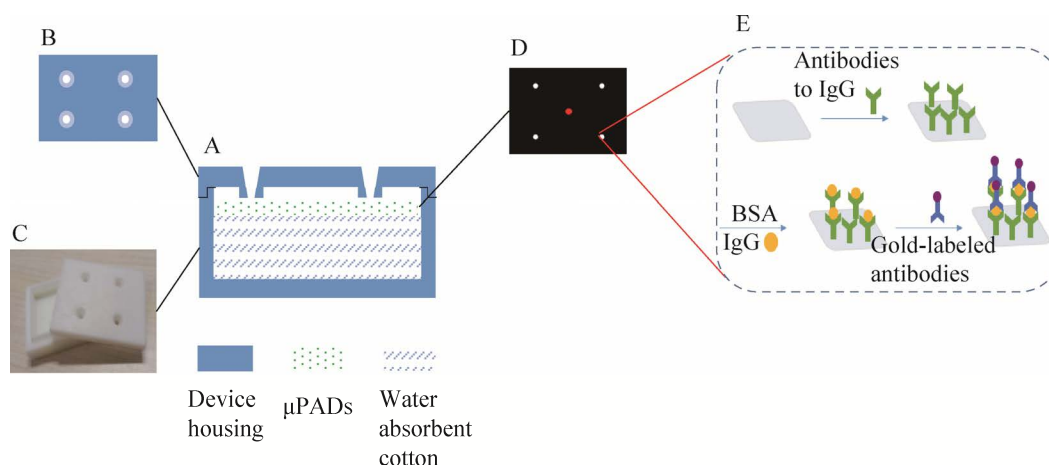


图2 压紧装置示意图

Figure 2 Schematic diagram of the clamping device. A: The overall structure of the clamping device. B: Top view of the top cover of the clamping device. C: Actual picture of the clamping device. D: μ PADs. E: Schematic diagram of the immune response that occurs in the reactive area.

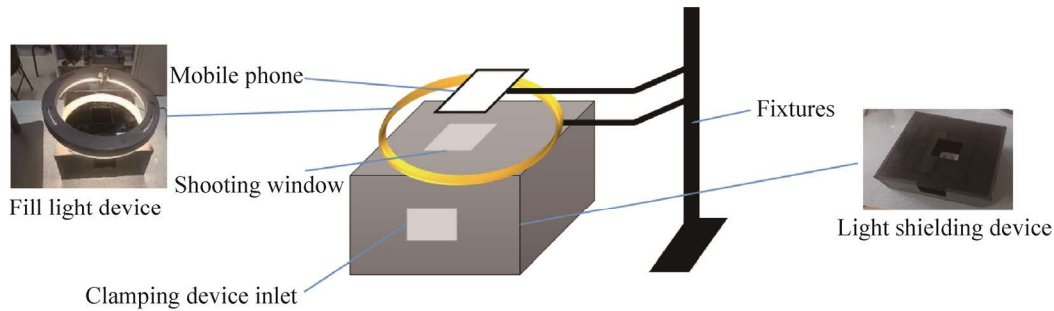


图3 隔光装置、固定装置和补光灯
Figure 3 Shading devices, fixtures and fill lights.

1.5 在纸芯片反应区固定抗体

实验过程中采用直接吸附的方法固定 IgG 抗体。为了增强固定效果, 抗体使用 PBS 甲醇溶液稀释至 $500 \mu\text{g/mL}$, 每个反应区加入 $10 \mu\text{L}$ 抗体溶液, 待抗体溶液全部流过后将纸芯片取出, 在牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA) 封闭液中浸泡 1 h 以避免后续实验中蛋白与纸基上的其他位点产生非特异性结合。浸泡结束后将 PBS 溶液清洗过的纸芯片置于 37°C 恒温箱中烘干即可用于后续检测。为了观察抗体固定效果, 利用丽春红溶液对抗体进行染色。将两个反应区用上述方法固定好抗体后, 把纸芯片置于丽春红溶液中浸泡 5 min, 染色结果如图 4 所示。可以看出抗体固定效果较好, 固定抗体的反应区呈现明显的红色, 未固定抗体的反应区未被染色。

1.6 双抗夹心免疫反应和信号检测

实验采用的检测原理是双抗夹心法, 配置 IgG 模拟尿样的浓度范围为 $0.2\text{--}20 \mu\text{g/mL}$ 。待模拟尿样流过后向反应区分别加入 $30 \mu\text{L}$ 浓度为 $100 \mu\text{g/mL}$ 的胶体金标记抗体溶液。最后使用 PBS 溶液清洗掉未结合的金标抗体, 然后置于隔光装置中使用手机 APP 拍摄处理得到检测结果。实验的完整流程图如图 5A 所示, APP 的界面如图 5B 所示。其中用户需要进行的操作仅有加入尿样、显色抗体和拍照选取区域, 如图 5A 中蓝色虚线框所示。

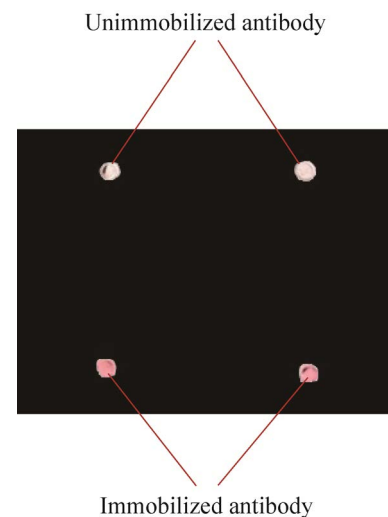


图4 抗体固定效果
Figure 4 Antibody immobilization effect.

2 结果与分析

2.1 图片处理程序

拍摄后的图片经灰度处理, 并将数据进行灰度反转, 然后提取每个反应区的灰度数值求和, $g_i(x)$ 表示抗原浓度为 x 的反应区第 i 次检测的灰度值总和。为了进一步减小背景光变化带来的误差, 对数据进行最小值归一化处理, 即将纸芯片每个反应区的读取结果都除以同张纸芯片上抗原浓度为零的反应区的读取结果, 计算所得值作为最终结果进行分析。单次检测结果的处理程序流程如图 6A 所示。

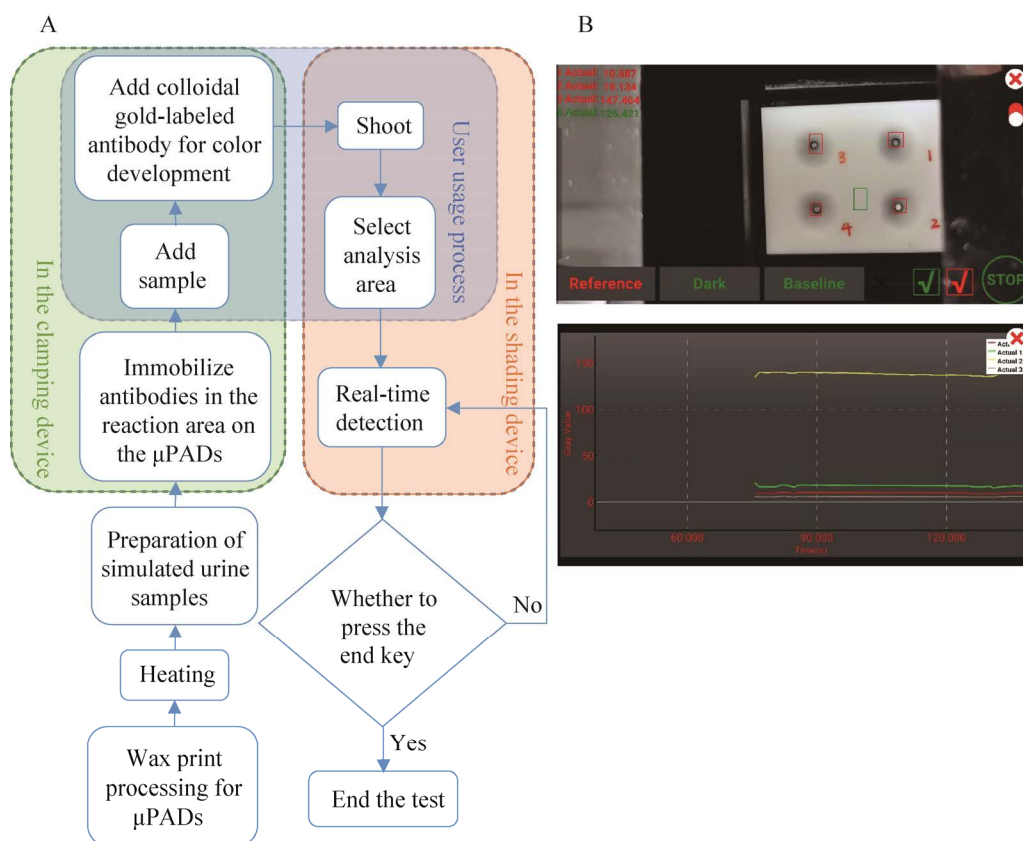


图5 实验流程和拍摄结果

Figure 5 Experimental procedure and shooting results. A: Experiment process. B: APP shooting interface.

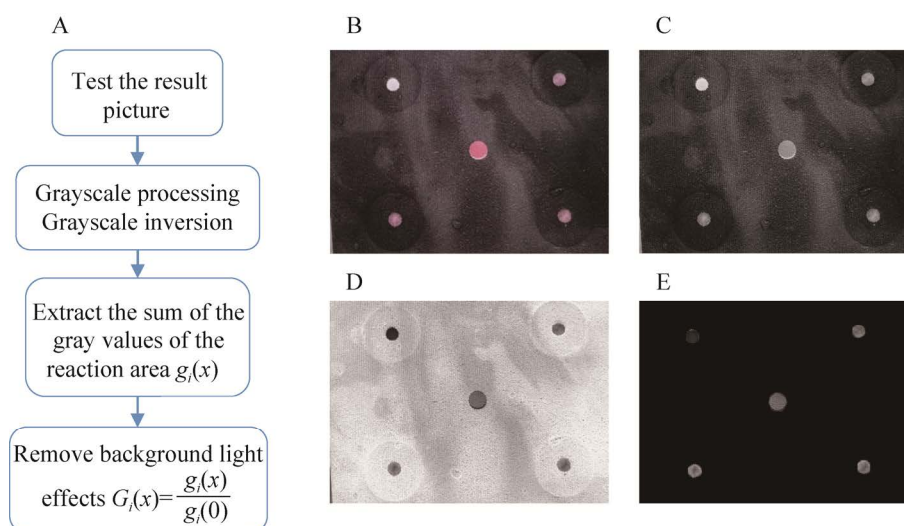


图6 图片处理过程

Figure 6 Process of image processing. A: The flow of the image processing program. B: Original image. C: Grayscale processed image. D: Grayscale inverted image. E: The image after extracting the gray value of the reaction area and the reference point (the gray value of the rest area is reset to zero).

对于最终的标准曲线,采用多次检测求平均值的方法绘制。每个浓度 x 的检测结果为 $\bar{G}(x)$ 。

$$\bar{G}(x) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n G_i(x)$$

2.2 尿样标准曲线构建

为了验证这种垂直流向纸芯片的检测效果,利用上述装置测定了一系列不同人 IgG 蛋白浓度(0.20、1.28、3.20、8.00、20.00 $\mu\text{g/mL}$)的模拟尿样对应的图像信号,绘制了标准曲线图如图 7 所示。从已有研究^[22]中查阅到尿 IgG 蛋白在尿液中正常含量范围是 $<6 \mu\text{g/mL}$,因此选择测定浓度范围 0.2–20.0 $\mu\text{g/mL}$ 进行测定。观察实验曲线图可以得出图像信号在 IgG 蛋白浓度为 0.2–20.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内呈指数关系。取 3 次测定结果进行分析,浓度 0.20、1.28、3.20、8.00、20.00 $\mu\text{g/mL}$ 的检测结果标准差分别约为 0.036 84、0.037 13、0.025 02、0.020 64、0.025 78 $\mu\text{g/mL}$ 。当抗原浓度在 0.2–3.2 $\mu\text{g/mL}$ 范围内曲线具有良好的线性关系,线性方程为 $Y=0.244X+1.284$ (单位为 $\mu\text{g/mL}$), $R^2=0.973 3$ ($n=3$)。

抗原浓度超过 3.2 $\mu\text{g/mL}$ 时 R^2 下降至 0.839,认为其不再符合线性关系。取 IgG 浓度为 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 的模拟尿样重复测定 4 次,求得其相对标准偏差为 2.86%。

实验结果分析得出,所设计采用的垂直流向纸芯片具备检测不同浓度 IgG 的能力,并从中得到图像信号随 IgG 浓度变化的线性范围为 0.2–3.2 $\mu\text{g/mL}$,能够有效检测到尿液中 IgG 蛋白的含量,但当 IgG 蛋白浓度过大时图像信号随 IgG 浓度变化不再呈线性关系,而是趋于饱和,为此考虑将待检测尿液蛋白浓度稀释到本文能做到的定量检测的浓度范围内,然后再对其结果进行数值上的运算得到最终结果,以此判断检测者是否患有某种类型的肾病,及时帮患者做出预判,及时就医诊治。查阅到利用表面等离子体共振(surface plasmon resonance, SPR)技术检测到的 IgG 最低检测限是 0.022 $\mu\text{g/mL}$ ^[21],相对于实验中最低检测限 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 来说,虽然灵敏度还有优化空间,

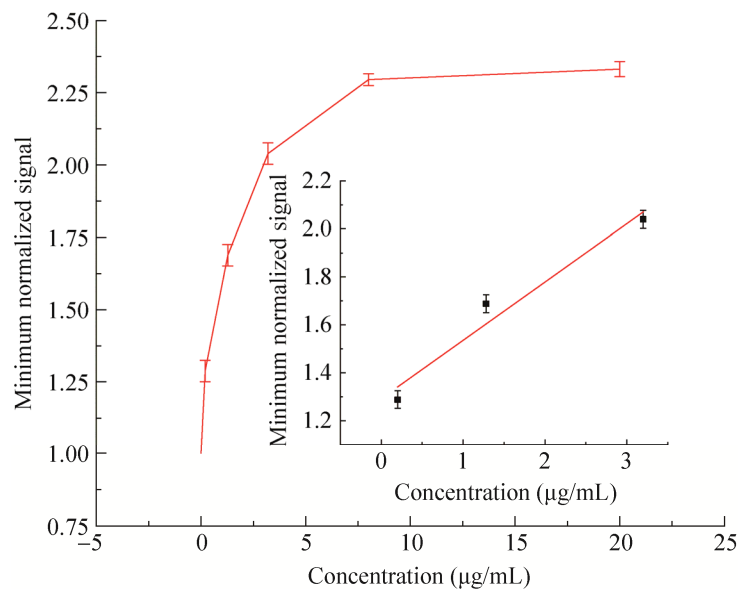


图 7 尿样标准曲线

Figure 7 Urine sample standard curve.

但是对于 IgG 蛋白在病人尿液中 $>6 \mu\text{g/mL}$ 的范围来说,已经在低成本的情况下做到了有效检测,能够帮助实现早期疾病诊断,便于患者早期及时治疗。

2.3 非特异性实验

考虑到固定化抗体与除 IgG 蛋白以外的其他蛋白之间的非特异性结合,这里以 Lambda 蛋白为例验证是否会与反应区的抗体发生非特异性结合,造成诊断错误。将尿样稀释后 $200 \mu\text{g/mL}$ 的 Lambda 蛋白通入反应区,按照相同的方法对结果进行处理,得到结果如图 8 所示,纵坐标为最小值归一化信号,信号的最小值为 1,对应浓度为 $0 \mu\text{g/mL}$ 。检测到 $20 \mu\text{g/mL}$ 的 IgG 样品信号达 2.2,而 $200 \mu\text{g/mL}$ 的 Lambda 样品信号仅有 1.2。证明 Lambda 蛋白和 IgG 抗体的非特异性结合非常弱。

2.4 补光对比实验

实验采用手机拍照然后提取图像信息的方式实现浓度信息的读取,检测结果不可避免地会受到背景光变化的影响。为了进一步探索光源变化的影响,在实验装置上设计隔离光线的装置的同时也探究了额外增加补光对实验结果的影响。

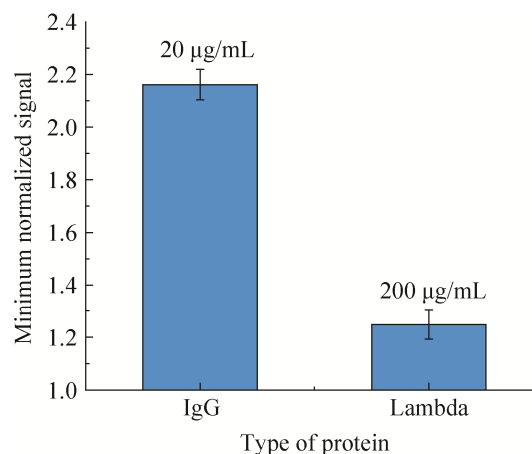


图 8 非特异性结合检验

Figure 8 Nonspecific binding test.

如图 9 所示,在没有补光的条件下,检测得到的线性关系为 $Y=0.2298X+1.3276$, $R^2=0.974$ ($n=3$)。增加补光后检测结果变为 $Y=0.1252X+1.271$, $R^2=0.8877$ ($n=3$)。可以看出增加补光后线性关系明显下降,这可能是由于光圈在补光过程中会使得四周光源充足而中间光线不均匀。同时,我们对这两组数据进行了显著性差异分析,得到的 P -value 值约为 0.1086,高于 0.05,表明这两组结果没有显著差异,这也与实验相符,补光只是影响线性度。以上得

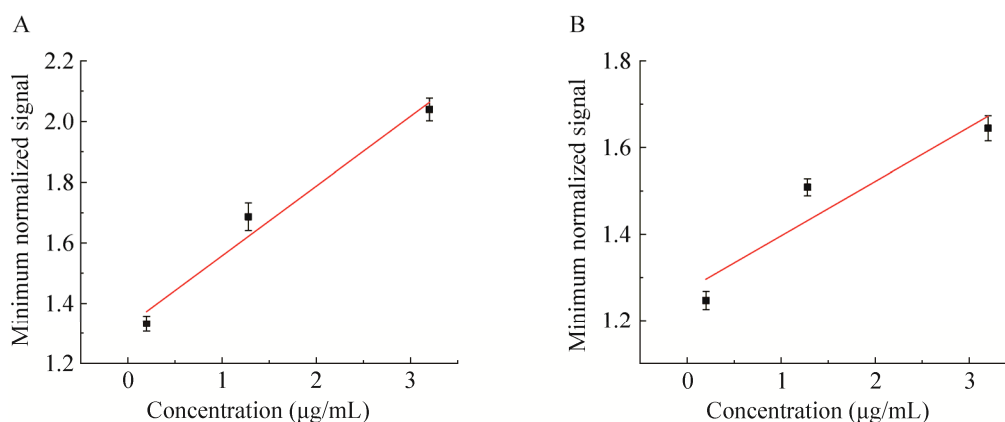


图 9 未补光与补光结果对比

Figure 9 Comparison of the unfilled (A) and filled (B) light results.

出,对结果进行拍摄时需要拥有更均一的光线环境,不需要补光。这进一步简化了装置,说明实验设计的黑箱拍摄装置可以更加方便地检测到实验结果,有望实现家庭或个人的尿样检测,规避了去大医院长时繁琐的检测流程。

3 讨论与结论

基于垂直流向纸芯片,采用双抗夹心免疫原理,通过显色拍照处理的方式,对人尿液中 IgG 蛋白进行测定,检测过程实验室材料成本低于 5 元,但如果批量生产,成本会继续降低。实验研究结果表明图像信号在 IgG 浓度为 0.2–3.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内具有良好的线性关系,最低检测限度为 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 远低于市面上尿蛋白检测试纸的最低检测限度,已经在低成本的情况下做到了有效检测,且经过非特异性实验证明了纸芯片检测具有很好的特异性,可见该方法简单易行,有良好的重现性和准确性。有相关研究表明,反应区通道的大小会影响抗体的固定与抗原抗体的结合情况^[23],后续可以进行进一步研究,并且在图像处理过程中算法的选择中能够利用更多的颜色空间模型(HIS 模式、CMYK 模式、HSB 模式等),进一步优化处理结果,更好地实现颜色深浅度分辨。

综上所述,探索出的完整检测体系,有望应用于家庭或个人的即时检测,除此之外,由于本文采用的原理为免疫原理,只需在制作纸芯片时改变固定在纸芯片上的抗体,同样的检测方法和装置也可以用于其他类型免疫球蛋白如 IgM、IgE 的检测,甚至为其他可以作为标志物蛋白的检测提供了普适的方法。目前有使用试纸检测血清中新冠病毒 IgG 抗体,利用的就是类似于本文检测原理的胶体金法进行检测的^[24],在后续研究中考虑可以将针对尿蛋白的检测扩展到血清蛋白等的检测,增加检

测范围,不局限于相关肾脏疾病的预判,也能观察到其他影响机体免疫状态的系统性疾病。

REFERENCES

- [1] VIBERTI GC, HILL RD, JARRETT RJ, ARGYROPOULOS A, MAHMUD U, KEEN H. Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus[J]. *Lancet*, 1982, 319(8287): 1430-1432.
- [2] 李亚明. 乙型肝炎患者血清免疫球蛋白和尿 IgG 微量蛋白检测的意义[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2003, 13(6): 534-535.
LI YM. Significance of detection of serum immunoglobulin and urine IgG microprotein in patients with hepatitis B[J]. *Journal of Zhenjiang University (Medical Sciences)*, 2003, 13(6): 534-535. (in Chinese)
- [3] 孙素玉, 胡型忠, 沈旭娜. 检测子痫前期患者随机尿 IgG 与尿肌酐比值的临床意义[J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(12): 1741-1743.
SUN SY, HU XZ, SHEN XN. The clinical significance of random IgG urinary and creatinine ratio detection in patients with preeclampsia[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2016, 26(12): 1741-1743 (in Chinese).
- [4] 郭自约, 肖俊锐, 张成发. 尿液特定蛋白检验对糖尿病肾病诊断的应用价值[J]. *智慧健康*, 2021, 7(5): 20-22.
GUO ZY, XIAO JR, ZHANG CF. Application value of urine specific protein test in diagnosis of diabetic nephropathy[J]. *Smart Healthcare*, 2021, 7(5): 20-22 (in Chinese).
- [5] XIE HM, YANG YX, XIA CH, LEE TC, PU QS, LAN Y, ZHANG YW. Diffusional microfluidics for protein analysis[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2022, 146: 116508.
- [6] BATTAT S, WEITZ da, WHITESIDES GM. An outlook on microfluidics: the promise and the challenge[J]. *Lab on a Chip*, 2022, 22(3): 530-536.
- [7] BEEBE DJ, MENSING GA, WALKER GM. Physics and applications of microfluidics in biology[J]. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2002, 4: 261-286.
- [8] STONE HA, STROOCK AD, AJDARI A. Engineering flows in small devices: microfluidics toward a lab-on-a-chip[J]. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 2004, 36: 381-411.
- [9] ZHANG Y, FAN JL, NIE JF, LE SW, ZHU WY, GAO D, YANG JN, ZHANG SB, LI JP. Timing readout in

- paper device for quantitative point-of-use hemin/G-quadruplex DNAzyme-based bioassays[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 73: 13-18.
- [10] CROMARTIE RL, WARDLOW A, DUNCAN G, MCCORD BR. Development of a microfluidic device (μ PADs) for forensic serological analysis[J]. *Analytical Methods*, 2019, 11(5): 587-595.
- [11] WANG YT, ZHANG XX, SHANG LR, ZHAO YJ. Thriving microfluidic technology[J]. *Science Bulletin*, 2021, 66(1): 9-12.
- [12] MCCANN L, BENAVIDEZ TE, HOLTSCRAW S, GARCIA CD. Addressing the distribution of proteins spotted on μ PADs[J]. *The Analyst*, 2017, 142(20): 3899-3905.
- [13] SHAKERI A, JARAD NA, LEUNG A, SOLEYMANI L, DIDAR TF. Biofunctionalization of glass-and paper-based microfluidic devices: a review[J]. *Advanced Materials Interfaces*, 2019, 6(19): 1900940.
- [14] 田恬, 黄艺顺, 林冰倩, 魏晓峰, 周雷激, 朱志, 杨朝勇. 纸芯片微流控技术的发展及应用[J]. *分析测试学报*, 2015, 34(3): 257-267.
- TIAN T, HUANG YS, LIN BQ, WEI XF, ZHOU LJ, ZHU Z, YANG CY. Developments and applications of paper-based microfluidics[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2015, 34(3): 257-267 (in Chinese).
- [15] VASHIST SK, LUPPA PB, YEO LY, OZCAN A, LUONG JHT. Emerging technologies for next-generation point-of-care testing[J]. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33(11): 692-705.
- [16] HUANG XL, AGUILAR ZP, XU HY, LAI WH, XIONG YH. Membrane-based lateral flow immunochromatographic strip with nanoparticles as reporters for detection: a review[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 75: 166-180.
- [17] QUESADA-GONZÁLEZ D, MERKOÇI A. Nanoparticle-based lateral flow biosensors[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 73: 47-63.
- [18] HUANG HJ, LIN YT, CHUNG MC, CHEN YH, TAN KT. Glucose and ethanol detection with an affinity-switchable lateral flow assay[J]. *Analytical Chemistry*, 2022, 94(12): 5084-5090.
- [19] JIANG X, LILLEHOJ PB. Lateral flow immunochromatographic assay on a single piece of paper[J]. *The Analyst*, 2021, 146(3): 1084-1090.
- [20] CHOI SY, RHIE GE, JEON JH. Development of a double-antibody sandwich ELISA for sensitive detection of *Yersinia pestis*[J]. *Microbiology and Immunology*, 2020, 64(1): 72-75.
- [21] 罗阳, 张波, 高维寅, 陈鸣, 蒋天伦, 刘星, 王珏, 府伟灵. 表面等离子体免疫传感器同步定量尿液中多种微量蛋白的研究[J]. *第三军医大学学报*, 2011, 33(7): 658-662.
- LUO Y, ZHANG B, GAO WY, CHEN M, JIANG TL, LIU X, WANG J, FU WL. Simultaneous determining multiple trace proteins in urine with surface plasmon resonance biosensor[J]. *Journal of Third Military Medical University*, 2011, 33(7): 658-662 (in Chinese).
- [22] 于璟, 王善菊, 曹慧玲. 尿 β_2 -m、Alb、IgG 对糖尿病肾病早期诊断的价值[J]. *大连医科大学学报*, 2002, 24(4): 256-258.
- YU J, WANG SJ, CAO HL. Value of β_2 -m, Alb and IgG in urine in early diagnosis of diabetic nephropathy[J]. *Journal of Dalian Medical University*, 2002, 24(4): 256-258 (in Chinese).
- [23] WANG HG, WANG HX, TIAN Z, ZHANG H, HUANG YF, QIU XB, YU DL, ZHANG LL. Analysis of biomolecular interaction process based on SPR imaging method in microfluidic chips[J]. *Plasmonics*, 2022, 17(2): 621-631.
- [24] 孙莉, 朱晋升, 代蕾颖, 宋伟, 杨忠, 王会如. 国产新型冠状病毒 IgG 抗体检测试剂盒的性能比较[J]. *医疗卫生装备*, 2021, 42(6): 56-59, 74.
- SUN L, ZHU JS, DAI LY, SONG W, YANG Z, WANG HR. Performance comparison of China's SARS-CoV-2 IgG antibody test kits[J]. *Chinese Medical Equipment Journal*, 2021, 42(6): 56-59, 74 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)