



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110553991 A

(43)申请公布日 2019.12.10

(21)申请号 201910892191.X

(22)申请日 2019.09.20

(71)申请人 郑州大学

地址 450001 河南省郑州市高新区科学大道100号

(72)发明人 崔惠芳 王琼璘 宋小杰 吕琪妍
李宗宜

(74)专利代理机构 郑州联科专利事务所(普通
合伙) 41104

代理人 杨海霞

(51)Int.Cl.

G01N 21/31(2006.01)

G01N 27/48(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页

序列表1页 附图3页

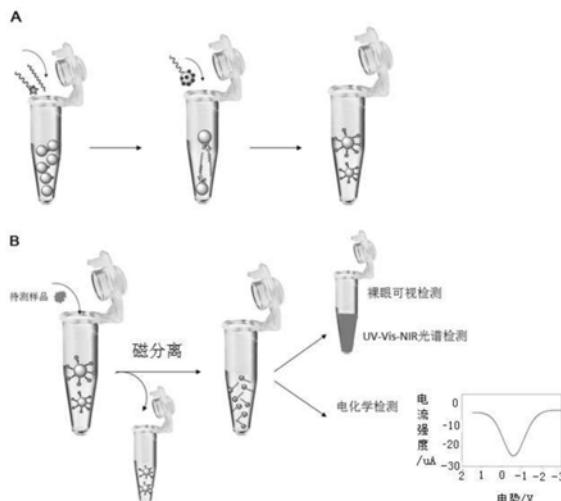
(54)发明名称

基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学
检测试剂和检测方法

(57)摘要

本发明公开了基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学靶标检测试剂和检测方法，属分析化学和生物检测技术领域。本发明以癌胚抗原作为模板靶分子，将与癌胚抗原核酸适配体互补的DNA序列(rpDNA)和辣根过氧化物酶(HRP)共修饰在中空金纳米粒上制得金纳米复合物，然后通过rpDNA和核酸适配体的互补杂交将金纳米复合物修饰在微纳米磁珠上，制得癌胚抗原检测试剂/传感器。该检测试剂与待测癌胚抗原溶液孵育1小时即可快速释放中空金纳米复合物，最后根据需要通过裸眼可视、紫外-可见-近红外光谱和电化学技术对释放的金纳米复合物进行不同模式检测，确定癌胚抗原水平。该发明实现了对标准样品、以及人血清样品的简便、快速、灵敏、特异、精密和准确检测，不需要复杂的操作步骤和昂贵的仪器设备，具有很好的应用前景。

CN 110553991 A



1. 基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学靶检测试剂,其特征在于,通过如下方法制备而成:

(1) 制备rpDNA-HGNP-HRP纳米复合物试剂

将经过还原处理的HS-rpDNA溶液加入到中空金纳米粒(HGNP)溶液中,室温混合反应;离心清洗后在沉淀中加入辣根过氧化物酶(HRP)溶液,室温混合反应;将得到的rpDNA-HGNP-HRP纳米复合物离心清洗,最后将沉淀分散在PBS缓冲溶液中备用;所述HS-rpDNA序列为:5' -HS- (CH₂)₆ (A)₁₂AATTG AATAA GCTGG TAT-3') ;

(2) 制备检测试剂/传感器

A、制备MB/cpDNA/aptamer磁珠复合物:取链霉亲和素磁珠(MB)悬浮液置于反应管中,加入生物素修饰的cpDNA溶液,室温混合反应,磁分离并用缓冲液清洗磁珠,将得到的固定cpDNA的MB记作MB/cpDNA;然后在MB/cpDNA中加入癌胚抗原的核酸适配体溶液,室温杂交反应;磁分离并用缓冲液清洗磁珠后得到MB/cpDNA/aptamer磁珠复合物;所述cpDNA序列为:5' -TCACA GATGA GT (A)₁₂-Biotin-3') ;所述癌胚抗原的核酸适配体序列为:5' -(T)₆ACTCA TCTGT GATT GACATACCAGCTTATTCA-3') ;

B、制备检测试剂/传感器:将制得的MB/cpDNA/aptamer磁珠复合物与rpDNA-HGNP-HRP纳米复合物溶液混合,室温反应,磁分离并用缓冲液清洗后得到检测试剂/传感器。

2. 如权利要求1所述的基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学靶检测试剂,其特征在于,所述中空金纳米粒(HGNP)包括不同粒径和形貌的中空金纳米粒或金纳米笼。

3. 如权利要求1所述的基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学靶检测试剂,其特征在于,步骤(1)中空金纳米粒-DNA复合物修饰的酶选择氧化酶、脱氢酶、过氧化物酶、碱性磷酸酶、蔗糖酶、DNAzyme、RNAzyme替代辣根过氧化物酶。

4. 如权利要求1-3其中之一所述的基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学靶检测试剂,其特征在于,作为检测试剂套,包括组分A和组分B,组分A为MB/cpDNA/aptamer磁珠复合物,组分B为rpDNA-HGNP-HRP纳米复合物。

5. 如权利要求1-4其中之一所述的基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学靶检测试剂的应用,其特征在于,通过裸眼可视或/和紫外-可见-近红外光谱或电化学技术对样品中释放的金纳米复合物进行定性或定量检测,确定癌胚抗原水平。

6. 如权利要求5所述的基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学靶检测试剂的应用,其特征在于,检测方法如下:将该检测试剂/传感器通过磁分离弃去上清,将待测样品溶液加入检测试剂/传感器中,混合孵育1—2小时;磁分离,对上清进行裸眼可视或/和紫外-可见-近红外光谱分析或电化学检测;电化学检测时在溶液中加入氢醌和H₂O₂,然后用差分脉冲伏安技术检测HRP对氢醌的氧化还原催化电流,通过电流大小判断癌胚抗原水平。

基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学检测试剂和检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及分析化学和生物检测技术领域,更具体地说是涉及一种基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学靶标检测试剂和检测方法。

背景技术

[0002] 生物或化学靶标的检测在环境监测、临床诊断、食品检验和科学研究等领域都有着非常重要的应用。建立灵敏、简捷、低成本等检测生物或化学靶标的检测方法一直是分析化学和生物检测技术领域的研究热点,也是实现现场即时检验的要求。纳米粒具有比表面大、易于化学修饰、抗氧化性强、生物相容性好、电子传递能力强、光学性质依赖其尺寸和形状可调等优点,近年来在分析化学和生物检测领域的应用研究得到迅速发展。其中中空金纳米粒(hollow gold nanoparticles,HGNP)相对于实心金纳米粒具有密度低、多孔、比表面积大、吸收波长可调性强等特点。其吸收波长根据其合成方法和条件不同可在550-950nm范围内调整,跨越了可见光和近红外光区。

[0003] 核酸适配体(Aptamer)是从大容量的随机寡核苷酸序列库中针对非核酸靶分子选择得到的、能与该靶分子高亲合度、高特异性结合的单链DNA或RNA分子。核酸适配体具有生产周期短,成本低,靶分子适应范围宽(包括蛋白质、小分子以及整个细胞等),化学稳定性以及热稳定性强等优点。核酸适配体的出现为分析化学和生物检测以及药物研发等领域提供了重要的工具和平台。另外,DNA单链之间特异性的碱基配对和互补特性常被用来发展各种检测试剂和传感器。利用中空金纳米粒的特性,并结合核酸适配体的靶分子和互补DNA可与该核酸适配体竞争结合的性质,或两条具有部分相同片段的DNA序列可以和互补DNA链竞争结合的性质,设计并发展可快速、灵敏检测目标靶分子的新型检测试剂和方法,目前未见相关报道。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于利用中空金纳米粒(hollow gold nanoparticles,HGNP)和核酸适配体(或DNA)的性质,提供一种可快速、灵敏检测目标靶分子的新型检测试剂和检测方法。

[0005] 为实现本目的,本发明以癌胚抗原(一种广谱肿瘤标志物)作为模板靶分子,采用基于磁珠的磁分离技术,首先将捕获探针DNA(cpDNA)固定到微纳米磁珠(MB)上,然后将核酸适配体通过与cpDNA的杂交结合到微纳米磁珠上得到MB/cpDNA/aptamer磁珠复合物,最后将报告探针DNA(rpDNA)和辣根过氧化物酶(HRP)共修饰HGNP的纳米复合物(rpDNA-HGNP-HRP)通过rpDNA与核酸适配体序列的杂交连接到微米磁珠上,制成生物/化学检测试剂/传感器。该检测试剂/传感器与含靶分子的溶液样品孵育后,可快速释放rpDNA-HGNP-HRP纳米复合物,然后通过裸眼可视和紫外-可见-近红外光谱对释放的溶液进行初步检测;再通过加入HRP的底物,利用HRP的信号放大作用进行电化学灵敏检测。

[0006] 具体技术方案如下：

[0007] I:制备rpDNA-HGNP-HRP纳米复合物试剂

[0008] a、HGNP的合成:HGNP的合成参考文献报道的纳米银模板法(Li et al., Nanoscale, 2018, 10, 8628-8641)。首先将AgNO₃溶液和柠檬酸三钠溶液混合,将溶液加热后加入少量NaBH₄溶液,搅拌反应,然后在溶液中加入盐酸羟胺溶液,搅拌后再加入AgNO₃溶液,搅拌过夜,制得银纳米粒。将银纳米粒溶液加热,加入HAuCl₄溶液,反应制得HGNP。

[0009] b、制备rpDNA-HGNP-HRP:将经过还原处理的HS-rpDNA(序列为:5' -HS- (CH₂)₆ (A)₁₂AATTG AATAA GCTGG TAT-3')溶液加入前面合成的HGNP溶液中,室温混合反应。离心清洗后在沉淀中加入HRP溶液,室温混合反应。最后将合成的rpDNA-HGNP-HRP纳米复合物离心清洗,将沉淀分散在PBS缓冲溶液中备用。

[0010] II:制备生物/化学检测试剂/传感器

[0011] a、制备MB/cpDNA/aptamer磁珠复合物:取链霉亲和素磁珠(MB)悬浮液置于反应管中,加入生物素修饰的cpDNA(序列为:5' -TCACA GATGA GT(A)₁₂-Biotin-3')溶液,室温混合反应,磁分离并用缓冲液清洗磁珠,得到固定cpDNA的MB,记作MB/cpDNA。然后在MB/cpDNA中加入癌胚抗原的核酸适配体(序列为:5' -(T)₆ACTCA TCTGT GATT GACATACCAGCTTATTCA-3')溶液,室温杂交反应,磁分离并用缓冲液清洗磁珠后得到MB/cpDNA/aptamer磁珠复合物。该核酸适配体中的核心序列(5' -GACATACCAGCTTATTCA-3')是本发明人通过生物信息学结合传感器应用实验筛选得到并通过验证的一条高亲和力的核酸适配体DNA序列。

[0012] b、制备检测试剂/传感器:将前面制得的MB/cpDNA/aptamer磁珠复合物悬浮液与rpDNA-HGNP-HRP纳米复合物溶液混合,室温反应,磁分离并用缓冲液清洗后得到检测试剂/传感器。

[0013] III:检测癌胚抗原

[0014] 将制得的检测试剂/传感器通过磁分离弃去上清,将待测样品溶液加入检测试剂/传感器中,混合孵育1—2小时。该过程中样品癌胚抗原与检测试剂/传感器中核酸适配体结合,从而释放rpDNA-HGNP-HRP纳米复合物。磁分离对上清进行裸眼可视和紫外-可见-近红外光谱分析或电化学检测。HGNP的光吸收峰在近红外区域,因而可免除样品如血清中成分对光谱检测的干扰。电化学检测时在溶液中加入氢醌和H₂O₂,然后用差分脉冲伏安技术检测HRP对氢醌的氧化还原催化电流。HRP的信号放大作用使得电化学检测的灵敏度较紫外-可见-近红外光谱检测更高。

[0015] 本发明提供了基于中空金纳米粒-DNA复合物的检测生物以及化学靶标的试剂和方法。本技术方案针对癌胚抗原作为一种模板靶分子设计制备检测试剂。其它具有核酸适配体的生物以及化学靶标(包括蛋白质、小分子、整个细胞等)、以及任何DNA序列,均可根据其核酸适配体序列或靶DNA序列设计制备基于中空金纳米粒-DNA复合物的检测试剂。中空金纳米粒-DNA复合物可在不修饰HRP酶的情况下用于制备检测试剂。

[0016] 以不同的合成方法在不同条件下合成的中空金纳米粒、金纳米笼等均可制备本发明提出的检测试剂/传感器。

[0017] 除了HRP之外,其它各种酶,如各种氧化酶、各种脱氢酶、各种过氧化物酶、碱性磷酸酶、蔗糖酶,各种DNAzyme、各种RNAzyme等均可与DNA一起固定在中空金纳米粒上作为检测试剂组分。

[0018] HRP以及其它酶,根据其酶种类和底物不同,可产生不同的信号分子。其它检测技术,如荧光、化学发光、可见光吸收、显微镜、葡萄糖计等均可用于对本试剂进行检测。

[0019] 该检测试剂还可作为检测试剂套(包括组分A和组分B)使用。组分A为MB/cpDNA/aptamer磁珠复合物、组分B为rpDNA-HGNP-HRP(或rpDNA-HGNP)纳米复合物。检测分析物时首先将组分A与分析物孵育,然后再加入组分B,最后磁分离并检测清液。

[0020] cpDNA可通过其它结合方式,例如酰胺键、金硫键等固定在微/纳米磁珠上。

[0021] 其它固体基底,例如酶标板、载玻片、芯片、金包被磁珠等均可取代磁珠用于固定cpDNA。

[0022] 含有核酸适配体的DNA序列、或含有靶DNA互补片段的DNA序列均可直接固定在固体基底/磁珠上,免去cpDNA的使用。

[0023] 本发明创新点在于:首次将中空金纳米粒-DNA复合物用于生物/化学检测。根据需要通过裸眼可视、紫外-可见-近红外光谱或电化学技术对释放的金纳米复合物进行不同模式检测,确定癌胚抗原水平。

[0024] 本发明实现了对样品的简便、快速、灵敏、准确检测,检测时间1—2小时,不需要复杂的操作步骤,不需要使用昂贵的检测仪器和设备且选择性好,抗干扰性强。对于癌胚抗原水平明显偏离患恶性肿瘤阈值的样品,只需通过裸眼可视和紫外-可见-近红外光谱分析即可判断。对于接近阈值的样品,再通过电化学检测(检测时间约10分钟)进行判断。本发明采用紫外-可见-近红外光谱分析癌胚抗原的最低检测极限为 6.9ng mL^{-1} ,电化学检测癌胚抗原的最低检测极限为 0.6ng mL^{-1} ,完全满足临床诊断需求(临幊上97%的健康成人血清癌胚抗原浓度在 2.5ng mL^{-1} 以下。癌胚抗原大于 10ng mL^{-1} 时,提示有恶性肿瘤的可能)。具有很好的应用前景。

[0025] 本发明涉及的核苷酸序列见序列表。

附图说明

[0026] 图1为本发明生物/化学检测试剂/传感器的制备过程示意图(A),和使用其检测待测样品的过程和方法示意图(B)。

[0027] 图2为本发明生物/化学检测试剂/传感器对不同浓度模板靶分子癌胚抗原的紫外-可见-近红外检测图谱。插图为本发明检测试剂/传感器与不同浓度癌胚抗原溶液孵育后所得清液的照片。光谱曲线以及清液照片中a,b,c,d,和e所对应的癌胚抗原浓度分别为 $0, 10, 40, 100, 200\text{ng mL}^{-1}$ 。

[0028] 图3为本发明生物/化学检测试剂/传感器对不同浓度癌胚抗原在氢醌和 H_2O_2 溶液中的电化学差分脉冲伏安检测图。曲线a,b,c,d,e,f,g所对应的癌胚抗原浓度分别为 $0, 2, 5, 10, 40, 100, 200\text{ng mL}^{-1}$ 。

[0029] 图4为本发明生物/化学检测试剂/传感器对靶分子癌胚抗原(CEA)和不同干扰分子的差分脉冲伏安检测信号比较图。检测的干扰分子包括牛血清白蛋白(BSA)、人血清白蛋白(HSA)、C-反应蛋白(CRP)、 γ 球蛋白(γ -globulin)和甲胎蛋白(AFP)。

具体实施方式

[0030] 为对本发明进行更好的说明,举癌胚抗原检测试剂制备和癌胚抗原检测方法实施

例如：

[0031] 实施例1

[0032] I:制备rpDNA-HGNP-HRP纳米复合物试剂

[0033] a、HGNP的合成：首先将60mL 0.4mM AgNO₃溶液和60mL 1mM柠檬酸三钠溶液混合，将溶液加热到70℃后加入120μL 1M NaBH₄溶液，搅拌反应3小时，然后在溶液中加入0.1mL 2M盐酸羟胺溶液，搅拌10min后再加入0.25mL 0.1M AgNO₃溶液，搅拌过夜，制得银纳米粒。将银纳米粒溶液加热到70℃，然后加入400μL 60mM HAuCl₄溶液，搅拌反应3小时，制得HGNP。

[0034] b、制备rpDNA-HGNP-HRP：将经过TCEP还原处理的HS-rpDNA（序列为：5' -HS- (CH₂)₆ (A)₁₂AATTG AATAA GCTGG TAT-3'）溶液（15μL 15μM）加入前面合成的500μL HGNP溶液中，室温混合反应8小时。离心清洗后在沉淀中加入500μL 2mg mL⁻¹HRP溶液，室温混合反应10小时。最后将合成的rpDNA-HGNP-HRP纳米复合物离心清洗，将沉淀分散在1mL PBS缓冲溶液中备用。

[0035] II:制备生物/化学检测试剂/传感器

[0036] a、制备MB/cpDNA/aptamer磁珠复合物：取100μL 10mg/mL链霉亲和素磁珠（MB）悬浮液置于反应管中，加入500μL 1μM生物素修饰的cpDNA（序列为：5' -TCACA GATGA GT (A)₁₂-Biotin-3'）溶液，室温混合反应1小时，磁分离并用缓冲液清洗，得到固定cpDNA的MB，记作MB/cpDNA。然后在MB/cpDNA中加入500μL 1μM癌胚抗原核酸适配体（序列为：5' -(T)₆ACTCA TCTGT GATT GACATACCAGCTTATTCA-3'）溶液，室温杂交3小时，磁分离并用缓冲液清洗后得到MB/cpDNA/aptamer磁珠复合物。将其用1mL 10mM的PBS缓冲液重悬备用。

[0037] b、制备检测试剂/传感器：取200μL前面制得的MB/cpDNA/aptamer磁珠复合物悬浮液与600μL rpDNA-HGNP-HRP纳米复合物溶液混合，室温反应3小时，磁分离并用缓冲液清洗后，将其重悬在1mL PBS缓冲溶液中得到检测试剂/传感器。

[0038] III:检测癌胚抗原

[0039] 将制得的检测试剂/传感器通过磁分离弃去上清，将待测样品溶液加入检测试剂/传感器中，混合孵育1小时。磁分离对上清进行裸眼可视和紫外-可见-近红外光谱分析，以及电化学检测。紫外-可见-近红外光谱检测的波长扫描范围为300nm-800nm。电化学检测时在溶液中加入2mM H₂Q和2.5mM H₂O₂，用玻碳电极进行差分脉冲伏安检测。

[0040] 以上所显示的仅为本发明的实施例而已，不能以此来限定本发明的权利范围。因此以本发明申请专利范围所作的等同变化，仍涵盖在本发明请求保护的基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学检测试剂和检测方法。

[0041] 应用例1

[0042] 将按照上述方法制备的癌胚抗原检测试剂/传感器分别使用紫外-可见-近红外光谱检测技术（表1），和电化学检测技术（表2），应用于检测人血清中癌胚抗原水平。在人血清中加入不同量的标准癌胚抗原，并对未额外加入癌胚抗原的人血清用商用癌胚抗原酶联免疫试剂套（郑州博赛生物技术股份有限公司生产）进行检测，作为‘癌胚抗原已知水平’。检测结果显示，用本发明制备的癌胚抗原检测试剂/传感器对人血清癌胚抗原水平的检测结果（‘癌胚抗原检测水平’），与‘癌胚抗原已知水平’基本一致：使用紫外-可见-近红外光谱检测技术的回收率在100%±15%以内，重复检测的相对标准偏差（RSD）在15%以内；使用

电化学检测技术的回收率在 $100\% \pm 5\%$ 以内,重复检测的相对标准偏差(RSD)在5%以内。表明该检测试剂/传感器对实际样品检测的准确度和精密度均很高,可满足临床诊断应用要求。

[0043] 另外,按照本发明所述方法制备的癌胚抗原检测试剂/传感器储存稳定性非常高:在4℃下保存60天后其检测性能无明显降低,进一步表明本发明公开的检测试剂和方法具有很好的应用前景。

[0044] 表1.用本发明癌胚抗原检测试剂使用光谱技术检测人血清样品的检测结果

| 样品 | 癌胚抗原已知 | 癌胚抗原检测 | 回收率(%) | RSD (%) |
|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------|---------|
| | 水平 (ng mL ⁻¹) | 水平 (ng mL ⁻¹) | (n=3) | |
| 人血清 | 7.9 | 8.9 | 112.6 | 13.9 |
| 人血清+ 10 ng mL ⁻¹ 瘤胚抗原 | 17.9 | 19.9 | 111.1 | 9.7 |
| 人血清+ 40 ng mL ⁻¹ 瘤胚抗原 | 47.9 | 50.9 | 106.3 | 5.4 |
| 人血清+ 100 ng mL ⁻¹ 瘤胚抗原 | 107.9 | 113.6 | 105.3 | 12.1 |

[0045] 表2.用本发明癌胚抗原检测试剂使用电化学技术检测人血清样品的检测结果

| 样品 | 癌胚抗原已知 | 癌胚抗原检测 | 回收率(%) | RSD (%) |
|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------|---------|
| | 水平 (ng mL ⁻¹) | 水平 (ng mL ⁻¹) | (n=3) | |
| 人血清 | 7.9 | 8.2 | 103.8 | 4.0 |
| 人血清+ 10 ng mL ⁻¹ 瘤胚抗原 | 17.9 | 17.5 | 97.8 | 2.0 |
| 人血清+ 40 ng mL ⁻¹ 瘤胚抗原 | 47.9 | 46.9 | 97.9 | 1.6 |
| 人血清+ 100 ng mL ⁻¹ 瘤胚抗原 | 107.9 | 106.1 | 98.3 | 2.1 |

序 列 表

< 110> 郑州大学

<120>基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学检测试剂和检测方法

<160> 3

<210>1

<211>30

<212>DNA

<213>人工序列

<220>

<221> rpDNA

<400> 1

aaaaaaaaaa aaaattgaat aagctggtat 30

<210>2

<211>24

<212>DNA

<213>人工序列

<220>

<221> cpDNA

<400>2

tcacagatga gtaaaaaaaaaaaa aaaa 24

<210>3

<211>39

<212>DNA

<213>人工序列

<220>

<221>癌胚抗原的核酸适配体

<400>3

tttttactc atctgtgatt tgacatacca gcttattca 39

1

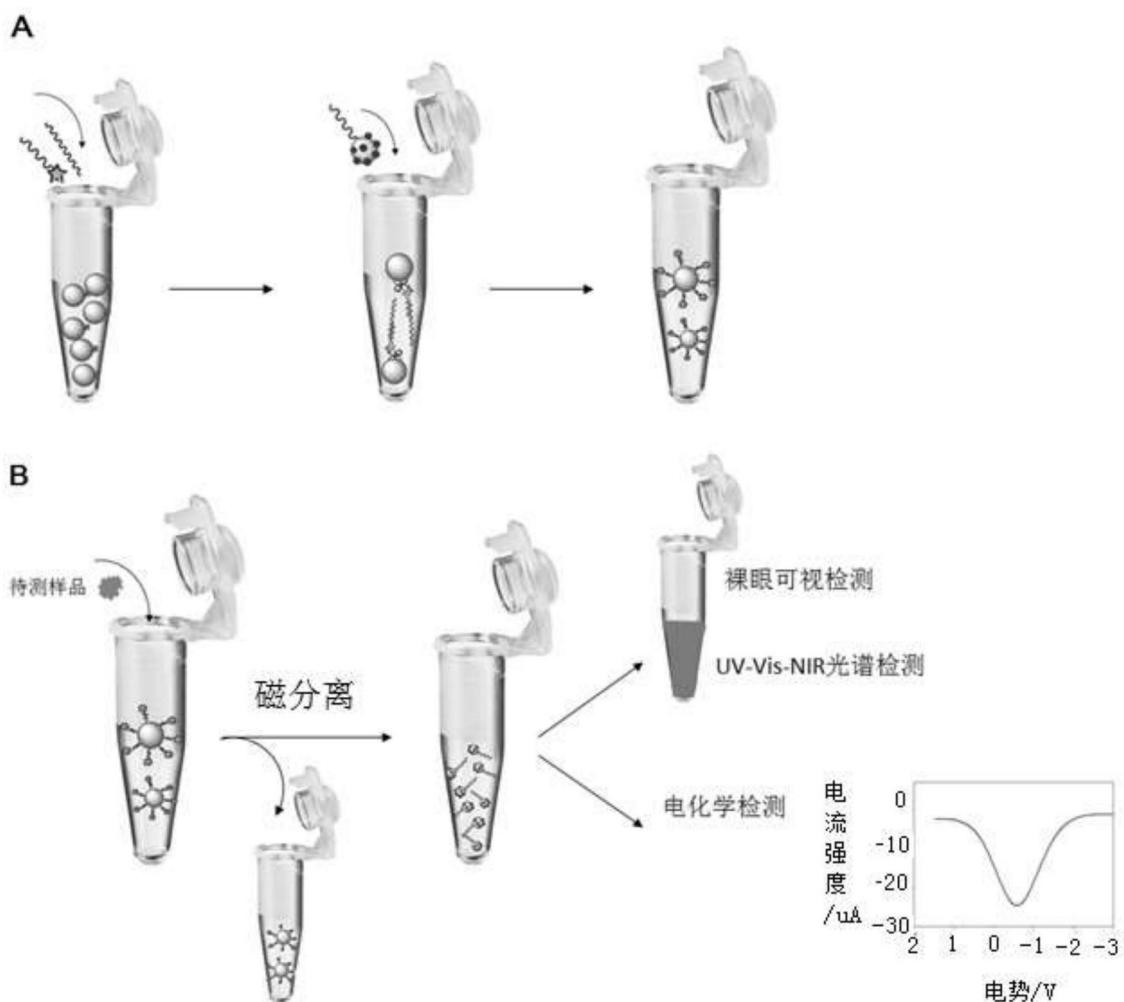


图1

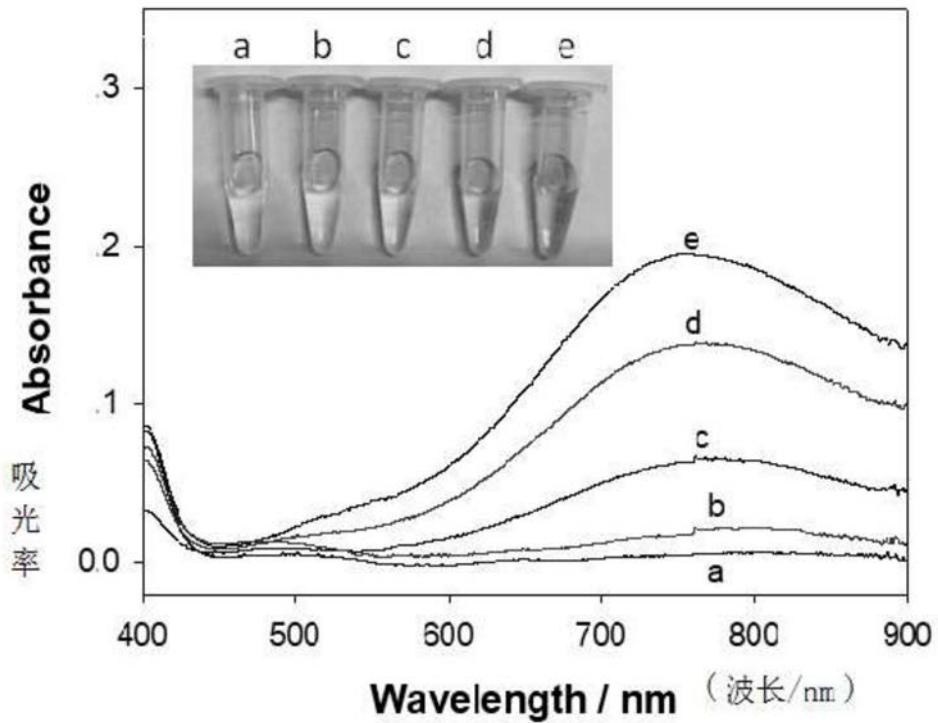


图2

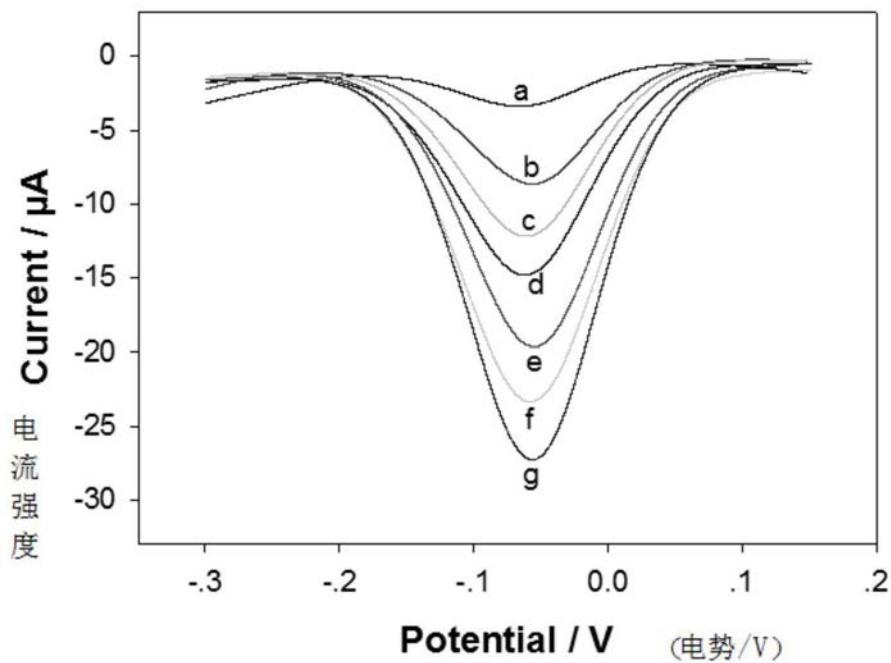


图3

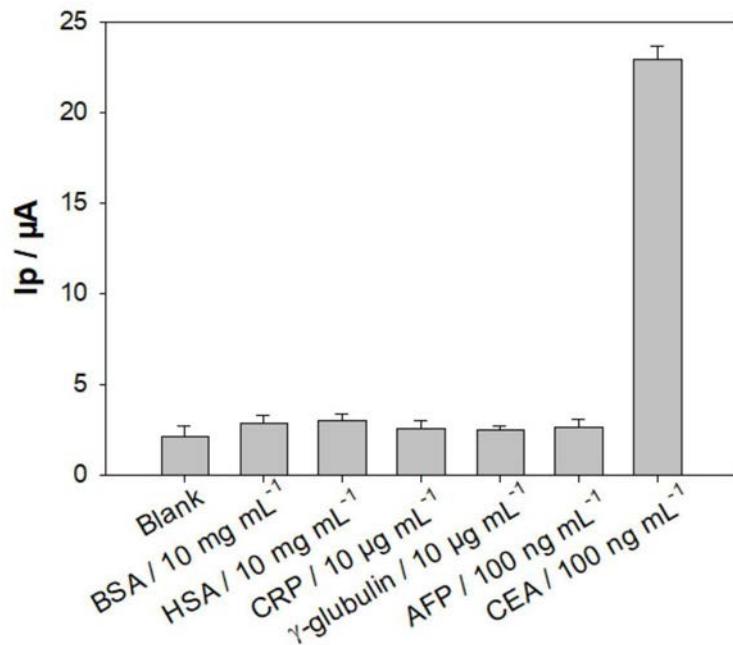


图4

| | | | |
|----------------|---|---------|------------|
| 专利名称(译) | 基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学检测试剂和检测方法 | | |
| 公开(公告)号 | CN110553991A | 公开(公告)日 | 2019-12-10 |
| 申请号 | CN201910892191.X | 申请日 | 2019-09-20 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 郑州大学 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 郑州大学 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 郑州大学 | | |
| [标]发明人 | 崔惠芳 宋小杰 李宗宜 | | |
| 发明人 | 崔惠芳 王琼璘 宋小杰 吕琪妍 李宗宜 | | |
| IPC分类号 | G01N21/31 G01N27/48 G01N33/531 G01N33/543 | | |
| CPC分类号 | G01N21/31 G01N27/48 G01N33/531 G01N33/54326 G01N2800/50 | | |
| 代理人(译) | 杨海霞 | | |
| 外部链接 | Espacenet Sipo | | |

摘要(译)

本发明公开了基于中空金纳米粒-DNA复合物的生物/化学靶标检测试剂和检测方法，属分析化学和生物检测技术领域。本发明以癌胚抗原作为模板靶分子，将与癌胚抗原核酸适配体互补的DNA序列 (rpDNA) 和辣根过氧化物酶 (HRP) 共修饰在中空金纳米粒上制得金纳米复合物，然后通过rpDNA和核酸适配体的互补杂交将金纳米复合物修饰在微纳磁珠上，制得癌胚抗原检测试剂/传感器。该检测试剂与待测癌胚抗原溶液孵育1小时即可快速释放中空金纳米复合物，最后根据需要通过裸眼可视、紫外-可见-近红外光谱和电化学技术对释放的金纳米复合物进行不同模式检测，确定癌胚抗原水平。该发明实现了对标准样品、以及人血清样品的简便、快速、灵敏、特异、精密和准确检测，不需要复杂的操作步骤和昂贵的仪器设备，具有很好的应用前景。

