



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110275011 A

(43)申请公布日 2019.09.24

(21)申请号 201910386444.6

(22)申请日 2019.05.09

(71)申请人 武汉优恩生物科技有限公司

地址 430000 湖北省武汉市东湖新技术开发
区高新二路388号光谷国际生物医药企业加速器1号楼305室

(72)发明人 冷毅斌 胡勤芹 夏红星 冯亮

(74)专利代理机构 武汉蓝宝石专利代理事务所
(特殊普通合伙) 42242

代理人 王振宇

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书1页 说明书3页

(54)发明名称

胶体金免疫层析法的增敏检测方法及应用

(57)摘要

本发明实施例提供了一种胶体金免疫层析法的增敏检测方法及应用,包括:获取待检测样品,并将第一预设体积的所述检测样品滴入胶体金免疫层析试剂盒的加样孔中反应第一预设时长;在所述加样孔中滴入第二预设体积的增敏试剂反应第二预设时长;重复上述步骤多次,直至所述胶体金免疫层析试剂盒的读数变化处于预设范围之内,即完成对所述待检测样品的检测。通过在常规胶体金免疫层析法检测待测样品过程中加入增敏试剂,可以显著提高胶体金免疫层析试剂盒检测生物大分子的灵敏度,且显色迅速、背景干扰要比常规的银染色法小,具有十分广泛的应用前景和开发价值。

1. 一种胶体金免疫层析法的增敏检测方法,其特征在于,包括:
获取待检测样品,并将第一预设体积的所述检测样品滴入胶体金免疫层析试剂盒的加样孔中反应第一预设时长;
在所述加样孔中滴入第二预设体积的增敏试剂反应第二预设时长;
重复上述步骤多次,直至所述胶体金免疫层析试剂盒的读数变化处于预设范围之内,即完成对所述待检测样品的检测。
2. 根据权利要求1所述方法,其特征在于,在所述将第一预设体积的所述检测样品滴入胶体金免疫层析试剂盒的加样孔中之前,还包括:
对所述检测样品进行常规预处理。
3. 根据权利要求1所述方法,其特征在于,所述增敏试剂包括按预设体积比混合的第一增敏试剂、第二增敏试剂和第三增敏试剂;其中,
所述第一增敏试剂为重量百分比浓度为2%~5%的氯金酸溶液,所述第二增敏试剂为还原溶液,所述第三增敏试剂为对比溶液。
4. 根据权利要求3所述方法,其特征在于,所述第一增敏试剂为重量百分比浓度为3%的氯金酸溶液。
5. 根据权利要求3所述方法,其特征在于,所述第二增敏试剂为摩尔浓度为2%~5%的盐酸羟胺溶液或重量百分比浓度为0.3%的抗坏血酸溶液。
6. 根据权利要求3所述方法,其特征在于,所述第三增敏试剂为重量百分比浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液。
7. 权利要求1-6任一项所述方法在生物大分子检测中的应用。

胶体金免疫层析法的增敏检测方法及应用

技术领域

[0001] 本发明实施例涉及生物检测技术领域,更具体地,涉及一种胶体金免疫层析法的增敏检测方法及应用。

背景技术

[0002] 在残留毒理学意义上比较重要的兽药,按照用途主要有抗微生物类、驱虫类、抗球虫和抗原虫药物、抗生素类生长促进剂、合成代谢荷尔蒙类生长促进剂等。目前,国际上通用的兽药残留检测方法是先采用一种简便的方法对待检样品进行快速初筛,再采用准确性更高的方法对初筛为阳性的样品进行确证分析。国内食品受兽药污染问题严重,国家和政府对此已做了大量的投入,但执行情况仍不尽人意,造成该现象的主要原因之一是缺乏快速、灵敏、简便的检测方法。薄层层析、ELISA法、高效液相色谱、质谱检测技术,由于上述方法需借助仪器设备来完成检测过程时间较长不适宜现场快速检测。近年来,胶体金免疫层析法因操作简单,不需辅助仪器和试剂,3~5分钟出结果,并可肉眼判断等特点。因此它在大批量兽药残留现场和初筛检验中得到研究与应用。

[0003] 胶体金(colloidal gold)是氯金酸(chloroauric acid)的水溶液,是氯金酸在还原剂如白磷、柠檬酸三钠等的作用下,聚合成特定大小的金颗粒,并由于静电作用成为一种稳定胶体溶液。由于胶体金颗粒具有高电子密度的特性,且颗粒聚集达到一定密度时,出现肉眼可见的粉红色斑点,因而可以作为免疫层析试验的指示物。因此胶体金免疫层析法是一种以胶体(红色)作为示踪标记物。让其与蛋白质等各种大分子物质结合,再利用抗原抗体反应以达到检测目的的一种新型的免疫标记方法。GICA主要包括夹心法和竞争抑制法,夹心法包括双抗体夹心法测抗原和双抗原法测抗体,主要用于病毒、细菌和寄生虫等的检测。竞争抑制法主要用于兽药残留、类固醇、农药小分子(抗原)的检测。

[0004] 但是,目前的胶体金免疫层析法对于大分子的灵敏度较低,限制了其推广应用。

发明内容

[0005] 本发明实施例提供了一种克服上述问题或者至少部分地解决上述问题的胶体金免疫层析法的增敏检测方法及应用。

[0006] 一方面本发明实施例提供了一种胶体金免疫层析法的增敏检测方法,包括:

[0007] 获取待检测样品,并将第一预设体积的所述检测样品滴入胶体金免疫层析试剂盒的加样孔中反应第一预设时长;

[0008] 在所述加样孔中滴入第二预设体积的增敏试剂反应第二预设时长;

[0009] 重复上述步骤多次,直至所述胶体金免疫层析试剂盒的读数变化处于预设范围之内,即完成对所述待检测样品的检测。

[0010] 进一步地,在所述将第一预设体积的所述检测样品滴入胶体金免疫层析试剂盒的加样孔中之前,还包括:

[0011] 对所述检测样品进行常规预处理。

[0012] 进一步地,所述增敏试剂包括按预设体积比混合的第一增敏试剂、第二增敏试剂和第三增敏试剂;其中,

[0013] 所述第一增敏试剂为重量百分比浓度为2%~5%的氯金酸溶液,所述第二增敏试剂为还原溶液,所述第三增敏试剂为对比溶液。

[0014] 进一步地,所述第一增敏试剂为重量百分比浓度为3%的氯金酸溶液。

[0015] 进一步地,所述第二增敏试剂为摩尔浓度为2%~5%的盐酸羟胺溶液或重量百分比浓度为0.3%的抗坏血酸溶液。

[0016] 进一步地,所述第三增敏试剂为重量百分比浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液。

[0017] 另一方面本发明实施例提供了一种上述方法在生物大分子检测中的应用。

[0018] 本发明实施例提供的一种胶体金免疫层析法的增敏检测方法及应用,通过在常规胶体金免疫层析法检测待测样品过程中加入增敏试剂,可以显著提高胶体金免疫层析试剂盒检测生物大分子的灵敏度,且显色迅速、背景干扰要比常规的银染色法小,具有十分广泛的应用前景和开发价值。

具体实施方式

[0019] 为使本发明实施例的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚地描述,显然,所描述的实施例是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0020] 本发明实施例提供了一种胶体金免疫层析法的增敏检测方法,包括:

[0021] 步骤1,获取待检测样品,并将第一预设体积的所述检测样品滴入胶体金免疫层析试剂盒的加样孔中反应第一预设时长;

[0022] 步骤2,在所述加样孔中滴入第二预设体积的增敏试剂反应第二预设时长;

[0023] 步骤3,重复上述步骤多次,直至所述胶体金免疫层析试剂盒的读数变化处于预设范围之内,即完成对所述待检测样品的检测。

[0024] 具体地,根据需要检测的对象的不同,分别获取待检测样品,例如动物的血清,内脏提取液等作为待检测样品。胶体金免疫层析试剂盒可以是市面上购买得到的常规胶体金免疫层析试剂盒。

[0025] 第一预设时长和第二预设时长可以根据需要检测对象的具体类型进行设定。如可以将第一时长设定为1-10分钟,将第二时长设定为5-8 分钟。

[0026] 对于一种待测样品的测量一般重复步骤1-步骤2两到三次即可满足要求。

[0027] 本发明实施例提供的一种胶体金免疫层析法的增敏检测方法,通过在常规胶体金免疫层析法检测待测样品过程中加入增敏试剂,可以显著提高胶体金免疫层析试剂盒检测生物大分子的灵敏度,且显色迅速、背景干扰要比常规的银染色法小,具有十分广泛的应用前景和开发价值。

[0028] 在上述实施例中,在所述将第一预设体积的所述检测样品滴入胶体金免疫层析试剂盒的加样孔中之前,还包括:

[0029] 对所述检测样品进行常规预处理。

[0030] 具体地,通过对检测样品进行常规预处理,可以排除杂质的干扰,使得检测结果更

为准确。

[0031] 在上述实施例中,所述增敏试剂包括按预设体积比混合的第一增敏试剂、第二增敏试剂和第三增敏试剂;其中,

[0032] 所述第一增敏试剂为重量百分比浓度为2%~5%的氯金酸溶液,所述第二增敏试剂为还原溶液,所述第三增敏试剂为对比溶液。

[0033] 在上述实施例中,所述第一增敏试剂为重量百分比浓度为3%的氯金酸溶液。

[0034] 在上述实施例中,所述第二增敏试剂为摩尔浓度为2%~5%的盐酸羟胺溶液或重量百分比浓度为0.3%的抗坏血酸溶液。

[0035] 在上述实施例中,所述第三增敏试剂为重量百分比浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液。

[0036] 本发明实施例还提供了一种将上述方法在生物大分子检测中的应用。

[0037] 本发明实施例提供的一种胶体金免疫层析法的增敏检测方法的应用,通过在常规胶体金免疫层析法检测待测样品过程中加入增敏试剂,可以显著提高胶体金免疫层析试剂盒检测生物大分子的灵敏度,且显色迅速、背景干扰要比常规的银染色法小,具有十分广泛的应用前景和开发价值。

[0038] 最后应说明的是:以上实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明,本领域的普通技术人员应当理解:其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分技术特征进行等同替换;而这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明各实施例技术方案的精神和范围。