



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104122389 B

(45) 授权公告日 2015.03.11

(21) 申请号 201410151332.X

(22) 申请日 2014.04.14

(83) 生物保藏信息

001 2013.09.15

(73) 专利权人 中国科学院寒区旱区环境与工程研究所

地址 730000 甘肃省兰州市东岗西路 320 号

(72) 发明人 张玉宝 王亚军 郭志鸿 谢忠奎
王若愚 何玉惠

(51) Int. Cl.

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

(56) 对比文件

CN 202710559 U, 2013.01.30,

CN 102707061 A, 2012.10.03,

CN 101573617 A, 2009.11.04,

CN 101915835 A, 2010.12.15,

康熙雄 主编. 免疫胶体金层析技术. 《免疫

胶体金技术临床应用》. 2010,

唐秋艳 等主编. 胶体金免疫技术. 《免疫诊断试剂实用技术》. 2009,

童勋章 等. 百合斑驳病毒 CP 与 CI 基因的融合表达、多抗制备及其应用. 《植物病理学报》. 2010, 第 40 卷

沈嘉乐等. 三种百合线状病毒的外壳蛋白抗血清制备. 《科技通报》. 2007, (第 02 期),

贾慧等. 百合病毒检测技术研究进展. 《北京农学院学报》. 2004, (第 04 期),

魏梅生等. 胶体金免疫层析法快速检测烟草环斑病毒. 《植物检疫》. 2002, (第 02 期),

审查员 毕秀华

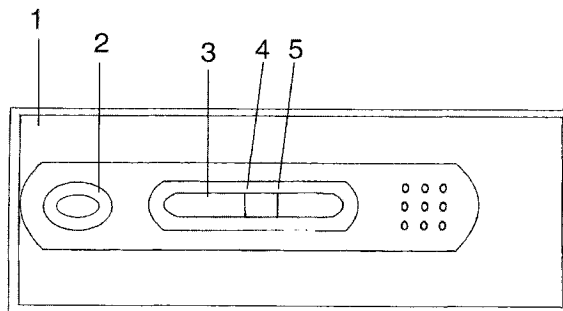
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54) 发明名称

一种百合斑驳病毒胶体金免疫层析检测试剂卡及制备方法

(57) 摘要

一种百合斑驳病毒胶体金免疫层析检测试剂卡及制备方法, 该试剂卡包括试剂卡槽、衬板、样品垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水滤纸, 其中胶体金结合垫上含有金标探针, 衬板固定于试剂卡槽中, 样品垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水滤纸依次排列连接于衬板上表面, 硝酸纤维素膜上设有检测线和对照线, 检测线和对照线上分别包被的是兔抗 LMoV 多克隆抗体和羊抗兔 IgG 纯化抗体; 该百合斑驳病毒胶体金免疫层析检测试剂卡的制备方法主要是将兔抗 LMoV 多克隆抗体包被于免疫层析膜上, 同时用其制成胶体金结合垫; 该试剂卡检测快速、准确率高、特异性强、操作简便, 无需特殊的设备和仪器。



1. 一种百合斑驳病毒胶体金免疫层析检测试剂卡的制备方法,其特征在于按以下步骤进行:

①兔抗 LMoV 多克隆抗体的制备:从感染了 LMoV 的百合叶片中提取总 RNA 进行逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR),扩增 LMoV 的 CP 基因片段;通过酶切克隆至 pET-28a 载体;重组质粒转化入大肠杆菌 BL21,37℃培养, IPTG 诱导表达,镍柱亲和层析纯化获得大小 30.0 kDa 的 LMoV CP 基因工程融合蛋白;用 1mg/mL 的 LMoV CP 基因工程融合蛋白作为免疫原免疫新西兰大白兔,获得抗血清;所得抗血清依次通过 20%、50%、33% 三个饱和度的硫酸铵沉淀粗提后,透析至 pH7.8 的磷酸缓冲液,然后使用 DE52 阴离子交换柱进行纯化而获得兔抗 LMoV 多克隆抗体 IgG;

②胶体金标记兔抗 LMoV 多克隆抗体的制备:分别取半径为 30nm 的胶体金 10mL 及兔抗 LMoV 多克隆抗体 180 μg,在 PH 7.4 的条件下通过磁力搅拌震荡使其结合,加牛血清白蛋白(BSA)作为稳定剂,且使得终浓度为 1%,采用高速离心法除去未结合的多克隆抗体和未稳定的胶体金颗粒及其凝聚物,在离心管底部的深红色沉淀即为胶体金-抗体结合物;

③胶体金结合垫的制备:用 1/10 标记前胶体金溶液体积的重悬液悬浮胶体金-抗体结合物,离心,上清液用喷涂设备涂于玻璃纤维素膜上,37℃烘干,制成胶体金结合垫;

④免疫层析膜的包被:在硝酸纤维素膜上分别包被兔抗 LMoV 多克隆抗体检测线和羊抗兔 IgG 纯化抗体对照线,每条线宽 2mm,兔抗 LMoV 多克隆抗体合适包被量为 1.5 ~ 2.0 μg 蛋白,羊抗兔 IgG 纯化抗体合适包被量为 2.0 ~ 2.5 μg 蛋白;

⑤试剂卡的组装:将聚氯乙烯衬板作为支撑载体固定于试剂卡槽下壳体中,然后样品垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水滤纸依次排列连接于衬板上表面,再将试剂卡槽的上壳体与下壳体通过卡扣连接,就得到 LMoV 胶体金免疫层析检测试剂卡;其中上壳体设有第一孔洞和第二孔洞,样品垫置于第一孔洞下方,硝酸纤维素膜置于第二孔洞下方;

⑥试剂卡的使用及结果判定:吸取少量百合样品的待检测溶液,滴在所述第一孔洞处 5 ~ 10 分钟后,若待检溶液中含有 LMoV,检测样品经过所述胶体金结合垫时, LMoV 与金标垫上的金标多克隆抗体形成复合物,然后继续向所述检测线方向渗移,当接触到所述检测线时与兔抗 LMoV 多克隆抗体发生抗原抗体结合反应而被截留下来,形成可见的棕红色条带;未与检测线结合的复合物继续向所述对照线方向渗移,当接触到所述对照线时与羊抗兔 IgG 纯化抗体结合而被截留下来,形成可见的棕红色条带;当检测线和对照线上均出现棕红色的条带时,则判定被检样品感染了 LMoV;若待检溶液中不含 LMoV,检测样品经过所述胶体金结合垫时,则不能与金标垫上的金标多克隆抗体结合,当接触到所述检测线时不发生反应,金标多克隆抗体继续向所述对照线方向渗移,当接触到所述对照线时与羊抗兔 IgG 纯化抗体结合而被截留下来,形成可见的棕红色条带;当检测线没有颜色变化而仅对照线出现棕红色的条带时,则判定被检样品没有感染 LMoV。

一种百合斑驳病毒胶体金免疫层析检测试剂卡及制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测试剂卡及制备方法,具体的是一种用胶体金免疫层析法快速检测百合斑驳病毒(LMoV)的试剂卡及其制备方法。

背景技术

[0002] 百合(*Lilium spp*)是一种集观赏、食用、药用价值于一身的重要经济作物。2005年,观赏百合主要生产国荷兰的面积达到3800hm²,占全球总面积的72%,每年生产22.1亿个百合种球,其中约1.0亿个出口到中国。甘肃省兰州市及其周边定西、临夏等地区食用百合的面积已近10000hm²,直接参与百合种植的农户已超过9万户,百合已成为产区农户的主要收入来源。尽管上世纪80年代末我国就开始了百合切花生产,但由于百合种球繁育技术以及病毒检测等技术的落后,导致自繁种球质量差、增重慢、感病严重,生产中使用的种球90%以上依赖进口,耗资巨大。更重要的是进口种球价格高,病毒病却没有保障,导致我国百合切花生产成本居高不下而切花质量却参差不齐,严重影响了百合产业的健康、高效发展。食用百合种植一茬需要3~5年的时间,主产区受土地面积的限制,重茬严重。连茬引发的病害尤其病毒病严重影响了食用百合的生长,使百合产量降低,品质下降,经济效益减少。

[0003] 目前文献报道侵染百合的病毒有20多种,其中百合斑驳病毒(Lily mottle virus, LMoV)和百合隐症病毒(Lily symptomless virus, LSV)是发生最普遍、危害最严重的两种病毒,其他病毒均为局部地区发生。LMoV可在世界范围内广泛分布,特别是在适合其寄主生长的所有温带地区及蚜虫媒介丰富的地区尤为普遍。LMoV侵染百合科植物常造成叶片有斑驳条纹甚至坏死斑,后期发展为花、叶片卷曲畸形,开碎色花,并常伴随植株矮小、花与球茎的减产等。百合斑驳病毒属于马铃薯Y病毒科、马铃薯Y病毒属(Potyvirus)。病毒粒子为弯曲线状且呈螺旋对称,大小(650~900)nm×(11~15)nm。病毒基因组为单分子正链RNA,约9.4kb,具有potyvirus属成员的典型基因组结构特征,包括一个Poly(A)尾巴,编码一个由3095个氨基酸组成的分子量为351.0kDa的多聚蛋白。多聚蛋白通过自我剪切后形成外壳蛋白(CP)等10个不同大小的功能蛋白。LMoV CP亚基由274aa组成,大小为30kDa左右,组装成外壳包裹病毒RNA。

[0004] 目前与百合病毒相关的研究主要集中在病毒脱除和病毒检测上,病毒检测研究虽然有电子显微镜技术、酶联免疫法(ELISA)以及分子生物学技术(RT-PCR和基因芯片技术)等的相关报道,但都还停留在研究和实验室阶段,无法满足百合种植现场及田间快速检测的需求,从而无法掌握百合病毒感染的准确信息。此外,包括ELISA和RT-PCR等方法在内的传统实验室检测方法都存在程序复杂,检测费用高、对仪器设备和检测条件要求高,需要长期经验积累和具有专业操作技能的人员才能完成等实际问题,因此使用范围受到很大的局限性。

[0005] 胶体金免疫层析是以硝酸纤维素膜为载体,通过液体的渗移,利用抗原抗体的结合,以及胶体金呈现颜色反应来检测抗原或抗体。该方法可以避免以上几种检测方法的缺

点,以其特异性强、成本低、操作简便、不需任何仪器、适合现场快速检测等优点已被广泛接受,已用于多种植物病毒的检测等,包括马铃薯 X 病毒、马铃薯 Y 病毒、烟草斑驳病毒、南瓜花叶病毒等。作为一种快速筛查的手段,既可节省检测成本,又可用于广大基层单位开展百合病毒的检测和防控工作中,具有重要的经济价值和社会价值。但是至今国内外还没有用胶体金免疫层析法检测 LMoV 的相关报道,更无商品化的 LMoV 胶体金免疫层析检测试剂卡,很难满足国内观赏及食用百合的病毒检测需求。因此建立科学、快速、灵敏、稳定、易操作的 LMoV 检测方法及其试剂卡,是生产百合脱毒株的基础,是提高百合产量和品质的前提。

发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种用胶体金免疫层析法快速检测 LMoV 的试剂卡及其制备方法。本发明试剂卡检测快速,检测准确率高,特异性强,携带方便,操作简便,检测重复性好,无需任何仪器和设备。

[0007] 本发明的技术方案为:

[0008] 一种百合斑驳病毒胶体金免疫层析检测试剂卡,包括:试剂卡槽(1),衬板(10),样品垫(6),胶体金结合垫(7),硝酸纤维素膜(8),吸水滤纸(9),试剂卡槽(1)包括上壳体和下壳体,上壳体和下壳体通过卡扣连接,上壳体设有第一孔洞(2)和第二孔洞(3),样品垫(6)置于第一孔洞(2)下方,硝酸纤维素膜(8)置于第二孔洞(3)下方,胶体金结合垫(7)上含有金标探针,衬板(10)固定于试剂卡槽(1)中,样品垫(6)、胶体金结合垫(7)、硝酸纤维素膜(8)和吸水滤纸(9)依次排列连接于衬板(10)上表面,硝酸纤维素膜(8)上设有检测线(4)和对照线(5),检测线(4)上包被的是兔抗 LMoV 多克隆抗体,对照线(5)上包被的是羊抗兔 IgG 纯化抗体,兔抗 LMoV 多克隆抗体合适包被量为 1.5 ~ 2.0 μg 蛋白,金标探针合适抗体标记量为 18 $\mu\text{g}/\text{mL}$,羊抗兔 IgG 纯化抗体合适包被量为 2.0 ~ 2.5 μg 蛋白。

[0009] 其中在用所述试剂卡检测时,在所述第一孔洞处加入少量百合样品的待检溶液,对比检测线和对照线的颜色,即可判定被检测百合是否感染了百合斑驳病毒;

[0010] 其中将少量待检溶液加入所述第一孔洞处 5 ~ 10 分钟后,若待检溶液中含有 LMoV,检测样品经过所述胶体金结合垫时,LMoV 与金标垫上的金标多克隆抗体形成复合物,然后继续向所述检测线方向渗移,当接触到所述检测线时发生抗原抗体结合反应而被截留下来,形成可见的棕红色条带;未与检测线结合的复合物继续向所述对照线方向渗移,当接触到所述对照线时与羊抗兔 IgG 纯化抗体结合而被截留下来,形成可见的棕红色条带;当检测线和对照线上均出现棕红色的条带时,则判定被检样品感染了百合斑驳病毒;

[0011] 其中将少量待检溶液加入所述第一孔洞处 5 ~ 10 分钟后,若待检溶液中不含 LMoV,检测样品经过所述胶体金结合垫时,则不能与金标垫上的金标多克隆抗体结合,当接触到所述检测线时不发生反应,金标多克隆抗体继续向所述对照线方向渗移,当接触到所述对照线时与羊抗兔 IgG 纯化抗体结合而被截留下来,形成可见的棕红色条带;当检测线没有颜色变化而仅对照线出现棕红色的条带时,则判定被检样品没有感染百合斑驳病毒。

[0012] 一种百合斑驳病毒胶体金免疫层析检测试剂卡的制备方法,按以下步骤进行:1、兔抗 LMoV 多克隆抗体的制备:从感染了 LMoV 的百合叶片中提取总 RNA 进行逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR),扩增 LMoV 的 CP 基因片段。通过酶切克隆至 pET-28a 载体。重组质粒转化入大肠杆菌 BL21,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养, IPTG 诱导表达,镍柱亲和层析纯化获得大小 30.0kDa 的

LMoV CP 基因工程融合蛋白。用 1mg/mL 的 LMoV CP 基因工程融合蛋白作为免疫原免疫新西兰大白兔, 获得抗血清。所得抗血清依次通过 20%、50%、33% 三个饱和度的硫酸铵沉淀粗提后, 透析至 pH7.8 的磷酸缓冲液, 然后使用 DE52 阴离子交换柱进行纯化而获得兔抗 LMoV 多克隆抗体 IgG ;2、胶体金标记兔抗 LMoV 多克隆抗体的方法 : 分别取半径为 30nm 的胶体金 10mL 及兔抗 LMoV 多克隆抗体 180 μ g, 在 PH7.4 的条件下通过磁力搅拌震荡使其结合, 加牛血清白蛋白 (BSA) 作为稳定剂, 且使得终浓度为 1%, 采用高速离心法除去未结合的多克隆抗体和未稳定的胶体金颗粒及其凝聚物, 在离心管底部的深红色沉淀即为胶体金 - 抗体结合物 ;3、胶体金结合垫的制备 : 用 1/10 标记前胶体金溶液体积的重悬液悬浮胶体金 - 抗体结合物, 离心, 上清液用喷涂设备涂于玻璃纤维素膜上, 37 $^{\circ}$ C 烘干, 制成胶体金结合垫 ;4、免疫层析膜的包被 : 检测线上包被的是兔抗 LMoV 多克隆抗体, 对照线上包被的是羊抗兔 IgG 纯化抗体 ;5、试剂卡的组装 : 将聚氯乙烯衬板作为支撑载体固定于试剂卡槽下壳体中, 然后样品垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水滤纸依次排列连接于衬板上表面, 再将试剂卡槽上壳体与下壳体通过卡扣连接, 就得到 LMoV 胶体金免疫层析检测试剂卡。

[0013] 本发明的试剂卡具有以下优点 :

[0014] 检测时, 吸取少量百合样品的待检测溶液, 滴在试剂卡槽上壳体第一孔洞处, 对比检测线和对照线的颜色, 即可判定百合植株是否感染了 LMoV。

[0015] 1、检测快速 : 检测时间只需 5 ~ 10 分钟, 可以满足现场检测的需要。

[0016] 2、检测准确率高、特异性强 : 本反应与其他百合主要病毒没有交叉反应, 检测灵敏度高。

[0017] 3、携带方便, 操作简便 : 本发明不需要借助其他仪器设备, 适合广大基层单位开展百合病毒的检测和防控工作, 也适合百合生产的企业、公司以及百合种植的农户使用。

附图说明

[0018] 图 1 为本发明百合斑驳病毒胶体金免疫层析检测试剂卡平面结构示意图

[0019] 图 2 为本发明百合斑驳病毒胶体金免疫层析检测试剂卡内部结构示意图

具体实施方式

[0020] 如图 1 和图 2 所示的 LMoV 胶体金免疫层析检测试剂卡, 包括试剂卡槽 1, 衬板 10, 样品垫 6, 胶体金结合垫 7, 硝酸纤维素膜 8, 吸水滤纸 9, 其中试剂卡槽 1 包括上壳体和下壳体, 上壳体和下壳体通过卡扣连接, 上壳体设有第一孔洞 2 和第二孔洞 3, 样品垫 6 置于第一孔洞 2 下方, 硝酸纤维素膜 8 置于第二孔洞 3 下方, 胶体金结合垫 7 上含有金标探针, 衬板 10 固定于试剂卡槽 1 中, 样品垫 6、胶体金结合垫 7、硝酸纤维素膜 8 和吸水滤纸 9 依次排列连接于衬板 10 上表面, 硝酸纤维素膜 8 上设有检测线 4 和对照线 5, 检测线 4 上包被的是兔抗 LMoV 多克隆抗体, 对照线 5 上包被的是羊抗兔 IgG 纯化抗体, 兔抗 LMoV 多克隆抗体合适包被量为 1.5 ~ 2.0 μ g 蛋白, 金标探针合适抗体标记量为 18 μ g/mL, 羊抗兔 IgG 纯化抗体合适包被量为 2.0 ~ 2.5 μ g 蛋白。

[0021] 其中, 样品垫和胶体金结合垫材质均为玻璃纤维素膜, 衬板为聚氯乙烯材质做成, 起支持作用。

[0022] 本发明试剂卡的制备方法 :

[0023] 1、本发明中兔抗 LMoV 多克隆抗体的制备方法

[0024] 从感染了 LMoV 的百合叶片中提取总 RNA 进行逆转录聚合酶链式反应 (RT-PCR), 扩增 LMoV 的 CP 基因片段。通过酶切克隆至 pET-28a 载体。重组质粒转化入大肠杆菌 BL21, 37°C 培养, IPTG 诱导表达, 镍柱亲和层析纯化获得大小 30.0kDa 的 LMoV CP 基因工程融合蛋白。用 1mg/mL 的 LMoV CP 基因工程融合蛋白作为免疫原免疫新西兰大白兔。初次免疫中, 将蛋白抗原与弗氏完全佐剂等体积充分混匀, 进行皮下多点注射。两周后进行加强免疫, 将蛋白抗原与弗氏不完全佐剂等体积充分混匀, 进行皮下多点注射。以后每两周加强免疫一次, 在第 4 次加强免疫后的 5~7 天颈动脉采血, 静置, 离心, 收集到的血清加入质量百分比浓度 0.02% 的叠氮钠, -20°C 保存。所得抗血清依次通过 20%、50%、33% 三个饱和度的硫酸铵沉淀粗提后, 透析至 pH7.8 的磷酸缓冲液, 然后使用 DE52 阴离子交换柱进行纯化而获得兔抗 LMoV 多克隆抗体 IgG。

[0025] 2、胶体金标记兔抗 LMoV 多克隆抗体的方法

[0026] 分别取半径为 30nm 的胶体金 10mL 及兔抗 LMoV 多克隆抗体 180 μg, 在 pH7.4 的条件下通过磁力搅拌震荡使其结合, 加牛血清白蛋白 (BSA) 作为稳定剂, 使得终浓度为 1%, 采用高速离心法除去未结合的多克隆抗体和未稳定的胶体金颗粒及去凝聚物, 在离心管底部的深红色沉淀即为胶体金-抗体结合物。

[0027] 3、胶体金结合垫的制备

[0028] 用 1/10 标记前胶体金溶液体积的重悬液悬浮胶体金-抗体结合物, 离心, 上清液用喷涂设备涂于玻璃纤维素膜上, 37°C 烘干, 制成胶体金结合垫。

[0029] 4、免疫层析膜的包被

[0030] 检测线包被的是兔抗 LMoV 多克隆抗体, 对照线包被的是羊抗兔 IgG 纯化抗体, 每条线宽 2mm, 兔抗 LMoV 多克隆抗体合适包被量为 1.5~2.0 μg 蛋白, 羊抗兔 IgG 纯化抗体合适包被量为 2.0~2.5 μg 蛋白。

[0031] 5、胶体金试剂卡的组装

[0032] 聚氯乙烯衬板作为支撑载体固定于试剂卡槽下壳体中, 然后样品垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水滤纸依次排列连接于聚氯乙烯衬板上表面, 再将试剂卡槽上壳体与下壳体通过卡扣连接。

[0033] 6、胶体金试剂卡的使用及结果判定

[0034] 吸取少量百合样品的待检测溶液, 滴在试剂卡槽上壳体第一孔洞 2 处, 由于毛细效应液体往前移动, 若待测液中含有 LMoV, 检测样品经过胶体金结合垫时, LMoV 与金标垫上的金标多克隆抗体形成复合物, 然后继续向所述检测线方向层析泳动, 当接触到检测线时发生抗原抗体结合反应而被截留下来, 形成可见的棕红色条带; 未结合的复合物继续向对照线方向渗移, 当接触到对照线时与固定在对照线上的羊抗兔 IgG 纯化抗体结合而被截留下来, 形成可见的棕红色条带。即当检测线和对照线上均出现棕红色的条带时, 则判定被检样品感染了百合斑驳病毒。

[0035] 若待测液中不含 LMoV, 检测样品经过胶体金结合垫时, 则不能与金标垫上的金标多克隆抗体结合, 当接触到所述检测线时不发生反应, 金标多克隆抗体继续向对照线方向渗移, 当接触到对照线时与固定在对照线上的羊抗兔 IgG 纯化抗体结合而被截留下来, 形成可见的棕红色条带。即当检测线没有颜色变化而仅对照线出现棕红色的条带时, 则判定

被检样品没有感染百合斑驳病毒。

[0036] 上述实施例可以看出,本发明可直接对 LMoV 进行检测,一般人员不需专门培训即可操作,5 ~ 10 分钟就可出结果,从而达到快速、简便、及时检测该病毒的目的。

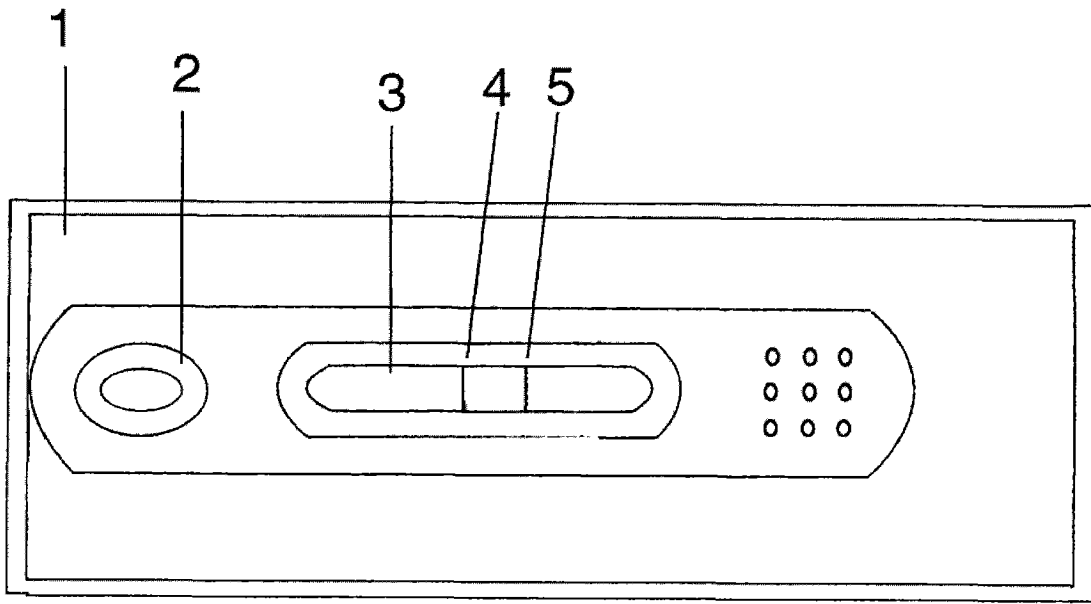


图 1

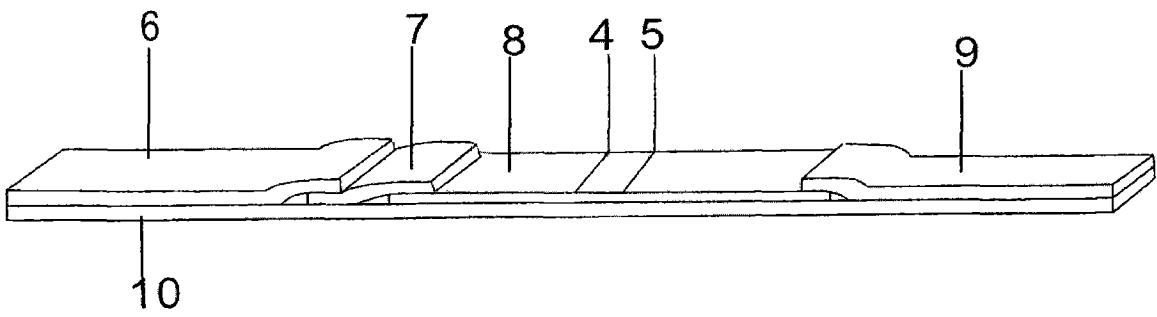


图 2

专利名称(译)	一种百合斑驳病毒胶体金免疫层析检测试剂卡及制备方法		
公开(公告)号	CN104122389B	公开(公告)日	2015-03-11
申请号	CN201410151332.X	申请日	2014-04-14
[标]申请(专利权)人(译)	中国科学院寒区旱区环境与工程研究所		
申请(专利权)人(译)	中国科学院寒区旱区环境与工程研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国科学院寒区旱区环境与工程研究所		
[标]发明人	张玉宝 王亚军 郭志鸿 谢忠奎 王若愚 何玉惠		
发明人	张玉宝 王亚军 郭志鸿 谢忠奎 王若愚 何玉惠		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/56983 G01N2333/08		
其他公开文献	CN104122389A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种百合斑驳病毒胶体金免疫层析检测试剂卡及制备方法，该试剂卡包括试剂卡槽、衬板、样品垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水滤纸，其中胶体金结合垫上含有金标探针，衬板固定于试剂卡槽中，样品垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水滤纸依次排列连接于衬板上表面，硝酸纤维素膜上设有检测线和对照线，检测线和对照线上分别包被的是兔抗LMoV多克隆抗体和羊抗兔IgG纯化抗体；该百合斑驳病毒胶体金免疫层析检测试剂卡的制备方法主要是将兔抗LMoV多克隆抗体包被于免疫层析膜上，同时用其制成胶体金结合垫；该试剂卡检测快速、准确率高、特异性强、操作简便，无需特殊的设备和仪器。

