

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/53

G01N 33/543 G01N 33/558

G01N 33/531



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03116691.1

[43] 公开日 2003 年 10 月 1 日

[11] 公开号 CN 1445547A

[22] 申请日 2003.4.29 [21] 申请号 03116691.1

[71] 申请人 上海交通大学

地址 200030 上海市华山路 1954 号

[72] 发明人 周培 陆贻通 李斌 周军

[74] 专利代理机构 上海交达专利事务所

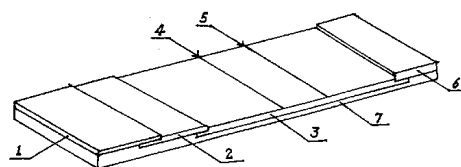
代理人 王锡麟

权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 1 页

[54] 发明名称 克百威速测金标免疫试纸条

[57] 摘要

一种克百威速测金标免疫试纸条。属于农药残留的免疫化学速测技术领域。本发明包括：样品垫、固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜、硝酸纤维膜、克百威-OVA 结合物测试线、羊抗鼠 IgG 质控线、吸水玻璃纤维膜、塑料底板，其连接方式为：塑料底板的两端分别设置样品垫和吸水玻璃纤维膜，中间设置硝酸纤维膜，硝酸纤维膜上靠近样品垫一端喷涂克百威-OVA 结合物测试线，靠近吸水玻璃纤维膜一端喷涂羊抗鼠 IgG 质控线，连接样品垫和硝酸纤维膜之间喷涂有胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜。本发明具有实质性特点和显著进步，检测速度快，具有双重保险，携带方便、操作简便。灵敏度高、特异性强，制备工艺简单，成本低。



ISSN 1008-4274

1、一种克百威速测金标免疫试纸条，包括：样品垫（1）、硝酸纤维膜（3）、吸水玻璃纤维膜（6）、塑料底板（7），其特征在于，还包括：固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜（2）、克百威-OVA 结合物测试线（4）、羊抗鼠 IgG 质控线（5），其连接方式为：塑料底板（7）的两端分别设置样品垫（1）和吸水玻璃纤维膜（6），中间设置硝酸纤维膜（3），硝酸纤维膜（3）上靠近样品垫（1）一端喷涂克百威-OVA 结合物测试线（4），靠近吸水玻璃纤维膜（6）一端喷涂羊抗鼠 IgG 质控线（5），连接样品垫（1）和硝酸纤维膜（3）之间喷涂有胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜（2）。

2、根据权利要求 1 所述的克百威速测金标免疫试纸条，其特征是将硝酸纤维膜（3）、固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜（2）、样品垫（1）自下至上依次粘贴于塑料底板（7）上。

3、根据权利要求 1 所述的克百威速测金标免疫试纸条，其特征是硝酸纤维膜（3）与固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜（2）交叉重叠。

4、根据权利要求 1 所述的克百威速测金标免疫试纸条，其特征是样品垫（1）与固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜（2）交叉重叠。

5、根据权利要求 1 所述的克百威速测金标免疫试纸条，其特征是将吸水玻璃纤维膜（6）粘贴于塑料底板（7），并与硝酸纤维膜（3）交叉重叠。

克百威速测金标免疫试纸条

技术领域

本发明涉及一种利用胶体金标记显色的免疫层析法快速检测蔬菜瓜果等农产品中的农药残留试纸条，尤其是一种克百威速测金标免疫试纸条。属于农药残留的免疫化学速测技术领域。

背景技术

近年来，由于使用受到有机磷和氨基甲酸酯类农药污染的蔬菜，而造成急性中毒的事件屡有发生，农产品安全问题已日益受到人们重视。各种农药速测技术及其产品在中国、韩国、泰国等国家和地区已得到大力推广，但其中仍有一些明显的缺陷与不足：目前用于有机磷和氨基甲酸酯类农药残留检测的酶抑制纸片产品，只能对果蔬的农药残留作粗略的定性鉴别，不能定量分析，方法重现性差，假阳性、假阴性事件层出不穷；此外酶抑制纸片还受到温度与湿度的局限，容易失效，导致“错案”时有发生，造成菜农受损失，市民不放心，也给相关的主管部门增添了麻烦。而 ELISA 试剂盒虽然在准确度和重现性上作了改进，其使用过程中的反复洗涤，使操作显得繁杂，不能实现真正意义上的一步法现场速测。

经对现有技术的文献检索发现：中国专利申请号为：02139704.x，名称为：“半定量快速检测盐酸克伦特罗的试纸条及生产和使用方法”，该项专利申请的技术方案是这样描述的：本检测试纸条由底板、玻璃纤维纸、免疫层析复合膜即硝酸纤维或醋酸纤维膜、胶体金标记得盐酸克伦特罗-载体蛋白偶合物、盐酸克伦特罗克隆抗体及吸水纸组成。该项专利申请又称：它是一种借助胶体金标记显色的免疫层析反映，用以快速检测动物各种组织、尿液、体液及饲料中的盐酸克伦特罗的残留物的检测试纸。该项专利申请没有描述该“检测试纸条”的具体的结构特征，使得该专利申请的技术不清楚，同时该专利申请的“检测试纸条”不能用于对克百威农药残留进行速测。

发明内容

本发明的目的在于克服现有技术中的不足，提供一种克百威速测金标免疫试纸条。使其成为一种便于现场操作，快速准确，特异性强，灵敏度高的克百威农药残留

速测试纸条。本发明是通过以下技术方案实现的，本发明包括：样品垫、固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜、硝酸纤维膜、克百威-OVA 结合物测试线、羊抗鼠 IgG 质控线、吸水玻璃纤维膜、塑料底板，其连接方式为：塑料底板的两端分别设置样品垫和吸水玻璃纤维膜，中间设置硝酸纤维膜，硝酸纤维膜上靠近样品垫一端喷涂克百威-OVA 结合物测试线，靠近吸水玻璃纤维膜一端喷涂羊抗鼠 IgG 质控线，连接样品垫和硝酸纤维膜之间喷涂有胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜。

先用 Airjet 定量喷头在玻璃纤维膜上喷涂胶体金标记克百威单抗。再用 Biojet 微量喷头在硝酸纤维膜上喷涂两条平行线。靠近样品垫一端的线上喷涂克百威-OVA 结合物，作为测试线；靠近吸水玻璃纤维膜一端的线上喷涂羊抗鼠 IgG，作为质控线。将硝酸纤维膜放入 1%牛血清白蛋白（BSA）中包被 30 分钟，然后用磷酸盐缓冲液（PBS）洗涤 3 次，37℃干燥 3 小时。

最后将硝酸纤维膜、固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜、样品垫自下至上依次粘贴于塑料底板上。硝酸纤维膜与固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜交叉重叠。样品垫与固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜交叉重叠。将吸水玻璃纤维膜粘贴于塑料底板，并与硝酸纤维膜交叉重叠。

本发明的原理是：待测样品根据层析原理，经试纸条 S 端，向另一端移动，先后依次经过喷有胶体金标记克百威单克隆抗体的玻璃纤维膜和喷有克百威-OVA 结合物测试线及羊抗鼠 IgG 控制线的硝酸纤维膜。若待测样品中克百威含量超标，则样品中的克百威农药就会和硝酸纤维膜测试线上的克百威-OVA 结合物一起竞争性地与玻璃纤维膜上的金标克百威单克隆抗体结合。由于金标克百威单抗受到了样品中克百威农药的抑制，无法与测试线上的克百威-OVA 结合物反应，从而无法使金颗粒凝集显色；若样品中克百威含量不超标，则金标克百威单抗不受竞争性抑制而与测试线上的克百威-OVA 结合物反应后，使得金颗粒凝集显色。硝酸纤维膜上的羊抗鼠 IgG 控制线是为检验金标免疫层析方法本身是否有效而设定的。控制线显色，则说明试纸条的检测结果有效；反之，则失效。

本发明具有实质性特点和显著进步，与市场上现用的速测试纸条相比，本发明具有以下显著优点：检测速度快：完成一次检测只需 10 分钟，能满足现场速测的需求；双重保险：除了试纸条能检测农药残留外，同时羊抗鼠 IgG 控制线可检测速测试纸条本身是否失效，避免了假阳性和假阴性现象的发生；携带方便、操作简便：无需专

业人员操作。在菜场、超市、食堂、家庭等各场所，普通用户借助使用说明即能完成现场速测；灵敏度高、特异性强，制备工艺简单，成本低。

附图说明

图 1 本发明结构示意图

具体实施方式

如图 1 所示，本发明包括：样品垫 1、固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜 2、硝酸纤维膜 3、克百威-OVA 结合物测试线 4、羊抗鼠 IgG 质控线 5、吸水玻璃纤维膜 6、塑料底板 7，其连接方式为：塑料底板 7 的两端分别设置样品垫 1 和吸水玻璃纤维膜 6，中间设置硝酸纤维膜 3，硝酸纤维膜 3 上靠近样品垫 1 一端喷涂克百威-OVA 结合物测试线 4，靠近吸水玻璃纤维膜 6 一端喷涂羊抗鼠 IgG 质控线 5，连接样品垫 1 和硝酸纤维膜 3 之间喷涂有胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜 2。

将硝酸纤维膜 3、固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜 2、样品垫 1 自下至上依次粘贴于塑料底板 7 (5×60mm) 上。硝酸纤维膜 3 与固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜 2 交叉重叠 2mm。样品垫 1 与固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜 2 交叉重叠 4mm。将吸水玻璃纤维膜 6 粘贴于塑料底板 7，并与硝酸纤维膜 3 交叉重叠 2mm。

以下提供应用实例：

应用实例一：

将 3 条试纸条 S 端分别插入 5mg/L、0.5 mg/L 和 0.05 mg/L 的克百威农药标准样品中，停留 5 秒后取出平放，或用滴管在样品垫上滴加 3-4 滴液体样品，10 分钟后观察试纸条颜色变化。结果测试克百威浓度为 5mg/L 和 0.5 mg/L 的试纸条上测试线不显色，控制线上出现紫红色条带，表示阳性；而测试克百威浓度为 0.05 mg/L 的试纸条的测试线和控制线上均出现紫红色条带，表示阴性。

应用实例二：

将采集大棚中施有过量克百威农药的生菜叶片，剪成 1cm² 的碎片，放入提取缓冲液中震荡 5 分钟。把试纸条样品垫浸入缓冲液中达 5 秒钟后取出平放，10 分钟后观察结果，只有控制线呈紫红色条带，测试线不显色，表示测试结果为阳性。

应用实例三：

采集蔬菜种植基地的土壤样品，放入提取缓冲液中，剧烈震荡 5 分钟，测定方法

如实施例二，若试纸条上出现二条紫红色条带，则结果为阴性；若只有控制线上出现紫红色条带，则结果为阳性。

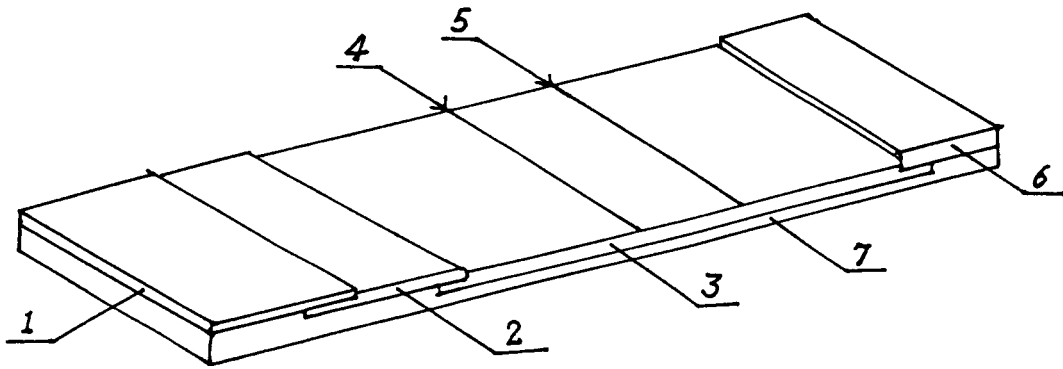


图 1

| | | | |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 克百威速测金标免疫试纸条 | | |
| 公开(公告)号 | CN1445547A | 公开(公告)日 | 2003-10-01 |
| 申请号 | CN03116691.1 | 申请日 | 2003-04-29 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 上海交通大学 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 上海交通大学 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 上海交通大学 | | |
| [标]发明人 | 周培 陆贻通 李斌 周军 | | |
| 发明人 | 周培 陆贻通 李斌 周军 | | |
| IPC分类号 | G01N33/53 G01N33/531 G01N33/543 G01N33/558 | | |
| 代理人(译) | 王锡麟 | | |
| 其他公开文献 | CN1189748C | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

一种克百威速测金标免疫试纸条。属于农药残留的免疫化学速测技术领域。本发明包括：样品垫、固载胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜、硝酸纤维膜、克百威 - OVA结合物测试线、羊抗鼠IgG质控线、吸水玻璃纤维膜、塑料底板，其连接方式为：塑料底板的两端分别设置样品垫和吸水玻璃纤维膜，中间设置硝酸纤维膜，硝酸纤维膜上靠近样品垫一端喷涂克百威 - OVA结合物测试线，靠近吸水玻璃纤维膜一端喷涂羊抗鼠IgG质控线，连接样品垫和硝酸纤维膜之间喷涂有胶体金标记克百威单抗的玻璃纤维膜。本发明具有实质性特点和显著进步，检测速度快，具有双重保险，携带方便、操作简便。灵敏度高、特异性强，制备工艺简单，成本低。

