



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105353118 A

(43) 申请公布日 2016. 02. 24

(21) 申请号 201510767286. 0

(22) 申请日 2015. 11. 12

(71) 申请人 浙江理工大学

地址 310018 浙江省杭州市下沙高教园区 2
号路

(72) 发明人 刘杨 王秉 游秋实

(74) 专利代理机构 杭州斯可睿专利事务有限
公司 33241

代理人 周豪靖

(51) Int. Cl.

G01N 33/535(2006. 01)

权利要求书2页 说明书5页

(54) 发明名称

一种古代羊毛织品中角蛋白的检测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种古代羊毛织品中角蛋白的检测方法,利用间接酶联免疫的方法来检测古代羊毛织品中角蛋白成分,即将羊毛织品文物洗脱液包被到酶标板上,然后添加兔抗角蛋白抗体和抗原形成抗原抗体复合物。洗涤后加入碱性磷酸酯酶标山羊抗兔 IgG (H+L) 抗体,形成抗体-抗原-抗体复合物,洗涤加入 TMB 显色液,底物被酶催化为有色产物,根据产物颜色变化深浅进行定性分析。本发明的有益效果是:1、本发明提取角蛋白中采用阴离子表面活性剂 SDBS 成本低,临界胶束浓度低,用量少。2、本发明采用间接酶联免疫的方法对羊毛织品中的角蛋白成分进行检测,一方面灵敏度高、操作简单。另一方面,避免了其它蛋白的干扰,特异性强。

1. 一种古代羊毛织品中角蛋白的检测方法,其特征在于利用间接酶联免疫的方法来检测古代羊毛织品中角蛋白成分,即将羊毛织品文物洗脱液包被到酶标板上,然后添加兔抗角蛋白抗体和抗原形成抗原抗体复合物;洗涤后加入碱性磷酸酯酶标山羊抗兔 IgG (H+L) 抗体,形成抗体-抗原-抗体复合物,洗涤加入 TMB 显色液,底物被酶催化为有色产物,根据产物颜色变化深浅进行定性分析。

2. 根据权利要求 1 所述的古代羊毛织品中角蛋白的检测方法,其特征在于它包括如下步骤:

1) 羊毛角蛋白的提取:

称取 6% 的过硫酸氢钾(OXONE),加水溶解,用饱和氢氧化钠溶液调节溶液 pH3.5-5;以 1:50 的浴比取羊毛纤维试样放入溶液中,30℃下水浴锅震荡 60min;取出羊毛纤维试样后蒸馏水水洗过滤 3-5 次,至水洗液 pH 值为 7;洗净的羊毛纤维试样加入到 5% wt 的亚硫酸氢钠、6M 尿素、1% wt 的十二烷基苯磺酸钠的混合溶液中,在 100℃下反应 4h,后过滤,得到清澈的角蛋白溶液,溶液装入透析袋中,截留分子量 14000,去离子水透析 4-5 天,直至透析袋中的溶液透明澄清,得到纯净角蛋白溶液,冷冻干燥后获得絮状角蛋白粉末;

2) 溶液配制:

PBS7.4 缓冲液配制:KCl 0.2 g, KH₂PO₄ 0.27 g, NaCl 8.0 g, Na₂HPO₄ · 12H₂O 3.58 g, 用蒸馏水定容至 1000 mL;

PBS9.6 缓冲溶液配制:Na₂CO₃ 1.5 g, NaHCO₃ 2.9 g, 用蒸馏水定容至 1000 ml;

封闭液(含质量分数 1% BSA)配制:BSA 0.1 g, 加 PBS7.4 缓冲液定容至 10 mL;

底物显色液配制:TMB 底物溶液与底物缓冲液以 1:1 体积混合;

终止液(2 mol/L H₂SO₄)配制:蒸馏水 178.90 mL, 逐滴加入 98% 硫酸 21.70 mL;

3) 将 0.001g-0.01g 角蛋白粉和 0.01g-0.1g 文物样分别溶解于 100-1000ml PH 为 9.6 的 PBS 缓冲溶液中,混合搅拌均匀,静置,分别取 50-120 μl 上清液加入到酶标板中,形成阳性对照和实验对照;取 50-120 μl PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液作为空白对照用;阴性对照为不加兔抗角蛋白一抗,其包被液和阳性对照设为一样;然后将各阴性对照,阳性对照,实验对照各放置于 4℃冰箱中过夜;

4) 各孔中加入封闭液 100-300 μl;37℃下封闭 1-2h 然后将溶液吸出,用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 3 次,每次 3min;

5) 取用封闭液稀释 1000-12000 倍的兔抗角蛋白抗体 50-120 μl 加入到酶标板中,保鲜膜封板,37℃下孵育 1h;然后将溶液吸出,用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 3 次,每次 3min;

6) 各孔中加入 3000-10000 倍稀释的磷酸酯酶山羊抗兔 IgG (H+L) 抗体 50-120 μl;37℃下孵育 1h;然后将溶液吸出,用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 5 次,每次 3min;

7) 各孔内加底物显色液 100 μl,置黑暗处使其反应 10min;

8) 各孔内加终止液 50-120 μl,终止反应;

9) 将酶标板置于酶标仪中,读取 λ=450nm 处的吸光度数值;比较阳性对照,阴性对照与实验对照测得的 OD 值;

若 OD 实验对照 /OD 阴性对照 > 2.1,则证明所检测的样品呈现阳性,说明实验对照

中存在角蛋白；

若 $OD_{\text{实验对照}} / OD_{\text{阴性对照}} \leq 2.1$, 则证明所测得的样品呈现阴性, 说明实验对照中不存在角蛋白。

一种古代羊毛织品中角蛋白的检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种羊毛织品中角蛋白的检测方法,主要用于古代羊毛织品的检测。

背景技术

[0002] 古代在北方地区毛织品广泛应用于服饰和毛毯,而羊毛织物占绝大多数。出土的大量毛织物其精美程度不亚于出土的丝绸文物,这不仅是古代纺织技术演变的重要实物证据,也对研究古代社会环境和人文活动具有重要参考价值。而现有技术中缺乏对古代丝织品中羊毛角蛋白鉴定的深入研究。

[0003] 羊毛角蛋白是一种硬化,不易溶解的蛋白质,其中既有含羧基等在内的酸性基,也有含胺基,亚胺基等在内的碱性基,所以在酸、碱、盐、氧化剂、还原剂、卤素等中羊毛都具有一定的不稳定性。在丝织品文物鉴定中,这对羊毛制品的鉴别造成了一定困难。而 Elisa 法鉴定羊毛丝织品快捷,方便,能高效准确鉴别出羊毛织品,从而为古代羊毛织品发展研究提供依据。

发明内容

[0004] 本发明目的是要克服上述现有技术中存在的不足,而提供一种利用间接酶联免疫的方法来检测古代羊毛织品中羊毛角蛋白的成分,即将羊毛织品文物洗脱液包被到酶标板上,然后添加兔抗角蛋白抗体和抗原形成抗原抗体复合物,洗涤后加入碱性磷酸酯酶标山羊抗兔 IgG (H+L) 抗体,形成抗体-抗原-抗体复合物,然后洗涤加入 TMB 显色液,底物被酶催化为有色产物,根据产物颜色变化深浅进行定性分析。

[0005] 为实现上述目的,本发明采用如下技术方案:

一种古代羊毛织品中角蛋白的检测方法,它包括如下步骤:

1) 羊毛角蛋白的提取:

称取 6% 的过硫酸氢钾(OXONE),加水溶解,用饱和氢氧化钠溶液调节溶液 pH3.5-5;以 1:50 的浴比取羊毛纤维试样放入溶液中,30℃下水浴锅震荡 60min;取出羊毛纤维试样后蒸馏水水洗过滤 3-5 次,至水洗液 pH 值为 7;洗净的羊毛纤维试样加入到 5% wt 的亚硫酸氢钠、6M 尿素、1% wt 的十二烷基苯磺酸钠的混合溶液中,在 100℃下反应 4h,后过滤,得到清澈的角蛋白溶液,溶液装入透析袋中,截留分子量 14000,去离子水透析 4-5 天,直至透析袋中的溶液透明澄清,得到纯净角蛋白溶液,冷冻干燥后获得絮状角蛋白粉末;

2) 溶液配制:

PBS7.4 缓冲液配制:KCl 0.2 g, KH₂PO₄ 0.27 g, NaCl 8.0 g, Na₂HPO₄ · 12H₂O 3.58 g, 用蒸馏水定容至 1000 mL;

PBS9.6 缓冲溶液配制:Na₂CO₃ 1.5 g, NaHCO₃ 2.9 g, 用蒸馏水定容至 1000 ml;

封闭液(含质量分数 1% BSA)配制:BSA 0.1 g, 加 PBS7.4 缓冲液定容至 10 mL;

底物显色液配制:TMB 底物溶液与底物缓冲液以 1:1 体积混合;

终止液(2 mol/L H₂SO₄)配制:蒸馏水 178.90 mL, 逐滴加入 98% 硫酸 21.70 mL;

3)将 0.001g-0.01g 角蛋白粉和 0.01g-0.1g 文物样分别溶解于 100-1000ml PH 为 9.6 的 PBS 缓冲溶液中,混合搅拌均匀,静置,分别取 50-120 μ l 上清液加入到酶标板中,形成阳性对照和实验对照;取 50-120 μ l PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液作为空白对照用;阴性对照为不加兔抗角蛋白一抗,其包被液和阳性对照设为一样;然后将各阴性对照,阳性对照,实验对照各放置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中过夜;

4)各孔中加入封闭液 100-300 μ l ;37 $^{\circ}$ C 下封闭 1-2h 然后将溶液吸出,用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 3 次,每次 3min ;

5)取用封闭液稀释 1000-12000 倍的兔抗角蛋白抗体 50-120 μ l 加入到酶标板中,保鲜膜封板,37 $^{\circ}$ C 下孵育 1h ;然后将溶液吸出,用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 3 次,每次 3min ;

6)各孔中加入 3000 倍稀释的磷酸酯酶山羊抗兔 IgG (H+L)抗体 50-120 μ l ; 37 $^{\circ}$ C 下孵育 1h ;然后将溶液吸出,用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 5 次,每次 3min ;

7)各孔内加底物显色液 100 μ l ,置黑暗处使其反应 10min ;

8)各孔内加 终止液 50-120 μ l ,终止反应 ;

9)将酶标板置于酶标仪中,读取 λ =450nm 处的吸光度数值 ;比较阳性对照,阴性对照与实验对照测得的 OD 值 ;

若 OD 实验对照 /OD 阴性对照 > 2.1,则证明所检测的样品呈现阳性,说明实验对照中存在角蛋白 ;

若 OD 实验对照 /OD 阴性对照 \leq 2.1,则证明所测得的样品呈现阴性,说明实验对照中不存在角蛋白。

[0006] 本发明的有益效果是 :1、本发明提取角蛋白中采用阴离子表面活性剂 SDBS 成本低,临界胶束浓度低,用量少。2、本发明采用间接酶联免疫的方法对羊毛织品中的角蛋白成分进行检测,一方面灵敏度高、操作简单。另一方面,避免了其它蛋白的干扰,特异性强。

具体实施方式

[0007] 下面对本发明的实施例作进一步的说明。以下实施例仅对本申请进行进一步说明,不应理解为对本申请的限制。

[0008] 实施例 1

一种羊毛织品中角蛋白的检测方法,具体实施步骤如下 :

1. 羊毛角蛋白的提取 :称取 6% 的过硫酸氢钾 (OXONE),加水溶解,用饱和氢氧化钠溶液调节溶液 pH3.5。以 1:50 的浴比取羊毛纤维试样放入溶液中,30 $^{\circ}$ C 下水浴锅震荡 60min。取出羊毛纤维试样后蒸馏水水洗过滤 3 次,至水洗液 pH 值为 7。洗净的羊毛纤维试样加入到亚硫酸氢钠 (5% wt)、尿素 (6M)、十二烷基苯磺酸钠 (SDBS) (1% wt) 的混合溶液中,在 100 $^{\circ}$ C 下反应 4h,后过滤,得到清澈的角蛋白溶液,溶液装入透析袋中 (截留分子量 14000),去离子水透析 4-5 天,直至透析袋中的溶液透明澄清,得到纯净角蛋白溶液,冷冻干燥后获得絮状角蛋白粉末。

[0009] 2. 溶液配制 :

PBS7.4 缓冲液配制 :KCl 0.2 g, KH₂PO₄ 0.27 g, NaCl 8.0 g, Na₂HPO₄ · 12H₂O 3.58 g, 用蒸馏水定容至 1000 mL。

[0010] PBS9.6 缓冲溶液配制 : Na_2CO_3 1.5 g, NaHCO_3 2.9 g, 用蒸馏水定容至 1000 ml。

[0011] 封闭液(含质量分数 1% BSA) 配制 :BSA 0.1 g, 加 PBS7.4 缓冲液定容至 10 mL。

[0012] 底物显色液配制 :TMB 底物溶液与底物缓冲液以 1 :1 体积混合。

[0013] 终止液($2 \text{ mol/L H}_2\text{SO}_4$) 配制 :蒸馏水 178.90 mL, 逐滴加入 98% 硫酸 21.70 mL。

[0014] 3. 将 0.001g 角蛋白粉和 0.01g 文物样分别溶解于 100ml PH 为 9.6 的 PBS 缓冲溶液中, 混合搅拌均匀, 静置, 分别取 $50 \mu\text{l}$ 上清液加入到酶标板中, 形成阳性对照和实验对照。取 $50 \mu\text{l}$ PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液作为空白对照用。阴性对照为不加兔抗角蛋白一抗, 其包被液和阳性对照设为一样; 然后将各阴性对照, 阳性对照, 实验对照各放置于 4°C 冰箱中过夜。

[0015] 4. 各孔中加入封闭液 $100 \mu\text{l}$; 37°C 下封闭 1h 然后将溶液吸出, 用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 3 次, 每次 3min。

[0016] 5. 取用封闭液稀释 1000-12000 倍的兔抗角蛋白抗体 $50 \mu\text{l}$ 加入到酶标板中, 保鲜膜封板, 37°C 下孵育 1h; 然后将溶液吸出, 用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 3 次, 每次 3min。

[0017] 6. 各孔中加入 6000 倍稀释的磷酸酯酶山羊抗兔 IgG (H+L) 抗体 $50 \mu\text{l}$; 37°C 下孵育 1h; 然后将溶液吸出, 用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 5 次, 每次 3min。

[0018] 7. 各孔内加底物显色液 $100 \mu\text{l}$, 置黑暗处使其反应 10min;

8. 各孔内加 终止液 $50 \mu\text{l}$, 终止反应;

9. 将酶标板置于酶标仪中, 读取 $\lambda=450\text{nm}$ 处的吸光度数值; 比较阳性对照, 阴性对照与实验对照测得的 OD 值;

若 $\text{OD 实验对照} / \text{OD 阴性对照} > 2.1$, 则证明所检测的样品呈现阳性, 说明实验对照中存在角蛋白;

若 $\text{OD 实验对照} / \text{OD 阴性对照} \leq 2.1$, 则证明所测得的样品呈现阴性, 说明实验对照中不存在角蛋白。

[0019] 实施例 2

一种羊毛织品中角蛋白的检测方法, 具体实施步骤如下:

1. 羊毛角蛋白的提取 :称取 6% 的过硫酸氢钾 (OXONE), 加水溶解, 用饱和氢氧化钠溶液调节溶液 pH4。以 1:50 的浴比取羊毛纤维试样放入溶液中, 30°C 下水浴锅震荡 60min。取出羊毛纤维试样后蒸馏水水洗过滤 4 次, 至水洗液 pH 值为 7。洗净的羊毛纤维试样加入到亚硫酸氢钠 (5% wt)、尿素 (6M)、十二烷基苯磺酸钠 (SDBS) (1% wt) 的混合溶液中, 在 100°C 下反应 4h, 后过滤, 得到清澈的角蛋白溶液, 溶液装入透析袋中 (截留分子量 14000), 去离子水透析 4-5 天, 直至透析袋中的溶液透明澄清, 得到纯净角蛋白溶液, 冷冻干燥后获得絮状角蛋白粉末。

[0020] 2. 溶液配制 :PBS7.4 缓冲液配制 :KCl 0.2 g, KH_2PO_4 0.27 g, NaCl 8.0 g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 3.58 g, 用蒸馏水定容至 1000 mL。PBS9.6 缓冲溶液配制 : Na_2CO_3 1.5 g, NaHCO_3 2.9 g, 用蒸馏水定容至 1000 ml。封闭液(含质量分数 1% BSA) 配制 :BSA 0.1 g, 加 PBS7.4 缓冲液定容至 10 mL。底物显色液配制 :TMB 底物溶液与底物缓冲液以 1 :1 体积混合。终止液($2 \text{ mol/L H}_2\text{SO}_4$) 配制 :蒸馏水 178.90 mL, 逐滴加入 98% 硫酸 21.70 mL。

[0021] 3. 将 0.005g 角蛋白粉和 0.05g 文物样分别溶解于 500ml PH 为 9.6 的 PBS 缓

冲溶液中，混合搅拌均匀，静置，分别取 80 μ l 上清液加入到酶标板中，形成阳性对照和实验对照。取 80 μ l PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液作为空白对照用。阴性对照为不加兔抗角蛋白一抗，其包被液和阳性对照设为一样；然后将各阴性对照，阳性对照，实验对照各放置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中过夜。

[0022] 4. 各孔中加入封闭液 200 μ l；37 $^{\circ}$ C 下封闭 1.5h 然后将溶液吸出，用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 3 次，每次 3min。

[0023] 5. 取用封闭液稀释 1000-12000 倍的兔抗角蛋白抗体 80 μ l 加入到酶标板中，保鲜膜封板，37 $^{\circ}$ C 下孵育 1h；然后将溶液吸出，用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 3 次，每次 3min。

[0024] 6. 各孔中加入 3000-10000 倍稀释的磷酸酯酶山羊抗兔 IgG(H+L)抗体 80 μ l；37 $^{\circ}$ C 下孵育 1h；然后将溶液吸出，用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 5 次，每次 3min。

[0025] 7. 各孔内加底物显色液 100 μ l，置黑暗处使其反应 10min；

8. 各孔内加 终止液 80 μ l，终止反应；

9. 将酶标板置于酶标仪中，读取 $\lambda=450\text{nm}$ 处的吸光度数值；比较阳性对照，阴性对照与实验对照测得的 OD 值；

若 OD 实验对照 /OD 阴性对照 > 2.1，则证明所检测的样品呈现阳性，说明实验对照中存在角蛋白；

若 OD 实验对照 /OD 阴性对照 \leq 2.1，则证明所测得的样品呈现阴性，说明实验对照中不存在角蛋白。

[0026] 实施例 3

一种羊毛织品中角蛋白的检测方法，具体实施步骤如下：

1. 羊毛角蛋白的提取：称取 6% 的过硫酸氢钾(OXONE)，加水溶解，用饱和氢氧化钠溶液调节溶液 pH5。以 1:50 的浴比取羊毛纤维试样放入溶液中，30 $^{\circ}$ C 下水浴锅震荡 60min。取出羊毛纤维试样后蒸馏水水洗过滤 5 次，至水洗液 pH 值为 7。洗净的羊毛纤维试样加入到亚硫酸氢钠(5% wt)、尿素(6M)、十二烷基苯磺酸钠(SDBS)(1% wt)的混合溶液中，在 100 $^{\circ}$ C 下反应 4h，后过滤，得到清澈的角蛋白溶液，溶液装入透析袋中(截留分子量 14000)，去离子水透析 4-5 天，直至透析袋中的溶液透明澄清，得到纯净角蛋白溶液，冷冻干燥后获得絮状角蛋白粉末。

[0027] 2. 溶液配制：PBS7.4 缓冲液配制：KCl 0.2 g，KH₂PO₄ 0.27 g，NaCl 8.0 g，Na₂HPO₄·12H₂O 3.58 g，用蒸馏水定容至 1000 mL。PBS9.6 缓冲溶液配制：Na₂CO₃ 1.5 g，NaHCO₃ 2.9 g，用蒸馏水定容至 1000 mL。封闭液(含质量分数 1% BSA)配制：BSA 0.1 g，加 PBS7.4 缓冲液定容至 10 mL。底物显色液配制：TMB 底物溶液与底物缓冲液以 1:1 体积混合。终止液(2 mol/L H₂SO₄)配制：蒸馏水 178.90 mL，逐滴加入 98% 硫酸 21.70 mL。

[0028] 3. 将 0.01g 角蛋白粉和 0.1g 文物样分别溶解于 1000ml PH 为 9.6 的 PBS 缓冲溶液中，混合搅拌均匀，静置，分别取 120 μ l 上清液加入到酶标板中，形成阳性对照和实验对照。取 120 μ l PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液作为空白对照用。阴性对照为不加兔抗角蛋白一抗，其包被液和阳性对照设为一样；然后将各阴性对照，阳性对照，实验对照各放置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中过夜。

[0029] 4. 各孔中加入封闭液 300 μ l；37 $^{\circ}$ C 下封闭 2h 然后将溶液吸出，用 PH 为 7.4

的 PBS 缓冲溶液洗涤 3 次,每次 3min。

[0030] 5. 取用封闭液稀释 12000 倍的兔抗角蛋白抗体 120 μ l 加入到酶标板中,保鲜膜封板,37 $^{\circ}$ C 下孵育 1h ;然后将溶液吸出,用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 3 次,每次 3min。

[0031] 6. 各孔中加入 3000-10000 倍稀释的磷酸酯酶山羊抗兔 IgG(H+L)抗体 120 μ l ; 37 $^{\circ}$ C 下孵育 1h ;然后将溶液吸出,用 PH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液洗涤 5 次,每次 3min。

[0032] 7. 各孔内加底物显色液 100 μ l,置黑暗处使其反应 10min ;

8. 各孔内加 终止液 120 μ l,终止反应 ;

9. 将酶标板置于酶标仪中,读取 $\lambda=450\text{nm}$ 处的吸光度数值 ;比较阳性对照,阴性对照与实验对照测得的 OD 值 ;

若 $\text{OD 实验对照} / \text{OD 阴性对照} > 2.1$,则证明所检测的样品呈现阳性,说明实验对照中存在角蛋白 ;

若 $\text{OD 实验对照} / \text{OD 阴性对照} \leq 2.1$,则证明所测得的样品呈现阴性,说明实验对照中不存在角蛋白。

[0033] 最后应当说明的是 :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。

专利名称(译)	一种古代羊毛织品中角蛋白的检测方法		
公开(公告)号	CN105353118A	公开(公告)日	2016-02-24
申请号	CN201510767286.0	申请日	2015-11-12
[标]申请(专利权)人(译)	浙江理工大学		
申请(专利权)人(译)	浙江理工大学		
当前申请(专利权)人(译)	浙江理工大学		
[标]发明人	刘杨 王秉 游秋实		
发明人	刘杨 王秉 游秋实		
IPC分类号	G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/535		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种古代羊毛织品中角蛋白的检测方法，利用间接酶联免疫的方法来检测古代羊毛织品中角蛋白成分，即将羊毛织品文物洗脱液包被到酶标板上，然后添加兔抗角蛋白抗体和抗原形成抗原抗体复合物。洗涤后加入碱性磷酸酯酶标山羊抗兔IgG (H+L) 抗体，形成抗体-抗原-抗体复合物，洗涤加入TMB显色液，底物被酶催化为有色产物，根据产物颜色变化深浅进行定性分析。本发明的有益效果是：1、本发明提取角蛋白中采用阴离子表面活性剂SDBS成本低，临界胶束浓度低，用量少。2、本发明采用间接酶联免疫的方法对羊毛织品中的角蛋白成分进行检测，一方面灵敏度高、操作简单。另一方面，避免了其它蛋白的干扰，特异性强。