



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102472748 A

(43) 申请公布日 2012. 05. 23

(21) 申请号 201080024954. 6

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2010. 07. 29

G01N 33/543 (2006. 01)

(30) 优先权数据

G01N 33/532 (2006. 01)

2009-176812 2009. 07. 29 JP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 12. 06

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2010/004816 2010. 07. 29

(87) PCT申请的公布数据

W02011/013378 JA 2011. 02. 03

(71) 申请人 学校法人工学院大学

地址 日本东京都

申请人 大塚制药株式会社

(72) 发明人 渡部正利 织田哲弥 赤松优

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 金世煜 苗堃

权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图 5 页

(54) 发明名称

合金型金属胶体

(57) 摘要

本发明提供一种与金胶体、Au 核 Pt 壳型复合胶体相比辨识度高的、为更高灵敏度的、适于作为免疫学测定之类的检查用标记剂等的金属胶体。一种合金型 Au/Pt 复合胶体, 是通过将金盐及铂盐与选自氨基酸及其衍生物、低聚肽及其衍生物、以及氨基糖中的 1 种以上的还原剂一起在碱的存在下进行混合, 还原所述金盐及铂盐而形成的。

1. 一种合金型 Au/Pt 复合胶体,其特征在于,是通过将金盐及铂盐与选自氨基酸及其衍生物、低聚肽及其衍生物、以及氨基糖中的 1 种以上的还原剂一起在碱的存在下进行混合,还原所述金盐及铂盐而形成的。

2. 如权利要求 1 所述的合金型 Au/Pt 复合胶体,其中,以 Pt 量成为 Au 量的 7 ~ 25% 的方式使用金盐及铂盐。

3. 一种免疫学测定用标记剂,其特征在于,含有权利要求 1 或 2 中所述的合金型 Au/Pt 复合胶体。

4. 一种抗体或抗原,其特征在于,是利用权利要求 1 或 2 中所述的合金型 Au/Pt 复合胶体进行标记而得的。

5. 一种合金型 Au/Pt 复合胶体的制造方法,其特征在于,将金盐及铂盐与选自氨基酸及其衍生物、低聚肽及其衍生物、以及氨基糖中的 1 种以上的还原剂一起在碱的存在下进行混合,还原所述金盐及铂盐。

合金型金属胶体

技术领域

[0001] 本发明涉及适于作为检查用标记剂等的合金型金属胶体及其制造方法。

背景技术

[0002] 在检查药的开发中,根据临床目的,分作定量系试剂和定性系试剂。在流感病毒之类的感染性疾病抗原的检测、心肌标志物等中,作为 POCT 检查,重点在于迅速诊断,采用能够在短时间简易地检测出抗原的免疫层析法。

[0003] 免疫层析法中,作为可用于目视检测的抗体标记用着色探针,使用着色胶乳、金属胶体、酶标记等,但其中金属胶体操作比较简单,此外与胶乳粒子相比较,目视的强度高,所以最普遍使用。

[0004] 金属胶体中广泛应用的是用柠檬酸还原的金 (Au) 胶体。但是,使用金胶体标记的免疫层析法的灵敏度未必可以说是充分的。此外,由于金胶体仅以红~红紫色存在,所以也存在不能进行如胶乳那样的 2 色判定之类的问题。

[0005] 作为其他的金属胶体,有铂 (Pt) 胶体,已知该胶体呈现黑色。因为用于免疫层析法的硝化纤维素膜为白色,所以如果能使用黑色的胶体,则通过白和黑的高对比差,可期待辨识性的提高,甚至是高灵敏度。

[0006] 以往,铂胶体的合成是用柠檬酸还原的、或使用更强的还原剂的高分子保护的方法,除此之外,近年已报告有使用低分子保护的方法(专利文献 1、专利文献 2)。然而,由于利用任一种合成方法所制造的铂胶体的粒径均小,所以相同粒子数时与粒径大的金胶体相比,辨识性低、欠缺实用性。

[0007] 对于粒径大的铂胶体,已报告采用以下结构的复合胶体:以金胶体作为核心(核)而在其表面担载有铂作为壳(shell)的 Au 核 Pt 壳型的结构及 Pt 核 Au 壳型、Au 和 Pt 成为一体的合金型等结构(非专利文献 1~7)。

[0008] 此外,虽然还报告了通过将 Au 核 Pt 壳型的复合胶体用于免疫层析法,而使测定法的灵敏度上升(专利文献 3),但不能说该灵敏度是充分的。

[0009] 专利文献

[0010] 【专利文献 1】日本特开 2002-239372 号公报

[0011] 【专利文献 2】国际公开第 2005/023468 号小册子

[0012] 【专利文献 3】日本专利第 3886000 号公报

[0013] 非专利文献

[0014] 【非专利文献 1】R. S. Minor et. al., 7th International Congress on catalysis. Elsevier S. P. Co. 1981.

[0015] 【非专利文献 2】P. A. Sermon et. al., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 26(1987)No. 9.

[0016] 【非专利文献 3】P. A. Sermon et. al., Mat. Res. Soc. Symp. Proc. Vol. 1988Materials Reserch Society.

[0017] 【非专利文献 4】G. Schmid et. al., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 30(1991)No. 7.

- [0018] 【非专利文献 5】T. Yonezawa et. al., J. Molecular Catalysis 83(1993)167.
- [0019] 【非专利文献 6】T. Yonezawa et. al., J. C. S. Faraday Trans., 1995, 91 (22), 4111.
- [0020] 【非专利文献 7】A. Henglein J. Phys. Chem. B2000, 104, 2201.

发明内容

[0021] 本发明涉及提供一种与金胶体、Au 核 Pt 壳型复合胶体相比辨识度更高的、为更高灵敏度的、适于作为免疫学测定之类的检查用标记剂等的金属胶体。

[0022] 本发明人等对辨识度优异的 Au/Pt 复合胶体进行了多种研究, 结果发现, 不制作成为核的胶体, 而预先将金盐和铂盐使用氨基酸、肽等作为还原剂进行混合而制备胶体时, 得到稳定的合金型 Au/Pt 复合胶体粒子, 该胶体的辨识度高, 作为免疫学测定用标记剂使用时, 可以实现信号强度高的、更高灵敏度的测定。

[0023] 即, 本发明涉及以下的 1) ~ 4)。

[0024] 1) 一种合金型 Au/Pt 复合胶体, 其是通过将金盐及铂盐与选自氨基酸及其衍生物、低聚肽及其衍生物、以及氨基糖中的 1 种以上的还原剂一起在碱的存在下进行混合, 还原所述金盐及铂盐而形成的。

[0025] 2) 如 1) 中所述的合金型 Au/Pt 复合胶体, 其中, 以 Pt 量成为 Au 量的 7 ~ 25% 的方式使用金盐及铂盐。

[0026] 3) 一种免疫学测定用标记剂, 其中, 含有上述 1) 或 2) 的合金型 Au/Pt 复合胶体。

[0027] 4) 一种抗体或抗原, 其中, 是利用上述 1) 或 2) 的合金型 Au/Pt 复合胶体进行标记而得的。

[0028] 5) 一种合金型 Au/Pt 复合胶体的制造方法, 其特征在于, 将金盐及铂盐与选自氨基酸及其衍生物、低聚肽及其衍生物、以及氨基糖中的 1 种以上的还原剂一起在碱的存在下进行混合, 还原所述金盐及铂盐。

[0029] 本发明的合金型 Au/Pt 复合胶体与金胶体、Au 核 Pt 壳型复合胶体相比, 辨识度更高、为更高灵敏度的, 作为免疫学测定之类的检查用标记剂等极其有用。

附图说明

[0030] 【图 1】合金型 Au/Pt 复合胶体的电子显微镜照片 (20 万倍, 1 刻度为 8nm)。

[0031] 【图 2】使用合金型 Au/Pt 复合胶体的免疫层析法的测定结果 (判定部分的照片)。

C: 对照线, T: 试验线

[0032] 【图 3】使用改变 Pt 量而合成的合金型 Au/Pt 复合胶体的免疫层析法的测定结果 (判定部分的照片)。C: 对照线, T: 试验线

[0033] 【图 4】使用改变 Pt 量而合成的合金型 Au/Pt 复合胶体的免疫层析法的测定结果 (试验线的信号强度)。

[0034] 【图 5】使用改变 Pt 量而合成的合金型 Au/Pt 复合胶体的免疫层析法的测定结果 (色调)。

[0035] 【图 6】使用 Au 核 Pt 壳型 Au/Pt 复合胶体的免疫层析法的测定结果 (判定部分的照片)。C: 对照线, T: 试验线

具体实施方式

[0036] 作为在本发明中使用的“金盐”，可以举出氯金酸、氰化金(III)钾、氰化金钾、四氨合金硝酸盐、四硝酸合金铵盐、二水合(1,10-二氮杂菲)金硝酸盐等，其中，优选为氯金酸。

[0037] 此外，作为“铂盐”，可以举出六氯铂酸、二硝基二氨铂、二硝基二氨铂硝酸盐、顺式二氨二水合铂硝酸盐、反式二氨二水合铂硝酸盐、四硝基合铂酸、四(草酸根)合铂酸、顺式二硝基二水合铂、四氨合氢氧化铂盐、六氨合氢氧化铂盐、四氨合铂氯化物、六氨合铂氯化物、六羟基合铂酸、氧化铂、二氯化铂、四氯化铂、四氯铂酸钾等，其中，优选为四氯铂酸钾、六氯铂酸等。

[0038] 本发明中的还原剂为氨基酸、低聚肽、氨基糖等，在通常的环境下没有还原特性，但在碱性环境下显示出还原金离子及铂离子的还原特性。

[0039] 作为氨基酸，例如可以举出甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、缬氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、精氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、脯氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、精氨酸、组氨酸等 α -氨基酸，作为其衍生物，可以举出羧酸酯衍生物(例如甲酯、乙酯等)、羧酸酰胺衍生物。

[0040] 作为低聚肽，可以举出甘氨酰甘氨酸、甘氨酰丙氨酸、丙氨酰丙氨酸等二肽，甘氨酰甘氨酰甘氨酸、甘氨酰甘氨酰丙氨酸等三肽；也可以是含有其他氨基酸的低聚肽。作为其衍生物，可以举出羧酸酯衍生物(例如甲酯、乙酯等)、羧酸酰胺衍生物。例如，作为二肽残基的酯衍生物，可以例示阿斯巴甜(N-(L- α -天冬氨酰)-L-苯丙氨酸 1-甲酯)等。

[0041] 作为氨基糖，例如，可以举出葡萄糖胺、N-乙酰葡萄糖胺、半乳糖胺、N-乙酰半乳糖胺等。

[0042] 这些还原剂中，作为优选的还原剂，可以举出甘氨酸、丙氨酸等氨基酸，甘氨酰甘氨酸等低聚肽。

[0043] 该还原剂除了可以将氨基酸、其衍生物、低聚肽、其衍生物及氨基糖分别单独使用之外，还可以将多种组合使用。

[0044] 应予说明，本发明中作为还原剂使用的氨基酸、低聚肽、氨基糖等，其将合金型 Au/Pt 复合粒子包围，还作为保护成分发挥作用。因此，本发明的胶体即使不另行添加保护成分，所形成的合金型 Au/Pt 复合粒子也可以不沉淀地分散，作为胶体稳定地存在。但是，为了更难以沉淀，也可以添加甲硫氨酸、半胱氨酸等含有硫的氨基酸或明胶胶体。

[0045] 作为碱，可以举出氢氧化钠、氢氧化钾等碱金属的氢氧化物，碳酸钠、碳酸钾等碱金属的碳酸盐，氢氧化镁、氢氧化钙等碱土类金属的氢氧化物，碳酸镁、碳酸钙等碱土类金属的碳酸盐、胍、羟胺、氨等，优选为氢氧化钠、氢氧化钾等碱金属的氢氧化物。

[0046] 以下，对本发明的合金型 Au/Pt 复合胶体的调制进行具体说明。

[0047] 1) 合金型 Au/Pt 复合粒子(胶体)的形成

[0048] 在溶剂中将金盐、铂盐、及还原剂在碱的存在下进行混合，使之反应，从而能够得到合金型的 Au/Pt 复合粒子(胶体)。

[0049] 此处，所用的溶剂通常使用水，但是也可以使用超纯水、将离子交换水经多次蒸馏的水。

[0050] 应予说明，对金盐、铂盐、还原剂的添加方法没有特别限定，例如，可以举出在溶剂

中加入金盐,接着添加还原剂,然后加入铂盐的方法。

[0051] 金盐的添加量相对于溶剂总量优选为 0.01 ~ 0.4w/v%,更优选为 0.05 ~ 0.09w/v%。

[0052] 此外,从提高所生成的 Au/Pt 复合胶体的辨识性(特别是作为免疫层析用的标记物(着色粒子)使用时)、其信号强度(检测灵敏度)的观点考虑,金盐及铂盐的添加量优选以 Pt 量为 Au 量的 7 ~ 25%、更优选为 12 ~ 18%的方式进行添加。

[0053] 还原剂的添加量根据其种类的不同而异,但相对于金盐及铂盐的 1 摩尔,优选为 1 ~ 12 摩尔,更优选为 4 ~ 6 摩尔。

[0054] 碱优选以在溶液中的浓度范围成为通常 5mmol/L ~ 30mmol/L、优选 12mmol/L ~ 14mmol/L 而使用,此外可以以溶液的 pH 为 10 以上、优选为 11 ~ 12 的方式进行添加。

[0055] 反应在通常为 90 ~ 98℃、优选为 93 ~ 97℃的搅拌下进行 10 ~ 60 分钟、优选 20 ~ 45 分钟即可,但优选在 40 ~ 65℃反应 5 ~ 20 分钟后,进一步提高温度(93 ~ 98℃),反应 20 ~ 60 分钟。

[0056] 通过这样的反应,得到合金型 Au/Pt 复合粒子(胶体)。

[0057] 2) 未反应物及脱盐处理

[0058] 接着,进行用于从得到的合金型 Au/Pt 复合粒子(胶体)中减少未反应物、盐的处理。

[0059] 作为这样的处理,例如,可以举出(1)进行使用离心分离器的超过滤(过滤器使用分子量为 30000 的过滤器,以 2000 ~ 5000rpm 进行 30 分钟离心)后,添加适宜的水;(2)使用渗透膜;(3)用超离心分离器进行分离(6000rpm,10 分钟),添加适宜的水等。

[0060] 3) 中和处理

[0061] 然后,根据需要,以溶液的 pH 成为 7 ~ 9 的方式进行中和处理。

[0062] 该中和处理是例如将胶体溶液进行离心分离,分离为沉淀物与上层澄清,除去上层澄清而取出沉淀物,用水稀释,以 pH 不成为 6 以下的方式进行中和。此时可以利用所加水的量调节胶体的浓度,容易地获得高浓度。

[0063] 如此得到的胶体呈现近黑色的黑紫色,为粒子不沉淀地分散而稳定地存在的所谓分散胶体。该胶体通过电子显微镜观察时,不是 Au 核 Pt 壳型而是 Au 和 Pt 成为一体的平滑的合金型(homogeneous alloy)的 Au/Pt 复合胶体(参照图 1,1 刻度为 8nm),Au/Pt 复合粒子的平均粒径为 20nm ~ 100nm。应予说明,平均粒径可以通过例如拍摄透射型电子显微镜照片(TEM)对 100 个粒子测定粒径而求出其平均值。

[0064] 因此,该合金型 Au/Pt 复合胶体能够适于作为用于免疫层析法、其他各种免疫学测定法的标记剂(可视探针)而使用。

[0065] 使用本发明的合金型 Au/Pt 复合胶体的抗原、抗体等蛋白质的标记能够按照常规方法来进行。例如,使抗体与合金型 Au/Pt 复合胶体进行混合,搅拌 20 分钟 ~ 24 小时,使抗体与胶体结合之后,添加酪蛋白溶液、BSA 等而阻遏(block)胶体表面。接着,进行离心分离,去除上清后,使之在含有酪蛋白的缓冲液中悬浮,能够得到合金型 Au/Pt 复合胶体标记抗体。

[0066] 【实施例】

[0067] 实施例 1 合金型 Au/Pt 复合胶体的合成

[0068] 在 253.2ml 的水中加入 1% (w/v) 氯金酸 18ml, 接着加入作为还原剂的 1% (w/v) 甘氨酸 18ml、0.5N 的 KOH 8.1ml, 进而加入 1% (w/v) 氯铂酸 (II) 钾 2.70mL (Pt 量 15%) 后, 在 50℃ 的温度下反应 15 分钟。再移入 98℃ 的水浴反应 30 分钟。加入 300ml 的水后, 进行超过滤, 浓缩至 100ml, 制成 Au/Pt 复合胶体。

[0069] 以该方法得到的胶体呈现出近黑色的黑紫色, 通过电子显微镜来观察时, 不是 Au 核 Pt 壳型而是 Au 和 Pt 成为一体的平滑的合金型 (homogeneous alloy) Au/Pt 复合胶体。将电子显微镜照片示于图 1。

[0070] 实施例 2 标记抗体的制备

[0071] 将 20 μg 的抗人 IgG 山羊抗体与得到的合金型 Au/Pt 复合胶体 1mL ($OD_{520} = 10$) 进行混合, 室温下搅拌约 6 小时而使抗体与胶体结合。以最终浓度成为 1% 的方式添加酪蛋白溶液, 室温下搅拌一夜而阻遏胶体表面。以 4500g、4℃ 进行离心分离 10 分钟, 回收, 混悬于含有 1% 酪蛋白的缓冲液中而制备合金型 Au/Pt 复合胶体标记抗体。

[0072] 试验例 1 利用免疫层析法的测定

[0073] 使用实施例 2 中制备的合金型 Au/Pt 复合胶体标记抗体, 进行利用下述所示的免疫层析法的测定而评价该胶体作为可视探针的性能。

[0074] 1) 作为用于评价的免疫层析法, 利用对样品中的抗幽门螺杆菌抗体进行检测的测定系统。该免疫层析法是通过使样品与从幽门螺杆菌菌体中提取的抗原变为固相的硝化纤维素膜所构成的免疫层析法用测试条进行反应, 利用胶体标记抗人 IgG 抗体而检测与膜上的抗原结合的抗幽门螺杆菌抗体的方法。材料的调制法及测定法如下所述。

[0075] 2) 抗原固相膜的制备

[0076] 在硝化纤维素膜上将从幽门螺杆菌菌体提取的抗原以每 1cm 为 3 μg 的量涂布成线状。同时将适量的抗人 IgG 山羊抗体涂布成线状。涂布后在 37℃ 干燥 2 小时以上后, 为了防止非特异性吸附, 将膜浸入含有脱脂乳的缓冲液中进行阻遏 (blocking)。之后, 使之充分干燥, 制成抗原固相膜。

[0077] 3) 免疫层析法用测试条的制备

[0078] 将由玻璃纤维等构成的样本垫、由纤维素等构成的吸收垫贴附在 2) 中制备的抗原固相化膜上。样本垫作为与测定样品接触而向抗原固相化膜部分供给测定样品的部分, 吸收垫用于吸取在膜上展开的测定样品。将贴附有垫类的膜切割成 4mm 宽而制成免疫层析法用测试条。

[0079] 4) 测定方法

[0080] 将从幽门螺杆菌阳性者采集的血清用缓冲液进行稀释的阳性管理试样作为抗幽门螺杆菌抗体阳性样品、将从幽门螺杆菌阳性者采集的尿作为抗幽门螺杆菌抗体弱阳性样品而用于测定。并且, 将从幽门螺杆菌阴性者采集的尿作为抗幽门螺杆菌抗体阴性样品使用。测定及判定步骤如下所示。

[0081] i) 将各样品用测定用缓冲液进行稀释, 滴落于测定容器中。

[0082] ii) 将各合金型 Au/Pt 复合胶体标记抗体加入测定容器中, 进行混合。

[0083] iii) 向测定容器中插入免疫层析法用测试条, 室温下静置 15 分钟。

[0084] iv) 15 分钟后通过目视确认是否出现有色线。

[0085] 应予说明, 将测试条上涂布有幽门螺杆菌提取抗原的部分作为试验线部分, 将涂

布有抗人 IgG 抗体的部分作为对照线部分,将在试验线部分和对照线部分双方均出现有色线的情形判定为阳性。将出现的有色线仅为对照线部分的情形判定为阴性。

[0086] 5) 测定结果

[0087] 将测定结果示于图 2。

[0088] 从图 2 判断,对比度、信号强度均良好,是适合免疫层析的高性能的胶体。可知利用本发明的方法调制的合金型 Au/Pt 复合胶体可以用作免疫层析法的高性能的可视探针。

[0089] 实施例 3

[0090] 将和氯金酸混合的 Pt 量设为 10%、12%、13%、15%、18%、20%,合成 Au/Pt 复合胶体。在 253.2ml 的水中加入 1% (w/v) 氯金酸 18ml 和分别以 1.80mL (Pt 量 10%)、2.70mL (Pt 量 15%)、2.16mL (Pt 量 12%)、2.34mL (Pt 量 13%)、2.70mL (Pt 量 15%)、3.24mL (Pt 量 18%)、3.60mL (Pt 量 20%) 的量加入 1% (w/v) 氯铂酸 (II) 钾。接着添加 0.5N 的 KOH 8.1ml 和 18ml 的作为还原剂的 1% (w/v) 甘氨酸之后,在 50℃ 的温度下反应 15 分钟。再移入 98℃ 的水浴反应 30 分钟。加入 300ml 的水之后,进行超过滤,浓缩至 100ml,制成 Pt 量分别为 10%、12%、13%、15%、18%、20% 的 Au/Pt 复合胶体。

[0091] 使用得到的各合金型 Au/Pt 复合胶体,与实施例 2 同样地制备合金型 Au/Pt 复合胶体标记抗体。

[0092] 试验例 2

[0093] 使用实施例 3 中制备的合金型 Au/Pt 复合胶体标记抗体,与试验例 1 同样地进行利用免疫层析法的测定 (图 3),评价该胶体作为可视探针的性能。

[0094] 1) 信号强度

[0095] 拍摄测定完成的测试条的判定部分的照片。利用图像解析软件 (Densitograph, ATTO 株式会社) 对显现在照片上的试验线进行解析,将出现的线的强弱作为信号强度变成数值,进行比较 (图 4)。

[0096] 使 Pt 量变化而制备的合金型 Au/Pt 复合胶体标记抗体的信号强度在 20% 时变弱,但在 10 ~ 18% 之间没有大的差别,弱阳性样品也能明显地确认。

[0097] 2) 色调

[0098] 对拍摄 1) 中阳性样品的测定结果的照片,使用图像软件 (photoshop (注册商标), adobe 公司) 调节亮度、对比度等,其结果是 Pt 量为 12 ~ 18% 的复合胶体的色调是近黑色的色调,但对于 Pt 量为 10% 的复合胶体,红色为强色调 (图 5)。对于白色硝化纤维素膜,与红色相比近黑色的色调更能够期待高对比度,所以优选 Pt 量为 12 ~ 18% 的合金型 Au/Pt 复合胶体作为可视探针。

[0099] 比较例

[0100] 利用专利文献 3 (专利第 3886000 号公报) 中记载的方法,合成 Au 核 Pt 壳型 Au/Pt 复合胶体,与试验例 1 同样地进行利用免疫层析法的测定,评价该胶体作为可视探针的性能。

[0101] (1) 胶体的合成

[0102] 将 390ml 的超纯水加入烧瓶中使之沸腾,在该沸腾水中加入氯金酸水溶液 (每 1 升水溶液含金 1g) 30ml,之后,加入 1 重量% 柠檬酸钠水溶液 60ml。6 分 45 秒后,加入氯铂酸水溶液 (每 1 升水溶液含铂 1g) 30ml。从氯铂酸水溶液添加开始 5 分钟后,加入 1 重量%

柠檬酸钠水溶液 60ml, 进行 4 小时回流, 得到胶体。将得到的胶体 1ml 以 13800xg 进行离心分离 25 分钟之后, 除去上清, 在残留的沉淀中加入超纯水 0.5ml, 搅拌后, 用超音波使沉淀再次悬浮, 将该悬浮液用 200mM 碳酸钾水溶液调节至 pH9.0。然后在其中加入超纯水而使总量为 100ml, 得到 Au/Pt 复合胶体。认为该胶体是 Pt 完全或部分地被覆由 Au 胶体构成的核的 Au 核 Pt 壳型的结构。

[0103] (2) 标记抗体的制备

[0104] 为了确认该胶体的利用免疫层析法的性能, 将 6.8 μ g 的抗人 IgG 山羊抗体与得到的胶体 1mL ($OD_{520} = 3.4$) 进行混合, 为了得到最适宜的标记条件而使 pH 为 7 ~ 10, 在室温下搅拌约 6 小时, 使胶体与抗体结合。以最终浓度成为 1% 的方式添加酪蛋白溶液, 室温下搅拌一夜而阻遏胶体表面。以 4500g、4℃ 进行离心分离 40 分钟, 回收, 将之悬浮于含有 1% 酪蛋白的缓冲液中而制备 Au/Pt 复合胶体标记抗体。

[0105] (3) 利用免疫层析法的测定

[0106] 将制备的 Au/Pt 复合胶体标记抗体与实施例 1 同样地进行利用免疫层析法的测定。

[0107] (4) 测定结果

[0108] 测定的结果为, 任一个标记抗体中在阳性样品测定时出现的试验线都非常弱。进而, 在弱阳性样品测定时不能确认试验线, 作为免疫层析法的性能不充分。将免疫层析法的测定结果 (测试条上的出现对照线和试验线的判定部分的照片) 示于图 6。

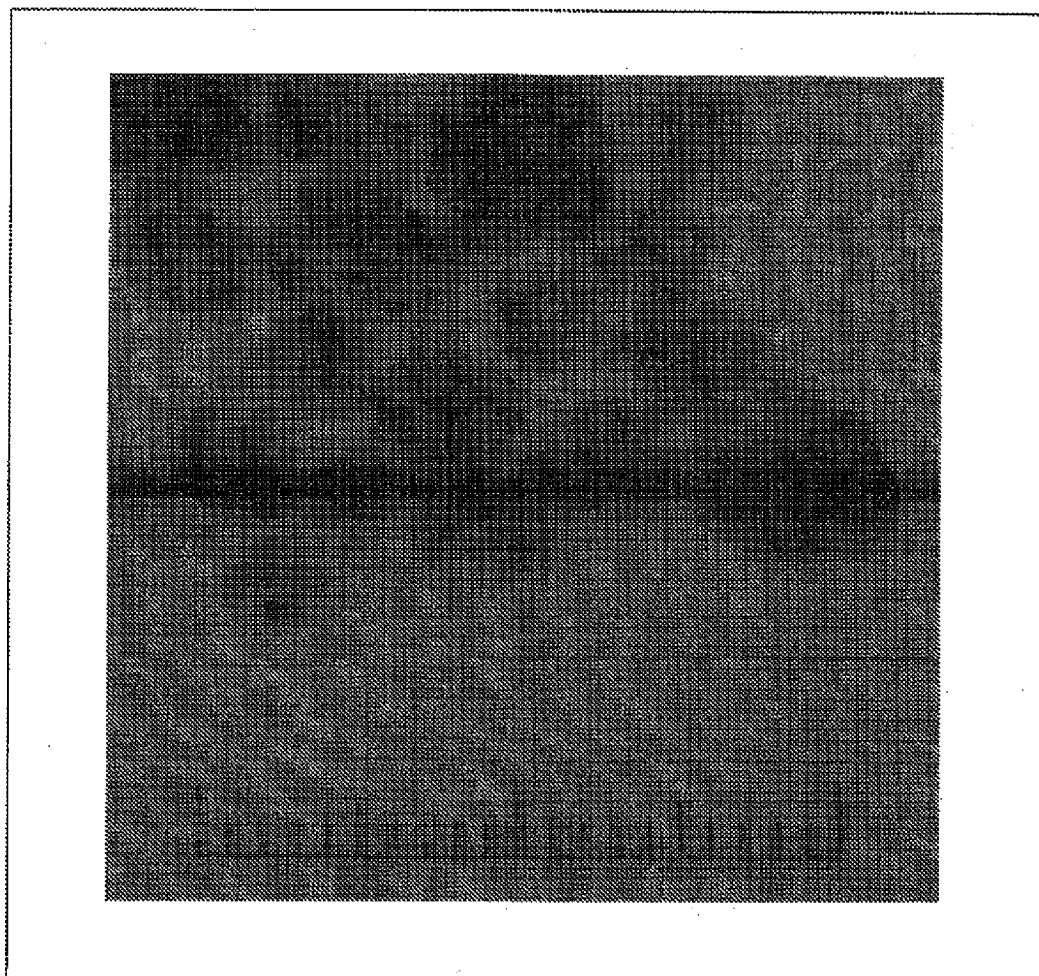


图 1

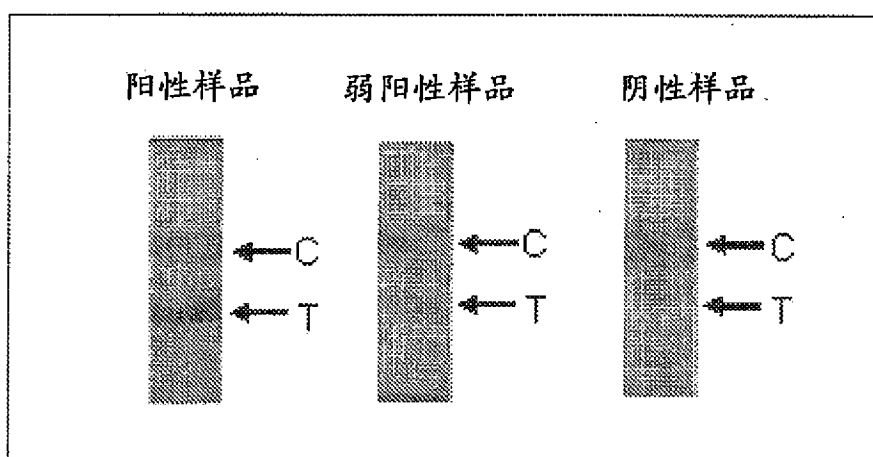


图 2

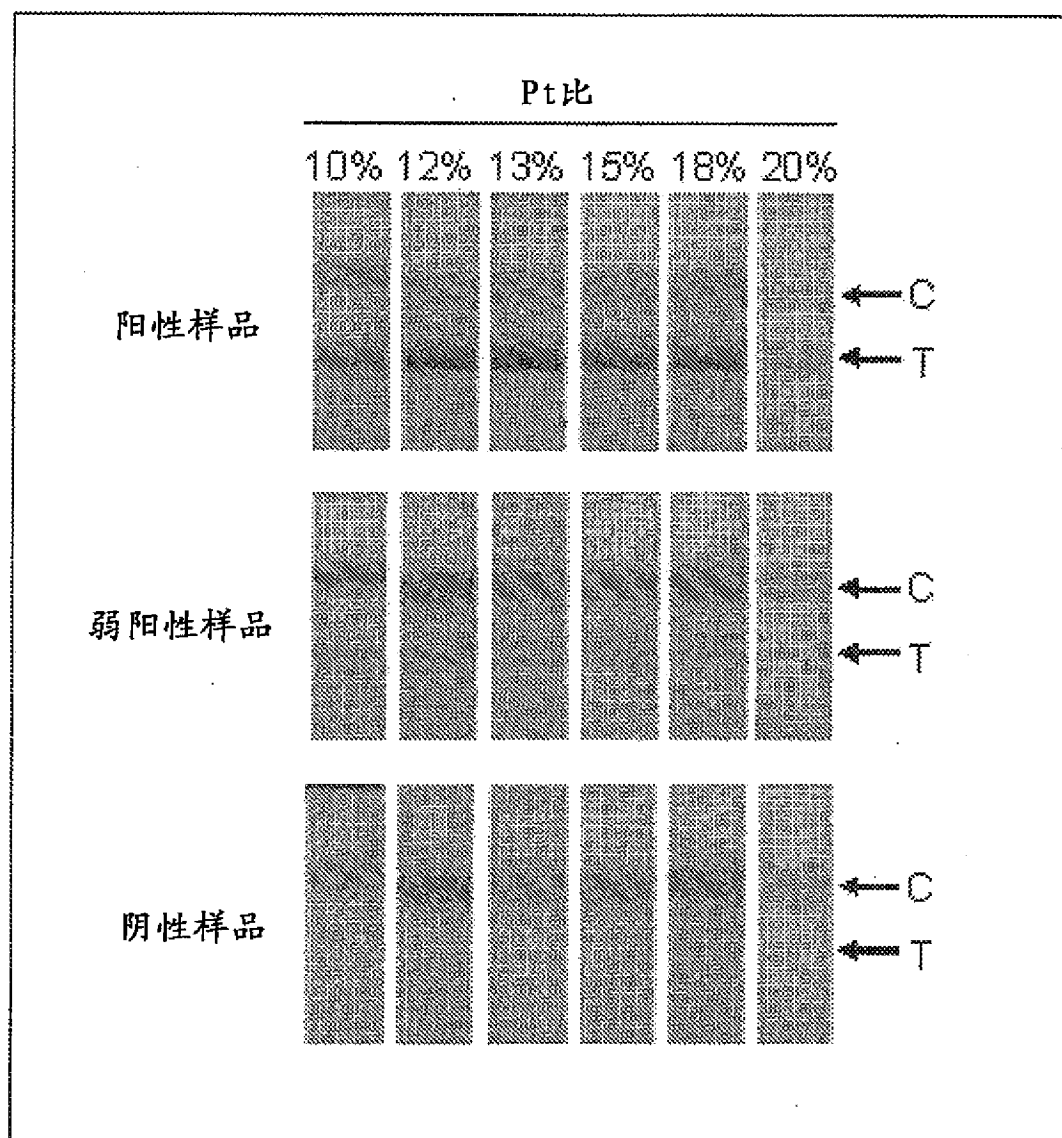


图 3

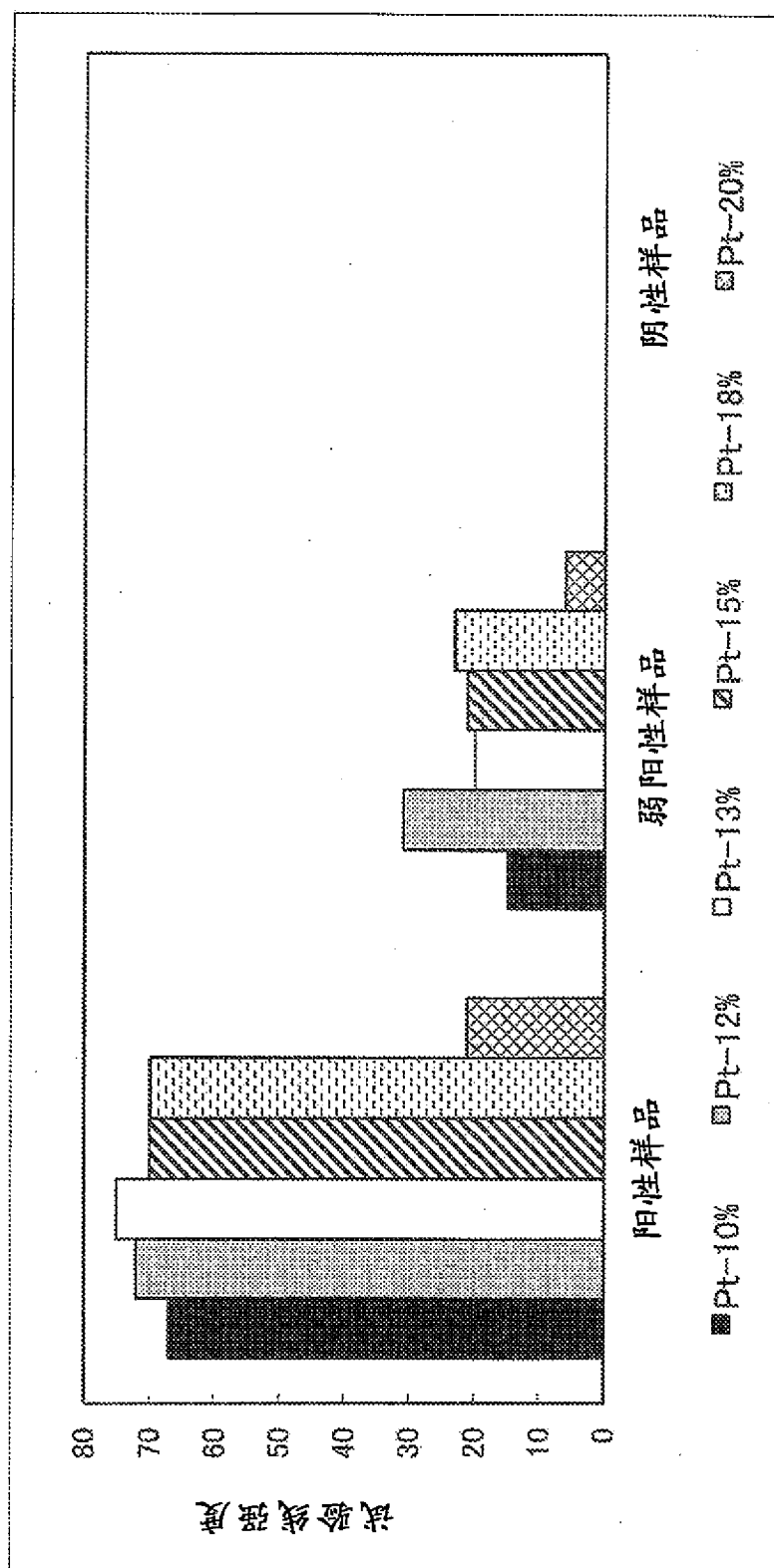


图 4

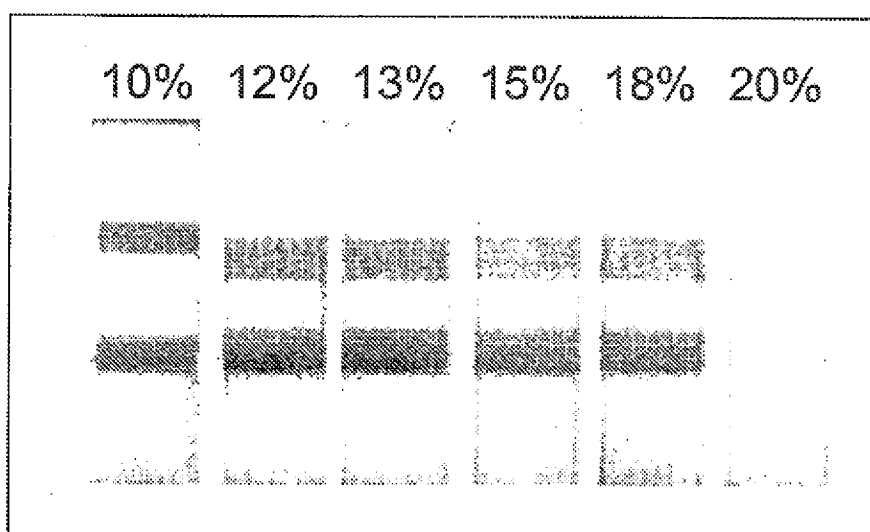


图 5

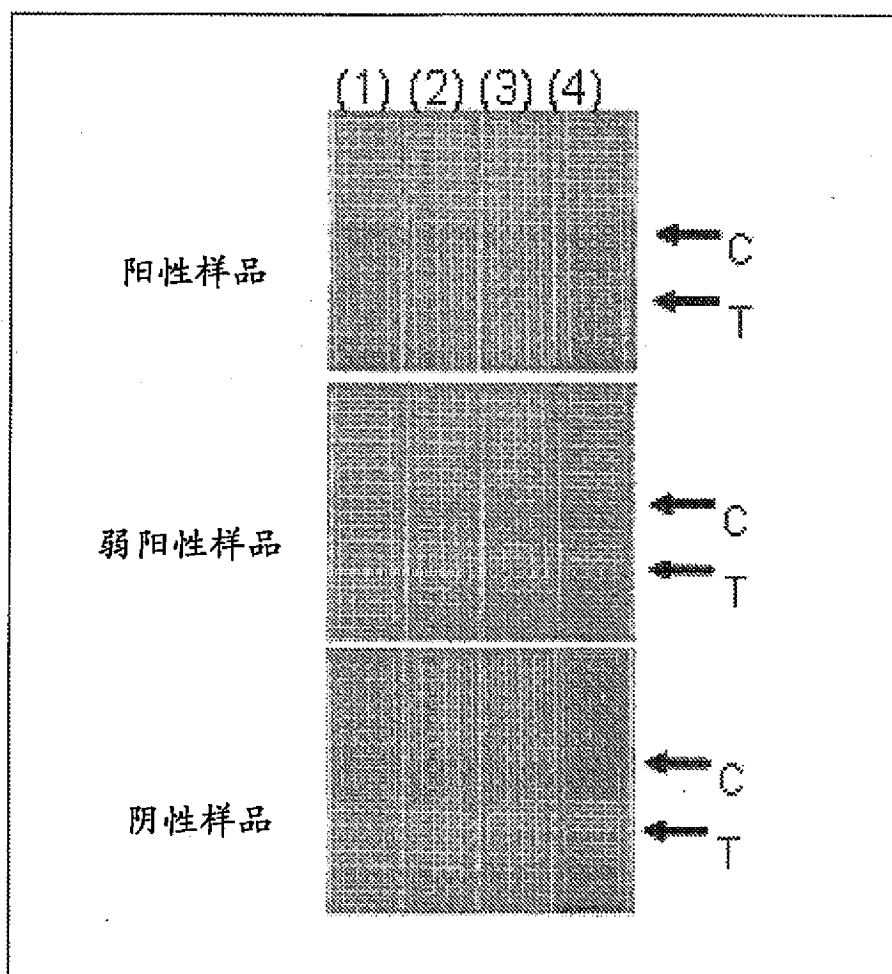


图 6

专利名称(译)	合金型金属胶体		
公开(公告)号	CN102472748A	公开(公告)日	2012-05-23
申请号	CN201080024954.6	申请日	2010-07-29
[标]申请(专利权)人(译)	学校法人工学院		
申请(专利权)人(译)	学校法人工学院大学 大冢制药株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	学校法人工学院大学 大冢制药株式会社		
[标]发明人	渡部正利 织田哲弥 赤松优		
发明人	渡部正利 织田哲弥 赤松优		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/532		
CPC分类号	B01J13/0043 G01N33/532		
代理人(译)	苗堃		
优先权	2009176812 2009-07-29 JP		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种与金胶体、Au核Pt壳型复合胶体相比辨识性高的、为更高灵敏度的、适于作为免疫学测定之类的检查用标记剂等的金属胶体。一种合金型Au/Pt复合胶体，是通过将金盐及铂盐与选自氨基酸及其衍生物、低聚肽及其衍生物、以及氨基糖中的1种以上的还原剂一起在碱的存在下进行混合，还原所述金盐及铂盐而形成的。

