



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104459104 B

(45) 授权公告日 2016.02.17

(21) 申请号 201410846466.3

JP H0572205 A, 1993.03.23, 全文.

(22) 申请日 2014.12.31

郑秦等. 利用丝素蛋白抗体鉴定古代丝织品. 《蚕业科学》. 2014, 第40卷(第3期), 520-526.

(73) 专利权人 浙江理工大学

地址 310018 浙江省杭州市下沙高教园区2号大街5号

审查员 李宏悦

(72) 发明人 刘苗苗 刘建军 胡智文

(74) 专利代理机构 杭州之江专利事务所(普通合伙) 33216

代理人 朱枫

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 21/84(2006.01)

(56) 对比文件

JP H0543600 A, 1993.02.23, 全文.

CN 103048458 A, 2013.04.17, 全文.

CN 103509108 A, 2014.01.15, 全文.

CN 103509107 A, 2014.01.15, 全文.

CN 104059131 A, 2014.09.24, 全文.

权利要求书1页 说明书3页

(54) 发明名称

一种显微镜检测古代丝织品的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种显微镜检测古代丝织品的方法,先将兔抗丝素蛋白多克隆抗体浸渍于文物样表面,洗涤干净后,加入胶体金标记的山羊抗兔IgG(H+L)抗体,形成抗原-一抗-二抗复合物,然后洗涤干净将文物样放在显微镜下观察。可根据样品表面有没有呈现红色进行定性分析。本发明的有益成果是:采用免疫胶体金技术对古代丝织品进行检测,一方面,灵敏度高,操作简单。另一方面能够避免来自其它蛋白质的干扰,特异性强。与现有技术相比,本发明成本低,结果直观,更适用于考古分析。

1. 一种显微镜检测古代丝织品的方法,其特征在于采用步骤如下:

A) PBS7.4 溶液配制:KCl 0.2g, KH_2PO_4 0.27g, NaCl 8.0g, Na_2HPO_4 1.42g, 用 800ml 蒸馏水溶解并定容至 1000ml, 调节 pH 至 7.4;

B) 从文物样里面抽取三根单纤, 分别放置于打孔皿中, 标记为 I, II, III; 用 pH=7.4 的 PBS 缓冲溶液进行洗涤, 保证表面附着物洗涤干净; 分别向 I 中加入 80-120 μL 用 PBS 7.4 溶液稀释 10-50 倍的兔抗丝素蛋白多克隆抗体; II, III 中加入 80-120 μL pH=7.4 的 PBS 溶液, 然后放置于 4°C 冰箱中过夜; 然后分别加入 2ml pH=7.4 的 PBS 溶液于打孔皿中, 浸泡 5min 进行洗涤, 洗涤三次;

C) 分别向 I, II 中加入 80-120 μL 用 PBS 7.4 溶液稀释 100-400 倍稀释的胶体金标记山羊抗兔 IgG 抗体, III 中加入 80-120 μL pH=7.4 的 PBS 溶液; 然后分别将 I, II, III 放置于有湿毛巾垫着的盒子中, 37°C 孵育 1h; 然后分别加入 2ml pH=7.4 的 PBS 溶液于打孔皿中, 浸泡 5min 进行洗涤, 洗涤三次, 然后采用盖玻片封片;

D) 将 I, II, III 放置于显微镜下进行观察; 比较测得的结果: II, III 颜色未发生变化, 而 I 呈现较亮的红色, 说明文物样与兔抗丝素蛋白抗体发生了特异性结合, 证明文物样为丝织品。

一种显微镜检测古代丝织品的方法

技术领域

[0001] 本发明属于古代丝织品的检测领域,尤其涉及一种显微镜检测古代丝织品的方法。

背景技术

[0002] 丝绸是中国民族的宝贵文化,但近年来,关于丝绸的起源却众说纷纭,因此如何采用科学的手段确定丝绸是中国的原创成了燃眉之急。丝绸容易受到外界环境的影响而发生分子链的断裂,使之劣化降解,面目全非。目前对丝织品检测主要是质谱光谱检测法,但是,由于杂质的干扰,后期谱图解析困难,不能对结果进行直观的判定。

发明内容

[0003] 本发明要解决的技术问题是:针对上述现有技术存在的问题提供一种直观的,快捷的检测方法。

[0004] 为此采用取的技术方案是:一种显微镜检测古代丝织品的方法,其特征在于采用步骤如下:

[0005] A) PBS7.4 溶液配制:KCl 0.2g, KH_2PO_4 0.27g, NaCl 8.0g, Na_2HPO_4 1.42g,用 800ml 蒸馏水溶解并定容至 1000ml,调节 pH 至 7.4;

[0006] B) 从文物样里面抽取三根单纤,分别放置于打孔皿中,标记为 I, II, III;用 pH=7.4 的 PBS 缓冲溶液进行洗涤,保证表面附着物洗涤干净;分别向 I 中加入 80-120 μL 用 PBS 7.4 溶液稀释 10-50 倍的兔抗丝素蛋白多克隆抗体;II, III 中加入 80-120 μL pH=7.4 的 PBS 溶液,然后放置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中过夜;然后分别加入 2ml pH=7.4 的 PBS 溶液于打孔皿中,浸泡 5min 进行洗涤,洗涤三次;

[0007] C) 分别向 I, II 中加入 80-120 μL 用 PBS 7.4 溶液稀释 100-400 倍稀释的胶体金标记山羊抗兔 IgG 抗体, III 中加入 80-120 μL pH=7.4 的 PBS 溶液;然后分别将 I, II, III 放置于有湿毛巾垫着的盒子中,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1h;然后分别加入 2ml pH=7.4 的 PBS 溶液于打孔皿中,浸泡 5min 进行洗涤,洗涤三次,然后采用盖玻片封片;

[0008] D) 将 I, II, III 放置于显微镜下进行观察;比较测得的结果:II, III 颜色未发生变化,而 I 呈现较亮的红色,说明文物样与兔抗丝素蛋白抗体发生了特异性结合,证明文物样为丝织品。

[0009] 本发明先将兔抗丝素蛋白多克隆抗体浸渍于文物样表面,洗涤干净后,加入胶体金标记的山羊抗兔 IgG 抗体,形成抗原-一抗-二抗复合物,然后洗涤干净将文物样放在显微镜下观察。可根据样品表面有没有呈现红色进行定性分析。

[0010] 本发明的有益成果是:1 本发明采用免疫胶体金技术对古代丝织品进行检测,一方面,灵敏度高,操作简单。另一方面能够避免来自其它蛋白质的干扰,特异性强。2 与现有技术相比,本发明成本低,结果直观,更适合于考古分析。

具体实施方式

[0011] 实施例 1 采用步骤如下：

[0012] A) PBS7.4 溶液配制 :KCl 0.2g, KH_2PO_4 0.27g, NaCl 8.0g, Na_2HPO_4 1.42g, 用 800ml 蒸馏水溶解并定容至 1000ml, 调节 pH 至 7.4；

[0013] B) 从文物样里面抽取三根单纤, 分别放置于打孔皿中, 标记为 I, II, III；用 pH=7.4 的 PBS 缓冲溶液进行洗涤, 保证表面附着物洗涤干净；分别向 I 中加入 80 μL 用 PBS 7.4 溶液稀释 10 倍的兔抗丝素蛋白多克隆抗体；II, III 中加入 80 μL pH=7.4 的 PBS 溶液, 然后放置于 4℃ 冰箱中过夜；然后分别加入 2ml pH=7.4 的 PBS 溶液于打孔皿中, 浸泡 5min 进行洗涤, 洗涤三次；

[0014] C) 分别向 I, II 中加入 80 μL 用 PBS 7.4 溶液稀释 100 倍稀释的胶体金标记山羊抗兔 IgG 抗体, III 中加入 80 μL pH=7.4 的 PBS 溶液；然后分别将 I, II, III 放置于有湿毛巾垫着的盒子中, 37℃ 孵育 1h；然后分别加入 2ml pH=7.4 的 PBS 溶液于打孔皿中, 浸泡 5min 进行洗涤, 洗涤三次, 然后采用盖玻片封片；

[0015] D) 将 I, II, III 放置于显微镜下进行观察；比较测得的结果：II, III 颜色未发生变化, 而 I 呈现较亮的红色, 说明文物样与兔抗丝素蛋白抗体发生了特异性结合, 证明文物样为丝织品。

[0016] 实施例 2 采用步骤如下：

[0017] A) PBS7.4 溶液配制 :KCl 0.2g, KH_2PO_4 0.27g, NaCl 8.0g, Na_2HPO_4 1.42g, 用 800ml 蒸馏水溶解并定容至 1000ml, 调节 pH 至 7.4；

[0018] B) 从文物样里面抽取三根单纤, 分别放置于打孔皿中, 标记为 I, II, III；用 pH=7.4 的 PBS 缓冲溶液进行洗涤, 保证表面附着物洗涤干净；分别向 I 中加入 100 μL 用 PBS 7.4 溶液稀释 25 倍的兔抗丝素蛋白多克隆抗体；II, III 中加入 100 μL pH=7.4 的 PBS 溶液, 然后放置于 4℃ 冰箱中过夜；然后分别加入 2ml pH=7.4 的 PBS 溶液于打孔皿中, 浸泡 5min 进行洗涤, 洗涤三次；

[0019] C) 分别向 I, II 中加入 100 μL 用 PBS 7.4 溶液稀释 200 倍稀释的胶体金标记山羊抗兔 IgG 抗体, III 中加入 100 μL pH=7.4 的 PBS 溶液；然后分别将 I, II, III 放置于有湿毛巾垫着的盒子中, 37℃ 孵育 1h；然后分别加入 2ml pH=7.4 的 PBS 溶液于打孔皿中, 浸泡 5min 进行洗涤, 洗涤三次, 然后采用盖玻片封片；

[0020] D) 将 I, II, III 放置于显微镜下进行观察；比较测得的结果：II, III 颜色未发生变化, 而 I 呈现较亮的红色, 说明文物样与兔抗丝素蛋白抗体发生了特异性结合, 证明文物样为丝织品。

[0021] 实施例 3 采用步骤如下：

[0022] A) PBS7.4 溶液配制 :KCl 0.2g, KH_2PO_4 0.27g, NaCl 8.0g, Na_2HPO_4 1.42g, 用 800ml 蒸馏水溶解并定容至 1000ml, 调节 pH 至 7.4；

[0023] B) 从文物样里面抽取三根单纤, 分别放置于打孔皿中, 标记为 I, II, III；用 pH=7.4 的 PBS 缓冲溶液进行洗涤, 保证表面附着物洗涤干净；分别向 I 中加入 120 μL 用 PBS 7.4 溶液稀释 50 倍的兔抗丝素蛋白多克隆抗体；II, III 中加入 120 μL pH=7.4 的 PBS 溶液, 然后放置于 4℃ 冰箱中过夜；然后分别加入 2ml pH=7.4 的 PBS 溶液于打孔皿中, 浸泡 5min 进行洗涤, 洗涤三次；

[0024] C) 分别向 I, II 中加入 120 μ L 用 PBS 7.4 溶液稀释 400 倍稀释的胶体金标记山羊抗兔 IgG 抗体, III 中加入 120 μ L pH=7.4 的 PBS 溶液;然后分别将 I, II, III 放置于有湿毛巾垫着的盒子中, 37 $^{\circ}$ C 孵育 1h;然后分别加入 2ml pH=7.4 的 PBS 溶液于打孔皿中, 浸泡 5min 进行洗涤, 洗涤三次, 然后采用盖玻片封片;

[0025] D) 将 I, II, III 放置于显微镜下进行观察;比较测得的结果:II, III 颜色未发生变化, 而 I 呈现较亮的红色, 说明文物样与兔抗丝素蛋白抗体发生了特异性结合, 证明文物样为丝织品。

专利名称(译)	一种显微镜检测古代丝织品的方法		
公开(公告)号	CN104459104B	公开(公告)日	2016-02-17
申请号	CN201410846466.3	申请日	2014-12-31
[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	刘苗苗 刘建军 胡智文		
发明人	刘苗苗 刘建军 胡智文		
IPC分类号	G01N33/53 G01N21/84		
CPC分类号	G01N33/6803		
代理人(译)	朱枫		
其他公开文献	CN104459104A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种显微镜检测古代丝织品的方法，先将兔抗丝素蛋白多克隆抗体浸渍于文物样表面，洗涤干净后，加入胶体金标记的山羊抗兔IgG (H+L) 抗体，形成抗原-一抗-二抗复合物，然后洗涤干净将文物样放在显微镜下观察。可根据样品表面有没有呈现红色进行定性分析。本发明的有益成果是：采用免疫胶体金技术对古代丝织品进行检测，一方面，灵敏度高，操作简单。另一方面能够避免来自其它蛋白质的干扰，特异性强。与现有技术相比，本发明成本低，结果直观，更适合于考古分析。