



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103675260 A

(43) 申请公布日 2014. 03. 26

(21) 申请号 201310650642. 1

(22) 申请日 2013. 12. 03

(71) 申请人 南昌大学

地址 330031 江西省南昌市红谷滩新区学府
大道 999 号

(72) 发明人 吴志华 郝红江 李雯莹 邱昌将
陈红兵 李欣 佟平 杨安树

(74) 专利代理机构 南昌新天下专利商标代理有
限公司 36115

代理人 施秀瑾

(51) Int. Cl.

G01N 33/532 (2006. 01)

G01N 1/30 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书2页

(54) 发明名称

一种纳米颗粒的示踪方法

(57) 摘要

一种纳米颗粒的示踪方法, 包括纳米颗粒抗体的制备; 实验动物的喂食及取样切片; 纳米颗粒的定位与定量; 追踪消化道中不同时间、区段纳米颗粒的分布特征, 实现机体内纳米豆粕的示踪。本发明利用纳米颗粒的抗原性实现对其机体分布的示踪, 为没有特征光谱标志, 且摄入后会破碎 / 分解的纳米颗粒示踪提供了解决方案。

1. 一种纳米颗粒的示踪方法,其特征是按以下步骤:

(1) 抗体的制备:选择纳米颗粒/纳米食品颗粒具有抗原性的整体/碎片,或其较稳定的主要/特征成份,免疫动物,制备高效价抗体;将制得的抗体分为两部分,其中一部分抗体,纯化后,用胶体金颗粒标记抗体,用于定位检测;另一部分用于 ELISA 检测中的定量;

(2) 喂食及切片:将纳米颗粒/纳米食品颗粒灌喂给实验动物,喂服后各时间段,将实验动物解剖,迅速取出消化道,并在各个部位,进行取样,分别进行冰冻切片和组织匀浆;

(3) 纳米颗粒的定位与定量:利用胶体金标记的抗体对切片进行染色,光学显微镜和电子显微镜观察纳米颗粒/纳米食品颗粒具有抗原性的整体/碎片,或其较稳定的主要/特征成份在显微及亚显微水平上的分布;采用 ELISA 方法进行定量分析,测定不同部位来源的组织匀浆中纳米颗粒/纳米食品颗粒具有抗原性的整体/碎片,或其较稳定的主要/特征成份的含量;

(4) 结果分析:将(3)中观察和测定的结果与其取样部位相对照,即可追踪消化道中不同时间、区段纳米颗粒/纳米食品颗粒的分布特征,实现机体内纳米豆粕的示踪。

一种纳米颗粒的示踪方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物学示踪技术领域。

背景技术

[0002] 纳米科学技术的迅速发展,引起 21 世纪的科学技术、工业和农业等发生革命性变化。2003 年 Science 等顶级杂志相继发表文章,提出纳米尺度物质的生物学效应及其对环境和健康的影响问题,这引起了科学界的高度重视。纳米颗粒细胞渗透能力很强,虽然其安全性一直受到质疑,但用于药物和营养载运则有广阔前景。人们在研究、生产以及生活中接触到纳米材料的次数越来越多,而纳米材料的颗粒尺寸越小,显示出生物毒性的倾向越大。

[0003] 在食品领域,纳米技术,如纳米食品加工技术、纳米营养素制备技术、纳米食品包装、纳米检测技术都是研究热点。对纳米食品而言,需选择适当的粒径保证食品安全,改善其营养特性。这两个方面的问题,都与纳米食品进入细胞或机体后形态和分布特征密切相关,并以其示踪研究为基础。另外,现有食品中可能已经包含有纳米颗粒,其安全性也未得到确证。

[0004] 在已有的纳米颗粒安全性研究中,主要包括呼吸道吸入或者皮肤接触的环境中纳米颗粒,也包括部分口服摄入的纳米颗粒。研究涉及的颗粒均为生物惰性材质,不易与有机体发生相互作用,如纳米碳管,量子点,金属及其氧化物颗粒等。他们在生物体内不易破裂、降解,即形状和成分都不发生变化。现有在纳米颗粒的示踪研究,多采用光学或者谱学方法,如利用荧光标记,原子吸收光谱测定等。纳米食品的示踪研究难度在于其形状和成分均发生变化,故难以用以上方法示踪。在许多食品或药品的代谢研究中,同位素标记也是追踪目标分子的一个重要手段,但给成分复杂的纳米食品颗粒均匀加上同位素标记也很困难。

[0005] 生物大分子的抗原性,给纳米食品的示踪研究带来了新的思路。纳米颗粒和 / 或其碎片,或者其较稳定的主要 / 特征成份,都可以制备获得抗体,而后利用抗原 - 抗体反应即可检测到痕量过敏原蛋白的存在,追踪纳米食品颗粒在机体中的分布。例如纳米豆粕中的过敏原蛋白就可以作为天然标记用于追踪纳米食品的分布。大豆的主要过敏原蛋白 β -伴球蛋白占大豆总蛋白的 10% ~ 12.7%,稳定性强,耐酶解,不易消化,其致敏原性往往在到达肠道时才显现,说明其在肠道中基本结构仍然没有受到破坏。它的这一特性,使得它可以被用作一个稳定的标记,用于追踪纳米豆粕在细胞体系中的分布。

发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种追踪机体(消化道)内纳米颗粒,尤其是纳米食物颗粒在机体内的分布的方法。利用纳米食物颗粒的抗原性对其进行追踪,具体步骤包括。

[0007] (1) 抗体的制备:选择纳米颗粒 / 纳米食品颗粒具有抗原性的整体 / 碎片,或其较稳定的主要 / 特征成份,免疫动物,制备高效价抗体;将制得的抗体分为两部分,其中一部分抗体,纯化后,用胶体金颗粒标记抗体,用于定位检测;另一部分用于 ELISA 检测中的定

量。

[0008] (2) 喂食及切片 : 将纳米颗粒 / 纳米食品颗粒灌喂给实验动物, 如小鼠, 大鼠; 喂服后各时间段, 将实验动物解剖, 迅速取出消化道, 并在各个部位, 如口腔、咽、食管、胃、十二指肠、空肠、回肠和大肠等部位, 进行取样, 分别进行冰冻切片和组织匀浆。

[0009] (3) 纳米颗粒的定位与定量 : 利用胶体金标记的抗体对切片进行染色, 光学显微镜和电子显微镜观察纳米颗粒 / 纳米食品颗粒具有抗原性的整体 / 碎片, 或其较稳定的主要 / 特征成份在显微及亚显微水平上的分布; 采用 ELISA 方法进行定量分析, 测定不同部位来源的组织匀浆中纳米颗粒 / 纳米食品颗粒具有抗原性的整体 / 碎片, 或其较稳定的主要 / 特征成份的含量。

[0010] (4) 结果分析 : 将(3)中观察和测定的结果与其取样部位相对照, 即可追踪消化道中不同时间、区段纳米颗粒 / 纳米食品颗粒的分布特征, 实现机体(消化道)内纳米豆粕的示踪。

[0011] 本发明利用纳米颗粒的抗原性实现对其机体分布的示踪, 为没有特征光谱标志, 且摄入后会破碎 / 分解的纳米颗粒示踪提供了解决方案。

具体实施方式

[0012] 本发明将通过以下实施例作进一步说明。

[0013] 实施例 : 利用 β -伴球蛋白追踪纳米豆粕颗粒在大鼠消化道中的分布。

[0014] 具体步骤包括。

[0015] (1) 抗体的制备 : 选择纳米豆粕颗粒中具有抗原性的特征成分——大豆过敏原蛋白 β -伴球蛋白免疫新西兰白兔, 制备高效价抗体; 将一部分抗体纯化后, 用胶体金颗粒标记抗体, 用于定位检测; 另一部分用于 ELISA 检测中的定量。

[0016] (2) 喂食及切片 : 按照 0.15, 0.5, 1.0, 1.5, 3.0 克 / 千克体重饲喂大鼠, 分别在喂服纳米豆粕 0.5 小时, 1 小时, 2 小时, 4 小时, 6 小时后处死大鼠并迅速解剖取出消化道, 在口腔、咽、食管、胃、十二指肠、空肠、回肠和大肠等部位, 进行取样, 分别进行冰冻切片和组织匀浆。

[0017] (3) 纳米豆粕在消化道内的定位与定量 : 利用胶体金标记的抗体对切片进行染色, 光学显微镜和电子显微镜观察 β -伴球蛋白在显微及亚显微水平上的分布; 采用 ELISA 方法进行定量分析, 测定不同部位来源的组织匀浆中 β -伴球蛋白的含量。

[0018] (4) 结果分析 : 将(3)中观察和测定的结果与其取样部位相对照, 获得消化道中不同时间、区段纳米豆粕的分布特征, 实现机体(消化道)内纳米豆粕的示踪。

专利名称(译)	一种纳米颗粒的示踪方法		
公开(公告)号	CN103675260A	公开(公告)日	2014-03-26
申请号	CN201310650642.1	申请日	2013-12-03
[标]申请(专利权)人(译)	南昌大学		
申请(专利权)人(译)	南昌大学		
当前申请(专利权)人(译)	南昌大学学报		
[标]发明人	吴志华 郝红江 李雯莹 邱昌将 陈红兵 李欣 佟平 杨安树		
发明人	吴志华 郝红江 李雯莹 邱昌将 陈红兵 李欣 佟平 杨安树		
IPC分类号	G01N33/532 G01N1/30		
CPC分类号	G01N33/587		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种纳米颗粒的示踪方法，包括纳米颗粒抗体的制备；实验动物的喂食及取样切片；纳米颗粒的定位与定量；追踪消化道中不同时间、区段纳米颗粒的分布特征，实现机体内纳米豆粕的示踪。本发明利用纳米颗粒的抗原性实现对其机体分布的示踪，为没有特征光谱标志，且摄入后会破碎/分解的纳米颗粒示踪提供了解决方案。