

胶体金免疫层析技术在天然小分子化合物检测中的应用

马婷, 张婷*

(上海中医药大学穆拉德中药现代化研究中心, 上海 201203)

[摘要] 胶体金免疫层析技术是一种将胶体金免疫技术和色谱层析技术相结合的固相膜免疫分析方法,在食品、农业、生物、临床医学领域已得到广泛应用,有研究者在制备了天然小分子化合物特异性单克隆抗体的基础上,将该技术应用于天然药物的检测中,具有简便快速、样品用量极少、可肉眼识别结果等优势。文章主要介绍了胶体金免疫层析技术通过抗原抗体竞争性结合进行检测的基本原理,查阅近年来的国内外文献,综述了该技术在不同结构类型天然小分子化合物检测中的研究报道,认为该技术对于完善天然药物质量控制体系具有重要的研究价值,同时也客观论述了该技术应用中存在的优缺点、技术障碍以及改进方法,为该技术应用于天然药物的质量控制提供有益的参考和借鉴。

[关键词] 胶体金免疫层析技术;天然小分子化合物;单克隆抗体;检测分析

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)12-0221-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015120221

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150428.1020.010.html>

[网络出版时间] 2015-04-28 10:20

Application of Gold Immunochromatographic Assay (GICA) in Detection of Natural Small Molecules

MA Ting, ZHANG Ting* (*Murad Research Center for Modernized Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China*)

[Abstract] Gold immunochromatographic assay (GICA) is established by combining the colloidal gold immunoassay with chromatographic assay in solid membrane and has been widely applied in research field of food, agriculture, biology and clinical medicine. GICA has been applied in detection of natural small molecules based on preparation of specific monoclonal antibodies and has the advantages of simplicity, rapidity, less sample consumption and visual identification results with naked eyes. The paper introduced the principle of GICA on account of competitive combination of antigen and antibody, and summarized the research report on application of GICA in detection of different types of natural small molecules based on the domestic and abroad literatures in recent years, indicating that GICA has great significance on improvement of quality control system of natural medicines. Moreover, the advantages and disadvantages, technical obstacles and improvement of GICA are discussed in order to provide a salutary reference for quality control of natural medicines.

[Key words] gold immunochromatographic assay (GICA); natural small molecules; monoclonal antibody; detection and analysis

胶体金免疫层析技术 gold immunochromatographic assay (GICA)是继三大标记技术(荧光免疫技术、酶免疫分析、放射免疫分析)后发展起来的,将胶体金免疫技术和色谱层析技术相结合的固相膜免疫分析方法^[1-2],在临床医学检测^[3-4]、激素检测^[5-6]、食品安全检测^[7-8]、毒品快速检测^[9]以

及抗原抗体等诸多诊断领域迅速发展。同时该技术也被应用于检测化学药物,如磺胺嘧啶类药物^[10]、乙烯雌酚^[11]、奈韦拉平^[12]、沙丁胺醇^[13]等。

近年来,随着对天然药物研究的不断深入,有研究者在制备了天然小分子化合物特异性单克隆抗体的基础上,建立

[收稿日期] 20140929 (003)

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(81001631);上海市自然科学基金项目(09ZR1429500);上海市教育委员会科研创新项目(自然科学类,15ZZ064)

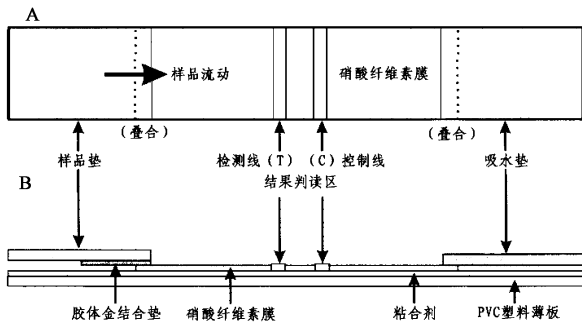
[第一作者] 马婷,在读硕士,从事中药活性成分与质量评价研究, Tel:021-51322534, E-mail:mating_ok@126.com

[通讯作者] *张婷,博士,副研究员,硕士生导师,从事中药活性成分与质量评价研究, Tel:021-51322534, E-mail:zhtcpu@163.com

了相应的 GICA 检测方法,具有快速稳定、操作简便的优点,检测结果直观可靠,无需专业知识,基层单位人员容易掌握^[14-15],这对于推动天然药物复杂体系的质量控制研究具有一定的借鉴参考意义。本文介绍了 GICA 的基本原理,归纳整理了近 10 年来 GICA 应用于不同结构类型的天然小分子化合物的研究报道,并对该技术在天然药物中的应用进行了展望。

1 GICA 的基本原理

胶体金免疫层析试纸条一般由塑料垫板、样品垫、硝酸纤维素膜、胶体金结合垫、吸水垫组成,其结构见图 1^[3]。其原理是将特异性的抗原或抗体先固定于硝酸纤维素膜的某一区带,当该干燥的硝酸纤维素膜一端浸入样品(如尿液、血液、唾液等)后,由于毛细管作用,从下往上迁移,依次经过胶体金结合垫、吸附捕获试剂的检测线以及吸附金标结合物的控制线,体系中发生抗原与抗体的特异性结合反应,这一反应使胶体金在这一带聚集而显示出胶体金的颜色,根据硝酸纤维素膜上显色条带的有无或颜色深浅来定性或半定量,从而实现特异性的免疫诊断^[14]。控制线是为说明所建立的方法的可行性,其显色,则方法可行。



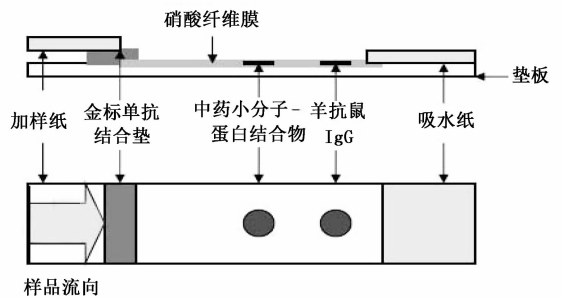
A. 俯视; B. 侧视
图 1 胶体金免疫层析试纸条结构

Fig. 1 Sketch of colloidal gold immunochromatographic test trip

GICA 用于检测天然药物中的小分子化合物时,是基于抗原抗体竞争性结合的原理。特异性识别小分子化合物的单抗用胶体金标记后固定在结合垫上作为检测试剂,样品溶液在虹吸作用下经过金标结合垫,将金标单抗溶解与小分子化合物结合并沿着硝酸纤维素膜向前移动。当移动至固定有抗原(小分子化合物与蛋白质偶联物)的捕获区域(检测线)时,若溶液中小分子化合物过量,则过量的小分子与已经结合小分子的金标单抗随着溶液一起向上迁移,此时金标单抗将不会与检测线上的固有抗原结合而显色,只在吸附金标结合物的控制线(固定有二抗)上出现一条条带;若溶液中小分子不过量甚至没有小分子存在,则未能结合样品中小分子的金标单抗将与检测线上固有抗原结合而显色,在检测线和控制线上各出现一条条带。其工作原理见图 2^[16]。

2 GICA 在天然小分子化合物检测中的应用

天然药物中的小分子化合物结构类型丰富多样,结构不同的化合物合成人工抗原的方法不同,从而激发小鼠产生不同的免疫应答,对后期制备的单抗的特异性及效价、继而而对



A. 侧视; B. 俯视
图 2 胶体金免疫层析试纸条检测天然小分子化合物的工作原理
Fig. 2 Principle of colloidal gold immunochromatographic test trip in application of natural small molecules

GICA 的灵敏度和检测限等都会产生显著的影响。本文以天然小分子化合物的结构类型为分类依据,归纳总结了 GICA 在天然药物检测分析中的应用研究报道。

2.1 皂苷类 五加科植物人参 *Panax ginseng* 为名贵滋补中药,其主要活性成分为达玛烷型四环三萜皂苷。Putalun W 等建立了 GICA 法用于检测药材中的人参皂苷 Rb₁ (G-Rb₁) 和人参皂苷 Rg₁ (G-Rg₁), 样品溶液中的 G-Rb₁ 和 G-Rg₁ 与试纸条上固定的捕获试剂 [G-Rb₁-人血清白蛋白 (HSA) 和 G-Rg₁-HSA 偶联物] 竞争结合有限的检测试剂(胶体金标记的 G-Rb₁ 单抗和 G-Rg₁ 单抗)。同时含有过量 G-Rb₁ 和 G-Rg₁ 的样品在对应的检测线上均不显色, G-Rb₁ 和 G-Rg₁ 均不过量甚至不含有 G-Rb₁ 和 G-Rg₁ 的样品在检测线上均显色。样品只含有过量的 G-Rb₁ 时只在 G-Rg₁ 的检测线上显色;反之,样品只含有过量的 G-Rg₁ 时只在 G-Rb₁ 的检测线上显色。试纸控制线固定了羊抗鼠 IgG 二抗,任何样品均可显色。该方法对 G-Rb₁ 和 G-Rg₁ 的检测限均为 2 mg·L⁻¹,定性检测三七、人参、西洋参药材中 G-Rb₁ 和 G-Rg₁ 的结果与间接竞争酶联免疫吸附法 indirect competitive enzyme-linked immunosorbant assay (ic ELISA) 一致,能应用于相关药材和复方制剂的质量控制^[17]。南铁贵等利用胶体金标记的人参皂苷 Re (GRe) 单克隆抗体制备了 GRe 胶体金免疫检测试纸条,对不同年份栽培人参进行植物培育研究,结果表明 3 年生及以上人参检测线处未显色,显示为阳性,白萝卜和空白对照显示为阴性,最低检测限为 200 μg·L⁻¹,试纸条测定时间为 10 min,结果与 ic ELISA 一致,可快速判断人参真伪和品质优劣,为中药材真伪鉴定和品质评价提供了新方法^[18]。

Pseudojубogenin glycosides 是假马齿苋 *Bacopa monnieri* 的主要活性成分,imsungnoen N 等将 bacopaside I 的特异性单克隆抗体以胶体金标记后作为检测试剂,bacopaside I 与 HSA 的偶联物作为捕获试剂,建立的 GICA 检测限为 125 μg·L⁻¹,与 ELISA 结合可用于快速地定量检测含 pseudojубogenin glycosides 的植物药^[19]。

甘草酸 (GL) 为齐墩果烷型五环三萜皂苷,为甘草的主要活性成分。在利用 NaIO₄ 法合成免疫原、制备得到 GL 特

异性单克隆抗体^[20]的基础上,Putalun W 等利用胶体金颗粒标记 GL 单抗作为检测试剂,将 GL 与 HSA 偶联物作为捕获试剂,制备了检测 GL 的胶体金免疫层析试纸条,最低检测限达到 $250 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,检测样品所需的体积仅为 $200 \mu\text{L}$,在 10 min 内可显示清晰的结果,用于测定甘草属植物、甘草根和食品中 GL 的结果与 ELISA 一致,灵敏度高于高效液相色谱法(HPLC)^[16]。Zhao J 等通过改变人工抗原的合成方法,以活泼酯法合成出甘草皂苷的免疫抗原并诱导产生特异性更强的 GL 单克隆抗体^[21],以此制备 GL 的横向流动胶体金试纸条,视觉检测范围为 $20 \sim 50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,与 Putalun W 制备的试纸条相比,灵敏度提高了 5~12 倍,用于样品分析的结果显示,野生甘草和三到五年生甘草根在 GL-BSA 检测线处显示颜色比一到两年生甘草根浅,即前者 GL 含量比后者高^[22]。

积雪草是伞形科植物 *Centella asiatica* 的全草,积雪草苷是其活性成分。Sritularak B 等使用抗积雪草苷单克隆抗体制备了胶体金免疫层析试纸条,用于检测植物提取物中微量的积雪草苷,检测限为 $12.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,检测结果与 ELISA 一致,可用于简单快速地筛选含积雪草苷的植物样品^[23]。

2.2 萜类 青蒿素是中药黄花蒿 *Artemisia annua* 中抗恶性疟疾的有效成分,为倍半萜类化合物,其结构中没有紫外和荧光生色团,常规的 HPLC 检测方法一般需要对化合物进行柱前或者柱后衍生化处理,存在操作繁琐,分析成本高,灵敏度低等缺点。2009 年,He S P 等用青蒿琥酯(ATS)代替青蒿素,通过碳化二亚胺法将 ATS 与牛血清蛋白(BSA)相连作为免疫抗原,制备特异性单抗 mAb-3H₂,并建立 ic ELISA^[24]。但由于 3H₂ 杂交瘤细胞株的效价不高,不适合用于制备检测试纸。2014 年,He L 等通过活泼酯法将 ATS 与卵清蛋白(OVA)偶联作为抗原免疫老鼠,重新筛选出的单克隆抗体 3D₂G₇ 对青蒿素、ATS 和双氢青蒿素(DHA)具有高亲和力,利用此单抗建立横向流动免疫胶体金试纸,用于抗疟疾药物中 ATS 和 DHA 的定性和半定量分析,检测范围分别为 $100 \sim 200, 200 \sim 500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,且只特异性识别青蒿素类相关药物,对其他抗疟疾类药物无识别能力;其半定量检测 ATS, DHA 的结果与 HPLC 相一致,可用于识别 ATS, DHA 含量不合格的伪劣抗疟疾药物^[25]。

2.3 生物碱 吗啡为鸦片、吗啡和海洛因等毒品的主要代谢终产物,谢鑫等将吗啡分子与兔血清白蛋白交联,免疫 BALB/c 小鼠,应用淋巴细胞杂交瘤技术成功制备了抗吗啡单克隆抗体,与胶体金颗粒交联后利用纸层析技术进行标本检测,灵敏度达 $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[26]。张慧等通过增加胶体金试纸检测线的数目建立了免疫层析一步法半定量检测吗啡,通过待检液中吗啡和标记在胶体金表面的吗啡与精确定量呈条状点定于层析膜上的吗啡单克隆抗体发生竞争性结合,而显示于层析膜上的条纹数量,以确定待检液中吗啡的含量,条纹数越多,待检液中吗啡含量越高,检测时根据试纸上显色条带数的多少可以大致判定吗啡的含量,实现了采用胶体金技术的定量检测^[27]。姜燕等应用杂交瘤技术制备抗吗

啡、甲基安非他明的单克隆抗体,制备二合一胶体金检测试纸条,检测尿中吗啡的最低浓度为 $300 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,甲基安非他明的最低浓度为 $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,该试纸条具有高度灵敏性和特异性,实现检测多元化,为复方中多种成分同时检测提供了技术支持^[28]。

在食品中添加罂粟壳是国家严令禁止的违法行为,罂粟碱是罂粟壳中主要生物碱之一。方邢有等建立了检测食品中罂粟碱的胶体金免疫层析技术,检出限为 $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,正确检出率约为 97%^[29-30]。

麦角是麦角菌在寄生植物的子房中形成的紫黑色菌核。麦角菌毒素的有毒成分主要是以麦角酸为基本结构的一系列生物碱衍生物。陈刚等发明了一种快速检测麦角生物碱的胶体金检测卡及其制备方法:胶体金标记麦角生物碱抗体,将包被抗原麦角酸-OVA 偶联物及羊抗兔抗体分别均匀喷涂于硝酸纤维素膜上,从而形成检测线和质控线,组装麦角生物碱胶体金免疫试纸,最后将试纸条封装于检测卡壳体中,检测卡壳体上开有加样孔和观测孔。此检测卡携带方便,操作简单,能够现场半定量检测原粮及其制品中麦角生物碱的含量,使麦角生物碱的检测不再局限于专业机构的专业人员,各个禽畜养殖场、粮食收购站、各级检验检疫部门及消费者均可即时进行检验^[31]。

2.4 萜醌 Putalun W 等以胶体金分别标记番泻苷 A(SA)和番泻苷 B(SB)的特异性抗体作为检测试剂,以 SA-HSA 和 SB-HSA 作为捕获试剂,固定在试纸的硝酸纤维素膜上,建立免疫层析检测试纸条。该试纸所需检测样品体积为 $200 \mu\text{L}$,测定时间为 10 min,对 SA 和 SB 的检测限均为 $125 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,能够辨别互为异构体的 SA 和 SB,可用于植物、药物和生物体液中 SA, SB 的简单快速检测,并结合 ELISA 确定其准确浓度。样品分析结果显示,SA 与 SB 的含量比在豆科植物中约为 1:2,在蓼科植物中比例不一^[32]。

2.5 黄酮 黄芩苷(BA)是中药黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的主要成分,具有抗炎、抗过敏、抗氧化活性。Paudel M K 等用胶体金标记特异性识别 BA 和黄芩素的单克隆抗体,建立 BA 的胶体金免疫层析试纸条。该试纸条的检测限为 $0.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,测定时间为 15 min,受检样品中其他成分不会影响检测结果。与 ic ELISA 联合使用可作为 BA 的质量控制方法,在 $0.200 \sim 2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 相关性良好^[33]。

2.6 甾体 异羟基洋地黄毒苷是广泛应用于心脏疾病治疗的强心苷类药物,具有一定的毒性,接受治疗后应当定期监测患者血清中药物浓度。Omidfar K 等合成胶态纳米金并标记特异性识别 digoxin 的单克隆抗体探针,建立免疫层析法。肉眼检测 digoxin 的灵敏度可达 $2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,仅需 5 min 即可完成测定,所需时间比放射免疫测定法(RIA)减少 20~30 倍,血清样本检测结果与 RIA 一致^[34]。

雌二醇(17β -estradiol)是天然雌激素的重要成分,孙思明等采用标记有雌二醇单克隆抗体的胶体金颗粒与相对应的固定在硝酸纤维膜上的雌二醇结合物相结合,建立 GICA 技术。该方法检测限为 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;具有良好的特异性,与

乙烯雌酚、炔雌酚、壬基酚、阿特拉津及双酚 A 等环境内分泌干扰物中的雌激素无交叉反应;与标准检测方法 GC-MS 结果相比,准确度为 96.67%^[35]。

Nara S 等开发了一种半定量快速分析血清中皮质醇 cortisol 含量的胶体金试纸条,检测限为 30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,检测范围为 0~600 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,可用于血清和唾液中皮质醇的浓度测试^[36]。

2.7 其他 大麻是世界上最古老、最有名的致幻剂。大麻体内主要代谢物为四氢大麻酚-9-羧酸 11-nor- Δ^8 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid (THC)。黄书铭等利用胶体金免疫层析技术研制 THC 检测试纸条,对因药物滥用致使尿液中产生的 THC 进行分析,确立了最佳条件,能在 3~5 min 内快速检测出尿液中残留的最小浓度为 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 THC,且研制的试剂盒有效期限为 24 个月^[37]。陈连康等建立了检测尿液中 THC 的 GICA 技术,具有良好的特异性,与苯巴比妥、奎尼丁等化合物在浓度低于 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时不发生交叉反应,检测限为 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,对 216 份人尿样的检测结果表明,与 GC-MS 相比,灵敏度为 96.67%,准确性为 98.61%^[9]。

软骨藻酸 domoic acid (DA) 是一种天然毒性物质,为氨基酸类化合物,由海洋硅藻代谢产生。贝肉中 DA 的安全计量为 20 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,摄入 DA 会中毒导致胃肠道和神经系统症状,包括严重头痛、精神错乱以及临时或永久的记忆亏损。Tsao Z J 等通过杂交瘤技术制备特异性识别 DA 的单克隆抗体 9F1F11。该单抗由骨髓瘤细胞 P3/NS1/1-AG4-1 与 BALB/c 小鼠脾细胞融合产生,为 IgG1 型, κ 链,通过直接竞争 ELISA 法 direct competitive ELISA (cd ELISA) 鉴定单抗的 IC_{50} 为 0.58 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,与结构类似物谷氨酸 glutamic acid、卡英酸 kainic acid 没有交叉反应。利用单抗建立了胶体金快速检测试纸,检测限达到 5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,试纸测定时间为 10 min,结果与 cd ELISA 法一致,能够准确、快速检测贝类样品中的 DA^[38]。

冈田软海绵酸 (OA) 属于聚醚类海洋生物毒素,是 C38 多环聚醚类脂肪酸的衍生物,基本骨架几乎全部由乙酸构成。Liu B H 等通过杂交瘤技术获得抗 OA 的单克隆抗体 6B1A3,属于 IgG1 型, κ 链,cd ELISA 法测得单抗的 IC_{50} 为 0.077 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。利用此单抗制备的纳米金免疫层析试纸条的检测限为 5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,试纸测定时间 10 min,分析 20 例贝类样品结果与 ELISA 一致^[39]。

黄曲霉毒素 B₁ aflatoxin B₁ (AFB₁) 是真菌的次级代谢产物,易存在于花生、玉米和小麦等农作物中,具有强烈的毒性和致癌性。邓省亮等采用胶体金颗粒标记抗 AFB₁ 单克隆抗体并喷于玻璃纤维上,AFB₁-BSA 偶联抗原和二抗驴抗鼠 IgG 分别结合于硝酸纤维膜上,依次将样本垫、胶金垫、硝酸纤维膜和吸水纸组装切割成胶体金试纸条并装入检测卡,建立快速检测食品中 AFB₁ 的方法。检测卡检测限为 5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,测定时间为 10 min,批内和批间重复性为 100%,假阳性率和假阴性率均为 0,检测了 11 份大米、花生和玉米样品,检测结果

与 ELISA 一致^[40]。

Park H M 等通过横向流动系统建立马尿酸胶体金免疫检测技术,在 5 min 内可检测出尿液中最小浓度为 2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的马尿酸。临床研究中应用于疑似患者尿液检查,检测结果与 HPLC 一致^[41]。

综上所述,GICA 可应用于皂苷、生物碱、甾体等多种结构类型的天然小分子化合物的快速检测,不仅可用于天然药物活性或毒性成分的药代动力学研究,还可在现场样品抽检,中药栽培过程中有效成分富集的实时监测,以及中药材、中成药的真伪鉴定和质量控制等方面发挥重要作用,是非常实用的天然小分子化合物的检测分析方法。

3 GICA 技术的应用展望

尽管 GICA 在天然小分子化合物的检测分析中已有一些应用,但是相对于广泛的天然化合物库而言,现有的研究报道还是非常少的。其原因可能是由于 GICA 基于抗原抗体结合原理,对与胶体金结合的抗体要求具有较高的特异性,通常要求是理化性状高度均一、生物活性单一、与抗原结合的特异性强、便于大量生产的单克隆抗体;而小分子化合物本身不具有免疫原性,需与蛋白质偶联后才能作为免疫抗原免疫动物。因此制备符合免疫条件的人工抗原和特异性高的单抗具有较大的难度,从而限制了该技术在天然药物研究领域的应用。针对天然小分子化合物的结构特征,在遵循尽量保留化合物结构母核的基本原则下,采用不同的方法合成人工抗原^[42],以改变后期制备的单抗的抗原识别位点,再采用杂交瘤技术大批量筛选单克隆抗体细胞株,剔除非特异性、特异性差的克隆,获得特异性强、效价高的单克隆抗体^[22],这将是今后开发 GICA 技术应用于天然药物检测的需要解决的关键技术。

作为一种免疫学检测手段,GICA 测试结果的敏感性和特异性增高,假阳性率降低;检测限可降低至 ng 级;且研制的试纸条有一定的保质期,方便携带,测定时间短;样品无需前处理,结果分析无需任何仪器设备,肉眼即可观察检测结果且可以长期保存。然而,GICA 主要局限于定性分析,需要与其他方法如 ELISA 联用才能实现精确的定量分析^[33]。今后的研究中,可以通过优化捕获区域的抗原和金标单抗的比例或者增加检测线的数目,调整检测限进行半定量检测^[27];也可以制备一种以上小分子化合物的单抗,制作成多合一的胶体金试纸条,实现天然药物复杂体系中多种成分的检测分析^[28]。因此,建立天然药物中活性或毒性成分的 GICA 检测方法对于完善天然药物质量控制体系具有重要的科研价值,如能开发成商业化的试剂盒,就能降低检测成本,有效地弥补广大基层单位因设备和经费问题而无法开展的药品、食品检测和监控,具有重要的经济价值和社会价值。

[参考文献]

[1] Ngom B, Guo Y, Wang X, et al. Development and application of lateral flow test strip technology for detection of infectious agents and chemical

- contaminants; a review [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397(3):1113-1135.
- [2] Beggs M, Novotny M, Sampedro S. A self-performing chromatographic immunoassay for the qualitative determination of human chorionic gonadotrophin (HCG) in urine and sera [J]. *Clin Chem*, 1990, 36(11):1084-1085.
- [3] 杨书豪,张云汉,王玉金,等. 血清甲胎蛋白胶体金免疫层析快速检测法的建立及应用[J]. *实用肿瘤杂志*, 2004, 19(1):48-51.
- [4] 刘彦慧,罗春丽,吴小侯,等. 检测尿液 CK20 的胶体金试条研制及初步应用[J]. *临床检验杂志*, 2007, 25(3):174-176.
- [5] Jiang J, Wang Z, Zhang H, et al. Monoclonal antibody-based ELISA and colloidal gold immunoassay for detecting 19-nortestosterone residue in animal tissues [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(18):9763-9769.
- [6] Huo T, Peng C, Xu C, et al. Development of colloidal gold-based immunochromatographic assay for the rapid detection of medroxyprogesterone acetate residues [J]. *Food Agric Immunol*, 2006, 17(3/4):183-190.
- [7] Byzova N A, Zvereva E A, Zherdev A V, et al. Pretreatment-free immunochromatographic assay for the detection of streptomycin and its application to the control of milk and dairy products [J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 701(2):209-217.
- [8] Wang X, Li K, Shi D, et al. Development and validation of an immunochromatographic assay for rapid detection of sulfadiazine in eggs and chickens [J]. *J Chromatogr B*, 2007, 847(2):289-295.
- [9] 陈连康,曾立波,赵志强,等. 胶体金标记检测大麻单克隆抗体免疫试剂盒研制[J]. *中国法医学杂志*, 2002, 17(2):93-95.
- [10] Guo Y, Ngom B, Le T, et al. Utilizing three monoclonal antibodies in the development of an immunochromatographic assay for simultaneous detection of sulfamethazine, sulfadiazine, and sulfaquinolone residues in egg and chicken muscle [J]. *Anal Chem*, 2010, 82(18):7550-7555.
- [11] Xu C, Wang H, Peng C, et al. Colloidal gold-based immunochromatographic assay for detection of diethylstilbestrol residues [J]. *Biomed Chromatogr*, 2006, 20(12):1390-1394.
- [12] Pattarawarapan M, Nangola S, Cressey T R, et al. Development of a one-step immunochromatographic strip test for the rapid detection of nevirapine (NVP), a commonly used antiretroviral drug for the treatment of HIV/AIDS [J]. *Talanta*, 2007, 71(1):462-470.
- [13] Xie C, Chen F, Yang T. A high-affinity anti-salbutamol monoclonal antibody: Key to a robust lateral-flow immunochromatographic assay [J]. *Anal Biochem*, 2012, 426(2):118-125.
- [14] Paek S H, Lee S H, Cho J H, et al. Development of rapid one-step immunochromatographic assay [J]. *Methods*, 2000, 22(1):53-60.
- [15] Kaur J, Singh K V, Boro R, et al. Immunochromatographic dipstick assay format using gold nanoparticles labeled protein-hapten conjugate for the detection of atrazine environ [J]. *Sci Technol*, 2007, 41(14):5028-5036.
- [16] Putalun W, Tanaka H, Shoyama Y. Rapid detection of glycyrrhizin by immunochromatographic assay [J]. *Phytochem Anal*, 2005, 16(5):370-374.
- [17] Putalun W, Fukuda N, Tanaka H, et al. A one-step immunochromatographic assay for detecting ginsenosides Rb₁ and Rg₁ [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2004, 378(5):1338-1341.
- [18] 南铁贵,曹振,何丽珊,等. 人参皂苷 Re 胶体金免疫检测试纸条的制备与应用 [J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(16):2586-2589.
- [19] Imsungnoen N, Phrompittayarat W, Ingkaninan K, et al. Immunochromatographic assay for the detection of pseudojubilogenin glycosides [J]. *Phytochem Anal*, 2009, 20(1):64-67.
- [20] Shan S, Tanaka H, Shoyama Y. Enzyme-linked immunosorbent assay for glycyrrhizin using anti-glycyrrhizin monoclonal antibody and an eastern blotting technique for glucuronides of glycyrrhetic acid [J]. *Anal Chem*, 2001, 73(24):5784-5790.
- [21] Zhao J, Li G, Wang B M, et al. Development of a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for the analysis of glycyrrhizic acid [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2006, 386(6):1735-1740.
- [22] Zhao J, He S P, Liu W, et al. Development of a lateral flow dipstick immunoassay for the rapid detection of glycyrrhizic acid [J]. *Food Agric Immunol*, 2006, 17(3/4):173-181.
- [23] Sritularak B, Juengwatanatrakul T, Putalun W, et al. A rapid one-step immunochromatographic assay for the detection of asiaticoside [J]. *J Nat Med*, 2012, 66(2):279-283.
- [24] He S P, Tan G Y, Li G, et al. Development of a sensitive monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for the antimalaria active ingredient artemisinin in the Chinese herb *Artemisia annua* L. [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 393(4):1297-1303.

- [25] He L, Nan T, Cui Y, et al. Development of a colloidal gold-based lateral flow dipstick immunoassay for rapid qualitative and semi-quantitative analysis of artesunate and dihydroartemisinin [J]. *Malar J*, 2014, 13(1): 127-136.
- [26] 谢鑫,金伯泉,朱勇,等. 抗吗啡单克隆抗体的制备及其胶体金交联物的初步应用[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2003, 19(4):395-396.
- [27] 张慧,唐江萍,刘跃曾,等. 单克隆抗体免疫层析一步法半定量检测吗啡的方法及试纸:中国, CN 1259668A[P]. 2000-07-12.
- [28] 姜燕,吕昌龙,单凤平. 吗啡和甲基安非他明单克隆抗体联合胶体金检测试卡的研制[J]. *中国免疫学杂志*, 2007, 23(7):637-640.
- [29] 方邢有,高志贤. 胶体金免疫层析法检测罂粟碱的研究[J]. *分析试验室*, 2005, 24(12):1-4.
- [30] 高志贤,方邢有,周焕英,等. 检测罂粟碱的胶体金免疫试纸及其制备方法:中国, CN 1657938A[P]. 2005-08-24.
- [31] 陈刚,周鸣镛,张东升,等. 快速检测麦角生物碱的胶体金检测卡及其制备方法:中国, CN 102707047A[P]. 2012-10-03.
- [32] Putalun W, Morinaga O, Tanaka H, et al. Development of a one-step immunochromatographic strip test for the detection of sennosides A and B[J]. *Phytochem Anal*, 2004, 15(2):112-116.
- [33] Paudel M K, Putalun W, Sritularak B, et al. Development of a combined technique using a rapid one-step immunochromatographic assay and indirect competitive ELISA for the rapid detection of baicalin [J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 701(2):189-193.
- [34] Omidfar K, Kia S, Kashanian S, et al. Colloidal nanogold-based immunochromatographic strip test for the detection of digoxin toxicity[J]. *Appl Biochem Biotech*, 2010, 160(3):843-855.
- [35] 孙思明,周焕英,房彦军,等. 雌二醇的免疫胶体金试纸法检测[J]. *中国公共卫生*, 2007, 23(1):126-127.
- [36] Nara S, Tripathi V, Singh H, et al. Colloidal gold probe based rapid immunochromatographic strip assay for cortisol[J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 682(1):66-71.
- [37] 黄书铭,冀利峰,郑曙剑. 四氢大麻酚酸检测试纸条的研制[J]. *食品安全质量检测学报*, 2013, 4(4):1228-1233.
- [38] Tsao Z J, Liao Y C, Liu B H, et al. Development of a monoclonal antibody against domoic acid and its application in enzyme-linked immunosorbent assay and colloidal gold immunostrip [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(13):4921-4927.
- [39] Liu B H, Hung C T, Lu C C, et al. Production of monoclonal antibody for okadaic acid and its utilization in ultrasensitive enzyme-linked immunosorbent assay and one-step immunochromatographic strip[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(6):1254-1260.
- [40] 邓省亮,赖卫华,许杨. 胶体金免疫层析法快速检测黄曲霉毒素 B₁ 的研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(2):232-236.
- [41] Park H M, Lee S H, Chung H, et al. Immunochromatographic analysis of hippuric acid in urine[J]. *J Anal Toxicol*, 2007, 31(6):347-353.
- [42] 赵宁毅,张婷. 中药小分子人工抗原的制备及鉴定[J]. *时珍国医国药*, 2012, 23(7):1740-1743.

[责任编辑 顾雪竹]