

基于免疫胶体金标记技术的检测研究及其在堆肥中的应用展望

赖 萃 曾光明* 黄丹莲 冯冲凌 胡 霜
苏峰峰 赵美花 黄 超 危 臻

(湖南大学环境科学与工程学院, 环境生物与控制教育部重点实验室, 长沙 410082)

摘 要 金纳米颗粒作为一种性能优异的标记物应用广泛。随后发展出来的免疫胶体金标记技术作为一种灵敏度高、操作步骤简便、检测快速的免疫反应检测技术得到广泛关注。本文介绍了免疫胶体金标记技术的基本原理、制备方法并详述了近年来该技术的新发展。此外,结合免疫胶体金标记技术在免疫检测与环境检测实际工作中的应用,展望了其在堆肥环境检测中的应用潜力和发展前景。

关键词 胶体金; 标记; 免疫检测; 堆肥; 评述

1 引 言

堆肥被认为是将固体废物减量化、资源化的最佳途径^[1]。研究建立有效而实用的原位、在体、实时、高灵敏度、高选择性的分析检测方法,用于检测与控制堆肥过程中生物组分及污染物,这是堆肥研究中的关键技术。传统的堆肥分析检测方法常需要繁杂、冗长的萃取、提纯、浓缩、色谱分离等步骤,而且试剂用量大,费用高^[2]。免疫胶体金标记技术是以胶体金为示踪标记物,应用于特异性抗原抗体反应的一种新型免疫标记技术。胶体金具有纳米材料所特有的三大效应:表面效应、小尺寸效应和宏观量子隧道效应,具有很大的比表面积,独特的光学、导电、导热等物理特性以及良好的生物相容性^[3~5],可以与蛋白质、核酸等非共价结合,且检测不依赖昂贵的激光检测仪器,只需普通光学仪器,甚至肉眼可辨。另外免疫胶体金标记技术具有制作方便、价格低廉、容易操作、无放射性污染等优点,满足了现场快速环境检测及实时监测等方面的要求。但是该技术在环境污染治理领域,特别是堆肥环境检测的应用起步较晚,相关报道较少。本文通过评述免疫胶体金标记技术近年来的新发展及实际应用情况,特别是在环境领域的应用进展来展望其在堆肥环境检测中的应用前景。

2 免疫胶体金标记技术的研究现状

2.1 胶体金标记原理与制备

胶体金是氯金酸在还原剂的作用下,聚合成特定大小的金颗粒,并由于静电作用形成一种稳定的胶体状态,故称之为胶体金^[6]。在碱性条件下,胶体金颗粒表面带负电荷,可与目标蛋白质所带正电荷基团之间形成非共价键的静电吸引而牢固结合,这种结合对所标蛋白的生物学活性无明显影响。吸附在胶体金表面的抗原或抗体能定向将胶体金颗粒载运到组织或细胞内、固相载体上的相应抗体、抗原的位置。由于金颗粒具有高电子密度的特性,这些标记物在抗原抗体反应处聚集达到一定密度时(即金颗粒 10^7 个/ mm^2),出现肉眼可见的粉红色斑点^[7]。

胶体金溶液的常见制备方法大致分为白磷还原法、硼氢化钠还原法、抗坏血酸盐还原法、柠檬酸三钠还原法和鞣酸-柠檬酸三钠还原法。其基本原理是向一定浓度的金溶液内加入适量还原剂,使金离子还原为金原子。通过改变反应体系中氯金酸与还原剂的比例可得到所需不同直径的金颗粒。常规制备胶体金的方法是用电炉加热。Sun等^[8]改进了制备方法,采用微波技术所制胶体颗粒体系稳定,并且

2009-10-19收稿;2009-12-28接受

本文系国家重点基础研究“973”发展计划项目(Na 2005CB724203)、国家教育部长江学者和创新团队发展计划项目(Na RT 0719)、国家自然科学基金项目(Nos 50808073, 50978088)、湖南省科技重大专项(Na 2009FJ1010)、湖南省环境保护科技项目(Na 2007185)资助

* E-mail: zgning@hnu.cn

能控制颗粒大小。

胶体金标记物又被称为胶体金结合物、胶体金探针或免疫金。被标记物须经过彻底除盐的预处理,而制备稳定的胶体金结合物受多种因素影响,如金颗粒大小、离子浓度、被标记物用量及标记体系的 pH 值等。最适 pH 值一般接近或略大于被标记物的等电点,而被标记物的用量取决于金颗粒的大小。

评价胶体金质量的方法有肉眼观察、光谱分析评价、电镜评价及 Zeta 电位分析等。肉眼观察胶体金的颜色可对其质量进行初步判断。在可见光范围内 (400 ~ 700 nm) 对胶体金颗粒进行扫描获得胶体金可见光吸收光谱。3 ~ 20 nm 金颗粒在 520 nm 处有吸收峰,随着粒子粒径的增长,会出现最大吸收波长红移及峰形展宽的现象^[9-10]。透射电镜则可更直观地观察金颗粒的大小、均匀程度、颗粒的形状及凝集情况。Zeta 电位的大小可反映制备的胶体金体系的稳定程度。

2.2 免疫金标记技术的发展

1971 年, Faulk 等^[11]把免疫胶体金标记技术用于细胞结构的透射电镜 (TEM) 研究后,关于胶体金制备和应用研究的报道逐渐增多。1983 年, Holgate 等^[12]将免疫金染色技术 (IGS) 与银显影方法相结合创立了免疫金银染色法 (Immunogold silver staining, IGSS), 利用胶体金催化溶液中银离子的还原,使金属银在胶体金表面聚集,而聚集的银又起到了催化的作用,使得更多的银被还原 (如图 1)。通过这种增强作用使得在光镜下可视粒子的半径比单独的金颗粒增加了 10 ~ 50 倍,这样可以采用小颗粒 (< 15 nm) 以增加标记密度,从而有效地提高了免疫胶体金标记的灵敏度。

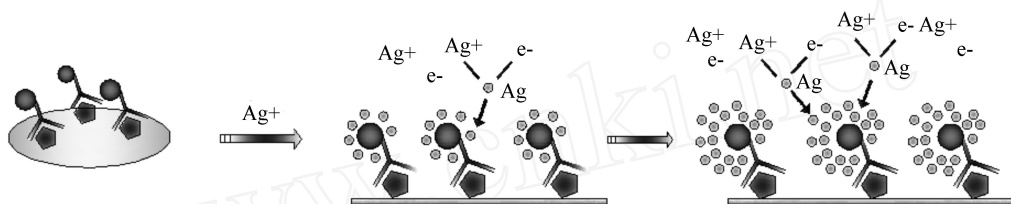


图 1 免疫金银染色法工作原理示意图

Fig 1 Schematic diagram of immunogold silver staining (IGSS)

● 抗原 (Antigen); ● 银颗粒 (Silver nanoparticle); ● 金颗粒 (Gold nanoparticle); Y 抗体 (Antibody)。

近年来,免疫胶体金标记技术得到了不断地发展和改进,微波 (MW) 技术开始应用其中。Galvez 等^[13]在不改变其它实验条件的情况下采用微波技术进行标记,使标记过程中固定时间至少缩短 20 min。两种技术的结合使标记效果更好,背景清晰,而且缩短染色时间。同时增加反应强度后较常规方法所需抗体浓度低,可节约价格昂贵的一抗。

免疫层析法 (Immunochromatography) 是 20 世纪 90 年代兴起的一种快速诊断技术,胶体金免疫层析技术 (GICA) 就是利用胶体金本身的显色特点结合免疫层析技术诊断特异性的待测物而发展起来的。这项技术既可采用双抗体夹心法测抗原,又可用间接法、竞争法测抗体。在该技术基础上研制的胶体金免疫层析试纸条、试剂盒操作起来方便快捷,应用前景广阔。

免疫胶金标记技术的发展已不仅仅局限在其作为示踪标志物的功能方面,已有关于放大检测信号方法研究的报道。生物素亲和素系统应用于免疫金标记技术,带正电荷的链霉亲和素标记在带负电荷的胶体金颗粒上,又能与生物素紧密结合,使检测信号在只有胶体金标记的基础上得到扩大^[14]。Hou 等^[15]利用缩氨酸与硝酸纤维素膜的相互作用固定生物素抗体于膜上,并分别采用有无银增强金标记技术检测生物素化缩氨酸,无银增强检出限为 100 amol/mL,银增强金标记检出限可达 100 zmol/mL。Tanaka 等^[16]将一抗也标记上胶体金,作为信号增强子从而提高检测的灵敏度,可检测到人血清中 10 pg/mL HCG,达到了 ELISA 方法检测的灵敏度。Ambrosi 等^[17]采用双标记方法将酶标二抗标记在胶体金上,一个 15 nm 的胶体金颗粒上可以标记约 10 个酶标二抗分子,其检测灵敏度比常规 ELISA 方法更高。

Nam 等^[18]在免疫金标记技术的基础上发展了 BCA (Bio-barcode amplification) 扩增技术,金颗粒表面修饰了起信号放大作用的条形码 DNA 和针对待测蛋白的抗体,磁微粒表面则修饰待测蛋白的另一种

单克隆抗体。两者与待测蛋白形成复合结构,复合物经过磁场分离,金颗粒受热变性释放条形码 DNA,通过对其进行无 PCR 或 PCR 检测,间接检测目标蛋白,检出限分别达 30 和 3 amol。经过多次信号放大技术,克服了对酶促反应的依赖,检测灵敏度比 ELISA 高 $10^3 \sim 10^6$ 倍,并可同时检测多个蛋白^[19]。钟晓琴等^[20]在 BCA 方法的基础上,将胶体金免疫标记技术与酶免疫标记技术有效地结合起来,制备酶标金探针。其灵敏度高且步骤简单,只需普通光学仪器即可检测蛋白质。通过对免疫金标记技术研究工作的不断深入,必将使该技术的使用效果更佳,应用于更多的研究领域。

3 免疫胶体金标记技术的应用进展

早期免疫胶体金标记技术主要应用于光学显微镜观察细胞表面抗原进行组化研究,但因灵敏度低而受到限制。IGSS 创立以后免疫金标记技术得到了广泛应用。目前,免疫胶体金标记技术在组化中的应用已日趋普遍,胶体金探针的种类也越来越多。由于胶体金的高电子密度使其在电镜下清晰可辨,因此该技术进一步在电镜上使用,由对组织细胞定位研究,进一步深入到了基因转录水平、基因表达的检测、染色体的基因定位、特定核酸序列在细胞内的空间分布分析及核酸复制过程中的定性与定量分析等。

3.1 免疫胶体金标记技术在免疫检测中的应用

免疫胶体金标记技术的逐步发展使其在免疫检测等许多领域已得到越来越多的应用。Wino 等^[21]分别制备核定位信号 NLS1 及 NLS2 抗体,电镜检测两种金标抗体在 A 流感病毒 vRNP 结构中的位点,以了解二者运输 vRNP 中的不同作用。检测结果显示:71% 的 vRNPs 上检测到 NLS1 抗体,低于 10% vRNPs 上检测到 NLS2 抗体。Jiang 等^[22]结合微阵列技术与免疫金标记技术检测弓形虫感染、风疹、巨细胞病毒、疱疹 (TORCH) 对妊娠期妇女及胎儿危害极大的病毒 IgM 抗体,检出限达 0.24 mg/L,操作方便。在肿瘤诊断方面应用胶体金免疫电镜技术结合生物体视学和图像分析技术,探讨良恶性肿瘤和癌前病变病理形态的定量诊断方法,使诊断的正确率明显提高。

由于胶体金具有肉眼可观测的红色,所以既可用于免疫电镜、光镜检测,又能作为指示物结合固相载体用于体外免疫检测抗原或抗体的存在。在检测病原微生物方面,Kalvatchev^[23]最早利用胶体金标记的抗立克次体的多克隆抗体、单克隆抗体及 IgY 来检测标本中的斑点热群立克次体。Zhou 等^[24]用胶体金标记的猪繁殖与呼吸综合症病毒 (PRRSV) 蛋白 M 及蛋白 N 单克隆抗体,在硝酸纤维素膜上与 2 抗构造夹心结构检测 PRRSV,检出限可达 $7.8 \times 10^3 \sim 1.6 \times 10^4$ TCID₅₀/mL。

在检测疾病相关蛋白方面,Guo 等^[25]综合低密度蛋白阵列、银离子增强及双单克隆抗体夹心法对心肌钙蛋白 I(cTnI)进行免疫检测,灵敏度接近 ELISA,并节省大量时间。Cho 等^[26]优化固相载体及抗体孵化条件,用 5 nm 胶体金颗粒标记 cTnI 单克隆抗体,银离子增强检测效果后比常规快速检测方法灵敏度提高近 51 倍。Hu 等^[27]研究了在单纳米颗粒模式下,用电感耦合等离子质谱技术 (ICP-MS) 检测微孔板中 15 nm 金颗粒标记的甲胎蛋白抗体,检出限达 0.016 μg/L。检测寄生虫方面也有报道^[28],激素类及血、尿药物浓度等免疫检测项目国内外有商品化胶体金试纸条或试剂盒供应。

3.2 免疫胶体金标记技术在环境检测中的应用

由于免疫胶体金标记技术不断地发展改进及其各种技术优势,已不仅仅局限应用在单一领域。近年来在环境学科中的报道逐渐增多,主要体现在两方面:一是利用免疫胶体金标记技术结合电镜等检测技术,通过观察所测物质的微观结构形态、空间位点变化来揭示其作用机理或者检测宏观性能指标;二是利用免疫层析技术制备免疫胶体金试纸条或试剂盒,现场快速检测进行定性、定量分析。

农药残留超标不仅污染农产品和生态环境,还将危及人体健康和生命安全。仪器分析农药残留样品前处理时间较长,并不适于现场检测。利用胶体金制备的免疫层析试纸条或试剂盒以其快速、简便、灵敏的特点已被逐渐应用于农药残留检测。甲胺磷是一种高效有机磷农药和杀虫剂,微量残留也会给环境造成危害,Shi 等^[29]制备的甲胺磷免疫层析金标试纸条对甲胺磷有高度的检测特异性,可检测到 1.0 μg/mL 的甲胺磷。羿国香等^[30]利用小分子-蛋白复合物及非均等竞争原理制备氯嘧磺隆胶体金免疫检测试纸条,用于土壤中氯嘧磺隆除草剂残留的现场快速检测,检出限可达 100 μg/L,有助于避免其残留毒性使下茬敏感作物受害。Wang 等^[31]将杀虫剂西维因半抗原偶联在 KLH 上作为免疫原,制备直

流式及侧流式两种免疫金标检测试纸条,在 5 min 内检出限分别可达 50 及 100 $\mu\text{g/L}$ 。Guo 等^[32]利用同时针对呋喃丹和三唑磷两种物质的双特异性抗体,另外结合分别针对二者的单克隆抗体,制备了两种类型的免疫金标试纸条来同时检测这两种农药残留物。结果显示,两种试纸条均有效,但第二种抗体制备的试纸条更为敏感,在水样中对二者的检出限分别可达 32 及 4 $\mu\text{g/L}$ 。Kaur 等^[33]以牛血清蛋白为载体蛋白,经其赖氨酸残基联结除草剂阿特拉津半抗原,并经其半胱氨酸残基联结胶体金颗粒,利用这种半抗原-蛋白-金颗粒复合物构造侧流式免疫检测试纸条可在 5 min 内检测水样中 1.0 $\mu\text{g/L}$ 级阿特拉津含量。

水体环境质量对人类生活有直接影响,操作简便、检测快速、灵敏度高及选择性好的水质检测方法能极大提高检测效率。免疫胶体金标记技术便被逐渐应用在水质检测及有关污染物分析研究中。吡喹酮是一种非甾体抗炎药,长期将未代谢完的非甾体抗炎药排入水体,将会对水生生物造成危害^[34]。Li 等^[35]制备的快速免疫层析金标试纸条,在 10 min 内检测水样中吡喹酮的检出限达 0.1 ng/mL,且在室温下可存放 8 星期,适应于现场快速检测。小球隐孢子虫、贾第鞭毛虫会引起人类肠胃疾病,是水质检测的指标。Rule 等^[36]结合表面增强共振拉曼散射 (SERRS) 与免疫胶体金标记技术检测这两种病原体,证明了两种技术的结合进行高灵敏度、多种物质同时检测的可行性。短裸甲藻毒素是一种与赤潮有关的神经毒素。Zhou 等^[37]利用胶体金标记的单克隆短裸甲藻毒素抗体制备了快速免疫层析试纸条,在 10 min 的现场检测时间内检出限为 20 $\mu\text{g/L}$ 。检测样中短裸甲藻毒素浓度在 10 ~ 4000 $\mu\text{g/L}$ 的范围内,试纸条检测区的颜色强度与短裸甲藻毒素浓度呈正相关。微囊藻毒素是由蓝藻产生的一种七肽单环肝毒素,它通过食物链传递严重威胁人类健康。Young 等^[38]将选取的一株蓝藻用一系列梯度乙醇脱水处理后,用低温切片机切片进行金标记后,利用透射电镜检测微囊藻毒素在蓝藻细胞中的位点以获取微囊藻毒素如何产生、作用机理及衰亡等信息。结果显示微囊藻毒素分布在类囊体、细胞原生质、多磷体边缘及羧化体中,在细胞壁及多磷体内部分布较少。Gerbersdorf^[39]利用纯化的高特异性微囊藻毒素抗体对微囊藻毒素进行免疫胶体金标记定位,检测在不同光强度、光密度、光谱范围下生长的蓝藻细胞中微囊藻毒素的密度,发现光合有效辐射对微囊藻毒素的生物合成影响很大。

木质素是农作物秸秆及城市生活垃圾中一种常见的、难降解的物质,处理不当会造成极大的资源浪费和环境污染。因此,木质素的研究逐渐引起人们的关注^[40]。He 等^[41]利用紫外光显微镜、透射电镜结合免疫胶体金标记,检测了杜仲次生木质部分化过程中木质素等组分在细胞壁分布的动态变化,结果显示随着细胞次生壁的形成与木质化,木质素的分布逐渐扩展,其沉积出现不均匀的块状或片状沉积模式。Joseleau 等^[42]生物合成纯化的紫丁香基脱氢多聚体以制备紫丁香基木质素多克隆抗体,并利用免疫胶体金标记技术对植物细胞中紫丁香基木质素进行定位检测,发现其在 S1 层中分布较少,而在次生细胞壁形成后期分布较多。该小组还分别标记木质素抗体和紫丁香基木质素抗体来检测应拉木中木质素含量和结构组成的关系,认为应拉木凝胶层中木质素含量较少,但紫丁香基木质素结构含量较高^[43]。研究表明,白腐真菌是降解木质素一类芳香化合物能力最强的微生物^[44]。白腐真菌通过自身分泌的酶液的共同作用可迅速、有效地降解木质素^[45]。因此木质素降解酶成为研究热点,期望由此可了解微生物降解木质素的机制。Daniel 等^[46]将电镜技术与免疫胶体金标记技术相结合,检测白腐菌降解木质素过程中分泌的关键酶液的空间分布及木质素的形态变化情况,结果显示酶分布与细胞壁结构的形态改变有关,检测发现胞外粘液为酶液进入细胞壁降解区域起了重要作用。

4 展 望

随着城市化进程的加快,有机固体废物数量急剧上升。堆肥化是符合可持续发展的有机固体废物处理方法,具有强大的生命力。免疫胶体金标记技术以其制备简单、适用范围广、安全等优势趋于商业化应用,在免疫学、医学、食品科学等领域有着普遍应用,但该技术应用于堆肥环境研究的报道较少,特别是应用于堆肥环境检测的研究。

堆肥化是微生物降解有机固体废物的过程,加强堆肥过程中微生物对有机固体废物的酶解作用便成为堆肥快速腐熟的关键。而堆肥过程中微生物所产生的生物酶蛋白的研究还不完善,结合经济可行性考虑,免疫胶体金标记技术在堆肥检测中的应用可以从以下几个方面开展研究:(1)温度、pH 值等环

境因素会影响酶促反应的效果,利用免疫胶体金标记技术对不同环境因素下酶蛋白进行定位、定量检测确定酶蛋白在堆肥基质中的最佳作用条件;(2)微生物降解有机固体废物过程中分泌的酶液并不是单一的,采取双重或多重免疫胶体金标记检测不同酶蛋白在堆肥过程中作用的区别与联系,从而揭示其微观作用机理,确定协同作用效果最佳的酶液组合;(3)有机固体废物降解是由酶液及多种小分子物质共同协作完成。利用免疫胶体金标记技术在含有小分子物质类别及数量不等的基质环境下对酶蛋白进行检测,确定小分子物质与酶液在堆肥过程中的协同作用机理,有助于提高酶液降解有机固体废物的效率;(4)有机固体废物在降解过程中会发生物理形态等变化,实时检测不同基质条件变化下酶蛋白的作用位点及数量,对堆肥过程酶促降解作用的研究具有积极意义。随着技术的日趋成熟,进一步提高免疫胶体金标记技术的定位检测特异性及定量检测精确性,将使该技术在深入认识生物酶蛋白作用机制等堆肥检测任务中发挥重要作用。

References

- 1 Zeng GM, Huang D L, Huang G H, Hu T J, Jiang X Y, Feng C L, Chen Y N, Tang L, Liu H L. *Bioresource Technology*, **2007**, 98(2): 320 ~ 326
- 2 Kröger S, Setford S J, Tumer A P F. *Anal Chem.*, **1998**, 70(23): 5047 ~ 5053
- 3 Vial S, Pastoriza-Santos I, Pérez-Juste J, Liz-Marzán L M. *Langmuir*, **2007**, 23(8): 4606 ~ 4611
- 4 Jain P K, Lee K S, El-sayed I H, El-sayed M A. *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110(14): 7238 ~ 7248
- 5 Huang C C, Chiang C K, Lin Z H, Lee K H, Chang H T. *Anal Chem.*, **2008**, 80(5): 1497 ~ 1504
- 6 Solt J W, Geuze H J. *J. Cell Biol.*, **1981**, 90(2): 533 ~ 536
- 7 DONG Ning-Guang(董宁光), CHEN Ming-Yong(陈明勇), PEI Dong(裴东). *Chinese Bulletin of Life Sciences(生命科学)*, **2008**, 20(5): 742 ~ 748
- 8 Sun X P, Luo Y L. *Materials letters*, **2005**, 59(29-30): 4048 ~ 4050
- 9 Link S, Mohamed M B, El-sayed M A. *Phys. Chem. B.*, **1999**, 103(16): 3073 ~ 3077
- 10 Link S, El-sayed M A. *Phys. Chem. B.*, **1999**, 103(21): 4212 ~ 4217
- 11 Faulk W P, Tabr G M. *Immunochem.*, **1971**, 8(11): 1081 ~ 1083
- 12 Holgate C S, Jackson P, Cowen P N. *J. Histochem Cytochem.*, **1983**, 31(7): 38 ~ 44
- 13 Galvez J J, Giberson R T, Cardiff R D. *J. Histotechnol.*, **2006**, 29(2): 113 ~ 121
- 14 KONG Ling-Qing(孔令青), LI Yong(李勇), GAO Hong(高洪), YAN Yu-Lin(严玉霖). *Progress in Veterinary Medicine(动物医学进展)*, **2008**, 29(4): 100 ~ 102
- 15 Hou S Y, Chen H K, Cheng H C, Huang C Y. *Anal Chem.*, **2007**, 79(3): 980 ~ 985
- 16 Tanaka R, Yuh T, Nagatani N, Endo T, Keman K, Takamura Y, Taniya E. *Anal Bioanal Chem.*, **2006**, 385(8): 1414 ~ 1420
- 17 Ambrosi A, Castaneda M T, Killard A J, Smyth M R, Aleqret S, Merkoci A. *Anal Chem.*, **2007**, 79(14): 5232 ~ 5240
- 18 Nam J M, Thaxton C S, Mirkin C A. *Science*, **2003**, 301(5641): 1884 ~ 1886
- 19 JIA Chun-Ping(贾春平), ZHAO Jian-Long(赵建龙). *Chinese Bulletin of Life Sciences(生命科学)*, **2008**, 20(5): 749 ~ 751
- 20 ZHONG Xiao-Qin(钟晓琴), LU Mei-Ying(刘美英), HUANG Yun-Yan(黄云艳), JIA Chun-Ping(贾春平), JIN Qing-Hui(金庆辉), ZHAO Jian-Long(赵建龙), LI Feng-Min(李凤民). *Chin Med Biotechnol(中国医药生物技术)*, **2009**, 4(3): 200 ~ 206
- 21 Wu W W H, Weaver L L, Panté N. *Journal of Molecular Biology*, **2007**, 374(4): 910 ~ 916
- 22 Jiang L, Yu Z B, Du W D, Tang Z M, Jiang T, Zhang C X, Lu Z H. *Biosensors and Bioelectronics*, **2008**, 24(3): 376 ~ 382
- 23 Kalvatchev Z. *Acta Virol.*, **1993**, 37(2): 184 ~ 186
- 24 Zhou S H, Cui S J, Chen C M, Zhang F C, Li J, Zhou S, Oh J S. *Journal of Virological Methods*, **2009**, 160(1-2): 178 ~ 184
- 25 Guo H, Zhang J, Yang D, Xiao P, He N. *Colloid Surface B*, **2005**, 40(3-4): 195 ~ 198
- 26 Cho I H, Seo S M, Paek E H, Paek S H. *J. Chromatogr. B*, **2010**, 878(2): 271 ~ 277

- 27 Hu S, Liu R, Zhang S, Huang Z, Xing Z, Zhang X. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2009**, 20(6): 1096 ~ 1103
- 28 Joachim R, Gundel H, Imela M. *Parasitol Res*, **2004**, 92(6): 518 ~ 519
- 29 Shi C, Zhao S, Zhang K, Hong G, Zhu Z. *Journal of Environmental Sciences*, **2008**, 20(11): 1392 ~ 1397
- 30 YI Guo-Xiang (羿国香), ZHAO Jing (赵静), LI Gang (李刚), HE Su-Ping (何素平), LIU Wei (刘威), DENG Ai-Xing (邓艾兴), NAN Tie-Gui (南铁贵), LI Zhao-Hu (李召虎), HE Zong-Pei (何钟佩), WANG Bao-Min (王保民). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2006**, 34(12): 1679 ~ 1682
- 31 Wang S, Zhang C, Wang J P, Zhang Y. *Anal. Chim. Acta*, **2005**, 546(2): 161 ~ 166
- 32 Guo Y R, Liu S Y, Gui W J, Zhu G N. *Anal. Biochem.*, **2009**, 389(1): 32 ~ 39
- 33 Kaur J, Singh K V, Bora R, Thampi K R, Raje M, Varshney G C, Suri C R. *Environ. Sci. Technol.*, **2007**, 41(14): 5028 ~ 5036
- 34 Fent K, Weston A. A, Caminada D. *Toxicol. Sci.*, **2006**, 90(2): 349 ~ 361
- 35 Li D, Wei S, Yang H, Li Y, Deng A. *Biosensors and Bioelectronics*, **2009**, 24(7): 2277 ~ 2280
- 36 Rule K L, Vikesland P J. *Environ. Sci. Technol.*, **2009**, 43(4): 1147 ~ 1152
- 37 Zhou Y, Pan F G, Li Y S, Zhang Y Y, Zhang J H, Lu S Y, Ren H L, Liu Z S. *Biosensors and Bioelectronics*, **2009**, 24(8): 2744 ~ 2747
- 38 Young F M, Thomson C, Metcalf J S, Lucocq J M, Codd G A. *Journal of Structural Biology*, **2005**, 151(2): 208 ~ 214
- 39 Gerbersdorf S U. *Toxicon*, **2006**, 47(2): 218 ~ 228
- 40 Zeng G, Yu M, Chen Y, Huang D, Zhang J, Huang H, Jiang R, Yu Z. *Bioresource Technology*, **2010**, 101(1): 222 ~ 227
- 41 He X Q, Cui K M, Li Z L. *Acta Botanica Sinica*, **2001**, 43(9): 899 ~ 904
- 42 Joseleau J P, Faix O, Kuroda K I, Ruel K. *Comptes Rendus Biologies*, **2004**, 327(9-10): 809 ~ 815
- 43 Joseleau J P, Inai K, Kuroda K. *Planta*, **2004**, 219(2): 338 ~ 345
- 44 Wu J, Xiao Y Z, Yu H Q. *Bioresource Technology*, **2005**, 96(12): 1357 ~ 1363
- 45 Huang D L, Zeng G M, Feng C L, Hu S, Jiang X Y, Tang L, Su F F, Zhang Y, Zeng W, Liu H L. *Environ. Sci. Technol.*, **2008**, 42(13): 4946 ~ 4951
- 46 Daniel G, Volc J, Niku-Paavola M L. *Comptes Rendus Biologies*, **2004**, 327(9-10): 861 ~ 871

Detection Based on Immunogold Labeling Technique and Its Expected Application in Composting

LA I Cui, ZENG Guang-Ming*, HUANG Dan-Lian, FENG Chong-Ling,
HU Shuang, SU Feng-Feng, ZHAO Mei-Hua, HUANG Chao, WEI Zhen

(College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Key Laboratory of Environmental Biology
and Pollution Control, Hunan University, Ministry of Education, Changsha 410082)

Abstract Gold nanoparticle has been widely used as a good labeling substance. Subsequently, increasing concern has been paid to immunogold labeling technique which has high sensitivity, simple procedure and rapid detection in immunoassay. The basic principle, preparation methods and important developments of immunogold labeling technique were introduced in this article. In addition, the new applications and prospects of immunogold labeling technique in compost detection were proposed based on the applications in immunoassay and environmental analysis.

Keywords Colloidal gold; Labeling; Immunoassay; Composting; Review

(Received 19 October 2009; accepted 28 December 2009)