



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110850080 A

(43)申请公布日 2020.02.28

(21)申请号 201911081361.2

(22)申请日 2019.11.07

(71)申请人 西北农林科技大学

地址 712100 陕西省西安市杨凌示范区邠
城路3号

(72)发明人 王丽 田永明 补彤 张萌
白菲儿 赵爽

(74)专利代理机构 西安恒泰知识产权代理事务
所 61216

代理人 孙雅静

(51)Int.Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

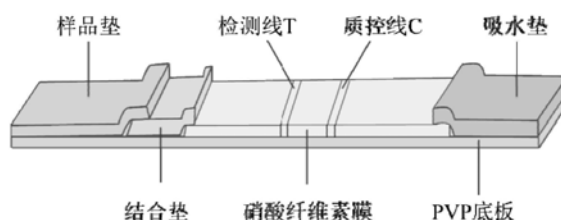
权利要求书1页 说明书6页 附图5页

(54)发明名称

一种探针、检测四环素的方法及应用

(57)摘要

本发明公开了一种探针、检测四环素的方法及应用,包括信号载体和四环素抗体,信号载体为金属多巴胺框架,所述的金属多巴胺框架的粒径为250~300nm。通过合成一种金属有机骨架材料(MOFs)金属多巴胺框架(Metal-Polydopamine Framework,MPDA)标记四环素抗体,制成探针,因其表面积大,所以标记极少量的抗体就可以实现灵敏检测四环素。本发明利用该探针构建的免疫层析试纸条具有灵敏度高,特异性好的优点,对四环素的视觉检测限(vLOD)为0.045ng/mL,比传统金标试纸条提高了66倍的灵敏度。同时具有良好的实际应用性。



1. 一种探针,其特征在于,包括信号载体和四环素抗体,信号载体为金属多巴胺框架,所述的金属多巴胺框架的粒径为250~300nm。

2. 如权利要求1所述的探针,其特征在于,制备该探针的方法包括制备金属多巴胺框架,然后将金属多巴胺框架与四环素抗体结合即得。

3. 如权利要求1或2所述的探针,其特征在于,制备该探针的方法包括:

(1) 制备金属多巴胺框架:包括制备金属有机框架ZIF-67,然后将金属有机框架ZIF-67分散于乙醇-水溶液中,加入盐酸多巴胺搅拌反应制得金属多巴胺框架;

(2) 制备探针:将金属多巴胺框架溶液与四环素抗体混合,加入缓冲液搅拌反应制得。

4. 如权利要求3所述的探针,其特征在于,所述的步骤(1)中,金属有机框架ZIF-67与盐酸多巴胺的质量比为(2~3):1。

5. 如权利要求3所述的探针,其特征在于,所述的步骤(2)中,金属多巴胺框架溶液与四环素抗体的体积比为(100~130):1。

6. 一种检测四环素的方法,其特征在于,检测方法包括向待检测物中加入权利要求1~5任一权利要求所述的探针后,然后将检测四环素的试纸条插入上述混合液中进行检测。

7. 如权利要求6所述的检测四环素的方法,其特征在于,所述的检测四环素的试纸条包括底板,底板上依次贴有样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述的硝酸纤维素膜上沿横向设置检测线和质控线,所述检测线上喷涂有四环素抗原,所述质控线上喷涂有羊抗鼠单克隆抗体。

8. 如权利要求7所述的检测四环素的方法,其特征在于,检测线上喷涂有四环素抗原的制备方法包括:1mg/mL四环素抗原包被溶液以1 μ L/cm的划线速率喷涂在检测线上得检测线;

质控线上喷涂有羊抗鼠单克隆抗体的制备方法包括:1mg/mL羊抗鼠单克隆抗体包被溶液以1 μ L/cm的速度喷涂于硝酸纤维素膜上形成质控线,检测线和质控线之间的距离为5mm。

9. 权利要求1-5任一权利要求所述的探针用于检测牛奶、虾、鸡肉、鱼肉中四环素的应用。

10. 权利要求6-8任一权利要求所述的检测四环素的方法用于检测牛奶、虾、鸡肉、鱼肉中的四环素。

一种探针、检测四环素的方法及应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物技术(免疫学)检测领域,具体涉及一种探针、检测四环素的方法及应用。

背景技术

[0002] 四环素是一种广谱抗菌素,可以与很多药物或饲料添加剂混合使用,所以,四环素已被广泛用于畜禽养殖和水产养殖中。然而,四环素等抗生素的过量使用在肉制品和海鲜产品中已造成了严重的药物残留,成为危害人类身体健康的食品安全隐患,长期摄入含抗生素的食品,可在体内造成药物积累,达到一定浓度后,会对人体健康产生危害,如增强细菌耐药性、破坏胃肠道菌群平衡,从而降低人体免疫力。我国规定了牛奶中四环素、土霉素、金霉素的残留限量为100 μ g/L。

[0003] 目前,国内外对四环素进行定性、定量检测比较经典的方法有液相色谱-质谱/质谱法(LC-MS/MS)、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)、高效液相色谱法(HPLC),这些方法虽然准确性高,但仪器价格昂贵,且前处理过程复杂,分析速度慢,专业性要求较高,不适用于大批量样品或现场快速检测。此外,还有常用的酶联免疫法(ELISA),电化学分析法。酶联免疫法可以一次性处理多个样品,灵敏度高但需要操作者具有较高的专业知识,不利于普及使用。化学发光法容易实现自动化,但对环境要求较高不利于现场使用。

[0004] 与之相比,免疫层析法稳定性好、操作简单、无需其它仪器设备且检测速度快、结果直观可靠,适用于现场快速检测。然而,传统的基于胶体金的试纸条,其低灵敏度仍然阻碍了它们的广泛应用,特别是在痕量分析中。

发明内容

[0005] 针对现有技术中的缺陷和不足,本发明提供一种探针、检测四环素的方法及应用,解决免疫层析检测低灵敏度的技术问题。

[0006] 为了达到上述目的,本发明采取的技术方案包括:

[0007] 一种探针,包括信号载体和四环素抗体,信号载体为金属多巴胺框架,所述的金属多巴胺框架的粒径为250~300nm。

[0008] 具体地,制备该探针的方法包括制备金属多巴胺框架,然后将金属多巴胺框架与四环素抗体结合即得。

[0009] 进一步地,制备该探针的方法包括:

[0010] (1) 制备金属多巴胺框架:包括制备金属有机框架ZIF-67,然后将金属有机框架ZIF-67分散于乙醇-水溶液中,加入盐酸多巴胺搅拌反应制得金属多巴胺框架;

[0011] (2) 制备探针:将金属多巴胺框架溶液与四环素抗体混合,加入缓冲液搅拌反应制得。

[0012] 进一步地,所述的步骤(1)中,金属有机框架ZIF-67与盐酸多巴胺的质量比为(2~3):1。

[0013] 进一步地,所述的步骤(2)中,金属多巴胺框架溶液与四环素抗体的体积比为(100~130):1。

[0014] 一种检测四环素的方法,检测方法包括向待检测物中加入本发明所述的探针后,然后将检测四环素的试纸条插入上述混合液中进行检测。

[0015] 具体地,所述的检测四环素的试纸条包括底板,底板上依次贴有样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述的硝酸纤维素膜上沿横向设置检测线和质控线,所述检测线上喷涂有四环素抗原,所述质控线上喷涂有羊抗鼠单克隆抗体。

[0016] 进一步地,检测线上喷涂有四环素抗原的制备方法包括:1mg/mL四环素抗原包被溶液以1 μ L/cm的划线速率喷涂在检测线上得检测线;

[0017] 质控线上喷涂有羊抗鼠单克隆抗体的制备方法包括:1mg/mL羊抗鼠单克隆抗体包被溶液以1 μ L/cm的速度喷涂于硝酸纤维素膜上形成质控线,检测线和质控线之间的距离为5mm。

[0018] 本发明所述的探针用于检测牛奶、虾、鸡肉、鱼肉中四环素的应用。

[0019] 本发明所述的检测四环素的方法用于检测牛奶、虾、鸡肉、鱼肉中的四环素。

[0020] 与现有技术相比,其优点与积极效果在于:

[0021] (1)首次在免疫层析试纸条检测中利用MOFs材料MPDA结合四环素抗体构建探针,充分利用了MOFs材料比表面积大、生物相容性好,尺寸可控的特点,标记极少量的抗体就可以保证信号强度。这项工作可为选择MOFs作为标记基质提供参考。

[0022] (2)灵敏度高,特异性好。本发明提供的试纸条对四环素小分子的视觉检测限为0.045ng/mL,阈值为3ng/mL,比传统试纸条提高了66倍的灵敏度,其检测限低于以往很多文献报道的。

[0023] (3)所述探针制备的试纸条具有良好的实际应用性,这对于监控肉奶类食品中的四环素具有很重要的意义和应用价值。

附图说明

[0024] 图1是本发明免疫层析试纸条构型图;

[0025] 图2是本发明免疫层析试纸条检测原理图;

[0026] 图3对本发明制备的探针的验证;

[0027] 图4是本发明制备的免疫层析试纸条检测灵敏度;

[0028] 图5是本发明制备的免疫层析试纸条检测特异性;

[0029] 图6是本发明制备的免疫层析试纸条检测的实际应用;

[0030] 下面结合附图对本发明的具体实施方式作进一步的详细说明。

具体实施方式

[0031] 本发明为了解决传统的基于胶体金的试纸条,特别是在痕量分析中,其低灵敏度仍然阻碍了它们的广泛应用。提供一种探针、检测四环素的方法及应用。所述探针在保证信号强度的同时,降低了抗体用量,从而提高分析系统的灵敏度,且特异性好、稳定性强、检测时间短、易于操作且携带方便、价格低廉、适于现场检测四环素,这对于监控肉奶类食品中的四环素具有很重要的意义和应用价值。

[0032] 本发明中的“金属多巴胺框架”(Metal-Polydopamine Framework, MPDA)是采用本发明的制备方法制得,具体是指先制备金属有机骨架材料(MOFs),然后加入盐酸多巴胺搅拌反应制得金属多巴胺框架。

[0033] 该探针,包括信号载体和四环素抗体,信号载体为金属多巴胺框架。金属多巴胺框架的粒径为250~300nm。制备该探针的方法包括:

[0034] (1) 制备金属多巴胺框架:包括制备金属有机框架ZIF-67,然后将金属有机框架ZIF-67分散于乙醇-水溶液中,加入盐酸多巴胺搅拌反应制得金属多巴胺框架;金属有机框架ZIF-67与盐酸多巴胺的质量比为(2~3):1;

[0035] (2) 制备探针:将金属多巴胺框架溶液与四环素抗体混合孵育,使金属多巴胺框架与四环素抗体结合即得,金属多巴胺框架溶液与四环素抗体的体积比为(100~130):1。

[0036] 检测方法包括向待检测物中加入该探针后,然后将检测四环素的试纸条插入上述混合液中进行检测。

[0037] 在竞争性试纸条中,应用的抗体越少,由于竞争反应,分析物与信号强度之间的浓度-响应关系更加敏感。因此,为了提高测定性能,最直接和最基本的方法是寻找理想的标记基质,其标记较少数量的抗体仍表现出稳健的信号,同时,也不需要复杂的合成。本发明的探针在保证信号强度的同时,降低了抗体用量,从而提高分析系统的灵敏度,且特异性好、稳定性强、检测时间短、易于操作且携带方便、价格低廉、适于现场检测四环素,这对于监控肉奶类食品中的四环素具有很重要的意义和应用价值。

[0038] 所述试纸条的工作原理:如图2该试纸条是基于竞争模式的,即样品中的待检物与固定在检测线上的抗原竞争结合信号载体标记的抗体。检测线的颜色强度取决于信号材料的积累。当标记探针和待检物的混合液滴加到样品垫之后,混合物会在毛细管力的作用下从样品垫向吸水垫方向移动,待混合物迁移到检测线T时,多余的四环素抗体会与抗原特异性结合而使T线变成黑色,探针与待检物的混合物迁移到质控线C时,会与羊抗鼠单克隆抗体结合而使C线变成黑色,但当样品中四环素的浓度逐渐增加时,更多的探针与四环素小分子结合,使得更少的探针与检测线上的抗原结合,从而检测线逐渐褪色,直到完全消失。无论样品中四环素浓度如何,由于结合位点的不同,探针与待检物的混合物都会与质控线上的羊抗鼠免疫球蛋白结合,使得质控线总是显黑色的。在上述竞争性免疫中,检测线显色,则判为阴性结果,检测线不显色,则判为阳性结果。

[0039] 本发明中所用的实验试剂均为市售所得,并未做进一步处理,检测仪器设备等均为常用的仪器。

[0040] 实施例1:

[0041] 遵从上述技术方案,本实施例给出一种探针MPDA的制备方法,包括以下步骤:

[0042] (1) ZIF-67的合成。称取3.632g 2-甲基咪唑,在剧烈搅拌下将其分散于56mL去离子水中。另外,配制8mL十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)溶液(0.1%,w/v),其中含有232mg $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 。然后将以上两种溶液快速混合并不断搅拌,在室温下反应20min之后,过滤收集紫色的ZIF-67,然后将过滤液用离心机离心,转速为12000rpm,用乙醇清洗三次,最后将得到的ZIF-67沉淀置于60℃烘箱中过夜干燥。

[0043] (2) MPDA的合成。在超声条件下,将20mg干燥的ZIF-67分散于35mL乙醇-水(3:4,v/v)溶液中,然后在剧烈搅拌下将8.0mg盐酸多巴胺(PDA)添加到上述混合液中,接着,再将

25mL Tris-HCl缓冲液(10mM, pH8.5)加入混合液中置于黑暗条件下温和搅拌反应24h。最后离心(10000rpm, 10min)收集MPDA, 用去离子水和乙醇交替清洗三次。最后将MPDA烘干。

[0044] (3) MPDA标记四环素抗体的合成。将MPDA配成0.6mg/mL的1mL溶液, 再向溶液中加入1mg/mL 8μL四环素抗体, 之后将混合液置于室温下震荡(150r/min)孵育40min, 使MPDA与四环素抗体充分结合。之后再加入10%的BSA溶液使其终浓度为1%, 继续震荡孵育40min以封闭未结合的位点。之后将其置于4℃冰箱静置2h, 最后离心弃上清, 将沉淀重悬于100μL去离子水, 置于4℃冰箱保存, 备用。

[0045] 下述实施例3-7使用的探针为实施例1制备所得。

[0046] 实施例2: 用MPDA标记四环素抗体材料的表征

[0047] (1) 扫描电子显微镜和透射电子显微镜: 如图3A, ZIF-67是规则的光滑的正四面体, 尺寸大约为200nm, 如图3C, MPDA的尺寸大约为250-300nm, 展示出粗糙的不规则的正方体形状, 可以很好的吸附四环素抗体。图3B和3D为元素分析图, 表明Co, N和O等元素都均匀的分布在ZIF-67和MPDA中, 表明了MPDA的成功合成。

[0048] (2) X射线衍射: 如图3E所示的X射线衍射图, ZIF-67的特征峰消失了, 表明ZIF-67完全转化为MPDA。

[0049] (3) X射线光电子能谱: 如图3F, 记录了Co 2p的X射线光电子能谱, 拟合出的在797eV处的Co 2p_{1/2}峰和781eV处的Co 2p_{3/2}峰都存在于ZIF-67和MPDA中, 而位于786eV和803eV附近ZIF-67中Co²⁺的两个氧化峰在MPDA的光谱中消失了, 这与MPDA的X射线光电子能谱相吻合, 进一步验证了MPDA的成功合成。

[0050] (4) 红外表征: 从图3G看出MPDA在3200-3500和1585cm⁻¹处有三个峰, 分别是由O-H/N-H的拉伸振动和吡啶的振动形成的, 表明了MPDA的成功合成。

[0051] (5) 紫外表征: 从图3H可以看出纯的MPDA无吸收峰, 与抗体结合后, 在280nm处出现一个峰, 这与四环素抗体的特征峰相对应, 验证了四环素抗体与MPDA的成功结合。

[0052] (6) 电位表征: 见图3I, 对于MPDA, 标记抗体后, zeta电位由-3.68mV变为-0.22mV, 表明四环素抗体与MPDA的成功结合。

[0053] (7) 电泳表征: 采用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳法(SDS-PAGE)检测BSA(牛血清白蛋白)、ZIF-67-BSA、MPDA-BSA、ZIF-67、MPDA。如图3J, 数字1-5分别对应BSA、ZIF-67-BSA、MPDA-BSA、ZIF-67、MPDA。对于BSA而言, 一条显色带出现在分子量约为60kDa处, 当BSA与MOF共同孵育后, 在60kDa处也出现了相应的显色带, 但在相同条件下, 纯的ZIF-67和MPDA没有显示任何条带, 说明ZIF-67和MPDA可以成功标记四环素抗体。

[0054] 实施例3: 快速检测四环素的免疫层析试纸条的制备

[0055] 检测四环素的免疫层析试纸条的制备包括以下步骤:

[0056] (1) 硝酸纤维素膜的制备

[0057] 将四环素抗原溶于去离子水配成1mg/mL的抗原包被溶液。将抗原包被溶液以1μL/cm的速度喷涂于硝酸纤维素膜上形成检测线T。将羊抗鼠单克隆抗体溶于去离子水制成1mg/mL的抗体包被溶液, 将抗体包被溶液以1μL/cm的速度喷涂于硝酸纤维素膜上形成质控线C。所述检测线T和质控线C之间的距离为5mm。之后将其置于37℃烘箱中干燥30min。

[0058] (2) 样品垫、结合垫的制备: 将切割好的样品垫、结合垫浸没于2%的牛血清白蛋白溶液30s即可, 之后, 将其置于37℃烘箱中干燥10-13h。所述的牛血清白蛋白溶液的溶剂是

磷酸盐缓冲液,磷酸盐缓冲液是由8g氯化钠,2.9g十二水磷酸氢二钠,0.2g氯化钾,0.2g磷酸二氢钾加水定容至1000mL所得。

[0059] 1) 吸水垫的制备:将吸水垫裁成长6.6cm、宽2cm的规格即可,便于后期试纸条的组装。

[0060] 2) 试纸条的组装:所述试纸条包括PVP底板及在底板上依次重叠粘贴的样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫。首先将硝酸纤维素膜粘贴在PVP底板上,然后再将结合垫压住硝酸纤维素膜1-2mm,样品垫压住结合垫1-2mm依次粘贴于底板上,之后再再将吸水垫粘贴于硝酸纤维素膜的另一侧,二者之间也重叠1-2mm,最后将组装好的试纸条用可编程切割机切割成长6cm,宽3mm的规格,即可得到快速检测四环素的免疫层析试纸条。

[0061] 实施例4:快速检测四环素的免疫层析试纸条的灵敏度测定

[0062] 检测过程:将四环素小分子用去离子水分别稀释成0.023、0.045、0.09、0.18、0.375、0.75、1.5、3、6ng/mL不同的浓度梯度,各取100 μ L于1.5mL离心管中,再另取一离心管加入100 μ L去离子水作为阴性对照,之后再分别向每个离心管中加入1.0 μ L的探针,与四环素充分混匀之后立刻将实施例2中制备的试纸条插入离心管,15min后读取结果。

[0063] 检测结果为:无论检测结果是阳性或是阴性,质控线C上都会出现黑色线条。当通过肉眼观察到T线明显比阴性对照条浅时,相应的最小四环素浓度定义为视觉检测限(vLOD),当T线完全消失时,考虑相应的最小浓度作为阈值浓度。(1) 阴性:与阴性对照相比,当试纸条的检测线T上出现肉眼可见的黑色线条与阴性对照一致时,判为阴性,表明待测样品中四环素小分子的浓度低于或等于该检测浓度。(2) 阳性:与阴性对照相比,当试纸条的检测线T上没有出现肉眼可见的黑色线条或明显浅于阴性对照时,判为阳性,表明待测样品中四环素小分子的浓度高于或等于该检测浓度。如图4,所述试纸条的视觉检测线为0.045ng/mL,随着四环素浓度的增加,T线的颜色越来越浅,当四环素的浓度为3ng/mL时,T线上没有黑色,表明探针中的四环素抗体已与样品中的小分子完全结合,则所述试纸条的阈值为3ng/mL。

[0064] 实施例5:快速检测四环素小分子的试纸条的特异性测定

[0065] 试纸条制备的制备过程与实施例3中的试纸条制备过程相同。

[0066] 检测过程:分别将阿莫西林、硫酸链霉素、氟苯尼考、盐酸土霉素、盐酸万古霉素、盐酸金霉素、阿奇霉素、卡那霉素、氨苄青霉素、硫酸新霉素、红霉素用去离子水稀释成100ng/mL的浓度,然后再取上述抗生素溶液各100 μ L作为待检液,同时再取100 μ L去离子水作为阴性对照,取100 μ L浓度为6ng/mL的四环素溶液作比较。之后向各溶液中滴加1.0 μ L探针,与待检液充分混匀后,立刻将混合物滴加到试纸条的样品垫上,15min后读取结果。

[0067] 检测结果如图5所示:无论检测结果是阳性或是阴性,质控线C上都会出现黑色线条。(1) 阴性:当试纸条的检测线T上出现黑色线条时,判为阴性。(2) 阳性:当试纸条的检测线T上没有出现肉眼可见的黑色线条或明显浅于阴性对照时,判为阳性。

[0068] 图5中从左至右依次是四环素、盐酸土霉素、盐酸金霉素、阿莫西林、硫酸链霉素、氟苯尼考、盐酸万古霉素、阿奇霉素、卡那霉素、氨苄青霉素、硫酸新霉素、红霉素、空白对照。由图可知,由于四环素、盐酸土霉素、盐酸金霉素都属于四环素类,因此检测线T上只有很浅的黑色,而其他抗生素的检测线T上出现了明亮的黑色,则表明所述试纸条对检测四环素具有很高的特异性。

[0069] 实施例6:快速检测四环素的试纸条的应用

[0070] 试纸条制备的制备过程与实施例3中的试纸条制备过程相同。

[0071] 以牛奶、虾、鸡肉、鱼肉作为实际样品。对于牛奶样品,1mL牛奶样品与1mL 3%三氯乙酸混合,涡旋震荡5min后,10,000rpm离心10min,将上清液用NaOH溶液(1mol/L)调至中性,之后再用PBS稀释5倍。对于肉类实际样品:虾、鸡肉、鱼肉各称取2g,然后分别与2mL 3%三氯乙酸混合,涡旋震荡5min后,10,000rpm离心10min,将上清液用NaOH溶液(1mol/L)调至中性,之后再用PBS稀释10倍。对于处理后的实际样品上清液,向其中加标四环素,将它们稀释为与灵敏度一样的浓度梯度(即0.023、0.045、0.09、0.18、0.375、0.75、1.5、3、6ng/mL),分别取100μL,加入1μL探针充分混匀后,插入所述试纸条进行检测,15min后观察结果。

[0072] 见图6,在牛奶中的vLOD为0.045ng/mL,在虾、鸡肉、鱼肉中的vLOD为0.09ng/mL,具有很高的检测灵敏度,可以很好地满足在实际样品中快速检测四环素的需求。

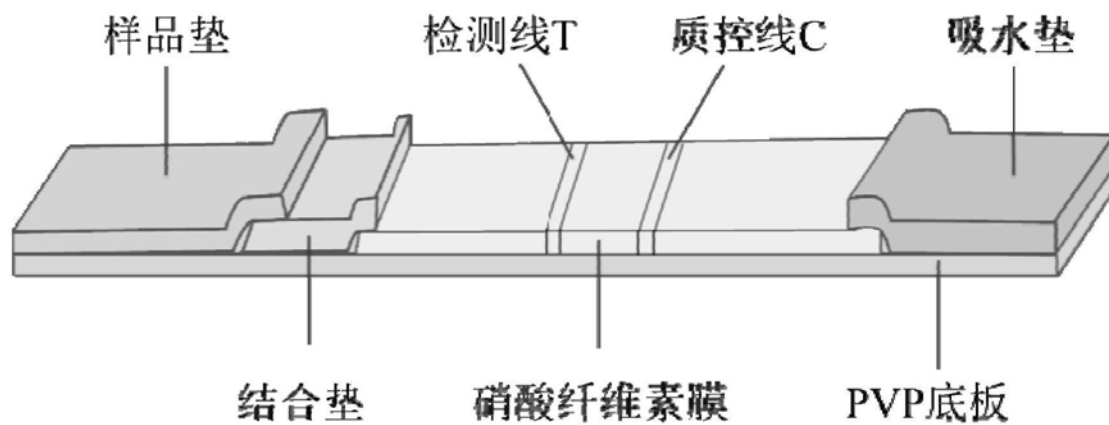


图1

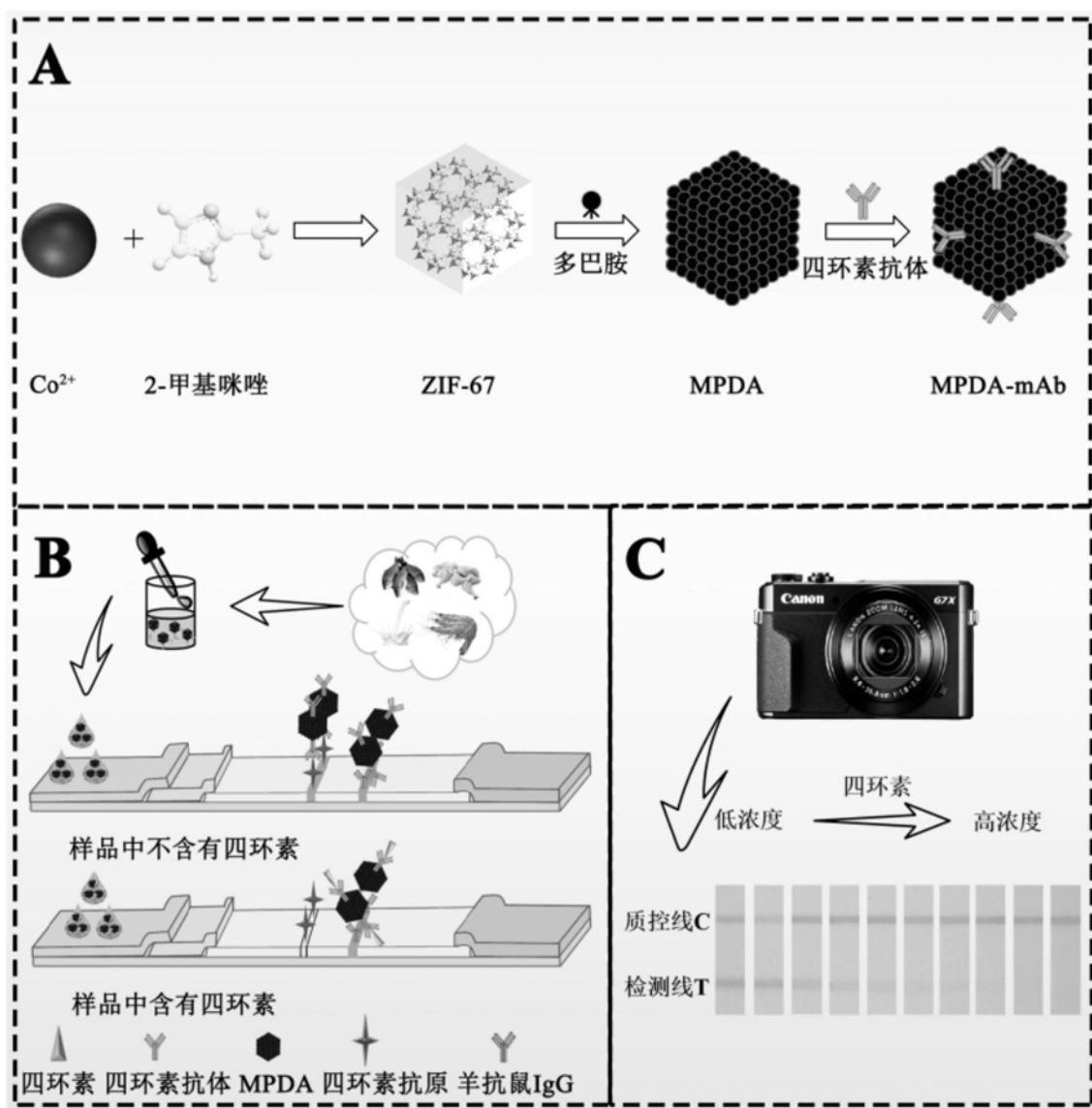


图2

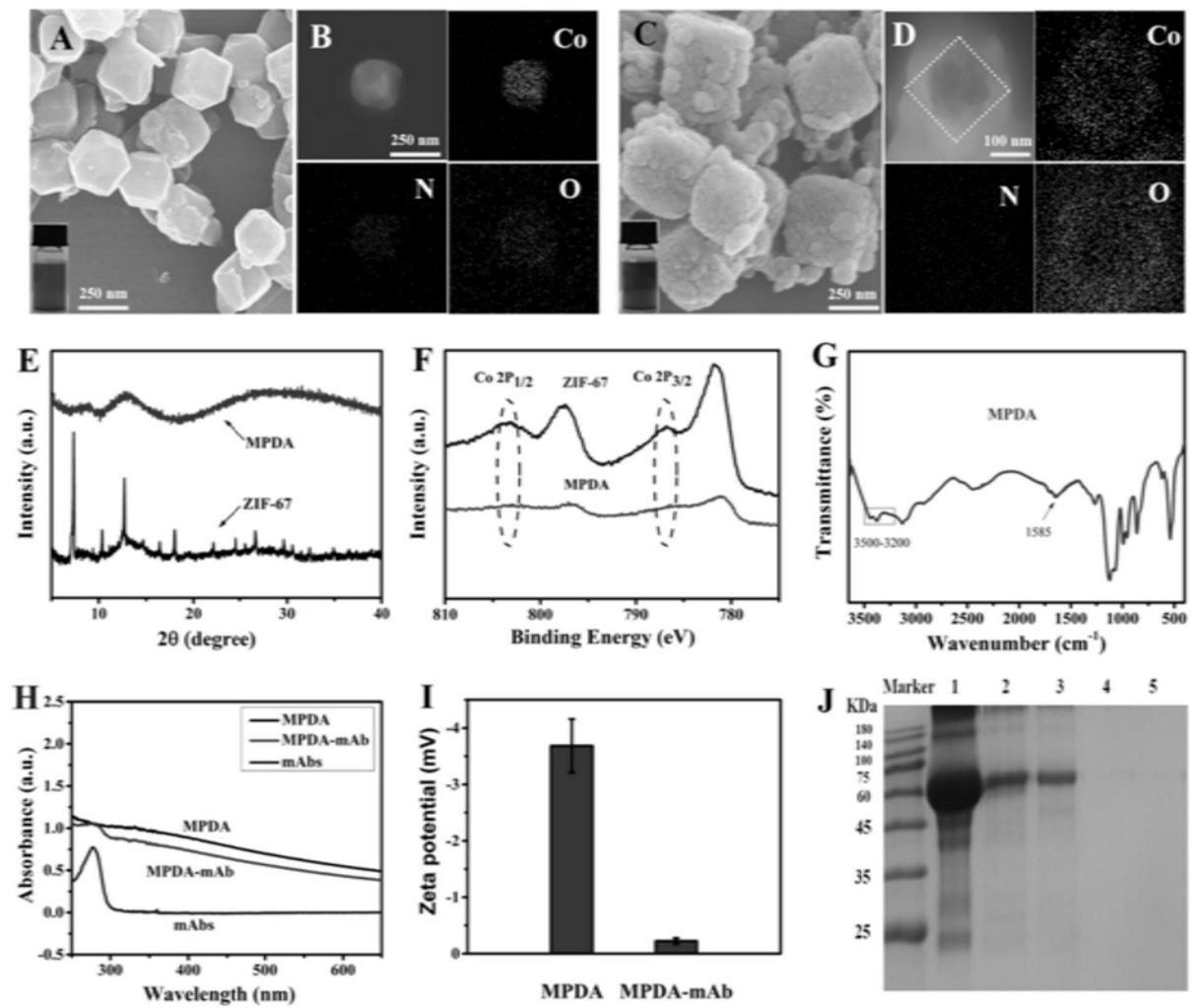


图3

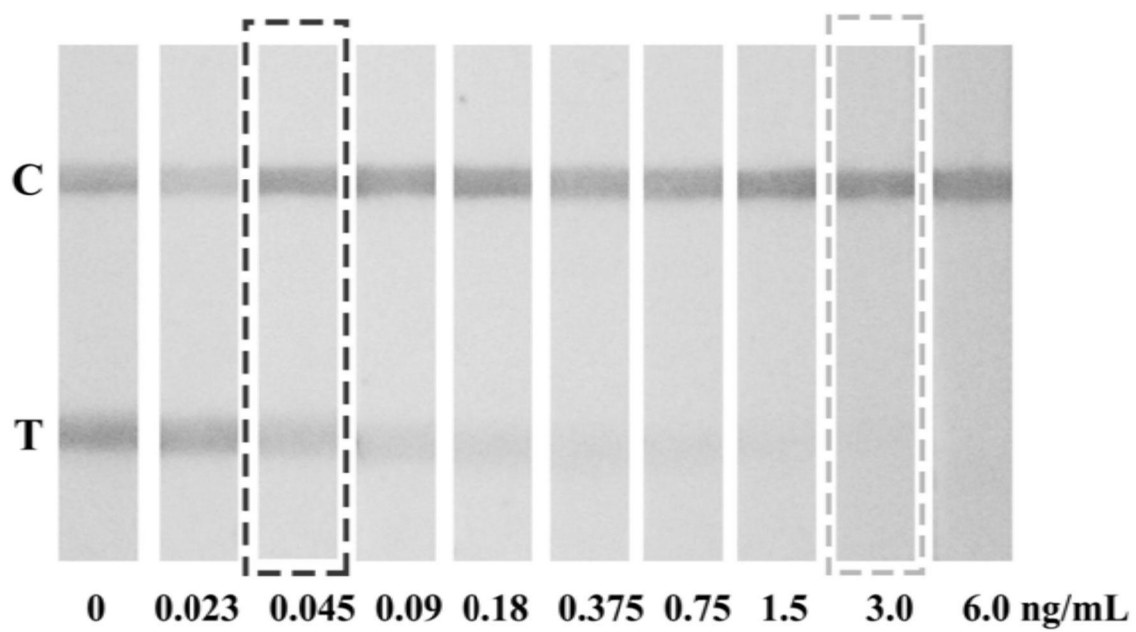


图4

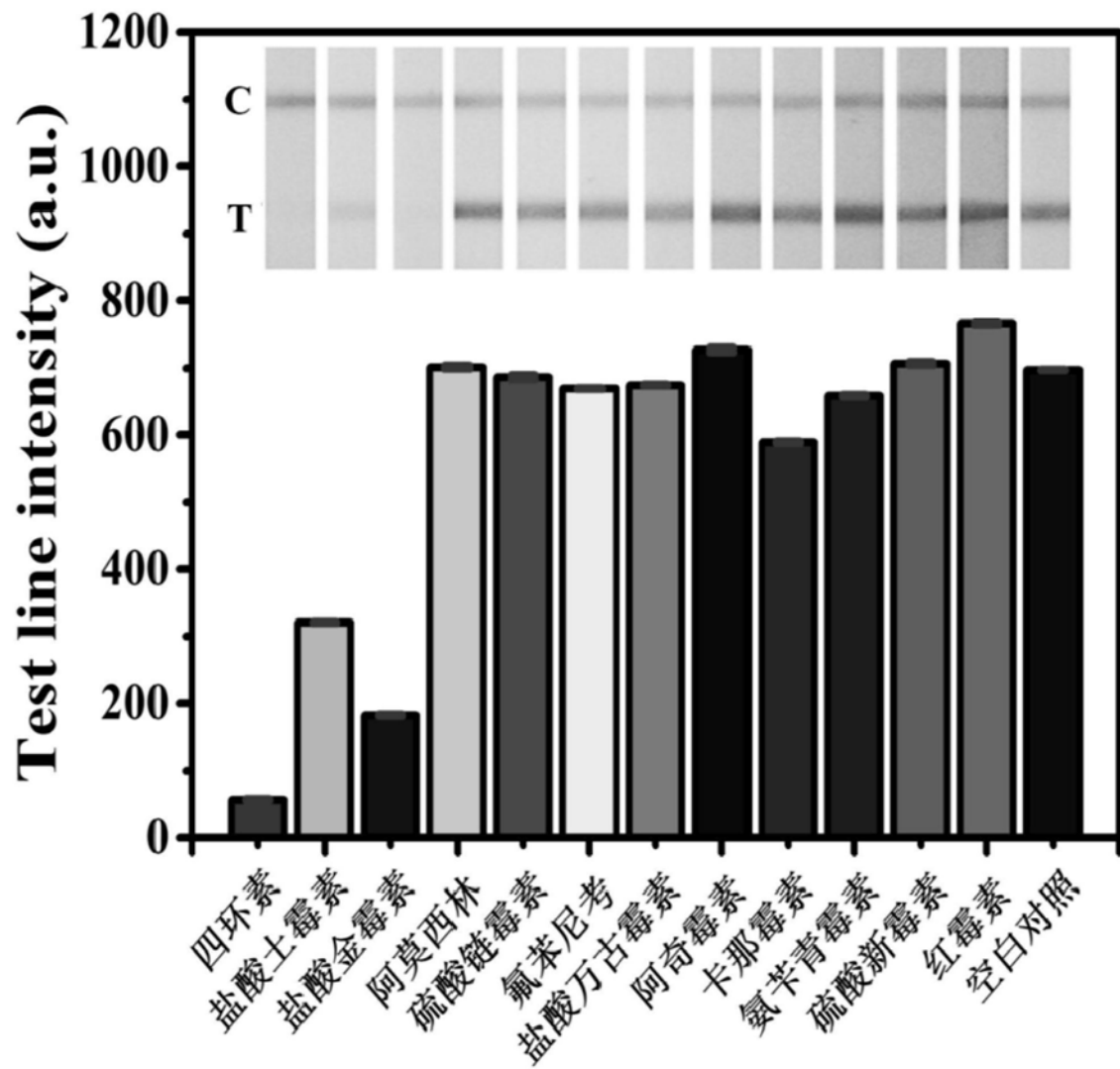


图5

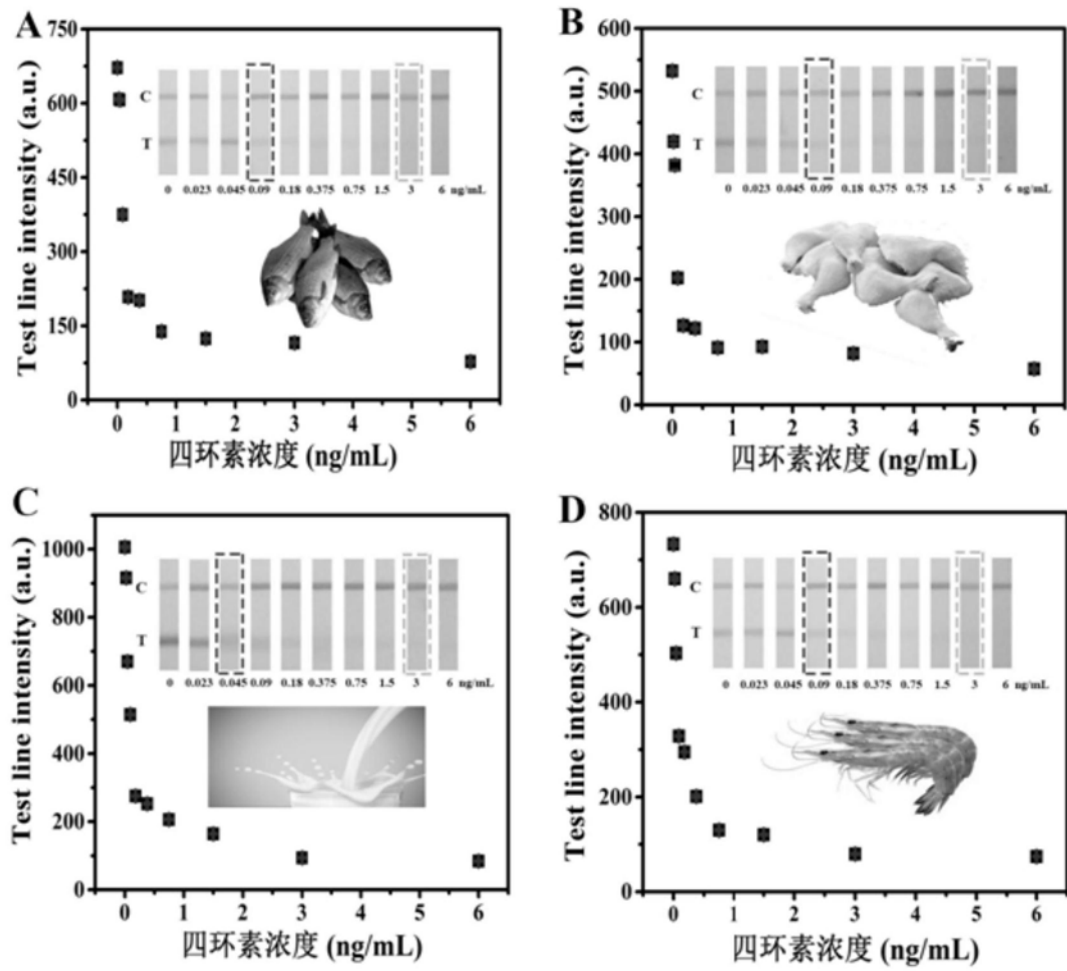


图6

专利名称(译)	一种探针、检测四环素的方法及应用		
公开(公告)号	CN110850080A	公开(公告)日	2020-02-28
申请号	CN201911081361.2	申请日	2019-11-07
[标]申请(专利权)人(译)	西北农林科技大学		
申请(专利权)人(译)	西北农林科技大学		
当前申请(专利权)人(译)	西北农林科技大学		
[标]发明人	王丽 田永明 补彤 张萌 赵爽		
发明人	王丽 田永明 补彤 张萌 白菲儿 赵爽		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/558 G01N33/9446		
代理人(译)	孙雅静		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种探针、检测四环素的方法及应用，包括信号载体和四环素抗体，信号载体为金属多巴胺框架，所述的金属多巴胺框架的粒径为250~300nm。通过合成一种金属有机骨架材料(MOFs)金属多巴胺框架(Metal-Polydopamine Framework,MPDA)标记四环素抗体，制成探针，因其表面积大，所以标记极少量的抗体就可以实现灵敏检测四环素。本发明利用该探针构建的免疫层析试纸条具有灵敏度高，特异性好的优点，对四环素的视觉检测限(vLOD)为0.045ng/mL，比传统金标试纸条提高了66倍的灵敏度。同时具有良好的实际应用性。

