附件3

胶体金法主要生产工艺

一、原理

免疫胶体金技术是以胶体金作为示踪标志物应用于抗原抗体的一种免疫标记技术。胶体金是由氯金酸（HAuCl4）在还原剂如白磷、抗坏血酸、枸橼酸钠、鞣酸等作用下，聚合成为特定大小的金颗粒，并由于静电作用成为一种稳定的胶体状态，称为胶体金。胶体金在弱碱环境下带负电荷，可与蛋白质分子的正电荷基团形成牢固的结合，由于这种结合是静电结合，所以不影响蛋白质的生物特性。胶体金类试剂是采用胶体金标记的抗体或抗原包被于玻璃纤维膜、聚酯膜或其他载体，将相关抗原或抗体固相连接在硝酸纤维膜，应用层析法的原理检测样品中的抗原或抗体的快速检测试剂。

二、主要生产工艺

（一）胶体金的制备

采用枸橼酸三钠还原法或其他方法制备胶体金，胶体金颗粒大小应符合规定，胶体金标记物在510～560nm波长处应有最大吸收值，置2～8℃保存，应在规定的保存期内使用。用枸橼酸三钠还原法生产胶体金，金颗粒大小受用量、煮沸时机等因素影响。改变这些因素便可生产出不同颗粒大小的胶体金。

胶体金的检查指标有颗粒的大小，粒径的均一程度和浓度，可以通过肉眼观察，但需要一定的经验，良好的胶体金应该是清亮透明的。

所用设备：加热搅拌设备。

（二）胶体金的标记以及浓度的确定

胶体金对蛋白的吸附主要取决于pH值，在接近蛋白质的等电点或偏碱的条件下，二者容易形成牢固的结合物。如果胶体金的pH值低于蛋白质的等电点时，则会聚集而失去结合能力。除此以外胶体金颗粒的大小、离子强度、蛋白质的分子量等都影响胶体金与蛋白质的结合。

（三）检测线及质控线的制备

取已确定使用浓度的相关抗原或抗体，在硝酸纤维素膜上制备检测线，应用同样方法制备质控线，根据生产工艺在规定的温度、湿度条件下干燥，在规定的湿度（通过验证方法确定相对湿度要求）条件下存放。检测线与质控线应具有间隔距离要求，应对所用的金标用玻璃纤维、硝酸纤维素膜、塑料卡等进行质量检测，如尺寸、外观、包装及性能等，并记录批号、规格、数目、标识。不同规格的玻璃纤维、硝酸纤维素膜及塑料卡不能混用。

（四）贴膜、切割、装卡、装袋

贴膜、切割、装卡、装袋应在具有相应温湿度（通过验证方法确定相对温湿度要求）条件下操作，切割的膜条应有宽度要求。