



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108169479 A

(43)申请公布日 2018.06.15

(21)申请号 201711463072.X

(22)申请日 2017.12.28

(71)申请人 华南农业大学

地址 510642 广东省广州市天河区五山路
483号

(72)发明人 王弘 王锋 沈玉栋 张瑾如

杨金易 李然 梁一凡 肖治理

(74)专利代理机构 广州粤高专利商标代理有限公司 44102

代理人 任重

(51)Int.Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

G01N 21/31(2006.01)

G01N 33/02(2006.01)

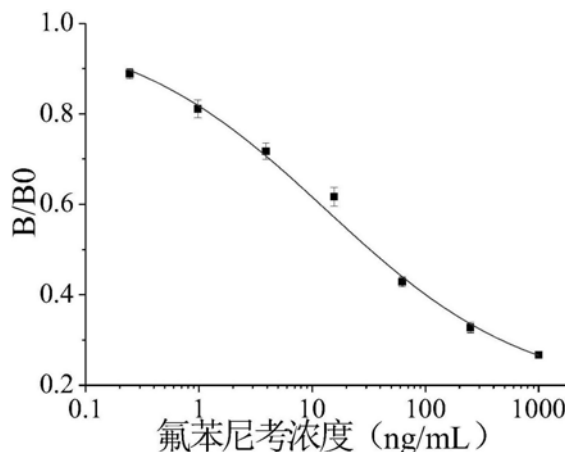
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

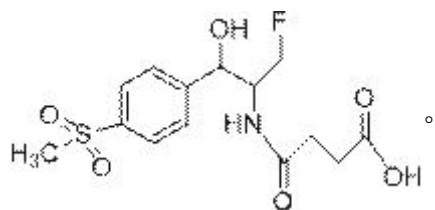
一种检测氟苯尼考的免疫学试剂盒

(57)摘要

本发明公开了一种检测氟苯尼考的免疫学试剂盒。本发明首先以氟苯尼考衍生物与载体蛋白的偶联物为氟苯尼考完全抗原,然后免疫骆驼科动物制备了氟苯尼考免疫检测抗体。本发明制备获得的高亲和力的氟苯尼考骆驼科动物抗体,氟苯尼考的羊驼多克隆抗体为1:32000,氟苯尼考的双峰驼多克隆抗体效价为1:256000;可研究开发出氟苯尼考酶联免疫检测试剂盒,该试剂盒对氟苯尼考检测限为0.3 ng/mL,半数抑制浓度为13.3 ng/mL,能够实现氟苯尼考的高通量、快速、灵敏的检测要求。该试剂盒可用于畜禽、水产品等动物性食品中氟苯尼考的残留检测,操作简便、灵敏度高、价格低廉,非常适合大量样品的筛查,具有广泛的应用前景。



1. 一种氟苯尼考完全抗原,其特征在於,是氟苯尼考衍生物与载体蛋白的偶联物;所述氟苯尼考衍生物的结构如下:



2. 根据权利要求1所述氟苯尼考完全抗原,其特征在於,所述载体蛋白为牛血清白蛋白或鸡卵白蛋白。

3. 一种氟苯尼考的抗体,其特征在於,所述抗体为权利要求1所述氟苯尼考完全抗原免疫骆驼科动物制备得到。

4. 根据权利要求3所述的抗体,其特征在於,骆驼科动物为羊驼、双峰驼或单峰驼。

5. 根据权利要求3所述的抗体,其特征在於,其制备方法为:

S1. 用权利要求1或2所述氟苯尼考完全抗原免疫羊驼;

S2. 然后分别在第22、36、50、64天各加强免疫一次;

S3. 在第71天,采集全血,收集纯化氟苯尼考羊驼多克隆抗体。

6. 根据权利要求3所述的抗体,其特征在於,其制备方法为:

S1. 用权利要求1或2所述氟苯尼考完全抗原免疫双峰驼;

S2. 然后分别在第15、29、43、57、71天各加强免疫一次;

S3. 在第78天,采集全血,收集纯化氟苯尼考双峰驼多克隆抗体。

7. 权利要求3所述的抗体在检测氟苯尼考或制备检测氟苯尼考的免疫学试剂盒中的应用。

8. 一种检测氟苯尼考的免疫学试剂盒,其特征在於,所述试剂盒含有权利要求3所述抗体。

9. 根据权利要求8所述的免疫试剂盒,其特征在於,还包含有:包被有权利要求1或2所述氟苯尼考完全抗原的酶标板,辣根过氧化物酶标记的二抗,氟苯尼考标准溶液,底物液,底物缓冲液,终止液,浓缩洗涤液。

10. 权利要求8所述的免疫学试剂盒在检测氟苯尼考的应用。

一种检测氟苯尼考的免疫学试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及食品安全免疫检测技术领域检测技术领域,更具体地,涉及一种检测氟苯尼考的免疫学试剂盒。

背景技术

[0002] 自农业部2002年193号公告明确规定氯霉素禁用于所有食品动物,目前氟苯尼考已成为氯霉素禁用后的主要替代品。氟苯尼考的杀菌力强、使用之后耐药率低,被广泛应用于畜禽和水产动物的细菌性疾病,具有良好的治疗效果。但是,随着氟苯尼考的大量、不规范使用,它在畜禽、水产品等动物性食品中的残留问题也日益被重视。

[0003] 目前,检测动物性食品中的氟苯尼考的主要方法为仪器法,虽然仪器残留检测已经可以实现对氟苯尼考的检测,但所需仪器复杂昂贵,而且样品前处理繁琐费时,操作需专业人员、检测费用高,很难适应现场快速检测的需要。为了实现氟苯尼考的高通量、快速、灵敏检测要求,研究开发针对氟苯尼考的酶联免疫检测试剂盒十分迫切。

发明内容

[0004] 本发明的目的是为了克服现有技术的不足,用氟苯尼考衍生物与载体蛋白的偶联物作为氟苯尼考完全抗原免疫骆驼科动物,制备获得高亲和力的氟苯尼考骆驼科抗体,并利用次抗体制备用于检测氟苯尼考的免疫学试剂盒。

[0005] 本发明的第一个目的是提供一种氟苯尼考完全抗原。

[0006] 本发明的第二个目的是提供一种氟苯尼考的骆驼科动物抗体。

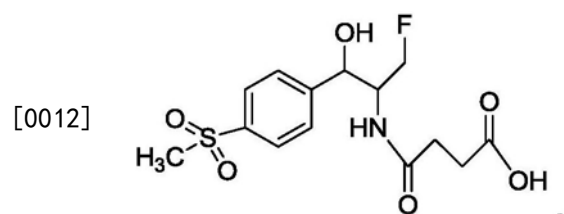
[0007] 本发明的第三个目的是提供所述的骆驼科动物抗体在检测氟苯尼考和制备检测氟苯尼考的免疫学试剂盒中的应用。

[0008] 本发明的第四个目的是提供一种检测氟苯尼考的免疫学试剂盒。

[0009] 本发明的第五个目的是提供所述的免疫学试剂盒在检测氟苯尼考的应用。

[0010] 为了实现上述目的,本发明是通过以下技术方案予以实现的:

[0011] 一种氟苯尼考完全抗原是氟苯尼考衍生物与载体蛋白的偶联物;所述氟苯尼考衍生物的结构如下:



[0013] 优选地,所述氟苯尼考完全抗原,所述载体蛋白为牛血清白蛋白(BSA)或鸡卵白蛋白(OVA)。

[0014] 一种氟苯尼考的抗体,所述抗体为所述氟苯尼考完全抗原免疫骆驼科动物制备得到。

- [0015] 优选地,骆驼科动物为羊驼、双峰驼或单峰驼。
- [0016] 优选地,所述的抗体的制备方法为:
- [0017] S1.用权利要求1或2所述氟苯尼考完全抗原免疫羊驼;
- [0018] S2.然后分别在第22、36、50、64天各加强免疫一次;
- [0019] S3.在第71天,采集全血,收集纯化氟苯尼考羊驼多克隆抗体。
- [0020] 更优选地,步骤S1中氟苯尼考完全抗原的用量为750 μ g;步骤S2中氟苯尼考完全抗原的用量为500 μ g
- [0021] 优选地,所述的抗体的制备方法为:
- [0022] S1.用权利要求1或2所述氟苯尼考完全抗原免疫双峰驼;
- [0023] S2.然后分别在第15、29、43、57、71天各加强免疫一次;
- [0024] S3.在第78天,采集全血,收集纯化氟苯尼考双峰驼多克隆抗体。
- [0025] 更优选地,步骤S1中氟苯尼考完全抗原的用量为500 μ g;步骤S2中氟苯尼考完全抗原的用量为500 μ g。
- [0026] 所述的抗体在检测氟苯尼考或制备检测氟苯尼考的免疫学试剂盒中的应用,也属于本发明的保护范围。
- [0027] 一种检测氟苯尼考的免疫学试剂盒,含有所述抗体,也属于本发明的保护范围。
- [0028] 优选地,所述的免疫试剂盒,还包含有:包被有所述氟苯尼考完全抗原的酶标板,辣根过氧化物酶标记的二抗,氟苯尼考标准溶液,底物液,底物缓冲液,终止液,浓缩洗涤液。
- [0029] 所述的免疫学试剂盒在检测氟苯尼考的应用,也属于本发明的保护范围。
- [0030] 优选地,载体蛋白为鸡卵白蛋白。
- [0031] 优选地,辣根过氧化物酶标记的二抗为辣根过氧化物酶标记的抗骆驼科的二抗。
- [0032] 优选地,所述酶标板是聚苯乙烯96孔或40孔酶标板。
- [0033] 优选地,酶标板材质为聚乙烯、聚苯乙烯、聚丙烯、纤维素、玻璃的一种。
- [0034] 优选地,所用的包被液是pH 9.6的0.05mol/L碳酸盐缓冲液。
- [0035] 优选地,所述的氟苯尼考标准溶液浓度为1mg/mL,使用时用0.01mol/L,pH 7.4的磷酸盐缓冲液稀释成梯度氟苯尼考溶液(1000ng/mL、250ng/mL、62.5ng/mL、15.625ng/mL、3.90625ng/mL、0.97656ng/mL、0.24414ng/mL、0ng/mL)。
- [0036] 优选地,所述的底物液为过氧化氢或过氧化脲的pH5.0磷酸-柠檬酸缓冲溶液。
- [0037] 优选地,所述底物缓冲液为含有3,3,5,5-四甲基联苯胺(TMB)或邻苯二胺(OPD)的pH 5.0磷酸-柠檬酸缓冲溶液。
- [0038] 优选地,所述的终止液为5%~10%硫酸或2mol/L氢氧化钠溶液。
- [0039] 优选地,所述的浓缩洗涤液为含有0.5%~1.0%吐温20的0.01mol/L,pH 7.4磷酸盐缓冲液。所述的浓缩洗涤液使用时用去离子水稀释10-20倍。
- [0040] 优选地,所述底物液为5~7%过氧化氢或过氧化脲的pH 5.0磷酸-柠檬酸缓冲溶液;所述底物缓冲液为含有3,3,5,5-四甲基联苯胺(TMB)或邻苯二胺(OPD)的pH 5.0磷酸-柠檬酸缓冲溶液。
- [0041] 优选地,所述终止液为10%硫酸溶液;所述浓缩洗涤液为含有1.0%吐温20和0.1mol/mL磷酸盐缓冲液。

[0042] 本发明所述的包被有氟苯尼考完全抗原的酶标板的制备方法为：用包被液将氟苯尼考完全抗原稀释至一定浓度，向酶标板中加入稀释液，放入4℃或37℃环境中过夜孵育，倾去包被液，用洗涤液洗涤，然后向每孔中加入封闭液，4℃或37℃环境中孵育，倾去封闭液，干燥后使用铝膜真空包装袋保存。

[0043] 本发明还提供了所述氟苯尼考酶联免疫检测试剂盒的使用方法，包括下列步骤：

[0044] (1) 将试剂盒从冷藏环境取出，置于室温条件下平衡；

[0045] (2) 将氟苯尼考标准品溶液或经前处理的待测样品溶液加入试剂盒的酶标板微孔中，然后每孔加入所述骆驼科动物抗体，轻微震荡混匀，37℃环境中孵育；

[0046] (3) 用洗涤液对酶标板微孔进行洗涤，拍干；

[0047] (4) 每孔加入辣根过氧化物酶标记的二抗，轻微震荡混匀，37℃环境中孵育；

[0048] (5) 用洗涤液对酶标板微孔进行洗涤，拍干；

[0049] (6) 将底物液和底物缓冲液等体积混合后得到酶联免疫检测显色液，向每孔中加入显色液，轻微震荡混匀，37℃环境中孵育；

[0050] (7) 每孔加入终止液，轻微震荡混匀，在450nm波长下用酶标仪测定酶标板微孔的吸光值；

[0051] (8) 以各标准品浓度孔吸光值与零标准孔吸光值比值为纵坐标，以药物标准液浓度的log10值为横坐标，绘制标准曲线图，从而根据待测样品的吸光值来计算样品中氟苯尼考的含量。

[0052] 抑制率按下式计算：

$$[0053] \quad \text{抑制率 (\%)} = \left(1 - \frac{B}{B_0}\right) \times 100\%$$

[0054] 其中各标准液浓度孔的吸光值为B，零标准孔的吸光值为B₀。根据建立的标准曲线计算出检测限LOD (10%抑制率的药物浓度，IC₁₀) 和半数抑制量 (50%抑制率的药物浓度，IC₅₀)。

[0055] 本发明的氟苯尼考酶联免疫检测试剂盒依据如下检测原理：首先将包被抗原包被于固相载体(酶标板)上，然后加入氟苯尼考标准品或待测样品，再加入氟苯尼考骆驼科动物抗体，包被抗原与待测样品中的氟苯尼考竞争抗体，待测样品氟苯尼考含量高时，则与固相抗原结合的抗体就少，反之结合在固相抗原上的抗体就多，反应后加入辣根过氧化物酶标记的二抗进行反应，然后再加入显色液进行显色并加以测定。当氟苯尼考骆驼科抗体量一定时，加入的待测样品含氟苯尼考越多，与固相抗原结合的抗体就越少，发光反应减弱，抑制率增高，反之，则发光反应增强，抑制率减低，因而根据抑制率与氟苯尼考浓度之间的半对数关系作图即得标准曲线，再根据氟苯尼考的标准曲线和待检样品的抑制率，即可推算出待测样品中氟苯尼考的浓度。

[0056] 所述的免疫学试剂盒在检测氟苯尼考的应用。

[0057] 与现有技术相比，本发明具有如下有益效果：

[0058] 本发明以氟苯尼考衍生物与载体蛋白的偶联物为氟苯尼考完全抗原，制备氟苯尼考免疫检测骆驼科动物抗体，从而构建免疫检测方法和试剂盒，具有如下明显的优势：

[0059] (1) 制备获得高亲和力的氟苯尼考骆驼科动物抗体，氟苯尼考的羊驼多克隆抗体为1:32000，氟苯尼考的双峰驼多克隆抗体效价为1:256000。

[0060] (2) 研究开发出氟苯尼考酶联免疫检测试剂盒,能够实现氟苯尼考的高通量、快速、灵敏的检测要求。该试剂盒对氟苯尼考检测限为0.3ng/mL,半数抑制浓度为13.3ng/mL。

[0061] 因此,本发明提供的氟苯尼考酶联免疫检测试剂盒可用于畜禽、水产品等动物性食品中氟苯尼考的残留检测,操作简便、灵敏度高、价格低廉,非常适合大量样品的筛查,具有广泛的应用前景。

附图说明

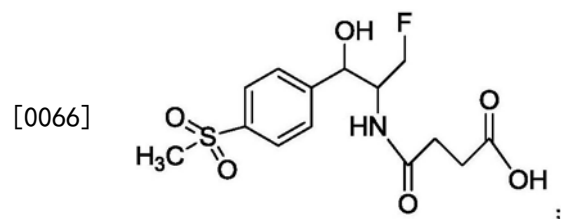
[0062] 图1为氟苯尼考的酶联免疫检测试剂盒标准曲线。

具体实施方式

[0063] 下面结合说明书附图和具体实施例对本发明作出进一步地详细阐述,所述实施例只用于解释本发明,并非用于限定本发明的范围。下述实施例中所使用的试验方法如无特殊说明,均为常规方法;所使用的材料、试剂等,如无特殊说明,为可从商业途径得到的试剂和材料。

[0064] 实施例1氟苯尼考完全抗原

[0065] 氟苯尼考完全抗原为氟苯尼考衍生物与载体蛋白的偶联物,其中,氟苯尼考衍生物缩写为FFOA,其化学式如下:



[0067] 载体蛋白为牛血清白蛋白 (BSA) 或鸡卵白蛋白 (OVA)。

[0068] 所得完全抗原FFOA-BSA作为骆驼科动物抗体制备的免疫原,完全抗原FFOA-OVA作为氟苯尼考酶联免疫检测方法构建的包被原。

[0069] 实施例2氟苯尼考羊驼多克隆抗体的制备

[0070] (1) 将氟苯尼考完全抗原FFOA-BSA与弗氏完全佐剂等比例混匀并充分乳化采用颈部和背部皮下多点注射的方式免疫羊驼,用量为750μg/次;

[0071] (2) 分别在第22,36,50、64天加强免疫(将FFOA-BSA与弗氏不完全佐剂等比例混匀并充分乳化采用背部皮下多点注射的方式免疫羊驼,用量为500μg/次),共加强免疫4次,免疫间隔为2周。

[0072] (3) 在第71天,从羊驼颈部采集全血50mL,将血液在37℃水浴锅中放置30分钟,4℃12000rpm离心30分钟,收集上清液即为氟苯尼考羊驼多克隆抗体,分装,-20℃保存。

[0073] 对羊驼免疫氟苯尼考完全抗原FFOA-BSA,经过5次免疫后,羊驼多克隆抗体效价为1:32000。

[0074] 实施例3氟苯尼考双峰驼多克隆抗体的制备

[0075] (1) 将氟苯尼考完全抗原FFOA-BSA与弗氏完全佐剂等比例混匀并充分乳化采用颈部和背部皮下多点注射的方式免疫双峰驼,用量为500μg/次;

[0076] (2) 分别在第15, 29, 43, 57, 71天加强免疫(将FF0A-BSA与弗氏不完全佐剂等比例混匀并充分乳化采用颈部和背部皮下多点注射的方式免疫双峰驼, 用量为500 μ g/次), 共加强免疫5次, 免疫间隔为2周。

[0077] (3) 在第78天, 从双峰驼颈部采集全血100mL, 将血液在37 $^{\circ}$ C水浴锅中放置30分钟, 4 $^{\circ}$ C 12000rpm离心30分钟, 收集上清液即为氟苯尼考双峰驼多克隆抗体, 分装, -20 $^{\circ}$ C保存。

[0078] 对双峰驼免疫氟苯尼考完全抗原FF0A-BSA, 经过6次免疫后, 双峰驼多克隆抗体效价为1:256000。

[0079] 实施例4氟苯尼考酶联免疫检测方法的建立

[0080] 以氟苯尼考双峰驼多克隆抗体为例, 以250ng/mL完全抗原FF0A-OVA包被在ELISA酶标板微孔内, 氟苯尼考双峰驼多克隆抗体稀释1:12800作为抗体工作溶液, 进行氟苯尼考酶联免疫检测方法的建立。具体方法如下:

[0081] (1) 将250ng/mL FF0A-OVA包被在同一ELISA酶标板的微孔内, 经37 $^{\circ}$ C包被过夜后, 用洗涤液洗涤2次, 每孔加入120 μ L 5%脱脂奶粉溶液于37 $^{\circ}$ C封闭3h。甩干孔内液体后, 37 $^{\circ}$ C烘1h, 备用;

[0082] (2) 将50 μ L系列浓度(1000ng/mL、250ng/mL、62.5ng/mL、15.625ng/mL、3.90625ng/mL、0.97656ng/mL、0.24414ng/mL、0ng/mL) 氟苯尼考标准液或前处理的样品液加入ELISA包被的微孔内;

[0083] (3) 向ELISA包被的微孔加入50 μ L氟苯尼考双峰驼多克隆抗体工作溶液, 37 $^{\circ}$ C孵育40min, 倒出孔内液体, 用洗涤液洗涤5次, 在吸水纸上拍干;

[0084] (4) 向ELISA包被的微孔加入100 μ L 1:10000稀释的羊抗驼酶标二抗溶液, 37 $^{\circ}$ C温育30min, 用洗涤液洗涤5次, 拍干;

[0085] (5) 向包被的ELISA酶标板微孔加入100 μ L TMB底物显色溶液, 37 $^{\circ}$ C孵育10min, 加入50 μ L的2mol/L硫酸溶液终止, 用酶标仪在波长450nm处测定吸光值, 以各标准品浓度孔吸光值与零标准孔吸光值比值为纵坐标, 以药物标准液浓度的 $\log_{10}$ 值为横坐标, 绘制标准曲线图。

[0086] 抑制率 (%) = $\left(1 - \frac{B}{B_0}\right) \times 100\%$,

[0087] 其中各标准液浓度孔的吸光值为B, 零标准孔的吸光值为 B_0 。

[0088] 根据建立的标准曲线计算出检测限LOD (10%抑制率的药物浓度, IC_{10}) 和半数抑制量 (50%抑制率的药物浓度, IC_{50})。

[0089] 结果表明, 建立的酶联免疫检测方法对氟苯尼考 IC_{50} 为13.3ng/mL, 检测限为0.3ng/mL, 在0.8~230.2ng/mL的范围内, 抑制率与氟苯尼考浓度的对数值成显著的S型曲线关系, 相关系数为0.9998。

[0090] 实施例5氟苯尼考酶联免疫检测试剂盒的制备

[0091] 1、氟苯尼考酶联免疫检测试剂盒各组分的制备

[0092] (1) 包被有氟苯尼考完全抗原的酶标板的制备: 用pH 9.6的0.5mol/L碳酸盐缓冲液将完全抗原FF0A-OVA稀释成250ng/mL, 在酶标板微孔中每孔加100 μ L, 37 $^{\circ}$ C包被过夜, 用洗涤液洗涤2次, 每孔加入120 μ L 5%脱脂奶粉溶液于37 $^{\circ}$ C封闭3h。甩干孔内液体后, 37 $^{\circ}$ C烘1h, 将包被酶标板保存于干燥的铝箔袋中。

[0093] (2) 氟苯尼考双峰驼多克隆抗体工作液的制备:将氟苯尼考双峰驼多克隆抗体稀释1:12800,将稀释液保存于6mL棕色瓶内;

[0094] (3) 辣根过氧化物酶标记的二抗溶液的制备:将羊抗驼酶标二抗稀释1:10000,将稀释液保存于10mL棕色瓶内;

[0095] (4) 氟苯尼考标准溶液的制备:将氟苯尼考标准液稀释成一系列浓度(1000ng/mL、250ng/mL、62.5ng/mL、15.625ng/mL、3.90625ng/mL、0.97656ng/mL、0.24414ng/mL、0ng/mL),将一系列稀释液分别保存于8个10mL棕色瓶内,并分别标记;

[0096] (5) 底物液的制备:含5~7%过氧化氢的pH 5.0磷酸-柠檬酸缓冲溶液,将溶液保存于6mL棕色瓶内;

[0097] (6) 底物缓冲液的制备:含有3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)的pH 5.0磷酸-柠檬酸缓冲溶液,将溶液保存于6mL棕色瓶内;

[0098] (7) 终止液的制备:配置10%硫酸溶液,保存于10mL棕色瓶内;

[0099] (8) 浓缩洗涤液的制备:含有1.0%吐温20和0.1mol/L磷酸盐缓冲液,将溶液保存于10mL棕色瓶内,20倍稀释使用。

[0100] 2、氟苯尼考酶联免疫检测试剂盒的组建

[0101] 组建氟苯尼考酶联免疫检测试剂盒,包含以下组份:

[0102] (1) 包被有氟苯尼考完全抗原的酶标板1块;

[0103] (2) 氟苯尼考双峰驼多克隆抗体工作液,6mL/瓶;

[0104] (3) 辣根过氧化物酶标记的二抗溶液,10mL/瓶;

[0105] (4) 氟苯尼考标准溶液:,分别为1000ng/mL、250ng/mL、62.5ng/mL、15.625ng/mL、3.90625ng/mL、0.97656ng/mL、0.24414ng/mL、0ng/mL,各1mL/瓶;

[0106] (5) 底物液,6mL/瓶;

[0107] (6) 底物缓冲液,6mL/瓶;

[0108] (7) 终止液,6mL/瓶;

[0109] (8) 浓缩洗涤液,10mL/瓶;

[0110] (9) 使用说明书,1份;

[0111] (10) 盖板膜,2张;

[0112] (11) 自封袋,1个;

[0113] (12) 手套,5只。

[0114] 实施例6氟苯尼考酶联免疫检测试剂盒的使用

[0115] 1、待测样品前处理方法:

[0116] 称取试样1g于50mL离心管中,加入0.3mL氨水和10mL乙酸乙酯,涡旋振摇2min,超声提取5min,8000r/min离心10min,取上清液45℃氮气吹干,用2mL 5%甲醇水溶液复溶,加入2mL正己烷,涡旋振摇3min,8000r/min离心10min,取下层用于C₁₈固相萃取柱净化。将固相萃取柱依次用3mL甲醇、3mL水活化,准确移取上清液过柱,用3mL水淋洗,3mL甲醇溶液洗脱,收集洗脱液,45℃氮气吹干,用1mL 20%乙腈水溶液超声复溶用于检测。

[0117] 2、氟苯尼考酶联免疫检测:

[0118] (1) 将试剂盒从冷藏环境取出,置于室温条件下平衡;

[0119] (2) 将50μL氟苯尼考标准品溶液或经前处理的待测样品溶液加入试剂盒的酶标板

微孔中,然后每孔加入50 μ L氟苯尼考双峰驼多克隆抗体,轻微震荡混匀,37℃环境中孵育40min;

[0120] (3) 用洗涤液对酶标板微孔进行洗涤5次,拍干;

[0121] (4) 每孔加入50 μ L辣根过氧化物酶标记的羊抗驼二抗,轻微震荡混匀,37℃环境中孵育30min;

[0122] (5) 用洗涤液对酶标板微孔进行洗涤5次,拍干;

[0123] (6) 将底物液和底物缓冲液等体积混合后得到酶联免疫检测显色液,向每孔中加入100 μ L显色液,轻微震荡混匀,37℃环境中孵育10min;

[0124] (7) 每孔加入终止液,轻微震荡混匀,在450nm波长下用酶标仪测定酶标板微孔的吸光值;

[0125] (8) 以各标准品浓度孔吸光值与零标准孔吸光值比值为纵坐标,以药物标准液浓度的log10值为横坐标,绘制标准曲线图(如图1),从而根据待测样品的吸光值来计算样品中氟苯尼考的含量。

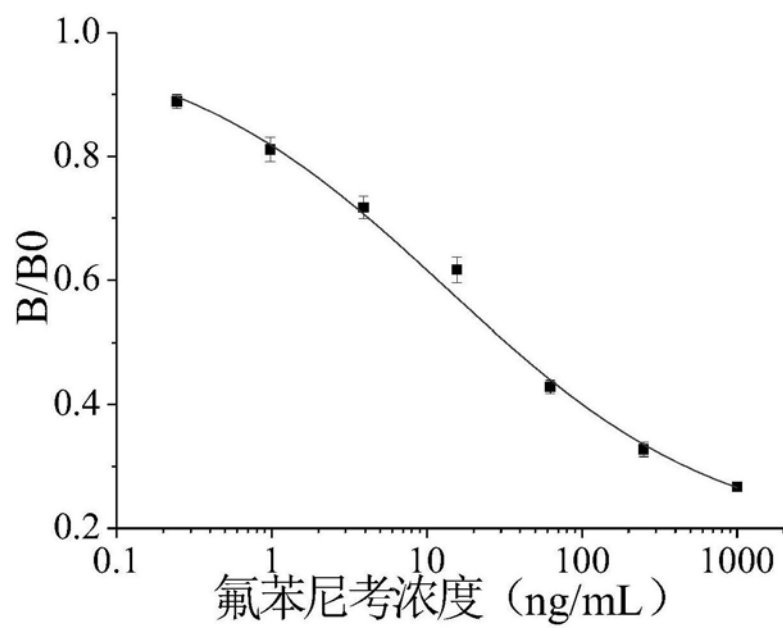


图1

专利名称(译)	一种检测氟苯尼考的免疫学试剂盒		
公开(公告)号	CN108169479A	公开(公告)日	2018-06-15
申请号	CN201711463072.X	申请日	2017-12-28
[标]申请(专利权)人(译)	华南农业大学		
申请(专利权)人(译)	华南农业大学		
当前申请(专利权)人(译)	华南农业大学		
[标]发明人	王弘 王锋 沈玉栋 张瑾如 杨金易 李然 梁一凡 肖治理		
发明人	王弘 王锋 沈玉栋 张瑾如 杨金易 李然 梁一凡 肖治理		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/535 G01N21/31 G01N33/02		
代理人(译)	任重		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种检测氟苯尼考的免疫学试剂盒。本发明首先以氟苯尼考衍生物与载体蛋白的偶联物为氟苯尼考完全抗原，然后免疫骆驼科动物制备了氟苯尼考免疫检测抗体。本发明制备获得的高亲和力的氟苯尼考骆驼科动物抗体，氟苯尼考的羊驼多克隆抗体为1:32000，氟苯尼考的双峰驼多克隆抗体效价为1:256000；可研究开发出氟苯尼考酶联免疫检测试剂盒，该试剂盒对氟苯尼考检测限为0.3 ng/mL，半数抑制浓度为13.3 ng/mL，能够实现氟苯尼考的高通量、快速、灵敏的检测要求。该试剂盒可用于畜禽、水产品等动物性食品中氟苯尼考的残留检测，操作简便、灵敏度高、价格低廉，非常适合大量样品的筛查，具有广泛的应用前景。

