



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102621297 A

(43) 申请公布日 2012. 08. 01

(21) 申请号 201210063263. 8

(22) 申请日 2012. 03. 12

(71) 申请人 南开大学

地址 300071 天津市南开区卫津路 94 号

(72) 发明人 郝日沫 宋佩 尹永梅 孟萌

张太昌 田溪 薛虎寅

(74) 专利代理机构 天津佳盟知识产权代理有限公司 12002

代理人 侯力

(51) Int. Cl.

G01N 33/542(2006. 01)

G01N 33/533(2006. 01)

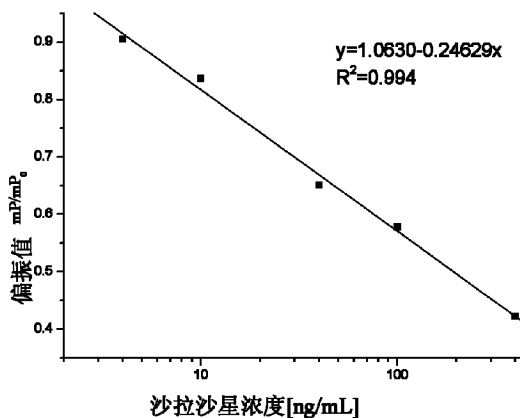
权利要求书 1 页 说明书 8 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种沙拉沙星的荧光偏振免疫分析检测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种以合成的沙拉沙星荧光标记物为基础的沙拉沙星(Sarafloxacin, SAR)的荧光偏振免疫分析方法,属于荧光偏振免疫检测技术领域。本发明利用沙拉沙星作为半抗原偶联异硫氰酸荧光素 FITC,合成荧光标记物,并以沙拉沙星为标准品,沙拉沙星多克隆抗体为抗体,建立了沙拉沙星的荧光偏振免疫分析方法。本发明分析方法的建立,为沙拉沙星的含量分析供了一种快速高效的分析手段。本发明方法操作简便、快速、成本低。IC₅₀为 43. 23ng/mL,线性范围为 5. 7~327. 6ng/mL。免疫分析的高特异性和亲和性使荧光偏振免疫分析方法具有极高的选择性和灵敏度。



1. 一种沙拉沙星的荧光偏振免疫分析方法,其特征在于该方法利用沙拉沙星作为半抗原偶联 FITC 荧光素合成荧光标记物,并以沙拉沙星为标准品、沙拉沙星多克隆抗体为抗体,建立了沙拉沙星的荧光偏振免疫分析方法,步骤如下:

(1) 沙拉沙星荧光标记物的制备:

a. 称取 3 ~ 4mg SAR 溶于由 100 μ L 水、500 μ L 甲醇、50 μ L 三乙胺组成的混合溶剂中形成 A 液;

b. 称取 6mg 异硫氰酸荧光素 (FITC) 于 600 μ L 甲醇中形成 B 液;

c. 取 200 μ L B 液逐滴加入 A 液中,震荡,室温避光过夜;

d. 次日,以 CHCl_3 : MeOH = 2 : 1 (V/V) 为展开剂,室温下对 c 步的反应液进行薄层层析,分离纯化得沙拉沙星荧光标记物;

(2) 沙拉沙星荧光标记物工作浓度的确定:

用 2.5mmol/L、pH = 8.0 的硼酸盐缓冲液倍比稀释得到不同浓度的沙拉沙星荧光标记物,检测荧光偏振光强度,以 5 倍于空白溶液的偏振光强度所对应的浓度作为沙拉沙星荧光标记物的工作浓度;

(3) 沙拉沙星多克隆抗体工作浓度的确定:

在每个试管中依次加入 500 μ L 用 2.5mmol/L、pH = 8.0 的硼酸盐缓冲液稀释的比例分别为 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200 的沙拉沙星多克隆抗体,并依次加入 500 μ L 步骤 (2) 确定的工作浓度的沙拉沙星荧光标记物,混匀后室温孵育 5min,检测荧光偏振光强度,以最大偏振值 70% 对应的抗体浓度作为抗体的最佳工作浓度;

(4) 竞争

盐酸沙拉沙星用双蒸水稀释成系列溶液并分别加入试管中,另设一个双蒸水空白对照,40 μ L/管;每管加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星荧光标记物,最后分别加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星多克隆抗体,混匀后室温孵育 5min,检测其荧光偏振光强度;

(5) 建立沙拉沙星抗体的抑制率曲线

以沙拉沙星浓度为横坐标,偏振光强度为纵坐标作图,建立沙拉沙星抗体的抑制率曲线;

(6) 交叉反应率

甲醇溶解恩诺沙星、加替沙星;pH = 5-6 的稀醋酸溶解氧氟沙星;双蒸水溶解盐酸沙拉沙星、盐酸环丙沙星,配制 1mg/mL 的标准品溶液,按照一系列浓度,用蒸馏水进行稀释,分别加入到试管中,另设一个双蒸水空白对照,40 μ L/管;每管加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星荧光标记物,最后分别加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星多克隆抗体,混匀后室温孵育 5min,检测其荧光偏振光强度。

(7) 实际样品的检测

取处理过的牛奶和猪尿 40 μ L/管,再加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星荧光标记物,最后分别加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星多克隆抗体,混匀后室温孵育 5min,检测其荧光偏振光强度。

一种沙拉沙星的荧光偏振免疫分析检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及沙拉沙星的一种荧光偏振免疫分析方法,属于荧光偏振免疫分析检测技术领域。

技术背景

[0002] 沙拉沙星 (Sarafloxacin, SAR) 属于动物专用的氟喹诺酮类药物,药用其盐酸盐,具有广谱抗菌、活性强、毒副作用小等特点,主要用于治疗鸡、猪的敏感细菌及支原体感染所致的疾病。据报道,盐酸沙拉沙星的半衰期较长,在食品动物中的残留会引起耐药性,过量的药物残留也会直接危害动物及人体健康。我国规定动物性食品中兽药沙拉沙星的最高残留限量不超过 $80 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

[0003] 目前,用于(氟)喹诺酮类药物检测的主要方法有四大类:微生物法、仪器分析法、化学发光分析法及免疫分析法。微生物法适用于检测高浓度的药物残留,主要用于大量样品的快速筛选;常用的仪器分析法有高效液相色谱法、液-质联用分析法、高效毛细管电泳法等;此类分析法虽然具有高效、灵敏、快速准确的特点,但是使用的仪器昂贵,而且样品前处理较繁琐,不适合大量样品的快速检测;免疫分析法主要包括酶联免疫吸附法、免疫亲和柱色谱分析法、免疫传感器分析法等。免疫分析法准确性好、灵敏度和特异性高、快速准确,可用于大量样品的快速检测,因此免疫分析法尤其是酶联免疫吸附分析法(ELISA)现已广泛应用于小分子农药以及兽药的快速筛选残留检测。但是ELISA法大多属于非均相的免疫分析法,由于在操作过程中需要分离结合的和未结合的抗原(抗体)或酶标记物,耗时较长,所以迫切需要发展一种更加简便快速的分析方法。

[0004] 荧光偏振免疫分析法(fluorescence polarization immunoassay, FPIA)则具备了这一特点,是一种快速、简便、高效、可靠的分析方法,而荧光偏振免疫分析法的关键是小分子荧光标记物的成功制备以及需要高特异性的抗体,当二者同时具备时,即可通过待测沙拉沙星和沙拉沙星荧光标记物同时竞争结合沙拉沙星抗体时偏振值的变化(竞争法)进行沙拉沙星的荧光偏振免疫分析,而国内尚未有关沙拉沙星荧光标记物的制备以及沙拉沙星荧光偏振免疫分析方法建立的报道。

发明内容

[0005] 本发明的目的是解决传统分析方法操作复杂费时的问题,提供一种沙拉沙星荧光标记物的制备方法以及利用荧光标记物和高特异性的抗体建立的沙拉沙星荧光偏振免疫分析方法。

[0006] 本发明提供的沙拉沙星的荧光偏振免疫分析方法,利用沙拉沙星作为半抗原偶联FITC荧光素合成荧光标记物,并以沙拉沙星标准品,沙拉沙星多克隆抗体为抗体,建立了沙拉沙星的荧光偏振免疫分析方法,步骤如下:

[0007] (1) 沙拉沙星荧光标记物的制备:

[0008] a. 称取 $3 \sim 4\text{mg}$ SAR 溶于由 $100 \mu\text{L}$ 水、 $500 \mu\text{L}$ 甲醇、 $50 \mu\text{L}$ 三乙胺组成的混合溶剂

中形成 A 液；

[0009] b. 称取 6mg 异硫氰酸荧光素 FITC 溶于 600 μ L 甲醇中形成 B 液；

[0010] c. 取 200 μ L B 液逐滴加入 A 液中，震荡，室温避光过夜；

[0011] d. 次日，以 CHCl_3 : MeOH = 2 : 1 (V/V) 为展开剂，室温下对 c 步的反应液进行薄层层析，分离纯化，紫外投射仪下观察，选择 $R_f = 0.1$ 的条带，用 120 μ L 甲醇萃取，得到沙拉沙星荧光标记物；

[0012] (2) 沙拉沙星荧光标记物工作浓度的确定：

[0013] 用 2.5mmol/L、pH = 8.0 的硼酸盐缓冲液倍比稀释得到不同浓度的沙拉沙星荧光标记物，检测荧光偏振光强度，以 5 倍于空白溶液的偏振光强度所对应的浓度作为沙拉沙星荧光标记物的工作浓度；即最终选取 1/12800 的稀释浓度，空白溶液选用 2.5mmol/L、pH = 8.0 的硼酸盐缓冲液；

[0014] (3) 沙拉沙星多克隆抗体的工作浓度的确定：

[0015] 在每个试管中依次加入 500 μ L 用 2.5mmol/L、pH = 8.0 的硼酸盐缓冲液稀释的比例分别为 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200 的沙拉沙星多克隆抗体（本实验室自制），并依次加入 500 μ L 步骤 (2) 确定的工作浓度的沙拉沙星荧光标记物，混匀后室温孵育 5min，检测荧光偏振光强度，以最大偏振值 70% 对应的抗体浓度作为抗体的最佳工作浓度，即最终选取 1/1600 的稀释浓度；

[0016] (4) 竞争

[0017] 盐酸沙拉沙星用双蒸水分别稀释成浓度为 1000, 100, 10, 2.5, 1, 0.25, 0.1, 0.01 μ g/mL 的系列溶液并分别加入 7 个试管中，另设一个双蒸水空白对照，40 μ L/管；每管加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星荧光标记物，最后分别加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星多克隆抗体，混匀后室温孵育 5min，检测其荧光偏振光强度；

[0018] (5) 建立沙拉沙星的标准抑制率曲线

[0019] 以沙拉沙星浓度为横坐标，偏振光强度为纵坐标作图，建立沙拉沙星抗体的抑制率曲线；

[0020] (6) 交叉反应率

[0021] 选择与沙拉沙星结构类似的 4 种药物测定交叉反应率。通过各种药物的标准曲线分别得到其 50% 抑制浓度。用下式计算沙拉沙星抗体对其它药物的交叉反应率。交叉反应越小，该方法对沙拉沙星的检测特异性就越好。

[0022] 交叉反应率 $CR(\%) = [IC_{50}(\text{SAR})/IC_{50}(\text{喹诺酮类药物})] \times 100\%$

[0023] 甲醇溶解恩诺沙星、加替沙星；pH = 5-6 的稀醋酸溶解氧氟沙星；双蒸水溶解盐酸沙拉沙星、盐酸环丙沙星，配制 1mg/mL 的标准品溶液，按照 100, 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001 μ g/mL 一系列浓度，用蒸馏水进行稀释，分别加入到 6 个试管中，另设一个双蒸水空白对照，40 μ L/管；每管加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星荧光标记物，最后分别加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星多克隆抗体，混匀后室温孵育 5min，检测其荧光偏振光强度。

[0024] 更详细的步骤为：

[0025] 1) 配制 2.5mmol/L、pH = 8.0 硼酸盐缓冲液：

[0026] $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0.95g, NaN_3 0.1g 溶于 1L 双蒸水

[0027] 2) 荧光偏振免疫分析检测方法的步骤如下：

[0028] 将盐酸沙拉沙星标准品配制成 1mg/mL 水溶液,保存于 4°C 备用。配制硼酸盐缓冲液 (2.5mmol/L、pH = 8.0),以此为基础配制系列反应液,用于稀释荧光素标记物和沙拉沙星多抗。

[0029] a. 荧光标记物工作浓度的确定:

[0030] 稀释不同浓度的荧光标记物,检测其荧光偏振光强度,以 5 倍于空白溶液的偏振光强度所对应的浓度作为其工作浓度。实验结果选择 1 : 12800 作为荧光标记物的工作浓度。

[0031] b. 沙拉沙星多抗的工作浓度的确定:

[0032] 在每个试管中依次加入 500 μ L 用 2.5mmol/L、pH = 8.0 的硼酸盐缓冲液稀释成不同浓度 (1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200) 的沙拉沙星多抗,并依次加入 500 μ L 的工作浓度的荧光标记物,混匀后室温孵育 5min,检测荧光偏振光强度,选取 1/1600 稀释浓度作为抗体的工作浓度

[0033] c. 竞争:

[0034] 将盐酸沙拉沙星用双蒸水稀释成 1000, 100, 10, 2.5, 1, 0.25, 0.1, 0.01 μ g/mL 系列浓度分别加入 7 个试管中,另设一个双蒸水空白对照,40 μ L/管;然后向每个试管中加入 480 μ L 工作浓度的荧光标记物,最后分别加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星多抗,混匀后室温孵育 5min,检测其荧光偏振光强度。

[0035] d. 测定:用荧光偏振仪检测其荧光偏振强度。

[0036] (7) 实际样品的检测

[0037] a. 样品前处理

[0038] 将牛奶样品在 4°C, 10000 转 / 分钟离心 15 分钟,脱除脂肪层;将脱脂的牛奶用硼酸盐缓冲液稀释 20 倍,得到待测样品。将猪尿样品在 4°C, 10000 转 / 分钟离心 15 分钟,取上清猪尿用硼酸盐缓冲液稀释 20 倍,得到待测样品。

[0039] b. 检测

[0040] 将处理后的样品 40 μ L/管;然后向每个试管中加入 480 μ L 工作浓度的荧光标记物,最后分别加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星多抗,混匀后室温孵育 5min,检测其荧光偏振光强度。

[0041] 本发明的优点和有益效果:

[0042] 本发明建立的沙拉沙星荧光偏振免疫分析方法,为沙拉沙星残留检测提供了一种快速高效的分析手段,为沙拉沙星的荧光偏振免疫检测奠定了基础。由于采用的是多克隆抗体和便携式的荧光偏振仪器,具有快速方便可靠的优点。IC₅₀ 为 43.23ppb,线性范围为 5.7 ~ 327.6ng/mL。免疫反应的高特异性和高亲和性使荧光偏振免疫具有极高的选择性和灵敏性。

附图说明

[0043] 图 1 是用荧光偏振仪建立的沙拉沙星抗体的抑制率曲线。

[0044] 图 2 是沙拉沙星抗体的标准曲线。

具体实施方式

[0045] 以下以进一步说明本发明

[0046] 一、仪器

[0047] 电子分析天平 (Sartorius)

[0048] 便携式荧光偏振仪 (SENTARY 100)

[0049] 可调式移液器 (Eppendorf)

[0050] 涡旋混合器 (其林贝尔)。

[0051] 二、试剂

[0052] 盐酸沙拉沙星 (Dr. Ehrensorfer GmbH)

[0053] 加替沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、盐酸环丙沙星对照品 (中国兽医药品监察所)

[0054] 沙拉沙星多克隆抗体实验室自制

[0055] 其他试剂均为分析纯试剂 (天津光复精细化工研究所)。

[0056] 三、实施例

[0057] 实施例 1 沙拉沙星标记物的制备：

[0058] a. 称取 3 ~ 4mgSAR 溶于由 100 μ L 水、500 μ L 甲醇、50 μ L 三乙胺组成的混合溶剂中形成 A 液；

[0059] b. 称取 6mgFITC 溶于 600 μ L 甲醇中形成 B 液；

[0060] c. 取 200 μ L B 液逐滴加入 A 液中，震荡，室温避光过夜。

[0061] d. 次日以混合溶剂 CHCl_3 : MeOH = 2 : 1 (体积比) 为展开剂，室温下对过夜的反应液进行薄层层析，分离纯化，紫外投射仪下观察，选择 $R_f = 0.1$ 的条带，用 120 μ L MeOH 萃取得到沙拉沙星荧光标记物。

[0062] 实施例 2 沙拉沙星荧光标记物工作浓度的确定：

[0063] 用 2.5mmol/L、pH = 8.0 的硼酸盐缓冲液倍比稀释得到不同浓度 (1/400、1/800、1/1600、1/3200、1/6400、1/12800、1/25600) 的沙拉沙星标记物，检测荧光偏振光强度，以 5 倍左右于空白溶液的偏振光强度 (空白偏振光强度为 1861) 作为其工作浓度；确定选取 1/12800 稀释的浓度作为工作浓度，空白溶液选用 2.5mmol/L、pH = 8.0 的硼酸盐缓冲液。

	荧光标记物浓度	偏振光强度
	1/400	22580
	1/800	32570
[0064]	1/1600	32482
	1/3200	22535
	1/6400	13230
	1/12800	7302
	1/25600	3706

[0065] 实施例 3 沙拉沙星多克隆抗体的工作浓度的确定：

[0066] 在每个试管中依次加入 500 μ L 用 2.5mmol/L、pH = 8.0 的硼酸盐缓冲液稀释成不同浓度 (1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200) 的沙拉沙星多抗，并依次加入 500 μ L 的工作浓度的沙拉沙星荧光标记物，混匀后室温孵育 5min，检测荧光偏振光强度，以最大偏振值 (14243) 70% 左右对应的抗体浓度作为抗体的最佳工作浓度；选取 1/1600 稀释浓度作为抗体的工作浓度。

	抗体浓度	偏振光强度
[0067]	1/100	14243
	1/200	13179
	1/400	11915
	1/800	10657
	1/1600	9894
	1/3200	6843

[0068] 实施例 4 竞争

[0069] 盐酸沙拉沙星用双蒸水稀释成 1000, 100, 10, 2.5, 1, 0.25, 0.1, 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 系列浓度并分别加入 7 个试管中, 另设一个双蒸水空白对照, 40 μL /管; 然后向每个试管中加入 480 μL 工作浓度的沙拉沙星标记物, 最后分别加入 480 μL 工作浓度的沙拉沙星多抗, 混匀后室温孵育 5min, 检测其荧光偏振光强度。

	沙拉沙星浓度 (ppb)	偏振光强度
[0070]	0.4	197.5
	4	180
	10	166.3
	40	129.4
	100	114.9
	400	83.9
	4000	65.8
	40000	60.5

[0071] 以沙拉沙星浓度为横坐标, 偏振光强度为纵坐标作图, 建立沙拉沙星抗体的抑制率曲线 (如图 1)。计算药物的半数 (50%) 抑制率浓度 (IC_{50}) 即为该抗体的灵敏度, 该沙拉沙星抗体的灵敏度达 43.23ppb。

[0072] 实施例 5 交叉反应率

[0073] 甲醇溶解恩诺沙星、加替沙星; pH = 5-6 的稀醋酸溶解氧氟沙星; 双蒸水溶解盐酸沙拉沙星、盐酸环丙沙星, 配制 1mg/mL 的标准品溶液, 按照一系列浓度, 用蒸馏水进行稀释, 分别加入到试管中, 另设一个双蒸水空白对照, 40 μL /管; 每管加入 480 μL 工作浓度的沙拉沙星荧光标记物, 最后分别加入 480 μL 工作浓度的沙拉沙星多克隆抗体, 混匀后室温孵育 5min, 检测其荧光偏振光强度。

[0074] 表 1. 不同喹诺酮类药物与沙拉沙星多抗的交叉反应

	喹诺酮药物	IC_{50} (ng/mL)	交叉反应率 CR (%)
[0075]	沙拉沙星	43.23	100
	环丙沙星	1303	3.3
	恩诺沙星	2405	1.8
	加替沙星	2524	1.7
	氧氟沙星	5994	0.7

[0076] 表明该方法对沙拉沙星的特异性较好。

[0077] 实验结果如下:

[0078] 标准曲线：本发明所获得的抗体检测线性范围为 5.7 ~ 327.6ng/mL, IC_{50} 为 43.23ppb。

[0079] 实施例 6 建立沙拉沙星抗体的标准曲线

[0080] 盐酸沙拉沙星用双蒸水稀释成 100, 10, 2.5, 1, 0.25 μ g/mL 系列浓度并分别加入 5 个试管中, 另设一个双蒸水空白对照, 40 μ L/管; 然后向每个试管中加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星标记物, 最后分别加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星多抗, 混匀后室温孵育 5min, 检测其荧光偏振光强度。利用五个浓度值对应的荧光偏振值建立沙拉沙星抗体的标准曲线 (如图 2)。实际体系检测时, 通过检测的偏振值对应标准曲线可以求出实际样品的浓度。

[0081] 实施例 7 实际样品的检测

[0082] 1. 样品前处理

[0083] 将牛奶样品在 4°C, 10000 转/分钟离心 15 分钟, 脱除脂肪层; 将脱脂的牛奶用硼酸盐缓冲液稀释 20 倍, 得到待测样品。将猪尿样品在 4°C, 10000 转/分钟离心 15 分钟, 取上清猪尿用硼酸盐缓冲液稀释 20 倍, 得到待测样品。

[0084] 2. 检测

[0085] 加处理后的样品 40 μ L/管; 然后向每个试管中加入 480 μ L 工作浓度的荧光标记物, 最后分别加入 480 μ L 工作浓度的沙拉沙星多抗, 混匀后室温孵育 5min, 检测其荧光偏振光强度。

[0086] 3. 数据分析

[0087] 根据所测的荧光偏振值对照沙拉沙星抗体标准曲线 (图 2) 求出实际样品中沙拉沙星含量。测量的准确度指测定值与真实值的接近程度, 表示分析结果的正确性。由于

[0088] 无法知道样品的真实浓度, 通常采用添加回收率来表示:

[0089] 回收率 = (测定值 - 空白值) / 添加量

[0090] 定量方法的回收率范围为 70% - 110%。精密度是指在某种方法重复测定同一均质样品所得测定值的彼此接近程度, 表示分析结果的重复性。常用标准差和相对标准偏差, 相对标准偏差又称为变异系数。精密度有两层含义: 重复性和重现性。重复性有时分为批间精密度和批内精密度。对于定量分析方法, 重复性的精密度最好不要超过 20%。该方法用于检测牛奶和猪尿中沙拉沙星含量时的准确度和精密度数据如下, 结果显示

[0091] 该方法在实际样品的检测中准确度和精密度均符合要求。

[0092]

(牛奶) 添加浓 度/ $\mu\text{g L}^{-1}$	实测值/ $\mu\text{g L}^{-1}$						平均回 收率 %	(批内) 变异系 数 %
4	3.05307	4.084799	3.767131	4.557135	3.985064	3.321341	0.948689	14.32039
10	5.93777	7.016912	7.410454	7.313875	8.389827	6.637447	0.711771	11.54371
40	28.00582	32.72565	32.90998	24.5889	35.07268	32.59421	0.774572	12.56852
100	77.59842	85.09608	95.04825	91.52681	95.35194	104.6857	0.915512	10.19448
200	179.5862	173.5528	204.2675	205.8272	185.1044	185.3339	0.944727	6.989683

[0093]

(猪尿) 添加浓 度/ $\mu\text{g L}^{-1}$	实测值/ $\mu\text{g L}^{-1}$						平均回 收率 %	(批内) 变异系 数 %
4	3.768314	3.389902	4.087217	2.734991	3.287481	3.021566	0.845395	14.51198
10	8.181929	7.093331	7.851958	6.93368	7.265704	6.786083	0.735211	7.470572
40	33.91803	30.45506	34.94596	29.12419	31.75334	31.23923	0.797649	6.80942
100	105.5596	90.08379	98.7855	91.91741	93.96903	107.3406	0.979427	7.37538
200	214.2088	180.7167	210.1462	199.3303	212.0725	218.7516	1.029355	6.757516

[0094]

(牛奶) 添加浓 度/ $\mu\text{g L}^{-1}$	实测值/ $\mu\text{g L}^{-1}$						平均回 收率 %	(批间) 变异系 数 %
4	3.05307	2.771938	3.319871	3.763722	3.233479	3.073735	0.800659	10.3935
10	5.93777	5.838077	6.488136	7.484434	6.055192	8.198541	0.666703	14.44759
40	28.00582	23.76858	24.908	32.06691	28.09235	35.54886	0.718294	15.39187
100	77.59842	68.10692	82.27157	94.63765	81.35154	86.32282	0.817148	10.81903
200	179.5862	147.8049	174.8554	198.0615	188.1684	200.7283	0.907671	10.65783

[0095]

(猪 尿)添 加浓度 / $\mu\text{g L}^{-1}$	实测值/ $\mu\text{g L}^{-1}$						平均回 收率 %	(批间) 变异系 数 %
4	3.768314	3.479114	3.021566	4.087217	2.874397	2.67991	0.829605	16.57279
10	8.181929	7.267836	6.786083	7.851958	6.556949	5.931749	0.709608	11.82803
40	33.91803	31.68587	31.23923	34.94596	24.89751	26.67522	0.764008	13.03947
100	105.5596	96.30667	107.3406	98.7855	75.1955	90.43068	0.956031	12.29428
200	214.2088	200.9928	218.7516	210.1462	182.2021	160.7039	0.989171	11.28067

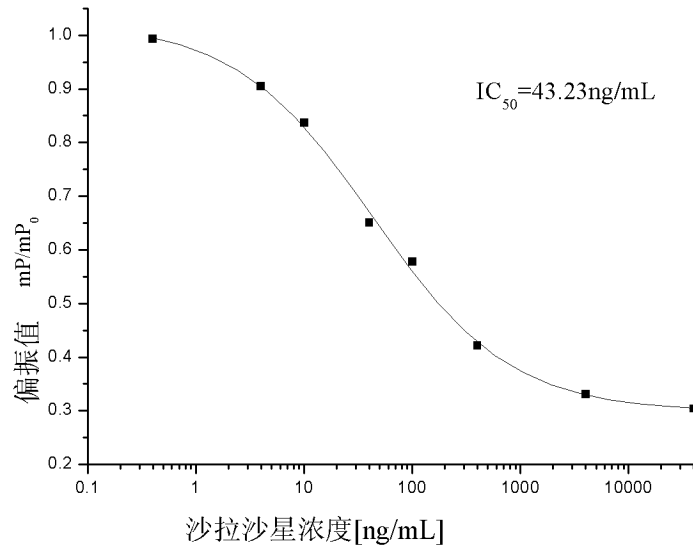


图 1

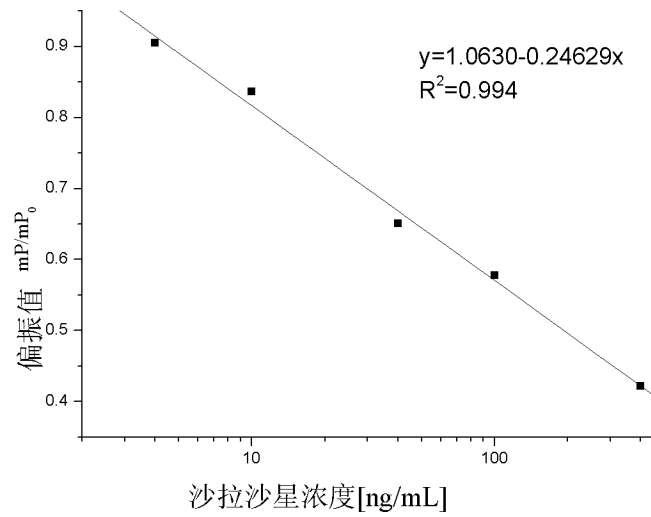


图 2

专利名称(译)	一种沙拉沙星的荧光偏振免疫分析检测方法		
公开(公告)号	CN102621297A	公开(公告)日	2012-08-01
申请号	CN201210063263.8	申请日	2012-03-12
[标]申请(专利权)人(译)	南开大学		
申请(专利权)人(译)	南开大学		
当前申请(专利权)人(译)	南开大学		
[标]发明人	郗日沫 宋佩 尹永梅 孟萌 张太昌 田溪 薛虎寅		
发明人	郗日沫 宋佩 尹永梅 孟萌 张太昌 田溪 薛虎寅		
IPC分类号	G01N33/542 G01N33/533		
代理人(译)	侯力		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种以合成的沙拉沙星荧光标记物为基础的沙拉沙星 (Sarafloxacin, SAR) 的荧光偏振免疫分析方法, 属于荧光偏振免疫检测技术领域。本发明利用沙拉沙星作为半抗原偶联异硫氰酸荧光素 FITC, 合成荧光标记物, 并以沙拉沙星为标准品, 沙拉沙星多克隆抗体为抗体, 建立了沙拉沙星的荧光偏振免疫分析方法。本发明分析方法的建立, 为沙拉沙星的含量分析提供了一种快速高效的分析手段。本发明方法操作简便、快速、成本低。IC50为43.23ng/mL, 线性范围为5.7~327.6ng/mL。免疫分析的高特异性和亲和性使荧光偏振免疫分析方法具有极高的选择性和灵敏度。

