



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103575887 A

(43) 申请公布日 2014. 02. 12

(21) 申请号 201210272138. 8

(22) 申请日 2012. 08. 01

(71) 申请人 北京勤邦生物技术有限公司

地址 102206 北京市昌平区回龙观镇国际信
息产业基地高新四街 8 号

(72) 发明人 何方洋 冯才伟 崔海峰 冯才茂
陶光灿 彭鸽 马腊腊 王建霞

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/558(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

一种检测黄曲霉毒素 B1 的试纸卡及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种检测黄曲霉毒素 B1 的试纸卡及其应用。试纸卡包括样品吸收垫、结合物释放垫、反应膜、吸水垫和底板,所述反应膜上具有包被有黄曲霉毒素 B1 半抗原-载体蛋白偶联物的检测线和包被有羊抗鼠抗抗体的质控线,所述结合物释放垫喷涂有黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体-胶体金标记物。本发明还提供了一种应用上述黄曲霉毒素 B1 试纸卡检测谷物及饲料中黄曲霉毒素 B1 残留的方法。本发明所提供的试纸卡具有操作简单、灵敏度高、检测速度快、成本低等特点,适合大量样本的筛查和现场监控。

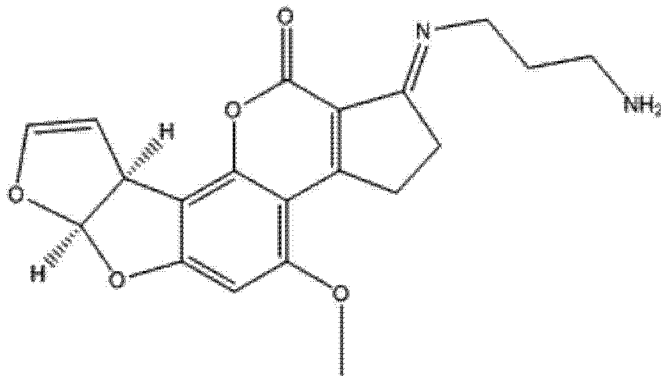
1. 一种检测黄曲霉毒素 B1 的试纸卡, 包括样品吸收垫(1)、结合物释放垫(2)、反应膜(3)、吸水垫(4) 和底板(7), 其特征在于所述反应膜上具有包被有黄曲霉毒素 B1 半抗原-载体蛋白偶联物的检测线(5)和包被有羊抗鼠抗抗体的质控线(6), 所述结合物释放垫(2) 喷涂有黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体-胶体金标记物。

2. 如权利要求 1 所述的试纸卡, 其特征在于所述样品吸收垫(1)、结合物释放垫(2)、反应膜(3)、吸水垫(4) 依次粘贴在底板(7) 上。

3. 如权利要求 1-2 任一项所述的试纸卡, 其特征在于所述结合物释放垫 $1/3 \sim 1/2$ 被覆盖于样品吸收垫下。

4. 如权利要求 1 所述的试纸卡, 其特征在于所述黄曲霉毒素 B1 半抗原-载体蛋白偶联物由黄曲霉毒素 B1 半抗原与载体蛋白偶联得到, 所述载体蛋白可为牛血清白蛋白、卵清蛋白、人血清白蛋白、血蓝蛋白、甲状腺蛋白。

5. 如权利要求 1 或 4 任一项所述的试纸卡, 其特征在于所述黄曲霉毒素 B1 半抗原分子结构式为:



6. 如权利要求 1 所述的试纸卡, 其特征在于所述黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体是以黄曲霉毒素 B1 半抗原-载体蛋白偶联物作为免疫原制备获得, 所述羊抗鼠抗抗体是将鼠源抗体免疫羊得到的。

7. 一种制备权利要求 1-6 任一项所述试纸卡的方法, 其包括步骤:

- 1) 制备喷涂有黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体-胶体金标记物的结合物释放垫;
- 2) 制备具有包被有黄曲霉毒素 B1 半抗原-载体蛋白偶联物的检测线和包被有羊抗鼠抗抗体的质控线的反应膜;
- 3) 将 1) 和 2) 制备好的结合物释放垫、反应膜与样品吸收垫、吸水垫和底板组装成试纸卡。

8. 一种检测谷物和饲料中黄曲霉毒素 B1 残留的方法, 其包括步骤:

- 1) 样本前处理;
- 2) 用权利要求 1-6 任一项所述的试纸卡进行检测;
- 3) 分析检测结果。

一种检测黄曲霉毒素 B1 的试纸卡及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测黄曲霉毒素 B1 的试纸卡及其应用,具体涉及一种用于检测黄曲霉毒素 B1 的胶体金试纸卡,其特别适用于黄豆、玉米等谷物及饲料(原料、配合料、浓缩料)样品中黄曲霉毒素 B1 残留的检测。

背景技术

[0002] 黄曲霉毒素(aflatoxin,AF)是迄今发现污染农产品毒素最强的一类生物毒素,也是强致癌物。它是由黄曲霉菌(*Aspergillus flavus*)和寄生曲霉菌(*A. parasiticus*)等多种真菌产生的一类代谢产物,一群结构相似的化合物。它易天然存在于花生、棉籽、玉米、小麦和稻米等农作物中,具有强烈的毒性和致癌性,是目前化学致癌物中最强的一种致癌诱变剂,其毒性比氰化钾强 10 倍,其致癌性比二甲基亚硝胺强 75 倍。1993 年黄曲霉毒素被世界卫生组织(WHO)的癌症研究机构划定为 I 类致癌物,其作用的靶器官主要为肝脏。最为常见的有 AF B1、B2、G1、G2,其中 AF B1 的存在量与毒性都是最大的。研究表明,人们食用这些被污染的食品后会导致急性中毒,引起肝坏死;慢性中毒则可引发人的肝癌、胃癌、肾癌或食道癌等严重的疾病。

[0003] 1995 年,世界卫生组织制定的食品中黄曲霉毒素最高允许浓度为 $15 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。美国联邦政府有关法律规定人类消费食品和奶牛饲料中的黄曲霉毒素含量(指 AF B1+B2+G1+G2 的总量)不能超过 $15 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。人类消费的牛奶中的 AF 总含量不能超过 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$,其他动物饲料中的 AF 总含量不能超过 $300 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。欧盟国家要求人类生活消费品中的黄曲霉毒素 B1 的含量不能超过 $0.05 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。目前,对黄曲霉毒素检测的方法主要有薄层色谱法、高效液相色谱法、免疫分析法、质谱法、免疫亲和荧光法等。高效液相色谱法灵敏度高、分离能力强、特异性好等,但有些样品需要作彻底有效的前处理,不适合于大批量样品的检测,并且设备仪器昂贵,不易普及。酶联免疫吸附法是目前常使用的一种检测方法,它具有快速、灵敏、可定量、对样品纯度要求不高等优点,特别适用于大批量样品的检测,但由于需要酶标仪和操作熟练的人员以及检测时间相对较长,所以不适合现场快速检测。胶体金免疫层析法与酶联免疫法相比检测时间更短,稳定性好、操作简便、无需其他仪器设备,结果判断直观可靠,适用于进行现场快速筛选。

发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种灵敏度高、操作简单、成本低、检测时间短的黄曲霉毒素 B1 残留检测试纸卡。

[0005] 本发明所提供的检测黄曲霉毒素 B1 残留的试纸卡,包括样品吸收垫(1)、结合物释放垫(2)、反应膜(3)、吸水垫(4)和底板(7);所述反应膜上具有包被有黄曲霉毒素 B1 半抗原-载体蛋白偶联物的检测线(5)和包被有羊抗鼠抗抗体的质控线(6),所述结合物释放垫(2)喷涂有黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体-胶体金标记物。

[0006] 所述黄曲霉毒素 B1 半抗原-载体蛋白偶联物是由黄曲霉毒素 B1 半抗原与载体蛋

白偶联得到,所述载体蛋白可为牛血清白蛋白、卵清蛋白、人血清白蛋白、血蓝蛋白、甲状腺蛋白。

[0007] 所述黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体是以黄曲霉毒素 B1 半抗原-载体蛋白偶联物作为免疫原免疫动物获得;所述羊抗鼠抗抗体是将鼠源抗体免疫羊得到的。

[0008] 所述样品吸收垫(1)、结合物释放垫(2)、反应膜(3)、吸水垫(4)依次粘贴在底板(7)上,所述结合物释放垫 $1/3 \sim 1/2$ 被覆盖于样品吸收垫下。

[0009] 所述底板可为 PVC 底板或其他硬质不吸水的材料;所述样品吸收垫可为玻璃棉或聚酯材料;所述吸水垫为吸水纸;所述反应膜可为硝酸纤维素膜;所述保护膜为 PE 材质保护膜。

[0010] 本发明的另一个目的是提供一种制备上述试纸卡的方法,其包括步骤:

[0011] 1) 制备喷涂有黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体-胶体金标记物的结合物释放垫;

[0012] 2) 制备具有包被有黄曲霉毒素 B1 半抗原-载体蛋白偶联物的检测线和包被有羊抗鼠抗抗体的质控线的反应膜;

[0013] 3) 将 1) 和 2) 制备好的结合物释放垫、反应膜与样品吸收垫、吸水垫和底板组装成试纸卡。

[0014] 具体地说,步骤包括:

[0015] 1) 半抗原制备:将黄曲霉毒素 B1 与丙二胺反应得到黄曲霉毒素 B1 半抗原;

[0016] 2) 将黄曲霉毒素 B1 半抗原与载体蛋白偶联,得到黄曲霉毒素 B1 半抗原-载体蛋白偶联物;

[0017] 3) 用黄曲霉毒素 B1 半抗原-载体蛋白偶联物免疫小鼠,将小鼠脾细胞和骨髓瘤细胞通过融合、筛选,得到黄曲霉毒素 B1 单克隆杂交瘤细胞株;

[0018] 4) 提取小鼠 IgG 免疫健康山羊,得到羊抗鼠抗抗体;

[0019] 5) 用柠檬酸三钠与氯金酸反应制备胶体金;

[0020] 6) 将步骤 3) 制备的黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体加入步骤 5) 制备的胶体金中,得到黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体-胶体金标记物;

[0021] 7) 将黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体-胶体金标记物喷涂在结合物释放垫上,37℃烘 60min 后取出,置于干燥环境中保存备用;

[0022] 8) 将黄曲霉毒素 B1 半抗原-载体蛋白偶联物包被在反应膜上构成检测线,并将羊抗鼠抗抗体包被在反应膜上构成质控线;

[0023] 9) 将样品吸收垫用含 0.5% 牛血清白蛋白(体积百分含量)、pH 为 7.2、0.1mol/L 磷酸盐缓冲液浸泡 2h,37℃下烘干 2h;

[0024] 10) 在底板上按顺序粘贴上样品吸收垫、结合物释放垫、反应膜、吸水垫,样品吸收垫盖住结合物释放垫,最后切成 3mm 宽的小条,加塑料盒,真空包装,4~30℃条件下可保存 12 个月。

[0025] 本发明的另一个目的是提供一种应用上述试纸卡检测黄豆、玉米等谷物及饲料(原料、配合料、浓缩料)样品中黄曲霉毒素 B1 残留的方法,它包括步骤:

[0026] (1) 样品前处理;

[0027] (2) 用试纸卡进行检测;

[0028] (3) 分析检测结果。

[0029] 本发明的黄曲霉毒素 B1 快速检测试纸卡采用高度特异性的抗体抗原反应及免疫层析分析技术,将黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体 - 胶体金标记物固定于结合物释放垫上,样品中的黄曲霉毒素 B1 在流动过程中,与结合物释放垫上的黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体 - 胶体金标记物结合,形成毒素 - 抗体 - 胶体金标记物。样本中的毒素与反应膜检测线上的黄曲霉毒素 B1 半抗原 - 载体蛋白偶联物竞争结合黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体 - 胶体金标记物,根据检测线红色条带有无或颜色深浅来判断待测样品液中是否含有黄曲霉毒素 B1 残留。

[0030] 检测时,样品经处理后滴入试纸卡卡孔内,当黄曲霉毒素 B1 在样品中的浓度低于检测限或为零时,单克隆抗体 - 胶体金标记物在层析过程中会与固定在反应膜上的黄曲霉毒素 B1 半抗原 - 载体蛋白偶联物结合,在检测线(T)和质控线(C)内各出现一条红色条带;如果黄曲霉毒素 B1 在样品中的浓度等于或高于检测限,单克隆抗体 - 胶体金标记物会与黄曲霉毒素 B1 全部结合,从而在 T 线处因为竞争反应不会与黄曲霉毒素 B1 半抗原 - 载体蛋白偶联物结合而不出现红色条带。如图 4 所示。

[0031] 阴性:当质控线(C)显示出红色条带,检测线(T)同时也显示出红色条带,判为阴性。

[0032] 阳性:当质控线(C)显示出红色条带,而检测线(T)不显色,判为阳性。

[0033] 无效:当质控线(C)不显示出红色条带,则无论检测线(T)显示出红色条带与否,该试纸卡均判为无效。

[0034] 本发明的试纸卡具有灵敏度高、特异性强、成本低、操作简单、检测时间短、适合各种单位使用、储存简单、保质期长的优点。用本发明试纸卡检测黄曲霉毒素 B1 残留的方法简便、快速、直观、准确、成本低、易推广使用。

附图说明

[0035] 图 1 为黄曲霉毒素 B1 半抗原合成图。

[0036] 图 2 为黄曲霉毒素 B1 半抗原核磁共振氢谱图。

[0037] 图 3 为试纸卡剖面结构示意图。

[0038] 图 4a、4b、4c 为试纸卡检测结果判定图。

具体实施方式

[0039] 下面结合具体的实施例来进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明,而不用来限制本发明的范围。

[0040] 实施例 1 黄曲霉毒素 B1 检测试纸卡的制备

[0041] 该试纸卡的制备方法主要包括以下步骤:

[0042] 1) 制备喷涂有黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体 - 胶体金标记物的结合物释放垫;

[0043] 2) 制备具有包被有黄曲霉毒素 B1 半抗原 - 载体蛋白偶联物的检测线和包被有羊抗鼠抗抗体的质控线的反应膜;

[0044] 3) 将 1) 和 2) 制备好的结合物释放垫、反应膜与样品吸收垫、吸水垫和底板组装成试纸卡。

[0045] 下面分步详细叙述:

[0046] 1、黄曲霉毒素 B1 半抗原的制备

[0047] 0.10g 黄曲霉毒素 B1 在 2ml 二甲基亚砜(DMSO)中的混合液,60℃下缓慢滴加入 0.1ml 1,3-丙二胺和 0.1ml 吡啶在 2ml DMSO 的混合液中,滴加完毕后,继续反应 12h,旋蒸除去溶剂和未反应的丙二胺,定量得到黄曲霉毒素 B1 的丙二胺单缩合物,合成路线如图 1。

[0048] 取上述产物经核磁共振氢谱测定,如图 2 所示,核磁图谱说明:1.0-1.5ppm 之间新增加的丙二胺结构中的烷基信号峰说明半抗原合成成功。

[0049] 2、免疫原的制备

[0050] 取半抗原 20mg 用 2ml 水溶解得到溶液 I ;取 3% 的戊二醛 0.5ml 逐滴加入到溶液 I 中,室温搅拌反应 24h 得到溶液 II ;取牛血清白蛋白(BSA)50mg 用 4ml 水溶解得到溶液 III ;将溶液 II 缓慢加入到溶液 III 中,室温搅拌反应过夜得到溶液 IV ;加入 30mg NaBH_4 还原,用 0.02mol/L 的 PBS 透析三天,每天更换透析液三次,得免疫原。

[0051] 3、包被原的制备

[0052] 取卵清蛋白(OVA)50mg 用 4ml 水溶解得到溶液 V ;取碳化二亚胺(EDC)和 N-羟基丁二酰亚胺(NHS)各 50mg 用 2ml 水溶解完全后加入溶液 V 中,室温搅拌反应 30min 得到溶液 VI ;取半抗原 25mg 用 3ml 水溶解得到溶液 VII ;将溶液 VI 缓慢加入到溶液 VII 中,室温搅拌反应 24h,用 0.02mol/L 的 PBS 透析三天,每天更换透析液三次,得包被原。

[0053] 4、黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体的制备方法

[0054] (1) 动物免疫

[0055] 将步骤 2 得到的免疫原注入 Balb/c 小鼠体内,免疫剂量为 100 μg /只,使其产生抗血清。

[0056] (2) 细胞融合和克隆化

[0057] 取免疫 Balb/c 小鼠脾细胞,按 8:1 (数量配比)比例与 SP2/0 骨髓瘤细胞融合,采用间接竞争 ELISA 法测定细胞上清液,筛选阳性孔。利用有限稀释法对阳性孔进行克隆化,直到得到稳定分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞株。

[0058] (3) 细胞冻存和复苏

[0059] 将杂交瘤细胞用冻存液制成 1×10^6 个/ml 的细胞悬液,在液氮中长期保存。复苏时取出冻存管,立即放入 37℃ 水浴中速融,离心去除冻存液后,移入培养瓶内培养。

[0060] (4) 单克隆抗体的制备与纯化

[0061] 将 Balb/c 小鼠腹腔注入灭菌石蜡油 0.5ml/只,7 天后腹腔注射黄曲霉毒素 B1 的单克隆杂交瘤细胞株 5×10^6 个/只,7 天后采集腹水。用辛酸-饱和硫酸铵法进行腹水纯化,-20℃ 保存。

[0062] 5、羊抗鼠抗抗体的制备

[0063] 以羊作为免疫动物,以鼠源抗体为免疫原对无病原体羊进行免疫,得到羊抗鼠抗抗体。

[0064] 6、单克隆抗体-胶体金标记物的制备

[0065] (1) 胶体金的制备

[0066] 用双蒸去离子水将 1% 氯金酸稀释成 0.01% (质量百分含量),取 100ml 置于锥形瓶中,用恒温电磁搅拌器加热至沸腾,在持续高温、持续搅拌下加入 1.25ml 1% 柠檬酸三钠,继续匀速搅拌加热至溶液呈透亮的红色时停止,冷却至室温后用去离子水恢复到原体积,4℃ 保存。制备好的胶体金外观纯净、透亮、无沉淀和漂浮物。

[0067] (2) 金标抗体的制备

[0068] 在磁力搅拌下,用 0.2mol/L 碳酸钾溶液调胶体金的 pH 值至 7.0,按每毫升胶体金溶液中加入 20~50 μg 抗体的标准向胶体金溶液中加入黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体,继续搅拌混匀 30min,加入 10%BSA,使其在胶体金溶液中的终浓度为 1% (体积百分含量),静置 10min。12000r/min、4℃离心 40min,弃上清液,沉淀用复溶缓冲液洗涤两次,用体积为初始胶体金体积 1/10 的复溶缓冲液将沉淀重悬,置 4℃备用。

[0069] 复溶缓冲液:含酪蛋白 0.02%~0.1%、吐温-20 0.05%~0.2% (质量百分含量)、pH7.2 的 0.02mol/L 磷酸盐缓冲液。

[0070] 7、结合物释放垫的制备

[0071] 将结合物释放垫浸泡于含有牛血清白蛋白(BSA 在缓冲液中的浓度为 0.5%)、pH7.2,0.5mol/L 磷酸盐缓冲液中,均匀浸湿 1h,37℃烘 3h 备用。用 Isoflow 喷膜仪将制备好的黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体-胶体金标记物均匀喷涂在结合物释放垫上,每 1cm 结合物释放垫喷涂 0.01ml 黄曲霉毒素 B1 单克隆抗体-胶体金标记物后,置于 37℃环境中(湿度 < 30%) 60min 后取出,置于干燥环境(湿度 < 30%) 中保存备用。

[0072] 8、反应膜的制备

[0073] 将黄曲霉毒素 B1 半抗原-卵清蛋白偶联物包被到反应膜上构成检测线,将羊抗鼠抗抗体包被在反应膜上构成质控线。

[0074] 包被过程:用磷酸缓冲液将黄曲霉毒素 B1 半抗原-卵清蛋白偶联物稀释到 10mg/ml,用 Isoflow 点膜仪将其包被于硝酸纤维素膜上的检测线(T 线),包被量为 0.8 μl/cm;用 0.01mol/L、pH7.4 的磷酸盐缓冲液将羊抗鼠抗抗体稀释到 200 μg/ml,用 Isoflow 点膜仪将其包被于硝酸纤维素膜上的质控线(C 线),包被量为 1.0 μl/cm。将包被好的反应膜置于 37℃条件下干燥 2h,备用。

[0075] 9、样品吸收垫的制备

[0076] 将样品吸收垫置于含 0.5% 牛血清白蛋白(体积百分含量)、pH7.2、0.1mol/L 磷酸盐缓冲液中浸泡 2h,37℃烘 2h 备用。

[0077] 10、试纸卡的组装

[0078] 将样品吸收垫、结合物释放垫、反应膜、吸水垫依次按顺序粘贴在 PVC 底板上;结合物释放垫从起始端有 1/3 区域被样品吸收垫覆盖,结合物释放垫的末端与反应膜的始端连接,反应膜的末端与吸水垫的始端相连,样品吸收垫的始端与 PVC 底板的始端对齐,吸水垫的末端与 PVC 底板的末端对齐;所述反应膜上有检测线和质控线,检测线(T 线)和质控线(C 线)均为与所述试纸卡的长相垂直的条状带;检测线位于靠近结合物释放垫的末端的一侧;质控线位于远离结合物释放垫的末端的一侧;将试纸卡用机器切成 3mm 宽的小条,装在特制的塑料制卡中,形成试纸卡,4~30℃条件下可保存 12 个月。

[0079] 实施例 2 样品中黄曲霉毒素 B1 残留的检测

[0080] 1、样品的前处理

[0081] 称取 3.0g±0.05g 粉碎的样品至 15ml 或 50ml 聚苯乙烯离心管中,加入 6ml 乙腈,将瓶塞盖紧,振荡 5min;室温(20~25℃)3000g 以上离心 5min;移取 1ml 上清液到玻璃离心管中,于 50~60℃水浴氮气流下吹干,加入 0.4ml 样品复溶液(0.02mol/L 的磷酸盐缓冲液),涡动 30s,待检。

[0082] 2、用试纸卡进行检测

[0083] 用吸管吸取待检样品溶液垂直滴加 3 滴于加样孔,液体流动时开始计时,反应 5~10min,判定结果。15min 后判断无效。

[0084] 3、分析检测结果

[0085] 阴性(-):T 线和 C 线都显色,表示样品中黄曲霉毒素 B1 浓度低于检测限,如图 4a。

[0086] 阳性(+):T 线无显色 C 线显色,表示样品中黄曲霉毒素 B1 浓度等于或高于检测限,如图 4b。

[0087] 无 效 :未出现 C 线,表明不正确的操作过程或试纸卡已变质失效,如图 4c。在此情况下,应再次仔细阅读说明书,并用新的试纸卡重新测试。

[0088] 实施例 3 样品检测实例

[0089] 1、检测限试验

[0090] 取空白谷物(黄豆、玉米)及饲料(原料、配合料、浓缩料),在其中分别添加黄曲霉毒素 B1 至终浓度为 2.5、5、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$,取试纸卡进行检测,每个样本重复测定三次。

[0091] 用试纸卡检测黄豆、玉米、原料、配合料、浓缩料样本时,当其中黄曲霉毒素 B1 添加浓度为 2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,试纸卡上显示出肉眼可见的两条红色线条,呈阴性;当其中黄曲霉毒素 B1 添加浓度为 5、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,试纸卡质控线显色,但检测线不显色,呈阳性,表明本试纸卡对谷物、饲料样品中黄曲霉毒素 B1 的检测限为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

[0092] 2、假阳性率、假阴性率试验

[0093] 取阳性玉米、配合料样本各 20 份和阴性玉米、配合料样本各 20 份,用三批试纸卡进行检测,计算其阴阳性率。结果见表 1、表 2。

[0094] 表 1 检测阳性样本结果

	浓度	阳性玉米样本 (20 份)	阳性配合料样本 (20 份)
[0095]	1	20 份阳性	20 份阳性
	2	20 份阳性	20 份阳性
	3	20 份阳性	20 份阳性

[0096] 表 2 检测阴性样本结果

	浓度	阴性玉米样本 (20 份)	阴性配合料样本 (20 份)
[0097]	1	20 份阴性	20 份阴性
	2	20 份阴性	20 份阴性
	3	20 份阴性	20 份阴性

[0098] 结果表明:用 3 个批次生产的试纸卡检测阳性玉米、配合料样本时,结果全为阳性,可知阳性样本符合率为 100%,假阴性率为 0;检测阴性玉米、配合料样本时,结果全为阴

性,可知阴性样本符合率为 100%,假阳性率为 0。

[0099] 3、特异性试验

[0100] 特异性常用交叉反应率表示,是指抗体与结构不同的抗原决定簇发生结合的能力。将玉米赤霉烯酮、呕吐毒素、克仑特罗、莱克多巴胺用 pH7.2、0.2mol/L 的磷酸盐缓冲液进行稀释至 500 μ g/L,用黄曲霉毒素 B1 胶体金试纸卡进行检测。结果显示,用该试纸卡检测 500 μ g/L 玉米赤霉烯酮、呕吐毒素、克仑特罗、莱克多巴胺时,试纸卡质控线和检测线均显色,说明本试纸卡对这些药物无交叉反应。

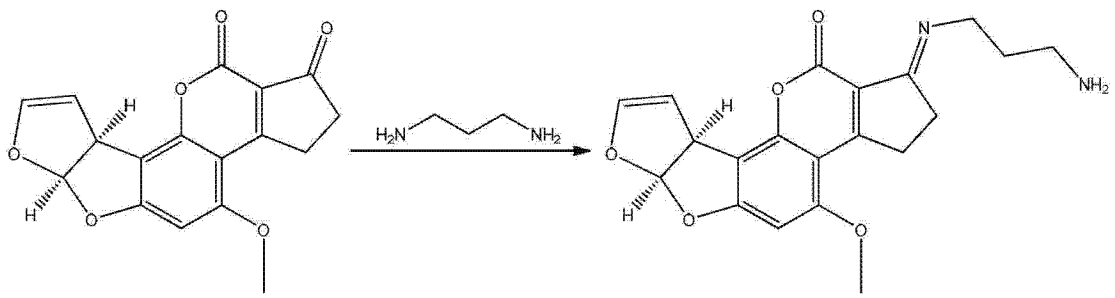


图 1

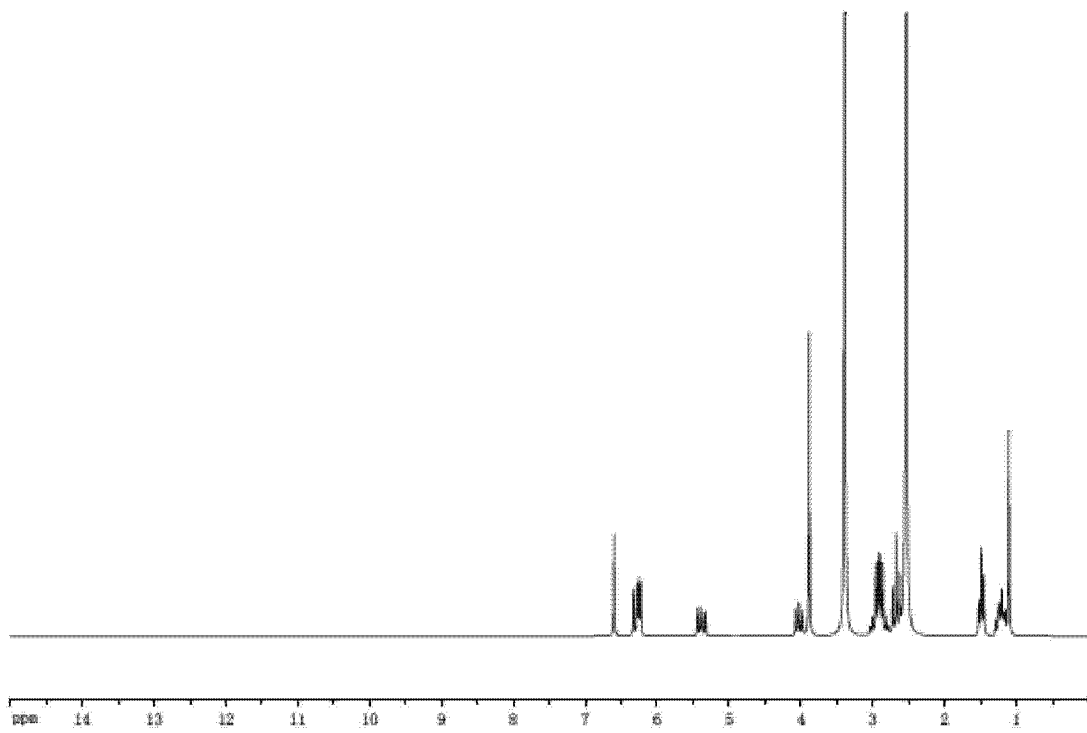


图 2

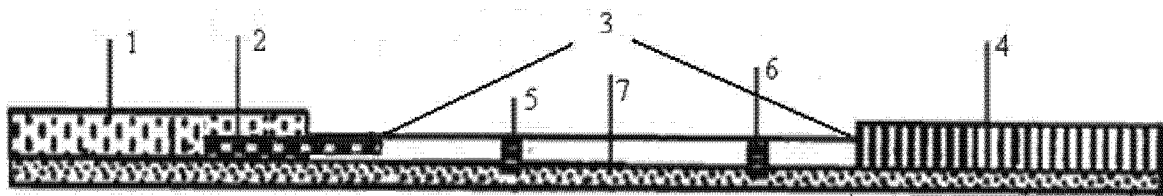


图 3

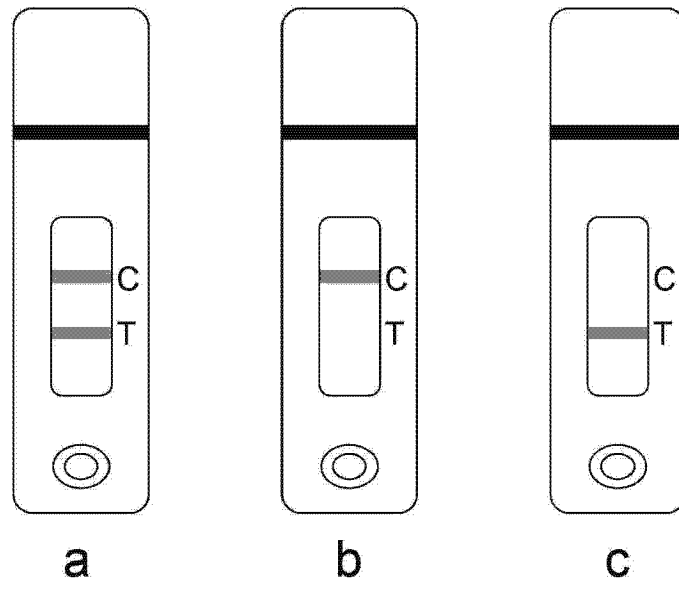


图 4

专利名称(译)	一种检测黄曲霉毒素B1的试纸卡及其应用		
公开(公告)号	CN103575887A	公开(公告)日	2014-02-12
申请号	CN201210272138.8	申请日	2012-08-01
[标]申请(专利权)人(译)	北京勤邦生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京勤邦生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京勤邦生物技术有限公司		
[标]发明人	何方洋 冯才伟 崔海峰 冯才茂 陶光灿 彭鸽 马腊腊 王建霞		
发明人	何方洋 冯才伟 崔海峰 冯才茂 陶光灿 彭鸽 马腊腊 王建霞		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/558 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/558 G01N33/577		
其他公开文献	CN103575887B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种检测黄曲霉毒素B1的试纸卡及其应用。试纸卡包括样品吸收垫、结合物释放垫、反应膜、吸水垫和底板，所述反应膜上具有包被有黄曲霉毒素B1半抗原-载体蛋白偶联物的检测线和包被有羊抗鼠抗抗体的质控线，所述结合物释放垫喷涂有黄曲霉毒素B1单克隆抗体-胶体金标记物。本发明还提供了一种应用上述黄曲霉毒素B1试纸卡检测谷物及饲料中黄曲霉毒素B1残留的方法。本发明所提供的试纸卡具有操作简单、灵敏度高、检测速度快、成本低等特点，适合大量样本的筛查和现场监控。

浓度 批次	阳性玉米样本 (20份)	阳性配合料样本 (20份)
1	20份阳性	20份阳性
2	20份阳性	20份阳性
3	20份阳性	20份阳性