



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110412264 A

(43)申请公布日 2019.11.05

(21)申请号 201910705555.9

(22)申请日 2019.08.01

(71)申请人 临沂大学

地址 276000 山东省临沂市兰山区工业大  
道北段西侧

(72)发明人 张波 辛杰 刘言娟 李新鹏  
陈敏 何珊 张桂芝 王振

(74)专利代理机构 济南泉城专利商标事务所  
37218

代理人 石运芹

(51)Int.Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 21/31(2006.01)

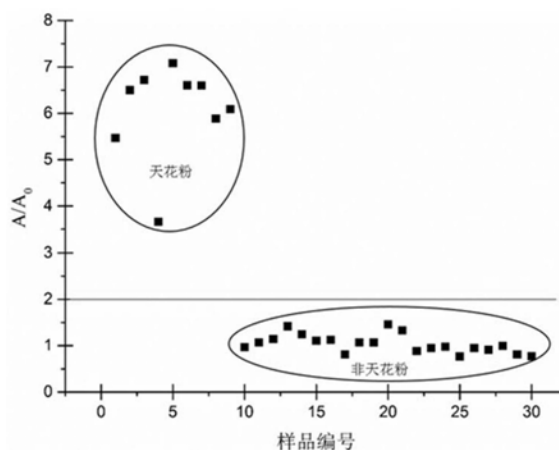
权利要求书2页 说明书5页 附图1页

### (54)发明名称

一种用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联  
免疫试剂盒及其使用鉴别方法

### (57)摘要

本发明公开了一种用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒及其使用鉴别方法。该试剂盒是由TCS对照品、样品稀释液、酶标板、抗TCS的兔多克隆抗血清、抗TCS的鼠多克隆抗血清、羊抗鼠酶标二抗IgG-HRP、包被缓冲液、洗涤液、显色液和终止缓冲液组成。利用本发明的试剂盒可以快速鉴定天花粉真伪,实验结果准确,且具有操作简便、检测快速、高通量、成本低廉的优点,对于保障天花粉的临床有效性及安全性具有十分重要的意义。



1. 一种用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒,其特征在于,它是由TCS对照品、样品稀释液、酶标板、抗TCS的兔多克隆抗血清、抗TCS的鼠多克隆抗血清、羊抗鼠酶标二抗IgG-HRP、包被缓冲液、洗涤液、显色液和终止缓冲液组成;

所述抗TCS的兔多克隆抗血清和抗TCS的鼠多克隆抗血清是采用下述方法制备得到的:

(a1) 将TCS对照品用pH值为7.5的PBS缓冲液溶解至1.0mg/mL,作为免疫原;

(a2) 使用步骤(a1)中的TCS免疫原分别免疫新西兰大耳兔和Balb/c小鼠;所述免疫方法为背部皮下多点注射,免疫剂量为0.4-1.0mg/只,免疫周期为2周/次,免疫次数为4次;

(a3) 4次免疫结束后,收集兔血清以获得抗TCS兔多克隆抗血清,收集小鼠血清以获得抗TCS鼠多克隆抗血清。

2. 根据权利要求1所述的用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒,其特征在于,所述样品稀释液中 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 和 $\text{NaCl}$ 的浓度分别为0.02M、0.0015M和0.14M;吐温-20在样品稀释液中的体积百分含量为0.1%;明胶在样品稀释液中的质量百分含量为0.5%。

3. 根据权利要求1所述的用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒,其特征在于,所述包被缓冲液中 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 和 $\text{NaHCO}_3$ 的浓度分别为0.01M和0.04M,溶液pH值为9.6。

4. 根据权利要求1所述的用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒,其特征在于,所述洗涤液中 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{NaCl}$ 在洗涤液中的浓度分别为0.02M、0.0015M、0.14M,吐温-20在洗涤液中的体积百分含量为0.1%,pH值为7.5。

5. 根据权利要求1所述的用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒,其特征在于,所述显色液的溶剂为底物缓冲液,溶质为邻苯二胺和30%过氧化氢,其在显色液中的浓度分别为2mg/mL和1:2500(v:v);所述底物缓冲液中柠檬酸三钠和 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 的浓度分别为0.01M和0.03M,pH值为5.5,所述显色液需现配现用。

6. 根据权利要求1所述的用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒,其特征在于,所述终止缓冲液为浓度为2M的硫酸水溶液。

7. 一种采用权利要求1-6中任一项所述的用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒来鉴定天花粉真伪的方法,其特征在于,它包括以下步骤:

(b1) 将待测中药样品粉碎、过4号筛后,称量粉末1g,用20mL样品稀释液在4℃条件下,磁力搅拌提取30分钟后,离心取上清液,获得待测样品提取液;

(b2) 将抗TCS兔血清用包被缓冲液稀释500倍后,包被于96孔酶标板上,100μL/孔,37℃包被3小时后,洗涤液洗板3次;

(b3) 以样品稀释液作为空白对照,将待测中药样品提取液及空白对照加至96孔酶标板,100μL/孔,37℃反应30分钟后,洗涤液洗板3次;

(b4) 将抗TCS鼠血清用样品稀释液稀释500倍后加至96孔酶标板,100μL/孔,37℃反应30分钟后,洗涤液洗板3次;

(b5) 将2μg/mL羊抗鼠酶标二抗IgG-HRP加至96孔酶标板,100μL/孔,37℃反应30分钟后,洗涤液洗板3次;

(b6) 取20mg邻苯二胺溶于10mL底物稀释液中,加4μL 30% $\text{H}_2\text{O}_2$ ,将底物溶液加入酶标板中,每孔100μL,避光显色10min;

(b7) 每孔加入50μL终止缓冲液,用酶标仪492nm处测定各孔的吸光值A,与空白对照孔

吸光值 $A_0$ 的比值,即 $A/A_0$ ;若 $A/A_0 \geq 2.0$ ,则确定待测中药样品为天花粉,反之,则所述待测中药样品为非天花粉。

## 一种用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒及其使用鉴别方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒及其用于鉴别中药天花粉真伪的方法。

### 背景技术

[0002] 天花粉(*Trichosanthis Radix*)为葫芦科植物栝楼*Trichosanthes kirilowii* Maxim.或双边栝楼*Trichosanthes rosthornii* Harms的干燥根。具有清热泻火,生津止渴,消肿排脓等功效。天花粉收载于2015版《中国药典》,是临床常用中药材之一。天花粉蛋白(*Trichosanthes*;TCS)是天花粉的主要活性蛋白之一,具有抗早孕、抗肿瘤、抗病毒等多种活性,且TCS仅存在于正品天花粉中,是天花粉真伪鉴定的重要指标性成分。

[0003] 随着天花粉价格的上涨,加上同科相近来源的植物根的误用,导致市售天花粉存在造假及掺伪现象。因此,为保障临床用药的安全有效,需要对天花粉的真伪进行鉴定。目前,天花粉的主要鉴定方法有传统鉴定方法(性状鉴定、显微鉴定、薄层色谱鉴定)和分子鉴定等,比较而言,传统鉴定方法准确性偏低,而分子鉴定方法步骤略显繁琐,且检测成本较高。所以建立一种简便、快速、成本低廉的天花粉真伪鉴定方法具有非常重要的意义。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒,该试剂盒可以用于快速识别鉴定天花粉的真伪。

[0005] 本发明还提供了一种利用上述天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒鉴定天花粉真伪的方法。

[0006] 本发明采用以下技术方案:

[0007] 一种用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒,它是由TCS对照品、样品稀释液、酶标板、抗TCS的兔多克隆抗血清、抗TCS的鼠多克隆抗血清、羊抗鼠酶标二抗IgG-HRP、包被缓冲液、洗涤液、显色液和终止缓冲液组成;

[0008] 所述抗TCS的兔多克隆抗血清和抗TCS的鼠多克隆抗血清是采用下述方法制备得到的:(a1)将TCS对照品用pH值为7.5的PBS缓冲液溶解至1.0mg/mL,作为免疫原;

[0009] (a2)使用步骤(a1)中的TCS免疫原分别免疫新西兰大耳兔和Bal b/c小鼠;所述免疫方法为背部皮下多点注射,免疫剂量为0.4-1.0mg/只,免疫周期为2周/次,免疫次数为4次;

[0010] (a3)4次免疫结束后,收集兔血清以获得抗TCS兔多克隆抗血清,收集小鼠血清以获得抗TCS鼠多克隆抗血清。

[0011] 所述样品稀释液中 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 和 $\text{NaCl}$ 的浓度分别为0.02M、0.0015M和0.14M;吐温-20在样品稀释液中的体积百分含量为0.1%;明胶在样品稀释液中的质量百分含量为0.5%。

- [0012] 所述包被缓冲液中 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 和 $\text{NaHCO}_3$ 的浓度分别为0.01M和0.04M,溶液pH值为9.6。
- [0013] 所述洗涤液中 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{NaCl}$ 在洗涤液中的浓度分别为0.02M、0.0015M、0.14M,吐温-20在洗涤液中的体积百分含量为0.1%,pH值为7.5。
- [0014] 所述显色液的溶剂为底物缓冲液,溶质为邻苯二胺和30%过氧化氢,其在所述显色液中的浓度分别为2mg/mL和1:2500(v:v);所述底物缓冲液中柠檬酸三钠和 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 的浓度分别为0.01M和0.03M,pH值为5.5。
- [0015] 所述终止缓冲液为浓度为2M的硫酸水溶液。
- [0016] 一种采用上述的用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒来鉴定天花粉真伪的方法,它包括以下步骤:
- [0017] (b1) 将待测中药样品粉碎、过4号筛后,称量粉末1g,用20mL样品稀释液在4℃条件下,磁力搅拌提取30分钟后,离心取上清液,获得待测样品提取液;
- [0018] (b2) 将抗TCS兔血清用包被缓冲液稀释500倍后,包被于96孔酶标板上,100 $\mu\text{L}$ /孔,37℃包被3小时后,洗涤液洗板3次;
- [0019] (b3) 以样品稀释液作为空白对照,将待测中药样品提取液及空白对照加至96孔酶标板,100 $\mu\text{L}$ /孔,37℃反应30分钟后,洗涤液洗板3次;
- [0020] (b4) 将抗TCS鼠血清用样品稀释液稀释500倍后加至96孔酶标板,100 $\mu\text{L}$ /孔,37℃反应30分钟后,洗涤液洗板3次;
- [0021] (b5) 将2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 羊抗鼠酶标二抗IgG-HRP加至96孔酶标板,100 $\mu\text{L}$ /孔,37℃反应30分钟后,洗涤液洗板3次;
- [0022] (b6) 取20mg邻苯二胺溶于10mL底物稀释液中,加4 $\mu\text{L}$  30% $\text{H}_2\text{O}_2$ ,将底物溶液加入酶标板中,每孔100 $\mu\text{L}$ ,避光显色10min;
- [0023] (b7) 每孔加入50 $\mu\text{L}$ 终止缓冲液,用酶标仪492nm处测定各孔的吸光值A,与空白对照孔吸光值 $A_0$ 的比值,即 $A/A_0$ ;若 $A/A_0 \geq 2.0$ ,则确定待测中药样品为天花粉,反之,则所述待测中药样品为非天花粉。
- [0024] 本发明的有益效果是:本发明首次提出一种用于鉴定天花粉真伪的双抗夹心酶联免疫试剂盒,操作简便,检测快速。利用本发明试剂盒的快速鉴定天花粉真伪的方法,实验结果准确,且具有操作简便、检测快速、高通量、成本低廉的优点,对于保障天花粉的临床有效性及安全性具有十分重要的意义。

## 附图说明

- [0025] 图1为本发明双抗夹心酶联免疫试剂盒鉴定天花粉真伪结果图。

## 具体实施方式

- [0026] 下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法。
- [0027] 下述实施例中所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到。
- [0028] TCS对照品:上海金山制药厂,国药准字H10870026。
- [0029] TCS标准品溶液:将TCS溶于PBS缓冲液后得到的溶液。
- [0030] PBS缓冲液:溶剂为水,溶质为 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 和 $\text{NaCl}$ ,溶质 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 和 $\text{NaCl}$ 在PBS缓冲液中的浓度分别为0.02M、0.0015M和0.14M;pH值为7.5。

[0031] 包被缓冲液:溶剂为水,溶质为 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 和 $\text{NaHCO}_3$ ;溶质 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 和 $\text{NaHCO}_3$ 在包被缓冲液中的浓度分别为0.01M和0.04M;pH值为9.6。

[0032] 洗涤液:溶剂为水,溶质为 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{NaCl}$ 和吐温-20;溶质 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{NaCl}$ 和吐温-20在洗涤液中的浓度分别为0.02M、0.0015M、0.14M和0.1% (体积百分含量);pH值为7.5。

[0033] 样品稀释液:溶剂为水,溶质为 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 和 $\text{NaCl}$ 、吐温-20和明胶;溶质 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 和 $\text{NaCl}$ 在样品稀释液中的浓度分别为0.02M、0.0015M和0.14M;吐温-20在样品稀释液中的体积百分含量为0.1%;明胶在样品稀释液中的质量百分含量为0.5%。

[0034] 显色液:溶剂为底物缓冲液,溶质为邻苯二胺和30%过氧化氢,其在所述显色液中的浓度分别为2mg/mL和1:2500 (v:v);所述底物缓冲液中柠檬酸三钠和 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 的浓度分别为0.01M和0.03M,pH值为5.5。终止缓冲液:浓度为2M的硫酸水溶液。

[0035] 新西兰大耳兔鼠购自军事医学科学院实验动物中心。

[0036] Ba1 b/c小白鼠购自军事医学科学院实验动物中心。

[0037] 实施例1

[0038] 抗TCS兔多克隆抗血清和抗TCS鼠克隆抗血清的制备

[0039] 一、抗TCS兔多克隆抗血清的制备

[0040] 1、以3月龄的新西兰大耳兔作为实验动物。

[0041] 2、基础免疫:将1mg/mL的TCS对照品溶液经无菌过滤器过滤后,采用脚掌及背部皮下多点注射新西兰大耳兔,注射剂量为每只新西兰大耳兔注射1.0mg抗原。

[0042] 3、加强免疫:基础免疫2周后,取1mL 1mg/mL的TCS免疫原,采用脚掌及背部皮下多点注射新西兰大耳兔,注射剂量为每只新西兰大耳兔注射1.0mg抗原。重复4次。

[0043] 4、制备抗TCS兔多克隆抗血清:加强免疫最后一次后第3天,心脏取血,血浆于室温静置0.5小时以后,转至4℃静置2小时,最后离心取血清,即得抗TCS兔多克隆抗血清。

[0044] 二、抗TCS鼠多克隆抗血清的制备

[0045] 1、以8-10周龄的Ba1 b/C小白鼠作为实验动物。

[0046] 2、基础免疫:将1mg/mL的TCS对照品溶液经无菌过滤器过滤后,采用腹腔及背部皮下多点注射Ba1 b/C小白鼠,注射剂量为每只小鼠注射0.4mg抗原。

[0047] 3、加强免疫:基础免疫2周后,取1mL 1mg/mL的TCS免疫原,采用腹腔及背部皮下多点注射Ba1 b/C小鼠,注射剂量为每只小鼠注射0.4mg抗原。重复4次。

[0048] 4、制备抗TCS鼠多克隆抗血清:加强免疫最后一次后第3天,小鼠摘眼球取血,血浆室温静置0.5小时以后,转至4℃静置2小时,最后离心取血清,即得抗TCS鼠多克隆抗血清。

[0049] 实施例2

[0050] 一种用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒的制备

[0051] 本发明的试剂盒是由TCS对照品、样品稀释液、酶标板、抗TCS的兔多克隆抗血清、抗TCS的鼠多克隆抗血清、羊抗鼠酶标二抗IgG-HRP、包被缓冲液、洗涤液、显色液和终止缓冲液组成。其中抗TCS的兔多克隆抗血清和抗TCS的鼠多克隆抗血清为实施例1中制备得到的。

[0052] 所述样品稀释液中 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 和 $\text{NaCl}$ 的浓度分别为0.02M、0.0015M和0.14M;吐温-20在样品稀释液中的体积百分含量为0.1%;明胶在样品稀释液中的质量百分含量为

0.5%。

[0053] 所述包被缓冲液中 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 和 $\text{NaHCO}_3$ 的浓度分别为0.01M和0.04M,溶液pH值为9.6。

[0054] 所述洗涤液中 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{NaCl}$ 在洗涤液中的浓度分别为0.02M、0.0015M、0.14M,吐温-20在洗涤液中的体积百分含量为0.1%,pH值为7.5。

[0055] 所述显色液的溶剂为底物缓冲液,溶质为邻苯二胺和30%过氧化氢,其在所述显色液中的浓度分别为2mg/mL和1:2500(v:v);所述底物缓冲液中柠檬酸三钠和 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 的浓度分别为0.01M和0.03M,pH值为5.5。

[0056] 所述终止缓冲液为浓度为2M的硫酸水溶液。

[0057] 实施例3

[0058] 一种利用实施例2所制备的试剂盒鉴定天花粉真伪的方法,包括以下步骤:

[0059] (b1) 将待测中药样品粉碎、过4号筛后,称量粉末1g,置100mL具塞锥形瓶中,加入20mL样品稀释液,磁力搅拌提取30分钟(4℃)后,冷冻离心(4℃;6000r/min×10min),弃沉淀,取上清液,获得待测样品提取液;

[0060] (b2) 将抗TCS兔血清用包被缓冲液稀释500倍后,包被于96孔酶标板上,100μL/孔,37℃包被3小时后,洗涤液洗板3次;

[0061] (b3) 以样品稀释液作为空白对照,将待测中药样品提取液及空白对照加至96孔酶标板,100μL/孔,37℃反应30分钟后,洗涤液洗板3次;每个样品设置三个复孔;

[0062] (b4) 将抗TCS鼠血清用样品稀释液稀释500倍后加至96孔酶标板,100μL/孔,37℃反应30分钟后,洗涤液洗板3次;

[0063] (b5) 将羊抗鼠酶标二抗IgG-HRP(1.0mg/mL,购自Jackson公司,商品目录号为79556)稀释500倍,加至96孔酶标板,100μL/孔,37℃反应30分钟后,洗涤液洗板3次;

[0064] (b6) 取20mg邻苯二胺溶于10mL底物稀释液中,加4μL 30% $\text{H}_2\text{O}_2$ ,将底物溶液加入酶标板中,每孔100μL,避光显色10min;

[0065] (b7) 每孔加入50μL终止缓冲液,用酶标仪492nm处测定各孔的吸光值A,与空白对照孔吸光值 $A_0$ 的比值,即 $A/A_0$ ,根据比值大小判定天花粉药材真伪。若 $A/A_0 \geq 2.0$ ,则确定待测中药样品为天花粉,反之,则所述待测中药样品为非天花粉。

[0066] 实施例4

[0067] 使用实施例2所制备的试剂盒和实施例3所述的检测方法分别对不同产地(河北、四川、广东、浙江、广西、山东、河南)的天花粉药材及非天花粉药材(王瓜根、山药、防己、粉葛、茯苓、桔梗、商陆、何首乌、白芍、白及、白术、白芷、莪术、板蓝根、苍术、泽泻、党参)进行鉴定。检测结果如表1所示。

[0068] 表1试剂盒鉴定天花粉真伪结果

[0069]

| 序号 | 样品名称 | 原植物拉丁名                        | 产地 | 吸光值 A | A/A <sub>0</sub> | 鉴定结论 |
|----|------|-------------------------------|----|-------|------------------|------|
| 1  | 天花粉  | <i>T. kirilowii</i> Maxim.    | 河北 | 0.867 | 5.464            | 天花粉  |
| 2  | 天花粉  | <i>T. kirilowii</i> Maxim.    | 四川 | 1.031 | 6.500            | 天花粉  |
| 3  | 天花粉  | <i>T. kirilowii</i> Maxim.    | 四川 | 1.066 | 6.716            | 天花粉  |
| 4  | 天花粉  | <i>T. kirilowii</i> Maxim.    | 广东 | 0.580 | 3.655            | 天花粉  |
| 5  | 天花粉  | <i>T. kirilowii</i> Maxim.    | 河北 | 1.123 | 7.080            | 天花粉  |
| 6  | 天花粉  | <i>T. kirilowii</i> Maxim.    | 河北 | 1.047 | 6.601            | 天花粉  |
| 7  | 天花粉  | <i>T. kirilowii</i> Maxim.    | 浙江 | 1.046 | 6.599            | 天花粉  |
| 8  | 天花粉  | <i>T. kirilowii</i> Maxim.    | 山东 | 0.933 | 5.882            | 天花粉  |
| 9  | 天花粉  | <i>T. kirilowii</i> Maxim.    | 广西 | 0.966 | 6.088            | 天花粉  |
| 10 | 王瓜根  | <i>T. cucumeroides</i> Maxim. | 湖南 | 0.154 | 0.968            | 非天花粉 |
| 11 | 王瓜根  | <i>T. cucumeroides</i> Maxim. | 湖南 | 0.170 | 1.071            | 非天花粉 |
| 12 | 王瓜根  | <i>T. cucumeroides</i> Maxim. | 湖南 | 0.181 | 1.143            | 非天花粉 |
| 13 | 王瓜根  | <i>T. cucumeroides</i> Maxim. | 安徽 | 0.225 | 1.416            | 非天花粉 |

[0070]

|    |     |                                              |    |       |       |      |
|----|-----|----------------------------------------------|----|-------|-------|------|
| 14 | 王瓜根 | <i>T. cucumeroides</i> Maxim.                | 安徽 | 0.198 | 1.246 | 非天花粉 |
| 15 | 山药  | <i>Dioscorea opposita</i> Thunb.             | 河南 | 0.176 | 1.107 | 非天花粉 |
| 16 | 茯苓  | <i>Poria cocos</i> (Schw.) Wolf              | 河北 | 0.178 | 1.124 | 非天花粉 |
| 17 | 防己  | <i>Stephania tetrandra</i> S. Moore          | 广东 | 0.128 | 0.809 | 非天花粉 |
| 18 | 桔梗  | <i>Platycodon grandiflorum</i> (Jacq.) A.DC. | 山东 | 0.170 | 1.069 | 非天花粉 |
| 19 | 商陆  | <i>Phytolacca acinosa</i> Roxb.              | 山东 | 0.169 | 1.067 | 非天花粉 |
| 20 | 粉葛  | <i>Pueraria thomsonii</i> Benth.             | 广西 | 0.231 | 1.456 | 非天花粉 |
| 21 | 何首乌 | <i>Polygonum multiflorum</i> Thunb.          | 山东 | 0.211 | 1.330 | 非天花粉 |
| 22 | 白芍  | <i>Paeonia lactiflora</i> PalL.              | 浙江 | 0.140 | 0.884 | 非天花粉 |
| 23 | 板蓝根 | <i>Isatis indigotica</i> Fort.               | 山东 | 0.150 | 0.947 | 非天花粉 |
| 24 | 白及  | <i>Bletilla striata</i> (Thunb.) Reichb.f.   | 贵州 | 0.155 | 0.975 | 非天花粉 |
| 25 | 白术  | <i>Atractylodes macrocephala</i> Koidz.      | 浙江 | 0.122 | 0.767 | 非天花粉 |
| 26 | 莪术  | <i>Curcuma phaeocaulis</i> Val.              | 广西 | 0.150 | 0.947 | 非天花粉 |
| 27 | 白蔹  | <i>Ampelopsis japonica</i> (Thunb.) Makino   | 河南 | 0.144 | 0.908 | 非天花粉 |
| 28 | 泽泻  | <i>Alisma orientale</i> (Sam.) Juzep.        | 福建 | 0.158 | 0.993 | 非天花粉 |
| 29 | 苍术  | <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.      | 江苏 | 0.128 | 0.807 | 非天花粉 |
| 30 | 党参  | <i>Codonopsis pilosula</i> (Franch.) Nannf.  | 山西 | 0.122 | 0.769 | 非天花粉 |

[0071] 检测结果如表1所示:空白对照孔吸光值A<sub>0</sub>为0.159;不同产地正品天花粉药材吸光值A均大于0.580,A/A<sub>0</sub>均大于2.0;反之,非天花粉药材检测的吸光值A均小于0.231,A/A<sub>0</sub>均小于2.0。结果显示,根据A/A<sub>0</sub>的比值,可以快速准确鉴别正品天花粉药材与非天花粉药材。

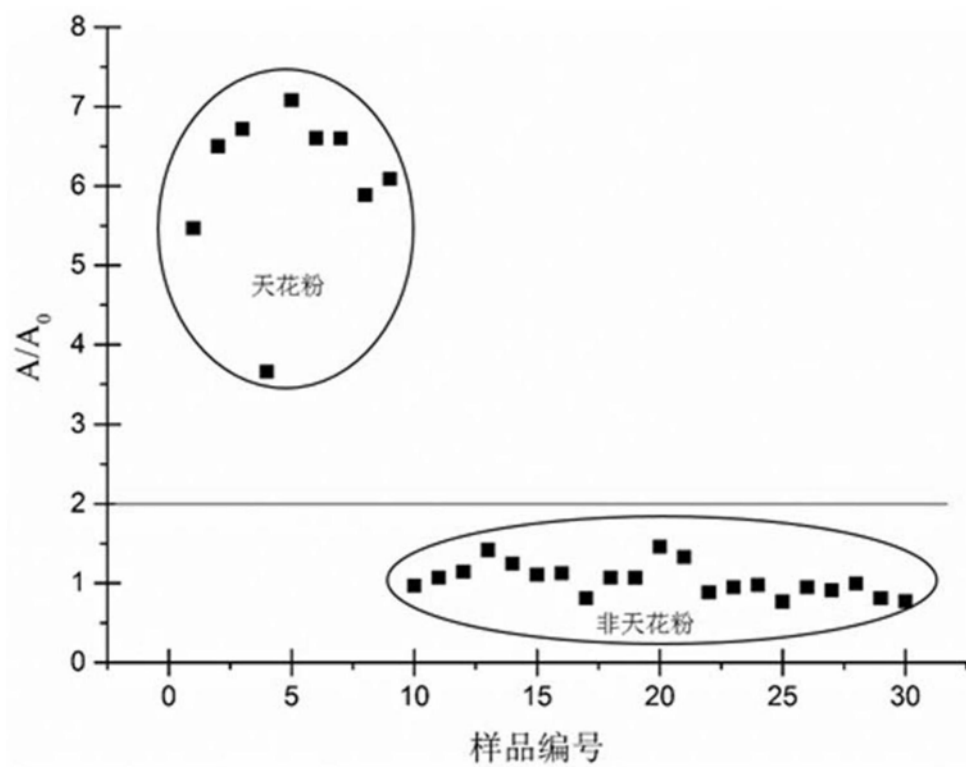


图1

|                |                                                 |         |            |
|----------------|-------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 一种用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒及其使用鉴别方法                 |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">CN110412264A</a>                    | 公开(公告)日 | 2019-11-05 |
| 申请号            | CN201910705555.9                                | 申请日     | 2019-08-01 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 临沂大学                                            |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 临沂大学                                            |         |            |
| 当前申请(专利权)人(译)  | 临沂大学                                            |         |            |
| [标]发明人         | 张波<br>辛杰<br>刘言娟<br>李新鹏<br>陈敏<br>何珊<br>张桂芝<br>王振 |         |            |
| 发明人            | 张波<br>辛杰<br>刘言娟<br>李新鹏<br>陈敏<br>何珊<br>张桂芝<br>王振 |         |            |
| IPC分类号         | G01N33/543 G01N33/53 G01N33/531 G01N21/31       |         |            |
| CPC分类号         | G01N21/31 G01N33/53 G01N33/531 G01N33/543       |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>  |         |            |

# 摘要(译)

本发明公开了一种用于天花粉真伪鉴定的双抗夹心酶联免疫试剂盒及其使用鉴别方法。该试剂盒是由TCS对照品、样品稀释液、酶标板、抗TCS的兔多克隆抗血清、抗TCS的鼠多克隆抗血清、羊抗鼠酶标二抗IgG-HRP、包被缓冲液、洗涤液、显色液和终止缓冲液组成。利用本发明的试剂盒可以快速鉴定天花粉真伪，实验结果准确，且具有操作简便、检测快速、高通量、成本低廉的优点，对于保障天花粉的临床有效性及安全性具有十分重要的意义。

