



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102807488 A

(43) 申请公布日 2012.12.05

(21) 申请号 201110386063.1 *C07K 14/77*(2006.01)

(22) 申请日 2011.11.29 *C07K 1/113*(2006.01)

(71) 申请人 中国农业科学院农产品加工研究所 *C07K 16/44*(2006.01)  
 地址 100193 北京市海淀区圆明园西路2号 *C07K 16/06*(2006.01)  
 申请人 中国计量学院 *C12N 5/16*(2006.01)  
*G01N 33/53*(2006.01)

(72) 发明人 睢珂 王磊 王志伟 潘家荣  
 赵杰 郑月明

(74) 专利代理机构 北京海虹嘉诚知识产权代理有限公司 11129  
 代理人 张涛

(51) Int. Cl.  
*C07C 59/66*(2006.01)  
*C07C 51/367*(2006.01)  
*C07C 51/02*(2006.01)  
*C07K 14/765*(2006.01)

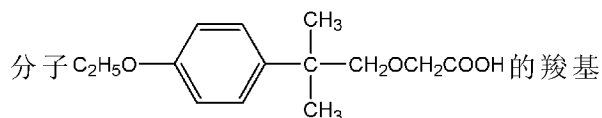
权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 3 页

(54) 发明名称

醚型菊酯类农药通用半抗原, 抗原、合成方法及其应用

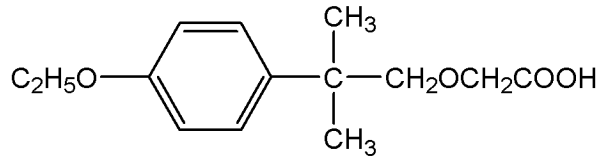
(57) 摘要

本发明“醚型菊酯类农药通用半抗原, 抗原、合成方法及其应用”, 涉及生物检测技术。本发明的抗原是在具有如下结构的本发明合成的半抗原

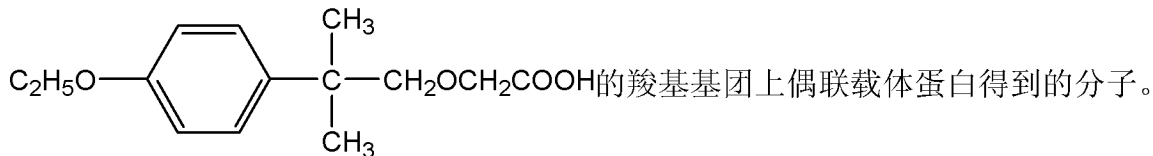


基团上偶联载体蛋白得到的分子。本发明还提供了其制备方法。该人工抗原免疫 Balb/c 小鼠制备的多克隆抗体, 效价达  $1.28 \times 10^5$ , 经间接竞争 ELISA 检测人工抗原的免疫原性, 结果  $IC_{50}$  和  $IC_{10}$  值分别为  $0.2653 \mu g \cdot mL^{-1}$ 、 $0.0012 \mu g \cdot mL^{-1}$ , 证明本发明制备得到的人工抗原具有较好的免疫原性。

1. 一种醚型菊酯的通用半抗原,具有如下分子结构:



2. 一种醚型菊酯的人工通用抗原,其特征在于:是在具有如下结构的分子:

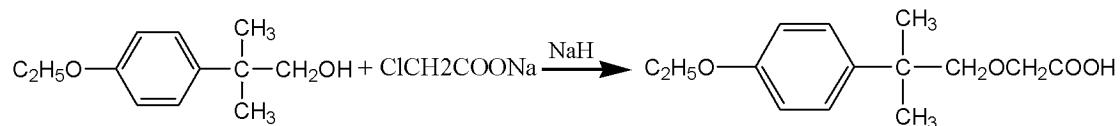


3. 根据权利要求 2 所述的人工通用抗原,所述载体蛋白指牛血清白蛋白 BSA 或卵白蛋白 OVA,制备得到的抗原分别为免疫原和包被原。

4. 权利要求 2 或 3 所述的人工通用抗原的制备方法,包括如下制备步骤:

- (1) 合成通用半抗原;
- (2) 所述通用半抗原与载体蛋白偶联;

所述合成通用半抗原的合成路线为:



5. 权利要求 4 所述的制备方法,所述通用半抗原的合成步骤为:

- (1) 称取 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇溶于无水 DMF,质量体积比 0.1g/ml;
- (2) 于冰浴下加入氢化钠,氢化钠的量为所述 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇量的 25%,室温下搅拌至无气泡产生;然后加入氯乙酸钠搅拌 15min,氯乙酸钠的量为所述 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇量的 25~30%;
- (3) 转至 60°C 油浴反应 6 小时后,于室温搅拌反应 50 小时得反应液;
- (4) 反应液倾入到蒸馏水中,用乙醚洗涤,水相用 1M 盐酸酸化至 pH 为 2 后用乙醚萃取,合并有机相用蒸馏水和饱和食盐水洗涤,最后用无水硫酸钠干燥,旋转蒸发得到琥珀色的油状物,即为半抗原 Hapten 1。

6. 权利要求 4 或 5 所述的制备方法,所述通用半抗原与载体蛋白偶联的采用活化酯法制备,步骤如下:

- (1) 称取 0.05mmol 半抗原 Hapten 1 溶于 1ml N,N-二甲基甲酰胺中,边搅拌边加入 15.5mg DCC 和 9mg NHS,室温下搅拌反应 6h,于 10000r/min 离心 10min,得上清液为 A 液;
- (2) 称取 33.5mg BSA 或 21.5mg OVA 溶于 10ml 0.2M, pH9.0 的硼酸盐缓冲液中,得为 B 液;
- (3) 4°C,磁力搅拌条件下,滴加 A 液于 B 液中,磁力搅拌过夜;
- (4) 次日,将反应液于 PBS 缓冲液中 4°C 透析,透析液于 10000r/min 离心 5min,上清液冷冻干燥得到抗原。

7. 权利要求 2 或 3 所述的人工通用抗原作为免疫原在制备用于检测醚型菊酯的抗体或抗血清中的应用。

8. 权利要求 2 或 3 所述的人工通用抗原在采用间接 Elisa 法检测醚型菊酯中作为包被原的应用。

9. 根据权利要求 8 所述的应用,所述包被原的包被浓度为  $1 \mu\text{g/ml}$ ,间接 Elisa 法中抗体稀释  $1.5 \times 10^4$  倍。。

10. 权利要求 2 或 3 所述的人工通用抗原作为免疫原免疫动物制备得到的抗血清、抗体或杂交瘤细胞。

## 醚型菊酯类农药通用半抗原, 抗原、合成方法及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物检测技术, 特别是一种醚型菊酯类农药通用抗原、合成方法及其应用。

### 背景技术

[0002] 拟除虫菊酯类 (Pyrethroids) 农药是 20 世纪 70 年代在天然除虫菊酯结构基础上发展起来的一类仿生杀虫剂, 具有性质稳定、高效广谱等特点, 但其残留期较长, 抗性问题的日趋严重, 对水生生物高毒<sup>[1-2]</sup>。醚型拟除虫菊酯是近年来研究产生的新型菊酯类杀虫剂, 这类化合物具有触杀及胃毒活性, 对光稳定, 残效适中, 对哺乳动物及鱼类低毒, 是一类非常有前途的环境友好型农用杀虫剂。最具有代表性的化合物有醚菊酯、氯醚菊酯、溴氟醚菊酯、氟硅菊酯、三氟醚菊酯等在防治农业害虫、除螨和趋避白蚁方面, 展现着广阔的应用前景。随着其使用量和品种的不断增多, 这类农药的残留和抗性问题的引起人们的重视, 探明这类农药在环境和生物体内的残留动态、代谢途径与代谢产物也是十分重要的, 因而研究痕量醚型菊酯类农药的检测方法具有重要意义。

[0003] 目前对醚型菊酯类农药残留的分析方法主要有气相色谱-质谱 (GC-MS)、超高效液相色谱-质谱 (UPLC-MS)、凝胶渗透色谱 (GPC) 等方法 [8-10]。尽管这些方法灵敏度高, 但样品前处理步骤较多, 分析费用较高且费时, 需要熟练的技术操作人员, 难以实现现场快速检测及大批量样品的筛选的要求。酶联免疫吸附技术 (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA) 是将抗原抗体反应的高度特异性和酶的高效催化作用相结合发展建立的一种免疫分析方法 ((YANG Li-Guo(杨利国), HU Shao-Chang(胡少昶), WEI Ping-Hua(魏平华), GUO Ai-Zhen(郭爱珍). Enzyme Immunoassay Techniques(酶免疫测定技术). Nan jing(南京): Nan Jing University press(南京大学出版社), 1998: 439 ~ 442)。该方法灵敏度高、操作简便快速, 不需昂贵的精密仪器设备能较好的满足对醚型菊酯类农药快速检测的需要。国外已有 Shiro Miyake、Hideo Ohkawa 等进行了相关研究。其中 Shiro Miyake 制备针对醚菊酯的两种多抗和三种多抗, Hideo Ohkawa 主要对醚菊酯 ELISA 检测中的最优的甲醇含量与反应温度进行研究 (Shiro Miyake, Akiko Hayashi. Biosci Biotechnol Biochem, 1998, 62(5): 1001 ~ 1004; Masanao K, Tomako K, Kennichi M, Fumihide I, Hideo O. Biosci Biotechnol Biochem, 1999, 63(11): 1988 ~ 1990)

[0004] 人工抗原的合成是农药免疫检测中抗体制备和建立免疫分析方法最关键的步骤, 半抗原的合成是人工抗原合成的基础。大多数农药是分子量小于 1000 的小分子化合物, 本身不具备免疫原性, 因此, 必须先将农药小分子与载体蛋白偶联制备出农药完全抗原。如果农药不能直接通过双功能交联剂与载体蛋白共价偶联, 则需先通过衍生过程在农药分子上产生活性功能团, 以此作为半抗原, 再与载体蛋白质偶联。多数醚型菊酯类农药属于此类小分子。半抗原设计的关键是尽可能的保留原待测物质的特征结构, 并在适当的位置引入合适的连接臂和与载体蛋白偶联的活性基团。不同结构的连接臂、不同的偶联方法或连接臂的引入位置, 都影响后续建立的 ELISA 检测的灵敏度和特异性。

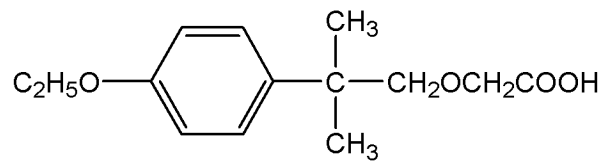
[0005] 另外,目前针对复配使用的农药中的醚型菊酯残留检测暂未引起本领域的重视,合成高效价,特异性强的且具有醚型菊酯类共同结构特征的通用抗原,是采用酶联免疫检查复配使用的醚型菊酯残留的关键。

### 发明内容

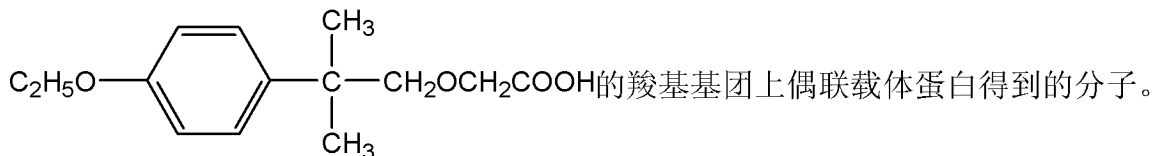
[0006] 本发明根据上述领域的需求和空白,提供一种醚型菊酯类农药通用抗原及其制备方法。经试验数据验证,该抗原具有较高的免疫原性,制备得到的抗血清与醚型菊酯类物质具有良好的亲和性。

[0007] 一种醚型菊酯的通用半抗原,具有如下分子结构:

[0008]



[0009] 一种醚型菊酯的人工通用抗原,其特征在于:是在具有如下结构的分子:



[0010] 所述载体蛋白指牛血清白蛋白 BSA 或卵白蛋白 OVA,制备得到的抗原分别为免疫原和包被原。

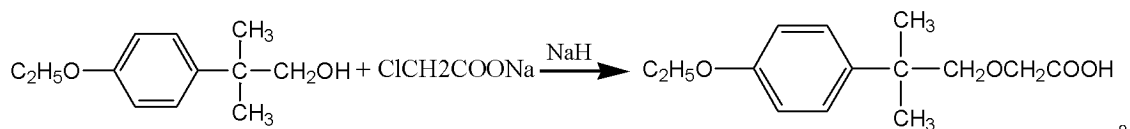
[0011] 上述人工通用抗原的制备方法,包括如下制备步骤:

[0012] (1) 合成通用半抗原;

[0013] (2) 所述通用半抗原与载体蛋白偶联;

[0014] 所述合成通用半抗原的合成路线为:

[0015]



[0016] 所述通用半抗原的合成步骤为:

[0017] (1) 称取 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇溶于无水 DMF,质量体积比 0.1g/ml;

[0018] (2) 于冰浴下加入氢化钠 (NaH),氢化钠的量为所述 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇量的 25%,室温下搅拌至无气泡产生;然后加入氯乙酸钠搅拌 15min,氯乙酸钠的量为所述 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇量的 25~30%;

[0019] (3) 转至 60°C 油浴反应 6 小时后,于室温搅拌反应 50 小时得反应液;

[0020] (4) 反应液倾入到蒸馏水中,用乙醚洗涤,水相用 1M 盐酸酸化至 pH 为 2 后用乙醚萃取,合并有机相用蒸馏水和饱和食盐水洗涤,最后用无水硫酸钠干燥,旋转蒸发得到琥珀色的油状物,即为半抗原 Hapten 1。

[0021] 所述通用半抗原与载体蛋白偶联的采用活化酯法制备,步骤如下:

[0022] (1) 称取 0.05mmol 半抗原 Hapten 1 溶于 1ml N,N-二甲基甲酰胺中,边搅拌边加

入 15.5mg DCC 和 9mg NHS, 室温下搅拌反应 6h, 于 10000r/min 离心 10min, 得上清液为 A 液;

[0023] (2) 称取 33.5mg BSA 或 21.5mg OVA 溶于 10ml 0.2M, pH9.0 的硼酸盐缓冲液中, 得为 B 液;

[0024] (3) 4℃, 磁力搅拌条件下, 滴加 A 液于 B 液中, 磁力搅拌过夜;

[0025] (4) 次日, 将反应液于 PBS 缓冲液中 4℃ 透析, 透析液于 10000r/min 离心 5min, 上清液冷冻干燥得到抗原。

[0026] 上述人工通用抗原作为免疫原在制备用于检测醚型菊酯的抗体或抗血清中的应用。

[0027] 上述人工通用抗原在采用间接 Elisa 法检测醚型菊酯中作为包被原的应用。

[0028] 所述包被原的包被浓度为 1 μg/ml, 间接 Elisa 法中抗体稀释 1.5 × 10<sup>4</sup> 倍。

[0029] 所述的人工通用抗原作为免疫原免疫动物制备得到的抗血清、抗体或杂交瘤细胞。

[0030] 技术效果

[0031] 本发明以 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇为起始物质, 以 NaH 作为催化剂通过亲核取代反应在 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇的醇羟基上引入了带游离羧基的 2 个碳原子的连接臂, 从而获得了半抗原 Hapten 1 ([2-(4-ethoxyloxy-phenyl)-2-methyl-propoxy]-acetic acid, [2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙氧基] 乙酸), 引入的羧基在连接臂末端, 从而最大限度的保留了醚型菊酯农药化合物单体的原始结构。本发明制备得到的半抗原由于引入了羧基, 因此, 通过常规的偶联技术就能与载体蛋白偶联从而制备得到可作为醚型菊酯类农药的抗原的分子。

[0032] 实验数据证明, 本发明制备得到的抗原免疫动物得到的抗血清, 效价达到了 105 以上, 说明本发明合成的抗原具有优良的免疫原性, 合成抗原过程中完整地保留了半抗原分子的原始结构。

[0033] 通过间接 Elisa 方法证明, 本发明制备的抗原免疫得到的抗血清与本发明采用的半抗原原料 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇、常用的醚型菊酯农药, 及复配的醚型菊酯类农药都具有良好的亲和力, 灵敏度非常好, 可用于检测复配使用的醚型菊酯农药的残留。

[0034] 本发明还提供了上述半抗原和抗原的制备方法。以及上述半抗原在检测过程中的最佳工作条件。

[0035] 由于本发明的抗原新制备的, 因此, 本发明的抗原免疫得到的抗血清, 抗体, 杂交瘤细胞也在本发明要求保护的范围内,

#### 附图说明

[0036] 图 1 Hapten 1 的合成路线

[0037] 图 2 TLC 结果

[0038] 其中 A : 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇 ; B : 产物溶液

[0039] 图 3 产物核磁氢谱

[0040] 图 4 产物核磁碳谱

[0041] 图 5 人工抗原紫外全波段扫描图

[0042] 图 6 半抗原抑制率曲线

## 具体实施方式

[0043] 1 材料与方法

[0044] 1.1 试剂、仪器与实验对象

[0045] 1.1.1 主要试剂

[0046] 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇(东京化成工业株式会社)、氢氧化钠(Sigma)、氯乙酸钠(阿拉丁试剂)、3-苯甲基苯甲酸(Alfa Aesar)、二环己基碳二亚胺(DCC, Sigma)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS, Sigma)、三正丁胺(上海凌峰化学试剂有限公司)、氯甲酸异丁酯(Sigma)、牛血清白蛋白(BSA, Sigma)、鸡卵清白蛋白(OVA, Sigma)、四甲基联苯胺(TMB, sigma)、HRP 标记的羊抗小鼠 IgG(北京索莱宝生物科技有限公司)、弗氏完全佐剂(FCA, Sigma)、弗氏不完全佐剂(FICA, Sigma)、N, N-二甲基甲酰胺(DMF)、四氢呋喃、乙醚、石油醚、二氯甲烷、浓盐酸。其余试剂皆购自天津市瑞金特化学品有限公司。

[0047] 1.1.2 仪器

[0048] DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司)、SH2-D(111) 循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司)、RE-2000E 旋转蒸发器(巩义市予华仪器有限责任公司)、核磁共振仪(Bruker-Stectrostin 400Hz)、ZF-2 型三用紫外仪(上海安亭电子仪器厂)、UV-1800 紫外分光光度计(日本岛津株式会社)、MULTISKAN MK3 酶联免疫检测仪(美国 Thermo 公司)。

[0049] 1.1.3 实验动物

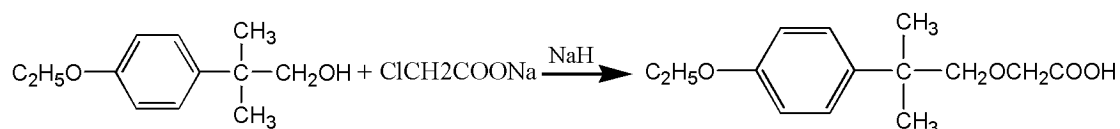
[0050] 雌性 Balb/c 鼠(SPF 级,动物号 SYXK 浙 2011-0157,4-6 周龄,杭州师范大学实验动物中心)。

[0051] 1.2 方法

[0052] 1.2.1 半抗原合成及鉴定

[0053] 称取 2g 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇溶于 20mL 无水 DMF,于冰浴下分批加入 500mg 氢氧化钠(NaH),室温搅拌 3h 至无气泡产生,加 600mg 氯乙酸钠搅拌 15min,转至 60°C 油浴反应 6h 后再于室温搅拌反应 50h,反应液倾入到大量蒸馏水中,用乙醚洗涤,水相用 1mol/L 盐酸酸化至 pH 为 2 后用乙醚萃取,合并有机相用蒸馏水和饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥后,旋转蒸发得到琥珀色的油状物,即为半抗原 Hapten 1。薄层层析监测反应进程,其中展开剂石油醚:乙酸乙酯=5:1。合成路线如下(图 1)

[0054]



[0055] 用薄层层析(TLC)监测反应进程,见图 2 可以看出,除 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇外,有极性大的物质产生,并且具有羧酸基团的特征。

[0056] 反应后纯化的产物的由  $^1\text{H-NMR}$  谱图(见图 3),分析化学位移: $\delta$ :11(m,1H,OH)6.99-7.18(d,4H,CH)3.98-4.33(d,8H,CH<sub>2</sub>)1.33-1.39(d,9H,CH<sub>3</sub>);由  $^{13}\text{C-NMR}$  谱图(见图 4),可以鉴定产物共有 14 个碳原子,证明成功地引入了连接臂和羧酸基团。

## [0057] 1.2.2 人工抗原的制备与鉴定

[0058] 以 Hapten 1 的羧基为活性位点,用活化酯法使之分别与 BSA、OVA 偶联,制备免疫原和包被原。

## [0059] 活化酯法制备人工抗原

[0060] 称取 0.05mmol 半抗原 Hapten 1 溶于 1mlN, N- 二甲基甲酰胺中,边搅拌边加入 15.5mgDCC 和 9mgNHS,室温下搅拌反应 6h,10000r/min 离心 10min。将上清液为 A 液。

[0061] 称取 33.5mgBSA (或 21.5mgOVA) 溶于 0.2mol/L, pH 9.0 硼酸盐缓冲液,为 B 液。

[0062] 磁力搅拌条件下,4℃缓慢滴加 A 液于 B 液中,磁力搅拌过夜。次日,将反应液于 PBS 缓冲液 (0.01mol/L, pH 7.4, NaCl 8.5g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O 2.9g, KCl 0.2g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2g, 定容于 1L 蒸馏水中) 中 4℃透析三天,每天换液三次。透析液于 10000r/min 离心 5min,取上清液冷冻干燥。

## [0063] 1.2.3 人工抗原的鉴定

[0064] 紫外扫描仪在 200 ~ 400nm 波长对透析后样品进行扫描,鉴定偶联情况。

[0065] 结果见图 5 中, a 和 b 为 Hapten 1 分别与 BSA 和 OVA 偶联得到人工抗原的紫外图谱。由 a 可看出 :Hapten 1 在 275nm 有特征吸收峰, BSA 在 278nm 有特征吸收峰,偶联物 Hapten 1-BSA 在 276nm 有最大吸收峰,偶联物的紫外吸收光谱区别于 Hapten 1 和 BSA,由此可以推断偶联物的某些基团已经被半抗原修饰,同时也保留着载体蛋白的性质,半抗原已经成功偶联。同理可以确定 b 中的半抗原也与相应的载体蛋白 OVA 偶联成功。

[0066] 根据各物质的特征吸收峰波长及吸光值,按照如下公式计算偶联比。

[0067]

$$\text{偶联比} = \frac{CD}{CB} = \frac{AC_{dm} \times KB_{bm} - AC_{bm} \times KB_{dm}}{AC_{bm} \times KD_{dm} - AC_{dm} \times KD_{bm}}$$

[0068] 式中 :D、B、C 分别为半抗原、BSA (或 OVA)、反应产物 ;CD、CB 为半抗原和 BSA (或 OVA) 的克分子浓度 ;A 为吸光度值 ;K 为克分子消光系数 (K = A × 分子量 / 浓度) ;dm、bm 分别为半抗原和 BSA (或 OVA) 的最大吸收波长。

[0069] 计算结果 :Hapten 1 与 BSA 及 OVA 的偶联比分别为 14 : 1, 35 : 1, 偶联效果良好,可以作为抗原免疫动物。

## [0070] 1.3 多克隆抗体的制备及效价鉴定

[0071] 将 1.2 制备的免疫原的生理盐水溶液 (抗原在生理盐水中的浓度 1mg/ml) 与弗氏完全佐剂等量混合,乳化完全后背部皮下多点注射 6-8 周龄的雌性 Ba1b/c 小鼠,免疫剂量为 50 μ g/0.1ml。三周后用弗氏不完全佐剂为乳化剂,以相同剂量和方法加强免疫小鼠。免疫过程每三周一次,共免疫 4 次。第三次免疫后 10 天取小鼠尾血,得到抗血清,采用间接非竞争 ELISA 测血清效价。

[0072] 多克隆抗体对半抗原的抑制率通过间接竞争 ELISA (CI-ELISA) 进行测定。按照最佳抗原抗体工作浓度和优化条件进行,将半抗原 Hapten 1 用 PBST (0.01M PBS, pH 7.4, 含 0.05% Tween-20) 配制质量浓度分别成为为 0、0.001、0.01、0.1、1、10、50、100mg/L 的标准溶液,绘制标准抑制曲线,计算抑制中浓度 (IC<sub>50</sub>) 及最低检测限 (IC<sub>10</sub>)。

[0073] 结果显示,如图 6,通过间接 ELISA 测定免疫后小鼠所得到的抗血清的效价,达到 1.28 × 10<sup>5</sup>,并用棋盘法测得最佳工作条件是抗原包被浓度为 1 μ g/ml,抗体稀释 1.5 × 10<sup>4</sup>。

[0074] 在最佳工作条件下,以 2-(4-乙氧基苯基)-2-甲基丙醇为研究对象,通过间接竞争 ELISA 获得回归方程  $y = 0.1705x + 0.5983$  ( $R^2 = 0.9923$ )。

[0075] 计算得到  $IC_{50} = 0.2653 \mu g/mL$ ,  $IC_{10} = 0.0012 \mu g/mL$ ,这表明本发明制备的抗原免疫得到的抗体对醚型菊酯的通用结构(半抗原)有较强的亲和力。

[0076] 1.4. 抗血清对醚型菊酯类农药的检测灵敏度和特异性

[0077] 通过间接 Elisa 方法检测本发明制备的抗原所免疫得到的抗血清对于醚型菊酯的检测灵敏度及特异性。

[0078] 灵敏度检测:以醚型菊酯类农药(苜蓿醚、氟硅菊酯、氯醚菊酯、三氟醚菊酯)为研究对象,分别计算抑制中浓度( $IC_{50}$ )及最低检测限( $IC_{10}$ )如下表所示。说明书本发明制备的抗原免疫得到的血清对于检测目前常用的醚型菊酯具有极高的灵敏性,能够将微量的残留醚型聚酯检测出来,因此能够将复配使用的农药中的醚型聚酯检测出来。

	农药名称	$IC_{50}$ ( $\mu g \cdot mL^{-1}$ )	$IC_{10}$ ( $\mu g \cdot mL^{-1}$ )
	氯醚菊酯	1.5402	0.0227
[0079]	氟硅菊酯	0.7539	0.0034
	苜蓿醚	9.3363	0.1625
	三氟醚菊酯	0.9274	0.0539

[0080] 特异性检测:以 I 型和 II 型菊酯类农药为研究对象,结果证明本发明的抗原免疫得到的抗血清对 I 型和 II 型拟除虫菊酯类农药均无交叉反应,特异性良好。

[0081]

农药名称	交叉反应率 (%)	农药名称	交叉反应率 (%)
氯菊酯	< 0.1	功夫菊酯	< 0.1
联苯菊酯	< 0.1	氰戊菊酯	< 0.1
溴氰菊酯	< 0.1	氯氰菊酯	< 0.1

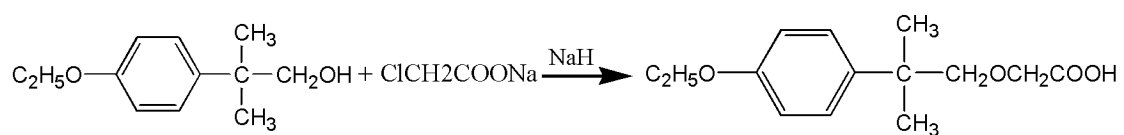


图 1

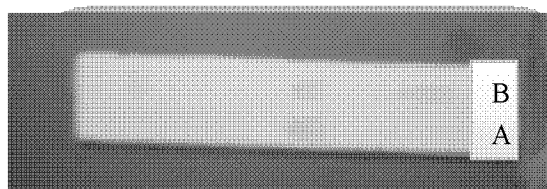


图 2

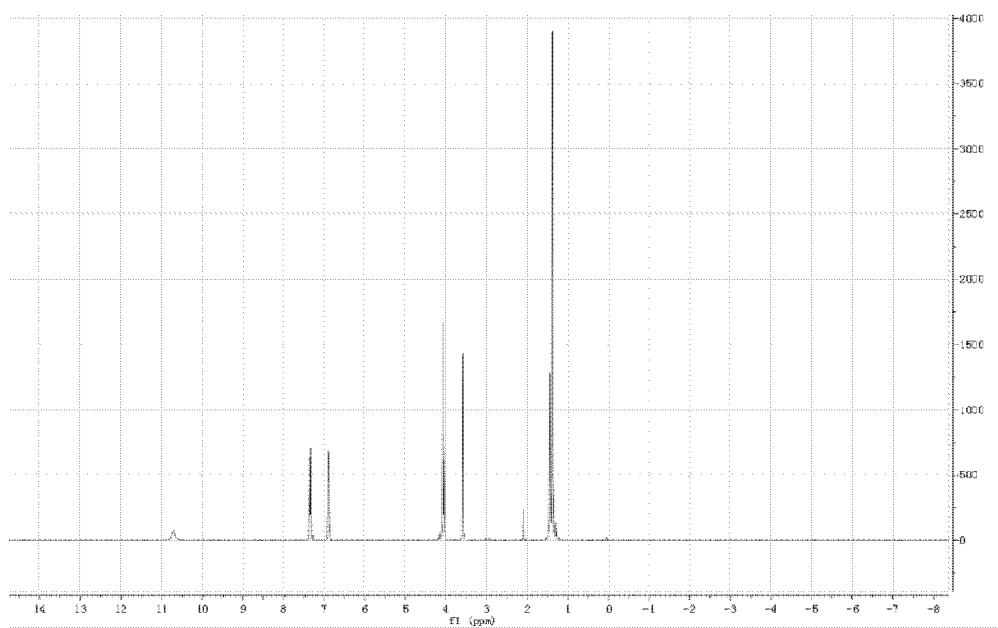


图 3

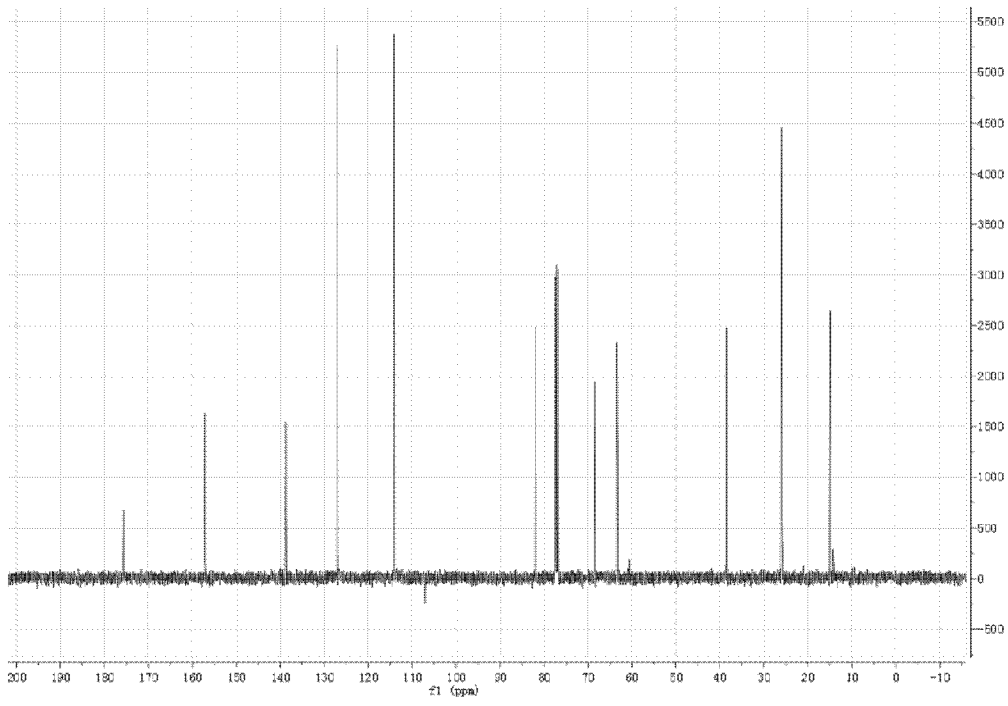
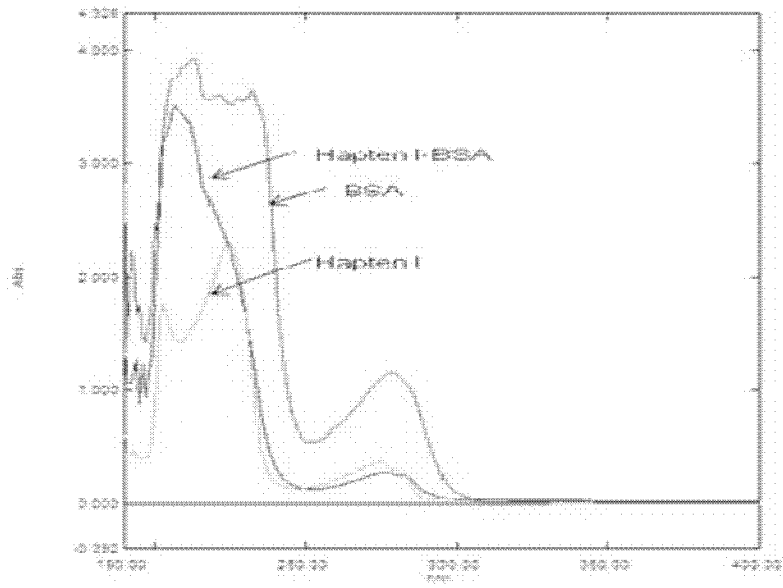


图 4



a

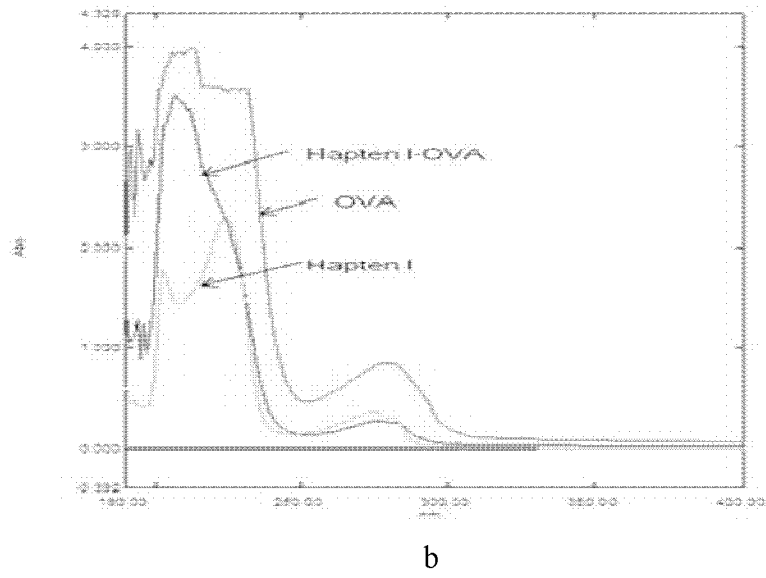


图 5

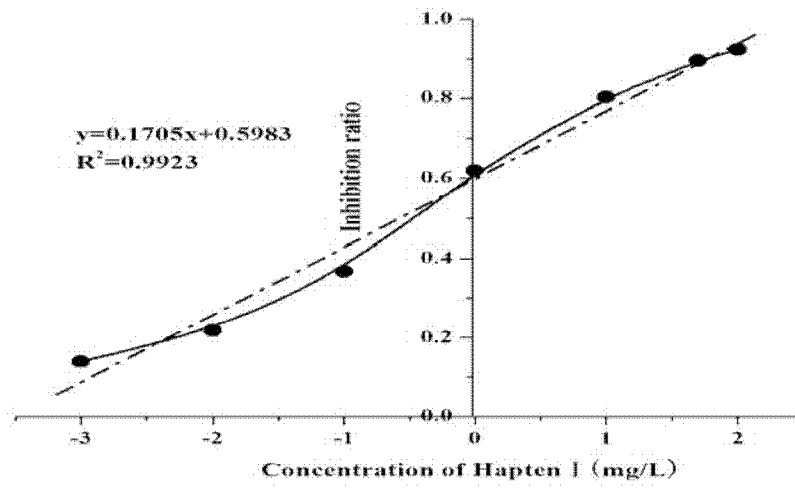


图 6

专利名称(译)	醚型菊酯类农药通用半抗原, 抗原、合成方法及其应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN102807488A</a>	公开(公告)日	2012-12-05
申请号	CN201110386063.1	申请日	2011-11-29
[标]申请(专利权)人(译)	中国农业科学院农产品加工研究所 中国计量大学		
申请(专利权)人(译)	中国农业科学院农产品加工研究所 中国计量学院		
当前申请(专利权)人(译)	中国农业科学院农产品加工研究所 中国计量学院		
[标]发明人	睢珂 王磊 王志伟 潘家荣 赵杰 郑月明		
发明人	睢珂 王磊 王志伟 潘家荣 赵杰 郑月明		
IPC分类号	C07C59/66 C07C51/367 C07C51/02 C07K14/765 C07K14/77 C07K1/113 C07K16/44 C07K16/06 C12N5/16 G01N33/53		
代理人(译)	张涛		
其他公开文献	CN102807488B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明“醚型菊酯类农药通用半抗原，抗原、合成方法及其应用”，涉及生物检测技术。本发明的抗原是在具有如下结构的本发明合成的半抗原分子的羧基团上偶联载体蛋白得到的分子。本发明还提供了其制备方法。该人工抗原免疫Balb/c小鼠制备的多克隆抗体，效价达 $1.28 \times 10^5$ ，经间接竞争ELISA检测人工抗原的免疫原性，结果IC<sub>50</sub>和IC<sub>10</sub>值分别为 $0.2653 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.0012 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，证明本发明制备得到的人工抗原具有较好的免疫原性。

