



(12) 发明专利申请

(10) 授权公告号 CN 103076446 A

(43) 申请公布日 2013. 05. 01

(21) 申请号 201110325898. 6

(22) 申请日 2011. 10. 25

(71) 申请人 天津科技大学

地址 300457 天津市经济技术开发区十三大街 29 号天津科技大学食品工程与生物技术学院

(72) 发明人 王硕 王俊平 生威 王津

(51) Int. Cl.

G01N 33/531 (2006. 01)

权利要求书2页 说明书6页

(54) 发明名称

重金属镉抗体及其在中药中镉残留检测的应用

(57) 摘要

重金属镉抗体及其在中药中镉残留检测的应用涉及重金属镉离子的半抗原、人工抗原和抗体及其制备方法与应用。本发明克服了传统的理化分析方法繁琐复杂、成本较高、分析速度慢的问题,提供了简便、快速、灵敏、准确的免疫分析技术。它以异硫氰酸苄基乙二胺四乙酸 (ITCBE) 与镉离子络合物为半抗原,分别与血蓝蛋白 (KLH) 和牛血清白蛋白等载体蛋白连接合成人工抗原和包被抗原。人工抗原再经动物免疫、取血、分出抗血清、纯化制得抗体。该抗体稳定、具有良好的特异性和灵敏度,且合成方法简便,可用于重金属镉离子的快速免疫检测,具有良好的应用前景。

1. 重金属镉离子人工抗原和抗体,其特征在于选择双功能整合剂异硫氰酸苄基乙二胺四乙酸 (ITCBE) 络合镉离子合成半抗原,半抗原与匙孔血蓝蛋白 (KLH) 偶联合成人工抗原,半抗原与牛血清白蛋白 (BSA) 偶联合成包被抗原,其中人工抗原再经免疫动物,取血,分离含有抗体的全血清,纯化制得抗体;

2. 权利要求 1 所述的重金属镉离子人工抗原和抗体的制备抗法,其特征在于使用下述步骤制得:

(1) 人工抗原的合成

采用双功能整合剂异硫氰酸苄基乙二胺四乙酸 (ITCBE),将重金属镉离子和匙孔血蓝蛋白 (KLH) 偶联,具体做法是:

称取 1.4mg ITCBE 溶于 1mLDMSO 中,将 1000mg/L 镉溶液标品 710 μ L 缓慢滴加到 ITCBE 溶液中,使用三乙胺调节 PH 至 7.4,在 25 $^{\circ}$ C 下,使用磁力搅拌器搅拌 24h,10mg KLH 溶解在 20mmol/L 的 HEPES 缓冲溶液中,并将上述整合好的反应液缓慢滴加到 KLH 溶液中,使用三乙胺调节 PH 至 9.6。在 25 $^{\circ}$ C 下,使用磁力搅拌器搅拌 24h 后,用 5mmol/L 的 HEPES 缓冲溶液透析三天;

(2) 包被抗原的制备

采用双功能整合剂异硫氰酸苄基乙二胺四乙酸 (ITCBE),将重金属镉离子和牛血清白蛋白 (BSA) 偶联,具体做法是:

称取 1.33mg ITCBE 溶于 1mLDMSO 中,将 1000mg/L 镉溶液标品 716 μ L 缓慢滴加到 ITCBE 溶液中,使用三乙胺调节 PH 至 7.4,在 25 $^{\circ}$ C 下,使用磁力搅拌器搅拌 24h。10mgBSA 溶解在 20mmol/L 的 HEPES 缓冲溶液中,并将上述整合好的反应液缓慢滴加到 BSA 溶液中,使用三乙胺调节 PH 至 9.6。在 25 $^{\circ}$ C 下,使用磁力搅拌器搅拌 24h 后,用 5mmol/L 的 HEPES 缓冲溶液透析三天;

3. 权利要求 1 所述的重金属镉离子人工抗原、包被抗原和抗体在中药中重金属镉离子的免疫检测方法中的应用,其特征在于方法如下:

(1) 将 2-5 克中药样品粉碎成粉末,使用 5 倍体积的高氯酸浸泡过夜,然后装入高压消解罐在 160 $^{\circ}$ C -180 $^{\circ}$ C 消化至溶液澄清,使用四乙基乙二胺调节 pH 至中性,过 0.22 μ m 的微孔滤膜并使用双蒸水定容到 50ml 作为待测样品;

(2) 包被:将制备好的 Cd-ITCBE-BSA 包被原溶于 pH 9.6Na₂CO₃-NaHCO₃ 的缓冲液中,将 Cd-ITCBE-BSA 包被原稀释为 1.0 μ g/100 μ L 作为包被液,96 孔微孔板每孔各加入 100 μ L,室温放置过夜或者 37 $^{\circ}$ C 恒温温育 2 ~ 3 小时,用含有 Tween200.05% (V/V) 磷酸盐缓冲液 (PBST) 洗液洗涤三次;

(3) 封闭:每孔加入 200 μ L0.5%脱脂乳粉 / 磷酸盐缓冲液 (PBS) 封闭液,封闭 1 小时,用洗液洗涤三次;

(4) 加样:用二乙基四乙胺 (EDTA) 将待测样品整合后溶于 PBS 中,重金属镉离子标品 (Cd-EDTA) 也溶于 PBS 中,加样时每孔加入 50 μ L 上述待测样品或标样;

(5) 竞争反应:将重金属镉离子抗体溶于 PBS 缓冲液中,加入待测样品或标样后,每孔加入 50 μ L 抗体溶液,孵育 60min 后,用 PBST 洗涤四次;

(6) 显色:向每微孔加 100 μ L 羊抗兔酶标二抗,37 $^{\circ}$ C 反应 30 分钟,用 PBST 洗涤五次后每孔加入 100 μ L 由 5mg 四甲基联苯胺溶于 1ml 底物缓冲液并加入 5 μ L 双氧水溶液配成的

底物溶液, 室温下反应 0.5 小时;

(7) 终止: 向各微孔中加入 50 μ L 硫酸终止液以终止反应, 用酶标仪读取吸光度值。

重金属镉抗体及其在中药中镉残留检测的应用

技术领域

[0001] 本发明属于重金属镉离子免疫化学和残留分析技术领域；涉及无机螯合化学，免疫化学，生物化学及物化测试技术等；特别涉及具有双功能螯合剂异硫氰酸苄基乙二胺四乙酸 (ITCBE) 人工特异性抗原的设计合成，和免疫动物特异性抗体的制备及其在建立免疫分析方法方面的应用。

背景技术

[0002] 重金属是一类很危险的污染物，在生物体内长期积累不可降解，在极其微量的情况下也会产生不良后果。各种生态系统都不同程度受到重金属的影响。重金属通过食物链沉积到人体中，可引起各种疾病，因此重金属在环境、农产品、中草药中残留监测都是非常重要的。

[0003] 重金属的检测常规方法主要有比色法、紫外分光光度法、原子吸收光谱法 (AAS)、原子荧光光谱法 (AFS)，近年还发展了感应耦合等离子体质谱法 (ICP-MS)、电感耦合等离子原子发射光谱仪联用 (ICP-AES) 及高效液相色谱法 (HPLC) 等。比色法和紫外分光光度法所需仪器简单、操作简便，但准确度相对较差，受多种金属的干扰，选择性差。原子吸收光谱法 (AAS) 和原子荧光光谱法 (AFS) 具有检出限低，准确度高，选择性高，谱线较简单，谱线干扰少，分析速度快等优点，目前被广泛采用。感应耦合等离子体质谱法 (ICP-MS) 可同时或顺序测定多种金属元素，对高温金属元素快速分析，但其价格昂贵，易受污染。利用痕量金属离子与有机试剂形成稳定络合物后用 HPLC 分离，紫外可见检测器检测，可以多种元素同时测定。但是由于络合剂选择有限，此方法仍有局限。

[0004] 以上的镉离子检测方法多采用昂贵的化学仪器，需要熟练的操作人员及在远离采样现场的实验室里进行，需要繁琐耗时的采样、运输和存储等步骤。而酶联免疫学法检测灵敏度高、重复性好、成本低廉、简便快捷、样品容量大、时间短，这些优点使其获得了很大的发展空间。其基本原理认为：抗原抗体的免疫反应涉及分子间的立体结构，电荷、氢键及范德华引力作用等诸多因素，具有极高特异性和灵敏性，遵循质量作用定律，不仅可体内进行，也可体外进行，这些特点使其能被利用建立免疫分析方法，可达到传统理化分析技术无法达到的选择性和灵敏度。所以，免疫分析为重金属残留研究提供了一条新的分析检测途径。

发明内容

[0005] 需要解决的问题：

[0006] 针对上述情况，当前急需一种简易快速有效地检测重金属镉离子方法。本发明的目的是通过双功能螯合剂异硫氰酸苄基乙二胺四乙酸 (ITCBE) 将重金属镉离子和匙孔血蓝蛋白 (KLH) 偶联合成人工抗原：独特之处在于，镉离子能与动物体内生物分子发生强烈的不可逆的反应，导致动物中毒，因此选择了双功能螯合剂 ITCBE 螯合镉离子，形成能被动物免疫系统识别的螯合物，但这些重金属螯合物是分子量低于 1kD 的半抗原，免疫原性低，

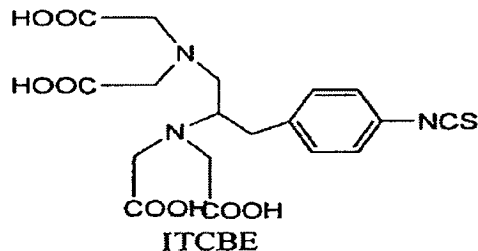
不足以引起免疫反应。而 ITCBE 除了能整合镉离子之外,还能与载体蛋白 KLH 偶联,可以成功获得人工抗原。免疫动物诱导产生亲和性很高的特异性抗体;并以此为基础建立了 ELISA 方法即快速免疫分析方法,准确检测重金属镉离子。

[0007] 技术方案

[0008] 本发明设计、合成了重金属镉离子人工抗原,免疫动物制备对小分子分析物特异性抗体,利用抗原抗体的特异性免疫反应和易被检测识别的标记物的放大作用,从而定性定量地检测中药白芷中微量小分子目标分析物,即可用于样本测定。其选择性决定于免疫学反应的特异性,其灵敏度取决于抗体的亲和性和标记物的可检性。因此可以快速准确地分析检测重金属镉离子在样本中的残用量。该技术研究的关键是人工抗原的合成及抗体的制备。

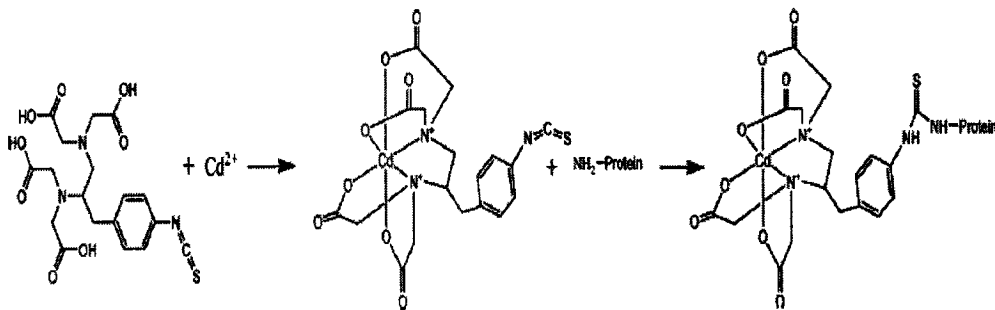
[0009] 重金属镉离子人工抗原和抗体,其特征在于选择双功能整合剂异硫氰酸苄基乙二胺四乙酸 (ITCBE),分子量 MW 为 439.44,结构为:

[0010]



[0011] 人工抗原的合成路线,如下图:

[0012]



[0013] 其中人工抗原再经动物免疫,取血,分出抗全血清,纯化制得抗体。

[0014] 重金属镉离子特异性抗体的制备方法:

[0015] (1) 抗原设计与合成

[0016] 采用双功能整合剂异硫氰酸苄基乙二胺四乙酸 (ITCBE),将重金属镉离子和匙孔血蓝蛋白 (KLH) 偶联,具体做法是:

[0017] 称取 1.4mg ITCBE 溶于 1mLDMSO 中,将 1000mg/L 镉溶液标品 710 μ L 缓慢滴加到 ITCBE 溶液中,使用三乙胺调节 PH 至 7.4,在 25 $^{\circ}$ C 下,使用磁力搅拌器搅拌 24h。10mg KLH 溶解在 20mmol/L 的 HEPES 缓冲溶液中,并将上述整合好的反应液缓慢滴加到 KLH 溶液中,使用三乙胺调节 PH 至 9.6。在 25 $^{\circ}$ C 下,使用磁力搅拌器搅拌 24h 后,用 5mmol/L 的 HEPES 缓冲溶液透析三天。

[0018] (2) 包被抗原的制备

[0019] 采用双功能整合剂异硫氰酸苄基乙二胺四乙酸 (ITCBE),将重金属镉离子和牛血

清白蛋白 (BSA) 偶联,具体做法是:

[0020] 称取 1.33mg ITCBE 溶于 1mLDMSO 中,将 1000mg/L 镉溶液标品 716 μ L 缓慢滴加到 ITCBE 溶液中,使用三乙胺调节 PH 至 7.4,在 25 $^{\circ}$ C 下,使用磁力搅拌器搅拌 24h。10mgBSA 溶解在 20mmol/L 的 HEPES 缓冲溶液中,并将上述整合好的反应液缓慢滴加到 BSA 溶液中,使用三乙胺调节 PH 至 9.6。在 25 $^{\circ}$ C 下,使用磁力搅拌器搅拌 24h 后,用 5mmol/L 的 HEPES 缓冲溶液透析三天。

[0021] (3) 免疫与特异性抗体制备

[0022] 免疫:免疫动物选择新西兰大耳白兔 2 只,月龄 3 个月,体重 1.5 公斤左右,饲养于标准试验动物房中,连续观察 4 天,确定身体状况正常后进行免疫。免疫采取皮下和肌肉注射法共同进行。

[0023] 初次免疫:称取剂量为 1mg,溶于 1mL 0.9% 的 NaCl,再与 1mL 的弗氏完全佐剂混合进行乳化,乳化液用于免疫。

[0024] 加强免疫:初次免疫后第 15 天和 30 天和 45 天进行加强免疫,称取 0.5mg,溶于 1mL 0.9% 的 NaCl,再与 1mL 的弗氏不完全佐剂混合进行乳化,乳化液进行免疫,共免疫 4 次。从第 3 次免疫开始,每次免疫 8-10 天后对动物试采血进行血清效价测定。末次免疫后采用股动脉采血法对动物采全血,经离心处理后收集全部血清,采取 proteinA-SepharoseCL-4B 免疫亲和层析柱进行抗体纯化,所得抗体添加 1:1 (v/v) 甘油后于 -20 $^{\circ}$ C 储存备用。

[0025] 上述制备的重金属镉离子抗体可用于重金属镉离子的免疫检测。

[0026] 免疫分析方法的建立和测定条件的优选

[0027] 利用方针实验分别确定抗原抗体结合效价、亲和性以及 ELISA 方法的抗体和酶标记物的最适效价。本发明建立了重金属镉离子的快速免疫检测方法和实验室标准检测方法,并对 PH 值、离子强度等影响测定的因素进行分析,确定最佳工作条件,建立标准曲线:即对目标分析物浓度对抗体的抑制率 (或结合率的 B/B₀) 的相关曲线。

[0028] 目标分析物浓度对抗体的抑制率

[0029] $I = (A_{\max} - A_{\min}) - (A_i - A_{\min}) / (A_{\max} - A_{\min}) \times 100$

[0030] 抗体与抗原的结合率

[0031] $B/B_0 = (A_i - A_{\min}) / (A_{\max} - A_{\min}) \times 100$

[0032] 式中:A_{max} 空白孔平均吸光值;A_{min} 免疫前兔血清对照孔平均吸光值。A_i 加样孔平均吸光值。以抑制率或结合率 B/B₀ 为纵坐标、分析物浓度 C 为横坐标绘制标准曲线。

[0033] 抗体特异性:以抗体与其他金属的交叉反应程度,以抑制抗体最大结合率的 50% 所需目标分析物的浓度 I_{50i} 与所需各种金属的浓度 I_{50M} 之比的百分数表示,即交叉反应率 C.R.(%)。

[0034] $C.R.(%) = I_{50i} / I_{50M} \times 100$

[0035] 交叉反应越小,抗体特异性越高。

[0036] 上述制备的重金属镉离子抗体可用于重金属镉离子的免疫检测方法中,其方法如下:

[0037] 包被:将制备好的 Cd-ITCBE-BSA 包被原溶于 pH 9.6Na₂CO₃-NaHCO₃ 的缓冲液中,将 Cd-ITCBE-BSA 包被原稀释为 1.0 μ g/100 μ L 作为包被液,96 孔微孔板每孔各加入 100 μ L,室温放置过夜或者 37 $^{\circ}$ C 恒温温育 2~3 小时,用 PBST 即磷酸盐缓冲液 0.05% (V/V),

Tween20 洗液洗涤三次；

[0038] 封闭：每孔加入 200 μ L 0.5% 脱脂乳粉 / PBS 封闭液，封闭 1 小时，用洗液洗涤三次；

[0039] 加样：将待测样品整合 EDTA 后溶于 PBS 中，重金属镉离子标品 (Cd-EDTA) 也溶于 PBS 中，加样时每孔加入 50 μ L 上述待测样品或标样；

[0040] 竞争反应：将重金属镉离子抗体溶于 PBS 缓冲液中，加入待测样品或标样后，每孔加入 50 μ L 抗体溶液，孵育 60min 后，用 PBST 洗涤四次；

[0041] 二抗：向每微孔加 100 μ L 羊抗兔酶标二抗，37 $^{\circ}$ C 反应 30 分钟，用 PBST 洗涤五次；

[0042] 加底物：显色底物使用四甲基联苯胺 (TMB)。每孔加入 100 μ L 四甲基联苯胺 - 双氧水溶液 (5mg 四甲基联苯胺溶于 1ml 底物缓冲液)，室温下反应 0.5 小时；

[0043] 终止：向各微孔中加入 50 μ L 硫酸终止液以终止反应，用酶标仪读取吸光度值。

[0044] 需要说明的是：

[0045] 重金属镉离子人工抗原和抗体在重金属镉离子免疫检测方法中的应用，其特征在于待测样品为中药白芷的重金属镉离子检测。其具体做法是：2g 中药白芷样品粉碎成粉末，使用 10ml 高氯酸浸泡一夜，然后使用高压消解罐高温 160 $^{\circ}$ C -180 $^{\circ}$ C 硝化至溶液澄清。使用 TRIS 调节 pH 至中性，过 0.22 μ m 的微孔滤膜并使用双蒸水定容并稀释。

[0046] 有益效果：

[0047] 与其他同类方法相比，本发明具有特异、灵敏、准确、快速、方便等特点。该设计合成的人工抗原，为制备特异性良好的抗体奠定了基础。其抗体具有良好的特异性和灵敏度，灵敏度可达到 11.33 μ g/L，检测限可达到 0.76 μ g/L，且所得抗体稳定。

[0048] 经试验验证，上述人工抗原的合成方法简便，由于合成效率高、反应步骤少，人工抗原只需两步反应即可完成。因此，本发明合成人工抗原的方法与其他方法相比较，更加易于推广普及。

[0049] 本发明提供的快速检测方法操作简便、快速，完成全部检测操作过程只需要 1.5-2 小时，而且检测的精确度可达 90% 以上，非常适合现场检测的需要。本发明不仅在实验室检测中变现出色，并为开发出检测效率高、操作简便的酶联免疫快速检测工具，奠定了基础，具有良好的应用前景；既有经济效益又有社会效益。

具体实施方式

[0050] 实施例 1：

[0051] 1. 抗原设计与合成

[0052] 采用双功能整合剂异硫氰酸苄基乙二胺四乙酸 (ITCBE)，将重金属镉离子和匙孔血蓝蛋白 (KLH) 偶联，具体做法是：

[0053] 称取 1.4mg ITCBE 溶于 1ml DMSO 中，将 1000mg/L 镉溶液标品 710 μ L 缓慢滴加到 ITCBE 溶液中，使用三乙胺调节 PH 至 7.4，在 25 $^{\circ}$ C 下，使用磁力搅拌器搅拌 24h。10mg KLH 溶解在 20mmol/L 的 HEPES 缓冲溶液中，并将上述整合好的反应液缓慢滴加到 KLH 溶液中，使用三乙胺调节 PH 至 9.6。在 25 $^{\circ}$ C 下，使用磁力搅拌器搅拌 24h 后，用 5mmol/L 的 HEPES 缓冲溶液透析三天。

[0054] 2. 包被抗原的制备

[0055] 采用双功能螯合剂异硫氰酸苄基乙二胺四乙酸 (ITCBE), 将重金属镉离子和牛血清白蛋白 (BSA) 偶联, 具体做法是:

[0056] 称取 1.33mg ITCBE 溶于 1mLDMSO 中, 将 1000mg/L 镉溶液标品 716 μ L 缓慢滴加到 ITCBE 溶液中, 使用三乙胺调节 PH 至 7.4, 在 25 $^{\circ}$ C 下, 使用磁力搅拌器搅拌 24h。10mgBSA 溶解在 20mmol/L 的 Hepes 缓冲溶液中, 并将上述整合好的反应液缓慢滴加到 BSA 溶液中, 使用三乙胺调节 PH 至 9.6。在 25 $^{\circ}$ C 下, 使用磁力搅拌器搅拌 24h 后, 用 5mmol/L 的 Hepes 缓冲溶液透析三天。

[0057] 3. 免疫与特异性抗体制备

[0058] 免疫: 免疫动物选择新西兰大耳白兔 2 只, 月龄 3 个月, 体重 1.5 公斤左右, 饲养于标准试验动物房中, 连续观察 4 天, 确定身体状况正常后进行免疫。免疫采取皮下和肌肉注射法共同进行。

[0059] 初次免疫: 称取剂量为 1mg, 溶于 1mL 0.9% 的 NaCl, 再与 1mL 的弗氏完全佐剂混合进行乳化, 乳化液用于免疫。

[0060] 加强免疫: 初次免疫后第 15 天和 30 天和 45 天进行加强免疫, 称取 0.5mg, 溶于 1mL 0.9% 的 NaCl, 再与 1mL 的弗氏不完全佐剂混合进行乳化, 乳化液进行免疫, 共免疫 4 次。从第 3 次免疫开始, 每次免疫 8-10 天后对动物试采血进行血清效价测定。末次免疫后采用股动脉采血法对动物采全血, 经离心处理后收集全部血清, 采取 proteinA-SepharoseCL-4B 免疫亲和层析柱进行抗体纯化, 所得抗体添加 1:1 (v/v) 甘油后于 -20 $^{\circ}$ C 储存备用。

[0061] 4. 免疫检测方法的建立

[0062] 拟测物品为: 中药白芷。使用快速免疫检测方法, 检测它的重金属镉离子含量步骤如下:

[0063] 将白芷使用中药粉碎机粉碎成粉末, 取 2g 浸泡在 10mL 高氯酸的混酸中浸泡一夜, 然后使用消解罐在 160-180 $^{\circ}$ C 硝化至溶液澄清。使用 TRIS 调节 pH 至中性, 过 0.22 μ m 的滤膜并用双蒸水定容到 50mL。定容后的溶液再 1.6 倍稀释后用于 ELISA 检测。

[0064] 包被: 将制备好的 Cd-ITCBE-BSA 包被原溶于 pH 9.6Na₂CO₃-NaHCO₃ 的缓冲液中, 将 Cd-ITCBE-BSA 包被原稀释为 1.0 μ g/100 μ L 作为包被液, 96 孔微孔板每孔各加入 100 μ L, 室温放置过夜或者 37 $^{\circ}$ C 恒温温育 2~3 小时, 用 PBST 即磷酸盐缓冲液 0.05% (V/V), Tween20 洗液洗涤三次;

[0065] 封闭: 每孔加入 200 μ L 0.5% 脱脂乳粉 /PBS 封闭液, 封闭 1 小时, 用洗液洗涤三次;

[0066] 加样: 将待测样品整合 EDTA 后溶于 PBS 中, 重金属镉离子标品 (Cd-EDTA) 也溶于 PBS 中, 加样时每孔加入 50 μ L 上述待测样品或标样;

[0067] 竞争反应: 将重金属镉离子抗体溶于 PBS 缓冲液中, 加入待测样品或标样后, 每孔加入 50 μ L 抗体溶液, 孵育 60min 后, 用 PBST 洗涤四次;

[0068] 二抗: 向每微孔加 100 μ L 羊抗兔酶标二抗, 37 $^{\circ}$ C 反应 30 分钟, 用 PBST 洗涤五次;

[0069] 加底物: 显色底物使用四甲基联苯胺 (TMB)。每孔加入 100 μ L 四甲基联苯胺-双氧水溶液 (5mg 四甲基联苯胺溶于 1ml 底物缓冲液), 室温下反应 0.5 小时;

[0070] 终止: 向各微孔中加入 50 μ L 硫酸终止液以终止反应, 用酶标仪读取吸光度值。

[0071] 灵敏度和特异性分析:

[0072] (1) 灵敏度

[0073] 对于间接竞争 ELISA 法,灵敏度是指抑制率为 50%时的标准物浓度,研究建立的重金属镉离子间接竞争 ELISA 检测方法的 $IC_{50} = 11.33 \mu g/L$,所以其灵敏度为 $11.33 \mu g/L$ 。检测限是指抑制率为 15%时的标准物浓度,研究建立的重金属镉离子间接竞争 ELISA 检测方法的 $IC_{15} = 0.76 \mu g/L$,所以其检测限为 $0.76 \mu g/L$ 。

[0074] (2) 特异性

[0075] 本发明所制备的抗体和建立的免疫检测方法对 Pb、Mg、Ni、Ag、Cu、Cr、Fe 的交叉反应均小于 1.2%,对 Hg 的交叉反应 10.9%,分析可能由于重金属 Cd 和 Hg 三维结构类似。这表明本发明所制备抗体对目标检测对象重金属镉离子具有高度特异性。

专利名称(译)	重金属镉抗体及其在中药中镉残留检测的应用		
公开(公告)号	CN103076446A	公开(公告)日	2013-05-01
申请号	CN201110325898.6	申请日	2011-10-25
[标]申请(专利权)人(译)	天津科技大学		
申请(专利权)人(译)	天津科技大学		
当前申请(专利权)人(译)	天津科技大学		
[标]发明人	王硕 王俊平 生威 王津		
发明人	王硕 王俊平 生威 王津		
IPC分类号	G01N33/531		
其他公开文献	CN103076446B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

重金属镉抗体及其在中药中镉残留检测的应用涉及重金属镉离子的半抗原、人工抗原和抗体及其制备方法与应用。本发明克服了传统的理化分析方法繁琐复杂、成本较高、分析速度慢的问题，提供了简便、快速、灵敏、准确的免疫分析技术。它以异硫氰酸苄基乙二胺四乙酸(ITCBE)与隔离子络合物为半抗原，分别与血蓝蛋白(KLH)和牛血清白蛋白等载体蛋白连接合成人工抗原和包被抗原。人工抗原再经动物免疫、取血、分出抗血清、纯化制得抗体。该抗体稳定、具有良好的特异性和灵敏度，且合成方法简便，可用于重金属镉离子的快速免疫检测，具有良好的应用前景。

