



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102735805 A

(43) 申请公布日 2012. 10. 17

(21) 申请号 201110089071. X

(22) 申请日 2011. 04. 11

(71) 申请人 厦门市波生生物技术有限公司

地址 361021 福建省厦门市集美区集美北部
工业区天凤路 90-94 号

(72) 发明人 张长弓

(51) Int. Cl.

G01N 33/12 (2006. 01)

G01N 33/545 (2006. 01)

G01N 33/535 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 3 页

(54) 发明名称

一种食品安全快速定量检测试剂盒及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种食品安全快速定量检测试剂盒,包括:预包被板、标记物、校准品系列、发光底物液、浓缩清洗液,所述预包被板由聚苯乙烯为材质的白色微孔板及固相在微孔板上的 β -受体激动剂抗体组成,标记物由碱性磷酸酶标记 β -受体激动剂组成,校准品系列由不同的浓度 β -受体激动剂配制而成,发光底物液由发光剂CSPD和增强剂组成,浓缩清洗液由含有表面活性剂的Tris-HCl缓冲液组成。本发明还公开了上述试剂盒的制备方法。本发明将化学发光的高灵敏度和免疫分析的高特异性结合起来,具有灵敏度高、速度快、特异性强、样品前处理简单和安全无污染的优势,适于食品安全领域的快速、定量检测。

1. 一种食品安全快速定量检测试剂盒,其特征在于,包括:预包被板、标记物、校准品系列、发光底物液、浓缩清洗液,所述预包被板由聚苯乙烯为材质的白色微孔板及固相在微孔板上的 β -受体激动剂抗体组成,标记物由碱性磷酸酶标记 β -受体激动剂组成,校准品系列由不同的浓度 β -受体激动剂配制而成,发光底物液由发光剂 CSPD 和增强剂组成,浓缩清洗液由含有表面活性剂的 Tris-HCl 缓冲液组成。

2. 根据权利要求 1 所述的一种食品安全快速定量检测试剂盒的制备方法,其特征在于包括以下步骤:

- 1) 将抗 β -受体激动剂抗体包被微孔板条,制备出稳定的预包被板;
- 2) 用 ALP 酶标记 β -受体激动剂,制备出纯度高的 ALP 酶标记物;
- 3) 配制含不同的浓度的 β -受体激动剂构成的校准品系列;
- 4) 配制发光底物液,制备出稳定的可直接使用的底物液;
- 5) 配制含有表面活性剂的 Tris-HCl 缓冲液作为浓缩清洗液;
- 6) 将以上各半成品检验后组装成试剂盒。

一种食品安全快速定量检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于免疫诊断技术领域,具体涉及食品安全定量检测技术。

背景技术

[0002] 莱克多巴胺(RAC)与克伦特罗(CL)同属一种 β -肾上腺素激动剂。在我国及其他多数国家属于不得用于食品动物的禁用药物。因具有营养再分配,促进蛋白质合成,增加胴体瘦肉率,提高饲料转化率的作用,能显著提高动物养殖经济效益而被不法分子非法使用。消费者误食这类药物残留的肉类会产生心慌,心悸胸闷,头晕乏力等神经中枢中毒后失控的现象,严重的可导致心率失常而猝死。 β -肾上腺素激动剂类药物已成为当前动物源性食品安全的主要隐患之一。因此,必须对莱克多巴胺与克伦特罗等 β -肾上腺素激动剂类药物在我国畜牧养殖业中的非法使用进行监控。

[0003] 目前 β -肾上腺素激动剂中的克伦特罗和莱克多巴胺等的检测技术主要有色谱技术和免疫分析技术等。

[0004] 色谱技术为经典技术,主要有高效液相色谱(HPLC),液相色谱-质谱连用(LC-MS),气相色谱-质谱连用(GC-MS),高效毛细管电泳(HPCE)等方法。色谱技术灵敏高、准确好,但是样品处理烦琐费时,成本高,所需仪器设备昂贵,一次检测样品量少,检测时间长,而且需要有经过专门训练的专业人员来操作复杂的仪器设备,不易普及,仅作为少数实验室的确证方法。

[0005] 免疫分析技术主要有酶免疫技术、化学发光免疫分析法、免疫生物传感器技术、金标免疫层析技术及新兴的生物芯片技术等。酶联免疫技术(ELISA)操作简单、快速,通常用作大规模样品筛选。常用的显色ELISA方法的检出限一般约0.1PPb,难以达到检测要求。免疫传感器法是一种稳定、灵敏、重复性好的检测方法,但目前该法应用还较少。免疫金标试纸法特异、敏感、快速、简便、直观,能满足现场和快速检测的要求,其缺陷是不易定量。生物芯片技术具有灵敏度高、特异性强、样品前处理简单,检测方便快捷等优点,还可实现对多种兽药同时并行检测的优点,极大的节省了检测费用,缩短了检测时间,提高了检测效率,但其检测时也需要极其昂贵的设备仪器,所以实际应用更少。

[0006] 因此,有必要将化学发光的高灵敏度和免疫分析的高特异性结合起来,开发一种具有灵敏度高、速度快、特异性强、样品前处理简单和安全无污染的快速、定量检测试剂盒。

发明内容

[0007] 为了解决上述技术问题,本发明旨在提供一种一种食品安全快速定量检测试剂盒,克服了现有技术存在的检测时间长、操作烦琐等不足。

[0008] 其采用的技术方案如下:

[0009] 一种食品安全快速定量检测试剂盒,由预包被板、标记物、校准品系列、发光底物液、浓缩清洗液,所述预包被板由聚苯乙烯为材质的白色微孔板及固相在微孔板上的 β -受体激动剂抗体组成,标记物由碱性磷酸酶标记 β -受体激动剂组成,校准品系列由不

同的浓度 β -受体激动剂配制而成,发光底物液由发光剂 CSPD 和增强剂组成,浓缩清洗液由含有表面活性剂的 Tris-HCl 缓冲液组成。

[0010] 本发明还公开了上述食品安全快速定量检测试剂盒的制备方法,包括以下步骤:

[0011] 1) 将抗 β -受体激动剂抗体包被微孔板条,制备出稳定的预包被板;

[0012] 2) 用 ALP 酶标记 β -受体激动剂,制备出纯度高的 ALP 酶标记物;

[0013] 3) 配制含不同的浓度的 β -受体激动剂构成的校准品系列;

[0014] 4) 配制发光底物液,制备出稳定的可直接使用的底物液;

[0015] 5) 配制含有表面活性剂的 Tris-HCl 缓冲液作为浓缩清洗液;

[0016] 6) 将以上各半成品检验后组装成试剂盒。

[0017] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:

[0018] 1、由于采用直接竞争一步法,将待测样品与 ALP 酶标记物同时加入微孔中反应,一步实现抗原抗体反应及样品与酶标记物的竞争反应,与传统的抗体二次包被、多步骤加样相比,本发明消除了抗体二次包被差异对检测结果的影响,减少交叉污染,简化了实验步骤,缩短检测时间,使检测更为高效便捷;

[0019] 2、由于采用了碱性磷酸酶-金刚烷胺发光系统,与传统辣根过氧化物酶 (HRP)-鲁米诺及其衍生物的发光系统相比,无需进行繁琐的 A、B 底物使用前的混合及底物显色反应终止,ALP 酶发光底物可于反应后直接读数,简化了操作步骤;此外碱性磷酸酶-金刚烷胺发光系统发光稳定,检测平台期长,在相当程度上提高了检测灵敏度及拓宽了检测范围;

[0020] 3、本发明产品作为开放试剂,除了采用常规的微孔板与传统的半自动发光免疫分析仪相匹配外,还采用特殊的微孔反应杯,与全自动化学发光免疫分析仪配套使用,克服了以往微孔板式试剂无法实现全自动检测的问题;

[0021] 4、本发明采用化学发光的高灵敏度和免疫分析的高特异性结合起来,具有灵敏度高、速度快、特异性强、样品前处理简单和安全无污染等优点,非常适合快速、定量检测。

具体实施方式

[0022] 首先简述本发明原理:

[0023] 本发明的食品安全快速定量检测试剂盒以克伦特罗、莱克多巴胺等 β -受体激动剂为检测对象,其定量检测技术由免疫反应系统、化学发光系统和光子数检测系统组成,用抗原抗体免疫反应后的产物,其标记的碱性磷酸酶 (ALP) 催化发光底物产生发光信号,来指示免疫反应物的存在和含量高低,以此达到对待测物含量的定量检测。

[0024] 下面结合实施例对本发明作进一步说明:

[0025] 实施例 1:

[0026] 1、试剂盒组成:

[0027] 本发明的食品安全快速定量检测试剂盒包括:预包被板、标记物、校准品系列、发光底物液、浓缩清洗液,所述预包被板由聚苯乙烯为材质的白色微孔板及固相在微孔板上的 β -受体激动剂抗体组成,标记物由碱性磷酸酶标记 β -受体激动剂组成,校准品系列由不同的浓度 β -受体激动剂配制而成,发光底物液由发光剂 CSPD 和增强剂组成,浓缩清洗液由含有表面活性剂的 Tris-HCl 缓冲液组成。

[0028] 2、试剂盒的制备方法:

[0029] 将抗 β -受体激动剂抗体包被微孔板条,制备出稳定的预包被板;用 ALP 酶标记 β -受体激动剂,制备出纯度高的 ALP 酶标记物;配制含不同的浓度的 β -受体激动剂构成的校准品系列;配制发光底物液,制备出稳定的可直接使用的底物液;配制含有表面活性剂的 Tris-HCl 缓冲液作为浓缩清洗液;将以上各半成品检验后组装成试剂盒。

[0030] 3、采用该试剂盒进行快速定量检测的方法如下:

[0031] 1) 将样品加到固相有抗待测物抗体的白色不透明的微孔条板中,碱性磷酸酶标记结合物也一同加入;

[0032] 2) 样品中的待测物分子与待测物-ALP 标记物分子竞争性地与固相上的抗待测物抗体结合;

[0033] 3) 反应 30 分钟后,洗去未结合的游离成分;

[0034] 4) 加入发光底物工作液,ALP 催化底物脱磷酸酯,并发出 463nm 的可见光;

[0035] 5) 于第 10 分钟用发光检测仪检测各微孔中样品的发光值 (RLU);

[0036] 6) 依据由待测物校准品浓度和对应的发光值 (RLU) 而建立的四参数或其他适当数学拟合模型进行定量。

[0037] 4、本发明的快速定量检测试剂盒的技术指标如下:

[0038] 1) 检出限:检测灵敏度达 ng 级,如 CL 0.05ng/mL, RAC 0.05ng/mL;

[0039] 2) 检测时间:35-40 分钟;

[0040] 3) 检测范围:如 CL 0.1-8.1ng/mL, RAC 0.1-10ng/mL;

[0041] 4) 分析内精密度 (CV) 不高于 15.0%;分析间精密度 (CV) 不高于 20.0%;

[0042] 5) 假阳性率低于 5%;

[0043] 6) 剂量-反应曲线线性:用 Logit-log 方程拟合, S1 ~ S5 浓度范围内,剂量-反应曲线相关系数 $|r| \geq 0.9900$ 。

[0044] 上面以举例方式对本发明进行了说明,但本发明不限于上述具体实施例,凡基于本发明所做的任何改动或变型均属于本发明要求保护的范围。

专利名称(译)	一种食品安全快速定量检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN102735805A	公开(公告)日	2012-10-17
申请号	CN201110089071.X	申请日	2011-04-11
[标]申请(专利权)人(译)	厦门市波生生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	厦门市波生生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	厦门市波生生物技术有限公司		
[标]发明人	张长弓		
发明人	张长弓		
IPC分类号	G01N33/12 G01N33/545 G01N33/535		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种食品安全快速定量检测试剂盒，包括：预包被板、标记物、校准品系列、发光底物液、浓缩清洗液，所述预包被板由聚苯乙烯为材质的白色微孔板及固相在微孔板上的 β -受体激动剂抗体组成，标记物由碱性磷酸酶标记 β -受体激动剂组成，校准品系列由不同的浓度 β -受体激动剂配制而成，发光底物液由发光剂CSPD和增强剂组成，浓缩清洗液由含有表面活性剂的Tris-HCl缓冲液组成。本发明还公开了上述试剂盒的制备方法。本发明将化学发光的高灵敏度和免疫分析的高特异性结合起来，具有灵敏度高、速度快、特异性强、样品前处理简单和安全无污染的优势，适于食品安全领域的快速、定量检测。