



## (12)发明专利申请



(10)申请公布号 CN 106771127 A

(43)申请公布日 2017.05.31

(21)申请号 201611094467.2

(22)申请日 2016.12.02

(71)申请人 安徽出入境检验检疫局检验检疫技  
术中心

地址 230022 安徽省合肥市包河区屯溪路  
329号

(72)发明人 宋伟 韩芳 吕亚宁 胡艳云  
周典兵 丁磊 郑平 盛旋

(74)专利代理机构 合肥金安专利事务所 34114  
代理人 金惠贞

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/94(2006.01)

权利要求书1页 说明书3页

### (54)发明名称

莱克多巴胺的快速荧光标记方法

### (57)摘要

本发明涉及莱克多巴胺的快速荧光标记方法。被标记分子为莱克多巴胺(RAC),以异硫氰酸荧光素(FITC)作为荧光标记基团,以硼酸盐缓冲液作为缓冲体系,进行荧光标记合成反应,获得莱克多巴胺异硫氰酸荧光标记物;所述莱克多巴胺荧光标记物为黄色或橙黄色结晶粉末,易溶于水或甲醇等溶剂,最大吸收光波长为490~495nm,最大发射光波长520~530nm,呈现明亮的黄绿色荧光,性质稳定。本发明莱克多巴胺荧光标记物可以结合荧光偏振等荧光免疫检测技术,实现莱克多巴胺残留高通量、高灵敏、快速检测,对于食品安全检测、运动员兴奋剂检测具有一定意义。

1. 莱克多巴胺的快速荧光标记方法,其特征在于:

被标记分子为莱克多巴胺(RAC),以异硫氰酸荧光素(FITC)作为荧光标记基团,以硼酸盐缓冲液作为缓冲体系,进行荧光标记合成反应,获得莱克多巴胺异硫氰酸荧光标记物;

所述莱克多巴胺荧光标记物为黄色或橙黄色结晶粉末,溶于水或甲醇等溶剂,最大吸收光波长为490~495nm,最大发射光波长520~530nm,呈现明亮的黄绿色荧光,性质稳定。

2. 根据权利要求1所述莱克多巴胺的快速荧光标记方法,其特征在于具体操作步骤如下:

(1) 合成反应

称取10mg莱克多巴胺(RAC)、10mg异硫氰酸荧光素(FITC),分别溶于浓度100mmol/L 10毫升pH值7~10的硼酸盐缓冲液中,再将莱克多巴胺溶液和异硫氰酸荧光素溶液混合,室温下暗处搅拌反应10~15小时,制得反应液;

(2) 纯化

将反应液过硅胶柱,以三氯甲烷:甲醇=4:1(V:V)洗脱分离,收集FITC-RAC黄色条带段流出液,真空中干燥,获得莱克多巴胺异硫氰酸荧光标记物。

3. 根据权利要求1所述莱克多巴胺的快速荧光标记方法,其特征在于:所述异硫氰酸荧光素为黄色或橙黄色结晶粉末,易溶于水或酒精等溶剂;分子量为389.4,最大吸收光波长为490~495nm,最大发射光波长520~530nm,呈现明亮的黄绿色荧光,性质稳定。

4. 根据权利要求1所述莱克多巴胺的快速荧光标记方法,其特征在于:所述硼酸盐缓冲液为100mmol/L pH值 8的硼酸盐缓冲液。

5. 根据权利要求1所述莱克多巴胺的快速荧光标记方法,其特征在于:所述莱克多巴胺(RAC)和异硫氰酸荧光素(FITC)的质量比为1:1。

6. 根据权利要求1所述莱克多巴胺的快速荧光标记方法,其特征在于:所述洗脱液按体积比为4:1由三氯甲烷和甲醇按混合制成。

## 莱克多巴胺的快速荧光标记方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于检测分析技术领域,具体涉及一种莱克多巴胺的标记方法。

### 背景技术

[0002] 莱克多巴胺(Ractopamine, RAC),是天然儿茶酚胺类化学合成物的衍生物,由美国礼来公司研制成功,并于2000年被美国FDA批准作为新型饲料添加剂应用于动物生产。但由于人体内莱克多巴胺残留累积量超过一定值时,易出现一些毒副作用,目前,除美国批准莱克多巴胺可作为猪饲料添加剂外,欧盟等世界大多数国家均禁止使用RAC。我国农业部、卫生部、国家药品监督管理局2002年第176号公告《禁止在饲料和动物饮用水中使用的药物品种目录》中也将其列入禁用清单。另外,在体育比赛中,国际奥委会也已将其列为禁用药物。因此研究和开发莱克多巴胺的检测分析技术,对于食品安全检测和体育赛事中兴奋剂的检测都具有重要意义。

[0003] 目前,针对RAC的检测方法主要有液相色谱法、气相色谱质谱法,液相色谱串联质谱法等,操作步骤繁琐,针对大批量样品筛查速度慢。而选择合适的荧光标记基团、标记方法,对莱克多巴胺标记条件进行研究,制得荧光标记的莱克多巴胺抗原分子,结合荧光偏振免疫检测技术,可以针对莱克多巴胺残留检测建立快速、自动、高灵敏的有效技术手段。

### 发明内容

[0004] 为了实现莱克多巴胺药物的荧光免疫快速分析检测,本发明提供一种莱克多巴胺的荧光标记方法。

[0005] 本发明以异硫氰酸荧光素作为荧光标记基团,在缓冲体系下对莱克多巴胺进行荧光标记,制得莱克多巴胺的荧光标记物。

[0006] 本发明的被标记分子为莱克多巴胺(RAC),以异硫氰酸荧光素(FITC)作为荧光标记基团,以硼酸盐缓冲液作为缓冲体系,进行荧光标记合成反应,获得莱克多巴胺异硫氰酸荧光标记物;

所述莱克多巴胺荧光标记物为黄色或橙黄色结晶粉末,溶于水或甲醇等溶剂,最大吸收光波长为490~495nm,最大发射光波长520~530nm,呈现明亮的黄绿色荧光,性质稳定。

[0007] 进一步限定的技术方案如下:

莱克多巴胺荧光标记的具体操作步骤如下:

#### (1) 合成反应

称取10mg莱克多巴胺(RAC)、10mg异硫氰酸荧光素(FITC),分别溶于浓度100mmol/L 10毫升pH值7~10的硼酸盐缓冲液中,再将莱克多巴胺溶液和异硫氰酸荧光素溶液混合,室温下暗处搅拌反应10~15小时,制得反应液;

#### (2) 纯化

将反应液过硅胶柱,以三氯甲烷:甲醇=4:1(V:V)洗脱分离,收集FITC-RAC黄色条带段流出液,真空中干燥,获得莱克多巴胺异硫氰酸荧光标记物。

[0008] 所述异硫氰酸荧光素为黄色或橙黄色结晶粉末,易溶于水或酒精等溶剂;分子量为389.4,最大吸收光波长为490~495nm,最大发射光波长520~530nm,呈现明亮的黄绿色荧光,性质稳定。

[0009] 所述硼酸盐缓冲液为100mmol/L pH值 8的硼酸盐缓冲液。

[0010] 所述莱克多巴胺(RAC)和异硫氰酸荧光素(FITC)的质量比为1:1。

[0011] 所述洗脱液按体积比为4:1由三氯甲烷和甲醇按混合制成。

[0012] 本发明的有益技术效果体现在以下方面:

1. 本发明的标记方法简洁、快速。所制备的荧光标记莱克多巴胺分子可结合荧光免疫检测技术,用于莱克多巴胺残留快速检测;

2. 本发明制得的莱克多巴胺荧光标记物可结合荧光免疫检测技术,用于莱克多巴胺残留快速检测。

## 具体实施方式

[0013] 下面结合实施例,对本发明作进一步地说明。

[0014] 实施例1

莱克多巴胺荧光标记的具体操作步骤如下:

### (1) 合成反应

称取10mg莱克多巴胺(RAC)、10mg异硫氰酸荧光素(FITC),分别溶于浓度100mmol/L 10毫升pH值8.0的硼酸盐缓冲液中,再将莱克多巴胺溶液和异硫氰酸荧光素溶液混合,室温下暗处搅拌反应10小时,制得反应液;

### (2) 纯化

将反应液过硅胶柱,以三氯甲烷:甲醇=4:1(V:V)洗脱分离,收集FITC-RAC黄色条带段流出液,真空中干燥,获得莱克多巴胺异硫氰酸荧光标记物。

[0015] 莱克多巴胺荧光标记物为黄色或橙黄色结晶粉末,溶于水或甲醇等溶剂,最大吸收光波长为490nm,最大发射光波长520nm,呈现明亮的黄绿色荧光,性质稳定。

[0016] 实施例2

莱克多巴胺荧光标记的具体操作步骤如下:

### (1) 合成反应

称取10mg莱克多巴胺(RAC)、10mg异硫氰酸荧光素(FITC),分别溶于浓度100mmol/L 10毫升pH值9.0的硼酸盐缓冲液中,再将莱克多巴胺溶液和异硫氰酸荧光素溶液混合,室温下暗处搅拌反应12小时,制得反应液;

### (2) 纯化

将反应液过硅胶柱,以三氯甲烷:甲醇=4:1(V:V)洗脱分离,收集FITC-RAC黄色条带段流出液,真空中干燥,获得莱克多巴胺异硫氰酸荧光标记物。

[0017] 莱克多巴胺荧光标记物为黄色或橙黄色结晶粉末,溶于水或甲醇等溶剂,最大吸收光波长为495nm,最大发射光波长530nm,呈现明亮的黄绿色荧光,性质稳定。

[0018] 实施例3

莱克多巴胺荧光标记的具体操作步骤如下:

### (1) 合成反应

称取10mg莱克多巴胺(RAC)、10mg异硫氰酸荧光素(FITC),分别溶于浓度100mmol/L 10毫升pH值10.0的硼酸盐缓冲液中,再将莱克多巴胺溶液和异硫氰酸荧光素溶液混合,室温下暗处搅拌反应15小时,制得反应液;

(2)纯化

将反应液过硅胶柱,以三氯甲烷:甲醇=4:1(V:V)洗脱分离,收集FITC-RAC黄色条带段流出液,真空中干燥,获得莱克多巴胺异硫氰酸荧光标记物。

[0019] 莱克多巴胺荧光标记物为黄色或橙黄色结晶粉末,溶于水或甲醇等溶剂,最大吸收光波长为492nm,最大发射光波长525nm,呈现明亮的黄绿色荧光,性质稳定。

专利名称(译)	莱克多巴胺的快速荧光标记方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN106771127A</a>	公开(公告)日	2017-05-31
申请号	CN201611094467.2	申请日	2016-12-02
[标]申请(专利权)人(译)	安徽出入境检验检疫局检验检疫技术中心		
申请(专利权)人(译)	安徽出入境检验检疫局检验检疫技术中心		
当前申请(专利权)人(译)	安徽出入境检验检疫局检验检疫技术中心		
[标]发明人	宋伟 韩芳 吕亚宁 胡艳云 周典兵 丁磊 郑平 盛旋		
发明人	宋伟 韩芳 吕亚宁 胡艳云 周典兵 丁磊 郑平 盛旋		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/94		
CPC分类号	G01N33/9413 G01N33/533		
代理人(译)	金惠贞		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及莱克多巴胺的快速荧光标记方法。被标记分子为莱克多巴胺 ( RAC ) , 以异硫氰酸荧光素 ( FITC ) 作为荧光标记基团, 以硼酸盐缓冲液作为缓冲体系, 进行荧光标记合成反应, 获得莱克多巴胺异硫氰酸荧光标记物; 所述莱克多巴胺荧光标记物为黄色或橙黄色结晶粉末, 易溶于水或甲醇等溶剂, 最大吸收光波长为490~495nm, 最大发射光波长520~530nm, 呈现明亮的黄绿色荧光, 性质稳定。本发明莱克多巴胺荧光标记物可以结合荧光偏振等荧光免疫检测技术, 实现莱克多巴胺残留高通量、高灵敏、快速检测, 对于食品安全检测、运动员兴奋剂检测具有一定意义。