



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104502607 B

(45) 授权公告日 2016. 05. 04

(21) 申请号 201410804923. 2

(22) 申请日 2014. 12. 19

(73) 专利权人 深圳市计量质量检测研究院

地址 518000 广东省深圳市南山区西丽镇龙珠大道中段

(72) 发明人 赖心田 张世伟 黄静敏 刘小青
杨国武 王士峰 冯荣虎 唐栋
陈极锋

(74) 专利代理机构 深圳市科吉华烽知识产权事
务所(普通合伙) 44248

代理人 罗志伟

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

审查员 周露露

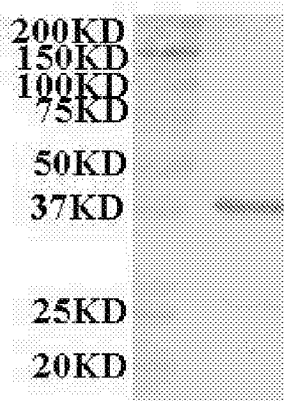
权利要求书1页 说明书8页 附图2页

(54) 发明名称

一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒及其制备方法

(57) 摘要

本发明提供了一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒的制备方法,包括以下步骤:S1、单克隆抗体制备;S2、扁桃仁 prunin-1 蛋白提取分离;S3、酶联免疫检测方法建立及评估;S4、组装定量检测试剂盒。本发明还提供了一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒。本发明的有益效果是:能够定量检测食品中扁桃仁蛋白。



1. 一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1、单克隆抗体制备,根据NCBI 扁桃仁 pruin-1 的蛋白序列进行Blast 比对,综合特异性、抗原性分析,合成多肽,所述多肽的氨基酸序列为:RQGRQQGRQQEEGR-Cys,所述多肽偶联钥孔血蓝蛋白作为免疫原,偶联载体蛋白牛血清白蛋白作为包被原,通过使用免疫原免疫实验动物、细胞融合和抗体纯化制备抗扁桃仁 prunin-1 蛋白单克隆抗体,抗体识别位点为扁桃仁 prunin-1 蛋白的 RQGRQQGRQQEEGR 氨基酸序列;

S2、扁桃仁 prunin-1 蛋白提取分离;

S3、酶联免疫检测方法建立及评估;

S4、组装定量检测试剂盒。

2. 根据权利要求 1 所述的扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒的制备方法,其特征在于,步骤 S2 包括:通过液相等电聚焦和蛋白电泳纯化扁桃仁 prunin-1 蛋白,以此作为试剂盒内的标准品。

3. 根据权利要求 1 所述的扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒的制备方法,其特征在于,步骤 S3 包括:建立扁桃仁蛋白酶联免疫检测方法并对其特异性、抗基质干扰能力和重复性进行评估。

4. 根据权利要求 1 所述的扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒的制备方法,其特征在于,步骤 S4 包括:将预包被包被原的酶标板、扁桃仁 prunin-1 蛋白标准溶液、辣根过氧化物酶标记扁桃仁 prunin-1 蛋白单克隆抗体、显色液和终止液组装为定量检测试剂盒。

5. 一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒,其特征在于:通过如权利要求 1 至 4 中任一项所述的扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒的制备方法制备而成。

一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及扁桃仁蛋白的定量检测,尤其涉及一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 扁桃仁,俗称巴旦木,是出产自世界各地、广受欢迎的一种坚果,富含蛋白质、膳食纤维、维生素 E,且不含胆固醇,在中国被广大消费者接受和喜爱。但是由于利益的驱使,不法食品生产者往往使用杏仁香精等添加剂制造扁桃仁蛋白饮料。造成这种乱象和质疑的根本原因在于缺少植物蛋白饮料中所含有植物蛋白的定量方法。国家标准 GB 16322-2003《植物蛋白饮料卫生标准》规定植物蛋白饮料中的蛋白质含量应不低于 5g/L。由于技术所限,目前只能依据凯式定氮法对其总蛋白进行定量。凯式定氮是通过测定样品中总氮的含量推算出蛋白含量。这就导致了不法分子可以三聚氰胺等高氮小分子非法添加物冒充植物蛋白,或以相对廉价的蛋白掺伪价格较高的扁桃仁蛋白。植物蛋白饮料对其总氮的测定不能真实反映添加的植物蛋白的含量或者乳蛋白含量。这不仅涉及到欺骗消费者,更严重的是掺伪过程因风味需要常添加过量的或非法的香精香料,极大威胁食品安全。

[0003] 另外,扁桃仁也是一种易于致敏的过敏原。但是由于其与杏仁高度相似,往往和杏仁混淆,商家在标签上也往往遗漏或错误标示,这就给扁桃仁致敏人群造成极大的食品安全隐患。但由于 DNA 在热加工过程中的破坏以及两者亲源性较近,目前的 PCR 方法尚不能特异性区分在热加工产品中的扁桃仁和杏仁。

[0004] 因此,综合上两方面所述,市场迫切需要一种能定量检测食品中扁桃仁蛋白的产品。

发明内容

[0005] 为了解决现有技术中的问题,本发明提供了一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒及其制备方法。

[0006] 本发明提供了一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒的制备方法,包括以下步骤:

[0007] S1、单克隆抗体制备;

[0008] S2、扁桃仁 prunin-1 蛋白提取分离;

[0009] S3、酶联免疫检测方法建立及评估;

[0010] S4、组装定量检测试剂盒。

[0011] 作为本发明的进一步改进,步骤 S1 包括:根据 NCBI 扁桃仁 prunin-1 的蛋白序列进行 Blast 比对,综合特异性,抗原性分析,合成多肽偶联钥孔血蓝蛋白作为免疫原,偶联载体蛋白牛血清白蛋白作为包被原。

[0012] 作为本发明的进一步改进,步骤 S1 还包括:免疫原通过免疫实验动物,经过细胞融合,抗体纯化制备抗扁桃仁 prunin-1 蛋白单克隆抗体。

[0013] 作为本发明的进一步改进,步骤 S1 还包括:抗体识别位点为扁桃仁 prunin-1 蛋白

的 RQGRQQGRQQEEGR 氨基酸序列。

[0014] 作为本发明的进一步改进,步骤 S2 包括:通过液相等电聚焦,蛋白电泳等蛋白纯化系统制备扁桃仁 prunin-1 蛋白,以此作为试剂盒内的标准品。

[0015] 作为本发明的进一步改进,步骤 S3 包括:建立扁桃仁蛋白酶联免疫检测方法并对其特异性、抗基质干扰能力和重复性进行评估。

[0016] 作为本发明的进一步改进,步骤 S3 包括:将预包被扁桃仁包被原的酶标板、扁桃仁 prunin-1 蛋白标准溶液、辣根过氧化物酶标记扁桃仁 prunin-1 蛋白单克隆抗体、显色液和终止液组装为定量检测试剂盒。

[0017] 本发明还提供了一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒,通过如上述中任一项所述的扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒的制备方法制备而成。

[0018] 本发明的有益效果是:能够定量检测食品中扁桃仁蛋白,抗扁桃仁特征蛋白抗体针对的抗原决定簇耐热,可对扁桃仁及其相关产品进行蛋白定量检测,适用范围广,有利于消费者合法权益的保障;特异性好,灵敏度高,抗基质干扰效果好,检测结果准确性好,重复性好;样品的前处理简单,检测操作简单,试剂均以工作液的形式提供,可方便地进行大量样本的筛查。

附图说明

[0019] 图 1 是抗扁桃仁 prunin-1 蛋白单克隆抗体的 Western-blot 图谱;

[0020] 图 2 是扁桃仁 prunin-1 蛋白双向电泳蛋白图谱;

[0021] 图 3 是扁桃仁 prunin-1 蛋白酶联免疫检测标准曲线。

具体实施方式

[0022] 下面结合附图说明及具体实施方式对本发明进一步说明。

[0023] 实施例一目标抗原的制备。

[0024] 根据 NCBI 扁桃仁 prunin-1 的蛋白序列进行 Blast 比对,综合特异性,抗原性分析,合成多肽(氨基酸序列:RQGRQQGRQQEEGR-Cys)偶联钥孔血蓝蛋白作为免疫原,偶联载体蛋白牛血清白蛋白作为包被原。偶联方法如下:

[0025] 5.8mg 3-(2-吡啶二巯基)丙酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯溶解于 1mL 二甲亚砜中,逐步滴加至溶解有 0.1g 钥孔血蓝蛋白或牛血清白蛋白的 1mL 0.01M pH7.4 PBS 中,室温反应 12 小时。透析过夜除去游离的 3-(2-吡啶二巯基)丙酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯。将 4mg 多肽加入上述活化好的蛋白溶液中。反应 12 小时后透析过夜,冻干保存。

[0026] 实施例二抗扁桃仁 prunin-1 蛋白抗体的制备和纯化。

[0027] 用实施例一制备的免疫原分别免疫 6 周雌性 balb/c 鼠,每组 3 只。首次免疫注射时,分别 100 μ g/mL 的免疫抗原 100 μ L,与等量弗氏完全佐剂充分乳化,腹腔直接注射。间隔两周后,取用样的抗原,与 100 μ L 不完全佐剂乳化,同样方法注射。

[0028] 在细胞融合前 1d 或当天拉颈处死昆明鼠,浸泡在 70%酒精中,体表消毒;用大头针固定昆明鼠在蜡板上,超净工作台上剪开腹部,用小镊子挑起腹膜,注入 5mL RPMI-1640 完全培养液(由 GIBICO RPMI-1640 基础培养液加入 15%胎牛血清而得),用手轻轻揉动腹腔,将其体内液体用无菌吸管移入 75mL HAT 完全培养液(由 74.25mL RPMI-1640 完全培养

液加入 0.75mL 100×HAT 液而得)中,用吸管混匀,铺 24 孔板,每孔加 0.5mL,置于 37℃ CO₂ 培养箱中。

[0029] 小鼠眼眶放血,收集血清,拉颈处死,70%酒精浸泡消毒体表,无菌取出脾脏,放入 RPMI-1640 基础培养液(购自 GIBICO,货号为 A10491-01)中,并小心剔除筋膜及脂肪,剪碎,置于 100 目的不锈钢筛内,无菌研磨,释放出单个脾细胞,吸取含有脾细胞的液体置于 50mL 无菌离心管中,离心。

[0030] 将骨髓瘤细胞和上述制备好的脾细胞以个数 5:1 的比例加入同一 50mL 的离心管中,加入 37℃ 温浴的 RPMI-1640 不完全培养液(购自 GIBICO,货号为 61870-036)20mL,混合均匀,1500r/min 离心 6min,弃去上清,用手指轻击离心管底部,使沉淀混匀如糊状;用移液管取 37℃ 预热的 PEG 1mL,滴入离心管,静置 1min 后,于 37℃ 水浴中在 2min 内滴加 RPMI-1640 完全培养液 10mL,1000r/min 离心 6min,弃去上清,加 75mL HAT 培养液,轻轻混匀,将混匀悬液分装于有饲养细胞的 24 孔板中,每孔 0.5mL,于 37℃、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中孵育。

[0031] 融合后 6~9d,用 HAT 培养液半量换液 1 次,在 12~14d 后根据增殖情况改用 RPMI-1640 完全培养液;待细胞贴壁至占板孔 1/3 时,计杂交瘤细胞生长的孔数及细胞总数,取上清液,间接 ELISA 选择效价高和间接竞争 ELISA 选择药物抑制强的阳性杂交瘤细胞。

[0032] 采用间接 ELISA 和间接竞争 ELISA 法进行阳性杂交瘤细胞筛选,显示阳性并出现竞争抑制反应的孔为产扁桃仁 prunin-1 蛋白抗体的孔,并可用于进一步的亚克隆。

[0033] 无菌条件下,洗脱阳性孔内的细胞,用弯头吸管将细胞转移至预先以饲养细胞铺板的 96 孔培养板中,每个原始孔克隆成 8 孔,待细胞贴壁长满 1/2~1/3 孔底后,取上清液,间接 ELISA 检测;取呈阳性强的亚克隆,如此反复 2~5 次,待所克隆的 8 个孔上清液中抗体阳性率为 100%时,挑取单细胞克隆,检测为全阳性者转移至 24 孔细胞培养板或 25mL 细胞培养瓶扩大培养,建株并以分装、冻存。提前一周注射 0.5mL 降植烷至 Balb/c 小鼠腹腔。取冻存细胞株,复苏后,经大量培养繁殖,收集细胞,用不完全培养基洗涤二次后,再用 10mL 不完全培养基悬浮,计数;将细胞(每只小鼠 1mL,含 3.1×10^7 个细胞)腹腔注射小鼠腹部,10~15d 后,待小鼠腹部明显膨大时用 16 号注射器无菌采集腹水;2000r/min 离心 10min,去除上层脂肪和下层纤维蛋白及细胞,收集中层,分装 -70℃ 冻存备用。

[0034] 取腹水离心后的中层部分 3mL,加入 2 倍体积的 0.06mol/L、pH 4.5 醋酸钠缓冲液。将正辛酸逐滴慢慢加入样品中,至终浓度 33 μg/mL 腹水,边加边搅拌,加完后继续搅拌 30min,4℃ 下 10000r/min 离心 30min,去沉淀(白蛋白和其它非 IgG 蛋白)。取上清经 0.45 μm 微孔膜过滤,与 1/10 体积 10×PBS 混合(10×PBS 由 80gNaCl、2g KCl、11.5g Na₂HP0₄、2g KH₂P0₄、0.5845g EDTA 用 950mL 蒸馏水溶解后,调 pH 至 7.4 并定容至 1000mL 而得),用 1mol/L NaOH 溶液调 pH 值到 7.4。上清冷却到 4℃,加硫酸铵至终浓度为 0.277g/mL。搅拌 30min,4℃ 下 10000r/min 离心 30min,弃上清。用少量 PBS 溶液溶解沉淀,用 50~100 倍体积的 PBS 透析过夜,换液 3 次。得到纯化后的抗扁桃仁 prunin-1 蛋白抗体,4℃ 下贮藏备用。纯化后的抗扁桃仁 prunin-1 蛋白抗体经 Western-Blotting 检测,结果如图 2 说明使用实施例一所述的多肽偶联抗原,可以特异性识别扁桃仁 prunin-1 蛋白,抗扁桃仁 prunin-1 蛋白单克隆抗体的 Western-blot 图谱如图 1 所示。

[0035] 实施例三扁桃仁 prunin-1 蛋白标准品的制备。

[0036] 将扁桃仁果肉部分粉碎机粉碎后,取样品 100g,使用 8M 尿素超声提取 6h。离心取上清,使用液相等点聚焦仪进行初次分离纯化,截取等电点为 5-6 的组分。

[0037] 初分离的样品使用垂直电泳仪进行再纯化:将初分离的样品使用 4%的浓缩胶和 12%的分离胶进行 SDS-PAGE 电泳,同时使用预染蛋白标准品作为分子量参照。80v 电泳 2h 后,参照预染蛋白标准品切取分子量为 40kd 的蛋白凝胶条带。将蛋白凝胶使用研钵粉碎后,加入 10mL 7M 尿素提取提取过夜。离心,取上清液进行透析,冻干。纯化的 37kDa,等电点为 5-6 的扁桃仁 prunin-1 蛋白的双向电泳蛋白图谱如图 2 所示。

[0038] 实施例四扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒的构建。

[0039] 预包被酶标板:

[0040] 将 0.1mL 1mg/L 的包被原(见实施例一)加入高吸附酶标板,包被过夜,采用封闭液封闭 2h,封闭液的配方为(1%牛血清白蛋白,1%牛酪蛋白,0.5%大豆蛋白粉,0.05%吐温-80,溶于 0.01M pH7.4PBS),封闭后洗版真空干燥。

[0041] 抗扁桃仁 prunin-1 蛋白酶标抗体:

[0042] 称取 5mg 辣根过氧化物酶溶解于 1ml 蒸馏水中,加入 0.2ml 新配的 0.1M NaIO₄溶液,室温下避光搅拌 20 分钟。将上述溶液装入透析袋中,对 1mM PH4.4 的醋酸钠缓冲液透析,4℃过夜。加 20 μl 0.2M PH9.5 碳酸盐缓冲液,pH 升高到 9.0~9.5,然后立即加入 10mg 抗扁桃仁 prunin-1 蛋白单克隆抗体在 1ml 0.01M 碳酸盐缓冲液中,室温避光轻轻搅拌 2 小时。加 0.1ml 新配的 4mg/ml NaBH₄液,混匀,再置 4℃ 2 小时。将上述液装入透析袋中,对 0.15M pH7.4PBS 透析,4℃过夜,用含有 1%的牛血清白蛋白、0.05%吐温-80 和 15mM 的叠氮化钠分的 0.01M pH7.4PBS 稀释 10000 倍,分装 14mL 至每个试剂盒。

[0043] 底物显色液:由显色剂 A 和显色剂 B 等体积混匀而得;称取 23mg 四甲基联苯胺,加 1mL DMSO 溶解,然后加 0.1M pH5.5 乙酸-醋酸钠缓冲液 66mL,得到显色剂 A;取双蒸水 100mL,加过氧化脲 10 μg,得到显色剂 B。将显色液 A 和显色液 B 按体积比 1:1 混合,分装 14mL 至每个试剂盒。

[0044] 终止液:为 2M 硫酸溶液,分装 7mL 至每个试剂盒。

[0045] 本发明提供的扁桃仁蛋白免疫检测试剂盒包括:扁桃仁 prunin-1 蛋白标准液 7 瓶,浓度分别为 0 μg/mL、1 μg/mL、2 μg/mL、4 μg/mL、8 μg/mL、16 μg/mL、32 μg/mL;抗扁桃仁 prunin-1 蛋白酶标抗体;包被了扁桃仁 prunin-1 蛋白的酶标板,底物显色液,终止液。

[0046] 本发明提供的扁桃仁蛋白免疫检测试剂盒在 4℃环境下贮藏,可保质 1 年以上。

[0047] 实施例五扁桃仁蛋白酶联免疫试剂盒对扁桃仁相关产品进行检测。

[0048] 样品前处理:

[0049] 1、扁桃仁饮料:将扁桃仁饮料均质,称取 1g,加入 20mL 0.01M pH7.4 的 PBS 超声连续提取 2min,离心,取上清液为样品检测溶液,如果样品检测溶液的检测结果超过线性范围上限,需再酌情稀释。

[0050] 2、含有扁桃仁成分的固体食品:将固体样品研磨至粉状,称取 0.1g,加入 10mL 0.01M pH7.4 的 PBS 超声连续提取 2min,离心,取上清液稀释 1000 倍后,得到样品检测溶液;

[0051] 扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒进行检测:

[0052] 1、将所需试剂从冷藏环境中取出,在室温下平衡 30min 以上,各种试剂使用前均须摇匀;

[0053] 2、加系列浓度的扁桃仁 prunin-1 蛋白标准液或样品检测溶液 50 μ l 到相应的微孔中,标准液均需做 2 个平行试验,然后加 50 μ l 酶标抗体工作液,室温避光反应 30 分钟;

[0054] 3、小心揭开盖板膜,弃去微孔中液体,并将微孔中剩余残液在吸水纸上拍干,往微孔中注满洗涤液,轻轻振荡,放置 2 分钟,弃去微孔中液体,并在吸水纸上拍干,重复洗涤 4 次或机洗 5 次;

[0055] 5、加 100 μ l 底物显色液到相应的微孔中,并在室温下避光反应 15 分钟;

[0056] 6、加 50 μ l 终止液到相应的微孔中,使用酶标仪于 450nm 波长下测定 OD 值。

[0057] 根据扁桃仁 prunin-1 蛋白标准液的实验数据建立标准曲线,结果如图 3 所示。标准曲线的回归方程 $R^2 > 0.99$,说明 OD 值与扁桃仁 prunin-1 蛋白浓度具有很好的线性关系。根据标准曲线的线性回归方程,计算出样品中的扁桃仁 prunin-1 蛋白含量,将此含量乘以系数 4.7,得到扁桃仁全蛋白含量,扁桃仁 prunin-1 蛋白酶联免疫检测标准曲线如图 3 所示。

[0058] 实施例六扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒的特异性。

[0059] 使用扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒对食品其他常见蛋白进行检测,结果如表 2 所示。从表 1 可知,扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒与食品中其他蛋白成分无交叉反应,特异性好,检测结果不会受影响。

[0060] 表 1 扁桃仁蛋白酶联免疫试剂盒与食品中其他蛋白成分的交叉反应

[0061]

	交叉反应率 (%)		交叉反应率(%)
扁桃仁 prunin-1 蛋白	100	夏威夷果全蛋白	0
北杏全蛋白	0	腰果全蛋白	0
南杏全蛋白	0	小麦粉全蛋白	0
花生全蛋白	0	马蹄粉全蛋白	0
核桃全蛋白	0	黑芝麻全蛋白	0
白芸豆全蛋白	0	大米粉全蛋白	0
红芸豆全蛋白	0	孜然粉全蛋白	0
绿豆全蛋白	0	黑胡椒全蛋白	0
蚕豆全蛋白	0	白胡椒全蛋白	0
赤小豆全蛋白	0	燕麦全蛋白	0
黄豆全蛋白	0	生鸡蛋全蛋白	0
黑豆全蛋白	0	熟鸡蛋全蛋白	0

[0062]

白莲全蛋白	0	纯牛奶全蛋白	0
-------	---	--------	---

[0063] 实施例七扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒的重复性。

[0064] 使用扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒对扁桃仁样品（包括阴性样品和阳性样品）分别进行不同微孔和不同酶标板间重复检测，结果如表 3 和表 4 所示。从表 3 和表 4 可知，扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒进行样品检测的微孔间差异 <3%，酶标板间差异 <6%，重复性好。

[0065] 表 2 扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒进行样品检测的微孔间差异

[0066]

阴性样本 (0 μ g/mL)	OD	阳性样本 (10 μ g/mL)	OD
孔 1	1.845	孔 1	0.452
孔 2	1.832	孔 2	0.459
孔 3	1.825	孔 3	0.476
孔 4	1.813	孔 4	0.466
孔 5	1.821	孔 5	0.455
孔 6	1.825	孔 6	0.463

[0067] 表 3 扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒进行样品检测的酶标板间差异
[0068]

阴性样本 (0 μ g/mL)	OD	阳性样本 (10 μ g/mL)	OD
板 1	1.861	板 1	0.431
板 2	1.859	板 2	0.439
板 3	1.840	板 3	0.452
板 4	1.883	板 4	0.465
板 5	1.840	板 5	0.453
板 6	1.836	板 6	0.411

[0069] 实施例八扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒的基质效应。

[0070] 使用扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒对样品（包括阴性样品和阳性样品）中食盐、葡萄糖和果糖等一些常见干扰物进行基质效应的检测，结果如表 4 所示。由表 3 可知，在对阴性样品和阳性样品的检测中，质量浓度 1% 的葡萄糖、1% 的果糖、1% 的淀粉、1% 的氯化钠对检测结果的影响均无显著差异 ($p > 0.05$)，说明本发明提供的扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒抗基质干扰效果好，只需对样品进行超声提取和稀释，即可完成样品前处理。

[0071] 表 4 常见干扰物对扁桃仁蛋白酶联免疫检测试剂盒检测结果的影响
[0072]

常见干扰物	抑制率 (%)	常见干扰物	抑制率 (%)
1%食盐	0	0.1%卡拉胶	0
1%葡萄糖	0	0.1%明胶	0
1%蔗糖	0	0.1%海藻酸钠	0
1%果糖	0	0.1%黄原胶	0
1%淀粉	0	0.1%果胶	0
0.1%谷氨酸	0	0.1%聚丙烯酸钠	0

[0073] 本发明提供一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒及其制备方法,抗扁桃仁特征蛋白抗体针对的抗原决定簇耐热,可对扁桃仁及其相关产品进行蛋白定量检测,适用范围广,有利于消费者合法权益的保障;特异性好,灵敏度高,抗基质干扰效果好,检测结果准确性好,重复性好;样品的前处理简单,检测操作简单,试剂均以工作液的形式提供,可方便地进行大量样本的筛查。

[0074] 以上内容是结合具体的优选实施方式对本发明所作的进一步详细说明,不能认定本发明的具体实施只局限于这些说明。对于本发明所属技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干简单推演或替换,都应当视为属于本发明的保护范围。

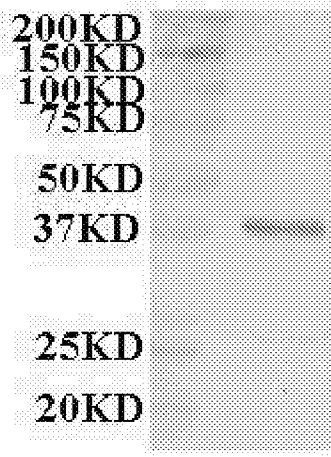


图 1

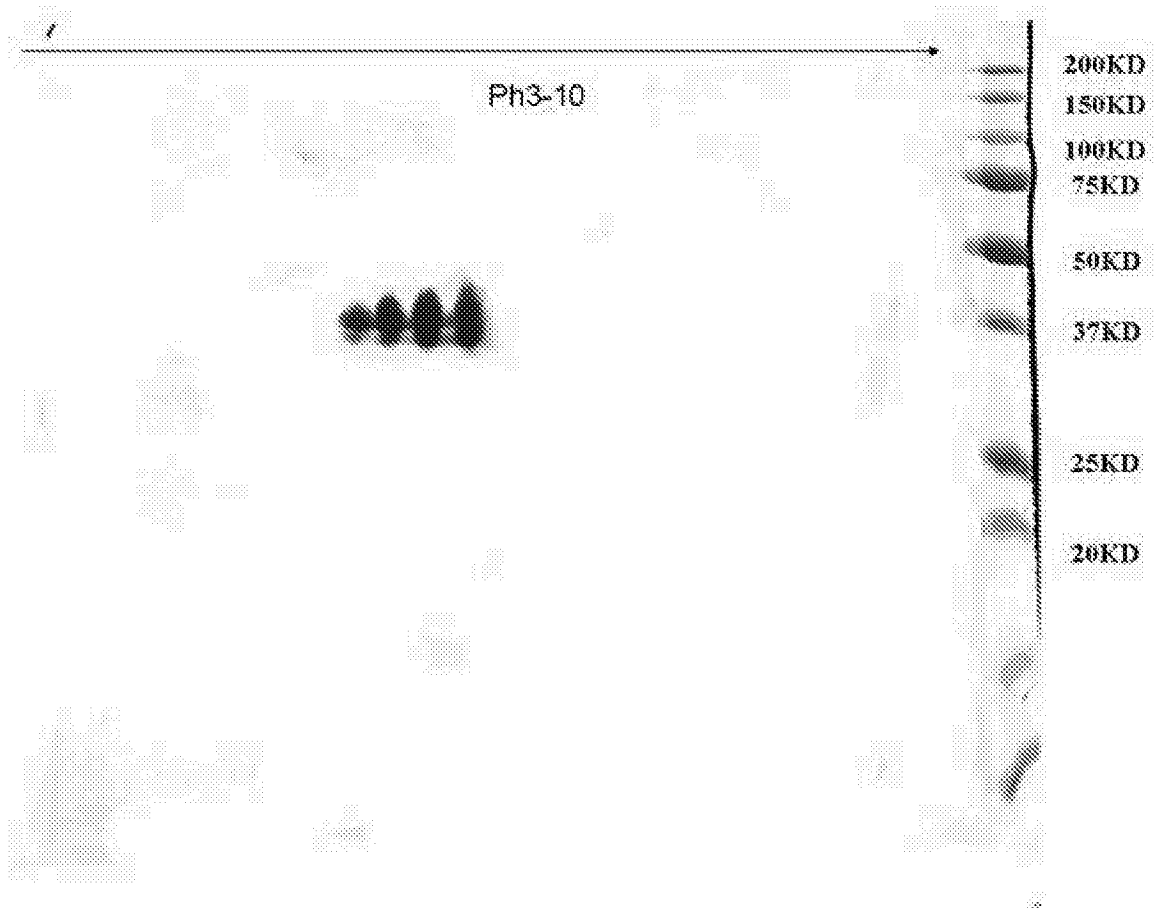


图 2

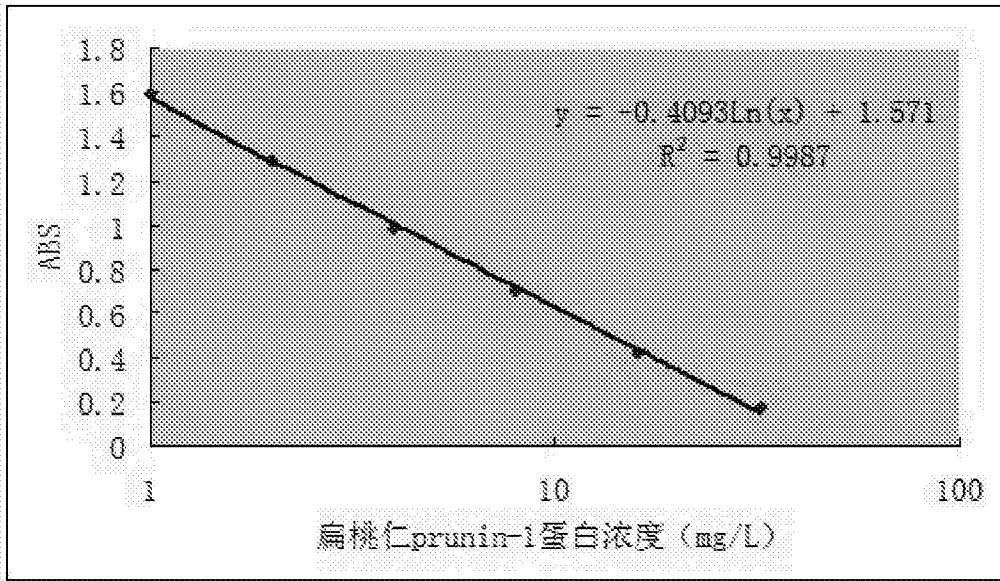


图 3

专利名称(译)	一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN104502607B	公开(公告)日	2016-05-04
申请号	CN201410804923.2	申请日	2014-12-19
[标]申请(专利权)人(译)	深圳市计量质量检测研究院		
申请(专利权)人(译)	深圳市计量质量检测研究院		
当前申请(专利权)人(译)	深圳市计量质量检测研究院		
[标]发明人	赖心田 张世伟 黄静敏 刘小青 杨国武 王士峰 冯荣虎 唐栋 陈极锋		
发明人	赖心田 张世伟 黄静敏 刘小青 杨国武 王士峰 冯荣虎 唐栋 陈极锋		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/6818 G01N2333/415		
代理人(译)	罗志伟		
审查员(译)	周露露		
其他公开文献	CN104502607A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒的制备方法，包括以下步骤：S1、单克隆抗体制备；S2、扁桃仁prunin-1蛋白提取分离；S3、酶联免疫检测方法建立及评估；S4、组装定量检测试剂盒。本发明还提供了一种扁桃仁蛋白的定量检测试剂盒。本发明的有益效果是：能够定量检测食品中扁桃仁蛋白。

