



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104569406 A

(43) 申请公布日 2015. 04. 29

(21) 申请号 201410804874. 2

(22) 申请日 2014. 12. 19

(71) 申请人 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 赖晓芳 张世伟 赖心田 伍聪
杨国武 李碧芳 冯荣虎 王士峰
马广东 王珍妮

(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 33/577(2006. 01)
G01N 33/531(2006. 01)

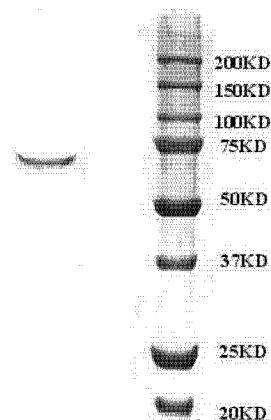
权利要求书1页 说明书8页 附图1页

(54) 发明名称

一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒及其制备方法

(57) 摘要

本发明提供了一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的制备方法,包括以下步骤:S1、冬虫夏草70kDa糖蛋白提取分离;S2、单克隆抗体的制备;S3、酶联免疫检测方法的建立及评估;S4、试剂盒的组装。本发明还提供了一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒。本发明的有益效果是:可通过冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒实现冬虫夏草的真伪鉴定。



1. 一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1、冬虫夏草 70kDa 糖蛋白提取分离;

S2、单克隆抗体的制备;

S3、酶联免疫检测方法的建立及评估;

S4、试剂盒的组装。

2. 根据权利要求 1 所述的冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的制备方法,其特征在于,步骤 S1 包括:通过液相等电聚焦,蛋白电泳,电洗脱仪等蛋白纯化系统制备冬虫夏草 70kDa 糖蛋白糖蛋白,以此作为抗原、包被原和试剂盒内的标准品。

3. 根据权利要求 1 所述的冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的制备方法,其特征在于,步骤 S2 包括:通过细胞融合技术,抗体纯化技术制备抗冬虫夏草 70kDa 糖蛋白单克隆抗体。

4. 根据权利要求 1 所述的冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的制备方法,其特征在于,步骤 S3 包括:建立冬虫夏草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。

5. 根据权利要求 1 所述的冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的制备方法,其特征在于,步骤 S4 包括:将预包被冬虫夏草 70kDa 糖蛋白的酶标板、冬虫夏草 70kDa 糖蛋白标准溶液、辣根过氧化物酶标记冬虫夏草 70kDa 糖蛋白单克隆抗体、显色液和终止液组装为试剂盒。

6. 一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒,其特征在于:通过如权利要求 1 至 5 任一项所述的冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的制备方法制备而成。

一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及冬虫夏草的鉴定,尤其涉及一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 《中国药典》(2010年版)规定冬虫夏草正品为“麦角菌科真菌冬虫夏草菌(*Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.)寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座及幼虫尸体的复合体”。其具有补肾益肺、止血化痰之功效,与人参、鹿茸并称为中国三大补药。冬虫夏草生长环境特殊、资源稀少,价格昂贵,市场上出现大量掺伪品、混淆品,如何快速、有效地鉴别真伪,是保证冬虫夏草临床用药安全有效需解决的首要问题。冬虫夏草伪品主要包括:(1)以它种虫草加工后冒充:自然界还分布有大量的其它虫草均为虫草属真菌寄生在各种昆虫体上形成的子座与虫体的复合体。据报道,全世界目前已发现虫草400多种,我国现已报道虫草约120种,如古尼虫草、分枝虫草、凉山虫草、珊瑚虫草等。这些“假冒虫草”以古尼虫草充伪最为多见。(2)增重:插入竹签、金属丝,附着泥土,注入、涂抹金属液增重,盐水浸泡增重等。(3)压模“虫草”:主要是用淀粉、面粉、石膏粉等加入粘合剂,用冬虫夏草模子精心压制染色而成。部分压模“虫草”做得十分精细逼真,外行难以辨识。除此之外,生长于不同地区的冬虫夏草其价格也差别较大,受市场宣传和传统观念影响,以及藏区雪域高原所赋予的神秘色彩,普遍认为“藏虫草”品质最佳,推崇青海、西藏产区所产虫草,市场价格高于“川虫草”。在我国,冬虫夏草主要分布于青海、西藏、四川、甘肃、云南等省,其中四川、西藏、青海三省占绝大部分。

[0003] 冬虫夏草的真伪鉴定现状:现行《中国药典》(2010年版)对冬虫夏草的鉴别仅规定了来源、性状特征、含量测定等检查项,含量测定以腺苷为指标成分,要求含腺苷不得少于0.010%,现行标准已远不能满足现今市场商品的发展变化。其含量测定项指标成分——腺苷专属性不强,多种虫草腺苷含量大于正品冬虫夏草,对该成分的含量测定难以反映样品的真伪和品质优良度。目前国内外冬虫夏草化学成分的研究只局限于少数种类虫草与冬虫夏草的对比及差异分析,对于鉴别冬虫夏草的真伪鉴别作用不大。冬虫夏草中腺苷等核苷类物质的含量以往多采用薄层紫外分光光度或高效液相色谱法测定。李绍平等采用毛细管电泳法来测定天然和人工冬虫夏草中腺苷、尿苷、鸟苷等3种核苷类成分的含量,并对其变化进行了考察。结果证明:天然和人工冬虫夏草中的核苷含量明显高于天然冬虫夏草,人工冬虫夏草中腺苷的含量差异显著,高低相差达6倍。而新鲜采集的天然冬虫夏草(如在青海玉树、湟中和云南采集的样品)中腺苷等的含量极低甚至无法定量,而采集日久者核苷类成分含量却较高。而人工冬虫夏草中腺苷、鸟苷和尿苷的含量却无明显变化。证明天然冬虫夏草在储存过程中会产生核苷类成分,且天然和人工冬虫夏草中核苷类成分有一定的差异。腺苷作为冬虫夏草的质量控制指标,不能客观反映天然冬虫夏草的质量。因此,腺苷在质量控制中的应用尚值得进一步研究。

[0004] 冬虫夏草的真伪鉴别一直是无法攻破的技术难题,首先冬虫夏草的主要功效成分

虫草素、虫草多糖、核苷类物质及冬虫夏草的微量元素,各类学者莫衷一是。其次,冬虫夏草的鉴别方法最行之有效的方式是长期以来沿用至今的传统经验鉴别。导致市场上各种伪虫草的出现,有增重、用竹签以次充好,还有的用相似虫草代替冬虫夏草的,更是让人无法鉴别。

[0005] 因此,如何实现冬虫夏草的真伪鉴定是本领域技术人员亟待解决的问题。

发明内容

[0006] 为了解决现有技术中的问题,本发明提供了一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒及其制备方法。

[0007] 本发明提供了一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的制备方法,包括以下步骤:

[0008] S1、冬虫夏草 70kDa 糖蛋白提取分离;

[0009] S2、单克隆抗体的制备;

[0010] S3、酶联免疫检测方法的建立及评估;

[0011] S4、试剂盒的组装。

[0012] 作为本发明的进一步改进,步骤 S1 包括:通过液相等电聚焦,蛋白电泳,电洗脱仪等蛋白纯化系统制备冬虫夏草 70kDa 糖蛋白糖蛋白,以此作为抗原、包被原和试剂盒内的标准品。

[0013] 作为本发明的进一步改进,步骤 S2 包括:通过细胞融合技术,抗体纯化技术制备抗冬虫夏草 70kDa 糖蛋白单克隆抗体。

[0014] 作为本发明的进一步改进,步骤 S3 包括:建立冬虫夏草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。

[0015] 作为本发明的进一步改进,步骤 S4 包括:将预包被冬虫夏草 70kDa 糖蛋白的酶标板、冬虫夏草 70kDa 糖蛋白标准溶液、辣根过氧化物酶标记冬虫夏草 70kDa 糖蛋白单克隆抗体、显色液和终止液组装为试剂盒。

[0016] 本发明还提供了一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒,通过如上述任一项所述的冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的制备方法制备而成

[0017] 本发明的有益效果是:可通过冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒实现冬虫夏草的真伪鉴定,抗冬虫夏草特征蛋白抗体针对的抗原决定簇耐热,可快速鉴别样品中的冬虫夏草真伪,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

[0018] 图 1 是冬虫夏草 70kDa 糖蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱;

[0019] 图 2 是冬虫夏草酶联免疫检测标准曲线图。

具体实施方式

[0020] 下面结合附图说明及具体实施方式对本发明进一步说明。

[0021] 实施例一 目标抗原的制备。

[0022] 取冬虫夏草果草体部分液氮条件碾磨后,取样品 10g,在冰浴下使用 0.1M PBS 缓冲液 (pH7.4,含 0.5% 巯基乙醇,0.1% Tween80)100ml 超声提取 12h。离心取上清,使用 60% 饱和度硫酸铵沉淀。8M 尿素赴溶沉淀物,离心,对上清液进行透析过夜,得粗分离样品。

[0023] 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 70kd 的蛋白凝胶条带。将蛋白凝胶使用研钵粉碎后,加入电洗脱仪,使用 7M 尿素 10A 电流洗脱 8h。对收集帽中的富集蛋白进行透析,冻干。纯化的 70kDa 冬虫夏草糖蛋白的 SDS-PAGE 电泳图谱如图 1 所示,制备的冬虫夏草 70kDa 糖蛋白用于免疫原,包被原和试剂盒标准溶液。

[0024] 实施例二 抗冬虫夏草抗体的制备和纯化。

[0025] 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。

[0026] 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 \times HAT 液而得)中,用吸管混匀,铺 24 孔板,每孔加 0.5mL,置于 37 $^{\circ}$ C CO₂ 培养箱中。

[0027] 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。

[0028] 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 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 预热的 PEG 1mL,滴入离心管,静置 1min 后,于 37 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中孵育。

[0029] 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。

[0030] 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冬虫夏草抗体的孔,并可用于进一步的亚克隆。

[0031] 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°C 冻存备用。

[0032] 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 $33 \mu\text{g/mL}$ 腹水,边加边搅拌,加完后继续搅拌 30min, 4°C 下 10000r/min 离心 30min,去沉淀(白蛋白和其它非 IgG 蛋白)。取上清经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔膜过滤,与 1/10 体积 $10 \times \text{PBS}$ 混合($10 \times \text{PBS}$ 由 80gNaCl、2g KCl、11.5g Na_2HPO_4 、2g KH_2PO_4 、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°C ,加硫酸铵至终浓度为 0.277g/mL。搅拌 30min, 4°C 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。得到纯化后的抗冬虫夏草抗体, 4°C 下贮藏备用。

[0033] 实施例三 冬虫夏草标准品的制备。

[0034] 实施例四 冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的构建。

[0035] 预包被酶标板:

[0036] 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。

[0037] 抗冬虫夏草酶标抗体:

[0038] 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 NaIO_4 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°C 过夜。加 $20 \mu\text{l}$ 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 抗冬虫夏草单克隆抗体在 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 NaBH_4 液,混匀,再置 4°C 2 小时。将上述液装入透析袋中,对 0.15M pH7.4PBS 透析, 4°C 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 8000 倍,分装 14mL 至每个试剂盒。

[0039] 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 $10 \mu\text{g}$,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。

[0040] 终止液:为 2M 硫酸溶液,分装 7mL 至每个试剂盒。

[0041] 本发明提供的冬虫夏草免疫检测试剂盒包括:冬虫夏草标准液 7 瓶,浓度分别为 $0 \mu\text{g/mL}$ 、 $2 \mu\text{g/mL}$ 、 $4 \mu\text{g/mL}$ 、 $8 \mu\text{g/mL}$ 、 $16 \mu\text{g/mL}$ 、 $32 \mu\text{g/mL}$ 、 $64 \mu\text{g/mL}$;抗冬虫夏草酶标抗体;包被了冬虫夏草的酶标板,底物显色液,终止液。

[0042] 本发明提供的冬虫夏草免疫检测试剂盒在 4°C 环境下贮藏,可保质 1 年以上。

[0043] 实施例五 冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒对冬虫夏草相关产品进行检测。

[0044] 样品前处理:

[0045] 冬虫夏草及冬虫夏草制品:将样品均质,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显示超过线性范围上限,需再酌情稀释。

[0046] 冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒进行检测:

[0047] 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;

[0048] 2、加系列浓度的冬虫夏草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;

[0049] 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;

[0050] 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;

[0051] 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。

[0052] 根据冬虫夏草标准液的实验数据建立标准曲线,结果如图2所示。标准曲线的回归方程 $R^2 > 0.99$,说明OD值与冬虫夏草浓度具有很好的线性关系。根据标准曲线的线性回归方程。用于定性判断时,样品吸光度值小于标准曲线最低浓度的点,即可判断为冬虫夏草阳性样品。否者为阴性,冬虫夏草酶联免疫检测标准曲线如图2所示。

[0053] 实施例六 冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的特异性。

[0054] 使用冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒对食品中的常见蛋白进行检测,结果如表2所示。从表1可知,冬虫夏草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。

[0055] 表1 冬虫夏草酶联免疫试剂盒与食品中其他蛋白成分的交叉反应

[0056]

	交叉反应率 (%)		交叉反应率(%)
冬虫夏草 70kDa 糖 蛋白	100	夏威夷果水提取物	0
北杏水提取物	0	腰果水提取物	0
南杏全水提取 物	0	小麦粉全水提取物	0
花生全水提取 物	0	马蹄粉全水提取物	0
核桃全水提取 物	0	黑芝麻全水提取物	0
白芸豆全水提 取物	0	大米粉全水提取物	0
红芸豆全水提 取物	0	孜然粉全水提取物	0

[0057]

绿豆全水提取 物	0	黑胡椒全水提取物	0
蚕豆全水提取 物	0	白胡椒全水提取物	0
赤小豆全水提 取物	0	燕麦全水提取物	0
黄豆全水提取 物	0	生鸡蛋全水提取物	0
黑豆全水提取 物	0	熟鸡蛋全水提取物	0
白莲全水提取 物	0	纯牛奶全水提取物	0
猪肉全水提取 物	0	鸡肉全水提取物	0

[0058] 实施例七 冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的重复性。

[0059] 使用冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒对冬虫夏草样品（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，冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒进行样品检测的微孔间差异 <2%，酶标板间差异 <5%，重复性好。

[0060] 表 2 冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒进行样品检测的微孔间差异
[0061]

阴性样本 (0 μ g/mL)	OD	阳性样本 (10 μ g/mL)	OD
孔 1	1.903	孔 1	0.631
孔 2	1.912	孔 2	0.644
孔 3	1.928	孔 3	0.655
孔 4	1.941	孔 4	0.643
孔 5	1.926	孔 5	0.635

[0062]

孔 6	1.932	孔 6	0.638
-----	-------	-----	-------

[0063] 表 3 冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒进行样品检测的酶标板间差异
[0064]

阴性样本 (0 μ g/mL)	OD	阳性样本 (10 μ g/mL)	OD
板 1	1.921	板 1	0.628
板 2	1.942	板 2	0.635
板 3	1.919	板 3	0.645
板 4	1.936	板 4	0.640
板 5	1.925	板 5	0.639
板 6	1.908	板 6	0.619

[0065] 实施例八 冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的基质效应。

[0066] 使用冬虫夏草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 ($p > 0.05$)，说明本发明提供的冬虫夏草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。

[0067] 表 4 常见干扰物对冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒检测结果的影响

[0068]

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

[0069]

0.1%谷氨酸	0	0.1%聚丙烯酸钠	0
---------	---	-----------	---

[0070] 本发明提供的一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒及其制备方法,抗冬虫夏草特征蛋白抗体针对的抗原决定簇耐热,可快速鉴别样品中的冬虫夏草真伪,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。

[0071] 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。

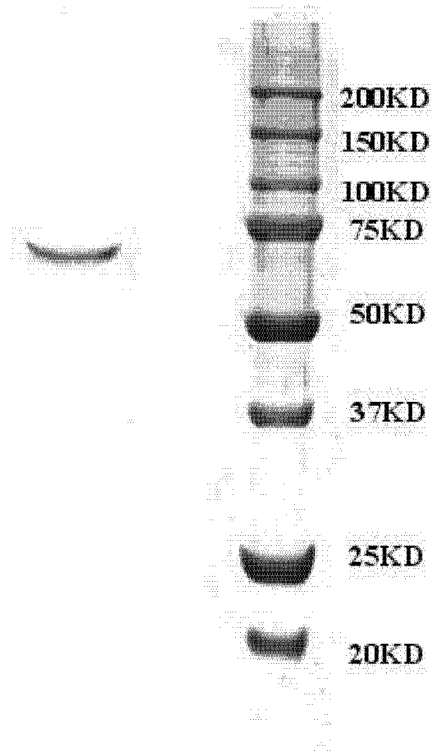


图 1

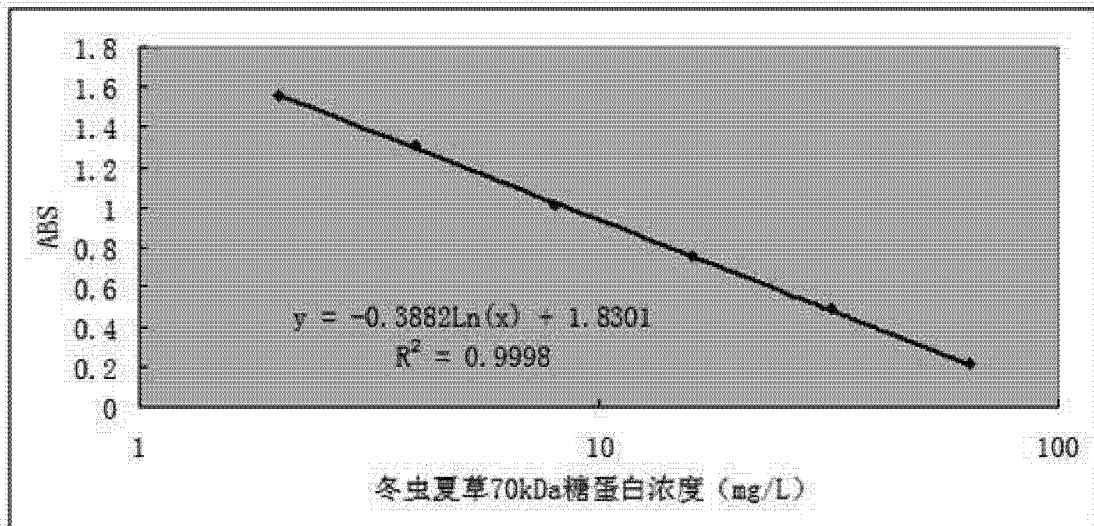


图 2

专利名称(译)	一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN104569406A	公开(公告)日	2015-04-29
申请号	CN201410804874.2	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	赖晓芳 张世伟 赖心田 伍聪 杨国武 李碧芳 冯荣虎 王士峰 马广东 王珍妮		
发明人	赖晓芳 张世伟 赖心田 伍聪 杨国武 李碧芳 冯荣虎 王士峰 马广东 王珍妮		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/577 G01N33/68		
代理人(译)	罗志伟		
其他公开文献	CN104569406B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒的制备方法，包括以下步骤：S1、冬虫夏草70kDa糖蛋白提取分离；S2、单克隆抗体的制备；S3、酶联免疫检测方法的建立及评估；S4、试剂盒的组装。本发明还提供了一种冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒。本发明的有益效果是：可通过冬虫夏草酶联免疫检测试剂盒实现冬虫夏草的真伪鉴定。

