



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107389921 A

(43)申请公布日 2017.11.24

(21)申请号 201710583982.5

(22)申请日 2017.07.18

(71)申请人 福建省水产研究所

地址 361012 福建省厦门市湖里区东渡海山路7号

(72)发明人 葛辉 林克冰 黄种持 朱志煌

(74)专利代理机构 北京天奇智新知识产权代理有限公司 11340

代理人 陈永宁

(51)Int.Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 21/31(2006.01)

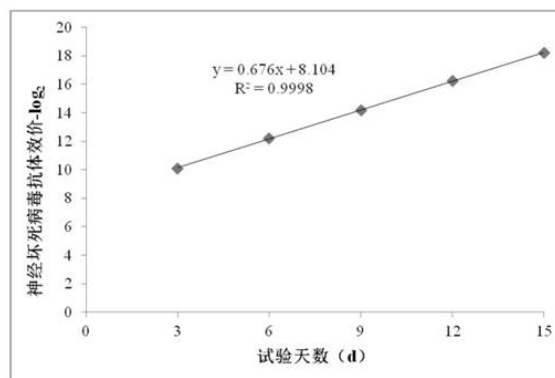
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

一种兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体的制备方法及应用

(57)摘要

本发明公开了一种兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体的制备方法及应用,属于抗体制备技术领域。本发明所述抗体是由HRP与兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体组成的酶抗体结合物,其可与石斑鱼血清免疫球蛋白特异性结合,并可使HRP的底物显色。本发明制备的HRP标记抗体纯度高、酶活性高、结合物标记率适宜,进行ELISA试验的稀释度大,而且灵敏度高;可用于检测石斑鱼的病毒性疾病、寄生虫性疾病和细菌性疾病。



1. 一种兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体,其特征在于:它是由HRP与兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体组成的酶抗体结合物,其可与石斑鱼血清免疫球蛋白特异性结合,并可使HRP的底物显色。

2. 根据权利要求1所述兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体,其特征在于:所述石斑鱼为斜带石斑鱼。

3. 根据权利要求1或2所述兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记的抗体,其特征在于:所述HRP与兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体组成的酶抗体结合物是用过碘酸钠对HRP进行氧化后,加入纯化的兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体进行偶联,偶联完成后加入保护剂并用硼氢化钠进行还原。

4. 根据权利要求3所述兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记的抗体,其特征在于:所述HRP与兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体组成的酶抗体结合物的制备方法,如下:

a. 取6mg HRP溶于1mL蒸馏水中,加入0.05M过碘酸钠溶液1mL,混匀后,4℃冰箱静置避光25min;

b. 取出后加入0.2mol/L乙二醇水溶液0.8mL,于室温放置25min后,加入含15mg兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体的水溶液5mL,混匀后透析过夜;

c. 向透析后的溶液中加入7mg/mL NaBH₄溶液0.5mL,混匀置4℃冰箱2h;

d. 取出后加等体积饱和硫酸铵溶液,4℃静置1h后,3000r/min低温离心30min,弃上清;

e. 将沉淀用0.02mol/L pH7.4的PBS溶解后,装入透析袋中,放入0.02mol/L pH7.4的PBS中,4℃透析;

f. 透析后,于10000r/min离心30min,收集上清液即得抗体的酶结合物,加入等量甘油,混匀,分装,保存于-20℃。

5. 根据权利要求3或4所述兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记的抗体,其特征在于:所述兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体的制备方法,步骤如下:

1) 石斑鱼血清免疫球蛋白纯化

a. 杀鱼取血,静置取血清,向血清中加入硫酸铵溶液,使其终浓度为10%,10000r/min离心5min,弃沉淀;

b. 向上述离心后的溶液中加入硫酸铵溶液,使其终浓度为30%,10000r/min离心5min,弃上清;

c. 将上述沉淀用PBS缓冲液溶解,Bradford法测定蛋白浓度;

2) 石斑鱼免疫球蛋白兔抗体的制备与纯化

a. 将2mg纯化的石斑鱼血清免疫球蛋白加入佐剂系统混匀,用于免疫兔,每两次免疫之间间隔2周;第4次免疫后,耳静脉取血,用ELISA定性测定,测定效价达到40000以上,杀兔取全血;

b. 将免疫后的兔血静置后取血清,血清于20000g离心30min,取上清加入proteinA填料中进行亲和吸附,并用PBS缓冲液漂洗两次,之后用pH为2.5的甘氨酸洗脱,立即用1.5M pH为8.0的Tris缓冲液中和洗脱液的pH至7.4;最后在4℃下用PBS缓冲液透析中和后的洗脱液,透析后的溶液即为兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白的抗体溶液。

6. 一种兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体的应用,其特征在于:用于检测石斑鱼

的病毒性疾病、寄生虫性疾病和细菌性疾病。

7. 根据权利要求6所述兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体的应用, 其特征在于: 所述病毒性疾病为神经坏死病毒感染; 所述寄生虫性疾病为刺激隐核虫感染; 所述细菌性疾病为副溶血弧菌感染。

8. 一种检测石斑鱼病毒性疾病、寄生虫性疾病和细菌性疾病的试剂盒, 其特征在于: 包含权利要求5所述的兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体。

9. 根据权利要求8所述检测石斑鱼神经坏死病毒的试剂盒, 其特征在于: 还包括抗原; 所述抗原为引起石斑鱼病毒性疾病、寄生虫性疾病和细菌性疾病的病原微生物蛋白。

10. 根据权利要求8或9所述检测石斑鱼神经坏死病毒的试剂盒, 其特征在于: 检测方法如下:

a. 将抗原用PBS缓冲液稀释至 $5\mu\text{g/mL}$ 后, 加入elisa板中, 37°C 孵育2h, 或 4°C 包被过夜; 自来水洗板三次;

b. 倒掉elisa板中的抗原溶液, 加入封闭液封闭, 湿盒中 37°C 孵育1h;

c. 倒掉封闭液加入待测鱼血清, 湿盒中 37°C 孵育1h, 自来水洗板6次;

d. 加入1:2000稀释的兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体, 湿盒中 37°C 孵育1h;

e. 倒掉兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体溶液, 自来水洗板6次后, 加入显色液显色, 室温避光静置15min;

f. 加入2M的 H_2SO_4 终止显色, 在酶标仪中读取492nm波长下的OD值。

一种兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体的制备方法及应用

技术领域

[0001] 本发明属于抗体制备技术领域,具体涉及一种兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体的制备方法及应用。

背景技术

[0002] 石斑鱼是目前海水养殖鱼类中的高档优质鱼类。随着我国石斑鱼人工育苗技术的成熟和斜带石斑鱼苗种产业化大规模生产,成为重要的海水鱼类养殖品种。但是近几年病害频发,给石斑鱼的养殖产业造成巨大的经济损失。

[0003] 病毒、寄生虫和细菌感染对仔鱼和幼鱼危害极大,给海水鱼类养殖业造成巨大的损失。

[0004] 目前,通常采用PCR法检测石斑鱼病毒、寄生虫和细菌感染,PCR法是通过检测鱼体脑和眼睛中病毒基因的表达,来鉴定病害的侵染;然而,在石斑鱼的育苗中,亲鱼作为育苗的主体,不可能将亲鱼杀死再通过PCR法检测;因此,亟需一种保证鱼体正常生命力的基础上,检测病害的方法。

发明内容

[0005] 为了解决现有技术中存在的问题,本发明的技术方案是:

[0006] 一种兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体,它是由HRP与兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体组成的酶抗体结合物,其可与石斑鱼血清免疫球蛋白特异性结合,并可使HRP的底物显色。

[0007] 在上述方案的基础上,所述石斑鱼为斜带石斑鱼。

[0008] 在上述方案的基础上,所述HRP与兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体组成的酶抗体结合物是用过碘酸钠对HRP进行氧化后,加入纯化的鱼免疫球蛋白的抗体进行偶联,偶联完成后加入保护剂并用硼氢化钠进行还原。

[0009] 在上述方案的基础上,所述HRP与兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体组成的酶抗体结合物的制备方法,步骤如下:

[0010] a.取6mg HRP溶于1mL蒸馏水中,0.05M过碘酸钠溶液1mL,混匀后,4℃冰箱静置避光25min;

[0011] b.取出后加入0.2mol/L乙二醇水溶液0.8mL,于室温放置25min后,加入含15mg兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体的水溶液5mL,混匀后透析过夜;

[0012] c.吸出加7mg/mL NaBH₄溶液0.5mL,混匀置4℃冰箱2h;

[0013] d.加等体积饱和硫酸铵溶液,4℃静置1h后,3000r/min低温离心30min,弃上清;

[0014] e.将沉淀用0.02mol/L pH7.4的PBS溶解后,装入透析袋中,放入0.02mol/L pH7.4的磷酸盐缓冲溶液(PBS)中,4℃透析;

[0015] f.透析后,于10000r/min离心30min,收集上清液即得抗体的酶结合物,加入等量

甘油,混匀,分装,保存于-20℃。

[0016] 在上述方案的基础上,所述兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体的制备方法,步骤如下:

[0017] 1) 石斑鱼血清免疫球蛋白纯化

[0018] a. 杀鱼取血,静置取血清,向血清中加入硫酸铵溶液,使其终浓度为10%,10000r/min离心5min,弃沉淀;

[0019] b. 向上述离心后的溶液中加入硫酸铵溶液,使其终浓度为30%,10000r/min离心5min,弃上清;

[0020] c. 将上述沉淀用PBS缓冲液溶解,Bradford法测定蛋白浓度;

[0021] 2) 石斑鱼免疫球蛋白兔抗体的制备与纯化

[0022] a. 将2mg纯化的鱼免疫球蛋白加入佐剂系统混匀,用于免疫兔,每两次免疫之间间隔2周;第4次免疫后,耳静脉取血,用ELISA定性测定,测定效价达到40000以上,杀兔取全血;

[0023] b. 将免疫后的兔血静置后取血清,血清于20000g离心30min,取上清加入proteinA填料中进行亲和吸附,并用PBS缓冲液漂洗两次,之后用pH为2.5的甘氨酸洗脱,立即用1.5M pH为8.0的Tris缓冲液中和洗脱液的pH至7.4;最后在4℃下用PBS缓冲液透析中和后的洗脱液,透析后的溶液即为鱼血清免疫球蛋白的抗体溶液。

[0024] 一种兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体的应用,用于检测石斑鱼的病毒性疾病、寄生虫性疾病和细菌性疾病。

[0025] 在上述方案的基础上,所述病毒性疾病为神经坏死病毒感染;所述寄生虫性疾病为刺激隐核虫感染;所述细菌性疾病为副溶血弧菌感染。

[0026] 一种检测石斑鱼神经坏死病毒的试剂盒,包含上述兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体。

[0027] 在上述方案的基础上,所述检测石斑鱼神经坏死病毒的试剂盒,还包括抗原;所述抗原为引起石斑鱼病毒性疾病、寄生虫性疾病和细菌性疾病的病原微生物蛋白。

[0028] 在上述方案的基础上,检测方法如下:

[0029] a. 将抗原用PBS缓冲液稀释至5μg/mL后,加入elisa板中,37℃孵育2h,或4℃包被过夜;自来水洗板三次;

[0030] b. 倒掉elisa板中的抗原溶液,加入封闭液封闭,湿盒中37℃孵育1h;

[0031] c. 倒掉封闭液加入待测鱼血清,湿盒中37℃孵育1h,自来水洗板6次;

[0032] d. 加入1:2000稀释的兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体,湿盒中37℃孵育1h;

[0033] e. 倒掉兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体溶液,自来水洗板6次后,加入显色液显色,室温避光静置15min;

[0034] f. 加入2M的H₂SO₄终止显色,在酶标仪中读取492nm波长下的OD值。

[0035] 所述斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)为石斑鱼属,来源于厦门小嶝水产科技有限公司水产养殖场。

[0036] 本发明的有益效果:

[0037] 本发明制备的HRP标记抗体纯度高、酶活性高、结合物标记率适宜,进行ELISA试验

的稀释度大,而且灵敏度高。

[0038] 本发明制备的标记抗体可用于石斑鱼类诸多病害的监控与检测,其优点主要有1. 具有单克隆抗体不具有的优点,可以检测石斑鱼多种病原的感染,如寄生虫感染、细菌感染及病毒病的感染,而单克隆抗体只能针对一种病原进行检测;2. 不仅能够对病原的感染进行定性(是否感染),而且还可以大致确定病原感染的程度,如感染6天和15天后其检测效价不同,效价越高,说明病原感染越严重。3. 可以针对某种病原的感染做标准曲线,然后检测,可以对相关疾病的发生发展进行实时监控。

附图说明

[0039] 图1神经坏死病毒感染的标准曲线;

[0040] 图2刺激隐核虫感染的标准曲线;

[0041] 图3副溶血弧菌感染的标准曲线。

具体实施方式

[0042] 下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0043] 实施例1

[0044] 1. 兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体的制备

[0045] 1) 石斑鱼血清免疫球蛋白纯化

[0046] a. 杀鱼取血,静置取血清,向血清中加入硫酸铵溶液,使其终浓度为10%,10000r/min离心5min,弃沉淀;

[0047] b. 向上述离心后的溶液中加入硫酸铵溶液,使其终浓度为30%,10000r/min离心5min,弃上清;

[0048] c. 将上述沉淀用PBS缓冲液溶解,Bradford法测定蛋白浓度;

[0049] 2) 石斑鱼免疫球蛋白兔抗体的制备与纯化

[0050] a. 将2mg纯化的鱼免疫球蛋白加入佐剂系统混匀,用于免疫兔,每两次免疫之间间隔2周;第4次免疫后,耳静脉取血,用ELISA定性测定,测定效价达到40000以上,杀兔取全血;

[0051] b. 将免疫后的兔血静置后取血清,血清于20000g离心30min,取上清加入proteinA填料中进行亲和吸附,并用PBS缓冲液漂洗两次,之后用pH为2.5的甘氨酸洗脱,立即用1.5M pH为8.0的Tris缓冲液中和洗脱液的pH至7.4;最后在4℃下用PBS缓冲液透析中和后的洗脱液,透析后的溶液即为鱼血清免疫球蛋白的抗体溶液。

[0052] 所述斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)为石斑鱼属,来源于厦门小嶝水产科技有限公司水产养殖场。

[0053] 2. 兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体的HRP标记

[0054] a. 取6mg HRP溶于1mL蒸馏水中,0.05M过碘酸钠溶液1mL,混匀后,4℃冰箱静置避光25min;

[0055] b.取出后加入0.2mol/L乙二醇水溶液0.8mL,于室温放置25min后,加入含15mg兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体的水溶液5mL,混匀后透析过夜;

[0056] c.吸出加7mg/mL NaBH_4 溶液0.5mL,混匀置4℃冰箱2h;

[0057] d.加等体积饱和硫酸铵溶液,4℃静置1h后,3 000r/min低温离心30min,弃上清;

[0058] e.将沉淀用0.02mol/L pH7.4的PBS溶解后,装入透析袋中,放入0.02mol/L pH7.4的磷酸盐缓冲溶液(PBS)中,4℃透析,

[0059] f.透析后,于10 000r/min离心30min,收集上清液即得抗体的酶结合物,加入等量甘油,混匀,分装,保存于-20℃。

[0060] 3.HRP标记兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体的质量鉴定

[0061] 使用酶标仪,检测HRP标记兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体在280nm和403nm处的OD值;计算酶含量、IgG含量、克分子比、结合物标记率计算公式如下:

[0062] 酶含量(mg/mL) = $\text{OD}_{403\text{nm}} \times 0.4\text{mg/mL}$

[0063] IgG量(mg/mL) = $(\text{OD}_{280\text{nm}} - \text{OD}_{403\text{nm}} \times 0.3) \times 0.62\text{mg/L}$

[0064] 克分子比值 = $(\text{酶含量} / \text{IgG量}) \times 4$

[0065] 结合物标记率 = $(\text{OD}_{403\text{nm}} / \text{OD}_{280\text{nm}}) \times 100\%$

[0066] 利用邻联茴香胺法测定标记物的酶活性,直接ELISA法测定最佳使用浓度。

[0067] 当结合物的标记率在30-60%之间,克分子比在1.0-2.0,酶活性>1000U/mg、ELISA时的稀释比>1:1000时符合标准。

[0068] 利用酶标仪测得 OD_{280} 和 OD_{403} 分别为2.01和1.12;根据上述公式计算:

[0069] 酶含量为0.448mg/L、IgG含量为1.038mg/L、克分子比为1.726、结合物标记率为55.72%;酶活性>1000U/mg、ELISA时的稀释比为1:2000。

[0070] 实施例2

[0071] 一种检测石斑鱼神经坏死病毒的方法

[0072] 一种检测石斑鱼神经坏死病毒的试剂盒,包含上述兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体;还包括抗原,所述抗原为石斑鱼神经坏死病毒Coat蛋白。

[0073] 标准曲线的制备:

[0074] 选择大小为3-4cm的斜带石斑鱼幼体100尾,随机分为两组,每组50条,试验组注射 5×10^6 copies/ μL 的神经坏死病毒30 μL ,对照组注射等量灭菌的生理盐水。分别于试验的第3、6、9、12和15天,每组随机取6条鱼抽血检测血清中神经坏死病毒抗体的效价。所述神经坏死病毒为RGNNV血清型。

[0075] 检测方法如下:

[0076] a.将抗原用PBS缓冲液稀释至5 $\mu\text{g/mL}$ 后,加入elisa板中,37℃孵育2h,或4℃包被过夜;自来水洗板三次;

[0077] b.倒掉elisa板中的抗原溶液,加入封闭液封闭,湿盒中37℃孵育1h;

[0078] c.倒掉封闭液加入待测鱼血清,湿盒中37℃孵育1h,自来水洗板6次;

[0079] d.加入1:2000稀释的兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体,湿盒中37℃孵育1h;

[0080] e.倒掉兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体溶液,自来水洗板6次后,加入显色液显色,室温避光静置15min;

[0081] f.加入2M的H₂SO₄终止显色,在酶标仪中读取492nm波长下的OD值。

[0082] 以血清中神经坏死病毒抗体效价的对数值(log₂)为纵坐标,时间为横坐标,做出标准曲线如图1所示。

[0083] 由图1可看出,随着时间的增长,斜带石斑鱼血清中神经坏死病毒抗体含量逐渐升高,呈线性关系,线性公式为 $y=0.676x+8.104$, $R^2=0.9998$ 拟合度较好,可作为标准曲线用于定量分析,确定病毒感染程度。

[0084] 实施例3

[0085] 一种检测石斑鱼刺激隐核虫病的方法。

[0086] 一种检测石斑鱼刺激隐核虫病的试剂盒,包含上述兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体;还包括抗原,所述抗原为刺激隐核虫幼虫虫体总蛋白。

[0087] 刺激隐核虫幼虫虫体总蛋白的提取

[0088] 根据全蛋白提取试剂盒(购自北京索来宝科技有限公司,货号BC3640)说明书提取刺激隐核虫幼虫虫体总蛋白。

[0089] 标准曲线的制备:

[0090] 选择大小为4-6cm的斜带石斑鱼幼体120尾,随机分为两组,每组60尾,每20尾放入装有40L曝气海水的缸中;试验组浸泡 3×10^3 个/尾鱼的刺激隐核虫幼虫,对照组不做任何处理,其他条件一致。分别于试验的第3、6、9、12和15天,每组随机取6条鱼抽血检测血清中刺激隐核虫虫体总蛋白抗体效价。

[0091] 检测方法同实施例2。

[0092] 以血清中刺激隐核虫虫体总蛋白抗体效价的对数值(log₂)为纵坐标,时间为横坐标,做出标准曲线如图2所示。

[0093] 由图2可看出,随着时间的增长,斜带石斑鱼血清中刺激隐核虫虫体总蛋白抗体含量逐渐升高,呈线性关系,线性公式为 $y=0.8267x+5.214$, $R^2=0.9991$ 拟合度较好,可作为标准曲线用于定量分析,确定刺激隐核虫的感染程度。

[0094] 实施例4

[0095] 一种检测石斑鱼副溶血弧菌感染的方法。

[0096] 一种检测石斑鱼副溶血弧菌感染的试剂盒,包含上述兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体;还包括抗原,所述抗原为副溶血弧菌菌体总蛋白。

[0097] 副溶血弧菌菌体总蛋白的提取

[0098] 根据全蛋白提取试剂盒(购自北京索来宝科技有限公司,货号BC3640)说明书提取副溶血弧菌菌体总蛋白。

[0099] 标准曲线的制备:

[0100] 选择大小为4-6cm的斜带石斑鱼幼体100尾,随机分为两组,每组50条,试验组注射 10^8 cfu的副溶血弧菌(购自中国工业微生物菌种保藏管理中心编号CICC 23924)50μL,对照组注射等量灭菌的生理盐水。分别于试验的第3、6、9、12和15天,每组随机取6条鱼抽血检测血清中副溶血弧菌菌体总蛋白抗体效价。

[0101] 检测方法同实施例2。

[0102] 以血清中副溶血弧菌菌体总蛋白抗体效价的对数值(log₂)为纵坐标,时间为横坐标,做出标准曲线如图3所示。

[0103] 由图3可看出,随着时间的增长,斜带石斑鱼血清中副溶血弧菌菌体总蛋白抗体含量逐渐升高,呈线性关系,线性公式为 $y=0.8613x+6.628$, $R^2=0.9989$ 拟合度较好,可作为标准曲线用于定量分析,确定副溶血弧菌的感染程度。

[0104] 以上所述,仅是本发明的较佳实施例而已,并非是对本发明作其它形式的限制,任何熟悉本专业的技术人员可能利用上述揭示的技术内容加以变更或改型为等同变化的等效实施例。但是凡是未脱离本发明技术方案内容,依据本发明的技术实质对以上实施例所作的任何简单修改、等同变化与改型,仍属于本发明技术方案的保护范围。

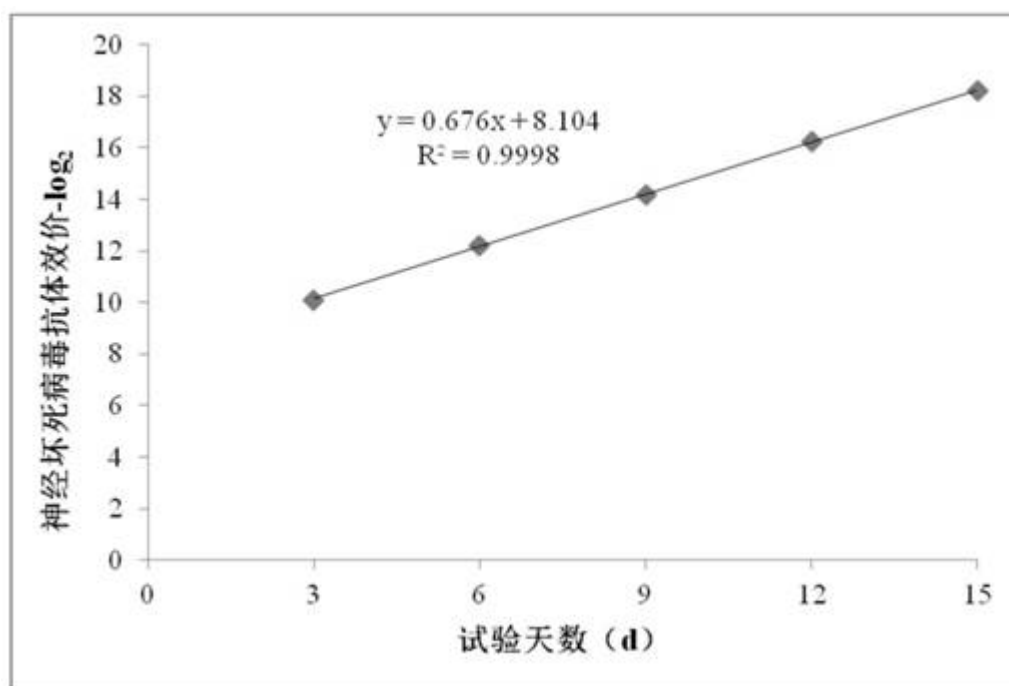


图1

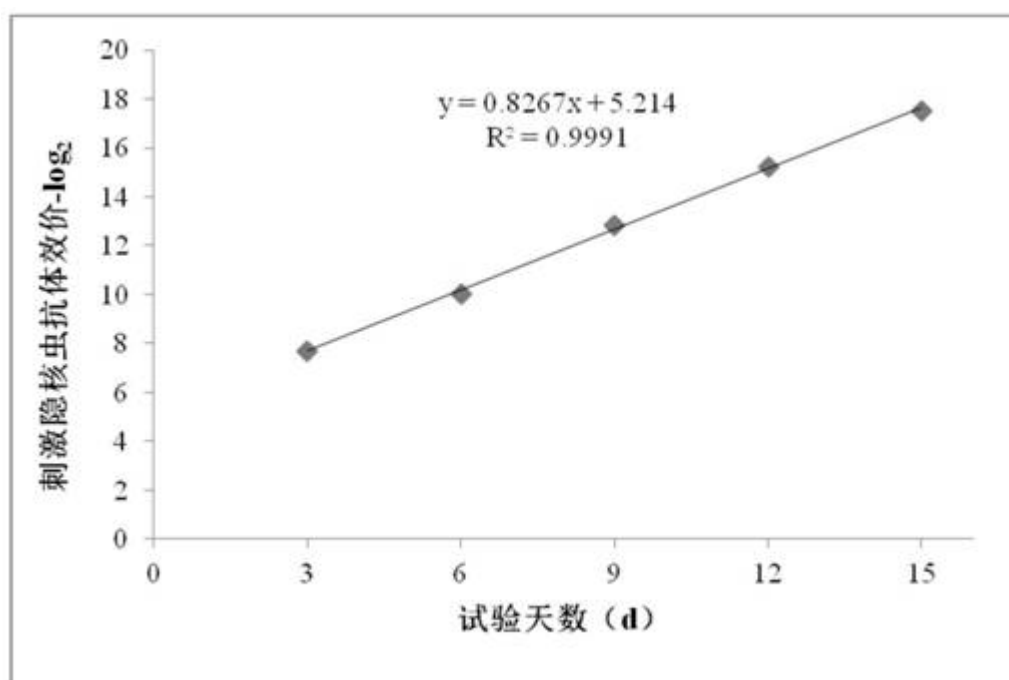


图2

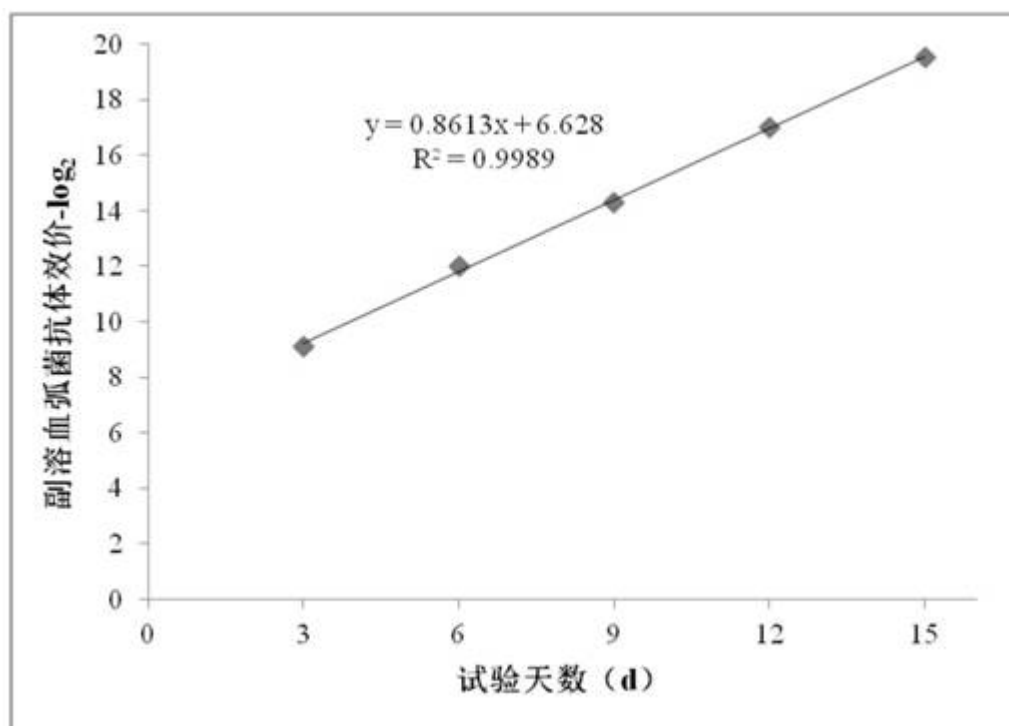


图3

专利名称(译)	一种兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体的制备方法及应用		
公开(公告)号	CN107389921A	公开(公告)日	2017-11-24
申请号	CN2017110583982.5	申请日	2017-07-18
[标]申请(专利权)人(译)	福建省水产研究所		
申请(专利权)人(译)	福建省水产研究所		
当前申请(专利权)人(译)	福建省水产研究所		
[标]发明人	葛辉 林克冰 黄种持 朱志煌		
发明人	葛辉 林克冰 黄种持 朱志煌		
IPC分类号	G01N33/535 G01N21/31		
CPC分类号	G01N33/535 G01N21/31		
代理人(译)	陈永宁		
其他公开文献	CN107389921B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白HRP标记抗体的制备方法及应用，属于抗体制备技术领域。本发明所述抗体是由HRP与兔抗石斑鱼血清免疫球蛋白抗体组成的酶抗体结合物，其可与石斑鱼血清免疫球蛋白特异性结合，并可使HRP的底物显色。本发明制备的HRP标记抗体纯度高、酶活性高、结合物标记率适宜，进行ELISA试验的稀释度大，而且灵敏度高；可用于检测石斑鱼的病毒性疾病、寄生虫性疾病和细菌性疾病。

