



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101949933 A

(43) 申请公布日 2011. 01. 19

(21) 申请号 201010262013. 8

(22) 申请日 2010. 08. 25

(71) 申请人 南开大学

地址 300071 天津市南开区卫津路 94 号

(72) 发明人 郝日沫 王亚宾 孟萌 徐静

张元阳 张太昌 薛虎寅

(74) 专利代理机构 天津佳盟知识产权代理有限公司 12002

代理人 侯力

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/535(2006. 01)

G01N 21/76(2006. 01)

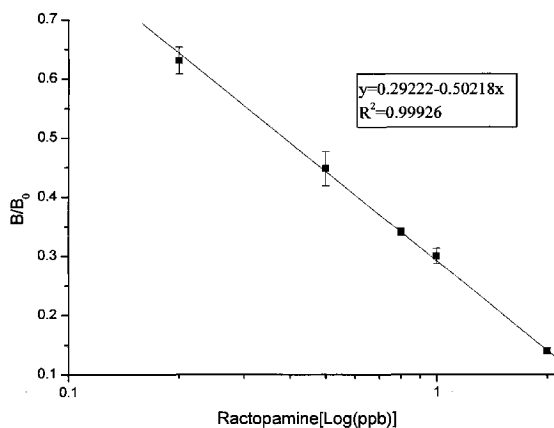
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 2 页

(54) 发明名称

利用单抗检测莱克多巴胺残留的间接化学发光酶联免疫试剂盒

(57) 摘要

一种利用单抗检测莱克多巴胺残留的间接化学发光酶联免疫试剂盒。包括各孔包被有以莱克多巴胺与牛血清蛋白偶合制成的包被抗原的酶标板以及莱克多巴胺系列标准溶液、酶标羊抗鼠抗体溶液、莱克多巴胺抗体溶液、发光溶液、洗涤溶液、包被溶液及封闭溶液。本发明的化学发光酶联免疫检测试剂盒利用单克隆抗体进行化学发光酶联免疫检测， $IC_{50} = 0.6\text{ng/ml}$ 。在鸡肉样品中最低检测限为 0.10ng/ml ，批间批内变异系数 $< 13\%$ ，回收率为 $88 \sim 114\%$ 。本发明应用单克隆抗体并将化学发光与间接酶联免疫法结合，建立了一种检测莱克多巴胺残留的新的体系，具有比普通的 ELISA 更高的灵敏度和特异性，能够在动物性食品（如奶、动物组织、尿样）中的莱克多巴胺残留检测中发挥重要作用。



1. 一种利用单抗检测莱克多巴胺残留的间接化学发光酶联免疫试剂盒,其特征是该试剂盒由下列试剂组成:

- A. 各孔包被有包被抗原即莱克多巴胺与载体蛋白的偶联物的酶标板 1 块;
- B. 莱克多巴胺标准溶液:浓度分别为 0.01ng/mL、0.05ng/mL、0.1ng/mL、0.2ng/mL、0.5ng/mL、0.8ng/mL、1ng/mL、2ng/mL、5ng/mL 各一瓶;
- C. 酶标羊抗鼠抗体溶液:辣根过氧化物酶-羊抗鼠 IgG 原液,使用时用洗涤溶液配制成 1 : 2000 的工作浓度;
- D. 莱克多巴胺抗体溶液:人工免疫抗原免疫动物制得的单克隆抗体,使用时用洗涤溶液稀释成 1 : 8000 的工作浓度;
- E. 发光溶液:0.01M 鲁米诺、pH = 8.8 的 0.001M 对甲苯酚的三(羟甲基)氨基甲烷溶液和体积比 3/10000 的 H₂O₂ 的混合液;
- F. 洗涤溶液:指含有吐温-20 体积分数 0.05% 的 pH = 7.5、0.1mol/L 的磷酸盐缓冲液;
- G. 包被溶液:1.59g 碳酸钠和 2.53g 碳酸氢钠溶于 1L 水中,调节 pH 为 9.5;
- H. 封闭溶液:由 10g OVA 溶于 1L 洗涤溶液中,再加入质量比为 0.05% 的 NaN₃ 配制而成。

2. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于:所述偶联物的载体蛋白为分子量范围是 6.7KDa ~ 6.8KDa 的牛血清蛋白。

3. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于:包被酶标板的包被抗原由莱克多巴胺与牛血清蛋白偶合制成,制备抗体的人工免疫原由莱克多巴胺与牛血清蛋白偶合制成。

4. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于:所述包被抗原浓度由纯化后浓度为 15mg/ml 的抗原稀释 1 : 2000。

5. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于:所述莱克多巴胺抗体是由莱克多巴胺与分子量范围是 6.7KDa ~ 6.8KDa 的牛血清蛋白偶合制成的人工免疫原免疫动物制得的单克隆抗体。

6. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于:所述检测方法是将化学发光与间接酶联免疫法结合的一种新方法。

利用单抗检测莱克多巴胺残留的间接化学发光酶联免疫试剂盒

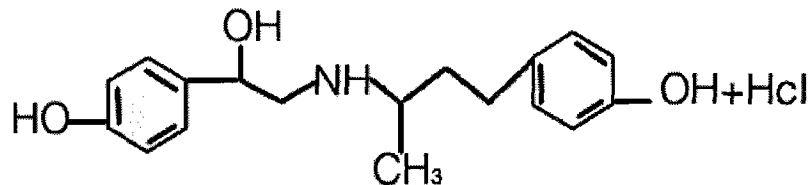
【技术领域】

[0001] 本发明涉及一种酶联免疫试剂盒,尤其涉及一种莱克多巴胺的化学发光酶联免疫检测试剂盒。

【背景技术】

[0002] 莱克多巴胺 (Ractopamine, RAC) 是一种苯乙醇胺类 β_2 -肾上腺素受体激动剂,可选择性激动平滑肌的 β_2 受体,临床上主要用于治疗支气管哮喘,充血性心力衰竭症和肌肉萎缩症等,莱克多巴胺的结构式如下:

[0003]



[0004] 有研究表明,动物日粮中莱克多巴胺的添加量为临床治疗量的 5-10 倍时,动物体内的营养成分由脂肪向肌肉转移,表现出营养再分配效应,进而调控动物体营养代谢路径,增强脂肪分解代谢,促进蛋白质合成,显著增加胴体瘦肉率,提高饲料报酬率,对猪的效应尤为明显。

[0005] 由于莱克多巴胺在动物脏器中残留,并通过食物链进入人体,人体累计摄入超过一定值或食用了高残留的内脏组织,易出现副作用。表现为骨骼肌收缩增加,破坏快缩肌纤维与慢缩肌纤维间的融合,引发肌肉震颤,四肢和面部肌肉尤为明显等症状。其他中毒症状包括心动过速、心率失常、腹痛、肌肉疼痛、恶心和眩晕等。除美国 FDA 外,世界各国均禁止将莱克多巴胺用于生猪生产,尤其近年来,随着我国政府对非法使用克伦特罗打击力度的加大,莱克多巴胺的非法使用日趋严重。

[0006] 莱克多巴胺残留传统的检测方法有高效液相色谱法 (HPLC),微生物法,气/质联用分析法 (GC-MS),液/质联用分析法 (LC-MS) 等。虽然这些方法测定结果很精确,但由于存在需要昂贵的仪器设备、熟练的专业人员、烦琐费时、周期长、费用高、不能现场操作等缺陷,不能满足实际检测工作的需求。ELISA 酶联免疫技术具有敏感、特异、快速、简便的特点,近年来已被应用于莱克多巴胺残留检测,Haasnootet 等建立了阻断 ELISA 方法,Shelver 等建立了间接竞争 ELISA 方法,国内于洪侠等对莱克多巴胺多克隆抗体、曲勍等对莱克多巴胺单克隆抗体进行了研究,但有关化学发光酶联免疫 (CL-ELISA) 检测方法的建立尚未见报道。

【发明内容】

[0007] 本发明的目的是克服现有技术存在的上述不足,提供一种利用单抗检测莱克多巴胺残留的间接化学发光酶联免疫试剂盒。该试剂盒具有检测灵敏度高、应用灵活、方便的特

点。

[0008] 本发明提供的利用单抗检测莱克多巴胺残留的间接化学发光酶联免疫试剂盒,包括盒体,设在盒体内的酶标板和试剂;该试剂盒由下列试剂组成:

[0009] A、各孔包被有包被抗原即莱克多巴胺与载体蛋白的偶联物的酶标板 1 块;

[0010] B、莱克多巴胺标准溶液:浓度分别为 0.01ng/mL、0.05ng/mL、0.1ng/mL、0.2ng/mL、0.5ng/mL、0.8ng/mL、1ng/mL、2ng/mL、5ng/mL 各一瓶;

[0011] C、酶标羊抗鼠抗体溶液:辣根过氧化物酶-羊抗鼠 IgG 原液,使用时用洗涤溶液配制成 1 : 2000 的工作浓度;

[0012] D、莱克多巴胺抗体溶液:人工免疫抗原免疫动物制得的单克隆抗体,使用时用洗涤溶液稀释成 1 : 8000 的工作浓度;

[0013] E、发光溶液:0.01M 鲁米诺、pH = 8.8 的 0.001M 对甲苯酚的三(羟甲基)氨基甲烷溶液和体积比 3/10000 的 H₂O₂ 的混合液;

[0014] F、洗涤溶液:指含有吐温-20 体积分数 0.05% 的 pH = 7.5、0.1mol/L 的磷酸盐缓冲液;

[0015] G、包被溶液:1.59g 碳酸钠和 2.53g 碳酸氢钠溶于 1L 水中,调节 pH 为 9.5;

[0016] H、封闭溶液:由 10g OVA 溶于 1L 洗涤溶液中,再加入质量比为 0.05% 的 NaN₃ 配制而成。

[0017] 上述检测莱克多巴胺残留的酶联免疫试剂盒中:

[0018] 所述偶联物的载体蛋白为分子量范围是 6.7KDa ~ 6.8KDa 的牛血清蛋白。

[0019] 包被酶标板的包被抗原是采用水溶性碳化亚二胺法(EDC)由莱克多巴胺与牛血清蛋白偶合制成,纯化后的抗原浓度为 15mg/ml,优选包被浓度为稀释 1 : 2000。制备抗体的人工免疫原同样由莱克多巴胺与牛血清蛋白偶合制成。

[0020] 所述酶标羊抗鼠抗体为辣根过氧化物酶-羊抗鼠 IgG 原液,其稀释倍数优选为 1 : 2000。

[0021] 所述莱克多巴胺抗体是由莱克多巴胺与分子量范围是 6.7KDa ~ 6.8KDa 的牛血清蛋白偶合制成的人工免疫原免疫动物制得的单克隆抗体,其浓度为 5.9ng/ml。其工作浓度优选为稀释 1 : 8000。

[0022] 本发明中包被莱克多巴胺抗原的酶标板的制备步骤:

[0023] (1) 微孔板采用 RAC-BSA 在设定的包被溶液中,以设定的浓度,在 4℃ 中过夜反应包被或 37℃ 下包被 2h。

[0024] 本发明中微孔板中所包被的 RAC-OVA 在碱性环境下可以很好的结合在微孔板塑料表面上,可以经受多次洗板,采用的包被蛋白浓度是原浓度稀释 2000 倍。

[0025] (2) 倾去包被液,洗涤三次,拍干。

[0026] (3) 包被好的微孔板可以用含封闭溶液封闭,封闭液中惰性蛋白优选 OVA,需加入 NaN₃ 防止变质。37℃ 下,封闭 1.5-2h。

[0027] (4) 倾去封闭液,洗涤三次,拍干。待干燥后,用铝膜真空密闭保存。

[0028] 本发明所述酶标羊抗鼠抗体的制备:

[0029] (1) 羊抗鼠抗体的制备:以鼠源性抗体为免疫原对无病原山羊进行免疫,得到羊抗鼠抗体。

[0030] (2) 将得到的羊抗鼠抗体与辣根过氧化物酶,采用过碘酸钠法进行连接。

[0031] 本发明中涉及的酶标羊抗兔抗体溶液优选洗涤溶液配制的浓度为 1 : 2000。

[0032] 本发明中莱克多巴胺抗体溶液、酶标羊抗鼠抗体溶液浓度是决定本发明中莱克多巴胺酶联免疫测试试剂盒测定范围及灵敏度的重要因素。

[0033] 本发明的优点和积极效果

[0034] 本发明应用化学发光与酶联免疫结合,成功的合成了免疫原,得到了莱克多巴胺的单克隆抗体,建立了一种检测莱克多巴胺残留的新的试剂盒。由于应用的是单克隆抗体和发光法,化学发光酶联免疫法具有比普通的 ELISA 更高的灵敏度和特异性。具有灵敏度高、简便快速、准确的特点,与传统的比色 ELISA 法比较,灵敏度可以提高一个数量级。能够在检测动物性食品(如奶、动物组织、尿样)中莱克多巴胺的残留发挥重要作用。

【附图说明】

[0035] 图 1 为本发明的莱克多巴胺包被抗原的合成方案。

[0036] 图 2 为本发明莱克多巴胺抗体的抑制率曲线。

[0037] 图 3 为本发明的莱克多巴胺工作曲线。

【具体实施方式】

[0038] 实施例 1、检测莱克多巴胺试剂盒的组分及制备过程

[0039] 1、检测莱克多巴胺的化学发光酶联免疫试剂盒的组成

[0040] A、包被有包被抗原(莱克多巴胺与载体蛋白的偶联物)的固相载体(酶标板);

[0041] B、莱克多巴胺标准溶液:0.01ng/mL、0.05ng/mL、0.1ng/mL、1ng/mL、5ng/mL、10ng/mL。

[0042] C、酶标羊抗鼠抗体溶液:酶标羊抗鼠抗体为辣根过氧化物酶-羊抗兔 IgG 原液,装入,使用时用洗涤溶液配制成 1 : 2000 的工作浓度。

[0043] D、莱克多巴胺抗体溶液:用人工免疫抗原免疫动物制备所得的单克隆抗体,将所得莱克多巴胺抗体用洗涤溶液稀释成 1 : 8000 工作浓度。

[0044] E、发光溶液:使用 pH8.8 的 0.0001M 对甲苯酚的三(羟甲基)氨基甲烷溶液配制成 0.01M 的鲁米诺溶液,再与 H₂O₂ 按照 3 : 10000 的体积比混合。

[0045] F、洗涤溶液:含有体积分数 0.05%吐温-20 的 pH7.5、0.1mol/L 磷酸盐缓冲液。

[0046] G、包被溶液:1.59g 碳酸钠和 2.53g 碳酸氢钠溶于 1L 水中,调节 pH9.5。

[0047] H、封闭溶液配制:10g 卵清蛋白(OVA)溶于 1L 洗涤溶液中,再加入重量比为 0.05%的 NaN₃。

[0048] 2、酶标板的制备

[0049] 用包被液将包被抗原稀释 1 : 2000,每孔加入 100 μL,4℃过夜,倾去包被液,每孔加入 250 μL 洗涤液洗涤 3 次,拍干,然后每孔加入封闭液 250 μL,37℃孵育 1h,倾去孔内液体,洗涤液洗涤 3 次,拍干,用锡箔纸真空密封保存。

[0050] 3、抗原的合成

[0051] (1) 免疫原的合成

[0052] 10mg 的 BSA 溶于 0.5mL 双蒸水中,用 1.0mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 值到 10.8,

加入 22mol/L 的 BDE 溶液 50L, 在氮气保护下, 室温搅拌反应 22h。17mg (50btmol) RAC-HCl 加入到 0.5mL 0.5mol/L 的氢氧化钠溶液中, 加入 50 μ L DMF 助溶。然后在冰浴中将此溶液缓慢加入到活化的 BSA 溶液中, 氮气保护下室温搅拌反应 22h。反应产物于 4°C 冰箱中用 PBS 透析 3d, 所得偶联物 RAC-BSA 中加入 0.1% 叠氮钠, -20°C 储存备用。

[0053] (2) 包被抗原的合成

[0054] 取 1.36g (2×10^{-5} mol) BSA, 溶于 30ml 水或常规 PBS 中, 加入 0.3g ($100 \times 2 \times 10^{-5}$ mol) 对醛基本甲酸。0-4°C 搅拌过夜反应。离心取上清, 用 PBS 透析。向透析后得上清液中加入 0.4g ($60 \times 2 \times 10^{-5}$ mol) 盐酸莱克多巴胺。搅拌溶解后, 加入 0.115g ($30 \times 2 \times 10^{-5}$ mol) 碳二亚胺盐酸盐 (EDC), 4°C 搅拌反应 4 小时。离心, 上清透析, 加 1% NaN_3 置于 0 ~ 4°C 冷藏备用。

[0055] 4、莱克多巴胺单克隆抗体的制备

[0056] 取 6 ~ 8 周龄雌性 Balb/C 小鼠做免疫组以合成的 RAC-BSA 免疫抗原 (加佐剂) 分别对每组小鼠进行免疫, 每次每只的免疫剂量为 100 μ g, 每次免疫间隔两周, 一共免疫 4 次。最后用同样剂量的免疫原 (不加佐剂) 进行强化免疫。

[0057] 根据检测结果挑选效价最高的小鼠进行细胞融合。取小鼠脾细胞, 按 7 : 1 比例 (数量配比) 与 SP2/0 骨髓细胞融合。根据观察, 当融合细胞克隆达 1/3 ~ 1/2 培养孔的面积, 对有克隆生长孔的培养上清进行抗体检测。用间接 ELISA 方法进行初步筛选阳性孔。采用有限稀释法进行阳性杂交瘤的克隆化, 将细胞悬液连续稀释至统计上每孔加样仅含单个细胞, 接种到 96 孔培养板, 通过 ELISA 筛选出单个细胞繁殖形成的阳性杂交瘤细胞克隆。将 24 孔板中扩大培养的阳性杂交瘤细胞株, 进一步在 5mL, 10mL, 50mL 培养瓶中逐步扩大培养。除一部分用于腹水的制备之外, 其余细胞冻存备用。

[0058] 取 8 ~ 10 周龄的 BALB/c 小鼠, 以 0.5mL/ 只的量用液体石蜡注入小鼠腹腔, 10d 于腹腔内注射单克隆杂交瘤细胞株 5×10^7 个 / 只。7d 后观察小鼠腹水产生情况, 待小鼠腹部明显膨大, 抽取腹水。收集的腹水置于离心管中, 1500r/min 离心 30min。取上清, 用辛酸 - 饱和硫酸铵法对腹水进行纯化, 得到单克隆抗体, -20°C 保存备用。

[0059] 实施例 2、间接 CL-ELISA 检测方法的建立

[0060] (1) 抗体与包被抗原浓度的优选 (方阵)

[0061] 用包被缓冲液溶解的包被抗原镀盘: 从首行稀释度 1/10 开始纵向梯度稀释, 100 μ L/ 孔, 37°C 孵育 2h; 洗盘五次; 封闭, 300 μ L/ 孔, 0-4°C, 过夜; 镀抗体: 从首列 1/100 开始横向梯度稀释 (见表一), 100 μ L/ 孔, 37°C 孵育 2h; 酶标稀释度用 1/2000, 100 μ L/ 孔镀盘 37°C, 50 分钟; 加发光底物溶液: 每孔加入 100 μ L 的发光底物溶液, 3 ~ 5 分钟后检测。选出最佳包被和抗体的配比, 再用此包被浓度镀盘, 抗体横向稀释, 酶标纵向稀释, 同理选出抗体和酶标的最佳配比。

[0062] (2) 化学发光 ELISA 法测莱克多巴胺单克隆抗体的特异性

[0063] 根据上述对抗体及包被抗原浓度的优选实验, 申请人选择并确定抗体浓度为 1 : 8000, 包被抗原浓度为 1 : 2000 进行抗体的灵敏度的测定:

[0064] 包被: 用 0.05M pH9.6 的碳酸盐包被缓冲液将已知包被抗原稀释至一定浓度, 在每个聚苯乙烯板的反应孔中加 100 μ L/ 孔, 4°C 过夜。次日, 弃去孔内溶液, 用洗涤缓冲液洗 3 次, 300 μ L/ 孔, 每次 5 分钟。(简称洗涤, 下同)。

[0065] 封闭:用 PBST+1% OVA 封闭上述已包被的酶标板,250 μ L/孔,室温孵育 2~4 小时,然后洗涤。

[0066] 加样:加一定稀释的待检样品(抗体和半抗原)100 μ L/孔于上述已封闭的反应孔中,置 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时或室温 2~4 小时,然后洗涤。

[0067] 加酶标抗体:加入新鲜稀释的酶标二抗 100 μ L/孔。37 $^{\circ}$ C 孵育 0.5~1 小时或室温 1~2 小时,洗涤。

[0068] 加发光底物溶液:每孔加入 100 μ l 的发光底物溶液,3~5 分钟后检测。测定结果由阴性对照孔校正。

[0069] 莱克多巴胺自身对抗体的抑制率,计算公式如下:抑制率% = 加入竞争物的孔的发光值 / 不含竞争物的孔的发光值 \times 100%。

[0070] 计算 50%抑制率时药物的浓度即为该抗体的灵敏度。

[0071] 实施例 3、检测莱克多巴胺的化学发光酶联免疫试剂盒的应用

[0072] (1) 试剂的配制

[0073] A、样品稀释液:将试剂盒中提供的浓缩磷酸盐缓冲溶液用蒸馏水稀释 10 倍后使用。

[0074] B、洗涤溶液:将试剂盒中提供的浓缩洗涤液用蒸馏水稀释 10 倍后使用。

[0075] C、发光溶液:0.01M 鲁米诺 +0.001M 对甲苯酚的三(羟甲基)氨基甲烷溶液(pH8.8)+3/10000(体积比)H₂O₂。

[0076] (2) 样品前处理

[0077] A、尿液 收集到的猪尿样品必须是澄清的,若有杂质,4 $^{\circ}$ C 离心 15min,取上清液。

[0078] B、动物组织取样品与 4mL 0.1M 的盐酸混合,并且放在一起用超声波提取 20min,然后 10000g 离心 15min,取上清液用 10M NaOH 调 pH 至 9.5 \pm 0.5,旋涡振荡 5min,然后 10000g 离心 15min。取上清液加 5mL 异丁醇振荡 2min,混合物室温下静止 15min,然后 3000g 离心 10min,分出有机相,水相再用异丁醇(每次 10mL)萃取两次,三次萃取的有机相合并在一起,50-60 $^{\circ}$ C 水浴减压蒸干,残余物用洗涤液重新溶解配成 1:10 的溶液,得到待测样品。

[0079] (3) 检测步骤

[0080] A、加样:向酶标板微孔中加入莱克多巴胺系列标准浓度溶液或样品溶液 50 μ L,然后加入莱克多巴胺抗体溶液 50 μ L,37 $^{\circ}$ C 恒温孵育 1.5h;

[0081] B、洗涤:倾出孔中液体,每孔加入洗涤溶液 250 μ L,洗涤 3 次,拍干;

[0082] C、加酶标羊抗鼠抗体溶液:每孔加入酶标羊抗兔抗体溶液 100 μ L,37 $^{\circ}$ C 孵育 1h;

[0083] D、洗涤:倾出孔中液体,每孔加入洗涤溶液 250 μ L,洗涤 3 次,拍干;

[0084] E、加发光溶液:每孔加入发光溶液 100 μ L;

[0085] F、检测:用化学发光免疫分析仪测定每孔的发光强度。

[0086] (4) 结果判断

[0087] 所获得的标准品和样品发光值的平均值除以第一个标准(0 标准)的发光值再乘以 100,以抑制率为纵坐标,莱克多巴胺浓度的对数为横坐标作标准曲线,每一个样品的浓度可以从标准曲线上读出。

[0088] %抑制率 = %标准品发光值(或样品)/0 标准品发光值。

[0089] 实施例 4、试剂盒精密度和准确度试验

[0090] 取 0.2, 0.5, 0.8, 1, 2ppb 的莱克多巴胺标样, 添加到鸡肉样品中, 来检测莱克多巴胺回收率。每个浓度的批间变异系数都以不同的 5 天的 5 个重复数据进行计算, 批内变异系数以同一天的 5 次重复数据计算。

[0091] 根据制定的标准曲线的线性方程进行回收率的定量计算。

[0092] 结果见下表。

[0093] 表一

[0094]

添加 浓度 (ppb)	检测 次数	批间			批内		
		检测结果 (ppb)	回收率 (%)	变异 系数 (%)	检测结果 (ppb)	回收率 (%)	变异 系数 (%)
0.2	5	0.23±0.025	113	13	0.23±0.018	114	9
0.5	5	0.47±0.050	94	10	0.44±0.058	88	11
0.8	5	0.79±0.047	98	5.9	0.85±0.058	107	7.3
1	5	0.97±0.070	97	7.5	1.00±0.090	100	9
2	5	1.93±0.023	97	1.2	1.94±0.151	96	7.5

[0095] 从上述测定结果看, 变异系数低于 13%, 回收率在 88-113% 之间。表明本试剂盒有很好的重复性和准确度。

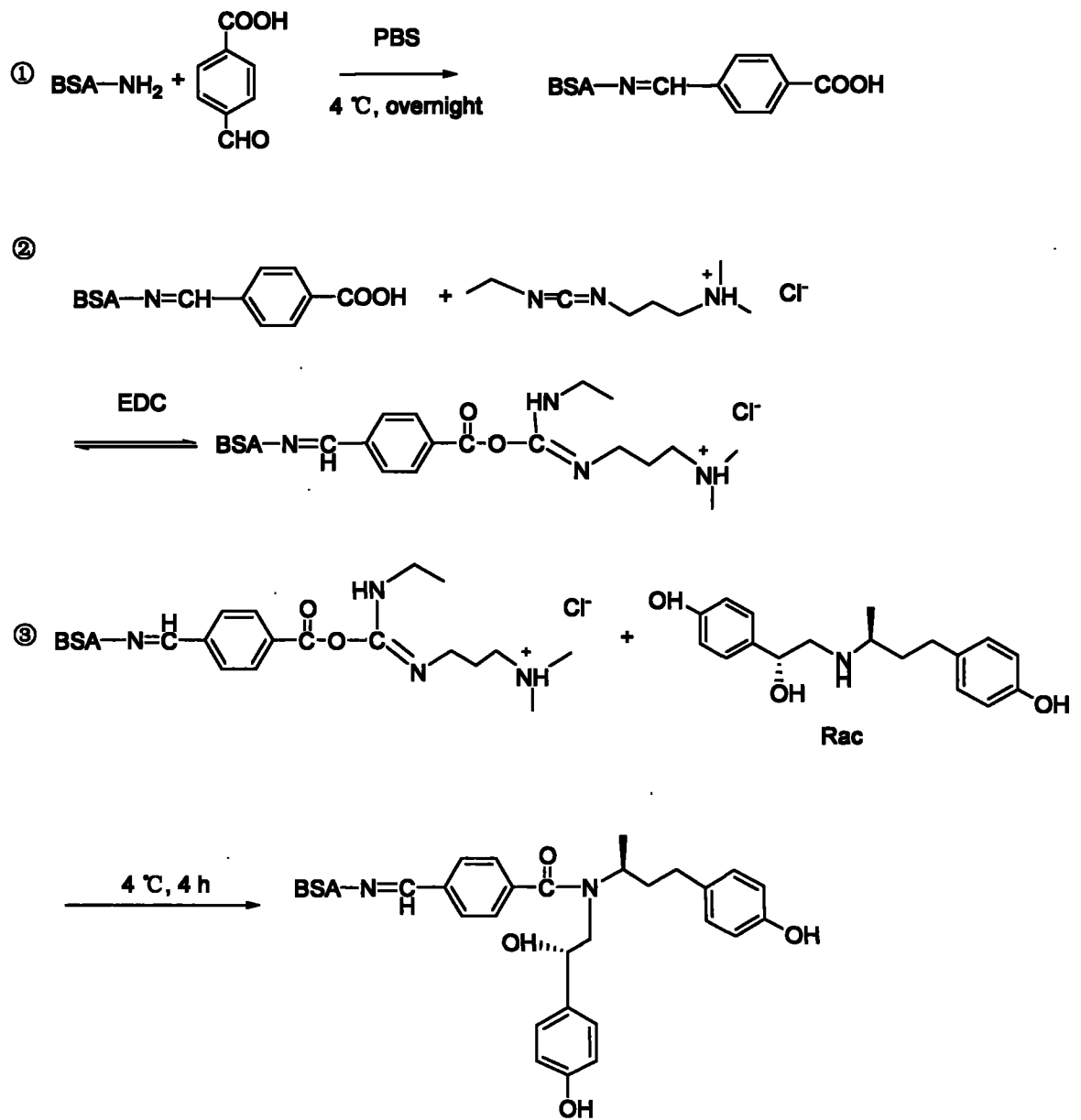


图 1

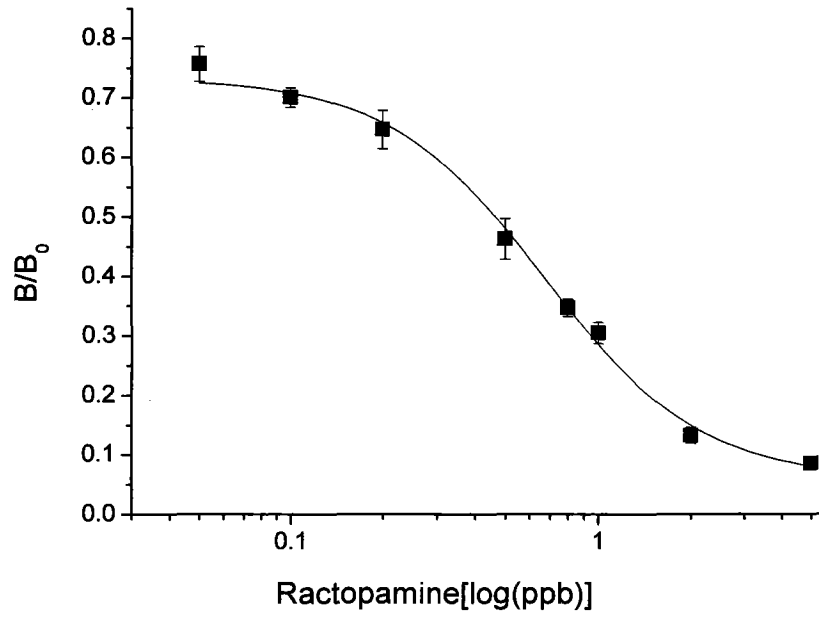


图 2

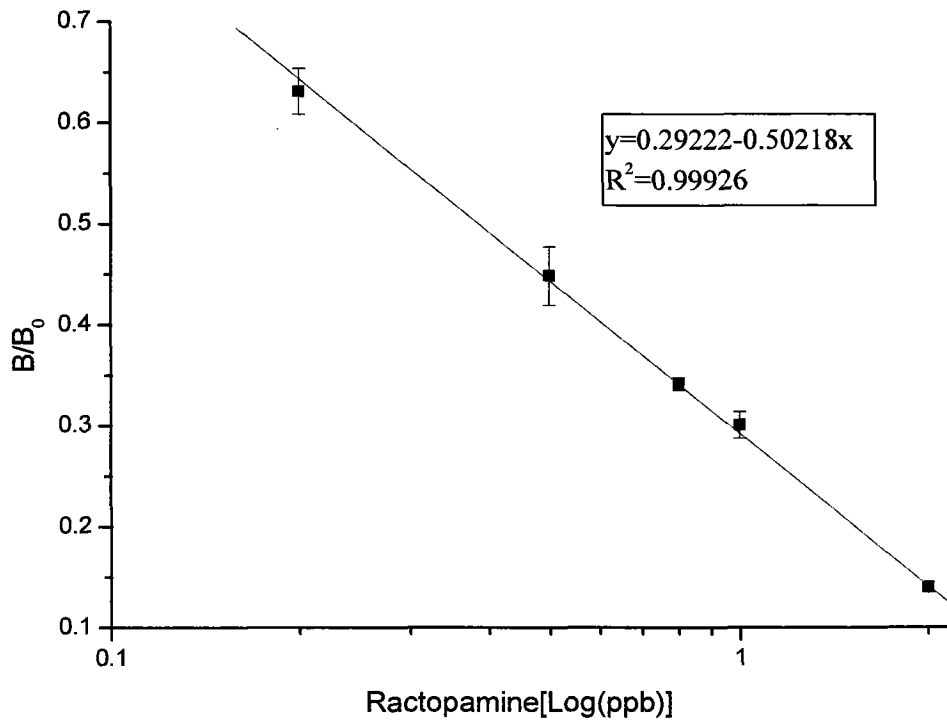


图 3

专利名称(译)	利用单抗检测莱克多巴胺残留的间接化学发光酶联免疫试剂盒		
公开(公告)号	CN101949933A	公开(公告)日	2011-01-19
申请号	CN201010262013.8	申请日	2010-08-25
[标]申请(专利权)人(译)	南开大学		
申请(专利权)人(译)	南开大学		
当前申请(专利权)人(译)	南开大学		
[标]发明人	郗日沫 王亚宾 孟萌 徐静 张元阳 张太昌 薛虎寅		
发明人	郗日沫 王亚宾 孟萌 徐静 张元阳 张太昌 薛虎寅		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/535 G01N21/76		
代理人(译)	侯力		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种利用单抗检测莱克多巴胺残留的间接化学发光酶联免疫试剂盒。包括各孔包被有以莱克多巴胺与牛血清蛋白偶合制成的包被抗原的酶标板以及莱克多巴胺系列标准溶液、酶标羊抗鼠抗体溶液、莱克多巴胺抗体溶液、发光溶液、洗涤溶液、包被溶液及封闭溶液。本发明的化学发光酶联免疫检测试剂盒利用单克隆抗体进行化学发光酶联免疫检测， $IC_{50} = 0.6ng/ml$ 。在鸡肉样品中最低检测限为 $0.10ng/ml$ ，批间批内变异系数 $< 13\%$ ，回收率为 $88 \sim 114\%$ 。本发明应用单克隆抗体并将化学发光与间接酶联免疫法结合，建立了一种检测莱克多巴胺残留的新的体系，具有比普通的ELISA更高的灵敏度和特异性，能够在动物性食品(如奶、动物组织、尿样)中的莱克多巴胺残留检测中发挥重要作用。

