



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101871937 A

(43) 申请公布日 2010.10.27

(21) 申请号 201010202588.0

(22) 申请日 2010.06.18

(71) 申请人 中国检验检疫科学研究院

地址 100123 北京市朝阳区高碑店北路甲3号

(72) 发明人 邹明强 王燕飞 刘天龙

(51) Int. Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 21/64(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 4 页

(54) 发明名称

多种小分子化合物的同步间接竞争免疫检测法及试剂盒

(57) 摘要

本发明提供一种基于荧光编码微球的同步检测多种小分子化合物的间接竞争荧光免疫检测法及检测试剂盒,是以编码微球作为固相载体,以藻红蛋白作为荧光标记物,用于小分子化合物抗原的竞争特异性反应的一种液相免疫检测法。首先,将捕获抗原共价结合在编码微球表面,在滤膜板中,经捕获抗原、检测抗体、二抗特异性结合形成微球-捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白的间接竞争荧光免疫复合物,然后逐一流经悬液芯片或流式分析系统的检测区,经识别不同编码微球并检测藻红蛋白荧光强度完成检测。用不同编码微球连接不同捕获抗原,可以同步检测同一样本中的多种小分子抗原,也可检测不同样本中的单个或多个待测小分子抗原,具有快速、高通量的优点。

1. 一种基于荧光微球的用于小分子化合物多残留同步检测的间接竞争免疫检测方法,其特征在於:将不具备免疫原性的小分子化合物与大分子载体蛋白反应形成捕获抗原,以具有表面功能基团的聚苯乙烯荧光编码微球作为固相载体,将捕获抗原以共价键方式包被到聚苯乙烯微球上,形成微球-捕获抗原偶联物,可与待测小分子化合物抗原竞争与检测抗体的特异性反应,用悬液芯片或流式分析系统对逐一流过检测区的微球上所负载的荧光信号进行检测,通过与标准溶液对比,求出待测抗原的浓度。

2. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在於:微球-捕获抗原偶联物的形成过程是,在96孔滤模板内的微球-捕获抗原偶联物的体系中加入待测样品与检测抗体,捕获抗原和待测样品中的小分子化合物抗原竞争与检测抗体发生的特异性反应,再通过二抗与检测抗体的特异性结合形成基于微球的间接竞争荧光免疫复合体。

3. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在於:基于微球的间接竞争荧光免疫复合体的形成是以藻红蛋白作为荧光标记物,用藻红蛋白标记二抗,在加入的微球-捕获抗原偶联物、待测样品中小分子化合物抗原与检测抗体竞争反应完后,加入藻红蛋白标记的二抗形成微球-捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白的间接竞争荧光免疫复合体。

4. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在於:根据内部包埋荧光染料的比例不同,对微球进行编码,不同的编码微球连接不同的捕获抗原,加入对应的检测抗体,可同时检测同一样品中的多种待测小分子化合物抗原,或者同时检测多个样品中的不同种待测小分子化合物抗原。

5. 根据权利要求1所述的检测方法,其特征在於:所说的用悬液芯片或流式系统对逐一流过检测区的微球上所负载的荧光信号进行检测,是指检测系统的两束激光光源发射波长为488nm或532nm和635nm,一束通过判定微球内包埋的染料比例从而对待测物进行定性分析,另一束通过测定微球上反应连接的荧光探针强度从而对待测物进行定量分析。

6. 根据权利要求1或2、3所述的检测方法,其特征在於:上述待测物中的小分子化合物抗原可以是农药、兽药、真菌毒素、激素、有害添加物、食品添加剂等;相应的检测抗体应为特异性抗每种待测抗原的单或多克隆抗体,使用不同的抗体,就可检测不同的相应的待测小分子化合物抗原。

7. 一种在权利要求1所述的基于荧光微球的小分子化合物多残留同步检测的间接竞争免疫检测法诊断试剂盒,其特征在於组成包括:

- (1) 基于聚苯乙烯荧光编码微球包被有捕获抗原的微球-捕获抗原偶联物;
- (2) 藻红蛋白标记的抗鼠(或抗兔、抗鸡等)二抗;
- (3) 检测抗体;
- (4) 阳性对照;
- (5) 阴性对照;
- (6) PH 7.2-7.4的磷酸盐缓冲液。

8. 根据权利要求7所述的试剂盒,其特征在於:包被有捕获抗原的聚苯乙烯荧光编码微球是几种小分子化合物的合成抗原对应连接在不同荧光编码微球上的混合物,检测抗体是抗几种抗原的单或多克隆抗体混合物,用该试剂盒同时检测同一样品中相应的几种小分子化合物抗原,或者同时检测多个样品中相应的不同小分子化合物抗原。

多种小分子化合物的同步间接竞争免疫检测法及试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及一种基于微球的小分子多残留荧光免疫检测方法,特别是涉及一种以藻红蛋白为荧光标记物、聚苯乙烯荧光编码微球为固相载体的间接竞争免疫检测法及使用的试剂盒。

背景技术

[0002] 食品中的兽药、农药、添加剂等小分子残留物问题是影响民生的重大问题,已成为国内外广为关注的食品安全问题之一。目前检测常用的方法主要包括:微生物法、色谱法(如高效液相色谱法, HPLC)或色谱-质谱联用技术(如液相色谱-质谱串联法, LC-MS);酶联免疫吸附法(ELISA)。微生物检测法操作简单,但检测周期长且结果误差较大。色谱法或色谱-质谱联用技术灵敏度高,结果可靠,但测定方法繁琐、费时,成本高,操作人员需要经过专业培训,难以普及。ELISA法是利用酶标记物的竞争性免疫检测方法,近年来被广为用作定性或半定量检测的快速筛查方法,在一定程度上缩短了检测时间,但是一次只能检测一种靶标物,不利于大量样品的快速筛选。

[0003] 悬液芯片(又称悬浮芯片、液相芯片)系统是上世纪90年代中期新兴的一种多功能、高通量的液相分析平台,该系统主要基于流式荧光编码微球为载体和荧光探针进行免疫检测,检测通量大、灵敏度高,可实现同步检测多靶标,理论上可检测100种靶标物。该技术最先被应用在细胞、基因、抗体、病毒检测等基因研究与生物医疗诊断领域,后来延伸到动植物中病毒等的检测与监控。近几年,人们继续拓展该平台的应用领域,希望能将该项技术应用到小分子残留物的检测,从而能达到对小分子有害残留物的及时发现和监控管理。

发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种基于微球的间接竞争荧光免疫检测法,实现用不同的编码微球和同一种荧光探针可同时检测同一样品中多种小分子化合物抗原成分或者同时检测多个样品中的不同种小分子化合物抗原成分。

[0005] 本发明的进一步目的是提供了一种在此检测方法过程中使用的检测试剂盒。

[0006] 本发明是以藻红蛋白进行荧光标记,应用于抗原抗体特异性竞争反应的一种荧光免疫检测法,由于微球根据内部包埋荧光染料的比例不同进行编码,选用不同编码的微球作为固相载体,连接不同的捕获抗原,然后进行混合,在96孔滤膜板上进行反应,可以克服ELISA只能检测单一靶标物的缺点,可同时检测同一样品中多种待测小分子抗原,或者在不同微孔板中检测不同样品中的单种或多种待测小分子抗原,旨在提高检测通量,提高检测速度。

[0007] 本发明的技术解决方案如下:

[0008] 首先,将合成的蛋白偶联抗原作为捕获抗原包被在聚苯乙烯微球上,形成微球-捕获抗原偶联物,在96孔滤膜板上,微球-捕获抗原偶联物与待测物中小分子抗原竞争与检测抗体发生特异性反应,其中,与小分子抗原结合的检测抗体经洗涤抽滤而被从反

应体系中去掉,而与微球-捕获抗原偶联物反应的检测抗体与后续加入的荧光探针(如藻红蛋白标记的二抗)进行特异性结合形成微球-捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白荧光免疫复合物,经仪器检测荧光信号便可完成检测过程。

[0009] 所述的蛋白偶联抗原,即捕获抗原,是指将不具备免疫原性的小分子化合物与大分子载体蛋白进行合成,其中大分子载体蛋白可以是牛血清白蛋白(BSA),也可以是卵清白蛋白(OVA)、钥孔血蓝蛋白(KLH)。

[0010] 所述微球-捕获抗原偶联物是指使用碳二亚胺法,1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活化微球表面的羧基官能团,然后与捕获抗原上的氨基反应,从而以共价键方式形成微球-捕获抗原偶联物。

[0011] 所述检测抗体是指抗捕获抗原也即抗待测小分子抗原的单克隆抗体或多克隆抗体,检测抗体可与微球-捕获抗原偶联物发生特异性反应,如果体系中有待测抗原存在则待测抗原也会竞争性地与检测抗体发生特异性结合。

[0012] 所述藻红蛋白标记的二抗是指用藻红蛋白作为荧光探针标记的抗单克隆抗体或多克隆抗体的二抗。

[0013] 所述微球-捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白荧光免疫复合物,是指在待测抗原与捕获抗原竞争与检测抗体发生反应结束后,加入的藻红蛋白标记的二抗与微球-捕获抗原-检测抗体复合物进行继续特异性反应生成的复合物,而待测抗原-检测抗体复合物与藻红蛋白标记的二抗如果发生反应生成的复合物则会通过洗涤而用96孔滤模板的抽滤离开反应体系。

[0014] 所述96孔滤模板是指框架与常规酶标板一致,板底使用亲水性滤膜进行替代的反应板,使用的滤膜孔径小于微球粒径,未与微球-捕获抗原结合的荧光免疫复合物则可以透过滤膜,经真空抽滤后从反应体系中被去除。

[0015] 所述荧光检测是指用悬液芯片或流式分析系统中的两束荧光,定性区分不同的编码微球从而确定存在的不同的捕获抗原,定量确定荧光免疫复合物的荧光强度。通常样品中小分子待测抗原浓度越大,与捕获抗原竞争越多,与检测抗体结合的微球-捕获抗原复合物越少,则测得的荧光强度值越低。

[0016] 上述的小分子待测抗原可以是任何一种农药、兽药、真菌毒素、激素、有害添加物、食品添加剂等,可以是抗生素如卡那霉素、庆大霉素、头孢氨苄,可以是对硫磷、甲胺磷,还可以是三聚氰胺。使用不同的单克隆抗体或多克隆抗体就可以检测不同的相应的待测抗原。

[0017] 本发明的间接竞争免疫检测法,所说的悬液芯片或流式分析系统激光光源发射波长为488nm或532nm和635nm。目前,美国Luminex公司、Bio-Rad公司可提供满足测试要求的检测仪器及编码微球。

[0018] 一种藻红蛋白为荧光标记物、聚苯乙烯微球为固相载体的间接竞争免疫检测法诊断试剂盒,包括以下试剂:

[0019] (1) 基于聚苯乙烯荧光编码微球包被有捕获抗原的微球-捕获抗原偶联物;

[0020] (2) 藻红蛋白标记的抗鼠(或抗兔或抗鸡等)二抗;

[0021] (3) 检测抗体;

[0022] (4) 阳性对照;

[0023] (5) 阴性对照；

[0024] (6) PH 7.2-7.4 的磷酸盐缓冲液。

[0025] 包被有捕获抗原的聚苯乙烯荧光微球是几种捕获抗原结合在不同编码微球的混合物,检测抗体是抗几种捕获抗原的单克隆抗体或多克隆抗体的混合物。

[0026] 使用方法:将试剂按说明书稀释后按以下流程操作。

[0027] (1) 制备荧光免疫复合体:在 96 孔滤膜板中同时加入包被有捕获抗原的聚苯乙烯荧光编码微球、待测样品和检测抗体,37℃避光振摇反应 0.5-1 小时后抽滤掉孔内反应液,加入藻红蛋白标记的抗鼠(或抗兔或抗鸡等)二抗 37℃避光振摇反应 0.5-1 小时,形成微球-捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白荧光免疫复合体；

[0028] (2) 荧光强度检测:用悬液芯片或流式分析系统进行激光激发并检测荧光免疫复合体的荧光强度。

[0029] 本发明集中了分子生物学、免疫学、激光物理学、微流体学和计算机科学等多门学科的优势。针对生物样品检测通量大、灵敏度高;可自动校正、校验保证和控制样品间差异、板间差异、系统间差异;短时间内可完成 96 个样品的检测并获得多达上万个分析数据;并且项目检测灵活,可自由组合,可以根据预期用量大小,选用一定量的某些微球标记好相应的捕获抗原然后混合分装即可。

附图说明

[0030] 图 1 间接竞争荧光免疫复合体结构及形成过程示意图。

[0031] 图 2 基于微球的间接竞争免疫法检测庆大霉素的标准曲线；

[0032] 图 3 基于微球的间接竞争免疫法检测莱克多巴胺的标准曲线；

[0033] 图 4 基于微球的间接竞争免疫法同步检测卡那霉素、庆大霉素的标准曲线；

[0034] 图 5 基于微球的间接竞争免疫法同步检测卡那霉素、庆大霉素、头孢氨苄的标准曲线；

具体实施方式

[0035] 下列实施例旨在进一步举例描述本发明,而不是以任何方式限制本发明。

[0036] 实施例 1:

[0037] 庆大霉素的微球间接竞争免疫荧光检测,包括以下具体的步骤:

[0038] 1、微球-捕获抗原偶联:

[0039] 取 1.25×10^6 个微球为一批次,在 1.5mL 离心管中,使用 EDC、sulfo-NHS 溶液在 PH6.2 条件下对微球表面羧基进行常温活化 20 分钟,然后将微球置换到磷酸盐缓冲液(PBS, 0.01M, PH7.4)中,加入优化量的庆大霉素-BSA 偶联的捕获抗原,避光振摇常温反应 2 小时,离心洗掉未结合的捕获抗原,用含 1% BSA 的 PBS 重悬,避光振摇常温反应 0.5 小时,封闭微球表面未与捕获抗原结合的剩余位点,最后,用含 0.1% BSA 的 PBS 储存微球-捕获抗原偶联物。

[0040] 2、藻红蛋白-二抗标记:

[0041] 首先使用琥珀酰亚 4-[N-甲基马来酸]-1-羧环己烷(SMCC)还原藻红蛋白,过葡聚糖凝胶柱去除游离的 SMCC;然后使用二硫苏糖醇(DTT)还原抗体,室温避光反应 0.5 小

时,过葡聚糖凝胶柱去除游离的 DTT;最后将抗体按优化比例滴加到藻红蛋白中,室温避光反应 2 小时,用 N-乙基马来酰亚胺封闭 20 分钟,用含 0.05%叠氮化钠的 PBS 保存。

[0042] 3、微球-捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白复合体形成:

[0043] 在 96 孔滤膜板中,同时加入微球-庆大霉素捕获抗原偶联物、庆大霉素待测物、庆大霉素单克隆抗体,37℃避光振摇反应 0.5-1 小时,抽滤掉板上孔中反应液,其中与庆大霉素待测物结合的庆大霉素单克隆抗体随反应液被抽滤掉,与微球-庆大霉素捕获抗原偶联物结合的抗庆大霉素单克隆抗体留在孔中;然后加入藻红蛋白标记的羊抗鼠二抗,37℃避光振摇反应 0.5-1 小时,二抗与孔中单克隆抗体特异性结合,形成微球-捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白复合体。

[0044] 4、定量荧光检测:

[0045] 该检测方法的测定原理是通过检测 96 孔滤膜板上孔内结合到微球上的捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白免疫复合体的荧光强度实现对待测物的检测。可与标准曲线对比求出样品中的庆大霉素浓度。结合到微球上的检测抗体量不同,检测到的荧光强度不同。绘制标准曲线:将已知庆大霉素含量的标准溶液配制成由低到高 7 种不同浓度,重复步骤 3 的操作,用与待测样本相同的方法可以测定每种浓度的标准溶液对应的荧光强度,以庆大霉素浓度的对数为横坐标,设空白对照时的平均荧光强度 (MFI) 为 MFI_0 , MFI/MFI_0 的比值为纵坐标,绘制标准曲线,见图 2。

[0046] 实施例 2:

[0047] 莱克多巴胺的微球间接竞争免疫荧光检测,包括以下具体的步骤:

[0048] 如同实施例 1 的各步操作,不同的是捕获抗原和检测抗体为莱克多巴胺-BSA 偶联物和抗莱克多巴胺的单克隆抗体,待检测小分子抗原是莱克多巴胺。同样将含有莱克多巴胺的待测样本加入到反应体系中,通过检测荧光强度,与标准曲线对比求出样品中的莱克多巴胺的浓度。以莱克多巴胺浓度的对数为横坐标, MFI/MFI_0 的比值为纵坐标,绘制标准曲线,见图 3。

[0049] 实施例 3:

[0050] 卡那霉素与庆大霉素同步检测的微球间接竞争免疫荧光检测,包括以下具体的步骤:

[0051] 1、微球-捕获抗原偶联:

[0052] 取编码分别为 20、30 的微球各 1.25×10^6 个为一批次,在 2 个 1.5mL 离心管中,使用 EDC、sulfo-NHS 溶液在 PH6.2 条件下对微球表面羧基进行常温活化 20 分钟,然后将微球置换到磷酸盐缓冲液 (PBS, 0.01M, PH7.4) 中,分别加入优化量的卡那霉素-BSA、庆大霉素-BSA 偶联的捕获抗原,避光振摇常温反应 2 小时,离心洗掉未结合的捕获抗原,用含 1% BSA 的 PBS 重悬,避光振摇常温反应 0.5 小时,封闭微球表面未与捕获抗原结合的剩余位点,最后,用含 0.1% BSA 的 PBS 储存微球-捕获抗原偶联物。将与编码 20 的微球相连的卡那霉素捕获抗原和与编码 30 的微球相连的庆大霉素捕获抗原等比例混合,用来同时检测可能含有卡那霉素、庆大霉素的待测样本。

[0053] 2、藻红蛋白-二抗标记:

[0054] 藻红蛋白标记二抗的步骤如同实施例 1 的各步操作。

[0055] 3、微球-捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白复合体形成:

[0056] 在 96 孔滤模板中,同时加入微球 20-卡那霉素捕获抗原与微球 30-庆大霉素捕获抗原混合物、卡那霉素待测物和 / 或庆大霉素待测物、卡那霉素单克隆抗体与庆大霉素单克隆抗体混合物,37℃避光振摇反应 0.5-1 小时,抽滤掉板上孔中反应液,与微球 20-卡那霉素捕获抗原偶联物结合的抗卡那霉素单克隆抗体留在孔中,与微球 30-庆大霉素捕获抗原偶联物结合的抗庆大霉素单克隆抗体留在孔中;然后加入藻红蛋白标记的羊抗鼠二抗,37℃避光振摇反应 0.5-1 小时,二抗与孔中单克隆抗体特异性结合,形成微球-捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白复合体。

[0057] 4、定量荧光检测:

[0058] 该检测方法的测定原理是通过检测 96 孔滤模板上孔内结合到微球上的捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白免疫复合体的荧光强度实现对待测物的检测。可与标准曲线对比求出样品中的卡那霉素或 / 和庆大霉素浓度。结合到微球上的检测抗体量不同,检测到的荧光强度不同。绘制标准曲线:将已知卡那霉素和庆大霉素含量的标准溶液配制成由低到高 7 种不同浓度,重复步骤 3 的操作,用与待测样本相同的方法可以测定每种浓度的标准溶液对应的荧光强度,分别以卡那霉素、庆大霉素浓度的对数为横坐标, MFI/MFI_0 的比值为纵坐标,绘制标准曲线,见图 4。

[0059] 实施例 4:

[0060] 卡那霉素、庆大霉素、头孢氨苄同步检测的微球间接竞争免疫荧光检测,包括以下具体的步骤:

[0061] 1、微球-捕获抗原偶联:

[0062] 取编码分别为 20、30、40 的微球各 1.25×10^6 个为一批次,在 3 个 1.5mL 离心管中,使用 EDC、sulfo-NHS 溶液在 PH6.2 条件下对微球表面羧基进行常温活化 20 分钟,然后将微球置换到磷酸盐缓冲液 (PBS, 0.01M, PH7.4) 中,分别加入优化量的卡那霉素-BSA、庆大霉素-BSA、头孢氨苄-OVA 偶联的捕获抗原,避光振摇常温反应 2 小时,离心洗掉未结合的捕获抗原,用含 1% 牛血清白蛋白 (BSA) 的 PBS 重悬,避光振摇常温反应 0.5 小时,封闭微球表面未与捕获抗原结合的剩余位点,最后,用含 0.1% BSA 的 PBS 储存微球-捕获抗原偶联物。将与编码 20 的微球相连的卡那霉素捕获抗原、与编码 30 的微球相连的庆大霉素捕获抗原和与编码 40 的微球相连地头孢氨苄捕获抗原等比例混合,用来同时检测可能含有卡那霉素、庆大霉素、头孢氨苄的待测样本。

[0063] 2、藻红蛋白-二抗标记:

[0064] 藻红蛋白标记二抗的步骤如同实施例 1 的各步操作。

[0065] 3、微球-捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白复合体形成:

[0066] 在 96 孔滤模板中,同时加入微球 20-卡那霉素捕获抗原、微球 30-庆大霉素捕获抗原与微球 40-头孢氨苄捕获抗原混合物,卡那霉素待测物和 / 或庆大霉素待测物和 / 或头孢氨苄待测物,卡那霉素单克隆抗体、庆大霉素单克隆抗体与头孢氨苄单克隆抗体混合物,37℃避光振摇反应 0.5-1 小时,抽滤掉板上孔中反应液,与微球 20-卡那霉素捕获抗原偶联物结合的抗卡那霉素单克隆抗体留在孔中,与微球 30-庆大霉素捕获抗原偶联物结合的抗庆大霉素单克隆抗体留在孔中,与微球 40-头孢氨苄捕获抗原偶联物结合的抗头孢氨苄单克隆抗体留在孔中;然后加入藻红蛋白标记的羊抗鼠二抗,37℃避光振摇反应 0.5-1 小时,二抗与孔中单克隆抗体特异性结合,形成微球-捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋

白复合体。

[0067] 4、定量荧光检测：

[0068] 该检测方法的测定原理是通过检测 96 孔滤膜板上孔内结合到微球上的捕获抗原 - 检测抗体 - 二抗 - 藻红蛋白免疫复合体的荧光强度实现对待测物的检测。可与标准曲线对比求出样品中的卡那霉素或 / 和庆大霉素或 / 和头孢氨苄浓度。结合到微球上的检测抗体量不同,检测到的荧光强度不同。绘制标准曲线:将已知卡那霉素、庆大霉素和头孢氨苄含量的标准溶液配制成由低到高 7 种不同浓度,重复步骤 3 的操作,用与待测样本相同的方法可以测定每种浓度的标准溶液对应的荧光强度,分别以卡那霉素、庆大霉素、头孢氨苄浓度的对数为横坐标, MFI/MFI_0 的比值为纵坐标,绘制标准曲线,见图 5。

[0069] 实施例 5：

[0070] 庆大霉素的微球间接竞争免疫荧光检测试剂盒,组成包括：

[0071] (1) 包被有庆大霉素捕获抗原的聚苯乙烯荧光微球；

[0072] (2) 藻红蛋白标记的抗鼠二抗；

[0073] (3) 抗庆大霉素单克隆抗体；

[0074] (4) 阳性对照；

[0075] (5) 阴性对照；

[0076] (6) PH 7.2-7.4 的磷酸盐缓冲液。

[0077] 试剂盒中每个组分的制备及使用方法、标准曲线的绘制同实施例 1。

[0078] 实施例 6：

[0079] 卡那霉素、庆大霉素、头孢氨苄的微球间接竞争免疫荧光检测试剂盒,组成包括：

[0080] (1) 包被有卡那霉素捕获抗原的聚苯乙烯荧光微球 20、包被有庆大霉素捕获抗原的聚苯乙烯荧光微球 30、包被有头孢氨苄捕获抗原的聚苯乙烯荧光微球 40 的混合物；

[0081] (2) 藻红蛋白标记的抗鼠二抗；

[0082] (3) 抗卡那霉素单克隆抗体、庆大霉素单克隆抗体、头孢氨苄单克隆抗体混合物；

[0083] (4) 阳性对照；

[0084] (5) 阴性对照；

[0085] (6) PH 7.2-7.4 的磷酸盐缓冲液。

[0086] 试剂盒中每个组分的制备及使用方法、标准曲线的绘制同实施例 4。

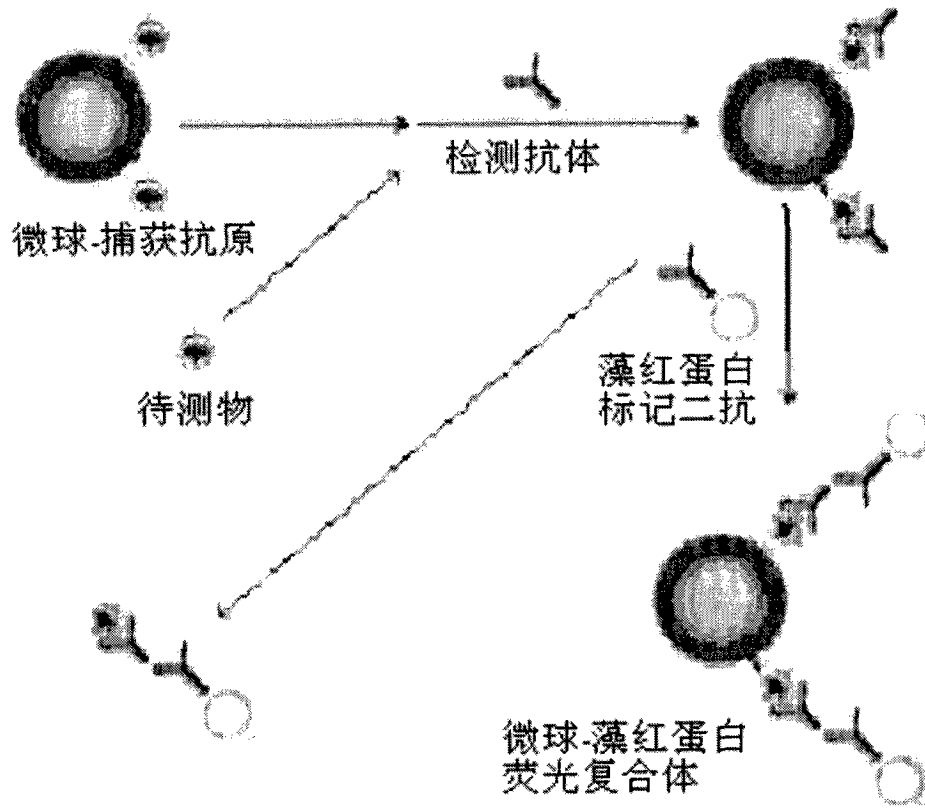


图 1

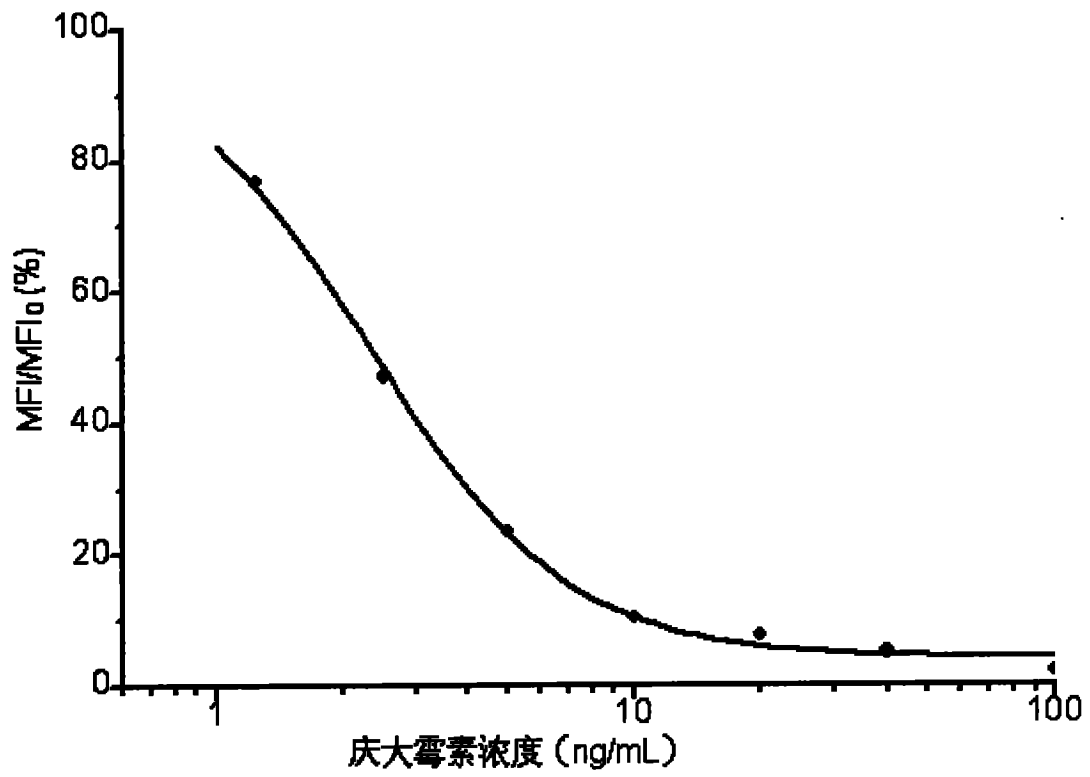


图 2

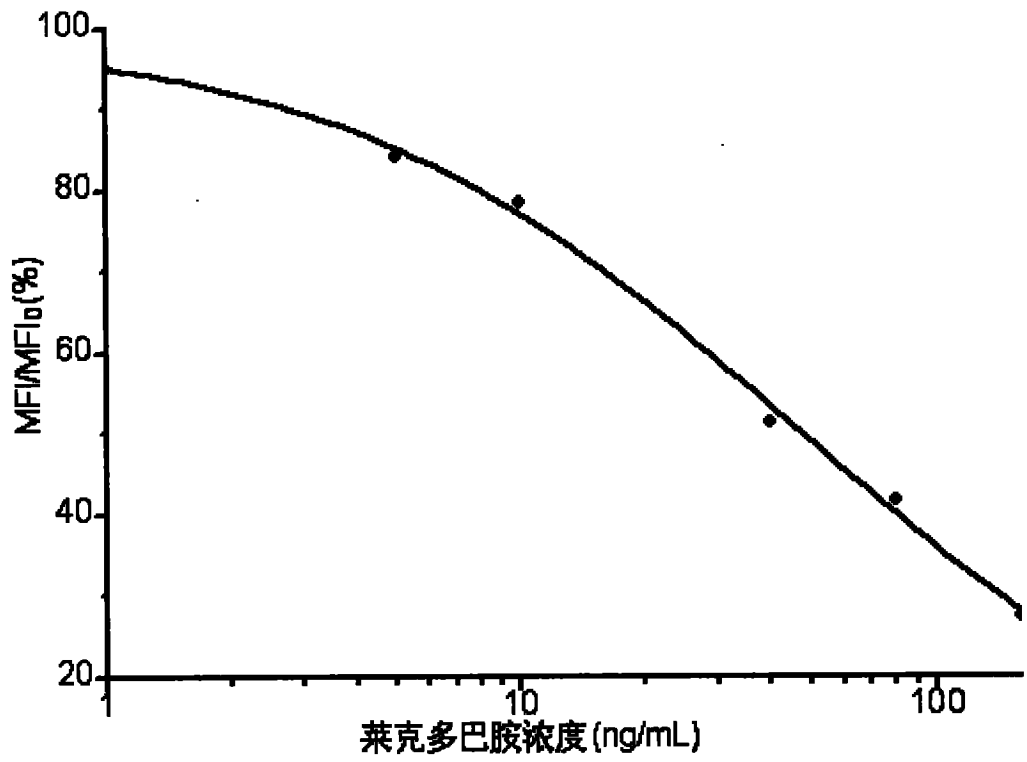


图 3

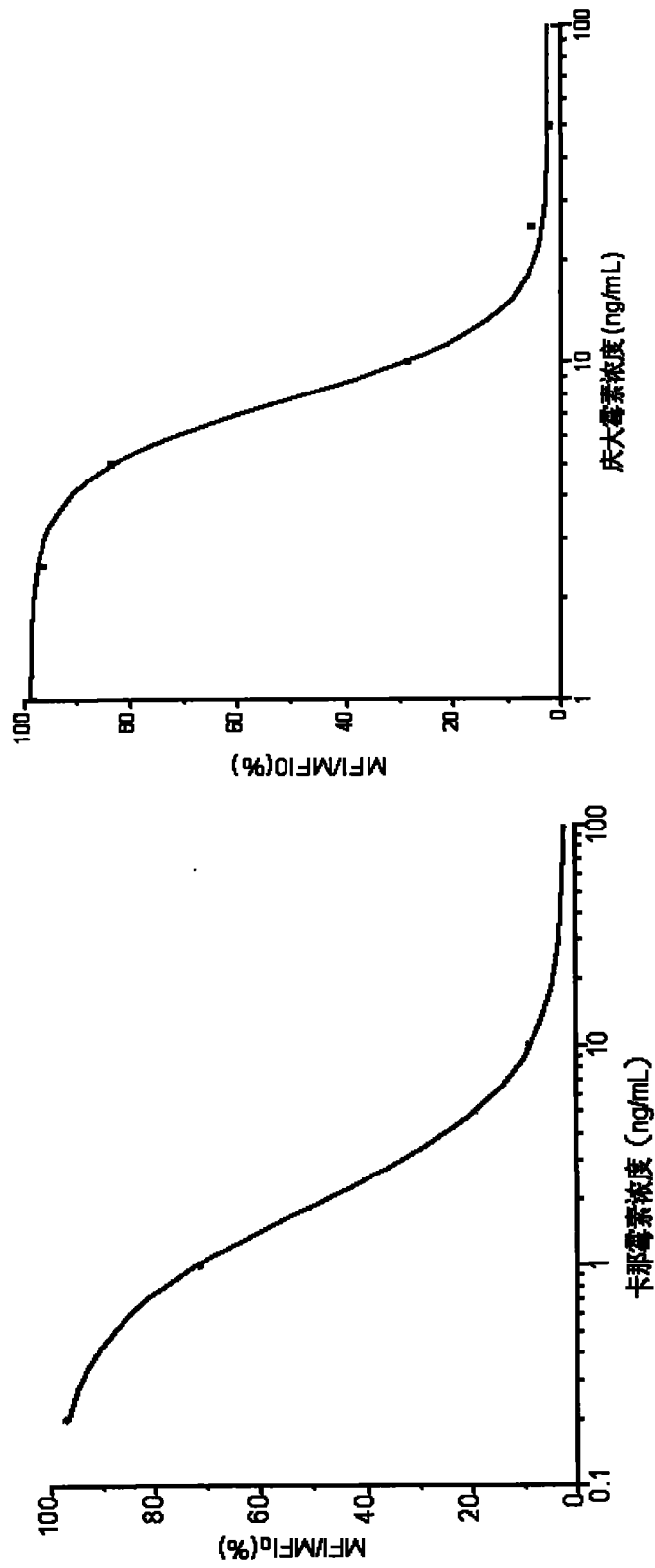


图 4

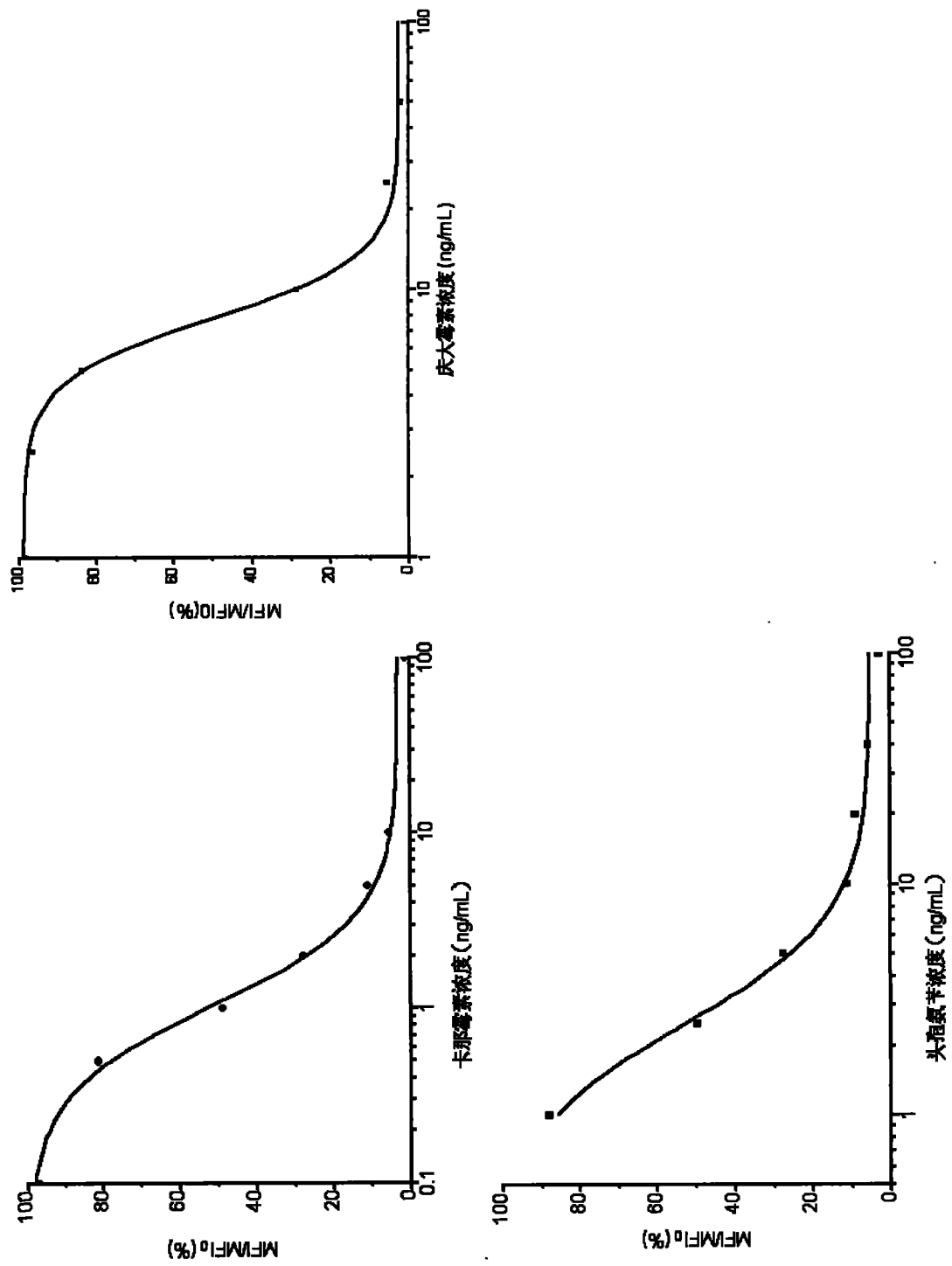


图 5

专利名称(译)	多种小分子化合物的同步间接竞争免疫检测法及试剂盒		
公开(公告)号	CN101871937A	公开(公告)日	2010-10-27
申请号	CN201010202588.0	申请日	2010-06-18
申请(专利权)人(译)	中国检验检疫科学研究院		
当前申请(专利权)人(译)	中国检验检疫科学研究院		
[标]发明人	邹明强 王燕飞 刘天龙		
发明人	邹明强 王燕飞 刘天龙		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/533 G01N21/64		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种基于荧光编码微球的同步检测多种小分子化合物的间接竞争荧光免疫检测法及检测试剂盒，是以编码微球作为固相载体，以藻红蛋白作为荧光标记物，用于小分子化合物抗原的竞争特异性反应的一种液相免疫检测法。首先，将捕获抗原共价结合在编码微球表面，在滤膜板上，经捕获抗原、检测抗体、二抗特异性结合形成微球-捕获抗原-检测抗体-二抗-藻红蛋白的间接竞争荧光免疫复合体，然后逐一流经悬液芯片或流式分析系统的检测区，经识别不同编码微球并检测藻红蛋白荧光强度完成检测。用不同编码微球连接不同捕获抗原，可以同步检测同一样本中的多种小分子抗原，也可检测不同样本中的单个或多个待测小分子抗原，具有快速、高通量的优点。

