

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

G01N 33/53

G01N 33/534 G01N 33/58

G01N 33/68



## [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02148811.8

[43] 公开日 2004 年 6 月 2 日

[11] 公开号 CN 1501082A

[22] 申请日 2002.11.18 [21] 申请号 02148811.8

[71] 申请人 中国农业科学院原子能利用研究所  
地址 100094 北京市海淀区北京市 5109 信箱

[72] 发明人 潘家荣 张 维 张 杰 乔艳红  
宋 平 李锦波 林 敏 黄大昉

[74] 专利代理机构 北京海虹嘉诚知识产权代理有  
限公司  
代理人 张 涛

权利要求书 1 页 说明书 7 页

[54] 发明名称 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 放射免疫检测试剂盒及其制备方法和检测方法

[57] 摘要

本发明提供了一种 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 放射免疫检测试剂盒及其制备方法和检测方法。本发明用戊二醛、Aerosol 604 和四氧化三铁制备磁性微粒，并与 Bt 晶体蛋白 Cry 1Ac 抗体连接，在磁场下 Bt 晶体蛋白 Cry 1Ac 与 Bt 晶体蛋白 Cry 1Ac 抗体特异反应加快，测样时间缩短到 40 分钟。本发明还用磁性微粒连接 IgG 制备免疫分离剂，在磁场的作用下，抗原抗体复合物自动沉淀，不需离心即可分离。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、一种用于检测 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 的放射免疫检测试剂盒，该盒包括有磁性微粒  
5 联接的 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗体、磁性微粒联接的羊抗兔 IgG 及用于 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac  
放射免疫检测所用的常规试剂。

2、根据权利要求 1 所述的检测试剂盒的制备方法，其中所述磁性微粒联接的 Bt 晶体  
蛋白 Cry1Ac 抗体的制备方法是：

10 将 Aerosol 604 的戊二醛溶液与  $Fe_3O_4$  水溶液混合，将混合液调制为碱性，离心得到  
100nm 微粒；将所得微粒经过戊二醛活化后再离心，将所得沉淀物与 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac  
抗血清混合、再经离心得到磁性微粒联接的 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗体；

所述磁性微粒联接的羊抗兔 IgG 的制备方法是：

15 将 Aerosol 604 的戊二醛溶液与铁粉溶液混合，将混合液调制为碱性，离心得到 100nm  
微粒；将所得微粒经过戊二醛活化后再离心，将所得沉淀物与羊抗兔 IgG 混合、再经离  
心得到磁性微粒联接的羊抗兔 IgG。

3、根据权利要求 2 所述的检测试剂盒的制备方法，其中磁性微粒联接的 Bt 晶体蛋白  
Cry1Ac 抗体和磁性微粒联接的羊抗兔 IgG 的制备中，所述碱性为 pH10-12。

4、根据权利要求 2 所述的检测试剂盒的制备方法，其中磁性微粒联接的 Bt 晶体蛋白  
Cry1Ac 抗体和磁性微粒联接的羊抗兔 IgG 的制备中，将混合液调制为碱性后，进行氮气  
脱氧后振荡。

20 5、一种 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 放射免疫检测方法，其步骤是，在若干放射免疫管中分  
别加入待测样品、Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 标准溶液和质量控制样品，然后对每一放射免疫管  
分别进行如下操作：

1) 加入磁性微粒联接的 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗体；

2) 加入  $^{125}I$ —Bt 晶体蛋白 Cry1Ac，混匀；

25 3) 将放射免疫管放置在磁分离器的管架上，连接磁分离器底部磁铁 25 分钟，再移走  
磁铁；

4) 加入磁性微粒联接的羊抗兔 IgG，振荡摇匀，再连接磁分离器底部磁铁 5 分钟；

5) 倒出溶液，加缓冲液冲洗一次后测沉淀放射性计数(cpm)；

6) 计算各管的结合率，作标准曲线，根据标准算出待测样品的含量。

30

## Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 放射免疫检测试剂盒及其制备方法和检测方法

### 5 技术领域:

本发明涉及 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 放射免疫检测试剂盒及其制备方法, 本发明还涉及一种 Bt 晶体蛋白放射免疫检测方法。

### 背景技术:

转 Bt 基因植物具有很好的杀虫性, 所以 Bt 基因被广泛地转入棉花、玉米等农作物  
10 中。Bt 晶体蛋白是转 Bt 基因生物的 Bt 基因表达产物, 是鉴定杀虫性的重要指标, 其快速、准确测定, 为育种、转基因植物的虫害管理和基因标识提供技术支持。

现有技术所用的酶联免疫检测 Bt 晶体蛋白方法存在如下的缺陷: 1、检测结果不稳定, 因酶促反应易受反应条件的影响,; 2、反应时间长, 测样时间长达 24 小时以上(包括包被时间); 3、操作步骤多, 较为繁琐。

15 放射免疫法检测 Bt 晶体蛋白, 虽测定结果稳定, 但传统放射免疫法需离心分离抗原-抗体复合物, 操作繁琐, 且检测时间最短也需 3 小时。现有的较新技术放射免疫法抗原抗体反应是在固相界面进行, 不需离心, 但是反应时间比传统放射免疫方法还长。

因此, 现有技术的检测 Bt 晶体蛋白方法均不能达到快速、简便的要求。

### 20 发明内容:

本发明的目的是建立一种快速、简便的 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 放射免疫检测方法, 并提供一种快速、简便的 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 放射免疫检测试剂盒。

本发明提供了一种用于检测 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 的放射免疫检测试剂盒, 该盒包括有磁性微粒联接的 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗体和磁性微粒联接的羊抗兔 IgG。

25 所述检测试剂盒中还包括本领域技术人员进行 Bt 晶体蛋白放射免疫检测所用的其它常规试剂, 如 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 标准溶液、<sup>125</sup>I Bt 晶体蛋白 Cry1Ac、质量控制样品及蛋白提取液等。

上述用于检测 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 的放射免疫检测试剂盒的制备方法如下:

1、制备超顺磁微粒, 并与 Bt 晶体蛋白 Cry 1Ac 抗体联接, 提供磁性微粒联接的 Bt  
30 晶体蛋白 Cry1A c 抗体;

2、制备磁性联接羊抗兔 IgG, 形成磁性微粒联接的羊抗兔 IgG;

所述磁性微粒联接的 Bt 晶体蛋白的制备方法是:

将 Aerosol 604 的戊二醛溶液与 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 水溶液混合, 将混合液调制为碱性, 离心得到

100nm 微粒；将所得微粒经过戊二醛活化后再离心，将所得沉淀物与 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗血清混合、再经离心得到磁性微粒联接的 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗体；

所述磁性微粒联接的羊抗兔 IgG 的制备方法是：

5 将 Aerosol 604 的戊二醛溶液与铁粉溶液混合，将混合液调制为碱性，离心得到 100nm 微粒；将所得微粒经过戊二醛活化后再离心，将所得沉淀物与羊抗兔 IgG 混合、再经离心得到磁性微粒联接的羊抗兔 IgG。

其中磁性微粒联接的 Bt 晶体蛋白和磁性微粒联接的羊抗兔 IgG 的制备中，所述碱性为 pH10-12。所述将混合液调制为碱性后，进行氮气脱氧后振荡，使反应均匀、完全。

10 上述检测试剂盒中其它成分均为本领域公知的 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 放射免疫检测所用的其它常规试剂，可以外购或按文献配制，详见实施例。

将所述检测试剂盒中所有成分按一定量装入盒中，即可。

15 用本发明的检测试剂盒进行 Bt 晶体蛋白放射免疫检测的方法是，在若干放射免疫管中分别加入待测样品、Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 标准溶液和质量控制样品，然后对每一放射免疫管分别进行如下操作：

1. 加入上述磁性微粒联接的 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗体；
2. 加入  $^{125}\text{I}$ —Bt 晶体蛋白 Cry1Ac，混匀；
3. 将放射免疫管放置在磁分离器的管架上，连接磁分离器底部磁铁 25 分钟，再移走磁铁；
- 20 4. 加入上述磁性微粒联接的羊抗兔 IgG，振荡摇匀。再连接磁分离器底部磁铁 5 分钟；
5. 倒出溶液，加缓冲液冲洗一次后测沉淀放射性计数(cpm)；
6. 计算各管的结合率，作标准曲线，根据标准算出待测样品的含量。

25 在外加磁场的作用下，所制备的超顺磁颗粒吸附抗体，可加速与抗原的免疫反应，反应时间 30 分钟可达到平衡。

免疫反应平衡后，在反应容器底部放置磁铁，磁二抗（磁性联接羊抗兔 IgG）可与抗原-抗体复合物（Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗原与 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗体复合物）结合并自动沉淀，不用离心即可进行分离。

30

本发明在现有的放射免疫检测技术的基础上进行改进，所建立的检测方法和检测试剂盒可提高抗原抗体反应速率，减少测样时间，测定时间小于 40 分钟（达到免疫反应平衡时间 30 分钟）。本发明操作简便，抗原-抗体复合物为液-液反应，且分离时无需离心；

制样简单：蛋白只需粗提，不用离心分离。种子样品不用去酚和脱脂。

具体实施方式：

实施例 1

5 1、Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 的提取、纯化

培养基：

液体 LB（参见金冬雁等翻译，原著 J.萨姆布鲁克，1992。分子克隆实验指南第二版，科学出版社）：Tryptone 1%，Yeast extract 0.5%，NaCl 1%，pH7.0，15 磅，20min。

10 液体 Z 氏（参见左雅慧等，1999，几种 Bt 培养基的筛选和晶体蛋白纯化方法初探，植物保护，25（3），31—31）：蛋白胨 1%，酵母粉 0.2%，可溶性淀粉 0.3%，葡萄糖 0.2%， $K_2HPO_4$  0.1%， $KH_2PO_4$  1%， $CaCO_3$  0.2%，pH7.0，15 磅，20min。

活化菌株：

挑取单菌落（HD-73）于 LB 液体培养基中，37℃，200rpm，摇瓶培养 20—24 小时。

提取步骤：

15 按 1% 的接菌量将活化的菌液转接 Z 氏液体培养基中，37℃摇瓶培养 36—48 小时。离心，5000rpm，5min，收集所有菌体， $Na_2CO_3$  裂解 4—6hrs，0℃；aAc 沉淀 4hrs，0℃；离心，12000rpm，10min，4℃；收集沉淀，加适量  $Na_2CO_3$  溶解沉淀，0℃；DS-PAGE 电泳定量检测，获得 Bt Cry 蛋白（130KD）

Trypsin 酶解 Bt Cry 蛋白：

20 取 1ml Bt Cry 蛋白液，按蛋白：Trypsin=50：1 的比例加入 Trypsin，37℃酶解 8 小时得到酶解产物（Bt Cry 蛋白的毒素部分 60KD）。

Bt Cry 蛋白的活性检测：

Bt Cry 蛋白对小菜蛾、棉铃虫均有较高的杀虫活性。

25 2、抗血清制备

把 Bt 蛋白配制成 0.6mg / ml 溶液，加等量福氏完全试剂乳化，在新西兰白兔背部皮内多点注射，每两周加强免疫一次，免疫剂量减半，二个月后静脉取血，用放射免疫法测定抗血清。当抗血清滴度达到 1:5000 以上时，可全部取血，取血清，离心进行纯化。（所得抗血清滴度 1：10000）

30

3、标准配置

取纯品 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac，用缓冲液配成标准系列 0，5ng / ml，10ng / ml，50ng / ml，100ng / ml，500ng / ml，1000ng / ml。

## 4、超顺磁微粒的研制与抗体联接

- (1) 用戊二醛将 Aerosol 604 配成 1% 溶液。
- (2) 用少量蒸馏水溶解一定量  $Fe_3O_4$  粉末，加入 100ml 上述溶液中。混合液置入一个带盖的溶液中，滴加 10N NaOH 至 pH11。
- (3) 用氮气使其脱氧后，将容器盖紧，并将其放到振荡器中。
- (4) 在室温下振荡 24 小时，每隔一定时间用 10N NaOH 调节 pH，使维持 pH11。
- (5) 将混合物对水充分透析。
- (6) 以 2000×g 离心 30 分钟，使微粒沉淀。
- (7) 将微粒悬在蒸馏水中。
- (8) 加入戊二醛，使微粒活化 1 小时。
- (9) 离心，弃上清，加入抗血清(Tris-HCl 缓冲液稀释)，在室温下作用 8 小时。
- (10) 离心，弃上清，用 PBS 洗涤，用 BSA 液封闭未被联接的区域。
- (11) 去除 BSA 液，洗涤。在 4°C 下保存。

15

## 5、磁分离剂研制

制备方法同 4 相似，只是把 3% 的铁液代替  $Fe_3O_4$  溶液，用羊抗兔 IgG 代替抗血清。

6、Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 的  $^{125}I$  标记

- (1) 将 185MbcqNa $^{125}I$  与 100 $\mu$ l 的 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 溶液(30 $\mu$ )，用氯胺 T 法标记，经凝胶层析分离，收集 125I-蛋白峰。用 0.1M, pH7.4PBS 稀释至 200 $\mu$ l 中含有 2000cpm。

20

## 7、组装

- (1) 抗体最适量的确定：选取结合率为 50-60% 时的抗体浓度为实用浓度；
- (2) 标准调制：按表 1 顺序加样（从左至右），用对数纸作结合率-浓度曲线，求相关系数。当相关系数小于 0.9990 时，调整标准浓度。

25

表 1 加样顺序 (单位:  $\mu$ l)

试管号	名称	零标准	标准品	样品	抗血清	$^{125}I$ -PRL	磁场下	ISR	磁场下 5 分钟
1-2	NSB	200				100	37°C, 30 分钟	1000	
3-4	S <sub>0</sub>	100			100	100		1000	
5-16	S <sub>1</sub> -S <sub>6</sub>		100		100	100		1000	
17-22	QC		100		100	100			

(3)把抗体、<sup>125</sup>I 标记抗原、分离剂、标准和质控(由纯品配制, 浓度分别为 10ng / ml, 400ng / ml 和 1000ng / ml), 放置包装盒内。

## 5 实施例 2 试剂盒组成

1. Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 标准溶液(0.05M 磷酸缓冲液 pH7.4)系列, 浓度分别为 1000ng / ml、 500 ng / ml、 100ng / ml、 50ng / ml、 10ng / ml、 1ng / ml 和 0ng / ml, 共 7 瓶, 各 1ml。

2. 磁性微粒联接的 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗体溶液(Tris-HCl 缓冲液)一瓶, 10ml。  
10 兰色。

Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗体的制备参见文献(李振甲 韩春生 王建勋主编, 实用放射免疫学。科学技术出版社 pp21-40)。

磁性微粒联接的 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗体的制备: Aerosol 604 的 1%戊二醛溶液与 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 水溶液混合, 并调制为一定的 pH 后, 经氮气脱氧后振荡 24 小时(保持 pH), 对  
15 水透析、离心, 得到 100nm 微粒。微粒经过戊二醛活化后离心, 沉淀物与 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 抗血清(Tris-HCl 缓冲液)混合, 在室温下作用 8 小时。经离心、磷酸缓冲液洗涤、牛血清白蛋白封闭即得。

3. <sup>125</sup>I Bt 晶体蛋白 Cry1AC 一瓶, 10ml, 红色, 每 100μl 放射性活度约 20000cpm。  
20 制备方法参见文献(李振甲 韩春生 王建勋主编, 实用放射免疫学。科学技术出版社 pp41-59)。

4. 磁分离剂(磁性微粒联接的羊抗兔 IgG) 一瓶, 100ml, 黑色。其主要成分为磁性微粒联接的羊抗兔 IgG。

羊抗兔 IgG: 购自北京欣经科生物技术有限公司, 产品号: 10227。

磁性微粒联接的羊抗兔 IgG 的制备: Aerosol 604 的 1%戊二醛溶液与铁粉溶液混合,  
25 并调制为一定的 pH 后, 经氮气脱氧后振荡 24 小时(保持 pH), 对水透析、离心, 得到 100nm 微粒。微粒经过戊二醛活化后离心, 沉淀物与羊抗兔 IgG(Tris-HCl 缓冲液)混合, 在室温下作用 8 小时。经离心、磷酸缓冲液洗涤即得。

5. 质量控制样品, 低、中、高浓度各 1 瓶, 各 1ml 。

由 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 阳性和阴性质量控制标准样品(Agdia 公司, 阳性质量控制  
30 样品 LPC05200(货号)及阴性质量控制样品 LNC05200) 配制。

6. 蛋白提取液一瓶, 200ml (1L 蒸馏水中含有无水碳酸钠 2.66g、氯化钠 2.92g 和 Vc1g, 自行配制, 用于测样时样品的蛋白粗提)

### 实施例 3 测样过程

#### 1. 样品采集和蛋白粗提

取籽粒或新鲜叶片 1g, 加入蛋白提取液(1L 蒸馏水中含无水碳酸钠 2.66g、氯化钠 2.92g 和 Vc1g)2ml, 研磨成匀浆, 转移到小试管中, 稍微甩一下, 静止 5 分钟。吸取上清液待测。

#### 2. 操作程序

- 1) 在塑料试管上编号, 包括非特异管 (NSB)、零结合管( $S_0$ )、标准管( $S_1$ — $S_6$ )、质控管(Qc1,2,3), 样本管(U), 以上试管必须双管标号。
- 2) 向 NSB 管加入 200 $\mu$ l 零标准品,  $S_0$ 管加入 100 $\mu$ l 零标准品, 向其它试管加入 100 $\mu$ l 相对应的标准、质控或样本。
- 3) 向除了 NSB 管之外的所有试管中加入 100 $\mu$ l 微粒联接抗血清。
- 4) 向所有试管中加入 100 $\mu$ l  $^{125}$ I—Bt 晶体蛋白 Cry1Ac, 混匀, 任取三管测放射性计数, 取其平均值作为总放射性计数(T)。
- 5) 把所有试管置于磁分离器的上层管架上, 连上磁分离器底部磁铁, 37 $^{\circ}$ C 放置 25 分钟。移走底部磁铁。
- 6) 向所有试管中加入 1.0ml 磁分离剂, 振荡摇匀。再连上磁分离器底部磁铁, 5 分钟。
- 7) 倒出溶液, 加缓冲液冲洗一次。测沉淀放射性计数(cpm)。

#### 3. 结果计算

1) 计算每对试管 (T、NSB、 $B_0$ 、B)的平均计数, 净计数=平均 cpm—本底计数

2) 非特异结合率和最大结合率分别为:  $NSB / T \times 100$ ,  $(B_0 - NSB) / T \times 100$

3) 各标准管、样本管结合率为:  $B / B_0 \% = (B - NSB / B_0 - NSB) \times 100$ , 其中  
B = 标准管 (或样本管)双管计数的均值,  $B_0$  = 零标准 ( $S_0$ ) 双管计数的均值,  
NSB = 非特异双管计数的均值。

4) 以上各标准管的  $B / B_0 \%$ 为纵坐标, 以标准点浓度为横坐标, 在 Logit—Log 双坐标纸上作标准曲线。

5) 根据待测样本的结合率, 从标准曲线上查出相应的样品 Bt 蛋白含量。

表 2 不同免疫反应时间下的测定效果

免疫反应时间	3 小时	1 小时	40 分钟	30 分钟	20 分钟
$(B_0 - NSB) / T \times 100$	46.7%	46.4%	47.1%	46.9%	33.2%
QC1(10ng / ml)测定值	11.2	11.3	10.5	11.4	15.8
QC2(400ng / ml)测定值	430.4	433.4	434.1	435.6	344.4

QC3(1000ng / ml)测定值	1004.3	1130.9	959.7	1040.4	823.2
---------------------	--------	--------	-------	--------	-------

注：1. 免疫反应时间在 30 分钟时，结合率、质控测定值在允许范围内。

2. 分离无需离心。

3. 分析灵敏度为 0.5ppb(0.5ng / ml)。

4. 反应温度为 37°C。

5

实施例 4 与酶联免疫法相比较进行 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 测定

分别用本发明的方法与现有酶联免疫方法测定了玉米和棉花样品中 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 含量，并进行了比较。

实验目的：检查本发明方法及试剂盒的检测结果的准确性；

10

测定方法：

1、样品的提取，同实施例 3 测样过程 1. 样品采集和蛋白粗提；

2、酶联免疫法的测定依照 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 试剂盒（Agdia 公司，货号 PSA05200/0096）说明书进行；

3、本发明方法的测定步骤同本发明实施例 3 中的 2. 操作顺序；

15

结果见下表。

表 3 玉米和棉花 Bt 晶体蛋白 Cry1Ac 测定结果

	普通玉米		转 Bt 玉米		普通棉花		转 Bt 棉花	
	叶片	籽粒	叶片	籽粒	叶片	籽粒	叶片	籽粒
酶联免疫	-	-	15 ng/ml	67 ng/ml	-	-	34 ng/ml	102 ng/ml
本方法	-	-	13 ng/ml	75 ng/ml	-	-	28 ng/ml	96 ng/ml

从表中数据可看出：阴性样品用本发明方法测定的结果为阴性，阳性样品用本发明方法测定的结果为阳性，并且两种方法测定样品含量的数据无显著性差异。

20

结论：本发明方法测定结果与酶联免疫法相符。

专利名称(译)	Bt晶体蛋白Cry1Ac放射免疫检测试剂盒及其制备方法和检测方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN1501082A</a>	公开(公告)日	2004-06-02
申请号	CN02148811.8	申请日	2002-11-18
[标]申请(专利权)人(译)	中国农业科学院原子能利用研究所		
申请(专利权)人(译)	中国农业科学院原子能利用研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国农业科学院原子能利用研究所		
[标]发明人	潘家荣 张维 张杰 乔艳红 宋平 李锦波 林敏 黄大昉		
发明人	潘家荣 张维 张杰 乔艳红 宋平 李锦波 林敏 黄大昉		
IPC分类号	C12Q1/00 G01N21/00 G01N33/53 G01N33/534 G01N33/58 G01N33/68		
代理人(译)	张涛		
其他公开文献	CN1210568C		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种Bt晶体蛋白Cry 1Ac放射免疫检测试剂盒及其制备方法和检测方法。本发明用戊二醛、Aerosol 604和四氧化三铁制备磁性微粒，并与Bt晶体蛋白Cry 1Ac抗体连接，在磁场下Bt晶体蛋白Cry 1Ac与Bt晶体蛋白Cry 1Ac抗体特异反应加快，测样时间缩短到40分钟。本发明还用磁性微粒连接IgG制备免疫分离剂，在磁场的作用下，抗原抗体复合物自动沉淀，不需离心即可分离。

表1 加样顺序 (单位:  $\mu\text{l}$ )

试管号	名称	零标准	标准品	样品	抗血清	$^{125}\text{I}$ -PRL	磁场下	ISR	磁场下
1-2	NSB	200				100	37°C, 30分钟	1000	5分钟
3-4	S <sub>0</sub>	100			100	100		1000	
5-16	S <sub>1</sub> -S <sub>6</sub>		100		100	100		1000	
17-22	QC		100		100	100			