



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106771137 B

(45)授权公告日 2018.10.02

(21)申请号 201611242592.3

审查员 李进进

(22)申请日 2016.12.29

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106771137 A

(43)申请公布日 2017.05.31

(73)专利权人 浙江省食品药品检验研究院

地址 310052 浙江省杭州市滨江区平乐路
325号

专利权人 北京勤邦生物技术有限公司

(72)发明人 沈泓 李珏 万宇平 王兆山

郭振环 陈万勤 匡荣 罗金文
冯静

(51)Int.Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

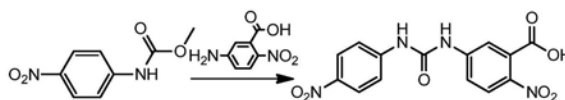
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54)发明名称

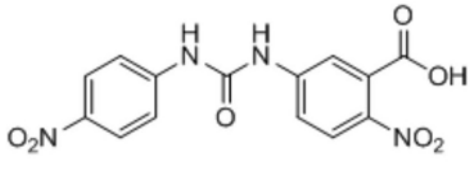
检测尼卡巴嗪的酶联免疫试剂盒及其应用

(57)摘要

本发明提供了一种检测尼卡巴嗪的酶联免疫试剂盒,它包括:包被有尼卡巴嗪偶联抗原的酶标板、尼卡巴嗪单克隆抗体、酶标记抗抗体、尼卡巴嗪单克隆抗体、酶标记抗抗体、尼卡巴嗪标准品溶液、底物显色液、终止液、洗涤液、复溶液;其中,尼卡巴嗪偶联抗原是由尼卡巴嗪半抗原与载体蛋白偶联得到,尼卡巴嗪半抗原是由N-(4-硝基苯)-氨基甲酸酯与5-氨基-2-硝基苯甲酸反应得到。本发明提供的酶联免疫试剂盒可用于检测样品中尼卡巴嗪的含量,其操作简便、费用低廉、灵敏度高、能够现场监控且适合大量样本的筛查。



1. 一种检测尼卡巴嗪的酶联免疫试剂盒,包括:包被有4,4'-二硝基均二苯脲偶联抗原的酶标板、4,4'-二硝基均二苯脲单克隆抗体、酶标记抗抗体、4,4'-二硝基均二苯脲标准品溶液、底物显色液、终止液、洗涤液、复溶液,其特征在于,所述4,4'-二硝基均二苯脲偶联抗原是由4,4'-二硝基均二苯脲半抗原与载体蛋白偶联得到,所述载体蛋白为鼠血清蛋白、甲状腺蛋白、牛血清白蛋白、兔血清蛋白、人血清白蛋白、卵清蛋白、血蓝蛋白或纤维蛋白原,所述4,4'-二硝基均二苯脲半抗原是由N-(4-硝基苯)-氨基甲酸酯与5-氨基-2-硝基苯甲酸反应得到,分子结构式为:



2. 如权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述4,4'-二硝基均二苯脲单克隆抗体是以4,4'-二硝基均二苯脲偶联抗原作为免疫原制备获得。

3. 如权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述酶标记抗抗体中的抗抗体为羊抗鼠抗抗体。

4. 如权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述酶标记抗抗体中的标记酶为辣根过氧化物酶,所述底物显色液由底物液A液和底物液B液组成,底物液A液为过氧化氢或过氧化脲,底物液B液为邻苯二胺或四甲基联苯胺,所述终止液为1~2mol/L的硫酸溶液。

5. 如权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述洗涤液为pH值为7.4,含有0.5%~1.0%吐温-20、0.01%~0.03%叠氮化钠的0.1~0.3mol/L磷酸盐缓冲液;所述复溶液为pH值为7.0的0.1mol/L磷酸盐缓冲液。

6. 如权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述4,4'-二硝基均二苯脲标准品溶液的浓度分别为0 μ g/L、1 μ g/L、3 μ g/L、9 μ g/L、27 μ g/L和81 μ g/L。

检测尼卡巴嗪的酶联免疫试剂盒及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及酶联免疫检测技术,具体涉及一种用于检测尼卡巴嗪的酶联免疫试剂盒。

背景技术

[0002] 在集约化养殖中,球虫病作为常发病,可引起禽类动物生产性能下降,严重制约了养禽业的发展。尼卡巴嗪由于安全、高效、耐药虫株少、无免疫抑制作用,被广泛应用于畜禽业。尼卡巴嗪又名球虫净,分子式 $C_{13}H_{10}N_4O_5 \cdot C_6H_8N_2O$,分子量426.39,CAS号330-95-0,为4,4'-二硝基均二苯脲(DNC)和2-羟基-4,6-二甲基嘧啶(HDP)的等分子复合体,黄色或黄绿色粉末,无臭、稍具异味,微溶于二甲基甲酰胺中,几乎不溶于水、乙醇、乙酸乙酯、氯仿和乙醚中。由于尼卡巴嗪复合物中的HDP成分在动物体内可迅速经尿排除体外,而抗球虫活性成分DNC通过粪便排泄较缓慢,因此国际上和我国均规定尼卡巴嗪在鸡组织中的残留标识物为DNC。1999年食品法典委员会(Codex Aliment Commission,CAC)确定尼卡巴嗪在鸡组织中的最大残留限量(MRL)为0.2mg/kg,日许量(ADI)为0-400 μ g/kg \cdot bw;2002年,FAO/WHO公布禁止在进口动物源性食品中使用尼卡巴嗪,日本相继公布了进口禽肉中尼卡巴嗪的最大残留限量为0.2mg/kg;我国农业部2002年发布的235号公告《动物性食品中兽药最高残留限量》规定了尼卡巴嗪在鸡组织中的MRL为0.2mg/kg。

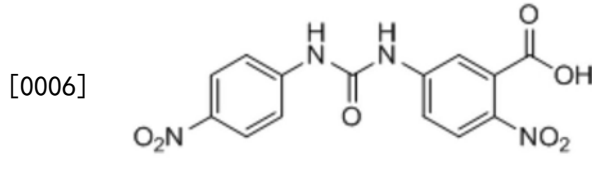
[0003] 作为一种良好的抗球虫药,尼卡巴嗪应用非常广泛,然而饲喂后在家禽的肌肉及其他组织中会造成不同程度的残留,危害人民群众的生命健康,影响我国禽产品的出口。为保障人类摄食动物性食品安全,同时又可有效地使用尼卡巴嗪防治鸡球虫病,有必要建立一种灵敏、简便、快速的尼卡巴嗪检测方法。目前尼卡巴嗪的检测方法主要有高效液相色谱法、微柱高效液相色谱法、差示脉冲极谱法、分光光度法、气相色谱法、高效液相色谱-串联质谱法。高效液相色谱法是检测尼卡巴嗪残留最常用的方法,其灵敏度高、特异性好、检测限低,仪器要求多数实验室可以满足,但此法样品提取和净化步骤繁琐、不便于同时处理大批样品、回收率有时偏低而且不稳定、对实验人员要求高,并且使用了大量有毒溶剂,不适用于常规检测;气相色谱法和LC-MS/MS方法不仅灵敏度高,而且可以确证,但需要昂贵的仪器和专门的技术人员,难以满足大量样品和现场样品快速检测的需要。酶联免疫吸附分析法(ELISA)具有简便快速、特异灵敏、样品容量大、分析成本低的特点,可以简化甚至省去样品净化步骤,在大量样本和现场样本快速筛选检测中显示出独特优势,能够更好地满足我国企业、政府职能监管部门等开展检测工作,极具发展潜力。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种结构简单、使用方便、价格便宜、便于携带的用于尼卡巴嗪检测的酶联免疫试剂盒,并提供一种高效、准确、简便、适于大批量样本筛选的定性、定量检测方法。

[0005] 本发明试剂盒,它包括:包被有尼卡巴嗪偶联抗原的酶标板、尼卡巴嗪单克隆抗

体、酶标记抗抗体、尼卡巴嗪标准品溶液、底物显色液、终止液、洗涤液、复溶液；所述尼卡巴嗪偶联抗原是由尼卡巴嗪半抗原与载体蛋白偶联得到，所述载体蛋白为鼠血清蛋白、甲状腺蛋白、牛血清白蛋白、兔血清蛋白、人血清白蛋白、卵清蛋白、血蓝蛋白或纤维蛋白原，所述尼卡巴嗪半抗原是由N-(4-硝基苯)-氨基甲酸酯与5-氨基-2-硝基苯甲酸反应得到，分子结构式为：



[0007] 所述尼卡巴嗪单克隆抗体是以尼卡巴嗪偶联抗原作为免疫原制备获得。

[0008] 所述酶标记抗抗体中的抗抗体为羊抗鼠抗抗体。

[0009] 所述酶标记抗抗体中的标记酶为辣根过氧化物酶；酶标记抗抗体是采用戊二醛法或过碘酸钠法将标记酶与抗抗体进行偶联得到的。

[0010] 为了方便现场监控和大量样本筛查，所述试剂盒还包括尼卡巴嗪标准品溶液、底物显色液、终止液、洗涤液、复溶液。

[0011] 所述尼卡巴嗪标准品溶液6瓶，浓度分别为0 μ g/L、1 μ g/L、3 μ g/L、9 μ g/L、27 μ g/L和81 μ g/L。

[0012] 所述底物显色液由底物液A液和底物液B液组成，底物液A液为过氧化氢或过氧化脲，底物液B液为邻苯二胺或四甲基联苯胺，所述终止液为1~2mol/L的硫酸溶液。

[0013] 所述洗涤液优选为pH值为7.4，含有0.5%~1.0%吐温-20、0.01‰~0.03‰叠氮化钠的0.1~0.3mol/L磷酸盐缓冲液。

[0014] 所述复溶液优选为pH值为7.0的0.1mol/L磷酸盐缓冲液。

[0015] 其中在酶标板制备过程中所用到的包被缓冲液为pH值为9.6的0.05mol/L碳酸盐缓冲液，封闭液为pH值为7.1~7.5，含有1%~3%酪蛋白的0.1~0.3mol/L磷酸盐缓冲液。

[0016] 本发明中酶标板的制备过程为：用包被缓冲液将包被原稀释成20 μ g/mL，每孔加入100 μ L，37 $^{\circ}$ C避光孵育2h或4 $^{\circ}$ C过夜，倾去孔中液体，用洗涤液洗涤2次，每次30s，拍干，然后在每孔中加入150~200 μ L封闭液，37 $^{\circ}$ C避光孵育1~2h，倾去孔内液体拍干，干燥后用铝膜真空密封保存。

[0017] 本发明的检测原理为：

[0018] 在微孔条上预包被尼卡巴嗪偶联抗原，加入样本溶液或标准品溶液后，再加入尼卡巴嗪单克隆抗体溶液，样本中的尼卡巴嗪与酶标板上包被的尼卡巴嗪偶联抗原竞争尼卡巴嗪单克隆抗体，加入酶标记抗抗体进行放大作用，用显色液显色，样本吸光度值与尼卡巴嗪的含量呈负相关，与标准曲线比较即可得到样本中尼卡巴嗪的残留量；同时根据酶标板上颜色的深浅，与系列浓度的标准品溶液颜色的比较可粗略判断样本中尼卡巴嗪残留量的浓度范围。

[0019] 本发明检测尼卡巴嗪的酶联免疫试剂盒主要采用间接竞争ELISA方法定性或定量检测样本中尼卡巴嗪的含量，能同时快速检测大批量样本；主要试剂以工作液的形式提供，检验方法方便易行，具有特异性高、灵敏度高、精确度高、准确度高等特点。本发明的酶联免疫试剂盒，结构简单、使用方便、价格便宜、携带便利、检测方法高效、准确、简便、适于大批

量样本筛选的定性、定量检测。

附图说明

[0020] 图1: 尼卡巴嗪半抗原合成路线图

[0021] 图2: 试剂盒标准曲线图

具体实施方式

[0022] 下面结合具体的实施例来进一步阐述本发明。应理解, 这些实施例仅用于说明本发明, 而不用来限制本发明的范围。

[0023] 实施例1试剂盒组分的制备

[0024] 1、尼卡巴嗪半抗原的合成(合成路线见附图1)及鉴定

[0025] 取N-(4-硝基苯)-氨基甲酸酯1.0g, 加吡啶50mL溶解, 加5-氨基-2-硝基苯甲酸1.02g, 充分搅拌, 溶解澄清, 油浴加热, 回流反应24h。停止反应, 旋蒸, 蒸干, 除去吡啶, 得到红色油状物, 200-300目硅胶柱层析纯化, 洗脱剂石油醚/乙酸乙酯(v/v, 1/1)洗脱分离, 纯化, 得到羧基尼卡巴嗪半抗原产物。核磁鉴定¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ : 11.01 (1H, s), 8.454 (1H, dd, J=8.743, J=4.628), 8.614 (1H, s), 8.16 (1H, dd, J=8.743, J=1.634), 7.821 (2H, dd, J=8.743, J=1.634), 6.00 (2H, ss), 8.249 (2H, dd, J=8.657)。

[0026] 图谱中, 化学位移 $\delta=11.0$ 的为半抗原上羧基氢的共振吸收峰, $\delta=6.0$ 的为酰胺上氢的共振吸收峰, 这些特征峰的存在, 证明半抗原结构正确。

[0027] 2、尼卡巴嗪偶联抗原的合成及鉴定

[0028] 免疫原制备——尼卡巴嗪半抗原与人血清白蛋白(HSA)偶联得到免疫原。

[0029] 取羧基尼卡巴嗪半抗原13mg, 加二甲基亚砜(DMSO)溶解, 加碳二亚胺(EDC) 8.6mg, 室温搅拌1h, 加N-琥珀酰亚胺(NHS) 5.2mg, 继续搅拌2h, 得到反应液A液; 取HSA 50mg, 加pH=7.4的PB溶解, 得到B液, 将A液缓慢滴加到B液中, 室温, 避光搅拌反应4h; 停止反应, 0.02mol/L PBS透析纯化3天, 每天换液3次, 分装, -20℃保存, 备用。

[0030] 包被原制备——尼卡巴嗪半抗原与卵清蛋白(OVA)偶联得到包被原。

[0031] 取羧基尼卡巴嗪半抗原5.7mg, 加丙酮溶解, 加三乙胺20 μ L, 室温搅拌30min, 加氯甲酸异丁酯2.7 μ L, 继续搅拌2h, 得到半抗原活化液A液; 取OVA 50mg, 加碳酸盐缓冲液溶解, 得到B液, 缓慢滴加A液到B液中, 继续搅拌4h; 停止反应, 0.02mol/L PBS透析纯化3天, 每天换液3次, 分装, -20℃保存, 备用。

[0032] 按合成尼卡巴嗪偶联抗原反应所用半抗原、载体蛋白与偶联产物的比例, 进行紫外(200nm~400nm)扫描测定, 通过比较三者分别在260nm和280nm的吸光值计算其结合比。偶联物尼卡巴嗪半抗原-载体蛋白的最大吸收峰与尼卡巴嗪半抗原、载体蛋白的最大吸收峰相比发生了明显的变化, 表明尼卡巴嗪半抗原-载体蛋白的合成是成功的。

[0033] 3、尼卡巴嗪单克隆抗体的制备

[0034] (1) 杂交瘤细胞的获得

[0035] 1) 首次免疫: 将尼卡巴嗪半抗原-HSA偶联物(免疫原)与等量的弗氏完全佐剂充分乳化, 皮下注射6周龄的Balb/c小鼠, 每只0.2mL;

[0036] 2) 加强免疫两次: 从首次免疫开始, 每两周加强免疫一次, 用弗氏不完全佐剂代替

弗氏完全佐剂,方法和剂量同首次免疫;

[0037] 3) 最后一次加强免疫一周后眼底静脉采血测效价和抑制,有抑制且效价达到1:10000以上时进行如下末次免疫:腹腔注射不加任何佐剂的免疫原溶液0.1mL,三天后处死小鼠,取其脾脏与骨髓瘤细胞融合;

[0038] 4) 采用间接竞争酶联免疫分析方法测定细胞上清液,筛选阳性孔。利用有限稀释法对阳性孔进行克隆化,得到并建立稳定分泌尼卡巴嗪单克隆抗体的杂交瘤细胞株,取处于对数生长期的杂交瘤细胞用冻存液制成细胞悬液,分装于冻存管,在液氮中长期保存。

[0039] (2) 单克隆抗体的制备

[0040] 1) 细胞复苏:取出尼卡巴嗪单克隆抗体杂交瘤细胞株冻存管,立即放入37℃水浴中速融,离心去除冻存液后,移入培养瓶内培养;

[0041] 2) 制备腹水与抗体纯化:采用体内诱生法,将Balb/c小鼠(8周龄)腹腔注入灭菌石蜡油0.5mL/只,7天后腹腔注射杂交瘤细胞 5×10^5 个/只,7天后采集腹水。用辛酸-饱和硫酸铵法进行纯化,得到尼卡巴嗪单克隆抗体溶液(-20℃保存)。

[0042] (3) 单克隆抗体效价的测定

[0043] 用间接竞争ELISA法测定抗体的效价为1:(150000~300000)。

[0044] 间接竞争ELISA方法:用尼卡巴嗪半抗原-OVA偶联物包被酶标板,加入尼卡巴嗪标准品溶液、尼卡巴嗪单克隆抗体溶液和辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠抗抗体溶液,25℃反应30min,倒出孔内液体,用洗涤液洗涤3~5次,用吸水纸拍干;加入底物显色液,25℃反应15min后,加入终止液终止反应;设定酶标仪于波长450nm处测定每孔吸光度值。

[0045] (4) 单克隆抗体特异性的测定

[0046] 抗体特异性是指它同特异性抗原结合的能力与同该类抗原类似物结合能力的比较,常用交叉反应率作为评价标准。交叉反应越小,抗体的特异性则越高。

[0047] 本实验将尼卡巴嗪、地克利珠、盐霉素、二硝托胺、莫能霉素、乙氧酰胺苯甲酯、磺胺喹噁啉做系列稀释,分别与单克隆抗体进行间接竞争ELISA,制作标准曲线,分析得到 IC_{50} ,然后按下式计算交叉反应率:

$$[0048] \quad \text{交叉反应率}(\%) = \frac{\text{引起 50\%抑制的尼卡巴嗪浓度}}{\text{引起 50\%抑制的其他抗球虫药浓度}} \times 100\%$$

[0049] 结果显示各类似物的交叉反应率为:尼卡巴嗪100%、地克利珠<1%、盐霉素<1%、二硝托胺<1%、莫能霉素<1%、乙氧酰胺苯甲酯<1%、磺胺喹噁啉<1%。本发明抗体对地克利珠、盐霉素、二硝托胺、莫能霉素、乙氧酰胺苯甲酯、磺胺喹噁啉等其他抗球虫药无交叉反应,只针对尼卡巴嗪有特异性结合。

[0050] 4、羊抗鼠抗抗体的制备

[0051] 以羊为免疫动物,以鼠源抗体为免疫原免疫无病原体羊,得到羊抗鼠抗抗体。

[0052] 5、酶标记抗抗体的制备

[0053] 将羊抗鼠抗抗体与辣根过氧化物酶(HRP)采用改良后的过碘酸钠法进行偶联。传统的过碘酸钠法要求反应体系中酶与抗体的摩尔浓度比为4:1,由于辣根过氧化物酶在强氧化作用下产生许多与抗体结合的位点,这样活化的辣根过氧化物酶分子充当了连接各分子的桥梁,降低了酶标记物的酶活性,使制备的偶联物中混有许多聚合体。为了解决这个问题,我们将传统的方法进行了改良,即:

[0054] (1) 省去了氨基的封闭过程,因为能产生自身氨基连接的氨基实际很少;
[0055] (2) 降低辣根过氧化物酶与抗体的摩尔浓度比率至2:1,改良后的方法比传统的方法简便,对酶活性的损失减少。

[0056] 6、酶标板的制备

[0057] 用包被缓冲液将包被原(尼卡巴嗪半抗原-OVA偶联物)稀释成20 $\mu\text{g}/\text{mL}$,每孔加入100 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育2h,倾去孔中液体,用洗涤液洗涤2次,每次30s,拍干,然后在每孔中加入200 μL 封闭液,37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育2h,倾去孔内液体拍干,干燥后用铝膜真空密封保存。

[0058] 实施例2检测尼卡巴嗪的酶联免疫试剂盒的组建

[0059] 组建检测尼卡巴嗪的酶联免疫试剂盒,使其包含下述组分:

[0060] (1) 包被尼卡巴嗪偶联抗原的酶标板;

[0061] (2) 尼卡巴嗪标准品溶液6瓶,浓度分别为0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、3 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、9 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、27 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和81 $\mu\text{g}/\text{L}$;

[0062] (3) 尼卡巴嗪单克隆抗体工作液;

[0063] (4) 用辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠抗抗体;

[0064] (5) 底物显色液由A液和B液组成,A液为过氧化脲,B液为四甲基联苯胺;

[0065] (6) 终止液为2 mol/L 硫酸;

[0066] (7) 洗涤液为pH值为7.4,含有0.5%~1.0%吐温-20、0.01%~0.03%叠氮化钠的0.1~0.3 mol/L 磷酸盐缓冲液;

[0067] (8) 复溶液为pH值为7.0的0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液。

[0068] 实施例3检测尼卡巴嗪的酶联免疫试剂盒的应用

[0069] 1、用试剂盒检测

[0070] 向包被有尼卡巴嗪偶联抗原的酶标板微孔中加入尼卡巴嗪标准品溶液或经前处理的样本溶液50 $\mu\text{L}/\text{孔}$,然后加入尼卡巴嗪单克隆抗体工作液50 $\mu\text{L}/\text{孔}$,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置25 $^{\circ}\text{C}$ 避光反应30min;倒出孔内液体,每孔加入250 μL 洗涤液充分洗涤4~5次,每次间隔10s,用吸水纸拍干;再加入辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠抗抗体100 $\mu\text{L}/\text{孔}$,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置25 $^{\circ}\text{C}$ 避光反应30min,取出重复洗板步骤;每孔加入底物液A液过氧化脲50 μL ,底物液B液四甲基联苯胺(TMB) 50 μL ,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置25 $^{\circ}\text{C}$ 避光显色15min,每孔加入终止液2 mol/L 硫酸50 μL ,轻轻振荡混匀,用酶标仪波长设定在450nm处,测定每孔吸光度值(OD值)。

[0071] 2、检测结果分析

[0072] 用所获得的每个浓度的标准品溶液的吸光度平均值(B)除以第一个标准品溶液(0标准)的吸光度值(B_0)再乘以100%,得到百分吸光度值。以尼卡巴嗪标准品浓度($\mu\text{g}/\text{L}$)的对数值为X轴,百分吸光度值为Y轴,绘制标准曲线,如图2所示。用同样的办法计算样本溶液的百分吸光度值,相对应每一个样本的尼卡巴嗪残留量则可从标准曲线上读出。

[0073] 3、试剂盒灵敏度

[0074] 按照常规方法测定试剂盒灵敏度,试剂盒标准曲线最低点为1 $\mu\text{g}/\text{L}$,标准曲线的范围为1~81 $\mu\text{g}/\text{L}$, IC_{50} (50%抑制浓度)浮动范围为3.5~5.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

[0075] 4、试剂盒稳定性试验

[0076] 试剂盒保存条件为2~8 $^{\circ}\text{C}$,经过12个月的测定,试剂盒的最大吸光度值(零标准)、

50%抑制浓度均在正常范围之内。考虑在运输和使用过程中,会有非正常保存条件出现,将试剂盒在37℃保存条件下放置7天,进行加速老化实验,结果表明该试剂盒各项指标完全符合要求。考虑到试剂盒冷冻情况发生,将试剂盒放入-20℃冰箱冷冻7天,测定结果也表明试剂盒各项指标完全正常。从以上结果可得出试剂盒可以在2~8℃至少保存12个月以上。

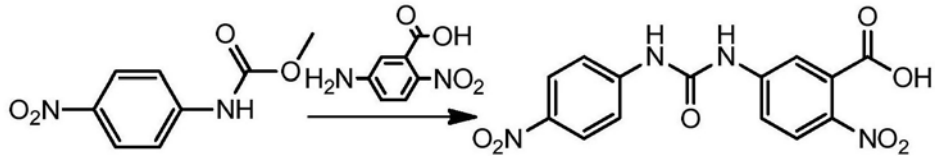


图1

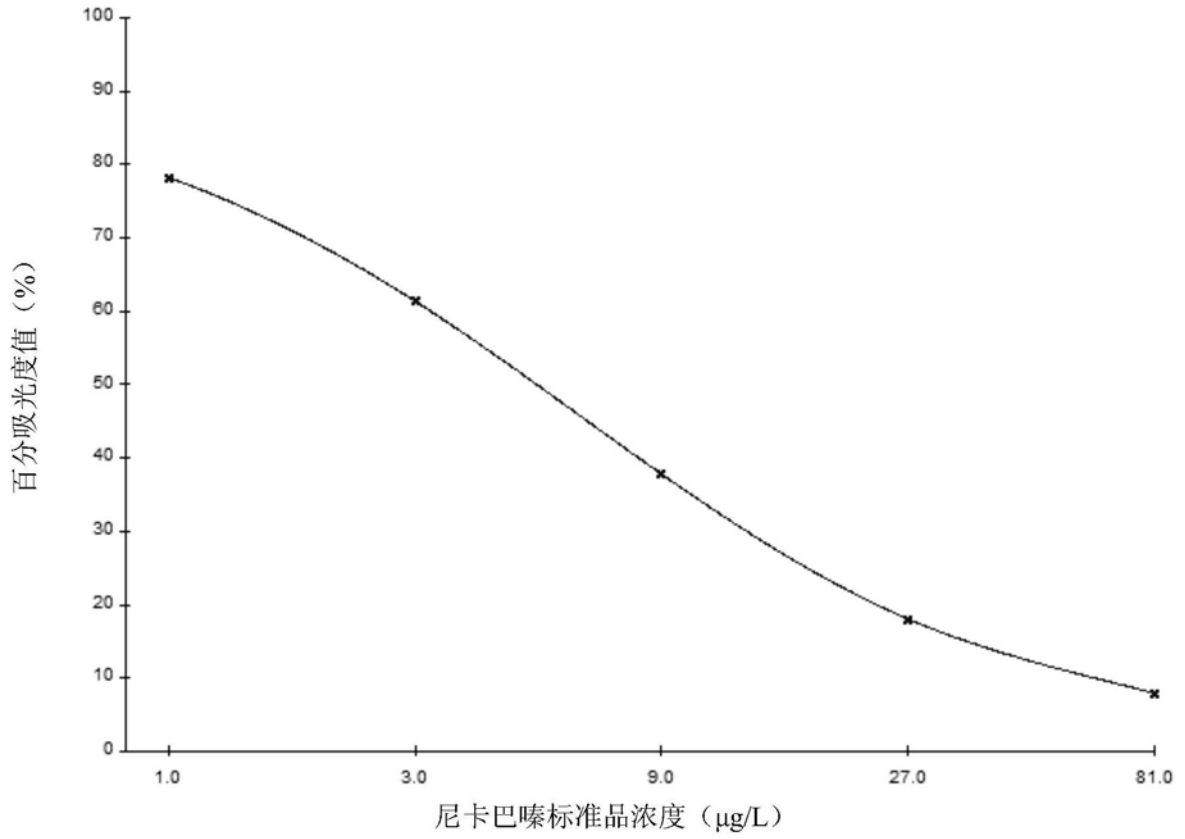


图2

专利名称(译)	检测尼卡巴嗪的酶联免疫试剂盒及其应用		
公开(公告)号	CN106771137B	公开(公告)日	2018-10-02
申请号	CN201611242592.3	申请日	2016-12-29
[标]申请(专利权)人(译)	浙江省食品药品检验研究院 北京勤邦生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	浙江省食品药品检验研究院 北京勤邦生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	浙江省食品药品检验研究院 北京勤邦生物技术有限公司		
[标]发明人	沈泓 李珏 万宇平 王兆山 郭振环 陈万勤 匡荣 罗金文 冯静		
发明人	沈泓 李珏 万宇平 王兆山 郭振环 陈万勤 匡荣 罗金文 冯静		
IPC分类号	G01N33/535 G01N33/577		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/577		
审查员(译)	李进进		
其他公开文献	CN106771137A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种检测尼卡巴嗪的酶联免疫试剂盒，它包括：包被有尼卡巴嗪偶联抗原的酶标板、尼卡巴嗪单克隆抗体、酶标记抗体、尼卡巴嗪标准品溶液、底物显色液、终止液、洗涤液、复溶液；其中，尼卡巴嗪偶联抗原是由尼卡巴嗪半抗原与载体蛋白偶联得到，尼卡巴嗪半抗原是由N-(4-硝基苯)-氨基甲酸酯与5-氨基-2-硝基苯甲酸反应得到。本发明提供的酶联免疫试剂盒可用于检测样品中尼卡巴嗪的含量，其操作简便、费用低廉、灵敏度高、能够现场监控且适合大量样本的筛查。

