



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109596820 A

(43)申请公布日 2019.04.09

---

(21)申请号 201710924251.2

(22)申请日 2017.09.30

(71)申请人 雷仲德

地址 225000 江苏省扬州市邗江区蒋王街  
道文汇西路306号

(72)发明人 雷仲德

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

---

权利要求书1页 说明书3页

(54)发明名称

酶联免疫吸附测定溶液系统

(57)摘要

本发明提供了生物科技领域内的酶联免疫吸附测定溶液系统,包括包被缓冲液、封闭液一、磷酸盐缓冲液、底物缓冲液、终止液、洗涤缓冲液、抗体稀释液、酶标抗体稀释液、硼酸盐包被缓冲液、封闭液二、封闭液三、封闭液四和饲料谷物样品提取液。

1. 酶联免疫吸附测定溶液系统,其特征在于,包括包被缓冲液、封闭液一、磷酸盐缓冲液、底物缓冲液、终止液、洗涤缓冲液、抗体稀释液、酶标抗体稀释液、硼酸盐包被缓冲液、封闭液二、封闭液三、封闭液四和饲料谷物样品提取液。

2. 根据权利要求1所述的酶联免疫吸附测定溶液系统,其特征在于,所述包被缓冲液由NaCO<sub>3</sub>和NaHCO<sub>3</sub>加入去离子水定容至1L制成。

3. 根据权利要求1或2所述的酶联免疫吸附测定溶液系统,其特征在于,所述封闭液一由蔗糖、酪蛋白、Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O、Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O、小牛血清、Proclin300和去离子水制成,去离子水为950mL;所述封闭液二由蔗糖、酪蛋白、Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O、Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O和Proclin300加入去离子水定容至1L而制成;其中,封闭液一和封闭液二中,所述蔗糖为50g,酪蛋白为2.5g,Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O为5.8g,Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O为0.593g,小牛血清为50mL,Proclin300为300μL;所述封闭液三由脱脂奶粉加去离子水定容至100mL制成,脱脂奶粉为5.0g;所述封闭液四由BSA加去离子水定容至100mL制成,所述BSA为1.0g。

4. 根据权利要求1或2所述的酶联免疫吸附测定溶液系统,其特征在于,所述磷酸盐缓冲液由NaCl、KC1和Na<sub>2</sub>HP04加去离子水定容至1L制成,所述NaCl、KC1和Na<sub>2</sub>HP04分别为8.00g、0.20g和1.15g;所述底物缓冲液由Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O和柠檬酸加去离子水定容至1L制成,所述Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O和柠檬酸的重量分别为3.68g和0.94g。

5. 根据权利要求4所述的酶联免疫吸附测定溶液系统,其特征在于,所述TMB底物测定液由TMB储存液、底物缓冲液和30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>制成,其中,所述TMB储存液、底物缓冲液和30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的容积分别为0.4mL、10mL和10μL。

6. 根据权利要求1或2所述的酶联免疫吸附测定溶液系统,其特征在于,所述终止液由浓硫酸和去离子水制成,所述浓硫酸和去离子水的容积分别为22.2mL和177.8mL;所述洗涤缓冲液由Tween-20和PBS制成,所述Tween-20和PBS的容积分别为0.5mL和1000mL。

7. 根据权利要求1或2所述的酶联免疫吸附测定溶液系统,其特征在于,所述抗体稀释液由0.1M的Na<sub>2</sub>HP04溶液和0.1M的NaH<sub>2</sub>PO4溶液加入去离子水溶解定容至100mL制成;所述酶标抗体稀释液由小牛血清、Na<sub>2</sub>HP04、NaH<sub>2</sub>PO4·2H<sub>2</sub>O、NaCl、KC1和Proclin300加去离子水定容至1L制成,其中,所述小牛血清和Proclin300的容积分别为50mL和200μL,Na<sub>2</sub>HP04、NaH<sub>2</sub>PO4·2H<sub>2</sub>O、NaCl和KC1的重量分别为1.072g、0.593g、16g和0.4g。

8. 根据权利要求1或2所述的酶联免疫吸附测定溶液系统,其特征在于,所述饲料谷物样品提取液由85%的磷酸和NaCl加去离子水定容至1L制成,所述磷酸的容积为33.7mL,NaCl的重量为118g。

## 酶联免疫吸附测定溶液系统

### 技术领域

[0001] 本发明属于生物科技领域,特别涉及酶联免疫吸附测定溶液系统。

### 背景技术

[0002] OTA广泛存在于粮谷类、葡萄干、可可、巧克力、咖啡、葡萄酒、调料、乳制品等多种食品和饲料中,可以通过食物链进入人和动物体内,具有蓄积毒性。饲料中OTA的污染较为严重,动物通过采食被污染的饲料摄入ota。研究发现,单胃动物摄入体内的OTA大部分通过血液被转移至肾脏,并在消化道和肾小管的近端和远端被吸收,OTA通过肝肠循环被反复分泌和吸收,位于肠道的微生物会把OTA转化成无毒性的代谢产物OTa;而进入血液的OTA与HAS紧密结合,在动物体内非常稳定,不易被代谢降解,因此动物性食品,尤其是猪的肾脏、肝脏、肌肉、血液等常有OTA检出。针对人体或动物体内可能存在OTA,需要制备出单克隆抗体。

### 发明内容

[0003] 针对现有技术中的缺陷,本发明的目的在于克服上述现有技术中OTA污染的技术问题,提供酶联免疫吸附测定溶液系统,本发明可提高人体或动物对抗OTA的免疫力。

[0004] 本发明的目的是这样实现的:酶联免疫吸附测定溶液系统,包括包被缓冲溶液、封闭液一、磷酸盐缓冲液、底物缓冲液、终止液、洗涤缓冲液、抗体稀释液、酶标抗体稀释液、硼酸盐包被缓冲液、封闭液二、封闭液三、封闭液四和饲料谷物样品提取液。

[0005] 作为本发明的进一步改进,所述包被缓冲液由NaCO<sub>3</sub>和NaHCO<sub>3</sub>加入去离子水定容至1L制成。

[0006] 作为本发明的进一步改进,所述封闭液一由蔗糖、酪蛋白、Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O、Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O、小牛血清、Proclin300和去离子水制成,去离子水为950mL;所述封闭液二由蔗糖、酪蛋白、Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O、Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O和Proclin300加入去离子水定容至1L而制成;其中,封闭液一和封闭液二中,所述蔗糖为50g,酪蛋白为2.5g,Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O为5.8g,Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O为0.593g,小牛血清为50mL,Proclin300为300μL;所述封闭液三由脱脂奶粉加去离子水定容至100mL制成,脱脂奶粉为5.0g;所述封闭液四由BSA加去离子水定容至100mL制成,所述BSA为1.0g。

[0007] 作为本发明的进一步改进,所述磷酸盐缓冲液由NaCl、KC1和Na<sub>2</sub>HP04加去离子水定容至1L制成,所述NaCl、KC1和Na<sub>2</sub>HP04分别为8.00g、0.20g和1.15g;所述底物缓冲液由Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O和柠檬酸加去离子水定容至1L制成,所述Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O和柠檬酸的重量分别为3.68g和0.94g。

[0008] 作为本发明的进一步改进,所述TMB底物测定液由TMB储存液、底物缓冲液和30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>制成,其中,所述TMB储存液、底物缓冲液和30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的容积分别为0.4mL、10mL和10μL。

[0009] 作为本发明的进一步改进,所述终止液由浓硫酸和去离子水制成,所述浓硫酸和去离子水的容积分别为22.2mL和177.8mL;所述洗涤缓冲液由Tween-20和PBS制成,所述

Tween-20和PBS的容积分别为0.5mL和1000mL。

[0010] 作为本发明的进一步改进,所述抗体稀释液由0.1M的Na<sub>2</sub>HP04溶液和0.1M的NaH<sub>2</sub>P04溶液加入去离子水溶解定容至100mL制成;所述酶标抗体稀释液由小牛血清、Na<sub>2</sub>HP04、NaH<sub>2</sub>P04·2H<sub>2</sub>0、NaCl、KC1和Proclin300加去离子水定容至1L制成,其中,所述小牛血清和Proclin300的容积分别为50mL和200μL,Na<sub>2</sub>HP04、NaH<sub>2</sub>P04·2H<sub>2</sub>0、NaCl和KC1的重量分别为1.072g、0.593g、16g和0.4g。

[0011] 作为本发明的进一步改进,所述饲料谷物样品提取液由85%的磷酸和NaCl加去离子水定容至1L制成,所述磷酸的容积为33.7mL, NaCl的重量为118g。

### 具体实施方式

[0012] 一种酶联免疫吸附测定溶液系统,包括包被缓冲溶液、封闭液一、磷酸盐缓冲液、底物缓冲液、终止液、洗涤缓冲液、抗体稀释液、酶标抗体稀释液、硼酸盐包被缓冲液、封闭液二、封闭液三、封闭液四和饲料谷物样品提取液。

[0013] 其中,包被缓冲液由NaCO<sub>3</sub>和NaHCO<sub>3</sub>加入去离子水定容至1L制成。

[0014] 封闭液一由蔗糖、酪蛋白、Na<sub>2</sub>HP04·12H<sub>2</sub>0、Na<sub>2</sub>HP04·2H<sub>2</sub>0、小牛血清、Proclin300和去离子水制成,去离子水为950mL;封闭液二由蔗糖、酪蛋白、Na<sub>2</sub>HP04·12H<sub>2</sub>0、Na<sub>2</sub>HP04·2H<sub>2</sub>0和Proclin300加入去离子水定容至1L而制成;其中,封闭液一和封闭液二中,蔗糖为50g,酪蛋白为2.5g,Na<sub>2</sub>HP04·12H<sub>2</sub>0为5.8g,Na<sub>2</sub>HP04·2H<sub>2</sub>0为0.593g,小牛血清为50mL,Proclin300为300μL;封闭液三由脱脂奶粉加去离子水定容至100mL制成,脱脂奶粉为5.0g;封闭液四由BSA加去离子水定容至100mL制成,BSA为1.0g;

封闭液一的配制方法为:小牛血清应预先在4 °C下解冻,用前慢慢摇匀;配制前先在1L的三角瓶中放入搅拌子,将除新生牛血清之外的成分加入适量的去离子水搅拌至全部溶解,加入新生牛血清混匀,最后加入去离子水定容至1 L,分装至500 mL溶剂瓶中4°C保存。

[0015] 磷酸盐缓冲液由NaCl、KC1和Na<sub>2</sub>HP04加去离子水定容至1L制成,NaCl、KC1和Na<sub>2</sub>HP04分别为8.00g、0.20g和1.15g;底物缓冲液由Na<sub>2</sub>HP04·12H<sub>2</sub>0和柠檬酸加去离子水定容至1L制成,Na<sub>2</sub>HP04·12H<sub>2</sub>0和柠檬酸的重量分别为3.68g和0.94g。

[0016] TMB底物测定液由TMB储存液、底物缓冲液和30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>制成,其中,TMB储存液、底物缓冲液和30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的容积分别为0.4mL、10mL和10μL。

[0017] 终止液由浓硫酸和去离子水制成,浓硫酸和去离子水的容积分别为22.2mL和177.8mL;洗涤缓冲液由Tween-20和PBS制成,Tween-20和PBS的容积分别为0.5mL和1000mL。

[0018] 抗体稀释液由0.1M的Na<sub>2</sub>HP04溶液和0.1M的NaH<sub>2</sub>P04溶液加入去离子水溶解定容至100mL制成;酶标抗体稀释液由小牛血清、Na<sub>2</sub>HP04、NaH<sub>2</sub>P04·2H<sub>2</sub>0、NaCl、KC1和Proclin300加去离子水定容至1L制成,其中,小牛血清和Proclin300的容积分别为50mL和200μL,Na<sub>2</sub>HP04、NaH<sub>2</sub>P04·2H<sub>2</sub>0、NaCl和KC1的重量分别为1.072g、0.593g、16g和0.4g。

[0019] 饲料谷物样品提取液由85%的磷酸和NaCl加去离子水定容至1L制成,磷酸的容积为33.7mL, NaCl的重量为118g。

[0020] 通过以上溶液的混合制成酶联免疫测定溶液。

[0021] 本发明并不局限于上述实施例,在本发明公开的技术方案的基础上,本领域的技术人员根据所公开的技术内容,不需要创造性的劳动就可以对其中的一些技术特征作出一

些替换和变形,这些替换和变形均在本发明保护范围内。

专利名称(译)	酶联免疫吸附测定溶液系统		
公开(公告)号	<a href="#">CN109596820A</a>	公开(公告)日	2019-04-09
申请号	CN201710924251.2	申请日	2017-09-30
发明人	雷仲德		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/53		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">Sipo</a>		

**摘要(译)**

本发明提供了生物科技领域内的酶联免疫吸附测定溶液系统，包括包被缓冲溶液、封闭液一、磷酸盐缓冲液、底物缓冲液、终止液、洗涤缓冲液、抗体稀释液、酶标抗体稀释液、硼酸盐包被缓冲液、封闭液二、封闭液三、封闭液四和饲料谷物样品提取液。