



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101691404 A

(43) 申请公布日 2010.04.07

(21) 申请号 200910232823.6

G01N 33/566 (2006.01)

(22) 申请日 2009.10.20

G01N 33/531 (2006.01)

(71) 申请人 江苏省农业科学院

地址 210014 江苏省南京市玄武区钟灵街  
50号

(72) 发明人 刘媛 刘贤金 张存政 刘蓉蓉

(74) 专利代理机构 南京经纬专利商标代理有限公司 32200

代理人 李纪昌

(51) Int. Cl.

C07K 16/44 (2006.01)

C07K 14/765 (2006.01)

C07K 14/77 (2006.01)

C07K 1/113 (2006.01)

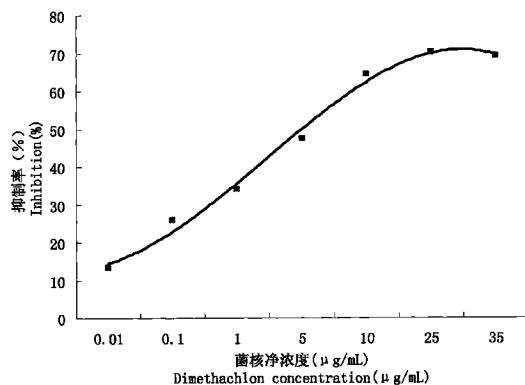
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 4 页

## (54) 发明名称

菌核净的多克隆抗体及其制备和应用

## (57) 摘要

本发明涉及一种菌核净的多克隆抗体及其制备和应用,多克隆抗体由半抗原与牛血清蛋白 BSA 偶联获得免疫抗原,免疫新西兰大白兔获得。其特征在于:半抗原为菌核净-2-戊二酸半酯。将菌核净-2-戊二酸半酯用活性酯法与牛血清白蛋白偶联,合成免疫抗原,再将免疫抗原用于免疫新西兰大白兔,获得多克隆抗体。多克隆抗体采用间接竞争性 ELISA 法对标本中菌核净农药的残留进行检测,检测中使用的包被抗原为半抗原通过活性酯法与卵清蛋白 OVA 的偶联物。其优点是:菌核净的多克隆抗体的制备方法简单,可以用于对样本中的菌核净农药残留进行快速检测,与现有的仪器分析法相比,检测方法具有简单、快速、检测成本低、适合大量样品快速筛查等优点。



1. 一种菌核净的多克隆抗体，由半抗原与牛血清蛋白 BSA 偶联获得免疫抗原，免疫新西兰大白兔后获得，其特征在于：半抗原为菌核净 -2- 戊二酸半酯。

2. 如权利要求 1 所述菌核净的多克隆抗体的制备，其特征在于：将菌核净 -2- 戊二酸半酯用活性酯法与牛血清白蛋白偶联，合成免疫抗原，再将免疫抗原用于免疫新西兰大白兔，获得菌核净的多克隆抗体。

3. 根据权利要求 2 所述菌核净的多克隆抗体的制备，其特征在于：活性酯法合成免疫抗原的步骤是：

称取 21mg 菌核净 -2- 戊二酸半酯溶于 0.4mL 二甲基甲酰胺中，再加入 N- 羟基琥珀酰亚胺 7.17mg 和环二己基碳酰亚胺 13.76mg，充分混匀，室温避光静置过夜；

次日 10000g 离心 10min，弃去沉淀，将上清液缓慢加入到 3mL 含有 25mg 牛血清白蛋白 BSA 的硼酸缓冲液中，硼酸缓冲液的 pH 为 8.7，反应液在室温下继续磁力搅拌 4 小时；

反应结束后，将反应混合液装入透析袋中，在去离子水中 4℃ 透析 3 天，每 8 小时换水一次，透析结束后获得免疫抗原，分装并保存于 -20℃ 冰箱中备用。

4. 如权利要求 1 所述菌核净的多克隆抗体的应用，其特征在于：将多克隆抗体采用间接竞争性 ELISA 法对样品中菌核净农药的残留进行检测，检测中使用的包被抗原为半抗原通过活性酯法与卵清蛋白 OVA 的偶联物。

5. 根据权利要求 4 所述菌核净的多克隆抗体的应用，其特征在于：活性酯法合成包被抗原的步骤是：

称取 21mg 菌核净 -2- 戊二酸半酯溶于 0.4mL 二甲基甲酰胺中，再加入 N- 羟基琥珀酰亚胺 7.17mg 和环二己基碳酰亚胺 13.76mg，充分混匀，室温避光静置过夜；

次日 10000g 离心 10min，弃去沉淀，将上清液缓慢加入到 3mL 含有 25mg 卵清蛋白 OVA 的硼酸缓冲液中，硼酸缓冲液的 pH 为 8.7，反应液在室温下继续磁力搅拌 4 小时；

反应结束后，将反应混合液装入透析袋中，在去离子水中 4℃ 透析 3 天，每 8 小时换水一次，透析结束后获得包被抗原，分装并保存于 -20℃ 冰箱中备用。

6. 根据权利要求 4 或 5 所述菌核净的多克隆抗体的应用，其特征在于：多克隆抗体采用间接竞争性 ELISA 法对样品中菌核净农药的残留进行检测是指：将被测植物样品提取、净化后制备得到 ELISA 待测液，然后利用间接竞争性 ELISA 法进行检测，最后通过标准曲线计算出待测样品中的菌核净含量。

## 菌核净的多克隆抗体及其制备和应用

### 技术领域：

[0001] 本发明涉及一种菌核净的多克隆抗体及其制备和应用。

### 背景技术：

[0002] 菌核净 (Dimethachlon) 是一种二甲酰亚胺类杀菌剂，又名纹枯利，商品名为奥力 (Ohric)，它的有效成分是 (N-3, 5- 二氯苯基) 丁二酰亚胺 (NDPS)。具有直接杀菌、内渗治疗、抗雄激素作用，残效期长，对于油菜菌核病、烟叶赤腥病、水稻纹枯病、麦类赤霉病、白粉病以及工业防腐具有良好的防效作用。但是，到了 80 年代初，人们开始逐渐认识到 NDPS 对人体健康可能具有潜在的危害 ( 主要是肾脏毒性 )，这样致使菌核净在农业上的广泛使用受到限制。

[0003] 目前对菌核净残留检测的研究只有气相色谱法 ( 参见 Li μ HC, Li QW, Tang LB. Capillary gas chromatographic determination of dimethachlon residues in fresh tobacco leaves and c μ t-tobacco [J]. J Zhejiang Univ Sci B. 2007 Apr ; 8(4) : 272-6 ; 施介华. 气相色谱法测定菌核净原粉 [J]. 农药, 1996, 35(6) : 23-24), 刘蓉蓉等在 2007 年报道了菌核净半抗原设计、合成与鉴定 ( 参见刘蓉蓉, 刘贤进, 刘媛, 方敦煌, 胡秋辉. 菌核净残留免疫分析半抗原的制备和鉴定 [J]. 食品科学, 2007, 28(2) : 223-226), 但是菌核净的抗体制备以及免疫分析法和及其在烟叶中残留的检测中的应用, 国内外均没有文献报道。

### 发明内容：

[0004] 本发明的目的在于：针对目前菌核净农药残留检测方法单一的问题，检测效率低的实际问题，提供一种菌核净的多克隆抗体及其制备方法，并通过该多克隆抗体快速检测农药残留。

[0005] 本发明的目的是这样实现的：一种菌核净的多克隆抗体，由半抗原与牛血清蛋白 BSA 偶联获得免疫抗原，免疫新西兰大白兔后获得，其特征在于：半抗原为菌核净 -2- 戊二酸半酯。

[0006] 上述菌核净的多克隆抗体的制备，其特征在于：将菌核净 -2- 戊二酸半酯用活性酯法与牛血清白蛋白偶联，合成免疫抗原，再将免疫抗原用于免疫新西兰大白兔，获得菌核净的多克隆抗体。

[0007] 在菌核净的多克隆抗体的制备中：活性酯法合成免疫抗原的步骤是：

[0008] 称取 21mg 菌核净 -2- 戊二酸半酯溶于 0.4mL 二甲基甲酰胺中，再加入 N- 羟基琥珀酰亚胺 7.17mg 和环二己基碳酰亚胺 13.76mg，充分混匀，室温避光静置过夜；

[0009] 次日 10000g 离心 10min，弃去沉淀，将上清液缓慢加入到 3mL 含有 25mg 牛血清白蛋白 BSA 的硼酸缓冲液中，硼酸缓冲液的 pH 为 8.7，反应液在室温下继续磁力搅拌 4 小时；

[0010] 反应结束后，将反应混合液装入透析袋中，在去离子水中 4℃ 透析 3 天，每 8 小时换水一次，透析结束后获得免疫抗原，分装并保存于 -20℃ 冰箱中备用。

[0011] 上述菌核净的多克隆抗体的应用，其特征在于：将所述多克隆抗体采用间接竞争性 ELISA 法对标本中菌核净农药的残留进行检测，检测中使用的包被抗原为半抗原通过活性酯法与卵清蛋白 OVA 的偶联物。

[0012] 在菌核净的多克隆抗体的应用中：活性酯法合成包被抗原的步骤是：

[0013] 称取 21mg 菌核净 -2- 戊二酸半酯溶于 0.4mL 二甲基甲酰胺中，再加入 N- 羟基琥珀酰亚胺 7.17mg 和环二己基碳酰亚胺 13.76mg，充分混匀，室温避光静置过夜；

[0014] 次日 10000g 离心 10min，弃去沉淀，将上清液缓慢加入到 3mL 含有 25mg 卵清蛋白 OVA 的硼酸缓冲液中，硼酸缓冲液的 pH 为 8.7，反应液在室温下继续磁力搅拌 4 小时；

[0015] 反应结束后，将反应混合液装入透析袋中，在去离子水中 4℃ 透析 3 天，每 8 小时换水一次，透析结束后获得包被抗原，分装并保存于 -20℃ 冰箱中备用。

[0016] 在菌核净的多克隆抗体的应用中：多克隆抗体采用间接竞争性 ELISA 法对样品中菌核净农药的残留进行检测是指：将被测植物样品提取、净化后制备得到 ELISA 待测液，然后利用间接竞争性 ELISA 法进行检测，最后通过标准曲线计算出待测样品中的菌核净含量。

[0017] 本发明的优点在于：菌核净的多克隆抗体的制备方法简单，可以用于对样本中的菌核净农药残留进行快速检测，与现有的仪器分析方法相比，检测方法具有简单、快速、检测成本低、适合大量样品快速筛查检测。

#### 附图说明

[0018] 图 1 是菌核净半抗原 (hapten)、BSA 及偶联物 (hap-bsa) 的紫外扫描图谱；

[0019] 图 2 是菌核净半抗原 (hapten)、OVA 及偶联物 (hap-ova) 的紫外扫描图谱；

[0020] 图 3 是间接非竞争 ELISA 法测定的菌核净抗体 (抗血清) 效价曲线；

[0021] 图 4 是间接竞争 ELISA 法建立的菌核净检测标准抑制曲线。

#### 具体实施方式

[0022] 下面结合附图对本发明作进一步的描述。

[0023] 实施例 1. 免疫抗原与包被抗原的合成

[0024] 用活性酯法合成免疫抗原：称取 21mg(0.0583mmol) 半抗原溶于 0.4mL 二甲基甲酰胺 (DMF) 中，再加入 N- 羟基琥珀酰亚胺 (NHS)7.17mg(0.0623mmol) 和环二己基碳酰亚胺 (DCC)13.76mg(0.0667mmol)，充分混匀，室温避光静置过夜。次日 10000g 离心 10min，弃去沉淀，将上清液缓慢加入到 3mL 含有 25mg(0.00037mmol) 牛血清白蛋白 BSA 的硼酸缓冲液中 (pH8.7)，反应液在室温下继续磁力搅拌 4 小时。反应结束后，将反应混合液装入透析袋中，在去离子水中 4℃ 透析 3 天，每 8 小时换水一次，透析结束后获得免疫抗原 Hapten-BSA，分装并保存于 -20℃ 冰箱中备用。

[0025] 用活性酯法合成包被抗原 Hapten-OVA 的合成方法与免疫抗原 Hapten-BSA 的步骤相同，区别仅在于将载体蛋白牛血清白蛋白 BSA 更换为卵清蛋白 OVA，在此不再。

[0026] 如图 1 图 2 所示的紫外扫描图谱可见，半抗原 (hapten)、载体蛋白 (BSA 或 OVA) 的最大吸收峰分别为 249nm 和 278nm，而偶联物 (hap-bsa 或 hap-ova) 的最大吸收峰分别介

于两者之间,这可能是由于载体蛋白结合上半抗原后吸收峰发生变化,出现叠加现象。这些现象说明载体分子上已成功偶联上一定数量的半抗原。

[0027] 实施例 2. 菌核净多克隆抗体的制备

[0028] 用合成的偶联物作为免疫抗原 Hapten-BSA, 选取 2 只 1.5-2.0kg 的纯种新西兰大白兔作为试验动物, 试验前一周采集阴性血清。具体免疫程序见表 1: 首次免疫每只兔子采用 1mg 免疫原与等体积弗氏完全佐剂混和, 乳化油包水乳浊液后进行背部皮下多点注射(20 点左右)。三周后用同样剂量免疫原与等体积不完全弗氏佐剂进行加强, 每两周加强 1 次, 共加强 4 次。当血清效价基本不再升高时, 进行冲击免疫, 采用 2mg 免疫原与等体积的生理盐水混合, 直接耳缘静脉注射。一周后心脏采血, 备用。

[0029] 表 1 菌核净免疫采血程序

[0030]

免疫日期 Date	周次 Week	剂量 (一只兔子) Dose (one rabbit)	部位 Site	采血时间 Time
首次免疫 (01 月 16 号)	第 1 周	0.5mL 免疫原+0.5mL 完全福氏佐剂 (0.5mL 免疫原含 1.25mg 蛋白)	背部皮下	—
一次加强 (2 月 3 号)	第 4 周	0.5mL 免疫原+0.5mL 不完全福氏佐剂	背部皮下	采血测效价 (2 月 10 号)
二次加强 (2 月 16 号)	第 6 周	0.5mL 免疫原+0.5mL 不完全福氏佐剂	背部皮下	采血测效价 (2 月 23 号)
三次加强 (3 月 1 号)	第 8 周	0.5mL 免疫原+0.5mL 不完全福氏佐剂	背部皮下	采血测效价 (3 月 8 号)
四次加强 (3 月 15 号)	第 10 周	0.5mL 免疫原+0.5mL 不完全福氏佐剂	背部皮下	采血测效价 (3 月 22 号)
冲击免疫 (3 月 29 号)	第 12 周	1mL 免疫原+1mL 生理盐水	耳缘静脉	
心脏采血 (4 月 5 号)	第 14 周	—	—	—

[0031] 实施例 3. 间接非竞争 ELISA 法测定抗体的工作浓度及效价

[0032] (1) 工作浓度的确定

[0033] 用方阵滴定法确定抗体及包被抗原的工作浓度。选择 OD 值为 1.0 时的抗原抗体稀释浓度作为包被抗原浓度、抗体工作浓度, 最终选择的包被抗原稀释倍数为 1/1000(以蛋白计, 包被抗原实际浓度为 2  $\mu$ g/mL), 抗体的工作浓度为 1/128000。具体操作步骤如下:

[0034] ①包被: CBS 包被缓冲液将包被抗原倍比稀释  $100 \times 5^n$  ( $n = 0.5, 1, 2, 4$ ) 的四组, 分别加于 96 孔酶标微孔板的 A 和 B、C 和 D、E 和 F、G 和 H 的四组八行中, 100  $\mu$ L/孔, 4 $^{\circ}$ C 过夜。

[0035] ②封闭: 每孔加 1% OVA 封闭液 200  $\mu$ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 1h。

[0036] ③加样：将倍比稀释  $1000 \times 2^n$  ( $n = 8, 16, 32, 64, 128, 256$ ) 的六组抗体分别加于酶标板的 1 和 2、3 和 4、5 和 6、7 和 8、9 和 10、11 和 12 的六组十二列孔中， $100 \mu\text{L}$ /孔，以阴性血清作对照，PBS 溶液为空白， $37^\circ\text{C}$  孵育 2h。

[0037] ④加酶标二抗：用含 1% OVA 的 PBS 溶液稀释酶标二抗到工作浓度， $100 \mu\text{L}$ /孔加入酶标板， $37^\circ\text{C}$  孵育 1h。

[0038] (以上每一步结束都用 PBST 洗涤液洗 3 次)

[0039] ⑤显色：将底物溶液加到酶标板上， $100 \mu\text{L}$ /孔， $37^\circ\text{C}$  显色 15min。

[0040] ⑥终止反应：将 2M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  快速加到 96 孔中， $50 \mu\text{L}$ /孔，450nm 读取光吸收值。

[0041] (2) 效价的测定

[0042] 用方阵滴定法确定的包被原工作浓度包被 96 孔酶标微孔板，将抗血清 (阳性血清) 和阴性血清进行倍比稀释，以 PBS 溶液作为空白对照，用间接非竞争 ELISA 法测定抗体效价，具体步骤按照以下步骤进行。以 A 阳/A 阴  $> 2.1$  的最大稀释倍数作为抗体的最终效价。抗体计算获得的最终效价为 1/512,000。效价测定曲线如图 3 所示。具体操作步骤如下：

[0043] ①包被：CBS 包被缓冲液将  $2 \mu\text{g/ml}$  包被原倍加入 96 孔酶标微孔板中， $100 \mu\text{L}$ /孔， $4^\circ\text{C}$  过夜。

[0044] ②封闭：每孔加 1% OVA 封闭液  $200 \mu\text{L}$ ， $37^\circ\text{C}$  孵育 1h。

[0045] ③加样：将倍比稀释  $1000 \times 2^n$  ( $n = 8, 16, 32, 64, 128, 256$ ) 的六组抗体分别加于酶标板的 1 和 2、3 和 4、5 和 6、7 和 8、9 和 10、11 和 12 的六组十二列孔中， $100 \mu\text{L}$ /孔，以阴性血清作对照，PBS 溶液为空白， $37^\circ\text{C}$  孵育 2h。

[0046] ④加酶标二抗：用含 1% OVA 的 PBS 溶液稀释酶标二抗到工作浓度， $100 \mu\text{L}$ /孔加入酶标板， $37^\circ\text{C}$  孵育 1h。

[0047] (以上每一步结束都用 PBST 洗涤液洗 3 次)

[0048] ⑤显色：将底物溶液加到酶标板上， $100 \mu\text{L}$ /孔， $37^\circ\text{C}$  显色 15min。

[0049] ⑥终止反应：将 2M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  快速加到 96 孔中， $50 \mu\text{L}$ /孔，450nm 读取光吸收值。

[0050] 当光吸收值低于 0.2 时为阴性血清；当光吸收值高于 0.2 时为阳性血清。

[0051] 实施例 4. 间接竞争 ELISA(IC-ELISA) 的建立

[0052] 具体步骤如下：

[0053] (1) 抗体与标样 (待测样) 预混：用含有 10% (v/v) 甲醇的 PBS 缓冲液配置不同浓度的菌核净标样，浓度分别为  $0.02 \mu\text{g/ml}$ ， $0.2 \mu\text{g/ml}$ ， $2 \mu\text{g/ml}$ ， $10 \mu\text{g/ml}$ ， $20 \mu\text{g/ml}$ ， $50 \mu\text{g/ml}$ ， $70 \mu\text{g/ml}$ 。用 PBS 将抗体稀释 64000 倍 (两倍工作浓度)，再与等体积的标样 (待测样品) 室温预混进行前抑制，对照用 PBS 与抗体等体积预混，过夜。

[0054] (2) 包被：CBS 缓冲液将  $2 \mu\text{g/ml}$  包被抗原， $100 \mu\text{L}$ /孔分别加入酶标板， $4^\circ\text{C}$  过夜。

[0055] (3) 封闭：每孔加封闭液  $200 \mu\text{L}$ ， $37^\circ\text{C}$  温浴 1h。

[0056] (4) 加样品：将预混液加入酶标板， $100 \mu\text{L}$ /孔，以 PBS 为空白对照， $37^\circ\text{C}$  温浴 2h。

[0057] (5) 加酶标二抗：用含 1% OVA 的 PBS 将酶标二抗稀释到工作浓度加入酶标板，100  $\mu$  L/孔，37 $^{\circ}$ C 温浴 1h。

[0058] (以上每一步结束都用洗涤液 PBST 洗 3 次)

[0059] (6) 显色：将底物溶液加到酶标板上，100  $\mu$  L/孔，37 $^{\circ}$ C 显色 15min。

[0060] (7) 终止反应：50  $\mu$  L/孔 2M  $H_2SO_4$  快速加到 96 孔酶标板中，于 450nm 读取光吸收值。

[0061] 将不同浓度菌核净标样对应的吸光值 (OD) 结果，按照公式抑制率 (I) = 100[(OD 对照 - OD 标样)/OD 对照]，计算抑制率 (I)。以抑制率为纵坐标，标样浓度 (C) 为横坐标绘制标准抑制曲线。建立菌核净的标准抑制曲线 (如图 4 所示)，并对线性范围进行回归分析。最后计算得到，菌核净线性回归方程为  $I = 16.616\text{Log}C + 42.49$  ( $R^2 = 0.9417$ )，菌核净对抗体的抑制中浓度 ( $I_{50}$ ) 为 2.83  $\mu$  g/mL，菌核净最低检测限  $I_{10}$  为 0.011  $\mu$  g/mL，线性检测范围在 0.044 ~ 25.00  $\mu$  g/mL。

[0062] 实施例 5. 本发明对烟叶中菌核净农药残留的检测

[0063] 具体操作如下：

[0064] (1) 样品提取：称取无污染的 2g 干烟叶粉末置于 100mL 具塞三角瓶中，5 瓶为一组，共六组，前五组分别添加 1mL 浓度分别为 10  $\mu$  g/ml、20、30  $\mu$  g/ml、40  $\mu$  g/ml、50  $\mu$  g/ml 的菌核净标样 (用含有 10% 甲醇 (v/v) 的 PBS 溶液配置)，使得样品中菌核净的含量分别为 5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg 五个水平，第六组添加 1mL 纯甲醇作为空白对照，室温下放置 2 小时。加入 30mL 乙腈，振荡提取 30min，匀浆 2min 过滤，滤渣用 10mL 乙腈洗涤。合并滤液于 100mL 具塞三角瓶中，加入 0.5-1g 氯化钠，盖上塞子，剧烈振荡 1min，室温下静置 10min，待乙腈相和水相分层后，准确吸取 20mL 乙腈相溶液，加入到刻度试管中，40 $^{\circ}$ C 条件下氮气吹干，残留物用 1mL 正己烷溶解，待净化。

[0065] (2) 样品净化：用氟罗里硅土柱进行净化，先用 3mL 丙酮：正己烷 (1 : 10, v : v) 和 3mL 正己烷预淋洗氟罗里硅土柱。将用 1mL 正己烷溶解的残留物无损转移到氟罗里硅土柱，用 10mL 丙酮：正己烷 (1 : 10, v : v) 淋洗液洗脱，收集洗脱液，40 $^{\circ}$ C 条件下氮气吹干，用甲醇定容至 1mL，在旋涡混合器上充分混匀，制备得到 ELISA 待测液，用于 ELISA 检测。

[0066] (3) ELISA 检测方法

[0067] 将净化后溶于 1mL 甲醇的空白添加样品用 PBST 稀释 10 倍、20 倍、50 倍、100 倍，用间接竞争性 ELISA 方法测定，找出 OD 值在 1.0 附近的稀释倍数。按此稀释倍数将添加样品的甲醇提取液稀释后与等体积抗体预混两小时，根据实施例 4 的步骤进行间接竞争性 ELISA 测定，计算烟叶中菌核净的残留量及添加回收率及变异系数。

[0068] 如表 2 所示，当烟叶中菌核净浓度在 5mg/kg-25mg/kg 的范围内，添加回收率和变异系数均在残留检测许可范围内，该方法可以应用与烟叶中菌核净残留的快速检测。

[0069] 表 2ELISA 法测定烟叶中菌核净残留量的添加回收率及变异系数  
[0070]

样本 Samples	添加浓度 (mg/kg) spiked concentration	IC-ELISA	
		平均回收率 (%) Average Recovery	变异系数 CV(%)
烟叶	5	75.58	8.73
	10	79.72	8.16
	15	83.45	8.29
	20	85.46	7.52
	25	90.88	6.35

[0071] 以上各实施例不是对本发明的具体限定。

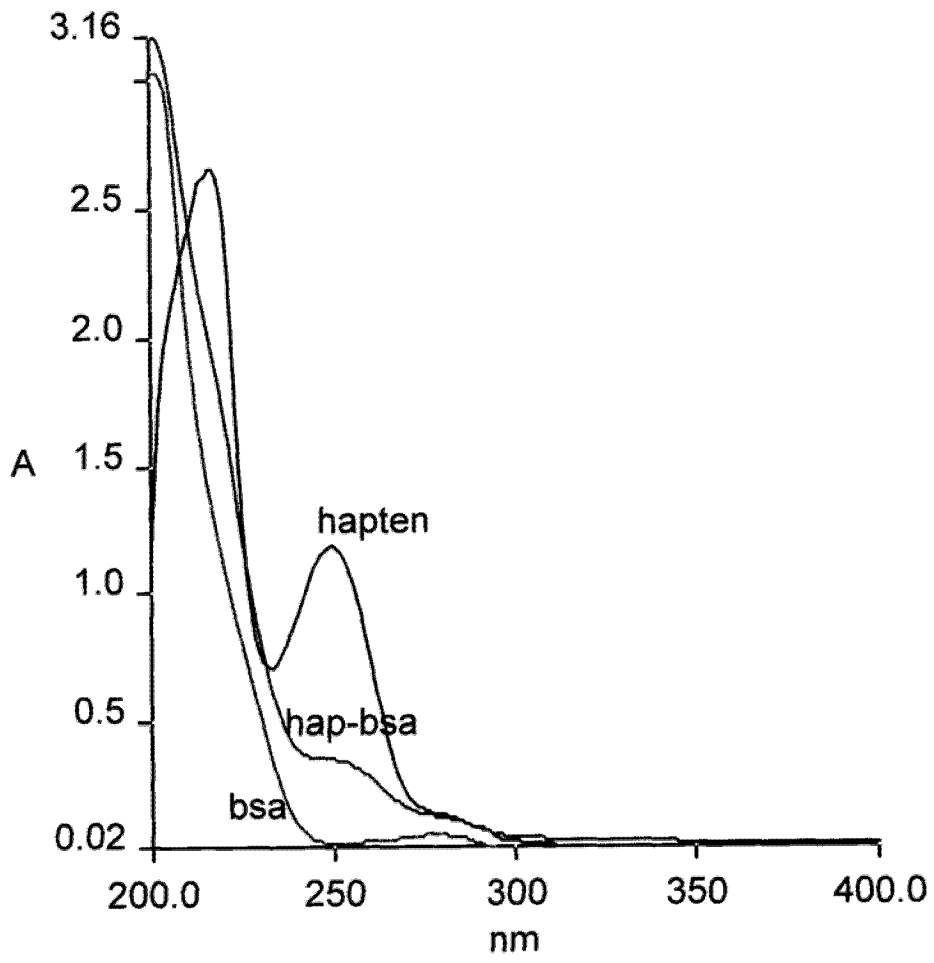


图 1

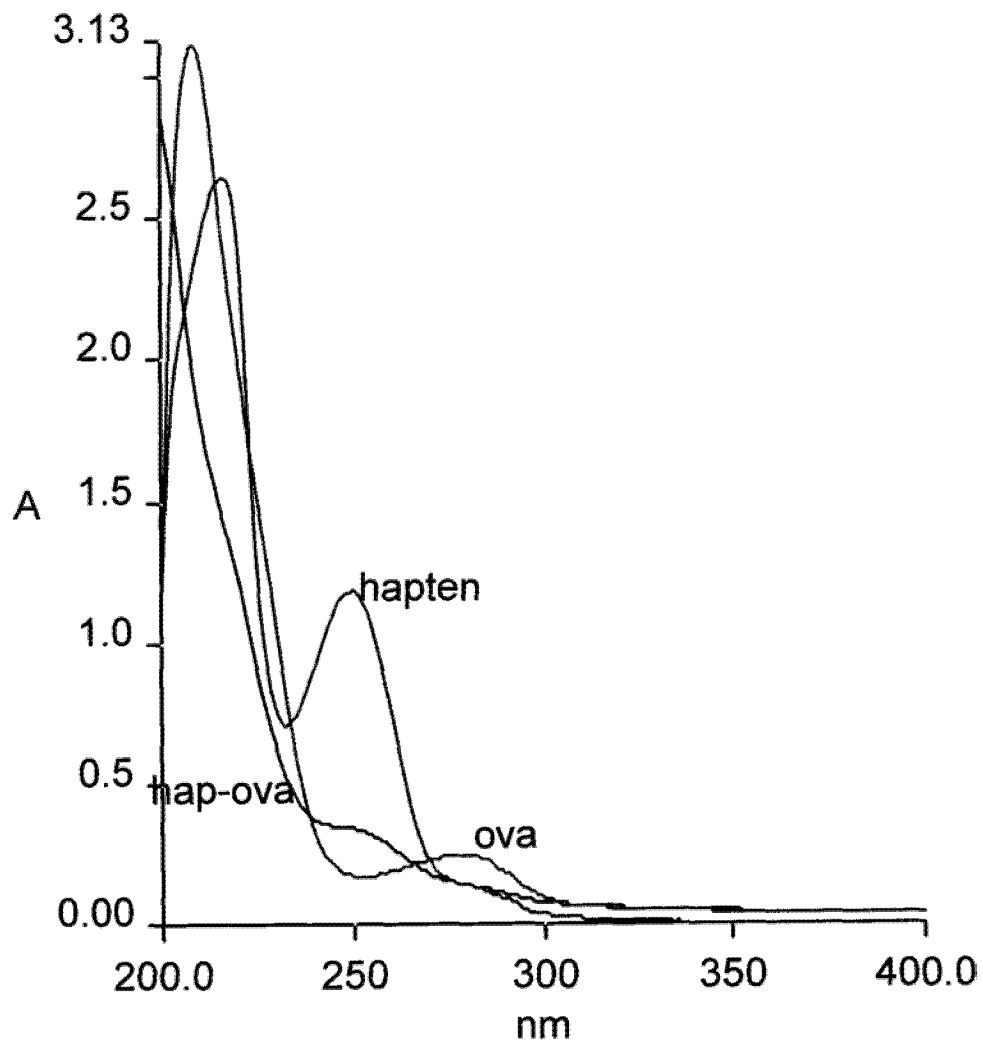


图 2

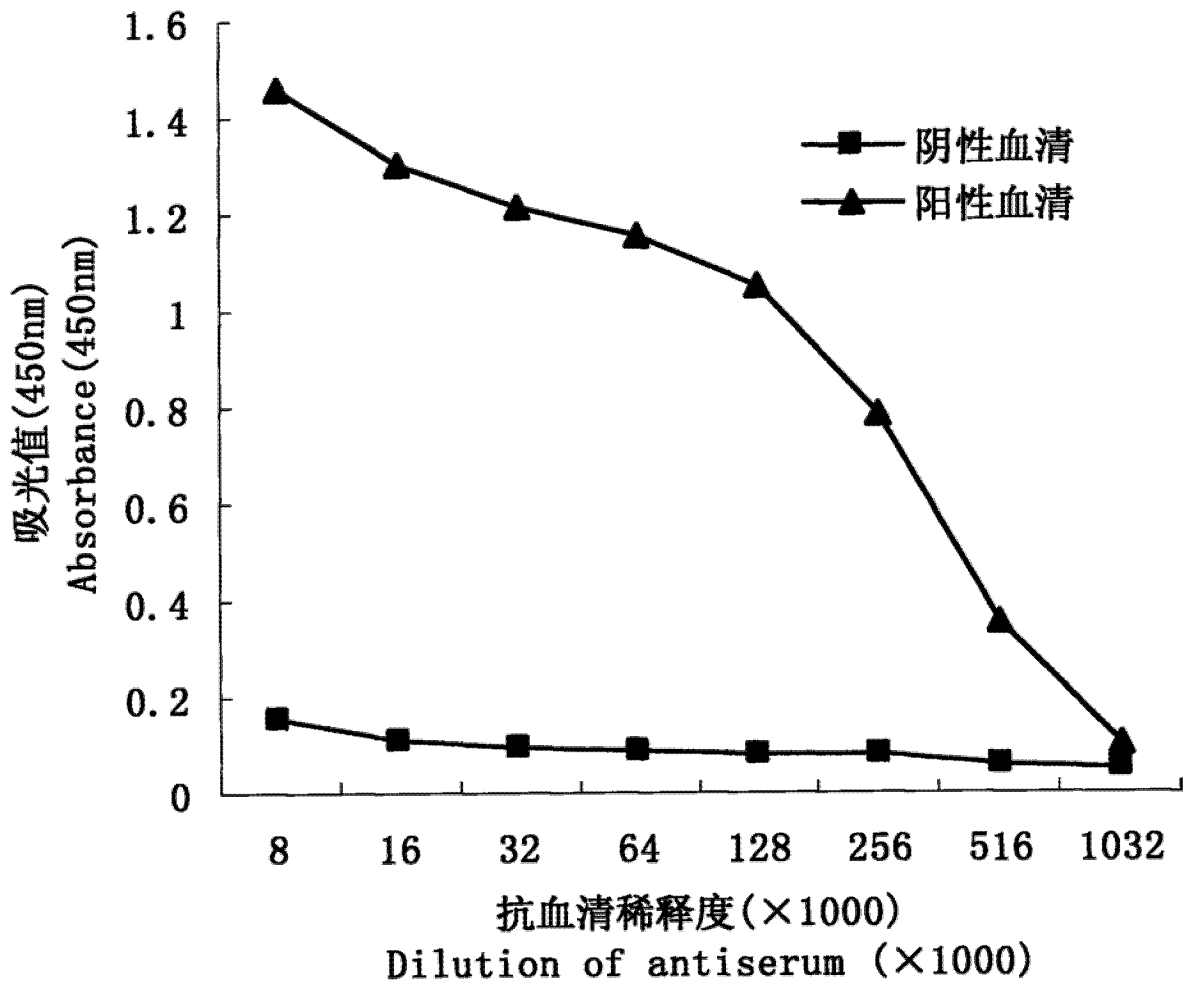


图 3

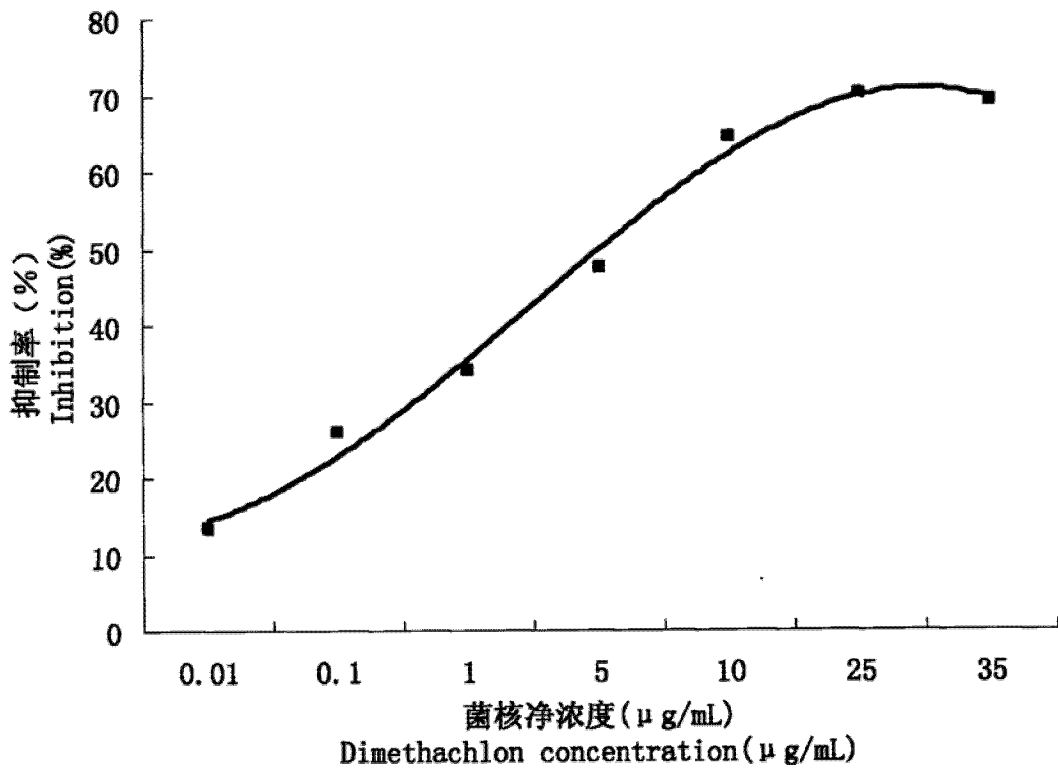


图 4

专利名称(译)	菌核净的多克隆抗体及其制备和应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN101691404A</a>	公开(公告)日	2010-04-07
申请号	CN200910232823.6	申请日	2009-10-20
[标]申请(专利权)人(译)	江苏省农业科学院		
申请(专利权)人(译)	江苏省农业科学院		
当前申请(专利权)人(译)	江苏省农业科学院		
[标]发明人	刘媛 刘贤金 张存政 刘蓉蓉		
发明人	刘媛 刘贤金 张存政 刘蓉蓉		
IPC分类号	C07K16/44 C07K14/765 C07K14/77 C07K1/113 G01N33/566 G01N33/531		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种菌核净的多克隆抗体及其制备和应用，多克隆抗体由半抗原与牛血清蛋白BSA偶联获得免疫抗原，免疫新西兰大白兔获得。其特征在于：半抗原为菌核净-2-戊二酸半酯。将菌核净-2-戊二酸半酯用活性酯法与牛血清白蛋白偶联，合成免疫抗原，再将免疫抗原用于免疫新西兰大白兔，获得多克隆抗体。多克隆抗体采用间接竞争性ELISA法对标本中菌核净农药的残留进行检测，检测中使用的包被抗原为半抗原通过活性酯法与卵清蛋白OVA的偶联物。其优点是：菌核净的多克隆抗体的制备方法简单，可以用于对样本中的菌核净农药残留进行快速检测，与现有的仪器分析法相比，检测方法具有简单、快速、检测成本低、适合大量样品快速筛查等优点。

