



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104387467 A

(43) 申请公布日 2015. 03. 04

(21) 申请号 201410568941. 5

G01N 33/535(2006. 01)

(22) 申请日 2014. 10. 22

(71) 申请人 南京师范大学

地址 210046 江苏省南京市亚东新城区文苑路 1 号

(72) 发明人 赵波 邵科峰 张红琳 赵虎 常其沛

(74) 专利代理机构 南京知识律师事务所 32207 代理人 韩朝晖

(51) Int. Cl.

C07K 14/765(2006. 01)

C07K 14/77(2006. 01)

C07K 16/28(2006. 01)

G01N 33/68(2006. 01)

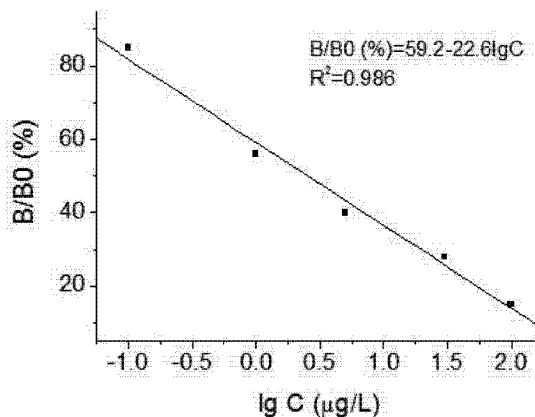
权利要求书2页 说明书12页 附图2页

(54) 发明名称

一种 β -肾上腺素受体激动剂多残留检测试剂盒及试纸

(57) 摘要

本发明涉及一种 β -肾上腺素受体激动剂多簇抗原、宽谱特异性抗体及其在 β -肾上腺素受体激动剂多残留检测方面的应用,包括检测试剂盒和试纸。本发明的 β -激动剂多簇抗原,为克伦特罗-沙丁胺醇-牛血清蛋白(CL-SAL-BSA)或克伦特罗-沙丁胺醇-卵清蛋白(CL-SAL-OVA),并用CL-SAL-BSA通过动物免疫制备了抗克伦特罗-沙丁胺醇-牛血清蛋白抗体(CL-SAL-BSAAb)。本发明还公开了用于 β -激动剂多残留检测的以CL-SAL-BSAAb为核心试剂的试剂盒和试纸,基于CL-SAL-BSAAb对 β -激动剂的交叉免疫反应,能实现对克伦特罗和沙丁胺醇的检测。



1. 一种 β -肾上腺素受体激动剂多簇抗原,其特征在于:所述的多簇抗原是以克伦特罗和沙丁胺醇为半抗原,与载体蛋白偶联得到的克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物;所述载体蛋白为牛血清白蛋白或卵清蛋白。

2. 根据权利要求1所述的 β -肾上腺素受体激动剂多簇抗原,其特征在于:所述的多簇抗原以克伦特罗和沙丁胺醇为半抗原,牛血清白蛋白或卵清蛋白为载体蛋白,按以下步骤制备得到:

1) 在载体蛋白上以重氮法偶联克伦特罗半抗原,再进行纯化:

将 0.2mmol 盐酸克伦特罗溶于 1~5ml 稀盐酸中,加入 0.2~2mol/L 的亚硝酸钠溶液至淀粉碘化钾试纸变为紫色,继续反应 1~3h 后将反应液加入到 5~10ml 含有 5~10mg/ml 的载体蛋白的碳酸钠缓冲溶液中,再继续反应 3~5h;将上述反应液用磷酸缓冲溶液透析 3~6 次,冷冻干燥,即可得到克伦特罗-载体蛋白偶联物冻干粉;

2) 在步骤 1) 的产物上以混合酸酐法偶联沙丁胺醇半抗原,再进行纯化:

将 0.2mmol 硫酸沙丁胺醇溶于 5~10ml 无水乙醇中,加入 0.2mmol 戊二酸酐,室温下反应 3~5h,离心,将下层固体溶于 5~10ml N,N-二甲基甲酰胺,加入 0.2mmol 三正丁胺和 0.2mmol 氯甲酸异丁酯,继续反应 1~3h;将上述反应液加入到 5~10ml 含有 5~10mg/ml 克伦特罗-载体蛋白偶联物的磷酸缓冲溶液中,室温反应过夜;将上述反应液用磷酸缓冲溶液透析 3~6 次,冷冻干燥,制得所述的 β -肾上腺素受体激动剂多簇抗原。

3. 一种 β -肾上腺素受体激动剂宽谱特异性抗体,其特征在于,所述宽谱特异性抗体由所述的 β -肾上腺素受体激动剂多簇抗原通过动物免疫获得。

4. 根据权利要求3所述的 β -肾上腺素受体激动剂宽谱特异性抗体,其特征在于,所述宽谱特异性抗体是由克伦特罗-沙丁胺醇-牛血清白蛋白通过动物免疫获得的多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb。

5. 一种用于 β -肾上腺素受体激动剂多残留检测的酶联免疫试剂盒,其特征在于,所述的酶联免疫试剂盒包含下述 1)、2)、3) 或 4) 中任一所述的试剂:

1) 酶联免疫试剂盒中包括克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物、宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb 和酶标记羊抗兔 IgG;其中,所述偶联物作为包被原;

2) 酶联免疫试剂盒中包括克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物、宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb 的酶标记物;其中,所述偶联物作为包被原;

3) 酶联免疫试剂盒中包括克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物的酶标记物、宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb 和羊抗兔 IgG;其中,所述羊抗兔 IgG 作为包被原;

4) 酶联免疫试剂盒中包括克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物的酶标记物、宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb;其中,所述宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb 作为包被原。

6. 根据权利要求5所述的酶联免疫试剂盒,其特征在于,所述酶联免疫试剂盒还包括 β -肾上腺素受体激动剂标准品溶液、显色液、终止液、洗涤液、稀释液和提取液,所述 β -肾上腺素受体激动剂为克伦特罗或沙丁胺醇。

7. 一种用于 β -肾上腺素受体激动剂多残留检测的免疫胶体金试纸,由 PVC 底板、样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水垫组成,其特征在于,所述的金标垫包被有胶体金标记的第二种属动物蛋白与宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb 的混合物,或第二种属动物

蛋白与克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物的混合物;硝酸纤维素膜上包被有克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物或 CL-SAL-BSAAb 构成的检测线和包被抗第二种属动物蛋白 IgG 构成的质控线;所述第二种属动物为与免疫动物不同的动物。

8. 根据权利要求7所述的免疫胶体金试纸,其特征在于,所述 β -肾上腺素受体激动剂为克伦特罗或沙丁胺醇。

一种 β -肾上腺素受体激动剂多残留检测试剂盒及试纸

技术领域

[0001] 本发明属于免疫化学和分析技术领域,涉及一种 β -肾上腺素受体激动剂(以下简称 β -激动剂)多簇抗原和宽谱特异性抗体及其应用,特别是涉及一种以宽谱特异性抗体为核心的试剂盒及胶体金试纸。

背景技术

[0002] β -肾上腺素受体激动剂,简称 β -激动剂,是动物源性食品中检出率最高、危害最严重的化学性残留危害物,其中最著名的就是克伦特罗(clenbuterol, CL),俗称“瘦肉精”。上世纪80年代,美国脂胺公司的科研人员意外发现,“瘦肉精”能增强动物脂肪分解,促进蛋白质合成,大大缩短肉品上市周期,显著提高胴体瘦肉率、饲料回报率和经济效益。随后在世界各地迅速推广,80年代后期,传入我国并在许多地区的饲料加工企业和养殖业推广使用,很快成为养殖业应用最广泛的“添加剂”。

[0003] “瘦肉精”除克伦特罗外,还包括沙丁胺醇(salbutamol, SAL)、莱克多巴胺(ractopamine, RAC)等20多个结构和性质相类似的化合物。这类化合物进入体内后选择性作用于腺苷酸环化酶,导致人体产生低敏感现象,哮喘发生率和发病程度升高;还可导致内分泌紊乱,诱发染色体畸变及恶性肿瘤,严重时可致人死亡。

[0004] 目前, β -激动剂类兽药残留的检测方法主要包括高效液相色谱法(HPLC)、液相色谱-质谱联用法(LC-MS)、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)、酶联免疫法(ELISA)和荧光免疫法(FIA)等。

[0005] 色谱法是 β -激动剂兽药残留的主要检测方法,但是色谱法检测成本高、操作复杂、大量的阴性样品重复检测;而酶联免疫法具有特异性强、样品前处理简单等优点,但特异性强的特点同时也决定了它的致命缺点:一种酶联免疫试剂盒或试纸条只能检测一种兽药残留,而无法检测其它的同类兽药残留,这就是容易出现漏检的原因(如2011年轰动全国的“双汇瘦肉精”事件);此外,随着 β -激动剂多种替代品的出现,如果进行完全检测,一个样品需要使用多种检测产品,大大提高了检测成本和工作时间,失去了快速筛选的意义。

[0006] 多残留免疫分析能同时检测一类药物残留,其低成本、高通量、快速现场的优点是现有的色谱法和特异性免疫方法无法比拟的,是未来食品安全检测领域的关键技术之一,逐渐引起重视。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种 β -激动剂多簇抗原、宽谱特异性抗体及其应用。

[0008] 本发明采用以下技术方案:

[0009] 一种 β -肾上腺素受体激动剂多簇抗原,是以克伦特罗和沙丁胺醇为半抗原,与载体蛋白偶联得到的克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物;所述载体蛋白为牛血清白蛋白或卵清蛋白。

[0010] 所述多簇抗原为 CL-SAL-BSA 或 CL-SAL-OVA,以克伦特罗和沙丁胺醇为半抗原,牛

血清白蛋白或卵清蛋白为载体蛋白,按以下步骤制备得到:

[0011] 1) 在载体蛋白上以重氮法偶联克伦特罗半抗原,再进行纯化:

[0012] 将 0.2mmol 盐酸克伦特罗溶于 1~5ml 稀盐酸中,缓慢加入 0.2~2mol/L 的亚硝酸钠溶液至淀粉碘化钾试纸变为紫色,继续反应 1~3h 后将反应液缓慢加入到 5~10ml 含有 5~10mg/ml 的载体蛋白的碳酸钠缓冲溶液中,再继续反应 3~5h。将上述反应液用磷酸缓冲溶液透析 3~6 次,冷冻干燥即可得到克伦特罗-载体蛋白偶联物冻干粉。

[0013] 2) 在步骤 1) 的产物上以混合酸酐法偶联沙丁胺醇半抗原,再进行纯化:

[0014] 将 0.2mmol 硫酸沙丁胺醇溶于 5~10ml 无水乙醇中,加入 0.2mmol 戊二酸酐,室温下反应 3~5h,离心。将下层固体溶于 5~10ml N,N-二甲基甲酰胺,加入 0.2mmol 三正丁胺和 0.2mmol 氯甲酸异丁酯,继续反应 1~3h。将上述反应液缓慢加入到 5~10ml 含有 5~10mg/ml 克伦特罗-载体蛋白偶联物的磷酸缓冲溶液中,室温反应过夜。将上述反应液用磷酸缓冲溶液透析 3~6 次,冷冻干燥,即制得所述的 β -激动剂多簇抗原克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物冻干粉。

[0015] 本发明还涉及一种 β -激动剂宽谱特异性抗体,所述宽谱特异性抗体由所述的 β -肾上腺素受体激动剂多簇抗原通过动物免疫获得。

[0016] CL-SAL-BSA 通过动物免疫获得宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb。

[0017] 基于所述的 β -激动剂多簇抗原和宽谱特异性抗体,本发明的另一个目的还在于提供一种用于 β -激动剂多残留检测的酶联免疫试剂盒和免疫胶体金试纸。

[0018] 本发明的用于 β -激动剂多残留检测的酶联免疫试剂盒,为包含下述 1)、2)、3) 或 4) 中任一所述试剂的酶联免疫试剂盒:

[0019] 1) 酶联免疫试剂盒中包括克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物、宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb 和酶标记羊抗兔 IgG;其中,所述偶联物作为包被原;

[0020] 2) 酶联免疫试剂盒中包括克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物、宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb 的酶标记物;其中,所述偶联物作为包被原;

[0021] 3) 酶联免疫试剂盒中包括克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物的酶标记物、宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb 和羊抗兔 IgG;其中,所述羊抗兔 IgG 作为包被原;

[0022] 4) 酶联免疫试剂盒中包括克伦特罗-沙丁胺醇-载体蛋白偶联物的酶标记物、宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb;其中,所述宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb 作为包被原;

[0023] 所述载体蛋白为牛血清白蛋白或卵清蛋白。

[0024] 所述酶联免疫试剂盒还包括 β -激动剂标准品溶液、显色液、终止液、洗涤液、稀释液和提取液。

[0025] 其中,所述 β -激动剂包括克伦特罗和沙丁胺醇;

[0026] 所述显色液由显色液 A 液和显色液 B 液组成,显色液 A 液为质量百分比浓度为 2% 的过氧化脲的水溶液,显色液 B 液为质量百分比浓度为 1% 的四甲基联苯胺的水溶液;所述终止液为 1~2mol/L 的盐酸或硫酸;所述洗涤液为含有 0.8%~1.2% 吐温 20 和 0.3%~0.7% 叠氮化钠的 0.005~0.02mol/L 的磷酸盐缓冲液;

[0027] 所述稀释液为 0.03~0.05mol/L 的磷酸盐缓冲液;

[0028] 所述提取液包括提取液 I 和提取液 II,提取液 I 为正己烷,提取液 II 为体积比

4 : 1 的乙腈 - 丙酮混合液。

[0029] 本发明的试剂盒的检测原理如下：

[0030] 当在酶标板微孔条上预包被克伦特罗 - 沙丁胺醇 - 载体蛋白偶联物时，加入样本溶液或标准品溶液后，再加入 CL-SAL-BSAAb 溶液，样本中残留的 β - 激动剂药物或 β - 激动剂标准品与酶标板上包被的克伦特罗 - 沙丁胺醇 - 载体蛋白偶联物竞争 CL-SAL-BSAAb，加入酶标记二抗进行放大作用，用显色液显色，样本吸光值与样本中 β - 激动剂的含量成负相关，与标准曲线比较即可得出样本中 β - 激动剂的含量。同时也可根据酶标板上颜色的深浅，与系列浓度 β - 激动剂标准品溶液颜色的比较可粗略判断样品中 β - 激动剂含量的浓度范围。

[0031] 当在酶标板微孔条上预包被克伦特罗 - 沙丁胺醇 - 载体蛋白偶联物时，加入样本溶液或标准品溶液后，再加入酶标记 CL-SAL-BSAAb 溶液，样本中残留的 β - 激动剂或 β - 激动剂标准品与酶标板上包被的克伦特罗 - 沙丁胺醇 - 载体蛋白偶联物竞争 CL-SAL-BSAAb，用显色液显色，样本吸光值与样本中 β - 激动剂的含量成负相关，与标准曲线比较即可得出样本中 β - 激动剂的含量。同时也可根据酶标板上的颜色深浅，与系列浓度 β - 激动剂标准品溶液颜色的比较可粗略判断样品中 β - 激动剂含量的浓度范围。

[0032] 当在酶标板微孔条上预包被二抗时，加入 CL-SAL-BSAAb 孵育后，加入样本溶液或标准品溶液，再加入酶标记克伦特罗 - 沙丁胺醇 - 载体蛋白偶联物溶液，样本中残留的 β - 激动剂或 β - 激动剂标准品与酶标记克伦特罗 - 沙丁胺醇 - 载体蛋白偶联物竞争 CL-SAL-BSAAb 抗体，用显色液显色，样本吸光度值与样本中 β - 激动剂的含量成负相关，与标准曲线比较即可得出样本中 β - 激动剂的含量，同时也可根据酶标板上的颜色深浅，与系列浓度 β - 激动剂标准品溶液颜色的比较可粗略判断样品中 β - 激动剂含量的浓度范围。

[0033] 当在酶标板微孔条上预包被 CL-SAL-BSAAb 时，加入样本溶液或标准品溶液后，再加入酶标记克伦特罗 - 沙丁胺醇 - 载体蛋白偶联物溶液，样本中残留的 β - 激动剂或 β - 激动剂标准品与酶标记克伦特罗 - 沙丁胺醇 - 载体蛋白偶联物竞争包被在酶标板上的 CL-SAL-BSAAb，用显色液显色，样本吸光值与 β - 激动剂的含量成负相关，与标准曲线比较即可得出样本中 β - 激动剂的含量。同时也可根据酶标板上的颜色深浅，与系列浓度的 β - 激动剂标准品溶液颜色的比较可粗略判断样品中 β - 激动剂含量的浓度范围。

[0034] 所述试剂盒中二抗为羊抗兔 IgG。

[0035] 采用所述的酶联免疫试剂盒检测样品中 β - 激动剂的方法，包括如下步骤：

[0036] 1) 将待测样品进行前处理，得到待测样本溶液：

[0037] 2) 用上述任一所述试剂盒对所述待测样本溶液进行检测。

[0038] 本发明的检测 β - 激动剂的免疫胶体金试纸，所述试纸由 PVC 底板、样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水垫组成，其中金标垫包被有胶体金标记的第二种属动物蛋白与宽谱特异性多克隆抗体 CL-SAL-BSAAb 的混合物，或第二种属动物蛋白与克伦特罗 - 沙丁胺醇 - 载体蛋白偶联物的混合物；硝酸纤维素膜上包被有克伦特罗 - 沙丁胺醇 - 载体蛋白偶联物或 CL-SAL-BSAAb 构成的检测线 (T) 和包被抗第二种属动物蛋白 IgG 构成的质控线 (C)。所述第二种属动物为与免疫动物不同的动物。所述载体蛋白为牛血清白蛋白或卵清蛋白。

[0039] 有益效果：本发明提供的 β -激动剂宽谱特异性抗体 CL-SAL-BSAAb 可以同时识别克伦特罗和沙丁胺醇，因此本发明提供的试剂盒及试纸卡可以同时检测克伦特罗和沙丁胺醇两种 β -激动剂，将在 β -激动剂多残留的快速检测中发挥重大作用。

附图说明

[0040] 图 1 为 CL、BSA 以及 CL-BSA 偶联物的紫外可见光谱图。

[0041] 图 2 为 SAL、CL-BSA 偶联物以及 CL-SAL-BSA 偶联物的紫外可见光谱图。

[0042] 图 3 为酶联免疫试剂盒的工作曲线。

具体实施方式

[0043] 实施例 1 CL-SAL-BSA 及 CL-SAL-OVA 偶联物的制备

[0044] 1) 在 BSA 上以重氮法偶联 CL 半抗原，再进行纯化：

[0045] 将 0.2mmol 盐酸克伦特罗溶于 1~5ml 稀盐酸中，缓慢加入 0.2~2mol/L 的亚硝酸钠溶液至淀粉碘化钾试纸变为紫色，继续反应 1~3h 后将反应液缓慢加入到 5~10ml 含有 5~10mg/ml BSA 的碳酸钠缓冲溶液中，再继续反应 3~5h。将上述反应液用磷酸缓冲溶液透析 3~6 次，冷冻干燥即可得到 CL-BSA 偶联物冻干粉。根据 CL、BSA 以及 CL-BSA 偶联物的紫外可见吸收光谱图（见附图 1）计算可得偶联比，BSA : CL = 1 : 28。

[0046] 2) 在步骤 1) 的产物上以混合酸酐法偶联 SAL 半抗原，再进行纯化：

[0047] 将 0.2mmol 硫酸沙丁胺醇溶于 5~10ml 无水乙醇中，加入 0.2mmol 戊二酸酐，室温下反应 3~5h，离心。将下层固体溶于 5~10ml N,N-二甲基甲酰胺，加入 0.2mmol 三正丁胺和 0.2mmol 氯甲酸异丁酯，继续反应 1~3h。将上述反应液缓慢加入到 5~10ml 含有 5~10mg/ml CL-BSA 偶联物的磷酸缓冲溶液中，室温反应过夜。将上述反应液用磷酸缓冲溶液透析 3~6 次，冷冻干燥即可得到 CL-SAL-BSA 偶联物冻干粉。根据 SAL、CL-BSA 偶联物以及 CL-SAL-BSA 偶联物的紫外可见吸收光谱图（见附图 2）计算可得偶联比，BSA : CL : SAL = 1 : 28 : 17。

[0048] CL-SAL-OVA 偶联物的制备与纯化方法与 CL-SAL-BSA 偶联物相同。

[0049] 实施例 2 β -激动剂宽谱特异性抗体 CL-SAL-BSAAb 的制备

[0050] 用实施例 1 中所述的 CL-SAL-BSA 偶联物作为免疫原免疫体重约 2kg 的健康大白兔。首次免疫时将 0.25mg CL-SAL-BSA 偶联物与等量弗氏完全佐剂混合并充分乳化，背部皮下多点注射。两周后用同样剂量免疫原与等量弗氏不完全佐剂进行乳化并进行加强免疫，每两周加强免疫一次，共加强三次。最后一次免疫 10 天后对大白兔进行颈静脉采血，放在 4℃ 环境下静置 30min，再用硫酸铵多级沉淀法进行纯化，即可得到 β -激动剂宽谱特异性抗体 CL-SAL-BSAAb。

[0051] 实施例 3 以 CL-SAL-OVA 偶联物为包被原、酶标二抗为酶标记物的试剂盒的制备及其应用

[0052] 一、酶联免疫试剂盒，包括：

[0053] 1) 包被有 CL-SAL-OVA 偶联物的酶标板，包被原的浓度可以为 0.15 μ g/ml ~ 0.25 μ g/ml；

[0054] 2) β -激动剂宽谱特异性抗体 CL-SAL-BSAAb；

[0055] 3) 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG ;

[0056] 4) β - 激动剂标准品溶液 ;

[0057] 5) 底物显色液 :由 A 液和 B 液组成, A 液为 2% 的过氧化脲的水溶液, B 液为 1% 的四甲基联苯胺的水溶液 ;

[0058] 6) 终止液 :1 ~ 2mol/L 的盐酸或硫酸溶液 ;

[0059] 7) 洗涤液 :pH 值为 7.4 的含有 0.8% ~ 1.2% 吐温 20 和 0.5% 叠氮化钠的 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲液 ;

[0060] 8) 稀释液 :0.01 ~ 0.1mol/L 的磷酸盐缓冲液 ;

[0061] 9) 提取液 :提取液 I 为正己烷, 提取液 II 为体积比为 4 : 1 的乙腈 - 丙酮混合液。

[0062] 二、酶联免疫试剂盒中各组分的制备

[0063] (一)、包被有 CL-SAL-OVA 偶联物的酶标板的制备

[0064] 用包被缓冲液将 CL-SAL-OVA 偶联物稀释成 10 μ g/ml, 每孔加入 100 μ l, 37°C 温育 2h, 倾去包被液, 用洗涤液稀释 20 倍后洗涤 3 次, 每次 30s, 拍干, 然后在每孔中加入 200 μ l 封闭液, 37°C 温育 2h, 倾去孔内液体拍干, 干燥后用铝膜真空密封保存。

[0065] 其中, 所用的包被缓冲液为 pH9.6、0.01 ~ 0.1mol/L 的碳酸钠缓冲液 ; 所用封闭液为含有 0.5% 牛血清白蛋白、1% 叠氮化钠、3% 酪蛋白的磷酸盐缓冲液。

[0066] (二) 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 的制备

[0067] 1) 羊抗兔 IgG 的制备

[0068] 以山羊作为免疫动物, 以 CL-SAL-BSAAb 为免疫原对无病原体山羊进行免疫, 得到羊抗兔 IgG。

[0069] 2) 酶标记羊抗兔 IgG 的制备

[0070] 将 8mg 辣根过氧化物酶溶解于 2ml 蒸馏水中, 加入 0.4ml 现配制的 NaIO₄ 溶液 (100mmol/L), 室温搅拌反应 20min ; 用 1mmol/L 醋酸盐缓冲液于 4°C 透析过夜, 然后加入 40 μ l 磷酸盐缓冲液 (pH8.6, 0.5mol/L) 和 2.0ml 含有 16mg 羊抗兔 IgG 的磷酸盐缓冲液 (pH8.6, 5mol/L), 室温搅拌反应 4h ; 再加入 0.1ml 现配制的 NaBH₄ 水溶液 (1mol/L), 在 4°C 反应 4 小时, 得到辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG。

[0071] 三、试剂盒的应用

[0072] 采用所述的酶联免疫试剂盒检测样品中 β - 激动剂的方法, 包括如下步骤 :

[0073] 1) 将待测样品进行前处理, 得到待测样本溶液 ;

[0074] 2) 用所述试剂盒对所述待测样本溶液进行检测。

[0075] 通常, 所述前处理的方法为下述 a) 或 b) :

[0076] a) 所述待测样品为牛奶或奶粉 ; 将所述牛奶与上述样品稀释液按照 1 : (3 ~ 5) 的体积比混匀, 得到的混合溶液用提取剂 I 进行提取得到提取液, 即为待测样本溶液 ; 将所述奶粉溶于样品稀释液中混合均匀, 得到的混合溶液用提取剂 I 进行提取得到提取液, 即为待测样本溶液 ;

[0077] b) 所述待测样品为猪肉、蛋、鱼或虾 ; 将所述待测样品用提取剂 II 进行提取, 得到提取溶液, 即为待测样本溶液 ; 其中, 所述提取的方法可包括如下步骤 : 将每 0.8 ~ 1.2g 所述待测样品加入 3 ~ 5ml 乙腈 - 丙酮中, 超声 10 ~ 20min, 4000 ~ 5000r/min 离心 5 ~ 10min, 取上清液, 即为所述提取液。

[0078] (一) 样品前处理

[0079] 1) 牛奶样品：

[0080] 新鲜牛奶直接用稀释液按 1 : 4 的比例稀释,取 50 μ l 用于检测。

[0081] 2) 奶粉样品：

[0082] 称取 1g 奶粉,加入稀释液和提取剂 I 各 5ml,超声提取 15min,于 4000r/min 下离心 5min,吸取 1ml 上清液于 50 $^{\circ}$ C 氮气吹干,加入 1ml 的稀释液,待完全溶解后,取 50 μ l 用于分析。

[0083] 3) 猪肉、牛肉、蛋、鱼或虾样品：

[0084] 称取 1g 上述组织,匀浆后加入 5ml 提取剂 II,超声提取 15min,于 4000r/min 下离心 5min,吸取 1ml 上清液于 50 $^{\circ}$ C 氮气吹干,加入 1ml 的稀释液,待完全溶解后,取 50 μ l 用于分析。

[0085] (二) 样品检测

[0086] 1) 工作曲线的制作

[0087] 向所述包被有 CL-SAL-OVA 偶联物的酶标板微孔中加入 β -激动剂标准品溶液 50 μ l,再加入 β -激动剂宽谱特异性抗体 CL-SAL-BSAAb 工作液 50 μ l,用盖板膜封板,37 $^{\circ}$ C 恒温箱中反应 30min,倒出孔中液体,每孔加入 250 μ l 洗涤液,30s 后倒出孔中液体,如此重复操作共洗板 5 次,用吸水纸拍干。加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 工作液 100 μ l,37 $^{\circ}$ C 恒温箱中反应 30min,倒出孔中液体,重复洗涤步骤,每孔加入底物显色液 A 液过氧化脲,底物显色液 B 液四甲基联苯胺 (TMB),轻轻振荡混匀,37 $^{\circ}$ C 恒温箱避光显色 15min,每孔加入 2mol/L 终止液盐酸的水溶液 50 μ l,轻轻振荡混匀,用酶标仪,测定每孔吸光度值。

[0088] 用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 β -激动剂标准品浓度 C (μ g/L) 的对数值为 X 轴,百分吸光度值为 Y 轴,绘制标准曲线图,得到的标准曲线图如图 3 所示。

[0089] 百分吸光度值 (%) = $(B/B_0) \times 100\%$

[0090] 2) 样品中 β -激动剂浓度的测定

[0091] 向包被有 CL-SAL-OVA 偶联物的酶标板微孔中加入检测样本溶液 50 μ l,再加入 β -激动剂宽谱特异性抗体 CL-SAL-BSAAb 工作液 50 μ l,用盖板膜封板,37 $^{\circ}$ C 恒温箱中反应 30min,倒出孔中液体,每孔加入 250 μ l 洗涤液,30s 后倒出孔中液体,如此重复操作共洗板 5 次,用吸水纸拍干。加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 工作液 100 μ l,37 $^{\circ}$ C 恒温箱中反应 30min,倒出孔中液体,重复洗涤步骤,每孔加入底物显色液 A 液过氧化脲,底物显色液 B 液四甲基联苯胺 (TMB),轻轻振荡混匀,37 $^{\circ}$ C 恒温箱避光显色 15min,每孔加入 2mol/L 终止液硫酸的水溶液 50 μ l,轻轻振荡混匀,用酶标仪,测定每孔吸光度值。

[0092] 用每个检测样本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。相对应每一个检测样本溶液的百分吸光度值,则可从标准曲线上读出检测样本溶液中的 β -激动剂的残留量。也可以采用回归方程法,计算出样品溶液浓度。

[0093] 利用计算机专业软件,上述方法更便于大量样品的快速分析,整个检测过程只需较短时间,1.5h 内即可以完成。

[0094] 四、试剂盒灵敏度、精密度、准确度和保存期检测

[0095] 1、试剂盒灵敏度试验

[0096] 以实施例 3 中所述的试剂盒,对零标准溶液进行 20 次检测,测定结果的平均值加上 3 倍标准差作为试剂盒的最低检测限。

[0097] 表 1 试剂盒灵敏度试验 ($\mu\text{g/Kg}$)

[0098]

样品号	1	2	3	4	5	6	7	8
测定值	2.0	1.8	1.5	2.5	2.7	2.1	2.5	2.6
样品号	9	10	11	12	13	14	15	16
测定值	2.9	1.4	2.8	3.4	2.2	1.9	3.1	1.9
样品号	17	18	19	20	平均值	标准差	最低检测限	
测定值	2.1	2.7	1.3	2.6	2.3	0.57	4.0	

[0099] 2、标准品精密度试验

[0100] 从 3 个不同批次的试剂盒 (01 批、02 批、03 批) 中各抽取 10 个试剂盒进行实验,每个试剂盒抽出 20 个微孔,测定 $10\mu\text{g/Kg}$ 标准溶液的吸光度值,计算变异系数:变异系数 (CV) = 测定结果的标准差与其平均值的百分比。结果见表 2。

[0101] 表 2 标准品精密度试验 (CV%)

[0102]

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C	01 批	7.8	8.5	6.8	14.2	7.7	7.9	10.4	6.3	5.5	5.8
V	02 批	10.2	9.1	7.5	9.5	13.1	13.3	6.0	11.8	7.9	10.8
%	03 批	14.1	8.2	6.9	6.8	5.7	9.1	10.6	14.4	7.7	10.1

[0103] 通过上述试验结果可以得出,每批试剂盒各测定 10 次标准品变异系数在 5.5%~14.4%之间,符合精密度小于或等于 20%的规定。

[0104] 3、样本精密度试验

[0105] 向不含 β -激动剂的样品牛奶、奶粉、猪肉中添加 β -激动剂,使 β -激动剂在样品中的终浓度为 $10\mu\text{g/Kg}$,将添加后的样品按照本实施例“三、试剂盒的应用”中所述方法进行前处理,得到检测样本溶液。

[0106] 从三个不同批次的试剂盒 (01 批、03 批、05 批) 中各抽取 3 个试剂盒进行检测,每个样品重复 5 次,分别计算变异系数 (CV%)。结果见表 3、表 4。

[0107] 结果表明,本试剂盒对牛奶及猪肉样品的变异系数在 5.8%~11.2%之间,符合试剂盒精密度的规定。

[0108] 表 3 牛奶的精密度试验 (添加浓度 $10\mu\text{g/Kg}$)

[0109]

批号	实测值($\mu\text{g}/\text{Kg}$)					变异系数 CV%
01	8.1	7.6	9.6	9.5	7.8	11.2
	9.0	8.8	8.3	7.7	9.5	8.1
	8.8	7.5	9.3	7.9	9.2	9.4
03	8.2	8.1	7.5	9.6	9.1	9.8
	8.6	8.9	9.3	9.5	7.7	7.8
	9.3	8.5	8.9	7.8	9.0	6.6
05	9.2	8.2	9.0	8.3	8.7	6.1
	9.5	8.9	8.3	8.5	9.4	8.2
	9.6	8.5	9.3	7.8	7.5	10.9

[0110] 表 4 猪肉的精密度试验 (添加浓度 $10 \mu\text{g}/\text{Kg}$)

[0111]

批号	实测值($\mu\text{g}/\text{Kg}$)					变异系数 CV%
----	--------------------------------	--	--	--	--	----------

[0112]

01	7.6	9.1	8.7	8.3	7.9	7.2
	8.3	8.0	9.6	7.6	9.2	9.8
	8.2	7.6	8.9	9.5	9.3	9.1
03	9.3	8.6	8.1	8.4	9.1	5.8
	7.8	9.0	9.3	9.5	7.7	9.8
	9.5	7.9	8.6	7.9	8.9	8.2
05	8.6	9.1	8.2	8.3	9.5	6.3
	8.2	8.4	9.1	7.7	8.9	6.7
	9.6	8.9	9.3	7.8	7.5	10.7

[0113] 4、样本准确度试验

[0114] 向不含 β -激动剂的样品牛奶、奶粉、猪肉中添加 β -激动剂标准品溶液,使 β -激动剂在样品中的终浓度分别为 $10 \mu\text{g}/\text{Kg}$ 和 $20 \mu\text{g}/\text{Kg}$,将添加后的样品按照本实施例“三、试剂盒的应用”中所述方法进行前处理,再进行检测。每个浓度做 5 个平行,分别计算回收率 (回收率 = 实测值 / 添加值)。结果见表 5。结果表明牛奶样品的添加回收率在 75.7%~95.5%之间;猪肉样品的添加回收率为 74.5%~90.5%,符合准确度的测定标准。

[0115] 表 5 试剂盒的准确度试验

[0116]

样品		牛奶($\mu\text{g}/\text{Kg}$)		猪肉($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	
添加浓度		10	20	10	20
回收率%	1	81.2	88.7	75.9	87.6
	2	75.7	92.3	90.5	94.5
	3	95.5	80.6	86.8	89.1
	4	95.2	93.5	82.6	90.3
	5	77.9	78.9	79.2	83.7
平均值		85.1	86.8	83.1	89.0

[0117] 5、交叉反应率试验：

[0118] 选择克伦特罗和沙丁胺醇测定交叉反应率。通过物的标准曲线分别得到其50%抑制浓度。用下式计算试剂盒对 β -激动剂的交叉反应率。[0119] 交叉反应率(%) = (引起50%抑制的原型 β -激动剂浓度 / 引起50%抑制的其他 β -激动剂浓度) \times 100%

[0120] 结果如表6所示。

[0121] 表6 试剂盒的特异性试验

[0122]

药物名称	50%抑制浓度 (nmol/ml)	交叉反应率%
沙丁胺醇	7.1	100
克伦特罗	2.7	263

[0123] 结果表明,本发明试剂盒对克伦特罗及沙丁胺醇的特异性好,即本发明试剂盒可以检测上述两种 β -激动剂。

[0124] 6、试剂盒保存期试验

[0125] 试剂盒保存条件为2~8 $^{\circ}\text{C}$,经过6个月的测定,试剂盒的最大吸光度值(零标准)、50%抑制浓度、 β -激动剂添加实际测定值均在正常范围之内。考虑到运输和使用过程中,会有非正常保存条件出现,将试剂盒在37 $^{\circ}\text{C}$ 保存的条件下放置6天,进行加速老化实验,结果表明该试剂盒的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 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷冻5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 $^{\circ}\text{C}$ 至少可以保存6个月以上。[0126] 实施例4用于检测 β -激动剂药物的试剂盒[0127] 按照与实施例3基本相同的方法,制作如下几种检测 β -激动剂药物的试剂盒：

[0128] 一、包被原为宽谱特异性抗体CL-SAL-BSAAb,酶标记物为酶标记CL-SAL-OVA 偶联物的试剂盒,其组成为：

[0129] 1) 包被有包被原的酶标板 :包被原为宽谱特异性抗体 CL-SAL-BSAAb,包被原的浓度可以为 $0.15 \sim 0.25 \mu\text{g/ml}$;

[0130] 2) 酶标记物 :酶标记 CL-SAL-OVA 偶联物的工作液 ;标记酶为辣根过氧化物酶 ;

[0131] 3) β - 激动剂标准品溶液 ;

[0132] 4) 底物显色液 :由 A 液和 B 液组成,A 液为 2%的过氧化脲的水溶液,B 液为 1%的四甲基联苯胺的水溶液 ;

[0133] 5) 终止液 : $1 \sim 2\text{mol/L}$ 的盐酸或硫酸溶液 ;

[0134] 6) 洗涤液 :pH 值为 7.4 的含有 0.8%~1.2%吐温 20 和 0.5%叠氮化钠的 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲液 ;

[0135] 7) 稀释液 : $0.01 \sim 0.1\text{mol/L}$ 的磷酸盐缓冲液 ;

[0136] 8) 提取液 :提取液 I 为正己烷,提取液 II 为体积比为 4 : 1 的乙腈 - 丙酮混合液。

[0137] 二、包被原为 CL-SAL-OVA 偶联物、酶标记物为酶标记 CL-SAL-BSAAb 的试剂盒,其组成为 :

[0138] 1) 包被有包被原的酶标板 :包被原为 CL-SAL-OVA 偶联物 ;

[0139] 2) 酶标记物 :酶标记 CL-SAL-BSAAb 的工作液 ;标记酶为辣根过氧化物酶 ;

[0140] 3) β - 激动剂标准品溶液 ;

[0141] 4) 底物显色液 :由 A 液和 B 液组成,A 液为 2%的过氧化脲的水溶液,B 液为 1%的四甲基联苯胺的水溶液 ;

[0142] 5) 终止液 : $1 \sim 2\text{mol/L}$ 的盐酸或硫酸溶液 ;

[0143] 6) 洗涤液 :pH 值为 7.4 的含有 0.8%~1.2%吐温 20 和 0.5%叠氮化钠的 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲液 ;

[0144] 7) 稀释液 : $0.01\text{mol/L} \sim 0.1\text{mol/L}$ 的磷酸盐缓冲液 ;

[0145] 8) 提取液 :提取液 I 为正己烷,提取液 II 为体积比为 4 : 1 的乙腈 - 丙酮混合液。

[0146] 三、包被原为羊抗兔 IgG,酶标记物为酶标记 CL-SAL-OVA 偶联物的试剂盒,其组成为 :

[0147] 1) 包被有包被原的酶标板 :包被原为羊抗兔 IgG,包被原的浓度可以为 $0.15 \sim 0.25 \mu\text{g/ml}$;

[0148] 2) 酶标记物 :酶标记 CL-SAL-OVA 偶联物的工作液 ;标记酶为辣根过氧化物酶 ;

[0149] 3) β - 激动剂标准品溶液 ;

[0150] 4) 底物显色液 :由 A 液和 B 液组成,A 液为 2%的过氧化脲的水溶液,B 液为 1%的四甲基联苯胺的水溶液 ;

[0151] 5) 终止液 : $1 \sim 2\text{mol/L}$ 的盐酸或硫酸溶液 ;

[0152] 6) 洗涤液 :pH 值为 7.4 的含有 0.8%~1.2%吐温 20 和 0.5%叠氮化钠的 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲液 ;

[0153] 7) 稀释液 : $0.01 \sim 0.1\text{mol/L}$ 的磷酸盐缓冲液 ;

[0154] 8) 提取液 :提取液 I 为正己烷,提取液 II 为体积比为 4 : 1 的乙腈 - 丙酮混合液。

[0155] 实施例 5 β - 激动剂快速检测胶体金试纸的制备及应用

[0156] 一、抗第二种属动物蛋白抗体的制备

[0157] 用猪血清蛋白免疫山羊,免疫剂量为 $0.2 \sim 0.5\text{mg}$ 每次,背部皮下分 4~6 点注

射。首次免疫时,用无菌磷酸盐缓冲溶液溶解猪血清蛋白,与等量弗氏完全佐剂完全混合制成乳化剂;加强免疫时,用无菌磷酸盐缓冲溶液溶解猪血清蛋白,与等量弗氏不完全佐剂完全混合制成乳化剂,在首免后 2~3 周进行,连续免疫 3 次,每次间隔 2~3 周。最后一次免疫不加佐剂,7 天后心脏采血,以间接 ELISA 法测定血清抗体效价,并用硫酸化沉淀法得到纯化的羊抗猪血清蛋白抗体,-20℃保存。

[0158] 二、胶体金标记宽谱特异性抗体 CL-SAL-BSAAb 的制备

[0159] 1) 胶体金溶液的制备:

[0160] 在沸腾的 200ml 的 0.1% 的氯金酸溶液中加入 1% 的柠檬酸钠溶液 8ml,搅拌至溶液变为红色。用 0.1mol/L 的 Na_2CO_3 溶液调节 PH 至 8~9,放置于 2~8℃保存备用。

[0161] 2) 胶体金标记 CL-SAL-BSAAb 的制备:

[0162] 以 1:2000 的标记比将 CL-SAL-BSAAb 和猪血清蛋白加入到 PH8~9 的胶体金溶液中,反应 10min,加入 20% 的聚乙二醇溶液至终浓度为 0.05%,1500~2000r/min 离心 20min,除去未结合的胶体金颗粒,15000r/min 离心 1h,弃掉上清液获得金标记 CL-SAL-BSAAb 和猪血清白蛋白的混合物,经柱层析纯化后使用。

[0163] 三、胶体金标记 CL-SAL-OVA 偶联物的制备

[0164] 以 1:2000 的标记比将 CL-SAL-OVA 偶联物与猪血清蛋白加入到 PH6~7 的胶体金溶液中,反应 10min,加入 20% 的聚乙二醇溶液至终浓度为 0.05%,1500~2000r/min 离心 20min,除去未结合的胶体金颗粒,15000r/min 离心 1h,弃掉上清液获得金标记 CL-SAL-OVA 偶联物与猪血清蛋白的混合物,经柱层析纯化后使用。

[0165] 四、免疫胶体金试纸的制备

[0166] 1) 金标垫含有胶体金标记 CL-SAL-BSAAb 的试纸的制备

[0167] 将玻璃纤维浸置在 5% 蔗糖溶液中,取出后 37℃干燥 2h。用 BioDot XYZ3050 试纸条三维点喷平台将胶体金标记 CL-SAL-BSAAb 与猪血清蛋白的混合物点喷在玻璃纤维上,37℃干燥 2h,即为金标垫。用 BioDot XYZ3050 试纸条三维点喷平台将 CL-SAL-OVA 偶联物点喷在硝酸纤维素膜上,即为检测线;在离检测线 3mm 点喷上羊抗猪血清白蛋白 IgG,37℃干燥 2h,即为质控线。将喷有检测线和质控线的硝酸纤维素膜粘贴在一块 PVC 底板的中央,分别将吸水纸和金标垫粘贴于硝酸纤维素膜的上方和下方,两者之间重叠约 3mm;再在金标垫的下方粘贴玻璃纤维作为样品垫,组装成免疫胶体金试纸。

[0168] 2) 金标垫含有胶体金标记 CL-SAL-OVA 偶联物的试纸的制备

[0169] 将玻璃纤维浸置在 5% 蔗糖溶液中,取出后 37℃干燥 2h。用 BioDot XYZ3050 试纸条三维点喷平台将胶体金标记 CL-SAL-OVA 偶联物与猪血清白蛋白的混合物点喷在玻璃纤维上,37℃干燥 2h,即为金标垫。用 BioDot XYZ3050 试纸条三维点喷平台将 CL-SAL-BSAAb 点喷在硝酸纤维素膜上,即为检测线;在离检测线 3mm 点喷上羊抗猪血清白蛋白 IgG,37℃干燥 2h,即为质控线。将喷有检测线和质控线的硝酸纤维素膜粘贴在一块 PVC 底板的中央,分别将吸水纸和金标垫粘贴于硝酸纤维素膜的上方和下方,两者之间重叠约 3mm;再在金标垫的下方粘贴玻璃纤维作为样品垫,组装成免疫胶体金试纸。

[0170] 五、免疫胶体金试纸的检测原理

[0171] 1) 金标垫含有胶体金标记 CL-SAL-BSAAb 的试纸的检测原理

[0172] 待测样品中含有 β -激动剂时,样品溶液通过试纸的毛细作用上移到胶体金标

记部分,样品中的 β -激动剂与胶体金标记的CL-SAL-BSAAb结合,结合物继续上移到检测线,检测线上的CL-SAL-OVA偶联物不能与已经和 β -激动剂结合的CL-SAL-BSAAb相结合,因此检测线不显色或颜色很淡。当待测样品中不含 β -激动剂时,胶体金标记的CL-SAL-BSAAb到达检测线时被CL-SAL-OVA偶联物捕获,形成肉眼可见的红色,即为阴性。无论样品中是否含有 β -激动剂,胶体金标记的第二种属蛋白上移到质控线时都能被质控线上包被的抗第二种属蛋白抗体捕获形成肉眼可见的红色,即为质控线。

[0173] 因CL-SAL-BSAAb与克伦特罗、沙丁胺醇的交叉反应率可分别达到263%、100%,因此本试纸可检测样品中的克伦特罗和沙丁胺醇。

[0174] 2) 金标垫含有胶体金标记CL-SAL-OVA偶联物的试纸的检测原理

[0175] 待测样品中含有 β -激动剂时,样品溶液通过试纸的毛细作用上移到胶体金标记部分,样品中的 β -激动剂分子量小速度快,先到达检测,与检测线上包被的CL-SAL-BSAAb结合,于是胶体金标记的CL-SAL-OVA偶联物不能再被检测线上包被的CL-SAL-BSAAb捕获,检测线不显色或颜色很淡,此即为阳性。当待测样品中不含 β -激动剂时,则胶体金标记的CL-SAL-OVA偶联物到达检测线时被CL-SAL-BSAAb捕获,形成肉眼可见的红色,即为阴性。无论样品中是否含有 β -激动剂,胶体金标记的第二种属蛋白上移到质控线时都能被质控线上包被的抗第二种属蛋白抗体捕获形成肉眼可见的红色,即为质控线。

[0176] 因CL-SAL-BSAAb与克伦特罗、沙丁胺醇的交叉反应率可分别达到263%、100%,因此本试纸可检测样品中的克伦特罗和沙丁胺醇。

[0177] 六、样品检测

[0178] 以实施例3“三、试剂盒的应用”中的方法进行样品前处理得到待测样品溶液,将试纸条直接插入待测溶液,2rain后观察颜色。如检测线与质控线都显红色,表明样品为阴性;如检测线不显色,质控线显红色,则样品为阳性;无论是否含有雌酚类药物,质控线都应显红色,如不显色,表明试纸失效。

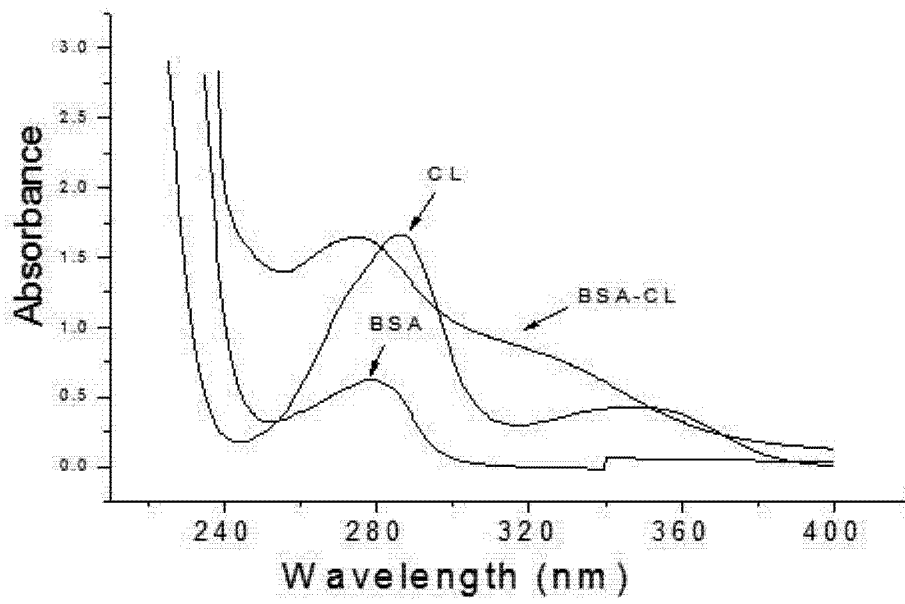


图 1

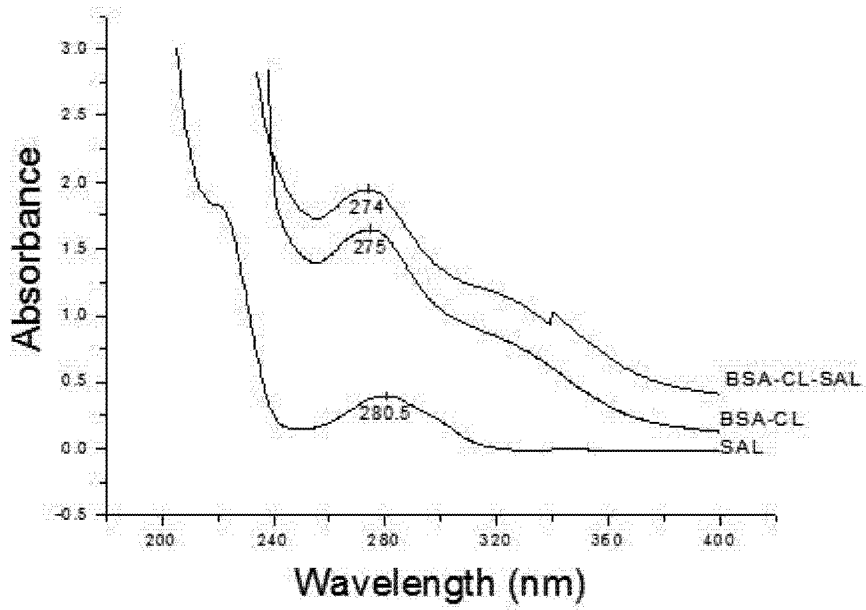


图 2

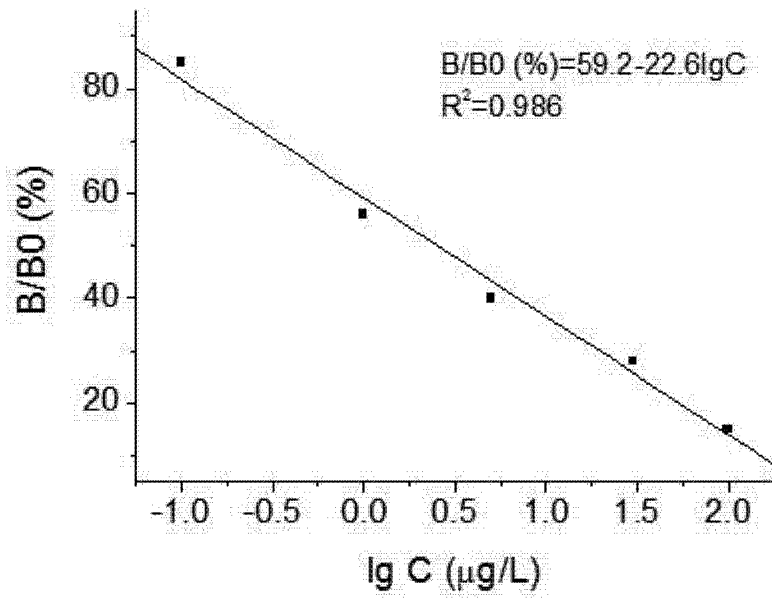


图 3

专利名称(译)	一种β-肾上腺素受体激动剂多残留检测试剂盒及试纸		
公开(公告)号	CN104387467A	公开(公告)日	2015-03-04
申请号	CN201410568941.5	申请日	2014-10-22
[标]申请(专利权)人(译)	南京师范大学		
申请(专利权)人(译)	南京师范大学		
当前申请(专利权)人(译)	南京师范大学		
[标]发明人	赵波 邵科峰 张红琳 赵虎 常其沛		
发明人	赵波 邵科峰 张红琳 赵虎 常其沛		
IPC分类号	C07K14/765 C07K14/77 C07K16/28 G01N33/68 G01N33/535		
CPC分类号	C07K14/765 C07K11/1077 C07K14/77 C07K16/44 C07K19/00 G01N33/543 G01N33/558		
代理人(译)	韩朝晖		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种β-肾上腺素受体激动剂多簇抗原、宽谱特异性抗体及其在β-肾上腺素受体激动剂多残留检测方面的应用，包括检测试剂盒和试纸。本发明的β-激动剂多簇抗原，为克伦特罗-沙丁胺醇-牛血清蛋白(CL-SAL-BSA)或克伦特罗-沙丁胺醇-卵清蛋白(CL-SAL-OVA)，并用CL-SAL-BSA通过动物免疫制备了抗克伦特罗-沙丁胺醇-牛血清蛋白抗体(CL-SAL-BSAAb)。本发明还公开了用于β-激动剂多残留检测的以CL-SAL-BSAAb为核心试剂的试剂盒和试纸，基于CL-SAL-BSAAb对β-激动剂的交叉免疫反应，能实现对克伦特罗和沙丁胺醇的检测。

