



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109705216 A

(43)申请公布日 2019.05.03

(21)申请号 201811623396.X

G01N 33/577(2006.01)

(22)申请日 2018.12.28

G01N 33/58(2006.01)

(83)生物保藏信息

G01N 33/558(2006.01)

CCTCC NO:C2018217 2018.12.20

G01N 33/535(2006.01)

(71)申请人 河北省科学院生物研究所

G01N 33/532(2006.01)

地址 050081 河北省石家庄市桥西区友谊
南大街46号

C12R 1/91(2006.01)

(72)发明人 李春生 李玉静 刘静静 吴萌
张静 李云 张岩

(74)专利代理机构 河北东尚律师事务所 13124
代理人 李国聪

(51)Int.Cl.

C07K 16/18(2006.01)

C12N 5/20(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

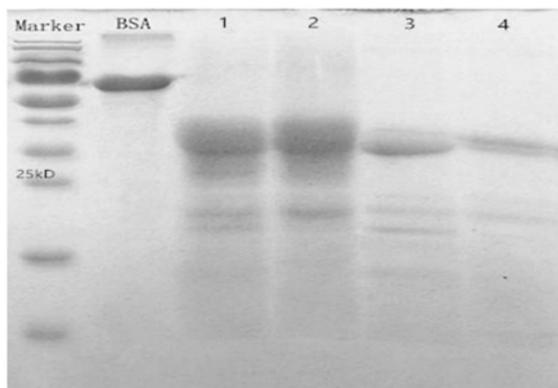
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

一种抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体及其
应用

(57)摘要

本发明涉及一种抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体及其应用,属于免疫学技术领域和食品安全分析技术领域。所述抗单克隆抗体由保藏编号为CCTCC NO:C2018217的杂交瘤细胞株分泌产生,该抗体效价为 $1:10^6$,亚型为IgG1,亲和力常数 $K_a=8.1 \times 10^8 \text{L/mol}$ 。所述的单克隆抗体可用于制备检测生鲜肉及其制品中牛骨骼肌肌钙蛋白I的酶联免疫试剂盒和胶体金试层析试纸条,以达到快速且灵敏地检测动物源性食品中牛肉源性成分检测的目的。



1. 一种抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体,其特征在于,该单克隆抗体由保藏编号为CCTCC NO:C2018217的杂交瘤细胞株skTnI-3A8产生。

2. 根据权利要求1所述的抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体,其特征在于,该抗体效价为 $1:10^6$,亚型为IgG₁,亲和力常数 $K_a=8.1 \times 10^8 \text{L/mol}$ 。

3. 一种产生如权利要求1或2所述的抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体的杂交瘤细胞株skTnI-3A8,其特征在于,其保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏编号CCTCC NO:C2018217,保藏日期为2018年12月20日。

4. 如权利要求1或2所述的抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体在用于配制检测生物样品中的牛骨骼肌蛋白I的非诊断目的检测产品中的应用。

5. 根据权利要求4所述的应用,其特征在于,所述非诊断目的检测产品为酶联免疫试剂盒或胶体金层析试纸条。

6. 一种检测牛骨骼肌肌钙蛋白I的酶联免疫试剂盒,其特征在于,该试剂盒中含有如权利要求1或2所述的抗牛骨骼肌肌钙蛋白I的单克隆抗体。

7. 一种检测牛骨骼肌肌钙蛋白I的胶体金层析试纸条,其特征在于,该试纸条中含有如权利要求1或2所述的抗牛骨骼肌肌钙蛋白I的单克隆抗体。

一种抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体、产生该单克隆抗体的杂交瘤细胞株,以及该抗体在检测牛骨骼肌肌钙蛋白I上的应用,属于免疫学技术领域和食品安全分析技术领域。

背景技术

[0002] 在肉类食品中,由于价格、宗教、健康等原因,许多国家制定法规要求食品标签真实明确地标出肉类来源,禁止掺假行为,以保护消费者的利益,但是市场上混淆肉类品种的现象仍然非常普遍,掺假的方式包括掺兑、混入、抽取、假冒等手段,尤其以牛、羊肉制品的掺杂、掺假的行为最为常见,这些掺假行为极大地损害了消费者的利益。

[0003] 目前,国内外许多实验室都使用分子生物学技术手段检测肉制品中的源性成分,DNA检测方法手段多样,主要为核酸探针杂交、DNA指纹分析、PCR特异扩增、PCR-RFLP等。这些方法具有一定的灵敏度,但同时也存在着成本高、对检测对象要求高、工作量大、不能现场检测等缺点,尤其是对于熟肉制品检测有很大不确定性,因为这很大程度上依赖于熟肉制品的处理过程,生产过程的多样性导致了基因物质的不同降解水平。再者,该方法只能检测动物DNA的可能来源,必须时刻防止交叉污染,乳汁、血液、脂肪都有可能是DNA的来源。因此,需要其他的方法来与其它的检测结果相互印证。免疫学方法具有灵敏度高、特异性好、成本低、操作方便等特点,适于大批量样品筛选,其中酶联免疫吸附法和胶体金试纸条是最常用的方法。

[0004] 然而熟肉制品一般都要经过高温、高压处理,在这个过程中许多蛋白都发生了变性,失去了抗原性和水溶性,这就给免疫学方法的建立带来了困难。要想将免疫学法应用于动物源性成分的检测,必须找到一个特异性的热稳定的蛋白质作为标志物抗原,然后研制出针对此抗原的特异性的单克隆抗体。动物骨骼肌中的肌钙蛋白I(TnI)具有种属专一性,可以作为一种耐热种类标志蛋白,区分不同种属生、熟肉制品的肉种类来源。以牛骨骼肌肌钙蛋白I(skTnI)为目标检测物,能实现牛肉源性成分免疫学检测鉴别技术的建立。因此,抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体的制备对于开展牛肉肉源成分的免疫学检验鉴定工作具有重要的实际意义和社会意义。

发明内容

[0005] 本发明所要解决的技术问题是克服现有肉源性检测技术缺陷,提供一种抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体,所述单克隆抗体对牛骨骼肌肌钙蛋白I有特异性,所述抗单克隆抗体由保藏编号为CCTCC N0:C2018217的杂交瘤细胞株skTnI-3A8产生。进一步的,本发明将该单克隆抗体应用于检测牛骨骼肌肌钙蛋白I。

[0006] 本发明所述技术问题是由以下技术方案实现的。

[0007] 一种抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体,该单克隆抗体由保藏编号为CCTCC N0:C2018217的杂交瘤细胞株产生。该杂交瘤细胞株被命名为杂交瘤细胞株skTnI-3A8,于2018

年12月20日送交中国典型培养物保藏中心(CCTCC)保藏。

[0008] 上述抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体能与牛骨骼肌肌钙蛋白I特异性结合,效价为 $1:10^6$,亚型为IgG1,亲和力常数 $K_a=8.1 \times 10^8 \text{L/mol}$ 。

[0009] 上述牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体在用于配制检测生鲜肉及其制品中的牛骨骼肌肌钙蛋白I的非诊断目的检测产品中的应用。

[0010] 上述应用,所述非诊断目的检测产品为酶联免疫检测试剂盒或胶体金层析试纸条。

[0011] 进一步的,一种检测牛骨骼肌肌钙蛋白I的酶联免疫试剂盒,该试剂盒中含有所述的抗牛骨骼肌肌钙蛋白I的单克隆抗体。

[0012] 一种检测牛骨骼肌肌钙蛋白I的胶体金层析试纸条,该试纸条中含有所述的抗牛骨骼肌肌钙蛋白I的单克隆抗体。

[0013] 一种制备上述牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体的方法,包括如下步骤:

[0014] (1) 抗原的制备

[0015] 取牛的骨骼肌去除脂肪和结缔组织,研磨混匀,称取40g加入0.15M的NaCl溶液(1:2w/v);进一步混匀后,超声提取5min(50W,20KHz),再用沸水加热20min后,2000g离心30min;去除沉淀,取一半上清液过滤后为处理液1。另一半上清液用121℃高压30min,5000g离心30min后,用Whatman 1号滤纸过滤,滤液加入90%乙醇(1:3.74v/v),取混合液7000g离心20min,取沉淀37℃烘干,生理盐水复溶后为处理液2。处理液1和处理液2经SDS-PAGE电泳鉴定后将电泳条带1和条带2研磨,用生理盐水稀释后分别作为检测抗原和免疫抗原。

[0016] (2) 制备牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体:

[0017] (a) 动物免疫:选择提取的免疫抗原,免疫6-8周龄的雌性Balb/c小鼠,间隔2周免疫1次,3次免疫后断尾取血测定效价和抑制率,选择免疫结果最佳的小鼠准备融合;

[0018] (b) 细胞融合:取步骤(a)选定的小鼠的脾细胞和小鼠骨髓瘤SP2/0细胞进行融合,间接ELISA法测定上清液选取阳性高的孔,通过有限稀释法对阳性孔进行亚克隆,直至建立产生单一抗牛骨骼肌肌钙蛋白I的单克隆抗体的杂交瘤细胞株;

[0019] (c) 单克隆抗体的大量制备:选取个体较大的雌性Balb/c小鼠,采用体内诱生腹水法,大量制备腹水,并通过辛酸-硫酸铵沉淀纯化腹水,分成小管,-20℃保存,获得牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体。

[0020] 一种鉴定上述牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体特性的方法,包括如下步骤:

[0021] (a) 效价测定

[0022] 用pH9.6的碳酸盐缓冲液将检测抗原稀释为 $5 \mu\text{g/ml}$ 包被检测板,将纯化后的单克隆抗体进行1:2000,1:4000,1:8000,……1:1024000稀释,加入到酶标板孔内,反应后加入HRP标记的羊抗鼠二抗,最后用TMB显色,结果显示,纯化后的牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体浓度为 1mg/mL 时的效价达 $1:10^6$ 。

[0023] (b) 亚型测定

[0024] 采用购自Sigma公司的鼠源单抗亚型鉴定试剂盒进行亚型测定,结果显示,牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体亚型为IgG1。

[0025] (c) 亲和力测定

[0026] 采用间接ELISA法测定牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体的亲和常数,结果显示,亲

和常数 $K_a=8.1 \times 10^8 \text{L/mol}$ 。

[0027] (d) 特异性测定

[0028] 用间接ELISA测定单克隆抗体与牛、羊、鸡、鸭、猪的骨骼肌提取物的交叉反应。结果显示牛skTnI-3A8与反刍动物(牛、羊)骨骼肌提取物的效价为1:100万,与鸡、鸭、猪骨骼肌提取物的效价低于1:1万,特异性较好。

[0029] 本发明提供的单克隆抗体可应用于检测样品中牛骨骼肌肌钙蛋白I,主要是将其应用于制备牛骨骼肌肌钙蛋白I检测的酶联免疫检测试剂盒和胶体金试条纸。本发明提供的抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体的质量具有很强的可控性和可重复性,并通过对所测抗体特性的初步分析及鉴定,为特异、灵敏的免疫测定方法的进一步建立和应用提供了实验依据。

附图说明

[0030] 图1本发明所述提取牛骨骼肌肌钙蛋白ISDS-PAGE鉴定图,图1a彩色图,图1b黑白图

[0031] 图2本发明所述牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体效价测定图

[0032] 图3本发明所述牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体亚型测定图

[0033] 图4本发明所述牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体特异性测定图

[0034] 本发明所述的抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体的杂交瘤细胞株skTnI-3A8,已于2018年12月20日送交中国典型培养物保藏中心(简称CCTCC,地址:武汉大学,中国典型培养物保藏中心,邮编:430072)保藏,保藏编号CCTCC NO:C2018217。

具体实施方式

[0035] 下面结合具体实施方式对本发明作进一步详细说明,所列举的实施例不对本发明的内容和保护范围构成任何限制。

[0036] 下述实施例中所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到。

[0037] 实施例一 本发明所述牛骨骼肌肌钙蛋白I抗原的制备

[0038] 取牛的骨骼肌去除脂肪和结缔组织,研磨混匀,称取40g加入0.15M的NaCl溶液(1:2w/v);进一步混匀后,超声提取5min(50W,20KHz),再用沸水加热20min后,2000g离心30min;去除沉淀,取一半上清液过滤后为处理液1。另一半上清液用121℃高压30min,5000g离心30min后,用Whatman 1号滤纸过滤,滤液加入90%乙醇(1:3.74v/v),取混合液7000g离心20min,取沉淀37℃烘干,生理盐水复溶后为处理液2。处理液1和处理液2经SDS-PAGE电泳鉴定后,鉴定结果见图1,结果表明,处理液1和处理液2在21~22kD有蛋白条带,与文献报道的skTnI的分子量21~24kD相符。将skTnI电泳条带研磨,用生理盐水稀释后分别作为检测抗原和免疫抗原。

[0039] 实施例二 本发明所述牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体的制备

[0040] (1) 动物免疫:用制备的免疫抗原免疫6-8周龄的雌性Balb/c小鼠,间隔2周免疫1次,免疫流程见表1,三免后断尾取血测定效价和抑制率,选择免疫结果最佳的小鼠准备融合;

[0041] 表1免疫流程图

	免疫时间	免疫次数	免疫部位	免疫剂量	备注
	0	第一次免疫	尾静脉注射	10 μ g/只	
[0042]	2周	第二次免疫	尾静脉注射	10 μ g/只	
	4周	第三次免疫	尾静脉注射	10 μ g/只	测定效价
	6周	加强免疫	尾静脉注射	10 μ g/只	

[0043] (2) 细胞融合:融合小鼠摘眼球放血,将血清作为阳性对照,脱颈处死后无菌条件下取出脾脏,制备脾细胞,与SP2/0细胞按5:1的比例通过PEG融合,将融合后的细胞悬液加入已铺有饲养细胞的96孔板,放入37 $^{\circ}$ C、5%CO₂的培养箱中培养;

[0044] (3) 阳性杂交瘤细胞株的筛选:融合后的细胞,次日检查有无污染,融合后第10天换用HT培养基。换液后2-3d用间接ELISA进行阳性孔筛选,尽量挑选出强阳性、单个克隆、细胞状态好的孔,通过有限稀释法进行亚克隆,同时进行扩大培养、冻存,直至建立单一分泌抗体的单克隆细胞株。

[0045] (4) 单克隆抗体的大量制备:采用小鼠体内诱生腹水的方法,取健康的Balb/c雌性小鼠,每只小鼠体内注射石蜡油0.5mL,7d后调整克隆化阳性杂交瘤细胞10⁶/mL,每只小鼠腹腔注射1mL,7-9天取腹水,离心弃脂肪,经辛酸-硫酸铵纯化,冻干后-20 $^{\circ}$ C保存,获得牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体。

[0046] 实施例三 本发明所述牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体特性鉴定

[0047] (1) 效价测定采用间接ELISA法,具体步骤如下:

[0048] 包被:用碳酸盐缓冲液稀释包被原至浓度为5 μ g/mL,96孔酶标板100 μ L/孔,4 $^{\circ}$ C过夜;

[0049] 洗涤:包被板恢复至室温,倾去包被液,每孔加洗液300 μ L,每次静置1 min,洗涤3次,最后一次拍干;

[0050] 封闭:每孔加200 μ L含10%小牛血清的洗液,37 $^{\circ}$ C 1h;倾去封闭液,洗涤3次,拍干;

[0051] 加一抗:用洗液将单抗以1:2000倍开始倍比稀释,每孔加入100 μ L,并设置空白对照孔(PBS)和阴性对照(阴性血清),37 $^{\circ}$ C放置45min;倾去一抗,洗涤3次,拍干;

[0052] 加酶标二抗:每孔加入100 μ L的1:10000倍稀释的HRP酶标记的山羊抗鼠IgG,37 $^{\circ}$ C放置30min;倾去二抗,洗涤3次,拍干;显色:每孔加底物显色液100 μ L,37 $^{\circ}$ C避光反应15min;

[0053] 终止:每孔加入50 μ L终止液,终止反应;

[0054] 检测:测定波长为450nm处的吸光度值(A450nm)。

[0055] 结果判定:(A样品孔-A空白对照)/(A阴性对照-A空白对照) \geq 2.1,且阴性对照的A450nm小于0.2时,此时抗体的稀释倍数即为抗体效价。结果见图2,抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体3A8浓度为1mg/ml时的效价达1:10⁶。

[0056] (2) 亚型测定

[0057] 采用购自Sigma公司的鼠源单抗亚型鉴定试剂盒进行亚型测定。杂交瘤细胞分泌的单克隆抗体与不同亚类的二抗显色有明显差异,其中与IgG1二抗的A450nm值最高,与IgM的二抗显色微弱,而与IgG2a、IgG2b、IgG3和IgA二抗几乎不显色,该细胞分泌的抗体类型以IgG1为主。结果见图3所示,牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体亚型为IgG1。

[0058] (3) 亲和力测定

[0059] 采用非竞争ELISA法测定亲和常数(Ka)。具体步骤如下:

[0060] 包被:用碳酸盐缓冲液稀释包被原至浓度为1、0.5、0.1、0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$,96孔酶标板100 $\mu\text{L}/\text{孔}$ 分别包被,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;倾去包被液,洗涤3次,拍干;

[0061] 封闭:每孔加200 μL 含10%小牛血清的洗液,37 $^{\circ}\text{C}$ 1h;倾去封闭液,洗涤3次,拍干;

[0062] 加单抗:用洗液将单抗以100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 开始倍比稀释,每孔加入100 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 保温保湿45min;倾去一抗,洗涤3次,拍干;

[0063] 加酶标二抗:每孔加入100 μL 的1:10000倍稀释的HRP酶标记的山羊抗鼠IgG,37 $^{\circ}\text{C}$ 放置30min;倾去二抗,洗涤3次,拍干;

[0064] 显色:每孔加底物显色液100 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 避光反应15min;

[0065] 终止:每孔加入50 μL 终止液,终止反应;

[0066] 检测:测定波长为450nm处的吸光度值(A450nm)。按下列公式计算Ka

[0067]
$$K_a = (n-1) / 2 (n \cdot A_{b'} - A_b)$$

[0068] 式中: A_b 为抗原浓度为 A_g 时,产生半数吸光度值的抗体浓度; $A_{b'}$ 为抗原浓度为 $A_{g'}$ 时,产生半数吸光度值的抗体浓度; n 为 A_g 和 $A_{g'}$ 之间的稀释倍数采用非竞争酶联免疫法测定抗体的亲和常数,经测定牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体亲和常数 $K_a = 8.1 \times 10^8 \text{L}/\text{mol}$ 。

[0069] (4) 特异性测定

[0070] 采用间接竞争ELISA法,具体步骤如下:

[0071] 包被:用碳酸盐缓冲液稀释包被原(牛、羊、鸡、鸭、猪骨骼肌肌钙蛋白I提取物)至浓度为5 $\mu\text{g}/\text{mL}$,96孔酶标板100 $\mu\text{L}/\text{孔}$,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;倾去包被液,洗涤3次,拍干;

[0072] 封闭:每孔加200 μL 含10%小牛血清的洗液,37 $^{\circ}\text{C}$ 1h;倾去封闭液,洗涤3次,拍干;

[0073] 加一抗:用洗液将单抗以1:2000倍开始倍比稀释,每孔加入100 μL ,并设置空白对照孔(PBS)和阴性对照(阴性血清),37 $^{\circ}\text{C}$ 放置45min;倾去一抗,洗涤3次,拍干;

[0074] 加酶标二抗:每孔加入100 μL 的1:10000倍稀释的HRP酶标记的山羊抗鼠IgG,37 $^{\circ}\text{C}$ 放置30min;倾去二抗,洗涤3次,拍干;

[0075] 显色:每孔加底物显色液100 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 避光反应15min;

[0076] 终止:每孔加入50 μL 终止液,终止反应;

[0077] 检测:测定波长为450nm处的吸光度值(A450nm)。

[0078] 结果判定:(A样品孔-A空白对照)/(A阴性对照-A空白对照) ≥ 2.1 ,且阴性对照的A450nm小于0.2时,此时抗体的稀释倍数即为抗体效价。结果见图4,牛skTnI-3A8与反刍动物牛、羊骨骼肌提取物的效价1:100万,与鸡、鸭、猪骨骼肌提取物的效价低于1:1万,特异性较好

[0079] 实施例四 本发明所述牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体的应用

[0080] 本实施例是本发明牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体在建立检测牛骨骼肌肌钙蛋白I的酶联免疫检测试剂盒或胶体金层析试纸条方法后的应用举例,可以用于生鲜肉及其制品中牛骨骼肌肌钙蛋白I的检测。

[0081] (1) 样品前处理

[0082] 生鲜肉去除脂肪和结缔组织,加工肉类食品去掉肠衣,称取1g加入0.15M的NaCl溶液2ml(1:2w/v),匀浆后用沸水加热20min,2000g离心30min;去除沉淀,上清用Whatman 1号滤纸过滤,收集滤液用于检测。

[0083] (2) 该抗体应用于酶联免疫检测试剂盒方法检测

[0084] 本发明中试剂盒的检测原理是双抗夹心ELISA方法。用抗体(3D3)包被微孔板条,制成固相捕获抗体,往包被单抗的微孔中依次加入标准品或样品,再与辣根过氧化物酶标记的检测抗体(3A8)结合,形成抗体-抗原-酶标抗体复合物,加TMB显色,呈蓝色,在酸的作用下最终呈黄色,颜色深浅与样品中牛骨骼肌肌钙蛋白I含量成正相关。

[0085] 检测:牛骨骼肌肌钙蛋白I单抗用碳酸盐缓冲液做1:1000稀释,100 μ L/孔,4 $^{\circ}$ C包被过夜;洗涤,拍干;用含1%明胶的PBS进行封闭,200 μ L/孔,37 $^{\circ}$ C温育2h;洗涤,拍干;加入待检样品,37 $^{\circ}$ C温育30min;洗涤,拍干;加入稀释的HRP标记的羊skTnI-3D3单抗,100 μ L/孔,37 $^{\circ}$ C温育30min;洗涤,拍干;加入显色液100 μ L/孔,显色15min,然后加入终止液50 μ L/孔,测定。

[0086] 结果判定:

[0087] (a) 定量分析:分别计算标准品和待测样本的平均吸光度值,标准品或待测样本的吸光度值(B)为纵坐标,标准浓度的对数为横坐标,绘制标准曲线;将待测样本的吸光度值代入标准曲线,即可求出对应的浓度,再乘以稀释倍数即为样本的含量。

[0088] (b) 定性分析:用待测样本的平均吸光度值和标准品的吸光度值相比较,即可得出待测样本的浓度范围。

[0089] (3) 该抗体应用于胶体金层析试纸条方法检测

[0090] 反应原理采用双抗夹心法对牛骨骼肌肌钙蛋白I进行定性检测,样品中存在的牛骨骼肌肌钙蛋白I在沿试纸条上移过程中先与金颗粒标记的抗体结合,形成金标记抗体-牛骨骼肌肌钙蛋白I复合物,固定在NC膜上的捕捉抗体与复合物中的牛骨骼肌肌钙蛋白I进行结合,T位置(检测线)的显色强弱与样品中牛骨骼肌肌钙蛋白I的含量成正比。

[0091] 检测:取出牛骨骼肌肌钙蛋白I胶体金层析试纸条,将样品端插入待测样品液中,插入深度不超过标记线,约10-20秒钟取出检测试纸条,水平放置,3-5分钟观察判定检测结果,10分钟以后结果无效。

[0092] 结果判定:包被膜上对应的质控区C位置(质控线)显示一条棕红色线,检测区T位置不显示棕红色线,表示检测结果为阴性,说明在待测样品中不含有牛骨骼肌肌钙蛋白I;在包被膜上T、C位置显示有两条棕红色线,表示结果为阳性,说明在待测样品中含牛骨骼肌肌钙蛋白I;当质控区C不显示出棕红色条带,则无论检测区T显示出棕红色条带与否该试纸均判为无效。

[0093] 上述实施例只为说明本发明的技术构思和优点,本发明也可以具有其它的形式变化,如本领域技术人员所熟知,上述实施例仅仅起到对上述发明保护范围内的示范作用,对本领域普通技术人员来说,在本发明所限定的保护范围内还有很多常规变形和其它实施例,这些变形和实施例都将在本发明待批的保护范围之内。

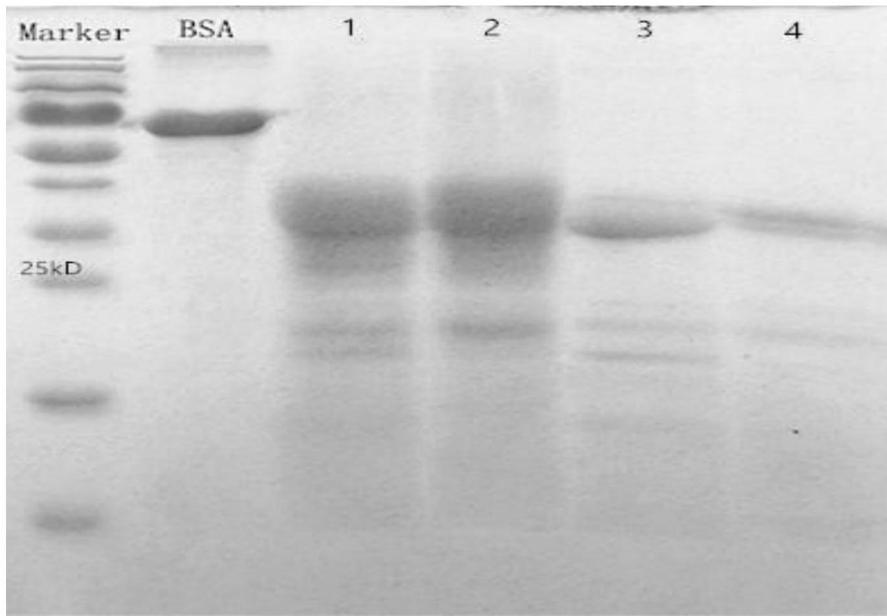


图1a

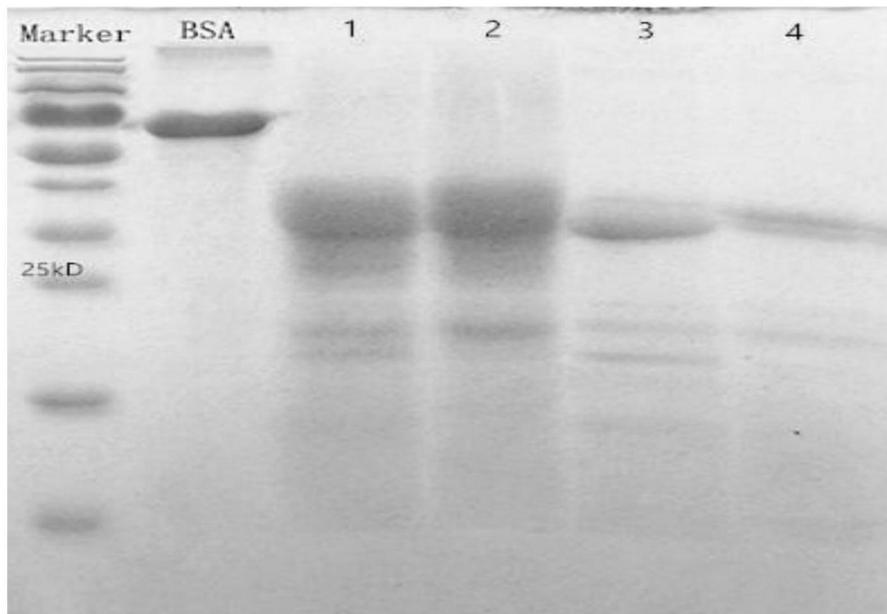


图1b

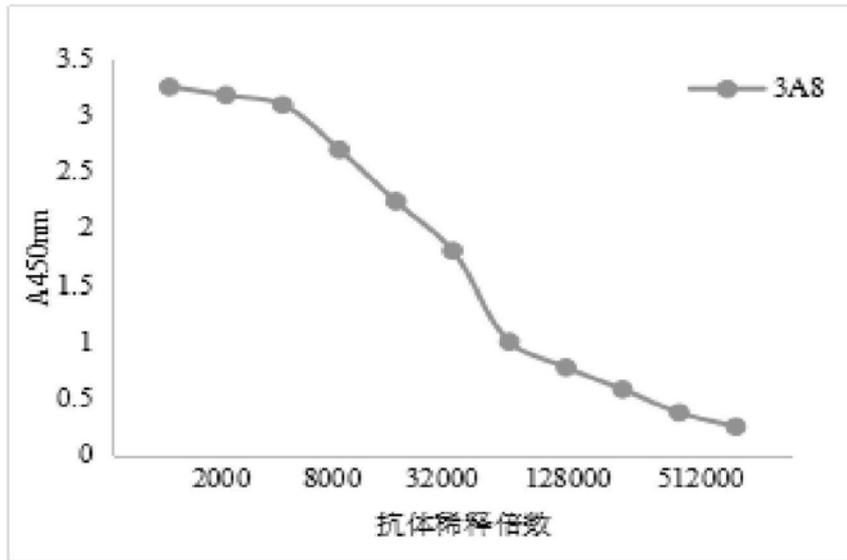


图2

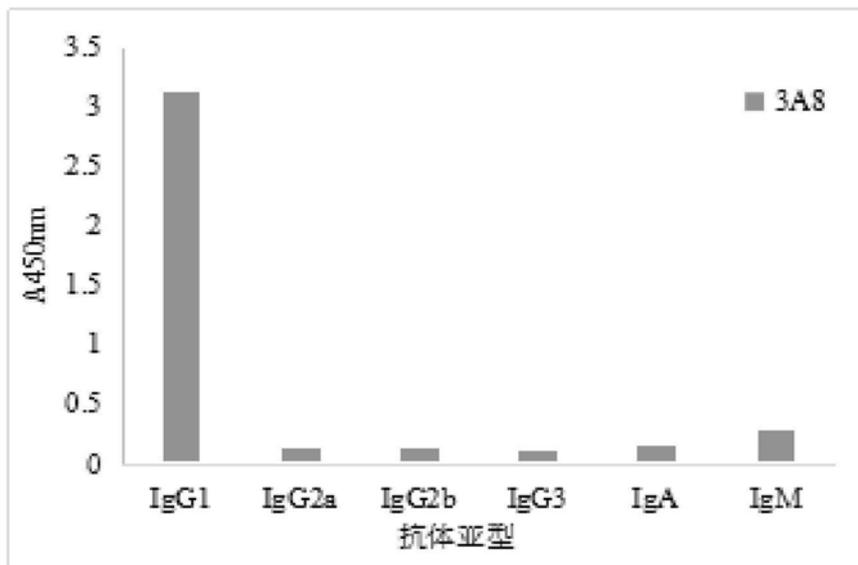


图3

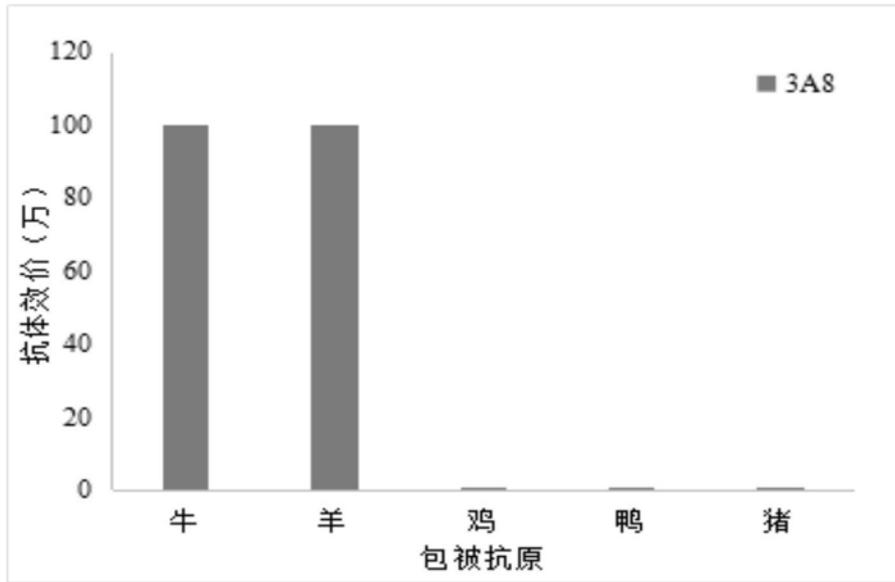


图4

专利名称(译)	一种抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体及其应用		
公开(公告)号	CN109705216A	公开(公告)日	2019-05-03
申请号	CN201811623396.X	申请日	2018-12-28
[标]申请(专利权)人(译)	河北省科学院生物研究所		
申请(专利权)人(译)	河北省科学院生物研究所		
当前申请(专利权)人(译)	河北省科学院生物研究所		
[标]发明人	李春生 李玉静 刘静静 吴萌 张静 李云 张岩		
发明人	李春生 李玉静 刘静静 吴萌 张静 李云 张岩		
IPC分类号	C07K16/18 C12N5/20 G01N33/68 G01N33/577 G01N33/58 G01N33/558 G01N33/535 G01N33/532 C12R1/91		
代理人(译)	李国聪		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种抗牛骨骼肌肌钙蛋白I单克隆抗体及其应用，属于免疫学技术领域和食品安全分析技术领域。所述抗单克隆抗体由保藏编号为CCTCC NO:C2018217的杂交瘤细胞株分泌产生，该抗体效价为1:106，亚型为IgG1，亲和力常数 $K_a = 8.1 \times 10^8 \text{L/mol}$ 。所述的单克隆抗体可用于制备检测生鲜肉及其制品中牛骨骼肌肌钙蛋白I的酶联免疫试剂盒和胶体金试层析试纸条，以达到快速且灵敏地检测动物源性食品中牛肉源性成分检测的目的。

