



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110776567 A

(43)申请公布日 2020.02.11

(21)申请号 201911088095.6

(22)申请日 2019.11.08

(71)申请人 苏州快捷康生物技术有限公司

地址 215128 江苏省苏州市吴中经济开发区田上江路105号4幢苏豪文化科技园A2厂房二层北

(72)发明人 盛相国

(74)专利代理机构 北京轻创知识产权代理有限公司 11212

代理人 刘红阳

(51)Int.Cl.

G07K 16/44(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

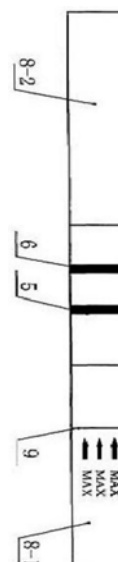
权利要求书1页 说明书7页
序列表2页 附图3页

(54)发明名称

一种抗甲氰菊酯单克隆抗体及其制备方法与应用

(57)摘要

本发明涉及一种抗甲氰菊酯单克隆抗体及其制备方法与应用；一种抗甲氰菊酯单克隆抗体其抗体重链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示，其轻链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO:2所示；与现有技术相比，本发明的优点是：1)抗体性能突出；与其他拟除虫菊酯类杀虫剂的交叉反应可忽略不计；检测限(IC₁₀, LOD)为0.4ng/mL，优于目前已报道的甲氰菊酯抗体；2)试纸条特异、灵敏、简便、快速；无需任何其他辅助仪器，可现场操作，只要将检测样加入样品垫，在5至10分钟内即可判定检测结果；3)结果显示形象、直观、准确；4)节省费用，适用范围广，便于推广应用，具有广阔的市场前景和明显的经济和社会效益。



1. 一种抗甲氰菊酯单克隆抗体,其特征在于:其抗体重链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示,其轻链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO:2所示。

2. 一种抗甲氰菊酯单克隆抗体的制备方法,其特征在于:包括以下步骤:(1)由免疫半抗原偶联BSA制备得到免疫原;

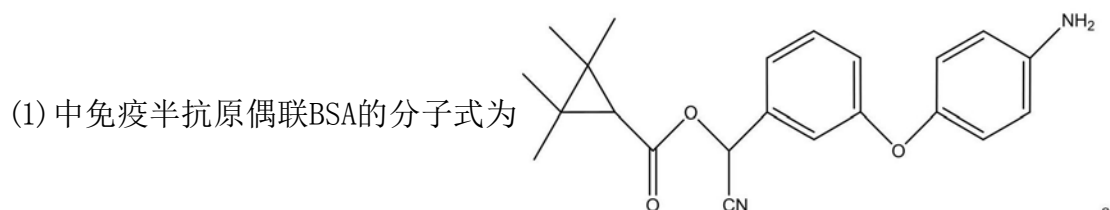
(2)用免疫原免疫BALB/c小鼠,并选择所得效价最高的小鼠脾脏细胞;

(3)将骨髓瘤细胞SP2/0与所述(2)中所得效价最高的小鼠脾脏细胞进行细胞融合制备得到杂交瘤细胞;

(4)通过筛选和亚克隆得到能稳定分泌抗甲氰菊酯单克隆抗体的杂交瘤细胞株;再将该杂交瘤细胞株注射小鼠腹内制得腹水;

(5)采用Protein A纯化小鼠腹水,得到抗甲氰菊酯单克隆抗体。

3. 根据权利要求2所述的一种抗甲氰菊酯单克隆抗体的制备方法,其特征在于:所述



4. 根据权利要求2所述的一种抗甲氰菊酯单克隆抗体的制备方法,其特征在于:所述免疫原的免疫剂量为100μg/只,共免疫5次;首次免疫由等体积的免疫原和弗氏完全佐剂乳化,腹腔注射,之后用等体积免疫抗原和弗氏不完全佐剂乳化;从第三次免疫开始,每次免疫后尾静脉采血,测定效价。

5. 根据权利要求2所述的一种抗甲氰菊酯单克隆抗体的制备方法,其特征在于:所述效价最高的小鼠脾脏细胞与骨髓瘤细胞SP2/0的比例为10:1。

6. 一种基于权利要求1-4所述的抗甲氰菊酯单克隆抗体在胶体金试纸上的应用。

一种抗甲氰菊酯单克隆抗体及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明涉及农药残留免疫分析技术领域,具体涉及一种抗甲氰菊酯单克隆抗体及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 甲氰菊酯(Fenpropathrin)是一种拟除虫菊酯类杀虫杀螨剂,中等毒性,具有触杀、胃毒和一定的驱避作用,无内吸、熏蒸作用。其属神经毒剂,作用于昆虫的神经系统,使昆虫过度兴奋、麻痹而死亡。该药适用作物非常广泛,常使用于苹果、柑橘、荔枝、桃树、栗树等果树及棉花、茶树、十字花科蔬菜、瓜果类蔬菜、花卉等植物,主要用于防治叶螨类、瘿螨类、菜青虫、小菜蛾、甜菜夜蛾、棉铃虫、红铃虫、茶尺蠖、小绿叶蝉、潜叶蛾、食心虫、卷升蛾、蚜虫、白粉虱、蓟马及盲椿类等多种害虫、害螨。

[0003] 目前,甲氰菊酯的检测方法主要是仪器分析方法,包括气相色谱法(Gas chromatography,GC)和气相色谱串联质谱法(GC-MS)等。然而,这一类仪器检测方法通常需要贵重的仪器设备,并只能在实验室中进行。与仪器分析方法相比,免疫检测方法因其简便、经济、快速等优点而在农药残留检测领域中受到越来越多的关注。

[0004] ELISA(Enzyme Linked Immunosorbent Assay)方法是常用的免疫检测方法,但是其却有操作步骤相对较多,检测时间较长,检测结果不够直观,不能在线进行检测等缺陷。因而ELISA在甲氰菊酯的快速检测上的应用受到很大的限制。胶体金试纸条无需专业人员及任何辅助类仪器,根据反应所显现的条带几分钟即可判定结果,不仅操作简便、快速,且结果直观准确、成本低。但是,目前已报道的甲氰菊酯的单克隆抗体的特异性不强,基于该抗体制备的胶体金试纸条在试剂应用中应产生假阳性。

发明内容

[0005] 本发明目的是:提供一种抗甲氰菊酯单克隆抗体及其制备方法与应用。

[0006] 本发明的技术方案是:一种抗甲氰菊酯单克隆抗体,其抗体重链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示,其轻链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO:2所示。

[0007] 本发明还提供了一种抗甲氰菊酯单克隆抗体的制备方法,包括以下步骤:(1)由免疫半抗原偶联BSA制备得到免疫原;

[0008] (2)用免疫原免疫BALB/c小鼠,并选择所得效价最高的小鼠脾脏细胞;

[0009] (3)将骨髓瘤细胞SP2/0与所述(2)中所得效价最高的小鼠脾脏细胞进行细胞融合制备得到杂交瘤细胞;

[0010] (4)通过筛选和亚克隆得到能稳定分泌抗甲氰菊酯单克隆抗体的杂交瘤细胞株;再将该杂交瘤细胞株注射小鼠腹内制得腹水;

[0011] (5)采用Protein A纯化小鼠腹水,得到抗甲氰菊酯单克隆抗体。

[0012] 进一步的:所述(1)中免疫半抗原偶联BSA的分子式为。

[0013] 进一步的:所述免疫原的免疫剂量为100 μ g/只,共免疫5次;首次免疫由等体积的

免疫原和弗氏完全佐剂乳化,腹腔注射,之后用等体积免疫抗原和弗氏不完全佐剂乳化;从第三次免疫开始,每次免疫后尾静脉采血,测定效价。

[0014] 进一步的:所述效价最高的小鼠脾脏细胞与骨髓瘤细胞SP2/0的比例为10:1。

[0015] 另外,本发明还涉及一种基于上述技术方案的反甲氰菊酯单克隆抗体在胶体金试纸上的应用。

[0016] 与现有技术相比,本发明的优点是:

[0017] 1) 抗体性能突出:本发明提供的甲氰菊酯单克隆抗体特异性识别甲氰菊酯,与其他拟除虫菊酯类杀虫剂的交叉反应可忽略不计;利用本发明提供的反甲氰菊酯抗体实现的竞争ELISA的抑制中浓度(IC50)为4.5ng/mL,检测限(IC10, LOD)为0.4ng/mL,优于目前已报道的甲氰菊酯抗体。

[0018] 2) 试纸条特异、灵敏、简便、快速:胶体金试纸条很好的保留了单克隆抗体的特性,具有较强的特异性和较高的敏感性,检出最低限量为5ng/mL;无需任何其他辅助仪器,可现场操作,只要将检测样加入样品垫,在5至10分钟内即可判定检测结果。

[0019] 3) 结果显示形象、直观、准确:胶体金试纸条的检测结果显示以纤维素膜上的显色情况来判断,结果判定形象、直观、准确、简单明了。

[0020] 4) 节省费用,适用范围广,便于推广:使用胶体金试纸条进行检测,比使用仪器和ELISA试剂盒检测进行检测的费用大幅降低;试纸条的使用范围广,可满足不同层次人员的需要,便于推广应用,具有广阔的市场前景和明显的经济和社会效益。

附图说明

[0021] 下面结合附图及实施例对本发明作进一步描述:

[0022] 图1为本发明中甲氰菊酯胶体金检测试纸条俯瞰结构示意图;

[0023] 图2为本发明中甲氰菊酯胶体金检测试纸条剖面结构示意图;

[0024] 其中:1、衬板;2、样品垫;3、金标结合物垫;4、纤维素膜;5、检测线;6、对照线;7、吸水垫;8-1、样品浸入端保护膜;8-2、手柄端保护膜;9、标识线;

[0025] 图3为本发明中甲氰菊酯胶体金检测试纸条结果判定示意图;

[0026] 图中,A为阴性样品检测结果,B为弱阳性样品检测结果,C为强阳性样品检测结果,D和E为试纸条失效。

具体实施方式

[0027] 实施例:1、甲氰菊酯半抗原的合成

[0028] 氰基[3-(4-硝基苯氧基)苯基]甲基-2,2,3,3-四甲基环丙烷羧酸酯的合成。2mmol 3-(4-硝基苯氧基)苯甲醛溶解在2mL预冷的二氯甲烷中,一次性搅拌加入冰浴的2mL含有2mmol 2,2,3,3-四甲基环丙烷甲酰氯的二氯甲烷,立即加入0.18mL吡啶,并搅拌。缓慢升到室温后搅拌反应2h。使用3N HCl酸化后,用水洗两次,通过3g硅胶过滤,25mL二氯甲烷洗脱后去除邮寄溶剂,获得黄色油状物。

[0029] 氰基[3-(4-氨基苯氧基)苯基]甲基-2,2,3,3-四甲基环丙烷羧酸酯的合成。将0.75mmol 氰基[3-(4-硝基苯氧基)苯基]甲基-2,2,3,3-四甲基环丙烷羧酸酯溶解在3mL乙醇,搅拌加入3.7mmol氯化锡。70℃反应35min,加入10mL含有0.7g硅藻土和0.72g KHC0₃的

水。过滤后用乙酸乙酯萃取固体,去除有机溶剂后得到红色胶状物。经硅胶纯化后得到黄色胶状物。

[0030] 2、甲氧基酯半抗原与载体蛋白偶联

[0031] 将0.1mmol半抗原溶解在1mL 1 M HCl溶液中,冰浴搅拌下加入0.5mL NaNO₂水溶液(14mg/mL)。加入0.3mL DMF后搅拌10min。将溶液平均分成两份(大约0.9mL),分别加入到20mL含有KLH(免疫原,131mg)和BSA(包被原,103mg)的冰浴遇冷的硼酸缓冲液(0.2M, pH8.9)中,冰浴条件下搅拌反应30min。反应结束后使用1M的NaOH将溶液(黄色)的pH值调至7.0。加入等体积(20.9mL)冰浴预冷的丙酮,3000g离心10min。使用5mL冰浴预冷的丙酮对沉淀物洗3次。沉淀物溶解在10mL水中,储存在-20℃。

[0032] 3、抗甲氧基酯单克隆抗体的制备

[0033] 以100μg每只的抗原量免疫6~8周龄健康的雌性BALB/c小鼠。每次间隔时间为2~3周,最后一次超强免疫后3天,无菌条件下取出小鼠脾细胞,将小鼠脾细胞与骨髓瘤细胞SP2/0以10:1的细胞数量用PEG介导的方法融合。融合后置于37℃、5%CO₂培养箱中培养。培养至细胞长满培养孔1/3~1/2时,用间接竞争ELISA法选择强阳性、抑制率高、细胞生长旺盛的孔进行3次亚克隆,然后扩大培养,建立杂交瘤细胞株。使用特异性的细胞株制备腹水并用Protein A进行抗体纯化,之后用超滤离心管去盐,冷冻抽干获得干粉状抗体,并于-20℃冻存备用。

[0034] 4、抗体可变区氨基酸序列的测定

[0035] 4.1提取mRNA

[0036] (1)收集细胞瓶里的杂交瘤细胞,弃上清,加TRIZOL试剂1ml,立即吹打。(观察:液体变粘稠,细胞脱壁)。

[0037] (2)将各孔内消化好的细胞裂解液吸到一DEPC处理过的1.5ml EP管中,加新开的氯仿0.2ml,轻摇20秒。

[0038] (3)室温静置5分钟后,12000rpm,15min,4℃,离心。然后取上清无色水相到EP管(DEPC处理过),加等体积新开的异丙醇,颠倒离心管数次,混匀后室温下静置10分钟。

[0039] (4)12000rpm,10分钟,4℃,离心。观察总RNA在管底的白色沉淀,弃去上清,75%乙醇1.0ml洗涤(用DEPC水新配制)后,7500rpm,5min,4℃离心,重复两次洗涤。

[0040] (5)去上清,点离,用小Tip吸干液体。气干沉淀5-10分钟,DEPC处理水20-30ul加入,中枪打匀,55-60℃水浴10分钟溶解总RNA,测OD值。

[0041] (6)1.2%琼脂糖电泳,155,30min。

[0042] 4.2反转录

[0043] 用PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser试剂盒(TaKaRa)反转录得到cDNA,-20℃冻存。

[0044] 4.3DNA片段扩增及测序

[0045] 用Trans-Tap酶试剂盒(北京全式金生物有限公司),以cDNA为模板,进行PCR扩增,得到目的DNA片段,进行测序(北京六合华大基因科技股份有限公司上海分公司)。

[0046] PCR条件:

[0047] 轻链:95℃,5min---94℃,30s---49℃,30s---72℃,30s---重复循环30次---72℃,8min---12℃,终止

[0048] 重链:95℃,5min---94℃,30s---60℃,30s---72℃,30s---重复循环30次---72℃,8min---12℃,终止

[0049] 4.4抗体可变区氨基酸序列的确定

[0050] 经过翻译序列为:

[0051] (1) 抗体重链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示。

[0052] (2) 抗体轻链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO:2所示。

[0053] 5、金标抗体和金标结合物垫的制备

[0054] 采用柠檬酸三钠还原氯金酸的方法,制备平均直径在40nm的胶体金悬浮液。在回流条件下,把100ml 0.01%的氯金酸溶液加热至沸腾,不停的搅拌,迅速加入1.1ml 1%的柠檬酸三钠。当反应溶液颜色变成葡萄红色时继续加热搅拌5min。冷却至室温后,加入0.05%的叠氮化钠4℃保存。胶体金在与抗体标记前以0.2mol的K₂CO₃溶液调到pH为8.2,采用经典NaCl滴定法确定30μg抗体标记1ml胶体金溶液。然后按最佳标记量进行标记,标记1小时后,搅拌下加入10%BSA(使最终BSA浓度为1%),孵育1小时后4℃10000rpm离心25min,并去上清。加入胶体金溶液同体积的2%BSA溶液重悬,4℃10000rpm离心25min,重复两次。最后,用1/5胶体金溶液体积的TB溶液(含3%BSA、3%蔗糖、0.01mol/L硼酸钠和0.05%叠氮化钠)重悬,4℃保存。用XYZ-3000三维喷膜仪把4%的BSA溶液以8μL/cm的量喷在玻璃棉上,使用干燥箱42℃干燥50min,再把金标记抗体以6μL/cm的量喷在玻璃棉上,干燥箱42℃干燥50min,真空干燥保存。

[0055] 6、偶联抗原和兔抗鼠包被纤维素膜

[0056] 用XYZ-3000三维喷膜仪把浓度为1mg/mL的包被抗原以1.2μL/cm的量喷在纤维素膜的偏下侧,作为检测线。用XYZ-3000三维喷膜仪把浓度为120μg/L的兔抗鼠IgG以1.2μL/cm的量喷在纤维素膜的偏上侧,作为对照线,两线间隔5mm。

[0057] 7、快速试纸条的组装

[0058] 把纤维素膜粘贴在衬板1中间部位上,吸水垫7粘贴在纤维素膜4上侧和纤维素膜4重叠1mm。金标结合物垫3粘贴在纤维素膜4下方重叠1mm。样品垫2粘贴在金标结合物垫3下方重叠2mm。组装好的试纸板用斩切机切成4.08mm宽的试纸条。

[0059] 8、快速检测试纸条检测反应原理

[0060] 当待测样品溶液加入试纸条或试纸卡测试端后,待测溶液通过虹吸作用带动待测物及金标结合物垫3中的金标抗体一起向纤维素膜4扩散,并最终渗入吸水垫7端。在扩散过程中,如果样品中有待测物时,待测物和金标抗体结合,进而占据了金标抗体上的抗原结合点,阻止金标抗体与纤维素膜4上检测线5(半抗原与载体蛋白的结合物)的结合,使检测线5不显色或者显色很弱即表示检测样品阳性或者弱阳性;如果样品中没有待测样品时,金标抗体在上移过程中,遇检测线5显示一条清晰红线即表示检测样品阴性。同样,金标抗体也与纤维素膜4上的对照线6(兔抗鼠IgG)结合,使对照线6显红色。对照线6颜色的有或无分别表示此试纸条的有效或无效。

[0061] 应用实施:1、检测样品液的制备

[0062] 蔬菜和水果样品溶液的预处理。称取10g样品,匀浆后移入50mL离心管中,加入20mL甲醇溶液,涡旋3min,超声提取10min,4000rpm离心5min,取1mL上清液用工作缓冲液(PBS)稀释一定倍数后测定溶液中甲氧菊酯含量。

[0063] 2、检测及结果判断

[0064] 如图3所示:将胶体金检测试纸条样品端插入以上预处理的待检测样品中,插入深度不超过标识线9,待测溶液通过虹吸作用带动待测物及金标结合物垫3中的金标抗体一起向纤维素膜4扩散,并最终渗入吸水垫7端。在扩散过程中,如果样品中有待测物浓度大于50ng/mL时,阻止金标抗体与纤维素膜4上检测线5(半抗原与载体蛋白的结合物)的结合,使检测线5不显色即表示检测样品为阳性(如图3C);如果样品中待测物在5~50ng/mL时,阻止部分金标抗体与纤维素膜4上检测线5的结合,使检测线5显示很弱的红色即表示检测样品为弱阳性(如图3B);如果样品中待测物浓度小于5ng/mL时,不能阻止金标抗体与纤维素膜4上检测线5的结合,使检测线5显示一条清晰红线即表示检测样品为阴性(如图3A)。同样,金标抗体也与纤维素膜4上的对照线6(兔抗鼠IgG)结合,使对照线6显红色,对照线6颜色的有或无分别表示此试纸条的有效或无效(如图3A、B、C为有效D、E为无效)。5-10分钟判定检测结果。

[0065] 1. 特异性试验

[0066] 按上述应用实施所述的方法进行试验,将与甲氰菊酯结构相似的八种农药(三氟氯氰菊酯、功夫菊酸、氯氰菊酯、溴氰菊酯、联苯菊酯、氰戊菊酯、醚菊酯和胺菊酯)的标准品配成1000ng/mL,用本发明试纸条进行检测,纤维素膜4上检测线5与对照线6呈“||”排列,即甲氰菊酯试纸条与三氟氯氰菊酯、功夫菊酸、氯氰菊酯、溴氰菊酯、联苯菊酯、氰戊菊酯、醚菊酯和胺菊酯这八种农药没有交叉反应。从而可以断定此试纸条特异性很好,在进行检测时不会受到其他农药的干扰。

[0067] 2. 敏感性和均一性试验

[0068] 按上述应用实施所述的方法进行试验,用本发明试纸条进行检测200ng/mL、100ng/mL、50ng/mL、20ng/mL、10ng/mL、5ng/mL、2.5ng/mL、0ng/mL的甲氰菊酯溶液,重复10次,其中200ng/mL、100ng/mL和50ng/mL的甲氰菊酯标准品检测的检测结果为纤维素膜4上的对照线6呈一条红色线,即为阳性;20ng/mL、10ng/mL和5ng/mL的甲氰菊酯标准品检测的检测结果为纤维素膜4上的对照线6呈一条红色线,检测线5呈一条很弱的红色线,即为弱阳性;2.5ng/mL和0ng/mL的甲氰菊酯标准品检测的检测结果为纤维素膜4上的检测线5和对照线6呈两条红色线。因此本发明检测试纸条的灵敏度为5ng/mL。此10次检测显色深度均一,检测结果显示一致。

[0069] 3. 稳定性试验

[0070] 将试纸条放入铝铂袋中真空包装,并且室温保存,3个月后各项指标均符合上1-2项指标,即检测其他相似农药无交叉反应,灵敏度达5ng/mL,检测显色深度均一,反应结果一致。

[0071] 当然上述实施例只为说明本发明的技术构思及特点,其目的在于让熟悉此项技术的人能够了解本发明的内容并据以实施,并不能以此限制本发明的保护范围。凡根据本发明主要技术方案的精神实质所做的修饰,都应涵盖在本发明的保护范围之内。

序列表：

<110> 苏州快捷康生物技术有限公司

<120> 一种抗甲氧萘酯单克隆抗体及其制备方法与应用

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 1

Gln Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

Gln Val Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Gly

20 25 30

Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly

[0072]

35 40 45

Val Ile Trp Ala Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met Ser

50 55 60

Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys

65 70 75 80

Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Lys

85 90 95

Arg Tyr Leu Gly Thr Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Ser Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<400> 2

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Gly Ile Asn Ser Asp

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile

[0073] 35 40 45

Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Gln Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Phe

65 70 75 80

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

序列表

<110> 苏州快捷康生物技术有限公司

<120> 一种抗甲氰菊酯单克隆抗体及其制备方法与应用

<160> 2

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 1

```

Gln Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1           5           10           15
Gln Val Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Gly
          20           25           30
Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly
          35           40           45
Val Ile Trp Ala Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met Ser
          50           55           60
Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys
65           70           75           80
Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Lys
          85           90           95
Arg Tyr Leu Gly Thr Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Ser Gln Gly Thr
          100          105          110
Thr Val Thr Val Ser Ser
          115

```

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 2

```

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
1           5           10           15
Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Gly Ile Asn Ser Asp
          20           25           30
Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
          35           40           45
Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

```

50						55					60					
Ser	Gly	Ser	Gly	Gln	Asp	Phe	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Phe	
65						70					75				80	
Glu	Asp	Met	Gly	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Tyr	Asp	Glu	Phe	Pro	Trp	
				85						90					95	
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg					
				100						105						

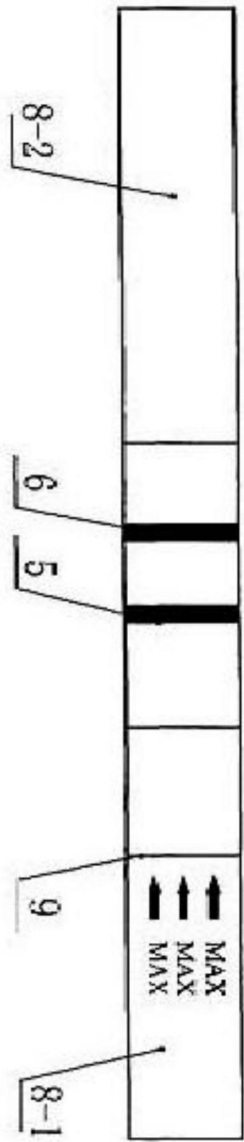


图1

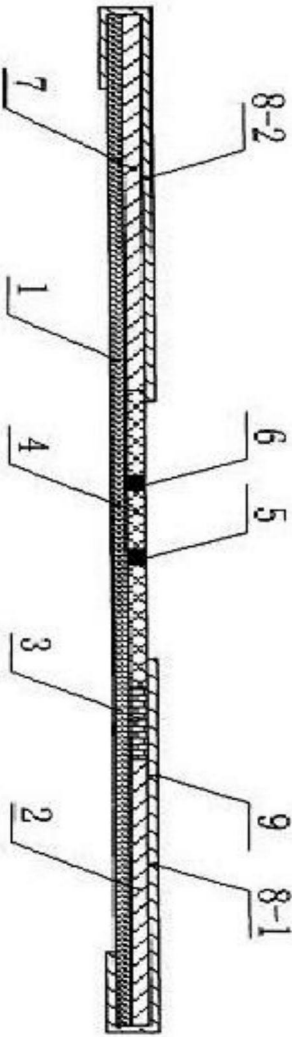


图2



图3

专利名称(译)	一种抗甲氰菊酯单克隆抗体及其制备方法与应用		
公开(公告)号	CN110776567A	公开(公告)日	2020-02-11
申请号	CN201911088095.6	申请日	2019-11-08
[标]申请(专利权)人(译)	苏州快捷康生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	苏州快捷康生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	苏州快捷康生物技术有限公司		
[标]发明人	盛相国		
发明人	盛相国		
IPC分类号	C07K16/44 G01N33/577 G01N33/53		
CPC分类号	C07K16/44 C07K2317/33 C07K2317/56 G01N33/5308 G01N33/577 G01N2430/10		
代理人(译)	刘红阳		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种抗甲氰菊酯单克隆抗体及其制备方法与应用；一种抗甲氰菊酯单克隆抗体其抗体重链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示，其轻链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO:2所示；与现有技术相比，本发明的优点是：1)抗体性能突出；与其他拟除虫菊酯类杀虫剂的交叉反应可忽略不计；检测限(IC₁₀，LOD)为0.4ng/mL，优于目前已报道的甲氰菊酯抗体；2)试纸条特异、灵敏、简便、快速；无需任何其他辅助仪器，可现场操作，只要将检测样加入样品垫，在5至10分钟内即可判定检测结果；3)结果显示形象、直观、准确；4)节省费用，适用范围广，便于推广应用，具有广阔的市场前景和明显的经济和社会效益。

