



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101881771 B

(45) 授权公告日 2013.02.27

(21) 申请号 201010184805.8

(22) 申请日 2010.05.15

(73) 专利权人 福建农林大学

地址 350002 福建省福州市仓山区建新镇金山学区

(72) 发明人 汪世华 庄振宏 袁军 杨燕凌  
林玲 高媛媛

(74) 专利代理机构 福州元创专利商标代理有限公司 35100

代理人 蔡学俊

(51) Int. Cl.

G01N 33/569 (2006.01)

G01N 33/531 (2006.01)

G01N 21/78 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 101285834 A, 2008.10.15, 权利要求 1、说明书第 2 页第 10 行 - 第 4 页第 13 行、第 5 页第 13-19 行、第 6 页倒数第 2 行 - 第 8 页最后一行。

CN 1153908 A, 1997.07.09, 权利要求 1-6。

于大海等. ELISA 方法的基本类型、用途及操

作程序. 《中国进出口动物检疫规范》. 1997, 第 101-103 页.

蒋建云等. 酶联免疫法(ELISA)检测饲料中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>. 《江西饲料》. 2006, (第 6 期), 摘要、2.2、3.

汪世华等. 检测真菌毒素单链抗体试剂盒的研制. 《第八届中国生物毒素学术研讨会》. 2007, 摘要.

庄振宏等. 抗黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 单链抗体(scFv)库的建立和筛选. 《热带作物学报》. 2009, 第 30 卷(第 1 期), 摘要、第 64-66 页第 1.2、第 66 页 2.1、第 67 页 2.4、第 68 页第 3 段.

审查员 罗洋

权利要求书 1 页 说明书 4 页  
序列表 2 页 附图 2 页

(54) 发明名称

基因工程单链抗体检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的试剂盒及方法

(57) 摘要

本发明提供了一种基于基因工程单链抗体的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 检测试剂盒及方法, 本发明的试剂盒中, 其试剂包括其试剂包括: 样品提取液、AFB<sub>1</sub> 标准试剂、酶标抗原试剂、洗涤液、BSA 试剂、显色底物、终止液。通过样品处理、试剂平衡、洗涤、加样、孵育、洗涤、显色、终止, 获得对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 具高亲和力的单链抗体。本发明可以在大肠杆菌中高效表达抗黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 小分子基因工程单链抗体并大规模生产, 整个生产过程变得非常简单, 省时省力省钱。使用方便快捷, 成本低廉。

1. 一种基因工程单链抗体检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的试剂盒,其特征在於:其试剂包括:

(1) 样品提取液:50% 体积比甲醇的生理盐水;

(2) AFB<sub>1</sub> 标准试剂:分别为含 0.1,0.5,1.0,5.0,10 ng/mL AFB<sub>1</sub> 的样品提取液;

(3) 酶标抗原试剂:为含 AFB<sub>1</sub>-HRP 偶联蛋白的 0.01M PBS 溶液,保存于体积比 50% 的甘油内,-20℃保存,效价为 5000;使用时用 BSA 试剂稀释;

(4) 洗涤液:TNT 溶液;配方组份:体积比为 0.05%吐温-20,20 mmol/L Tris-HCl, 150 mmol/L NaCl, pH 7.4;

(5) BSA 试剂:含 5% BSA 的 TNT 溶液;

(6) 显色底物:10 ml 显色液;配方组份:250 μL 20 mg/mL DAB,40 μL 40 mg/mL NiCl<sub>2</sub>·9.75 ml 的 pH 6.8、1.0 mol/L Tris-HCl,-20℃保存;使用时加 7 μL 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>;

(7) 终止液:去离子水中含:0.1 mol/L 亚硫酸钠,2 mol/L 硫酸;

(8) 酶标条:其各孔内含有固相化抗 AFB<sub>1</sub> 单链抗体;

所述抗 AFB<sub>1</sub> 单链抗体制备方法如下:从免疫小鼠的脾脏中提取总 RNA,经反转录成 cDNA,经 PCR 扩增抗体重链可变区 V<sub>H</sub> 基因和轻链可变区 V<sub>L</sub> 基因,通过一段连接肽把 V<sub>H</sub> 和 V<sub>L</sub> 连接成单链抗体,然后克隆到载体上构建噬菌体抗体文库,再通过生物淘选以获得对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 具高亲和力的单链抗体;所述抗 AFB<sub>1</sub> 单链抗体的序列如 SEQ ID No. 1 所示。

2. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在於:按以下程序检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>:

(1) 样品处理:在 1g 样品中加入 4ml 样品提取液,液氮或机械研磨粉碎,超声萃取 10 min,5000 g,离心 10 min,上清液即为含样品的样品提取液;

含样品的样品提取液取 100 μL 与 100 μL 酶标抗原试剂混和均匀,即成 A 试剂;

系列浓度的 AFB<sub>1</sub> 标准试剂 0.1,0.5,1.0,5.0,10 ng/mL 各 100 μL 分别与 100 μL 酶标抗原试剂混和均匀,即成系列浓度的 B 试剂;

(2) 试剂平衡:将试剂盒自 -20℃冰箱取出,放置 15 min 以上,平衡至室温;

(3) 小孔编号:根据需要取出酶标条放置在反应板支架上;1 号孔为阴性孔,2-6 号孔为 AFB<sub>1</sub> 标准对照孔,其余孔为样品孔;酶标条每孔内已经有固相化抗 AFB<sub>1</sub> 单链抗体;

(4) 洗涤:每孔加入 250 μL 洗涤液,洗液不得溢出,放置 2min 后,去掉洗涤液,在吸水纸上拍干,重复洗板一次;

(5) 加样:1 号孔加上 50 μL BSA 试剂,2-6 号孔分别加入系列浓度的 B 试剂 50 μL,样品孔加入相应的 A 试剂 50 μL,轻轻震荡,使各孔混匀;

(6) 反应:将反应板放入 37℃恒温箱中孵育 30 min;

(7) 洗涤:取出反应板,去掉反应液,拍干;每孔加入 250 μL 洗涤液,洗液不得溢出,放置 2 min 后,去掉洗涤液,在吸水纸上拍干,重复洗板 4 次;

(8) 显色:每孔加入显色底物 100 μL,摇匀,将反应板放入 37℃恒温箱中存放 15 min;

(9) 终止与仪器测定:每孔分别加入终止液 50 μL,然后用酶标仪在 450 nm 处测定各孔的吸光值 A,以 B 试剂的系列浓度为横坐标,以其相应的吸光值 A 为纵坐标绘制标准曲线,根据标准曲线得到样品中 AFB<sub>1</sub> 的浓度,根据计算公式 AFB<sub>1</sub> 含量 (ng/g) = C\*V / m,其中 C- AFB<sub>1</sub> 的浓度,ng/mL;V- 样品提取液的体积,mL;m- 样品质量,g;计算样品中 AFB<sub>1</sub> 的含量。

## 基因工程单链抗体检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的试剂盒及方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种利用基因工程单链抗体检测真菌毒素的检测试剂盒,更具体地涉及了利用基因工程单链抗体检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的试剂盒,进一步涉及使用该试剂盒检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的方法。

### 背景技术

[0002] 目前,用于免疫检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的抗体都是单克隆抗体。单克隆抗体的生产采用抗原免疫动物,然后利用免疫动物的脾细胞和骨髓瘤细胞融合形成杂交瘤细胞,最后筛选出具有高抗体活性而又能大量繁殖的杂交瘤细胞。整个生产过程复杂,消耗的时间长,费用高,尤其是它必需要熟练的专业技术人员才能胜任。

### 发明内容

[0003] 为了克服现有单克隆抗体生产费时费力费钱的不足,本发明提供了一种基因工程单链抗体检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的试剂盒及方法,使整个生产过程变得非常简单,省时省力省钱。

[0004] 本发明的技术方案如下:

[0005] 本发明的利用基因工程单链抗体检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的试剂盒,其试剂包括:

[0006] (1) 样品提取液:50%体积比甲醇的生理盐水;

[0007] (2) AFB<sub>1</sub> 标准试剂:分别为含 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10ng/mL AFB<sub>1</sub> 的样品提取液;

[0008] (3) 酶标抗原试剂:为含 AFB<sub>1</sub>-HRP 偶联蛋白的 0.01MPBS 溶液,保存于体积比 50% 的甘油内, -20℃ 保存,效价为 5000;使用时用 BSA 试剂稀释;

[0009] (4) 洗涤液:TNT 溶液;配方组份:体积比为 0.05%吐温 -20, 20mmol/L Tris-HCl, 150mmol/L NaCl, pH 7.4;

[0010] (5) BSA 试剂:含 5% BSA 的 TNT 溶液

[0011] (6) 显色底物:10ml 显色液;配方组份:250 μL 20mg/mL DAB, 40 μL 40mg/mL NiCl<sub>2</sub>·9.75ml 的 1.0mol/L Tris-HCl (pH 6.8), -20℃ 保存;使用时加 7 μL 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>;

[0012] (7) 终止液:去离子水中含:0.1mol/L 亚硫酸钠, 2mol/L 硫酸。

[0013] 使用上述利用基因工程单链抗体检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的试剂盒检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的方法,依次包括以下步骤:

[0014] (1) 样品处理:在 1g 样品中加入 4ml 样品提取液,液氮或机械研磨粉碎,超声萃取 10min, 5000g, 离心 10min, 上清液即为含样品的样品提取液;

[0015] 含样品的样品提取液取 100 μL 与 100 μL 酶标抗原试剂混和均匀,即成 A 试剂;

[0016] 系列浓度的 AFB<sub>1</sub> 标准试剂 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10ng/mL 各 100 μL 分别与 100 μL 酶标抗原试剂混和均匀,即成系列浓度的 B 试剂;

[0017] (2) 试剂平衡:将试剂盒自 -20℃ 冰箱取出,放置 15min 以上,平衡至室温;

[0018] (3) 小孔编号:根据需要取出酶标条放置在反应板支架上。1 号孔为阴性孔, 2-6 号

孔为 AFB<sub>1</sub> 标准对照孔,其余孔为样品孔;酶标条每孔内已经有固相化抗 AFB<sub>1</sub> 单链抗体;

[0019] (4) 洗涤:每孔加入 250 μL 洗涤液,洗液不得溢出,放置 2min 后,去掉洗涤液,在吸水纸上拍干,重复洗板一次;

[0020] (5) 加样:1 号孔加上 50 μL BSA 试剂,2-6 号孔分别加入系列浓度的 B 试剂 50 μL,样品孔加入相应的 A 试剂 50 μL,轻轻震荡,使各孔混匀;

[0021] (6) 反应:将反应板放入 37℃ 恒温箱中孵育 30min;

[0022] (7) 洗涤:取出反应板,去掉反应液,拍干。每孔加入 250 μL 洗涤液,洗液不得溢出,放置 2min 后,去掉洗涤液,在吸水纸上拍干,重复洗板 4 次;

[0023] (8) 显色:每孔加入显色底物 100 μL,摇匀,将反应板放入 37℃ 恒温箱中存放 15min;

[0024] (9) 终止与仪器测定:每孔分别加入终止液 50 μL,然后用酶标仪在 450nm 处测定各孔的吸光值 A,以 B 试剂的系列浓度为横坐标,以其相应的吸光值 A 为纵坐标绘制标准曲线,根据标准曲线得到样品中 AFB<sub>1</sub> 的浓度,根据计算公式 AFB<sub>1</sub> 含量 (ng/g) = C\*V/m,其中 C- AFB<sub>1</sub> 的浓度,ng/mL;V- 样品提取液的体积,mL;m- 样品质量,g;计算样品中 AFB<sub>1</sub> 的含量。其中所述抗 AFB<sub>1</sub> 单链抗体制备方法如下:从免疫小鼠的脾脏中提取总 RNA(使用 Trizol 试剂盒提取小鼠脾脏总 RNA),经反转录成 cDNA。经 PCR 扩增抗体重链可变区 V<sub>H</sub> 基因和轻链可变区 V<sub>L</sub> 基因,PCR 扩增程序为 94℃ 5min;94℃ 45s,55℃ 45s,72℃ 45s,33 循环;72℃ 延伸 10min;然后 1%的琼脂糖凝胶电泳,验证 PCR 扩增产物;由于 PCR 产物均只有一条带,回收 V<sub>H</sub> 和 V<sub>L</sub> 的 PCR 产物。通过一段连接肽(Linker,Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser)把 V<sub>H</sub> 和 V<sub>L</sub> 连接成单链抗体(scFv),然后克隆到载体上构建噬菌体抗体文库,再通过生物淘选以获得对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 具高亲和力的单链抗体。

[0025] 所述抗 AFB<sub>1</sub> 单链抗体的序列如 SEQ ID No. 1 所示。

[0026] 本发明的抗 AFB<sub>1</sub> 单链抗体,其结构如图 1 所示。该单链抗体(scFv)是用基因工程方法将抗体重链可变区(V<sub>H</sub>)和轻链可变区(V<sub>L</sub>)通过一段连接肽(Linker)连接而成的重组蛋白,如图 2 所示抗黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 抗体重链可变区(V<sub>H</sub>)的大小为 345bp;如图 3 所示抗黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 抗体轻链可变区(V<sub>L</sub>)的大小为 325bp;如图 4 所示抗黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 单链抗体(scFv)的大小为 750bp;该单链抗体(scFv)保持了亲本抗体的抗原亲和活性和特异性的最小功能性抗体片段,可在细菌中很经济地大规模生产,使得用于免疫检测的抗体生产变得非常容易、简便和经济,进而大大减少诊断试剂的费用。本试剂盒的最小检出量为 0.01 μg/Kg。

[0027] 本发明的显著优点:

[0028] 可以在大肠杆菌中高效表达这种抗黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 小分子基因工程单链抗体并大规模生产,整个生产过程变得非常简单,省时省力省钱。需检测的样品经样品提取液提取后,与 1/5000 稀释后的酶标抗原试剂等体积混合,酶标条每孔加入 50 μL;37℃ 孵育 30min 后,250 μL 洗涤液洗 4 次,每次 2min;加入显色底物 100 μL,摇匀,将反应板放入 37℃ 恒温箱中存放 15min;加入终止液 50 μL,然后测定 450nm 处样品的吸光值 A;对照由系列浓度的 AFB<sub>1</sub> 标准试剂绘制的 AFB<sub>1</sub> 浓度标准曲线图即可确定样品内 AFB<sub>1</sub> 的含量。在 1.5-2h 时间内即可确定样品是否受 AFB<sub>1</sub> 污染,以及所含 AFB<sub>1</sub> 的量,使用方便快捷,成本低廉。

### 附图说明

- [0029] 图 1 是本发明的单链抗体结构示意图；  
[0030] 图 2 是本发明的单链抗体重链基因  $V_H$  扩增的电泳图；  
[0031] 图 3 是本发明的单链抗体轻链基因  $V_L$  扩增的电泳图；  
[0032] 图 4 是本发明的单链抗体基因 scFv 扩增的电泳图；  
[0033] 图 5 是本发明的单链抗体竞争 ELISA 检测曲线图。

### 具体实施方式

[0034] 以下为本发明的具体实例,进一步描述本发明,但是本发明不仅限于此。

[0035] 实施例 1

[0036] 按以下配方制作利用基因工程单链抗体检测黄曲霉毒素  $B_1$  的试剂盒：

[0037] (1) 样品提取液：50% 体积比甲醇的生理盐水；

[0038] (2)  $AFB_1$  标准试剂：分别为含 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10ng/mL  $AFB_1$  的样品提取液；

[0039] (3) 酶标抗原试剂：为含  $AFB_1$ -HRP 偶联蛋白的 0.01M PBS 溶液,保存于体积比 50% 的甘油内,  $-20^{\circ}C$  保存,效价为 5000；使用时用 BSA 试剂稀释；

[0040] (4) 洗涤液：TNT 溶液；配方组份：体积比为 0.05% 吐温  $-20$ , 20mmol/L Tris-HCl, 150mmol/L NaCl, pH 7.4；

[0041] (5) BSA 试剂：含 5% BSA 的 TNT 溶液

[0042] (6) 显色底物：10ml 显色液；配方组份：250  $\mu$ L 20mg/mL DAB, 40  $\mu$ L 40mg/mL NiCl<sub>2</sub>, 9.75ml 的 1.0mol/L Tris-HCl (pH 6.8),  $-20^{\circ}C$  保存；使用时加 7  $\mu$ L 30%  $H_2O_2$ ；(7) 终止液：去离子水中含：0.1mol/L 亚硫酸钠, 2mol/L 硫酸。

[0043] 按以下程序检测黄曲霉毒素  $B_1$ ：

[0044] (1) 样品处理：在 1g 样品（花生、玉米、小麦或大米）中加入 4ml 样品提取液,液氮或机械研磨粉碎,超声萃取 10min, 5000g, 离心 10min, 上清液即为含样品的样品提取液；

[0045] 含样品的样品提取液取 100  $\mu$ L 与 100  $\mu$ L 酶标抗原试剂混和均匀,即成 A 试剂；

[0046] 系列浓度的  $AFB_1$  标准试剂 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10ng/mL 各 100  $\mu$ L 分别与 100  $\mu$ L 酶标抗原试剂混和均匀,即成系列浓度的 B 试剂；

[0047] (2) 试剂平衡：将试剂盒自  $-20^{\circ}C$  冰箱取出,放置 15min 以上,平衡至室温；

[0048] (3) 小孔编号：根据需要取出酶标条放置在反应板支架上。1 号孔为阴性孔, 2-6 号孔为  $AFB_1$  标准对照孔, 其余孔为样品孔；酶标条每孔内已经有固相化抗  $AFB_1$  单链抗体；所述抗  $AFB_1$  单链抗体制备步骤为：从免疫小鼠的脾脏中提取总 RNA, 经反转录成 cDNA, 经 PCR 扩增抗体重链可变区  $V_H$  基因和轻链可变区  $V_L$  基因, 通过一段连接肽 (Linker) 把  $V_H$  和  $V_L$  连接成单链抗体 (scFv), 然后克隆到载体上构建噬菌体抗体文库, 再通过生物淘选以获得对黄曲霉毒素  $B_1$  具高亲和力的单链抗体。

[0049] (4) 洗涤：每孔加入 250  $\mu$ L 洗涤液, 洗液不得溢出, 放置 2min 后, 去掉洗涤液, 在吸水纸上拍干, 重复洗板一次；

[0050] (5) 加样：1 号孔加上 50  $\mu$ L BSA 试剂, 2-6 号孔分别加入系列浓度的 B 试剂 50  $\mu$ L, 样品孔加入相应的 A 试剂 50  $\mu$ L, 轻轻震荡, 使各孔混匀；

[0051] (6) 反应：将反应板放入  $37^{\circ}C$  恒温箱中孵育 30min；

[0052] (7) 洗涤:取出反应板,去掉反应液,拍干。每孔加入 250  $\mu$ L 洗涤液,洗液不得溢出,放置 2min 后,去掉洗涤液,在吸水纸上拍干,重复洗板 4 次;

[0053] (8) 显色:每孔加入显色底物 100  $\mu$ L,摇匀,将反应板放入 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中存放 15min;

[0054] (9) 终止与仪器测定:每孔分别加入终止液 50  $\mu$ L,然后用酶标仪在 450nm 处测定各孔的吸光值 A,以 B 试剂的系列浓度为横坐标,以其相应的吸光值 A 为纵坐标绘制标准曲线。

[0055] 通过抗黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 单链抗体上的 E-tag 将抗黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 单链抗体与固定于酶标板上的抗 E-tag 抗体结合,形成固相抗体;加入待测样品和抗黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 酶标抗原,样品中的抗原和酶标抗原竞争与固相抗体结合,待测样品中抗原含量越高,则与固相抗体结合的越多,使得酶标抗原与固相抗体结合的机会就越少,甚至没有机会结合,这样加入底物后就不显色或显色很浅,显色深者为阴性。如表 1 所示,随着所加入的标准浓度 AFB<sub>1</sub> 的浓度的逐步升高,相对应的吸光值 OD 值逐步减少。根据此数据绘制的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 标准浓度曲线如图 5 所示,OD<sub>450nm</sub> 处吸光值与待测样品的浓度呈反比关系,因此根据待测样品的 OD<sub>450nm</sub> 处吸光值就可判断其中含有的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的浓度。

[0056] 根据计算公式:样品中 AFB<sub>1</sub> 含量 (ng/g) = C\*V/m,其中 C- 样品中 AFB<sub>1</sub> 的浓度, ng/mL;V- 样品提取液的体积, mL;m- 样品质量, g;计算样品中 AFB<sub>1</sub> 的含量。当吸光值为 1.0502 时, AFB<sub>1</sub> 含量:0.05\*4/1 = 0.2ng/g。

[0057] 表 1 本发明的单链抗体的竞争 ELISA 检测

[0058]

标准浓度	0	0.05	0.25	0.5	2.5	5
AFB <sub>1</sub> (ppb)						
对应吸光值 OD	1.211	1.0502	0.8501	0.6601	0.4501	0.242

[0059] 注:浓度为 0ng/mL 时,一抗为本发明噬菌体单链抗体和等体积的 PBS,其他样品孔加入等体积的 AFB<sub>1</sub> 标准溶液(浓度分别为 0.1、0.5、1.0、5.0、10ng/mL)

## 序列表

<110> 福建农林大学

<120> 基因工程单链抗体检测黄曲霉毒素 B1 的试剂盒及方法

<160>1

<210>1

<211>247

<212>PRT

<213>BABA/c 小鼠 (Mus musculus)

<220>

<400>1

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Thr	Val	Leu	Ala	Arg	Pro	Gly	Thr	1	5	10	15
Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Cys	Ser	Thr	Tyr	Thr	Gly	His	20	25	30	
Ser	Asn	Cys	Trp	Ile	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	35	40	45	
Gly	Asp	Trp	Val	Asn	Ile	Ser	Trp	Gly	Thr	Ser	Gly	Asp	Pro	Pro	Phe	50	55	60	
Lys	Val	Lys	Ala	Lys	Leu	Thr	Ala	Val	Thr	Ser	Thr	Asn	Thr	Ala	Tyr	65	70	75	80
Met	Glu	Val	Ser	Ser	Leu	Thr	Asn	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Thr	Arg	Phe	Pro	Ser	Thr	Asp	Trp	Tyr	Gln	Gly	Thr	Trp	Gly	Gln	Gly	100	105	110	
Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	115	120	125	
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Ser	Ala	Leu	130	135	140	
Thr	Thr	Ser	Pro	Gly	Glu	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Arg	Thr	Ser	Thr	145	150	155	160
Asp	Thr	Ala	Ser	Tyr	Ala	Asn	Thr	Arg	Trp	Trp	Val	Gln	Glu	Lys	Pro	165	170	175	
Asp	His	Leu	Phe	Thr	Ala	Leu	Ile	Gly	Arg	Pro	Asp	Gly	Ser	Asn	Thr	180	185	190	
Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Ile	Gly	Asp	Lys	Ala	Ala	195	200	205	
Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Thr	Glu	Asp	Glu	Ala	Ile	Tyr	Phe	Cys	210	215	220	



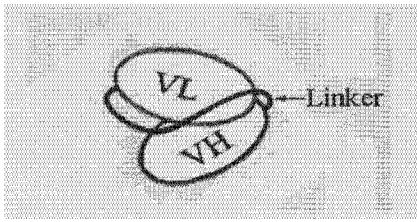


图 1

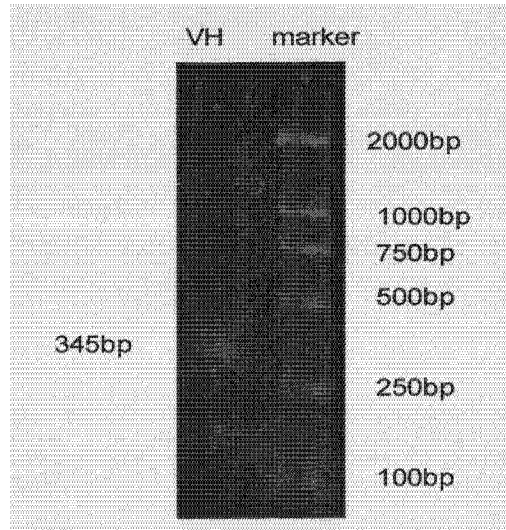


图 2

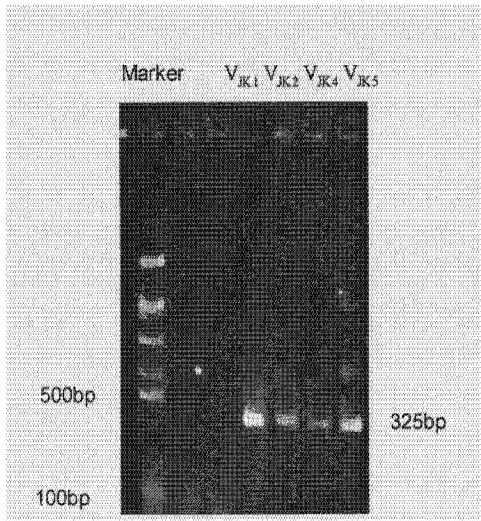


图 3

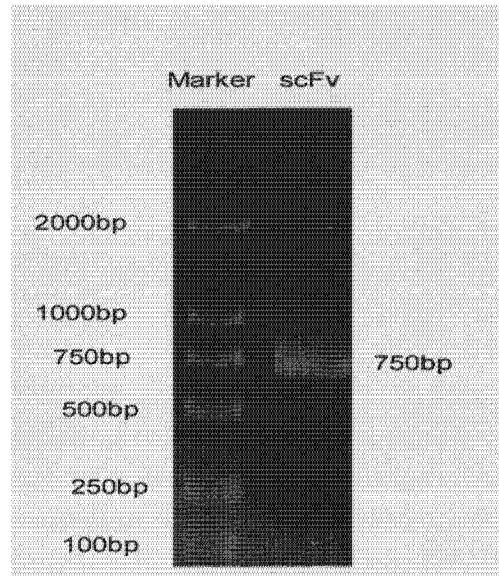


图 4

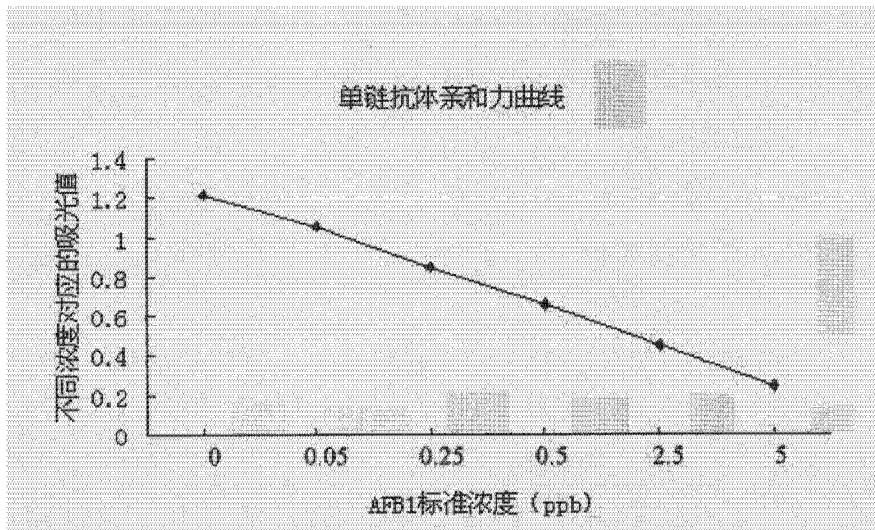


图 5

专利名称(译)	基因工程单链抗体检测黄曲霉毒素B1的试剂盒及方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN101881771B</a>	公开(公告)日	2013-02-27
申请号	CN201010184805.8	申请日	2010-05-15
[标]申请(专利权)人(译)	福建农林大学		
申请(专利权)人(译)	福建农林大学		
当前申请(专利权)人(译)	福建农林大学		
[标]发明人	汪世华 庄振宏 袁军 杨燕凌 林玲 高媛媛		
发明人	汪世华 庄振宏 袁军 杨燕凌 林玲 高媛媛		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/531 G01N21/78		
代理人(译)	蔡学俊		
审查员(译)	罗洋		
其他公开文献	CN101881771A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种基于基因工程单链抗体的黄曲霉毒素B1检测试剂盒及方法，本发明的试剂盒中，其试剂包括其试剂包括：样品提取液、AFB1标准试剂、酶标抗原试剂、洗涤液、BSA试剂、显色底物、终止液。通过样品处理、试剂平衡、洗涤、加样、孵育、洗涤、显色、终止，获得对黄曲霉毒素B1具高亲和力的单链抗体。本发明可以在大肠杆菌中高效表达抗黄曲霉毒素B1小分子基因工程单链抗体并大规模生产，整个生产过程变得非常简单，省时省力省钱。使用方便快捷，成本低廉。

标准浓度	0	0.05	0.25	0.5	2.5	5
AFB <sub>1</sub> (ppb)						
对应吸光	1.211	1.0502	0.8501	0.6601	0.4501	0.242
值OD						