

拥有 β -gal 互补活性,且互补活性远低于 $\alpha/\Delta\alpha$ 互补的,因此可满足 OS-ECIA 系统对互补片段的要求。Ueda 等^[10]的研究结果表明,尽管机制尚未明,但可以肯定的是并非所有抗原的抗体可变区均会呈现抗原驱动的“稳定化”现象,也就是说并非所有抗原的抗体可变区均适合于构建 OS-ECIA 所需要的抗原特异性互补肽。本研究所构建的 $V_{H-CAP}\Delta\alpha$ 和 $V_{L-CAP}\Delta\omega$ 片段初步呈现了氯霉素剂量依赖的酶学互补活性的增加,基本具备 OS-ECIA 系统所需抗原特异性互补肽的酶学特性。

OS-ECIA 系统属于均相酶免疫分析系统,没有繁复的操作步骤,因此比 ELISA 快速得多。OS-ECIA 检测速度在理论上主要依赖于 $\Delta\alpha/\Delta\omega$ 片段建立酶学互补的速度。有研究表明, $\alpha/\Delta\alpha$ 片段建立互补的速度为 15~20 min^[5]。在本研究中, $V_{H-CAP}\Delta\alpha$ 和 $V_{L-CAP}\Delta\omega$ 片段互补活性形成明显慢于 $\alpha/\Delta\alpha$ 的,在所观察的 180 min 内未见 OD_{410} 增长曲线平台期的出现。导致这一现象的可能原因是作为 β -gal 活性测定最常用的底物 ONPG 并不适合作为 $\Delta\alpha/\Delta\omega$ 互补活性测定的底物。Ueda 等^[4]在优化 $\Delta\alpha/\Delta\omega$ 互补活性测定系统的研究中发现,采用 ONPG 为底物时需要保温 8 h 才能观察到最大酶学活性,而采用 Galacton-Plus substrate (加拿大 Applied Biosystems 公司产品)作底物时,仅需保温 40 min,极大地缩短了分析所需时间。

本研究成功构建了氯霉素驱动的 β -gal 互补系统,为进一步构建氯霉素的 OS-ECIA 系统打下了坚实的基础。

参考文献

- [1] 袁耀辉,李锋,柴春彦,等. 动物性食品中氯霉素残留检测技术进展[J]. 上海畜牧兽医通讯,2008(6):5-7.
- [2] 周宏琛,闫秋成,田晓林,等. 动物源性食品安全快速检测与酶联免疫吸附方法的应用[J]. 肉品卫生,2005,25(11):29-32.
- [3] UEDA H, TSUMOTO K, KUBOTA K, et al. Open sandwich ELISA: A novel immunoassay based on the interchain interaction of antibody variable region[J]. Nat Biotechnol,1996,14:1714-1718.
- [4] UEDA H. Open sandwich immunoassay: a novel immunoassay approach based on the interchain interaction of antibody variable region[J]. J Biosci Bioengin,2002,94(6):6614-6619.
- [5] YOKOZEK T, UEDA H, ARAI R, et al. A homogeneous noncompetitive immunoassay for the detection of small haptens[J]. Anal Chem,2002,74(11):2500-2504.
- [6] HENDERSON D R, FRIEDMAN S B, HARRIS J D, et al. CEDIA, a new homogeneous immunossay system[J]. Clin Chem,1986,32(9):1637-1641.
- [7] JEON S I, YANG X Y, JOSEPH D, et al. Modeling of homogeneous cloned enzyme donor immunoassay[J]. Analyt Biochem,2004,333:136-149.
- [8] ROSSI F M, CHARLTON C A, BLAU H M, et al. Monitoring protein-protein interactions in intact eukaryotic cells by beta-galactosidase complementation[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1997,94:8405-8410.
- [9] ROSSI F M, BLAKELY B T, CHARLTON C A, et al. Monitoring protein-protein interactions in live mammalian cells by beta-galactosidase complementation[J]. Methods Enzymol,2000,328:231-251.
- [10] UEDA H, YOKOZEKI T, ARAI R, et al. An optimized homogeneous noncompetitive immunoassay based on the antigen-driven enzymatic complementation[J]. J Immunol Methods,2003,279:209-218.

法规文件

卫生部关于印发《进口无食品安全国家标准食品许可管理规定》的通知

各省、自治区、直辖市卫生厅局,新疆生产建设兵团卫生局,中国疾病预防控制中心、卫生部卫生监督中心:

为贯彻《食品安全法》及其实施条例,规范进口无食品安全国家标准食品许可工作,我部组织制定了《进口无食品安全国家标准食品许可管理规定》。现印发给你们,请遵照执行。

二〇一〇年八月九日

附件:卫生部关于印发《进口无食品安全国家标准食品许可管理规定》的通知(略)。