



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.118—2003
代替 GB/T 14933—1994

小麦中 T-2 毒素的酶联免疫吸附测定 (ELISA)

Determination of T-2 toxin in wheat with
enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布
中国国家标准化管理委员会

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
小麦中 T-2 毒素的酶联免疫吸附测定
(ELISA)

GB/T 5009.118—2003

*

中国标准出版社出版发行
北京西城区复兴门外三里河北街 16 号
邮政编码:100045

<http://www.bzeps.com>

电话:63787337、63787447

2004 年 8 月第一版 2004 年 11 月电子版制作

*

书号: 155066·1-21534

版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533

前 言

本标准代替 GB/T 14933—1994《小麦中 T-2 毒素的酶联免疫吸附测定方法(ELISA)》。

本标准与 GB/T 14933—1994 相比主要修改如下：

- 修改了标准的中文名称，标准中文名称改为《小麦中 T-2 毒素的酶联免疫吸附测定(ELISA)》；
- 按 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第 4 部分：化学分析方法》对原标准的结构进行了修改。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准起草单位：卫生部食品卫生监督检验所。

本标准主要起草人：阳传和、罗雪云、计融。

原标准于 1994 年首次发布，本次为第一次修订。

小麦中 T-2 毒素的酶联免疫吸附测定 (ELISA)

1 范围

本标准规定了小麦中 T-2 毒素的酶联免疫吸附测定方法(ELISA)。
本标准适用于小麦及其制品中 T-2 毒素的测定。
本方法的检出限为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

第一法 间接法

2 原理

将已知抗原吸附在固相载体表面,洗除未吸附抗原,加入一定量抗体与待测试样(含有抗原)提取液的混合液,竞争温育后,在固相载体表面形成抗原-抗体复合物。洗除多余抗体成分,然后加入酶标记的抗球蛋白的第二抗体结合物,与吸附在固体表面的抗原-抗体复合物相结合,再加入酶的底物。在酶的催化作用下,底物发生降解反应,产生有色产物,通过酶标检测仪,测出酶底物的降解量,从而推知被测试样中的抗原量。

3 试剂

- 3.1 甲醇。
- 3.2 石油醚。
- 3.3 三氯甲烷。
- 3.4 无水乙醇。
- 3.5 乙酸乙酯。
- 3.6 二甲基甲酰胺。
- 3.7 四甲基联苯胺(TMB)。
- 3.8 吐温-20。
- 3.9 30%过氧化氢(30% H_2O_2)。
- 3.10 抗体:杂交瘤细胞系 1D7 产生的抗 T-2 毒素的特异性单克隆抗体。
- 3.11 抗原:T-2 毒素与载体蛋白-牛血清白蛋白(BSA)的结合物。
- 3.12 兔抗鼠免疫球蛋白与辣根过氧化酶的结合物(酶标二抗)。
- 3.13 ELISA 缓冲液系统。
 - 3.13.1 包被缓冲液为 pH9.6 的碳酸盐缓冲液,称取 1.59 g 碳酸钠(Na_2CO_3),2.93 g 碳酸氢钠(NaHCO_3),加水稀释至 1 000 mL。
 - 3.13.2 洗液为含 0.05%吐温-20 的 pH7.4 的磷酸盐缓冲液(简称为 PBS-T)。配制方法为:
称取 0.2 g 磷酸二氢钾(KH_2PO_4),2.9 g 磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$),8.0 g 氯化钠(NaCl),0.2 g 氯化钾(KCl),0.5 mL 吐温-20,加水至 1 000 mL。
 - 3.13.3 底物缓冲液为 pH5.0 的磷酸-柠檬酸缓冲液,配制方法为:
0.1 mol/L 柠檬酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$),即称取柠檬酸 19.2 g,加水至 1 000 mL,为甲液;
0.2 mol/L 磷酸氢二钠(Na_2HPO_4),即称取磷酸氢二钠 71.7 g,加水至 1 000 mL,为乙液;
取甲液 24.3 mL,乙液 25.7 mL,加水至 100 mL,即可。
 - 3.13.4 底物溶液:取 50 μL TMB(10 mg TMB 溶于 1 mL 二甲基甲酰胺中)溶液+10 mL 底物缓冲液