

刘颖沙,刘昭彤,曹亚岐,等. 西马特罗单克隆抗体的制备及胶体金快速检测卡的研发[J]. 江苏农业科学,2022,50(8):182-186.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.08.033

西马特罗单克隆抗体的制备及胶体金快速检测卡的研发

刘颖沙¹, 刘昭彤², 曹亚岐³, 鲁 瑶¹, 岳彩洋¹, 任若春¹

(1. 杨凌职业技术学院生物工程分院, 陕西杨凌 712100; 2. 中国空间技术研究院西安分院, 陕西西安 710100;
3. 杨凌家香牧业有限公司, 陕西杨凌 712100)

摘要:在国家粮食安全战略下,瘦肉精对人们健康造成很大威胁和冲击,目前市面上三联卡较多,对于盐酸克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇 3 种类型的瘦肉精研究较多。通过制备西马特罗单克隆抗体,优化胶体金标记及 C、T 线包被条件,制备能够快速检测猪肉中的西马特罗残留量的胶体金快速检测卡。结果表明,单克隆抗体的免疫球蛋白亚类为 IgG1,分子量为 148.5 ku,染色体数目为 83~91 条,亲和常数为 2.51×10^8 mol/L,最适 pH 值为 7.5,最佳抗体标记量为 6 μ L/mL,最佳离心条件为 8 000 r/min,T 线最适包被浓度为 1.0 mg/mL,C 线包被浓度为 0.5 mg/mL,对西马特罗的检测限(灵敏度)为 10 ng/mL,与盐酸克伦特罗、沙丁胺醇、妥布特罗无交叉反应,特异性好。与酶联免疫吸附法的 20 份样品符合率良好,提示新研发的检测卡检测结果准确、灵敏度高,可在屠宰、养殖环节中完成猪肉西马特罗的现场检测。

关键词:西马特罗;单克隆抗体;瘦肉精;猪肉;快速检测卡

中图分类号:TS251.7 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)08-0182-05

瘦肉精,可提高动物瘦肉率,抑制肥肉生长^[1-3]。对于瘦肉精的快速检测,科研工作研发快速检测卡、试剂盒等^[4],柳海燕等研制成功可用于现场检测二联速测纸条,可测定 2 项瘦肉精^[5]。任清丹等对三联速测卡准确度优化提出改进措施,提供技术攻关^[6]。喻俊磊等对动物源性食品中 3 项

瘦肉精检测卡进行稳健性评价,采用评价测试法^[7]。对于盐酸克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇 3 种类型的瘦肉精研究较多^[8-11]。

西马特罗,能促进腺苷酸环化酶的合成,从而降低脂肪合成率,增加肌肉中的蛋白质^[12]。其与盐酸克伦特罗、沙丁胺醇、莱克多巴胺等 10 余种物质类似,俗称均为瘦肉精^[13-14]。

在国家粮食安全的战略下,瘦肉精对人们的健康造成了很大的威胁和冲击,人们对于食品安全的意识逐步加强,科研工作者研发相关的检测方法。对于西马特罗,目前主要采用高效液相色谱法、气质联用法、液质联用法及新兴的酶联免疫法进行检

收稿日期:2021-04-01

基金项目:陕西省教育厅一般专项科研计划(编号:21JK1001);杨凌职业技术学院自然科学基金(编号:ZK20-62)。

作者简介:刘颖沙(1990—),女,陕西西安人,硕士,讲师,主要从事食品安全与检测工作。E-mail:873964550@qq.com。

[10]张冠楠,陆 辉,陈子奇,等. 涂膜处理对低温贮藏期间灵武长枣抗氧化能力的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(9):191-193.

[11]李 媛. 茶多酚与海藻酸钠涂膜对香肠储藏期品质的影响[J]. 食品工业,2018,39(5):153-155

[12]Fan W G, Ren H W, Wang Y G, et al. Orthogonal array design for optimization of phenyllactic acid-sodium alginate blend coating and its effect on the browning and quality of minimally processed lily bulbs[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(6):2835-2845.

[13]任邦来,马启福. 海藻酸钠对辣椒保鲜效果的研究[J]. 中国食物与营养,2013,19(11):34-36.

[14]任邦来,妥丽琼. 不同浓度海藻酸钠处理对黄瓜保鲜效果的影

响[J]. 中国食物与营养,2015,21(8):39-41.

[15]邓文静,钱 磊,张 军,等. 复合生物保鲜剂在南美白对虾保鲜中的应用[J]. 食品研究与开发,2021,42(9):205-211.

[16]Heredia A, Andrés A. Mathematical equations to predict mass fluxes and compositional changes during osmotic dehydration of cherry tomato halves[J]. Drying Technology, 2008, 26(7):873-883

[17]胡晓亮,周国燕. 四种天然保鲜剂对樱桃番茄贮藏的保鲜效果[J]. 食品科学,2012,33(10):287-292.

[18]靳 敏,夏玉宇. 食品检验技术[M]. 北京:化学工业出版社,2003.

[19]李东华,纪淑娟. 南果梨果实硬度近红外无损检测模型的建立[J]. 食品工业科技,2012,33(21):312-313,344.

[20]黄泽元. 食品分析实验[M]. 郑州:郑州大学出版社,2013.

测,但是对于更加快速的胶体金免疫层析法文献较少,因此本研究通过制备西马特罗单克隆抗体,优化胶体金标记以及 CT 线包被条件,制备能够快速检测猪肉中西马特罗残留量的胶体金快速检测卡。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

2020—2021 年在陕西杨凌进行研制西马特罗,猪肉组织样品、尿样,采自杨凌家香牧业有限公司。

西马标准品($\geq 98.0\%$)、盐酸克伦特罗-瘦肉精(98.8%)、沙丁胺醇标准品、妥布特罗标准品(99.8%),购自于坛墨质检标准物质中心;氯化金、柠檬酸三钠、抗坏血酸、鞣酸、Tween-20 购自于西安企鹅生物科技有限公司;牛血清白蛋白(BSA)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)购自于 Sigma;Tris-HCl、羊抗兔 IgG、吸水纸、硝酸纤维素膜(NC 膜)、结合垫、样品垫购自于上海捷宁生物科技有限公司;其他试剂均为国产分析纯购自于杨凌三力化玻站。

1.2 仪器与设备

磁力搅拌器,购自于上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司;划膜喷金仪购自于上海捷宁生物科技有限公司;可编程切条机,购自于上海捷宁生物科技有限公司;酶标仪,购自于美国伯乐公司;分析天平(万分之一),购自于梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司;分光光度计购,自于上海天普分析仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 西马特罗单克隆抗体制备

1.3.1.1 人工抗原的合成 西马特罗含有芳伯氨基,在强酸和冷却条件下芳伯氨基可以生成亲电的重氮盐,与蛋白中的给电子基团如酪氨酸、组氨酸残基反应,生成偶氮产物,制备成具有良好免疫原性。本研究采用西马特罗作为半抗原与载体蛋白(HSA、BSA、OVA 等)偶联制备人工抗原^[12]。

将西马特罗、载体蛋白及两者结合物配制成一定浓度的溶液,然后采用紫外分光光度计进行全波长扫描,经过计算分析得到人工抗原的结合比和浓度。

CIM-BSA、CIM-HSA、CIM-OVA 结合比分别为 10:1、15:1、7:1,浓度分别 5.5、6.8、3.2 mg/mL。

1.3.1.2 抗体的制备 (1)动物免疫。以 CIM-BSA 作为免疫原,免疫雌性 BALB/c 小鼠。免疫时

间一般需要间隔 2 周^[15]。(2)单克隆抗体的制备。3 免后第 7 天,采血清测效价,并分离阳性血清作对照^[16]。

无菌操作取小鼠的脾细胞与 SP2/0 细胞融合(比例数 10:1)。待细胞长至孔底的 1/2~1/3 时,采用已建立的 ELISA 方法筛选,最终得到 3 株稳定分泌单克隆抗体的细胞^[17],编号为 1A-4H-5G、3B-5G-3H、6B-3D-3H。

1.3.2 标记条件优化

1.3.2.1 pH 值条件优化 取 6 个 1.5 mL 的离心管,取 1.0 mL 胶体金溶液加入到离心管中,使每个离心管的 pH 值依次为 7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5,摇匀,分别加入 5 μ L 克伦特罗单克隆抗体,5~10 min 后再加入 20% BSA 溶液 20 μ L,放置 5~10 min 后进行离心(8 000 r/min,10 min),弃上清,加入 200 μ L 复溶液重悬,通过试纸条上 T 线的显色程度确定最佳 pH 值。

1.3.2.2 抗体标记量条件优化 取 7 个 1.5 mL 离心管,取 1.0 mL 胶体金溶液加入到离心管中,将 pH 值调节至 7.5,分别在每个离心管中加入 1、3、5、10、20、40 μ L 西马特罗单克隆抗体,5~10 min 后再加入 20% BSA 溶液 20 μ L,放置 5~10 min 后进行离心(8 000 r/min,10 min),弃上清,加入 200 μ L 复溶液重悬。最佳标记量为最小标记量的 1.2 倍,最小标记量是抗体加入量最小的情况下检测线抑制效果佳。

1.3.2.3 离心力优化 取 7 个 1.5 mL 的离心管,取 1.0 mL 胶体金溶液加入到离心管中,将 pH 值调节至 7.5,分别在每个离心管中加入 12 μ L 西马特罗单克隆抗体,摇匀后,静止 5~10 min,再加入 20% BSA 溶液 20 μ L,分别于 3 000、5 000、8 000、12 000 r/min 离心 8 min,离心完后看上清液是否澄清及探针是否容易重悬。

1.3.3 免疫层析垫点样浓度的确定

1.3.3.1 T 线点样浓度的确定 将包被西马特罗抗原稀释成 0.5、0.8、1.0 mg/mL,包被至 NC 膜上,根据 T 线阴性显色选择及检测限选择最适 T 线包被浓度。

1.3.3.2 C 线点样浓度的确定 将二抗浓度稀释成 0.5、1.0、1.5 mg/mL,包被至 NC 膜上,根据 C 线与 T 线阴性显色选择最适 C 线包被浓度。

1.3.4 胶体金快速检测西马特罗方法建立

1.3.4.1 标记胶体金 调整 10 mL 胶体金的 pH

值(稍高于最佳)和抗体浓度(最佳),低温搅拌充分反应 0.5 h,添加 10% 的 20 μL/mL BSA 封闭 15 min,分装成 10 个 1.5 mL 小离心管,在最佳转速和时间条件下离心,使金标蛋白沉淀于底部,舍去上清液,将金标蛋白沉淀用胶体金复溶液溶解,调整铺金浓度,得到金标抗体溶液。在玻璃纤维素膜上进行喷涂,冷冻干燥后制作成为金标垫。

1.3.4.2 NC 膜 T 线和 C 线的包被 西马特罗抗原稀释调整浓度为最佳显色浓度,并包被于 NC 膜的 T 线位置,即检测线(T 线);羊抗鼠 IgG 抗体稀释调整浓度为最佳显色浓度,并包被于 NC 膜的 C 线位置,即质控线(C 线),形成免疫 NC 膜。再进行干燥处理,其中干燥温度为 37 ℃,干燥时间为 30 ~ 50 min,接着在封闭液中封闭,最后干燥即可。

1.3.4.3 样品垫 样品垫的前处理是需要玻璃纤维素膜浸入封闭液进行封闭,再干燥即可。

1.3.4.4 吸水垫 吸水垫一般为普通的滤纸材料。

1.3.5 速测卡的组装 在底板上从左到右依次为样品垫、金标垫、NC 膜以及吸水垫,最下层为 NC 膜,NC 膜左侧 1.0 mm 上压金标垫,在 NC 膜右侧 1.0 mm 处上压吸水垫,在金标垫 1.0 mm 处上压样品垫,裁剪成 3.5 mm 宽的试纸条,装于塑料卡壳内,完成速测卡的组装。加样只需要吸取样品 3 滴(100 μL)加入样品孔中即可。

1.3.6 速测卡的性能检测 将 100 μL 待检样品逐滴加入速测卡的样品孔内,待 10 min 观察 T 线和 C 线的显色状态,记录现象和显色所需时间。

1.3.6.1 特异性试验 取西马特罗相似物盐酸克伦特罗、沙丁胺醇和妥布特罗,分别用甲醇溶解,再用 PBS 缓冲液稀释成浓度为 5、10、15、20、40、100 ng/mL 的溶液,采用空白溶液作为阴性对照,观察不同类似物在试纸条上的显色情况,采用速测卡进行检测,观察现象并记录数据。

1.3.6.2 灵敏性试验 取西马特罗标准品,先用甲醇溶解,配制成浓度为 10 μg/mL 的溶液;然后用 PBS 缓冲液将标准品稀释成不同浓度(5、10、15、20、40、100 ng/mL)的溶液,同时制备阴性对照。本测试卡为竞争抑制原理设计而成,随着浓度变大,T 线显色变浅,C 线变深。因此,视觉极限检测限(LOD)即为 T 线不显色而 C 线显色明显的浓度值。

1.3.6.3 准确度试验 采用胶体金法和 ELISA 法进行实际猪肉 20 份样品检测,将检测结果进行时间和效果比对,确定可行性和检测效果的精准性。

2 结果与分析

2.1 西马特罗单抗的制备以及效价检测结果分析

2.1.1 单克隆抗体的鉴定 经间接 ELISA 检测、染色体计数、SDS - PAGE 电泳和 ELISA 单克隆抗体亚型检测试剂盒检测,表明单克隆抗体的免疫球蛋白亚类为 IgG1,分子量为 148.5 ku,染色体数目为 83 ~ 91 条,亲和常数为 2.51×10^8 L/mol。

2.1.2 抗体的交叉反应率 选择与西马特罗类似结构或功能的物质替代西马特罗标准溶液,绘制标准曲线计算 IC₅₀ 抑制浓度。结果发现,单克隆抗体对西马特罗的交叉反应为 100%,对沙丁胺醇的交叉反应率为 8%,对妥布特罗的交叉反应率为 15%,对克仑特罗的交叉反应率为 10%,对氯丙那林和特布他林的交叉反应分别为 5% 与 4%,对莱克多巴胺、非诺特罗、喷布特罗、克仑巴胺、氧烯洛尔、异丙肾上腺素、肾上腺素和去甲肾上腺素的交叉反应均 <0.1%。

选择与克伦特罗类似结构或功能的药物替代克伦特罗标准溶液,绘制其标准曲线,并计算 IC₅₀ 抑制浓度,计算交叉反应率,结果见表 1。

表 1 交叉反应

| 药物名称 | 交叉反应 (%) |
|--------|----------|
| 西马特罗 | 100.0 |
| 妥布特罗 | 15.0 |
| 沙丁胺醇 | 8.0 |
| 氯丙那林 | 5.0 |
| 特布他林 | 4.0 |
| 莱克多巴胺 | <0.1 |
| 克仑特罗 | 10.0 |
| 非诺特罗 | <0.1 |
| 喷布特罗 | <0.1 |
| 克仑巴胺 | <0.1 |
| 氧烯洛尔 | <0.1 |
| 异丙肾上腺素 | <0.1 |
| 肾上腺素 | <0.1 |
| 去甲肾上腺素 | <0.1 |

2.2 标记条件优化结果

2.2.1 pH 值条件优化结果 由图 1 可知,根据胶体金标记的原理,在 pH 值接近和稍高于蛋白的等电点时,胶体金蛋白吸附力最强;pH 值过高或过低均不利于两者结合,当 pH 值为 7.5 时,T 线显色最深,所以最适 pH 值为 7.5。

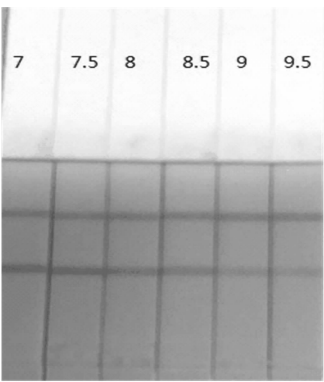


图1 pH 值条件优化

2.2.2 抗体标记量条件优化结果 由表 2 可知,胶体金标记的 2 个关键环节是标记时 pH 值和最佳蛋白质标记量的确定。当抗体标记量在 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 时,阴性 T 线显色及检测限显色梯度最大;当抗体标记量为 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 时,阴性虽然显色更深,但是检测限抑制也会变差;当抗体标记量大于 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 时,阴性显色会变浅,并且检测限抑制也比较差,所以最佳抗体标记量为 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 的 120%,即为 6 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。

表 2 抗体标记量条件优化结果

| 添加量 (μL) | 阴性显色 | 5 ng/mL 检测限显色 |
|--------------------------|------|---------------|
| 1 | ++ | ++ |
| 3 | +++ | ++ |
| 5 | +++ | ++ |
| 10 | ++++ | ++ |
| 20 | +++ | ++ |
| 40 | +++ | +++ |

2.2.3 离心条件优化结果 当转速为 3 000、5 000 r/min 时,上清液浑浊,说明转速不够,还有一部分胶体金没有离心下来。当转速为 8 000、12 000 r/min 时,上清液澄清,但转速为 12 000 r/min 时探针不容易重悬,说明最佳转速为 8 000 r/min。

2.3 NC 膜包被条件优化结果

2.3.1 T 线 由 T 线包被浓度显色结果(表 3)可知,随着包被抗原浓度的增加,T 线显色变强,当抗原包被浓度为 1.0 mg/mL 时,T 线阴性显色及检测限显色差异最大,所以 T 线最适包被浓度为 1.0 mg/mL。

2.3.2 C 线 由 C 线包被浓度显色结果(表 4)可知,随着二抗包被浓度的增加,C 线显色变强,当二抗包被浓度为 0.5 mg/mL 时,C/T 线显色基本一致,所以 C 线最适包被浓度为 0.5 mg/mL。

表 3 T 线包被浓度显色结果

| 抗原浓度 (mg/mL) | T 线阴性显色 | T 线检测限显色 |
|-----------------|---------|----------|
| 0.5 | ++ | + |
| 0.8 | +++ | ++ |
| 1.0 | ++++ | ++ |

表 4 C 线包被浓度显色结果

| 抗原浓度 (mg/mL) | C 线阴性显色 | T 线检测限显色 |
|-----------------|---------|----------|
| 0.5 | +++ | +++ |
| 0.8 | ++++ | +++ |
| 1.0 | +++++ | +++ |

2.4 卡片应用性检测

2.4.1 灵敏度检测 由图 2 和表 5 可知,西马特罗检测卡在 5 ng/mL 标准品时,T 线显色略微有影,10 ng/mL 标准品时,T 线不显色,说明西马特罗检测卡的灵敏度为 10 ng/mL。

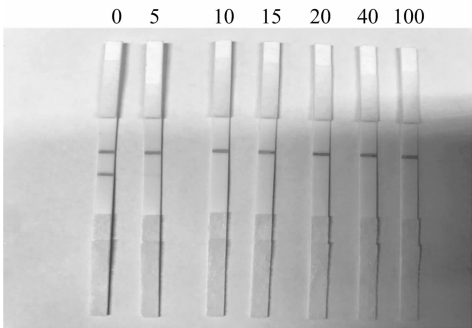


图2 灵敏度检测

表 5 灵敏度检测结果

| 西马特罗浓度 (ng/mL) | 显色强度 |
|-------------------|------|
| 0 | +++ |
| 5 | + |
| 10 | 干净 |
| 15 | 干净 |
| 20 | 干净 |
| 40 | 干净 |
| 100 | 干净 |

2.4.2 特异性检测 由图 3 和表 6 可知,添加不同浓度的盐酸克伦特罗、沙丁胺醇、妥布特罗标准品,对西马特罗检测卡均未发生抑制作用,说明西马特罗检测卡与盐酸克伦特罗、沙丁胺醇、妥布特罗无交叉反应,特异性好。

2.4.3 准确度检测 由准确度检测结果(表 7)可知,研制的西马特罗检测卡与酶联免疫吸附法的 20

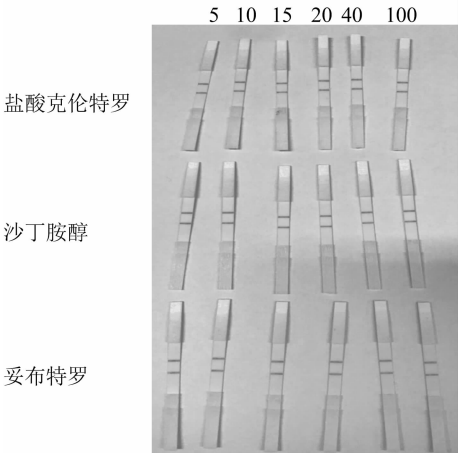


图3 特异性检测

表 6 特异性检测结果

| 抗原浓度 (ng/mL) | 显色强度 | | |
|-----------------|--------|------|------|
| | 盐酸克伦特罗 | 沙丁胺醇 | 妥布特罗 |
| 5 | +++ | +++ | +++ |
| 10 | +++ | +++ | +++ |
| 15 | +++ | +++ | +++ |
| 20 | +++ | +++ | +++ |
| 40 | +++ | +++ | +++ |
| 100 | +++ | +++ | +++ |

表 7 特异性检测结果

| 样品 编号 | 胶体 金卡 | ELISA 法计算 浓度 (ng/mL) | 样品 编号 | 胶体 金卡 | ELISA 法计算 浓度 (ng/mL) |
|----------|----------|-------------------------|----------|----------|-------------------------|
| 1 | - | 0.028 | 11 | - | 0.037 |
| 2 | - | 0.064 | 12 | - | 0.034 |
| 3 | - | 0.033 | 13 | - | 0.069 |
| 4 | - | 0.006 | 14 | - | 0.000 |
| 5 | - | 0.084 | 15 | + | 3.843 |
| 6 | - | 0.033 | 16 | - | 0.015 |
| 7 | - | 0.024 | 17 | - | 0.034 |
| 8 | - | 0.019 | 18 | - | 0.067 |
| 9 | + | 2.134 | 19 | - | 0.037 |
| 10 | - | 0.007 | 20 | - | 0.042 |

注:ELISA 计算浓度 ≥ 0.2 ng/mL 即判定为阳性。

份样品符合率良好。

3 结论

在国家粮食安全的战略下,瘦肉精对人们健康造成了很大的威胁和冲击,市面上对于西马特罗的快速检测方法研究较少。本研究通过制备西马特罗单克隆抗体,探索发现最适 pH 值为 7.5,最佳抗体标记量为 6 μ L/mL,最佳离心条件为 8 000 r/min,得出

T 线最适包被浓度为 1.0 mg/mL,C 线包被浓度为 0.5 mg/mL,制备能够快速检测猪肉中西马特罗残留量的胶体金快速检测卡,卡片灵敏度为 10 ng/mL,与盐酸克伦特罗、沙丁胺醇、妥布特罗无交叉反应,特异性好。与酶联免疫吸附法的 20 份样品符合率良好,说明新研发的检测卡检测结果准确、灵敏度高,具有应用价值,可在屠宰、养殖环节中完成猪肉西马特罗的现场检测。

参考文献:

[1] 鲍兴智,何培政. 生猪屠宰环节“瘦肉精”检测方法及防控措施[J]. 宁夏农林科技,2020,61(11):81-82.

[2] 孟 宏.“瘦肉精”对食品安全的影响[J]. 黑龙江水产,2020,39(3):16-17.

[3] 杨金众. 食品中瘦肉精残留危害及其常用检测方法探讨[J]. 食品安全导刊,2020(3):116.

[4] 匡德春. 瘦肉精酶联免疫试剂盒的质量评价与使用[J]. 中国畜牧业,2017(21):58.

[5] 柳海燕,侯 景,曾学斌. 瘦肉精胶体金快速检测二联卡的研制[J]. 现代食品,2019(7):133-136,142.

[6] 任清丹,何东伟. 瘦肉精三联快速检测卡准确性的因素及应对措施[J]. 吉林畜牧兽医,2018,39(10):53,55.

[7] 喻俊磊,陈 沙,李雨露,等. 动物源性食品中克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇快速检测产品的稳健性评价[J]. 江西农业学报,2019,31(11):105-110.

[8] Solheim S A, Jessen S, Mørkeberg J, et al. Single - dose administration of clenbuterol is detectable in dried blood spots[J]. Drug Testing and Analysis,2020,12(9):1366-1372.

[9] 李 洋,辛伟娟,史丽新,等. 盐酸克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇检验方法的简化与验证[J]. 食品安全导刊,2020(21):118-121.

[10] 沈轩昂,郝良文,张 焱,等. 基于金磁纳米粒子高灵敏定量检测盐酸克伦特罗的免疫层析新方法[J]. 食品与发酵工业,2020,46(22):220-225,237.

[11] Shirato K,Tanihata J,Motohashi N,et al. β_2 - agonist clenbuterol induced changes in the distribution of white blood cells in rats[J]. Journal of Pharmacological Sciences,2007,104(2):146-152.

[12] 金 晶. ELISA 法和胶体金免疫层析法检测猪尿样中的莱克多巴胺[D]. 南昌:南昌大学,2007

[13] 吴小胜,臧勇军,李 斌,等. 西马特罗单克隆抗体制备以及酶联免疫试剂盒的研究[J]. 中国酿造,2020,39(9):169-173

[14] 熊 琳,萍 阆,高雅琴,等. 肉品生产中禁用药物西马特罗研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2017,8(1):290-295.

[15] 李君华,吴 萌,程 华,等. 西马特罗单克隆抗体的制备及免疫学特性鉴定[J]. 畜牧与兽医,2016,48(3):123-126.

[16] 职爱民,刘庆堂,李青梅,等. 西马特罗人工抗原的合成及鼠源多克隆抗血清的制备[J]. 华北农学报,2010,25(4):97-101.

[17] 职爱民,李青梅,刘庆堂,等. 西马特罗杂交瘤细胞株的建立及其单克隆抗体制备和鉴定[J]. 核农学报,2010,24(5):1011-1014,1031.