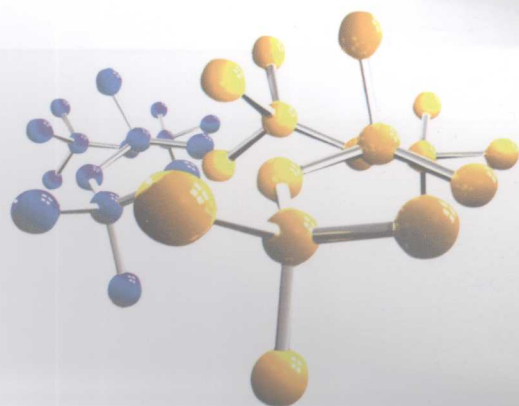


“十一五”国家重点图书出版规划



应用生物技术大系

Comprehensive Series of Applied Biotechnology



食品免疫化学与分析

胥传来 王利兵 主编



科学出版社

www.sciencep.com

中国轻工业出版社



中国轻工业出版社

中国轻工业出版社



食品免疫化学与分析

中国轻工业出版社



应用生物技术大系

食品免疫化学与分析

胥传来 王利兵 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书首先介绍了免疫化学的基本原理,着重介绍了免疫分析技术,结合食品科学的特色,分别介绍了食品中典型残留物的免疫分析技术,并辅以应用实例,内容主要包括绪论、抗原抗体反应基本原理、抗体的制备与分离纯化技术、抗体工程、免疫标记技术、时间分辨免疫荧光分析、分子免疫及免疫遗传学的技术与方法、免疫印迹技术、免疫电泳技术,以及农药免疫分析、兽药免疫分析、生物毒素免疫分析和其他残留物免疫分析。

本书可作为食品安全专业本科生、研究生及科研人员的教材和教学参考书,也可供食品与医学专业的研究人员及药检、商检、毒理和环境保护领域的科技工作者参考。

图书在版编目(CIP)数据

食品免疫化学与分析/胥传来,王利兵主编. —北京:科学出版社, 2009

(应用生物技术大系)

ISBN 978-7-03-025201-2

I. 食… II. ①胥…②王… III. 食品卫生学:免疫化学-化学分析
IV. R151.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 140203 号

责任编辑:王海光/责任校对:陈玉凤

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

新蕾印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009年8月第一版 开本:787×1092 1/16

2009年8月第一次印刷 印张:26 1/4 插页:2

印数:1—2 000 字数:594 000

定价:68.00元

如有印装质量问题,我社负责调换

《食品免疫化学与分析》

编委会名单

主编：胥传来 王利兵

编委：彭池方 陈 伟 刘丽强 胡拥明
袁 媛 李雅丽 马 伟 徐乃丰
徐丽广

序

食品安全检测的特点是检测特性指标多，涉及有机化学分量、无机化学分量、生物化学量、物理化学特性量、电离辐射、物质结构、感观，等等；检测技术发展速度快，随着科学技术整体的迅猛发展，测量技术可以说是日新月异，从定性到定量，从传统的化学分析法发展到现在的光谱、色谱、质谱甚至芯片分析，再到纳米技术、生物技术等检测方法，测试的量级从常量发展到微量、痕量、超痕量级；检测机构分布范围广，国家级检测中心、省级检测中心、市县级检测站，遍布全国各地，数千家实验室和数十万检测技术人员，每天都在进行着上百万次检测。但是，无论食品分析检测是多么纷繁复杂，都有一个共同的要求——测量结果准确可靠。

食品安全检测的有效进行依赖于在确保检测结果可比性的基础上，发展适合于各种场合和各类检测需求的方法体系。目前国际组织和发达国家纷纷建立了以安全列表为基础的食品安全体系。在这些体系中，主要包括日本的“肯定列表”、欧盟的“Rosh指令”、《欧盟新玩具安全指令》和美国的《消费品安全改进法案》等。这些食品安全列表中的化学品检测需要相匹配的食品安全检测技术体系，为食品安全法规的实施及重大突发事件预警、应急处理提供技术支撑。有效的食品安全检测体系应包括：适用于各类检测场合及检测目的的各种现场快速检测方法、实验室常规检测方法及参考检测方法。这些方法可能是国内外标准、行业标准方法，也可能是非标准方法。由“三鹿奶粉”事件可知，这些方法在应用中都需有明确的确认和程序。

加强对食品安全的监测、履行政府市场监管职能，是政府提高公信力的有力举措，是实现社会稳定的要求，是保障人民饮食安全的基础。

构建完整的食品检测方法体系刻不容缓，我国急需建立与本国的食品列表制度相适应的、完备的安全检测体系，包括现场快速检测技术、常规检测技术和权威检测技术。免疫化学与分析技术具有灵敏特异、准确精密、操作简便、适用于自动化分析等优点，因而在现代食品安全检测中得到了广泛应用。

胥传来教授组织编写了《食品免疫化学与分析》专著，内容涵盖了食品安全的基础知识、检测技术研究及应用等方面。

该书作者均是从事食品安全领域科学研究多年的专家和学者。他们根据应用性、先进性和创造性的编写要求，结合食品安全科学研究的特点编写完成了这本具有科学性和实用性的著作。在此，我对各位付出辛勤劳动的作者表示敬意。我衷心希望这本著作的出版能为我国食品安全的科学研究产生积极的推动作用。

胥传来

2009年5月于岳麓山

前 言

进入 21 世纪以来，一方面，人们的饮食水平与健康水平普遍提高，反映了食品安全状况有了较大改观，特别是食品量的安全（food security）在全面建设小康社会的中国已获得基本解决；另一方面，人类食物链环节增多或食物结构复杂化，以及科技发明、工业发展和人类社会活动所带来的负面影响，增添了新的食品安全风险和食品安全方面的不确定因素，造成了食品质的安全（food safety）问题。针对上述第二个方面的问题，世界各国和国际社会，包括发达国家和部分发展中国家，均在国家层面制定了相应的战略，采取了相应的应对措施，在食品安全科技研究和发 展方面更是高度重视、大量投入、潜心开拓、不遗余力。

在我国，保证食品安全是一项长期任务，我国政府及有关部门都非常重视。随着国民经济的发展和人们生活水平的提高，消费者对食品安全的要求越来越高。2008 年 9 月 11 日晚，卫生部指出：近期甘肃等地报告多例婴幼儿泌尿系统结石病例，调查发现患儿多有食用“三鹿”牌婴幼儿配方奶粉的历史，经相关部门调查，高度怀疑石家庄三鹿集团股份有限公司生产的“三鹿”牌婴幼儿配方奶粉受到三聚氰胺污染。到 11 月 27 日 8 时，全国累计报告因食用三鹿牌奶粉和其他个别问题奶粉导致泌尿系统出现异常的患儿 29 万余人。其实，早在 2007 年就有中国饲料加工企业向美国出口的宠物饲料导致猫狗宠物非正常死亡的报道，经美方查证其原因是饲料中含有三聚氰胺，这在中美之间造成了轩然大波。2007 年 5 月 9 日，国家质检总局也通报了两家企业，这两家企业在部分出口的小麦蛋白粉和 大米蛋白粉中，因为蛋白含量不能达到合同的要求，违规添加了三聚氰胺。这些都是无视食品安全法规的表现，更是被巨大商业利益驱使下唯利是图的表现。

类似 的食品安全事件还有：“龙凤”与“思念”牌问题速冻食品深圳撤柜，“五粮液”幸运星糖精超标，北京“王致和”豆腐乳被指保质期内发霉，“味全”食品旗下奶粉被查出致病菌，台湾婴儿配方奶粉检出致病菌，香港的“Godiva”朱古力遭停售，“乐事”薯片等 23 种进口食品抽查不合格等。2006 年 7 月，湖北武汉等地的“人造蜂蜜”事件被媒体曝光，白糖加水加硫酸，糖浆加入化学物质就变成了蜂蜜。2007 年 9 月，上海发生多起因食用猪内脏、猪肉导致的瘦肉精食物中毒事件。2007 年 11 月，河北一些禽蛋加工厂生产的“红心咸鸭蛋”被查出含有致癌物苏丹红。此后，国家质检总局又检出七种咸鸭蛋含有苏丹红。2007 年 11 月 17 日，上海公布了对 30 件冰鲜或鲜活多宝鱼的抽检结果，30 件样品全部被检出含有多种违禁鱼药残留。2007 年 12 月，北京市食品安全办通报，烟台“德胜达”龙口粉丝被检出有毒的工业用漂白剂“吊白块”。此外，2005 年还出现了“立顿”速溶茶事件，“光明”回收奶事件，“雀巢”奶粉碘超标事件，广东“潮安”果脯遭封杀事件，“哈根达斯”无证作坊事件。卫生部公布的 2006 年全国食物中毒报告显示：2006 年，中国疾病预防控制中心网络直报系统共收到

全国食物中毒报告 596 起，中毒 18 063 人，死亡 196 人，涉及 100 人以上的食物中毒 17 起。

如此频繁的食品安全问题已经严重打击了人们对市场上销售食品的信心，影响了公众对社会和政府的信任，对我国的和谐和可持续发展及长治久安产生严重影响。因此，可以说食品安全不仅关系到人民的健康和生命，也与国家的长治久安息息相关。更为重要的是食品安全还对食品的进出口贸易、国家的形象以及消费者对政府的信心有广泛的影响。所以，无论是对于发达国家，还是发展中国家，食品安全都首先是一个公共卫生问题，但也不仅仅是一个公共卫生问题。

2001 年以来，科技部先后组织了“食品安全重大科技专项行动”以及后续的“十五”国家重大科技专项——“食品安全关键技术”的研究，这些食品安全科技研究工作，不仅极大地推动了我国的食品安全工作，促使我国的食品安全工作有了长足的进步，应对食品安全问题的能力有了极大的增强，而且整体上促使我国的食品安全工作提升了一个层次，即从具体的、微观层面的研究，解决实际工作中的问题，上升到体系、平台、决策系统的宏观层面。接着“十一五”又设立了“食品安全关键技术”重大项目，这些都是建国以来我国科技史上的重大举措，不仅政府投资力度大，而且课题设置紧扣当前我国食品安全监管工作的科技“瓶颈”。基于上述研究成果，结合国内外这一领域的进展，笔者编著了这本《食品免疫化学与分析》。希望此书能为我国广大的食品安全工作者提供最新、最实用的食品安全知识和信息，从而对提升我国的食品安全水平做出积极贡献。

胥传来 王利兵

2009 年 1 月

目 录

序

前言

第 1 章 绪论	1
1.1 免疫学与免疫学技术的发展史	1
1.1.1 经验免疫学时期	1
1.1.2 经典免疫学时期	2
1.1.3 近代免疫学时期	6
1.1.4 现代免疫学时期	7
1.2 免疫学技术的广泛应用.....	10
1.2.1 免疫学与医学	10
1.2.2 免疫学与生物学	10
1.2.3 免疫学与生物技术的发展.....	11
1.3 免疫学技术的发展现状与展望.....	11
1.3.1 免疫学在分子水平上的深化与发展	11
1.3.2 免疫系统与神经内分泌系统的相互作用	12
1.3.3 免疫学向生物学、基础医学、临床医学和预防医学的渗透.....	12
1.3.4 免疫学的应用研究促进生物技术的发展	12
1.3.5 免疫学近期内的发展趋势.....	13
参考文献	13
第 2 章 抗原抗体反应基本原理	14
2.1 抗原抗体结合的一般原则.....	14
2.1.1 抗原	14
2.1.2 抗体	21
2.1.3 抗原抗体结合的一般原则.....	30
2.1.4 抗原抗体反应的特点	32
2.2 影响抗原抗体结合反应的因素.....	34
2.2.1 抗体方面.....	34
2.2.2 抗原方面.....	35
2.2.3 电解质	35
2.2.4 酸碱度	35
2.2.5 温度	35
2.3 抗原抗体结合反应的主要应用.....	35
2.3.1 补体检测.....	35

2.3.2	免疫球蛋白检测	36
2.3.3	免疫复合物检测	36
2.3.4	细胞因子检测	37
	参考文献	37
第3章	抗体的制备与分离纯化技术	39
3.1	多克隆抗体的制备技术	39
3.1.1	原理	39
3.1.2	动物的选择	39
3.1.3	抗原的处理	40
3.1.4	动物的免疫	40
3.2	单克隆抗体的制备	40
3.2.1	原理	40
3.2.2	动物的选择与免疫	42
3.2.3	细胞融合	42
3.2.4	选择杂交瘤细胞及抗体检测	42
3.2.5	杂交瘤的克隆化	43
3.2.6	杂交瘤细胞的冻存与复苏	43
3.2.7	单克隆抗体的大量生产	43
3.2.8	单克隆抗体的鉴定	44
3.3	抗体的分离纯化技术	45
3.3.1	原则	45
3.3.2	方法	45
	参考文献	46
第4章	抗体工程	48
4.1	细胞工程抗体	48
4.1.1	动物免疫	48
4.1.2	细胞融合	48
4.1.3	杂交瘤细胞的筛选	48
4.2	基因工程抗体	49
4.2.1	嵌合抗体	50
4.2.2	人源化抗体	51
4.2.3	完全人源化抗体	51
4.2.4	小分子抗体和抗体融合蛋白	52
4.2.5	双特异性抗体	54
4.3	抗体库技术	54
4.3.1	抗体库的应用价值	55
4.3.2	噬菌体呈现人抗体库	57
4.3.3	噬菌体人抗体库的构建	58

4.4 抗体分子的应用	63
参考文献	64
第5章 免疫标记技术	65
5.1 放射免疫技术	65
5.1.1 技术进展	66
5.1.2 原理	66
5.1.3 基本试剂和技术方法	69
5.2 酶免疫技术	73
5.2.1 概述	73
5.2.2 酶标抗体的制备	75
5.2.3 酶免疫分析中的放大作用	78
5.2.4 酶免疫分析的应用及发展趋势	80
5.3 免疫荧光技术	85
5.3.1 概述	85
5.3.2 标记方法	88
5.4 化学发光免疫分析	88
5.4.1 原理	88
5.4.2 方法类型	89
5.4.3 应用及展望	92
参考文献	96
第6章 时间分辨免疫荧光分析	98
6.1 时间分辨免疫荧光分析	98
6.1.1 原理	98
6.1.2 应用	100
6.2 多标记时间分辨免疫荧光分析	101
6.2.1 原理	101
6.2.2 应用	104
6.3 酶放大时间分辨免疫荧光分析	105
6.3.1 原理	105
6.3.2 应用	106
参考文献	106
第7章 分子免疫及免疫遗传学的技术与方法	108
7.1 DNA 的分离与纯化	108
7.1.1 概述	108
7.1.2 几种常用方法	109
7.2 核酸分子探针标记技术	114
7.2.1 核酸探针的种类	114
7.2.2 探针的标记物	114

7.2.3	探针标记常用的方法	116
7.3	核酸分子杂交技术	117
7.3.1	原理和类型	117
7.3.2	应用	120
7.4	cDNA 文库的构建及筛选	121
7.4.1	cDNA 文库及其构建	121
7.4.2	cDNA 文库筛选	128
7.5	HLA 基因配型及分型技术	132
7.5.1	HLA 基因配型	132
7.5.2	HLA-Ⅱ类基因配型方法	135
	参考文献	138
第 8 章	免疫印迹技术	139
8.1	概述	139
8.1.1	SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳	139
8.1.2	电转移	141
8.1.3	酶免疫定位	142
8.1.4	免疫印迹技术的注意事项	145
8.2	分子印迹技术	145
8.2.1	分子印迹技术概述	146
8.2.2	甲基翠酮与分子印迹技术	153
8.2.3	分子印迹技术存在的问题与展望	155
8.3	免疫学检测	156
	参考文献	156
第 9 章	免疫电镜技术	160
9.1	概述	160
9.1.1	组织固定与取材	160
9.1.2	免疫染色	160
9.1.3	包埋	161
9.2	免疫铁蛋白技术	163
9.2.1	基本原理	163
9.2.2	铁蛋白的提取和纯化	163
9.2.3	铁蛋白与免疫球蛋白的结合	164
9.2.4	电镜标本的制备方法	164
9.3	其他免疫电镜技术	165
9.3.1	免疫电镜胶体金标记法	165
9.3.2	扫描免疫电镜技术	167
9.3.3	冷冻蚀刻免疫电镜技术	168
9.4	电镜水平原位杂交	169

9.4.1 应用同位素标记 cRNA 探针电镜原位杂交技术于染色体制片	170
9.4.2 应用生物素标记 DNA 探针电镜原位杂交技术	170
9.4.3 应用地高辛标记 rRNA 探针的电镜原位杂交技术	173
参考文献	174
第 10 章 农药免疫分析	176
10.1 有机磷类农药	176
10.1.1 概述	176
10.1.2 分析方法	181
10.2 有机氯类农药	187
10.2.1 概述	187
10.2.2 分析方法	194
10.3 氨基甲酸酯类农药	196
10.3.1 概述	196
10.3.2 分析方法	203
10.4 拟除虫菊酯类农药	207
10.4.1 概述	207
10.4.2 分析方法	215
10.5 除草剂类农药	220
10.5.1 概述	220
10.5.2 分析方法	230
10.6 其他类农药	235
10.6.1 三唑类农药	235
10.6.2 苯并咪唑类农药	239
10.6.3 植物激素类农药	240
10.6.4 分析方法	241
10.7 农药的多残留分析	245
参考文献	251
第 11 章 兽药免疫分析	254
11.1 氨基糖苷类抗生素	254
11.1.1 概述	254
11.1.2 分析方法	257
11.2 大环内酯类抗生素	260
11.2.1 概述	260
11.2.2 分析方法	263
11.3 氯霉素类药物	265
11.3.1 概述	265
11.3.2 分析方法	267
11.4 β -内酰胺类抗生素	269

11.4.1 概述	269
11.4.2 分析方法	275
11.5 硝基呋喃类药物	280
11.5.1 概述	280
11.5.2 分析方法	282
11.6 喹诺酮类药物	284
11.6.1 概述	284
11.6.2 分析方法	291
11.7 磺胺类药物	298
11.7.1 概述	298
11.7.2 分析方法	300
11.8 四环素类药物	303
11.8.1 概述	303
11.8.2 分析方法	305
11.9 驱(蠕)虫药物	307
11.9.1 概述	307
11.9.2 分析方法	310
11.10 抗球虫药物	310
11.10.1 概述	310
11.10.2 分析方法	312
11.11 同化激素类药物	313
11.11.1 概述	313
11.11.2 分析方法	323
11.12 β -兴奋剂类药物	332
11.12.1 概述	332
11.12.2 分析方法	333
11.13 其他药物	334
11.13.1 苯二氮卓类药物残留分析	334
11.13.2 巴比妥类药物残留分析	336
11.13.3 聚醚类药物残留分析	336
11.13.4 喹乙醇及其代谢物残留分析	340
11.14 兽药多残留免疫分析	341
参考文献	342
第12章 生物毒素免疫分析	348
12.1 动物毒素	348
12.1.1 概述	348
12.1.2 分析方法	350
12.2 真菌与真菌毒素	351

12.2.1 概述	351
12.2.2 分析方法	356
12.3 细菌与细菌毒素	360
12.3.1 概述	360
12.3.2 分析方法	363
12.4 植物毒素	365
12.4.1 概述	365
12.4.2 分析方法	367
12.5 藻类与藻类毒素	371
12.5.1 概述	371
12.5.2 分析方法	373
参考文献	375
第 13 章 其他残留物免疫分析	377
13.1 二噁英	377
13.1.1 概述	377
13.1.2 分析方法	379
13.2 多溴联苯醚	380
13.2.1 概述	380
13.2.2 分析方法	380
13.3 苏丹红和对位红	381
13.3.1 概述	381
13.3.2 分析方法	383
13.4 孔雀石绿	386
13.4.1 概述	386
13.4.2 分析方法	387
13.5 三聚氰胺	387
13.5.1 概述	387
13.5.2 分析方法	388
13.6 邻苯二甲酸酯 (酞酸酯)	389
13.6.1 概述	389
13.6.2 分析方法	389
13.7 有机氟化合物	390
13.7.1 概述	390
13.7.2 分析方法	391
13.8 双酚 A	392
13.8.1 概述	392
13.8.2 分析方法	393
13.9 减肥药	394

13.9.1 概述	394
13.9.2 分析方法	396
13.10 重金属污染	396
13.10.1 概述	396
13.10.2 分析方法	398
参考文献	400

第 1 章 绪 论

1.1 免疫学与免疫学技术的发展史

免疫学 (immunology) 是研究宿主免疫系统识别并消除有害生物及其成分的应答过程及机制的科学。免疫系统的重要生理功能就是对“自己”和“非己”抗原的识别及应答。免疫系统在免疫功能正常的条件下,对“非己”抗原产生排异效应,发挥免疫保护作用,如抗感染免疫和抗肿瘤免疫。但在免疫功能失调的情况下,免疫应答可造成机体组织损伤,产生过敏性疾病。如打破对自身抗原的耐受,则可对自身抗原产生免疫应答,出现自身免疫现象,或造成组织损伤,就发生了自身免疫病。因此免疫系统以他识别和区分“自己”和“非己”抗原分子的能力,起着排异和维持自身耐受的作用。运用免疫学理论和方法对相关疾病进行预防、诊断和治疗的研究也是当代免疫学研究的重要领域^[1]。

近几十年来,免疫学以其辉煌的成就令人瞩目,其技术的优势有力地推动了免疫学向各学科的渗透,产生了许多免疫学分支学科和交叉学科。现在,对免疫学的研究已经达到细胞水平和分子水平,把免疫学研究推向一个新水平,已成为具有巨大市场潜力的新兴产业。

和其他学科一样,免疫学也是随着社会的发展和科学的进步而逐渐发生、发展和成熟的。一般认为免疫学的发展经历了四个时期,即经验免疫学时期、经典免疫学时期、近代免疫学时期和现代免疫学时期^[2]。

1.1.1 经验免疫学时期

对人体免疫功能的认识首先从抗感染免疫开始。我国古代医学家在对天花病长期临床实践过程中,对天花病的预防积累了丰富的经验,发现康复后的天花患者及护理者,或穿过沾染患者痘痂的衣服的人不再患天花,于是就大胆创用了将天花痂粉吹入正常人鼻孔的方法来预防天花,这是世界上最早的原始疫苗。这在天花病毒(图 1-1)发现之前,在医学科学尚未发展之时,实是一项伟大贡献。

人痘法(图 1-2)始于何时说法不一,有人考证认为这种人痘苗在唐代开元年间(公元 713~741 年)就已出现,也有人据我国医书考证,认为人痘法的文字记载见于宋真宗时代,即公元 11 世纪。但大量医书证明我国直到明代隆庆年间即公



图 1-1 天花病毒