

抗脱氧雪腐镰刀菌烯醇单克隆抗体的制备

祭芳^{1,2}, 陈正贤³, 徐剑宏¹, 陆琼娴¹, 史建荣^{1*}

(¹江苏省农业科学院, 南京 210014)

(²南京农业大学植物保护学院, 南京 210014)(³浙江大学生物技术研究所, 杭州 310029)

摘要:【目的】小麦赤霉病菌产生的毒素不仅在病害发展过程中具有加重赤霉病的作用,而且污染谷物导致严重的食用安全性问题。由于赤霉病的普遍发生,有必要建立快速、灵敏、有效的毒素检测方法,本试验旨在制备可用于检测被脱氧雪腐镰刀菌烯醇污染的粮谷类特异性单克隆抗体。【方法】本实验首先将脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)的衍生物 3-半琥珀酰-脱氧雪腐镰刀菌烯醇(3-HS-DON-OVA)与卵清蛋白(OVA)采用碳化二亚胺法进行偶联得到人工抗原,以此人工抗原免疫 BAL B/C 小鼠,取该鼠脾细胞与 SP2/O 鼠骨髓瘤细胞融合,经筛选和克隆,得到了 1 株能稳定分泌 DON 抗体的单克隆细胞株(3B2),并制备单克隆抗体腹水。【结果】经检测 3B2 的抗体类型及亚类均为 IgG1,其轻链为 κ 链。腹水通过间接酶联免疫吸附测定效价在 1×10^{-7} 以上。该单克隆抗体与脱氧雪腐镰刀菌烯醇特异性结合反应的 50%抑制质量浓度为 29 $\mu\text{g/L}$,除与 3-acetyldeoxynivalenol (3-Ac-DON)的交叉反应率为 78.38%,与其他脱氧雪腐镰刀菌烯醇结构类似物无交叉反应。【结论】本实验所制备的单克隆抗体有较高的灵敏度和特异性,具有较好的应用价值。

关键词: 脱氧雪腐镰刀菌烯醇; 单克隆抗体; 酶联免疫吸附测定

中图分类号: R392 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2008) 07-0929-06

脱氧雪腐镰刀菌烯醇(Deoxynivalenol; DON), 又称呕吐毒素,是由小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)产生的最为重要的赤霉毒素^[1, 2],主要污染小麦、大麦、玉米等谷类作物,并进而污染粮食制品。人和动物在误食被该毒素污染的粮谷类后可以产生广泛的毒性效应,如厌食、呕吐、腹泻、发烧、站立不稳、反应迟钝等急性中毒症状,严重时损害造血系统造成死亡^[3-5]。此外, DON 还常与其它霉菌毒素如黄曲霉毒素共同污染农作物,进入人体后可以相互影响。由于 DON 的危害严重,引起了各国的普遍重视,建立快速、灵敏、有效的毒素检测方法显得十分迫切。真菌毒素的检测传统上一直是色谱化学技术为依托,如薄层层析(TLC)、

气相色谱(GC)、高效液相色谱(HPLC)以及质谱(MS)分析技术,尤其是后 3 种方法,能够精确地确定毒素的种类和含量^[6-10],但需要对样品进行繁琐的前处理并购买昂贵的设备;TLC 法重复性差,精度低。因此,大量样品中真菌毒素的监测就受到了严重限制。以免疫抗体为基础的免疫检测技术,则克服了仪器分析样品处理繁复、仪器使用成本高的局限,为我们提供了一种快速、敏感而且操作简单的分析方法,在毒素和有毒化合物等小分子化合物的检测中应用已经十分广泛^[11-14]。本试验旨在制备可用于检测被脱氧雪腐镰刀菌烯醇污染的粮谷类特异性单克隆抗体,对于研发国产快速检测试剂盒具有重要的意义。

基金项目:农业部“863 计划”(2007AA10Z429);江苏省自然科学基金(BK2006563);公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx07-048)

*通讯作者。Tel: +86-25-84392001; E-mail: shiji@jaas.ac.cn

作者简介:祭芳(1982-),女,硕士研究生,主要从事真菌毒素免疫学研究。E-mail: jifang625@126.com

收稿日期:2008-03-03;修回日期:2008-04-24

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞及实验动物:鼠骨髓瘤细胞 SP 2/O 由本实验室保存。雌性 BAL B/C 鼠(6~8 周龄, 体重为 18~22 g/只)购自中国科学院上海实验动物中心。

1.1.2 主要试剂和仪器:DON (层析纯), 本研究室保存; 丁基硼酸 (Sigma 公司); 琥珀酸酐 (Sigma 公司), 硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂); 二环己基碳二亚胺(DCC, Sigma 公司); N-羟基琥珀酰亚胺(NHS, Sigma 公司); N,N-二甲基甲酰胺(DMF, Sigma 公司); 降植烷、HRP 标记的羊抗小鼠 IgG 抗体, 抗体类型及亚类鉴定试剂盒均购自 Sigma 公司; 30%双氧水(浙江临安岭化工厂); 邻苯二胺(OPD, 中国五联化工厂); 其他化学试剂均为分析纯。质谱仪(Esquire-LC00075, Bruker 公司); 旋转蒸发器(上海申科医械专机厂); 紫外分光光度计(UV 7504pc 型, 上海欣茂仪器公司); 冷冻干燥机(ALPHA1-4); 倒置显微镜(Olympus); 二氧化碳培养箱(Galaxy S, 英国 RS Biotech 公司); 冷冻离心机(AvantiTM J-30I, BECKMAN COULTER 公司); 低温冰箱(SIEMENS 公司); 高压灭菌锅(VERTICAL STERILIZER TSAO H SINTH-3560)。

1.2 人工抗原的合成

半抗原的合成参照 Casale 等的方法合成^[12], 免疫原 3-HS-DON-OVA、包被原 3HS-DON-BSA 的合成采用碳化二亚胺法, 通过 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定证明偶联是否成功^[15]。

1.3 免疫方案

取 6~8 周龄、体重 18~20 g/只雌性 BALB/C 小鼠, 将制备的免疫原 3-HS-DON-OVA 与等体积弗氏完全佐剂混合, 充分乳化后, 经背部皮下多点注射, 剂量为每只 50 μ g。以后每隔 3 周, 取与一免等剂量的免疫原和等体积的弗氏不完全佐剂充分乳化后皮下和腹腔注射加强免疫, 加强免疫共 3 次, 融合前 3 d 加倍剂量与等体积生理盐水混匀, 强化免疫一次。

1.4 杂交瘤细胞的筛选与克隆

按照吴建祥的方法进行^[16]。取上述免疫鼠脾细胞与 SP2/O 骨髓瘤细胞按(5~10) : 1 的比例混合, 在 50% EG 下融合, 洗涤、沉淀后, 用 HAT 培养基悬浮, 接种于 96 孔细胞板中, 置 37 $^{\circ}$ C、5% O₂ 的细胞培养箱中培养。培养 3~5 d 后, 用 HAT 培养基再换液一次, 第 10 d 换成 HT 培养基培养。

细胞生长到覆盖培养孔 10%~30%孔底面积时,

参照覃雅利等^[17]的方法进行筛选。取上清, 用间接 ELISA 方法筛选抗体阳性孔, 筛选时包被抗原为 3-HS-DON-BSA 交联物, 并以 OVA、BSA 作阴性对照。选择阳性反应的杂交瘤细胞, 阳性孔细胞上清进一步用间接竞争 ELISA 鉴定筛选出对 DON 有抑制作用的细胞孔, 并将这些孔里的细胞用有限稀释法, 每次克隆后 2~3 d 直接在倒置显微镜下观察细胞生长情况选出单细胞集落, 进一步做细胞克隆。选出的克隆细胞经培养后的上清再做 ELISA 检测, 阳性孔需经过连续克隆 3~4 次, 最后一次克隆后检测所有孔均为阳性的孔, 则所得细胞株即为分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞株。杂交瘤细胞经扩大培养后, 用于腹水制备和液氮保存。

1.5 腹水的制备与纯化

参照青玲等^[18]方法进行腹水制备, BAL B/C 小鼠腹腔注射降植烷, 0.3 mL/只, 7~10 d 后同法注射单克隆细胞 0.4 mL/只, 待小鼠腹腔明显胀大后抽取腹水, 离心除去油脂沉淀后, 即得小鼠腹水 McAb。腹水采用辛酸-硫酸铵法纯化^[19], 用紫外分光光度计分别测定纯化单克隆抗体的紫外 280、260 nm 的光密度, 用 Lowry-kalokar 公式计算蛋白质的浓度, 其余的纯化单抗-70 $^{\circ}$ C 备用。

1.6 抗体类型、亚类鉴定及效价测定

采用 Southern Biotechnology Associates, Inc. 鼠免疫球蛋白亚类检测试剂盒测试, 该试剂盒采取夹心 ELISA 测定, 具体方法为: 在酶标反应板中包被羊抗鼠 Ig 抗体 4 μ g/孔, 然后加入 2.0% 奶封闭液封闭 37 $^{\circ}$ C 30 min, 加上 1 : 5 稀释的单克隆杂交瘤细胞培养上清, 其上清中含有待检测类型的鼠免疫球蛋白, 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, PBST 洗涤后, 再加各种酶标记抗各种亚类的二抗, 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h 后洗涤 3 次, 再加入底物溶液, 每孔 100 μ L, 底物显色 37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min, 读取 OD 值, 根据 OD 值判断单抗杂交瘤细胞分泌的单抗亚类。

腹水效价测定以间接 ELISA 方法测定, 操作如下: 10 μ g/mL 3-HS-DON-BSA 交联物用 0.05 mol/L pH9.6 碳酸盐缓冲液包被 ELISA 板, 每孔 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h(或者 4 过夜), PBST 洗涤 3 次; 用 2.0% 脱脂奶粉封闭, 每孔 200 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min 后洗涤 3 次; 倍比稀释的腹水作一抗, 每孔 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h 后洗涤 3 次; 辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG 为二抗, 每孔 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h 后洗涤 3 次;

加入底物溶液, 每孔 100 μL, 37 °C 孵育 20 min; 加入 2 mol/L 硫酸, 每孔 50 μL, 终止反应, 酶标仪测定 OD 值。

试验中以非免疫 DON 抗原的鼠血清作阴性对照 (N), 腹水为阳性抗体 (P), 以 P/N>2.1 为单克隆抗体最大稀释度。

1.7 单克隆抗体的特异性测定

采用间接 ELISA 方阵滴定方法确定抗原抗体工作浓度, 然后在工作浓度下采用间接竞争 ELISA 方法对 3-AC-DON、15-AC-DON、T-2 做抑制反应曲线, 步骤如下: 用 0.05 mol/L pH9.6 碳酸盐缓冲液将包被抗原按工作浓度稀释后包被 96 孔酶标板, 每孔 100 μL, 37 °C 孵育 2 h(或者 4 过夜), PBST 洗涤 3 次; 用 2.0% 脱脂奶粉封闭, 每孔 200 μL, 37 °C 孵育 30 min 后洗涤 3 次; 加入系列浓度的各种毒素标准溶液 50 μL, 再加入经 PBS 缓冲液稀释至工作浓度的纯化抗体 50 μL, 混匀, 37 °C 孵育 1 h, PBST 洗涤 3 次; 加入 HRP 标记的羊抗小鼠二抗, 每孔 100 μL, 37 °C 孵育 1 h, PBST 洗涤 3 次; 加入底物溶液, 每孔 100 μL, 37 °C 孵育 20 min 后每孔加入 50 μL 2 mol/L 的硫酸, 终止反应; 酶标仪测定其 OD 值, 并绘制免疫反应抑制率与毒素标样浓度对数值的曲线图, 求出抑制反应 50% 所需的浓度 (IC₅₀), 交叉反应率^[14]为脱氧雪腐镰刀菌烯醇 IC₅₀ 与结构类似物 IC₅₀ 的比值。

$$\text{交叉反应率} = \text{IC}_{50} \text{ 脱氧雪腐镰刀菌烯醇} / \text{IC}_{50} \text{ 类似物} \times 100\%$$

2 结果和分析

2.1 半抗原的结构鉴定

对前面合成得到的化合物进行了进行了电喷雾离子质谱分析。结果表明, DON 的 ESI-MS 如图 1 所示, M+H⁺=297.1, M+Na=319.1, 与文献报道结果相同。衍生产物的 ESI-MS 如图所示, M-H⁺=395.2, 可得出衍生产物的分子量为 396.2, 与 3-HS-DON 的分子量计算结果相同。证实所得衍生产物为 3-HS-DON。

2.2 3-HS-DON 与载体蛋白偶联

3-HS-DON 与 BSA 或 OVA 偶联结合后, 其分子量将大于原蛋白, 因此, 在凝胶电泳图上, 在 BSA 或 OVA 条带的上方会出现一条新带(图 2)。SDS-PAGE 结果证实, DON 与蛋白 BSA 或 OVA 偶联后, 出现了一种分子量较大的物质, 推断为本实验所获得的 DON-蛋白交联的物质。

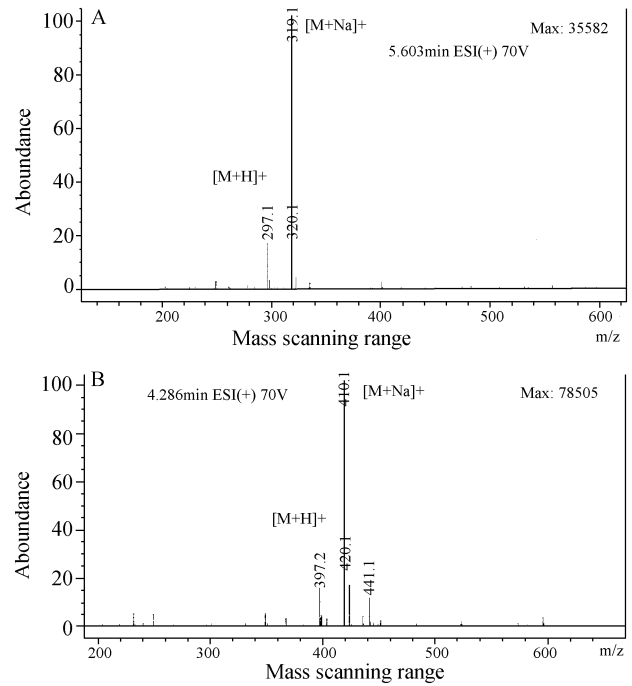


图 1 DON 及其衍生物的电喷雾离子化质谱图谱
Fig. 1 ESI-MS for DON and its derivative. A: DON; B: Derivative of DON.

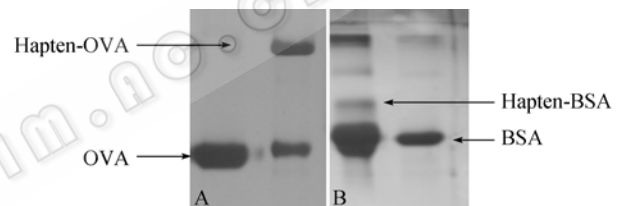


图 2 3-HS-DON 与载体蛋白偶联的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳图
Fig. 2 SDS-Electrophoresis of OVA and BSA. A: OVA; B: BSA.

2.3 杂交瘤细胞融合、筛选、克隆

免疫的 BAL B/C 小鼠脾细胞和 SP2/O 小鼠骨髓瘤细胞在 50% PEG 下融合, 用 HAT 培养基筛选, 融合 10 d 后换用 HT 培养基, 当每孔杂交瘤细胞覆盖孔底 5%~30% 时, 采用间接竞争 ELISA 方法检测细胞培养上清中抗体的分泌情况, 选择其中 10 个呈强阳性并且有抑制作用的细胞孔进行有限稀释法克隆, 最终获得 1 株能分泌抗 DON 特异性抗体的杂交瘤细胞 3B2, 上清与 OVA、BSA 均无阳性反应(表 1), 说明该抗体是特异性针对 DON; 经 6 个月以上体外传代和多次冻存复苏后, 该细胞株均能良好生长, 并能稳定分泌抗体。其后用于腹水制备和液氮保存。

表 1 上清液的间接 ELISA 测定结果

Table 1 ELISA results of the Mab in culture supernatant

Monoclonal antibody	BSA	3-HS-DON-OVA	OVA
3B2	-	++++	-

Negative(-); Positive(+); The coating concentration of BSA, OVA, 3-HS-DON-OVA is 10 μg/mL.

2.4 腹水制备、抗体类型及亚类鉴定、效价测定

注射降植烷的 BAL B/C 小鼠腹腔注射单克隆杂交瘤细胞，待腹部明显膨胀后采集腹水，每只小鼠可取 10~20 mL 腹水。用辛酸-硫酸铵方法纯化单克隆抗体腹水，经测定蛋白质浓度为 8.14 mg/mL，抗体类型及亚类鉴定结果表明，3B2 抗体类型及亚类为 IgG1；轻链为κ链，单克隆抗体腹水的间接 ELISA 效价在 1×10^{-7} 以上。

2.5 50%抑制浓度的测定

用间接 ELISA 方法，经方阵试验测定该抗体的最佳工作浓度(OD 值为 1.0 左右)，间接竞争 ELISA 法测定 DON 的抑制曲线，然后绘制免疫反应抑制率与毒素浓度对数曲线图(图 3)。线型回归方程为 $Y = 0.733 \lg(x) - 0.572$ ， $R^2 = 0.9652$ 。求出抑制反应 50% 所需的浓度(IC₅₀)为 29 μg/L。

2.6 单克隆抗体特异性鉴定

用间接竞争 ELISA 检测 DON 结构类似物的 50% 抑制浓度(表 2)，从表 2 可看出，3-Ac-DON、15-Ac-

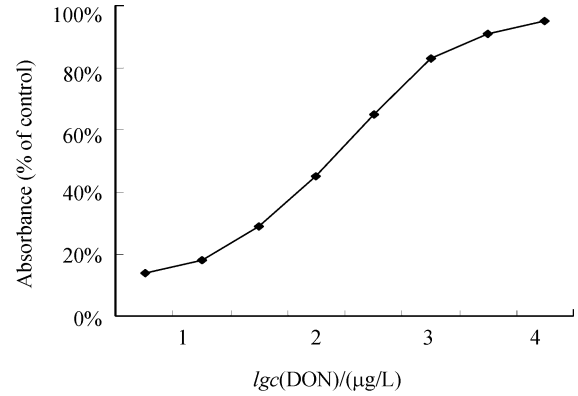


图 3 抑制率反应曲线
Fig. 3 Inhibition reaction curve.

DON、T-2 toxin 作为竞争性抑制抗原的 50% 抑制浓度 IC₅₀ 分别为 37 μ/L、225 μg/L、612 μg/L，计算交叉反应率分别为 78.38%、9.20%、4.74%，由上述结果可知除 3-Ac-DON 交叉反应率为 78.38% 外，其他类似物交叉反应率均低于 5%。表明所制备的单克隆抗体对 DON 具有高特异性。

表 2 抗 DON 抗体特异性试验
Table 2 Recognition of several compounds by anti-DON antibodies

Compound	Structures	IC ₅₀ /(μg/L)	Percent cross-reactivity/%
DON		29	100
3-Ac-DON		37	78.38
15-Ac-DON		585	4.96
T-2 toxin		612	4.74

3 讨论

近几年来,免疫检测技术在抗生素、农药、毒素等小分子化合物残留分析中的应用越来越广泛,而抗体的制备则是建立免疫检测技术的关键。由于多抗存在着非特异性偏高、准确性偏低和均质性差等问题,因此高质量单抗的制备对建立 DON 免疫测定方法具有深远意义。由于 DON 的分子量只有 296 Da,没有免疫原性,必须与载体蛋白共价偶联后才可能制备出抗 DON 的抗体。本研究先将 C-7 和 C-15 的羟基用丁基硼酸封闭,再将 C-3 上的羟基与琥珀酸酐反应,成功合成了 DON 半抗原,经结构鉴定,产物为预期目标化合物 3-HS-DON,再将此半抗原与载体蛋白共价偶联后得到具有免疫原性的免疫原 3-HS-DON-OVA。本研究通过抗原的合成、动物免疫、细胞融合、筛选、克隆和腹水制备,获得了 1 株抗 DON 的特异性单克隆抗体。交叉反应的试验显示 3-Ac-DON 与抗体的交叉反应率高达 78.38%,但谷物中 3-Ac-DON 的含量往往非常低^[1-2],也不足以影响到 DON 的检测。间接竞争 ELISA 法抑制率试验表明,对 DON 抑制中浓度 IC₅₀ 为 29 μg/L 远远高于国标中对于食品中 750 μg/L、饲料中 1000 μg/L 的检测灵敏度要求。由于其高特异性和灵敏性,可用于研制高质量的国产快速检测 ELISA 试剂盒。

参 考 文 献

- [1] 王裕中, 米勒. 中国小麦赤霉病菌优势种-禾谷镰刀菌产毒素能力的研究. *真菌学报(Mycosystema)*, 1994, 13(3): 229-234.
- [2] Bottalico A, Perrone G. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 2002, 108: 611-24.
- [3] Robbana-Barnat, SC, Lafarge-Frayssinet, H, Cohen GA, et al. Immunosuppressive properties of deoxynivalenol. *Toxicology*, 1988, 48: 155-166.
- [4] Rotter, BA, DB. Prelusky, JJ Pestka. Toxicology of deoxynivalenol(vomitoxin). *J Toxicol Environ Health*, 1996, 48: 1-34.
- [5] Lun, AK, ET Moran Jr, LG Young, et al. Disappearance of deoxynivalenol form digesta progressing along the chicken's gastrointestinal tract after incubation with feed containing contaminated corn. *Bull. Environ. Contam. Toxicol. Toxicology*, 1988, 40: 317-324.
- [6] Scott PM, Kanhere SR. Comparison of column phases for separation of derivatized trichothecenes by capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography*, 1986, 368: 374-380.
- [7] Tacke BK, Casper HH. Determination of Deoxynivalenol in Wheat, Barley, and Malt by Column Cleanup and Gas Chromatography with Electron Capture Detection. *Journal of AOAC International*. 1996, 79(2): 472-475.
- [8] Trucksess WM, Page SW, Wood GE, et al. Determination of Deoxynivalenol in White Flour, Whole Wheat Flour, and Bran by Solid-Phase Extraction/Liquid Chromatography. *Interlaboratory Study. Journal Of AOAC International*. 1998, 81(4): 880-888.
- [9] Jestoi M, Ritieni A, Rizzo A. Analysis of the *Fusarium* mycotoxins fusaproliferin and trichothecenes in grains using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2004, 52: 1464-1469.
- [10] Klotzel M, Gutsche B, Lauber U, et al. Determination of 12 type A and B trichothecenes in cereals by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrrium T-2 and zearalenone toxins in cereals. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60: 729-731.
- [11] Barna-Vetro I, Gyongyosi A, Solt L. Monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay of *Fusarium* T-2 and zearalenone toxins in cereals. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60: 729-731.
- [12] Casale WL, Pestka JJ, Hart LP. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Employing Monoclonal Antibody Specific for Deoxynivalenol (Vomitoxin) and Several Analogues. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1988, 36: 663-668.
- [13] Laamanen I, Veijalainen P. Factors affecting the results of T-2 mycotoxin ELISA assay. *Food Additives Contaminants*, 1992, 9, 337-343.
- [14] Park JJ, Chu FS. Assessment of Immunochemical Methods for the Analysis of Trichothecene Mycotoxins in Naturally Occurring Moldy Corn. *Journal of AOAC International*, 1996, 79(2): 465-471.
- [15] 郭尧君等. 蛋白质电泳实验技术. 北京: 科学出版社, 2005.
- [16] 吴建祥, 林福呈, 李德葆, 等. 稻瘟病菌单克隆抗体的研制及其对附着胞形成的影响. *微生物学报(Acta Microbiologica Sinica)*, 2000, 40(6): 638-645.
- [17] 覃雅利, 石德时, 王桂枝, 等. 抗氯霉素单克隆抗体的制备及鉴定. *中国兽医学报(Chinese Journal of Veterinary Science)*, 2001, 21(6): 556-558.
- [18] 青玲, 吴建祥, 戚益军, 等. 蚕豆萎蔫病毒单克隆抗体的研制及检测应用. *微生物学报(Acta Microbiologica Sinica)*, 2000, 40 (2): 166-173.
- [19] 陈伯权, 吴美英, 叶群瑞. 几种部分纯化单克隆抗体方法的比较. *病毒学报(Chinese Journal of Virology)*, 1990, 6 (2): 122-126.

Development of the Monoclonal Antibody to Deoxynivalenol

Fang Ji^{1,2}, Zhengxian Chen³, Jianhong Xu¹, Qiongxian Lu¹, Jianrong Shi^{1*}

¹Jiangsu Academy of Agriculture Science, Nanjing 210014, China)

²College of Plant Protection, Nanjing Agriculture university, Nanjing 210014, China)

³Institute of Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: [Objective] Deoxynivalenol (DON) is a trichothecene mycotoxin produced by *Fusarium graminearum*, a pathogen causing Fusarium Head Blight of wheat. It is necessary to establish a rapid and simple assay to detect DON. [Methods] High affinity monoclonal antibodies (Mab) against DON were produced by cell fusion with 500 mg/mL Polyethylene Glycol 400, and cell sub-cloning in HAT (H: hypoxanthine, A: aminopterin; T: thymidine) culture medium for screening and limiting dilution. Hybridoma lines were screened for specificity to DON by Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). One hybridoma cell line (3B2) secreting monoclonal antibody (MAb) against DON was produced by fusing mouse myeloma cells (SP 2/0) with spleen cells from BAL B/C mice which were immunized by the artificial antigen conjugated with Ovalbumin (OVA). [Results] The MAb obtained in this experiment could specifically react with DON without cross-reactivity to DON related compounds except 3-acetyldeoxynivalenol (3-Ac-DON), with the titres of ascitic fluids up to 1×10^{-7} by indirect ELISA. Isotype and subclass of the monoclonal cell line (3B2) showed that it belonged to IgG1. The light chain of the MAb was identified to be κ . Ascites antibodies generated by hybridoma of 3B2 cells were purified. Inhibition rate studies showed that the detection limit of the ELISA was 8 $\mu\text{g/L}$, with the regression equation of indirect ELISA $Y=0.7331g(x)-0.572$, $R^2=0.9652$, IC_{50} value being 29 $\mu\text{g/L}$. [Conclusion] The MAb can be used to prepare the reagents for analyzing DON residue.

Keywords: deoxynivalenol; monoclonal antibody; enzyme-linked immunosorbent assay

Supported by the National Programs for High Technology Research and Development of China (2007AA10Z429) and the Jiangsu Province Natural Science Foundation (BK2006563)

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-25-84392001; E-mail: shiji@jaas.ac.cn

Received: 3 March 2008/ Revised: 24 April 2008

答 作 者 问

问：我想问一下作者及单位署名顺序的修改问题。投稿后经过专家审查通过后即将发表，如果想调整作者并且修改作者及单位署名顺序是否可以？是否需要提供什么证明或者相关的材料？

答：可以变更，但需要作者再提供以下材料。(1) 如变单位署名顺序，需要原研究内容所属单位(通常是第一署名单位)的证明信，证明内容：原署名顺序—现署名顺序—盖章。(2) 如变更作者署名顺序，需要通讯作者和第一作者同意的签字证明。证明内容：原作者姓名及顺序—修改之后的作者姓名及顺序。(3) 将此证明信返回编辑部(邮寄或扫描后 e-mail 发来)，新的变更即可生效。

问：我想尽早得到审稿结果，或者提前发表，有没有好的办法能使审稿老师快点。比如我们增加审稿费等方法？

答：在发给作者的“收稿通知”中，编辑部已经告知了我刊处理稿件的程序和大致时间进度。在作者向我刊投稿之前，应详细了解我刊的规定。审稿人评审一篇文章，并给出谨慎的评审意见是需要一定时间的。所以，作者在投稿之前应该留出足够多的时间给编辑部，以便于编辑部进行评审，我们的承诺是在 2 个月之内给予答复，5~8 个月之内刊出。如要求提前发表，请在投稿的同时提出书面报告，说明该研究成果的重要性、创新性、竞争性和提前发表的必要性，经过我刊编委会讨论并通过后，可予提前刊出，无需另加费用。