



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101987869 A

(43) 申请公布日 2011. 03. 23

(21) 申请号 201010265703. 9

(22) 申请日 2010. 08. 30

(71) 申请人 南京工业大学

地址 210009 江苏省南京市新模范马路 5 号

(72) 发明人 刘晓宁 李壹 李方实 魏荣卿
陈洪岩

(51) Int. Cl.

C07K 14/765 (2006. 01)

C07K 16/44 (2006. 01)

G01N 33/53 (2006. 01)

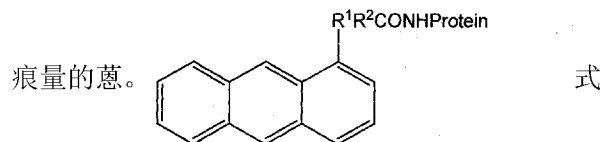
权利要求书 1 页 说明书 6 页

(54) 发明名称

一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein

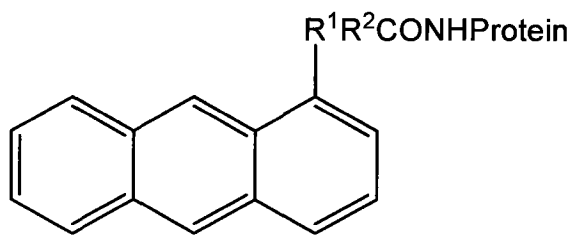
(57) 摘要

本发明涉及一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein 的制备和用途, 结构式如下。即 (1) 将二酸酐或二酸单酰氯、蒽和无水三氯化铝反应得到固体粉末蒽人工免疫半抗原 AN-RCOOH; (2) 将 N- 羟基琥珀酰亚胺和 N, N'- 二环己基碳酰亚胺的溶液与蒽人工免疫半抗原 AN-RCOOH、蛋白质 Protein 反应 12-16h, 得蒽人工免疫原 AN-L-Protein。该蒽人工免疫原 AN-L-Protein 通过免疫动物制备成蒽特异性抗体, 可用于现场检测水体、土壤和大气中



中 Protein 为牛血清白蛋白 (BSA) 或鸡血清白蛋白 (OVA); $R^1 = C=O$ or CH_2 ; $R^2 = (CH_2)_n$, $n = 2, 3, 4$ 。

1. 一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein, 其特征在于该蒽人工免疫原 AN-L-Protein 含有如下结构:



其中 Protein 为牛血清白蛋白 (BSA) 或鸡血

清白蛋白 (OVA); $R^1 = C=O$ or CH_2 ; $R^2 = (CH_2)_n$, $n = 2, 3, 4$ 。

2. 根据权利要求 1 所述的一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein, 其特征在于该蒽人工免疫原 AN-L-Protein 的制备方法包含以下步骤:

(1) 将丁二酸或戊二酸或己二酸和氯化亚砷按摩尔比 1 : 0.1-1.0 反应, 得丁二酸单酰氯或戊二酸单酰氯或己二酸单酰氯;

(2) 将 (1) 中所述的二酸单酰氯的一种或丁二酸酐与蒽按摩尔比 1 : 1-10 溶解于有机溶剂 I 如: 二氯甲烷或氯仿或二氯乙烷中, 并按二酸与无水三氯化铝摩尔比 1 : 1-3 投料无水三氯化铝, 0-10℃ 搅拌反应 5-24h 后, 转移入 0-5℃、5-30% 体积浓度的盐酸溶液终止反应, 静置, 分液收集有机溶剂 I 层, 浓缩蒸馏除去有机溶剂 I 得固体, 用 0.1-1.0mol/L 碳酸钾溶液中和, 过滤除去未反应的蒽, 向滤液中滴加 5-30% 体积浓度的盐酸酸化, 用有机溶剂 II 如: 乙酸乙酯或乙醚, 萃取, 分液, 浓缩有机溶剂 II 层, 得固体粉末, 重结晶, 干燥后得纯品: 蒽人工免疫半抗原 AN-COR²COOH;

(3) 将上述 AN-COR²COOH, 氢氧化钾, 水合肼 (80%), 二甘醇按摩尔比 1 : 1-5 : 1-5 : 1-5 加进 100mL 四口烧瓶中, 150℃ 回流反应 1-5h, 接分水器, 170℃ 反应 1-5h, 拆走分水器, 200℃ 回流反应 1-5h, 将混合物冷却, 倒入冰水中, 滴加 5-30% 体积浓度的盐酸酸化, 用乙酸乙酯, 萃取, 分液, 浓缩乙酸乙酯层, 即还原得白色粉末状固体: 蒽人工免疫半抗原 AN-CH₂R²COOH;

(4) 将 (2) 或 (3) 中所述的蒽人工免疫半抗原 AN-R¹R²COOH 溶于有机溶剂 III 如: N, N-二甲基甲酰胺即 DMF 或二甲亚砷即 DMSO 中, 再将 N-羟基琥珀酰亚胺即 NHS 和 N,N'-二环己基碳酰亚胺即 DCC 溶于有机溶剂 III 的溶液逐滴加入该 AN-R¹R²COOH 溶液中, 冰浴中搅拌反应 12-48h, 静置后取上清液加入到 pH = 6.5-8.2 磷酸盐缓冲液中, 再加入 Protein, 0-4℃ 反应 6-16h, 透析后离心分出上清液, 即得蒽人工免疫原 AN-L-Protein, 分装后 -20℃ 保存。

3. 根据权利要求 2 所述的一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein 的制备方法, 其特征在于, 所述步骤 (4) 中的 AN-R¹R²COOH、NHS、DCC 摩尔比为 1 : 1-10 : 1-10, AN-R¹R²COOH 和 Protein 摩尔比为 50-300 : 1。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein, 其特征在于该蒽人工免疫原 AN-L-Protein 可应用于: 通过免疫动物制备得到蒽特异性抗体, 该特异性抗体能用于现场检测水体、土壤及大气中痕量的蒽。

一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein

技术领域

[0001] 本发明属蒽的多克隆抗体领域,涉及一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein 及制备和用途。

背景技术

[0002] 多环芳烃 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) 指含有两个或两个以上苯环的碳氢化合物的统称,如萘、蒽、菲、荧蒽、苯并芘等。近年来,大量的海上石油开采、轮船运输及事故造成的溢油,工业、生活燃烧废气排放等使得多环芳烃等有机污染日益严重,大量调查研究表明,空气、土壤、水体及生物体等都受到了多环芳烃的污染。多环芳烃是最早发现且数量最多的致癌物,目前已经发现的致癌性多环芳烃及其衍生物已超过 400 种,占已被发现致癌物质总数的 1/3 以上。每年排放到大气中的多环芳烃约几十万吨,因其毒性、生物蓄积性和半挥发性以及在环境中的持久存在,已经受到国际科学界的广泛关注。1976 年美国环保局提出 129 种“优先控制污染物”中,多环芳烃类化合物就有 16 种;欧盟最新有害物质禁令中也列入了 16 种多环芳烃;1990 年我国提出的水中优先控制的 68 种污染物中,多环芳烃类化合物也占有 7 种。

[0003] 蒽是多环芳烃中较常见的物质,是工业上最重要的稠环芳烃。蒽为无色片状晶体;有蓝紫色荧光,熔点 216℃,沸点 340℃,相对密度 1.283(25/4℃);容易升华;不溶于水,难溶于乙醇和乙醚,易溶于热苯。蒽可用作发光材料(如在闪烁计数器中),特别是用于涂层(如用于吸收紫外光),用于制造蒽醌及染料等。也用作杀虫剂、杀菌剂、汽油阻凝剂等。人暴露于蒽的机会主要在蒽的生产和使用过程,通过吸入、食入和经皮吸收。工业品因含有菲、咔唑等杂质,毒性明显增大。对皮肤、粘膜有刺激性;易引起光感性皮炎。在环境中的迁移实验证明蒽很难被生物降解。目前对蒽的检测主要采用高效液相色谱和气相色谱等分析方法。这些方法虽然准确可靠,可是由于对样品的预处理复杂、耗时且需要大量溶剂萃取,并且在之后的检测过程中要用到精密昂贵的检测仪器而不适于普及推广使用,也不利于当环境污染事故发生在野外时的现场快速检测。因此寻求一种快速、简便、灵敏且经济实用的分析方法成为当前研究的主要方向。

[0004] 20 世纪 60 年代发展起来的免疫分析 (Immunoassay, IA) 是基于抗原与抗体的特异性、可逆性结合反应的分析技术。免疫反应涉及抗原与抗体分子间的立体化学、电荷、氢键和偶极间的综合作用,具有常规理化分析技术无可比拟的选择性和高灵敏度,非常适宜于复杂基质中痕量组分的分析。因此,免疫分析具有特异性强、灵敏度高、方便快捷、分析容量大、检测成本低、安全可靠等优点,可以满足简单、快速、灵敏地检测环境激素的要求。

[0005] 目前国内未见关于免疫分析方法检测蒽的报道,国外有关蒽抗体的制备报道甚少。而合格的蒽抗原是免疫得到合格蒽抗体的前提,合格的蒽抗体是建立蒽免疫检测方法的关键。

发明内容

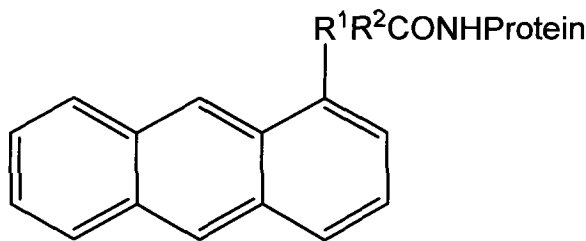
[0006] 要解决的技术问题

[0007] 本发明要解决的技术问题是提供一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein 及其制备方法,以克服现有检测技术中对蒽样品预处理复杂、耗时、且需要大量有机溶剂萃取,以及在检测过程中要用到精密昂贵的检测仪器而不适宜推广使用和不利于当环境污染事件发生在野外时的现场快速检测等缺点。

[0008] 技术方案

[0009] 本发明的一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein,结构式如下:

[0010]



[0011] 其中 Protein 为牛血清白蛋白 (BSA) 或鸡血清白蛋白 (OVA); $R^1 = C=O$ or CH_2 ; $R^2 = (CH_2)_n$, $n = 2, 3, 4$ 。

[0012] 本发明的一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein 的制备方法包括以下步骤:

[0013] (1) 将丁二酸或戊二酸或己二酸和氯化亚砷按摩尔比 1 : 0.1-1.0 反应,得丁二酸单酰氯或戊二酸单酰氯或己二酸单酰氯;

[0014] (2) 将 (1) 中所述的二酸单酰氯的一种或丁二酸酐与蒽按摩尔比 1 : 1-10 溶解于有机溶剂 I 如:二氯甲烷或氯仿或二氯乙烷中,并按二酸与无水三氯化铝摩尔比 1 : 1-3 投料无水三氯化铝,0-10℃搅拌反应 5-24h 后,转移入 0-5℃、5-30% 体积浓度的盐酸溶液终止反应,静置,分液收集有机溶剂 I 层,浓缩蒸馏除去有机溶剂 I 得固体,用 0.1-1.0mol/L 碳酸钾溶液中和,过滤除去未反应的蒽,向滤液中滴加 5-30% 体积浓度的盐酸酸化,用有机溶剂 II 如:乙酸乙酯或乙醚,萃取,分液,浓缩有机溶剂 II 层,得固体粉末,重结晶,干燥后得纯品:蒽人工免疫半抗原 AN-COR²COOH;

[0015] (3) 将上述 AN-COR²COOH, 氢氧化钾, 水合肼 (80%), 二甘醇按摩尔比 1 : 1-5 : 1-5 : 1-5 加进 100mL 四口烧瓶中,150℃回流反应 1-5h,接分水器,170℃反应 1-5h,拆走分水器,200℃回流反应 1-5h,将混合物冷却,倒入冰水中,滴加 5-30% 体积浓度的盐酸酸化,用乙酸乙酯,萃取,分液,浓缩乙酸乙酯层,即还原得白色粉末状固体:蒽人工免疫半抗原 AN-CH₂R²COOH;

[0016] (4) 将 (2) 或 (3) 中所述的蒽人工免疫半抗原 AN-R¹R²COOH 溶于有机溶剂 III 如: N,N-二甲基甲酰胺即 DMF 或二甲亚砜即 DMSO 中,再将 N-羟基琥珀酰亚胺即 NHS 和 N,N'-二环己基碳酰亚胺即 DCC 溶于有机溶剂 III 的溶液逐滴加入该 AN-R¹R²COOH 溶液中,冰浴中搅拌反应 12-48h,静置后取上清液加入到 pH = 6.5-8.2 磷酸盐缓冲液中,再加入 Protein, 0-4℃反应 6-16h,透析后离心分出上清液,即得蒽人工免疫原 AN-L-Protein,分装后 -20℃保存。

[0017] 根据本发明的一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein,其特征在于该蒽人工免疫原 AN-L-Protein 可应用于:通过免疫动物制备得到蒽特异性抗体,该特异性抗体能用于现场检测水体、土壤及大气中痕量的蒽。

[0018] 本发明所制备的蒽特异性抗体具有以下优点:

[0019] (1) 专一性强 :制备的抗体特异性好、效价高,以抗原抗体免疫反应为基础可用于样品的专一测定;此抗体及其制备方法为酶联免疫分析法测定环境中痕量的蒽提供保障,也为多环芳烃蒽快速检测试剂盒的研制解决了一大技术难点。

[0020] (2) 稳定性好 :本发明制备的蒽抗体具有较好的稳定性。

[0021] (3) 抗体制备技术简便可行 :抗体整个制备过程无需特殊仪器设备,成本低廉,容易工业化规模生产。

[0022] 具体实施方式

[0023] 实施例 1

[0024] (1) 蒽人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₂COOH 的合成

[0025] 将丁二酸酐、蒽和无水氯化铝按摩尔比 1 : 3 : 1 投料,溶解于有机溶剂 I 二氯甲烷,0℃搅拌反应 5h 后,转移入 0℃、10% 体积浓度的盐酸溶液终止反应,静置,分液收集有机溶剂 I 层,浓缩蒸馏除去有机溶剂 I 得红色固体,用 0.1mol/L 碳酸钾溶液中和,过滤除去未反应的蒽,向滤液中滴加 10% 体积浓度的盐酸酸化,用有机溶剂 II 乙酸乙酯萃取,分液,浓缩乙酸乙酯层,得黄色固体粉末,重结晶,干燥后得纯品 :蒽人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₂COOH ;

[0026] (2) 蒽人工免疫原 AN-L-BSA 的合成

[0027] 将上述蒽人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₂COOH 溶于有机溶剂 III N,N-二甲基甲酰胺即 DMF 中,再将 N-羟基琥珀酰亚胺即 NHS 和 N,N'-二环己基碳酰亚胺即 DCC 溶于有机溶剂 III 的溶液逐滴加入该半抗原溶液中,冰浴中搅拌反应 12h,静置后取上清液加入到 pH = 7.4 磷酸盐缓冲液中,再加入 BSA(投料比为半抗原 : 蛋白质 = 100 : 1),4℃反应 12h,透析后离心分出上清液,即得蒽人工免疫原 AN-L-BSA,分装后 -20℃保存。

[0028] (3) 应用

[0029] 一种蒽人工免疫原 AN-L-Protein,其特征在于该蒽人工免疫原 AN-L-Protein 可应用于,通过免疫动物制备得到蒽特异性抗体,该特异性抗体能用于现场检测水体、土壤及大气中痕量的蒽。

[0030] 实施例 2

[0031] (1) 蒽人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₂COOH 的合成

[0032] 将丁二酸单酰氯、蒽和无水氯化铝按摩尔比 1 : 3 : 3 投料,溶解于有机溶剂 I 氯仿,5℃搅拌反应 7h 后,转移入 5℃、15% 体积浓度的盐酸溶液终止反应,静置,分液收集有机溶剂 I 层,浓缩蒸馏除去有机溶剂 I 得固体,用 0.2mol/L 碳酸钾溶液中和,过滤除去未反应的蒽,向滤液中滴加 15% 体积浓度的盐酸酸化,用有机溶剂 II 乙酸乙酯萃取,分液,浓缩乙酸乙酯层,得固体粉末,重结晶,干燥后得纯品 :蒽人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₂COOH ;

[0033] (2) 蒽人工免疫原 AN-L-OVA 的合成

[0034] 将上述蒽人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₂COOH 溶于有机溶剂 III N,N-二甲基甲酰胺即 DMF 中,再将 N-羟基琥珀酰亚胺即 NHS 和 N,N'-二环己基碳酰亚胺即 DCC 溶于有机溶剂 III 的溶液逐滴加入该半抗原溶液中,冰浴中搅拌反应 12h,静置后取上清液加入到 pH = 7.4 磷酸盐缓冲液中,再加入 OVA(投料比为半抗原 : 蛋白质 = 50 : 1),4℃反应 12h,透析后离心分出上清液,即得蒽人工免疫原 AN-L-OVA,分装后 -20℃保存。

[0035] (3) 应用

[0036] 同实施例 1

[0037] 实施例 3

[0038] (1) 葱人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₃COOH 的合成

[0039] 将戊二酸单酰氯、葱和无水氯化铝按摩尔比 1 : 5 : 3 投料, 溶解于有机溶剂 I 二氯乙烷, 5℃ 搅拌反应 10h 后, 转移入 5℃、10% 体积浓度的盐酸溶液终止反应, 静置, 分液收集有机溶剂 I 层, 浓缩蒸馏除去有机溶剂 I 得固体, 用 0.5mol/L 碳酸钾溶液中和, 过滤除去未反应的葱, 向滤液中滴加 10% 体积浓度的盐酸酸化, 用有机溶剂 II 乙酸乙酯萃取, 分液, 浓缩乙酸乙酯层, 得固体粉末, 重结晶, 干燥后得纯品: 葱人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₃COOH;

[0040] (2) 葱人工免疫原 AN-L-BSA 的合成

[0041] 将上述葱人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₃COOH 溶于有机溶剂 III N, N- 二甲基甲酰胺即 DMF 中, 再将 N- 羟基琥珀酰亚胺即 NHS 和 N, N'- 二环己基碳酰亚胺即 DCC 溶于有机溶剂 III 的溶液逐滴加入该半抗原溶液中, 冰浴中搅拌反应 12h, 静置后取上清液加入到 pH = 7.4 磷酸盐缓冲液中, 再加入 BSA (投料比为半抗原: 蛋白质 = 200 : 1), 4℃ 反应 12h, 透析后离心分出上清液, 即得葱人工免疫原 AN-L-BSA, 分装后 -20℃ 保存。

[0042] (3) 应用

[0043] 同实施例 1

[0044] 实施例 4

[0045] (1) 葱人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₄COOH 的合成

[0046] 将己二酸单酰氯、葱和无水氯化铝按摩尔比 1 : 10 : 3 投料, 溶解于有机溶剂 I 二氯甲烷, 0℃ 搅拌反应 15h 后, 转移入 7℃、20% 体积浓度的盐酸溶液终止反应, 静置, 分液收集有机溶剂 I 层, 浓缩蒸馏除去有机溶剂 I 得固体, 用 0.8mol/L 碳酸钾溶液中和, 过滤除去未反应的葱, 向滤液中滴加 20% 体积浓度的盐酸酸化, 用有机溶剂 II 乙醚萃取, 分液, 浓缩乙酸乙酯层, 得固体粉末, 重结晶, 干燥后得纯品: 葱人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₄COOH;

[0047] (2) 葱人工免疫原 AN-L-OVA 的合成

[0048] 将上述葱人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₄COOH 溶于有机溶剂 III 二甲亚砜即 DMSO 中, 再将 N- 羟基琥珀酰亚胺即 NHS 和 N, N'- 二环己基碳酰亚胺即 DCC 溶于有机溶剂 III 的溶液逐滴加入该半抗原溶液中, 冰浴中搅拌反应 12h, 静置后取上清液加入到 pH = 7.4 磷酸盐缓冲液中, 再加入 OVA (投料比为半抗原: 蛋白质 = 130 : 1), 4℃ 反应 12h, 透析后离心分出上清液, 即得葱人工免疫原 AN-L-OVA, 分装后 -20℃ 保存。

[0049] (3) 应用

[0050] 同实施例 1

[0051] 实施例 5

[0052] (1) 葱人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₂COOH 的合成

[0053] 将丁二酸酐、葱和无水氯化铝按摩尔比 1 : 8 : 3 投料, 溶解于有机溶剂 I 氯仿, 0℃ 搅拌反应 24h 后, 转移入 0℃、30% 体积浓度的盐酸溶液终止反应, 静置, 分液收集有机溶剂 I 层, 浓缩蒸馏除去有机溶剂 I 得固体, 用 1.0mol/L 碳酸钾溶液中和, 过滤除去未反应的葱, 向滤液中滴加 30% 体积浓度的盐酸酸化, 用有机溶剂 II 乙醚萃取, 分液, 浓缩乙醚层, 得固体粉末, 重结晶, 干燥后得纯品: 葱人工免疫半抗原 AN-CO(CH₂)₂COOH;

[0054] (2) 葱人工免疫半抗原 AN-CH₂(CH₂)₂COOH 的合成

[0055] 将上述 AN-CO(CH₂)₂COOH, 氢氧化钾, 水合肼 (80 %), 二甘醇按摩尔比 1 : 2 : 2 : 2 加进 100mL 四口烧瓶中, 150℃回流反应 2h, 接分水器, 170℃反应 2h, 拆走分水器, 200℃回流反应 2h, 将混合物冷却, 倒入冰水中, 滴加 5-30% 体积浓度的盐酸酸化, 用乙酸乙酯, 萃取, 分液, 浓缩乙酸乙酯层, 即还原得白色粉末状固体: 葱人工免疫半抗原 AN-CH₂(CH₂)₂COOH;

[0056] (3) 葱人工免疫原 AN-L-OVA 的合成

[0057] 将上述 AN-CH₂(CH₂)₂COOH 溶于有机溶剂 III N, N-二甲基甲酰胺即 DMF 中, 再将 N-羟基琥珀酰亚胺即 NHS 和 N, N'-二环己基碳酰亚胺即 DCC 溶于有机溶剂 III 的溶液逐滴加入该半抗原溶液中, 冰浴中搅拌反应 12h, 静置后取上清液加入到 pH = 7.4 磷酸盐缓冲液中, 再加入 OVA (投料比为半抗原: 蛋白质 = 300 : 1), 4℃反应 12h, 透析后离心分出上清液, 即得葱人工免疫原 AN-L-OVA, 分装后 -20℃保存。

[0058] (4) 应用

[0059] 同实施例 1

[0060] 实施例 6

[0061] (1) 葱人工免疫半抗原 AN-CH₂(CH₂)₄COOH 的合成

[0062] 将 AN-CO(CH₂)₄COOH, 氢氧化钾, 水合肼 (80 %), 二甘醇按摩尔比 1 : 1 : 1 : 1 加进 100mL 四口烧瓶中, 150℃回流反应 1h, 接分水器, 170℃反应 1h, 拆走分水器, 200℃回流反应 1h, 将混合物冷却, 倒入冰水中, 滴加 5-30% 体积浓度的盐酸酸化, 用乙酸乙酯, 萃取, 分液, 浓缩乙酸乙酯层, 即还原得白色粉末状固体: 葱人工免疫半抗原 AN-CH₂(CH₂)₄COOH;

[0063] (2) 葱人工免疫原 AN-L-BSA 的合成

[0064] 将上述葱人工免疫半抗原 AN-CH₂(CH₂)₄COOH 溶于有机溶剂 III 二甲亚砜即 DMSO 中, 再将 N-羟基琥珀酰亚胺即 NHS 和 N, N'-二环己基碳酰亚胺即 DCC 溶于有机溶剂 III 的溶液逐滴加入该半抗原溶液中, 冰浴中搅拌反应 20h, 静置后取上清液加入到 pH = 7.4 磷酸盐缓冲液中, 再加入 BSA (投料比为半抗原: 蛋白质 = 270 : 1), 4℃反应 14h, 透析后离心分出上清液, 即得葱人工免疫原 AN-L-BSA, 分装后 -20℃保存。

[0065] (3) 应用

[0066] 同实施例 1

[0067] 实施例 7

[0068] (1) 葱人工免疫半抗原 AN-CH₂(CH₂)₃COOH 的合成

[0069] 将 AN-CO(CH₂)₃COOH, 氢氧化钾, 水合肼 (80 %), 二甘醇按摩尔比 1 : 5 : 5 : 5 加进 100mL 四口烧瓶中, 150℃回流反应 5h, 接分水器, 170℃反应 5h, 拆走分水器, 200℃回流反应 5h, 将混合物冷却, 倒入冰水中, 滴加 10% 体积浓度的盐酸酸化, 用乙酸乙酯, 萃取, 分液, 浓缩乙酸乙酯层, 即还原得白色粉末状固体: 葱人工免疫半抗原 AN-CH₂(CH₂)₃COOH;

[0070] (2) 葱人工免疫原 AN-L-OVA 的合成

[0071] 将上述葱人工免疫半抗原 AN-CH₂(CH₂)₃COOH 溶于有机溶剂 III 二甲亚砜即 DMSO 中, 再将 N-羟基琥珀酰亚胺即 NHS 和 N, N'-二环己基碳酰亚胺即 DCC 溶于有机溶剂 III 的溶液逐滴加入该半抗原溶液中, 冰浴中搅拌反应 20h, 静置后取上清液加入到 pH = 7.4 磷酸盐缓冲液中, 再加入 OVA (投料比为半抗原: 蛋白质 = 270 : 1), 4℃反应 14h, 透析后离心

分出上清液,即得葱人工免疫原 AN-L-OVA,分装后 -20℃保存。

[0072] (3) 应用

[0073] 同实施例 1

专利名称(译)	一种蒽人工免疫原AN-L-Protein		
公开(公告)号	CN101987869A	公开(公告)日	2011-03-23
申请号	CN201010265703.9	申请日	2010-08-30
[标]申请(专利权)人(译)	南京工业大学		
申请(专利权)人(译)	南京工业大学		
当前申请(专利权)人(译)	南京工业大学		
[标]发明人	刘晓宁 李壹 李方实 魏荣卿 陈洪岩		
发明人	刘晓宁 李壹 李方实 魏荣卿 陈洪岩		
IPC分类号	C07K14/765 C07K16/44 G01N33/53		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种蒽人工免疫原AN-L-Protein的制备和用途，结构式如下。
 即(1)将二酞酐或二酞酐单酞酐、蒽和无水三氯化铝反应得到固体粉末蒽人工免疫半抗原AN-RCOOH；(2)将N-羟基琥珀酰亚胺和N，N'-二环己基碳酰亚胺的溶液与蒽人工免疫半抗原AN-RCOOH、蛋白质Protein反应12-16h，得蒽人工免疫原AN-L-Protein。该蒽人工免疫原AN-L-Protein通过免疫动物制备成蒽特异性抗体，可用于现场检测水体、土壤和大气中痕量的蒽。式中Protein为牛血清白蛋白(BSA)或鸡血清白蛋白(OVA)；
 $R_1 = C=O$ or CH_2 ； $R_2 = (CH_2)_n$ ， $n = 2, 3, 4$ 。

