



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101445556 B

(45) 授权公告日 2011.05.18

(21) 申请号 200810037474.8

医学报》. 2006, 第 26 卷 (第 2 期), 200-203.

(22) 申请日 2008.05.15

审查员 樊颖

(73) 专利权人 上海水产大学

地址 200090 上海市杨浦区军工路 334 号

(72) 发明人 杨先乐 胡鲲 黄宣运 方伟

钱科蕾 姜有声 邱军强

(74) 专利代理机构 上海智力专利商标事务所

31105

代理人 瞿承达

(51) Int. Cl.

C07K 14/765(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

(56) 对比文件

ZHOU Yu等. Synthesis and Identification of the Antigens for Ciprofloxacin. 《中国兽

权利要求书 1 页 说明书 2 页

(54) 发明名称

一种环丙沙星免疫原的制备方法

(57) 摘要

一种环丙沙星免疫原的制备方法。本发明的环丙沙星免疫原的制备方法的特征在于通过下列方法制得:先将牛血清蛋白、环丙沙星、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐以摩尔比为 1:503:10433 的比例一一加入到磷酸缓冲液中,在室温下反应 2 小时,接着将反应后的液体装入透析袋内,再放入 1L 磷酸缓冲液中透析 48 小时,每 24 小时换液一次,最后收集透析袋内的液体,在 -20℃ 预冷冻 2 小时,然后在 -50℃ 下冷冻干燥,制成环丙沙星免疫原白色固体粉末。本发明使制备过程简化,制备环丙沙星免疫原的时间缩短,生产效率提高 37.5% 左右,并且,也降低了生产成本,有利于普及推广应用。

1. 一种环丙沙星免疫原的制备方法,其特征在于通过下列方法制得:先将牛血清蛋白、环丙沙星、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐以摩尔比为1:503:10433的比例一一加入到磷酸缓冲液中,在室温下反应2小时,接着将反应后的液体装入透析袋内,再放入1L磷酸缓冲液中透析48小时,每24小时换液一次,最后收集透析袋内的液体,在-20℃预冷冻2小时,然后在-50℃下冷冻干燥,制成环丙沙星免疫原白色固体粉末。

2. 根据权利要求1所述的一种环丙沙星免疫原的制备方法,其特征在于所述的磷酸缓冲液是PH为5.0,含量为0.01mol/L的磷酸缓冲液。

3. 根据权利要求1所述的一种环丙沙星免疫原的制备方法,其特征在于所述的透析袋是半周长为22mm,截留分子量为14000的透析袋。

## 一种环丙沙星免疫原的制备方法

### 技术领域：

[0001] 本实用新型涉及一种环丙沙星免疫原，特别是涉及一种环丙沙星免疫原的制备方法。

### 背景技术：

[0002] 环丙沙星免疫原的制备通常要实施合成环丙沙星免疫原过程，然而，在合成环丙沙星免疫原过程中，现有的方法一般分两个步骤进行偶联合成，所化费的时间需要 80 小时左右，这样，会使得合成环丙沙星免疫原过程延长，造成生产效率降低，产品成本增加，同时，对后续使用成本也随着提高，另外，其偶联比率一般仅在 2-6 左右。

### 发明内容：

[0003] 本发明的目的是要提供一种改进的环丙沙星免疫原的制备方法，它不但能有效地制得环丙沙星免疫原，而且，操作过程简单，生产效率高。

[0004] 为了达到上述的目的本发明是这样实现的：本发明的一种环丙沙星免疫原的制备方法操作如下，先将牛血清蛋白、环丙沙星、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐以摩尔比为 1 : 503 : 10433 的比例一一加入到磷酸缓冲液中，在室温下反应 2 小时，接着将反应后的液体装入透析袋内，再放入 1L 磷酸缓冲液中透析 48 小时，每 24 小时换液一次，最后收集透析袋内的液体，在 -20℃ 预冷冻 2 小时，然后在 -50℃ 下冷冻干燥，制成环丙沙星免疫原白色固体粉末。

[0005] 所述的磷酸缓冲液是 PH 为 5.0，含量为 0.01mol/L 的磷酸缓冲液。

[0006] 所述的透析袋是半周长为 22mm，截留分子量为 14000 的透析袋。

[0007] 由于本发明改进了现有的环丙沙星免疫原的制备方法，在合成环丙沙星免疫原过程中，本发明采用碳二亚胺一步法，使用本发明的方法，合成过程只需要 50 小时左右，这样使制备过程得到了简化，大大节约了制备环丙沙星免疫原的时间，提高了生产效率，其效率可提高 37.5% 左右，并且，也降低了生产成本，另外，本发明制备的免疫原的偶联比率在 25-36 之间，由此，为对提高环丙沙星药物残留酶联免疫检测方法的准确度和灵敏度有了可靠的保障，并且，还有利于普及推广应用。

### 具体实施方式：

[0008] 以下将对本发明的一种环丙沙星免疫原的制备方法作进一步的详细描述。

[0009] 具体步骤如下：

[0010] 1、称取 8.5g 的氯化钠、2.85g 磷酸氢二钠、0.2g 氯化钾、0.27g 磷酸二氢钾加入 950ml 的蒸馏水，滴加盐酸调节 PH(酸碱度)至 5.0，再加入 50ml 的蒸馏水，配置成 1000ml，浓度为 0.01mol/L 的磷酸缓冲液；

[0011] 2、在 5ml 的离心管中依次加入牛血清蛋白 8mg(0.12 μmol)、环丙沙星 20mg(60.4 μmol)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐 240mg(1251.9 μmol)，

再加入 4mL 的磷酸缓冲液 (PH 为 5.0, 含量为 0.01mol/L), 在室温下反应 2 小时;

[0012] 3、将反应好的液体装入透析袋 (半周长 22mm, 截留分子量 14000) 内, 再放入装有 1L 磷酸缓冲液 (PH 为 5.0, 含量为 0.01mol/L) 的烧杯中, 透析 48 小时, 每 24 小时换液一次;

[0013] 4、将透析好的液体, 在  $-20^{\circ}\text{C}$  预冷冻 2 小时, 然后在  $-50^{\circ}\text{C}$  下冷冻干燥, 制得免疫原白色固体粉末。

专利名称(译)	一种环丙沙星免疫原的制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN101445556B</a>	公开(公告)日	2011-05-18
申请号	CN200810037474.8	申请日	2008-05-15
[标]申请(专利权)人(译)	上海水产大学		
申请(专利权)人(译)	上海水产大学		
当前申请(专利权)人(译)	上海水产大学		
[标]发明人	杨先乐 胡鲲 黄宣运 方伟 钱科蕾 姜有声 邱军强		
发明人	杨先乐 胡鲲 黄宣运 方伟 钱科蕾 姜有声 邱军强		
IPC分类号	C07K14/765 G01N33/53		
审查员(译)	樊颖		
其他公开文献	CN101445556A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

一种环丙沙星免疫原的制备方法。本发明的环丙沙星免疫原的制备方法的特征在于通过下列方法制得：先将牛血清蛋白、环丙沙星、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐以摩尔比为1:503:10433的比例一一加入到磷酸缓冲液中，在室温下反应2小时，接着将反应后的液体装入透析袋内，再放入1L磷酸缓冲液中透析48小时，每24小时换液一次，最后收集透析袋内的液体，在-20℃预冷冻2小时，然后在-50℃下冷冻干燥，制成环丙沙星免疫原白色固体粉末。本发明使制备过程简化，制备环丙沙星免疫原的时间缩短，生产效率提高37.5%左右，并且，也降低了生产成本，有利于普及推广应用。