



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105906522 A

(43)申请公布日 2016.08.31

(21)申请号 201610280030.1

C07K 16/44(2006.01)

(22)申请日 2016.04.29

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

(71)申请人 北京维德维康生物技术有限公司

地址 100085 北京市海淀区北清路156号中关村环保科技示范园地锦路9号院3号楼

(72)发明人 秦誉 丁亚芳 李延山 张秀芹

吴雨洋 王照鹏 杨柳 李向梅

聂丽 贾良曦

(51) Int. Cl.

C07C 231/02(2006.01)

C07C 233/09(2006.01)

C07K 14/765(2006.01)

C07K 14/77(2006.01)

C07K 14/795(2006.01)

C07K 14/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图2页

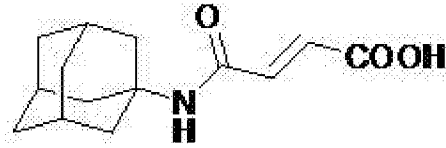
(54)发明名称

一种金刚烷胺人工抗原及其制备方法与应用

(57)摘要

本发明公开了一种金刚烷胺半抗原和相应的人工抗原,同时本发明也公开了所述金刚烷胺半抗原和相应的人工抗原的制备方法及其应用。本发明提供的金刚烷胺半抗原是式1所示产物,用式1所示产物与载体蛋白连接可以得到金刚烷胺抗原。所述金刚烷胺抗原可应用于制备金刚烷胺特异性抗体。本发明制备方法简便可行、成本较低,半抗原产率较高。本发明的金刚烷胺人工抗原,通过免疫动物可产生了针对金刚烷胺的特异性抗体,可用于制备检测金刚烷胺残留的酶联免疫检测试剂盒,具有简单、快速、处理样品量大、灵敏度高、特异性强等诸多优点。

1. 一种金刚烷胺半抗原, 为式1所示产物:



式1。

2. 根据权利要求1所述的式1所示产物的制备方法, 包括如下步骤: 0.94g 金刚烷胺盐酸盐溶于30ml 无水吡啶, 加入马来酸酐0.49g, 溶解后, 加入4-二甲氨基吡啶10mg, 70℃回流反应3h, 旋蒸除去吡啶, 加去离子水10ml, 冰醋酸调pH5.0, 析出大量沉淀, 过滤, 水洗沉淀, 干燥后得半抗原。

3. 一种金刚烷胺抗原, 是将式1所示产物和载体蛋白偶联得到的偶联物。

4. 根据权利要求3所述的金刚烷胺抗原, 其特征在于, 所述载体蛋白包括牛血清白蛋白, 卵清蛋白, 人血清白蛋白, 鼠血清白蛋白, 甲状腺蛋白或血蓝蛋白。

5. 权利要求3所述金刚烷胺抗原的制备方法, 包括如下步骤: 称取5.57mg 半抗原溶于1ml DMF, 加入EDC 4.3mg, NHS 5.2mg, 室温搅拌反应2h; 50mg BSA溶于5ml 0.1M 碳酸氢钠缓冲液, 将上述活化药物逐滴加入到蛋白溶液中, 室温搅拌过夜, PBS 4℃透析72小时, 期间换透析液6次; 将透析液在无菌条件下过0.22 μm 孔径的滤膜, 分装于安培瓶中, -20℃保存, 同法制备包被原。

6. 权利要求3所述金刚烷胺抗原在制备金刚烷胺特异性抗体中的应用。

7. 应用权利要求3所述金刚烷胺抗原制备得到的特异性抗体。

8. 权利要求1所述产物、权利要求3所述金刚烷胺抗原、权利要求7所述抗体在检测金刚烷胺中的应用。

9. 应用权利要求1所述产物、权利要求3所述金刚烷胺抗原、权利要求7所述特异性抗体制备得到的酶联免疫检测试剂盒。

10. 权利要求9所述酶联免疫检测试剂盒, 其特征在于, 它包括: 包被有金刚烷胺抗原的酶标板、酶标抗体工作液、金刚烷胺系列标准品、底物显色液、终止液、浓缩复溶液、浓缩洗涤液。

一种金刚烷胺人工抗原及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明属于食品安全检测技术领域,具体涉及一种金刚烷胺半抗原、抗原制备方法及其应用。

背景技术

[0002] 金刚烷胺(Amantadine, 1-adamantanamine)合成于1960年,又称金刚胺、三环癸胺,它是1-金刚胺或1-氨基金刚烷的有机化合物,意味着它的结构组成是一个金刚烷主链和四个次甲基位中有一个取代氨基。为白色结晶性粉末,味苦,易溶于水或乙醇。主要用于由甲型流感病毒所致的呼吸道感染的预防以及用于甲型流感病毒感染患者的治疗,美国于亚洲感冒流行的1966年批准其作为预防药,并于1976年在预防药的基础上确认其为治疗药,此外也用于帕金森综合征;其抗病毒谱较窄,对A型流感病毒有明显抑制作用,用药后可明显降低死亡率。2005年,报道称,中国家禽农户已经使用金刚烷胺来保护禽类抗禽流感,那时起,中国政府监管机构已经禁止它作为兽药使用。

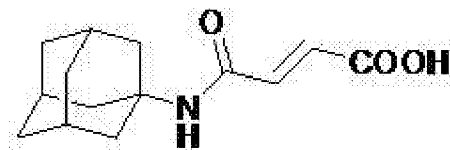
[0003] 金刚烷胺对成年患者的疗效及安全性已得到广泛认同。但治疗剂量与产生副作用的剂量很接近,对高龄者及有慢性心肺疾病或肾脏疾病者的剂量和给药计划很难确定,因此尚未在临床上推广应用。在日本,金刚烷胺一直作为帕金森病的治疗药,直到1998年才被批准用于流感病毒A型感染性疾病的治疗。常见不良反应有中枢神经系统和胃肠道反应,表现为头晕目眩、注意力不集中、头痛、失眠、焦虑和食欲减退、恶心等,停药后不良反应立即消失,少见的不良反应有便秘、口鼻干燥等。农业部2005年发出《关于清查金刚烷胺等抗病毒药物的紧急通知》,明确要求金刚烷胺、金刚乙胺等立即停止生产、经营和使用,违者按生产、经营假兽药和使用禁用兽药处理。因此,为确保动物源性食品的安全和对外出口贸易的发展,建立准确可靠,灵敏度高的定性定量方法是十分必要的。

[0004] 国外现已开发出检测金刚烷胺的酶联免疫试剂盒,但是国内生产的试剂盒在准确性、灵敏度、特异性等方面还不能完全达到检测的要求。本发明公开的金刚烷胺半抗原、抗原为进一步研制金刚烷胺抗体及金刚烷胺酶联免疫试剂盒提供了原料。金刚烷胺酶联免疫反应试剂盒利用竞争性酶联免疫反应原理,对组织(牛肉、鸡肉和猪肉)和其他样品中金刚烷胺的残留进行定量检测。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种金刚烷胺半抗原、抗原制备方法及其应用。

[0006] 本发明提供的金刚烷胺半抗原,是式1所示化合物:



式1。

[0007] 本发明还公开了式1所示产物的制备方法,包括如下步骤:

0.94g金刚烷胺盐酸盐溶于30ml无水吡啶,加入马来酸酐0.49g,溶解后,加入4-二甲氨基吡啶10mg,70℃回流反应3h,旋蒸除去吡啶,加去离子水10ml,冰醋酸调pH5.0,析出大量沉淀,过滤,水洗沉淀,干燥后得半抗原。

[0008] 本发明提供的金刚烷胺抗原,是将式1所示产物和载体蛋白偶联得到的偶联物。

[0009] 本发明还保护所述金刚烷胺抗原的制备方法,包括如下步骤:

称取5.57mg半抗原溶于1ml DMF,加入EDC 4.3mg,NHS 5.2mg,室温搅拌反应2h;50mg BSA溶于5ml 0.1M碳酸氢钠缓冲液,将上述活化药物逐滴加入到蛋白溶液中,室温搅拌过夜,PBS 4度透析72小时,期间换透析液6次。将透析液在无菌条件下过0.22 μm孔径的滤膜,分装于安培瓶中,-20度保存。

[0010] 同法制备包被原。

[0011] 常用载体蛋白均可采用,包括牛血清白蛋白(BSA),卵清蛋白(OVA),人血清白蛋白(HSA),鼠血清白蛋白(MSA),甲状腺蛋白(TG)或血蓝蛋白(KLH)等。

[0012] 所述金刚烷胺抗原可以作为免疫原免疫动物制备金刚烷胺特异性抗体,也可以作为包被原制备酶标板。

[0013] 所述抗体具体可为单克隆抗体。

[0014] 式1所示产物、所述金刚烷胺抗原、所述抗体均可应用于检测金刚烷胺。

[0015] 本发明还公布了应用金刚烷胺抗原和金刚烷胺单克隆抗体制备得到的酶联免疫试剂盒。

[0016] 所述酶联免疫检测试剂盒,是由包被有金刚烷胺抗原的酶标板、酶标抗体工作液、金刚烷胺系列标准品、底物显色液、终止液、浓缩复溶液、浓缩洗涤液。

[0017] 本发明依靠免疫学、免疫化学基本原理和残留分析技术手段,设计、合成小分子目标分析物半抗原,并与载体蛋白偶联,制备有效人工抗原。本发明制备方法简便可行、成本较低,半抗原产率较高。本发明的金刚烷胺人工抗原,通过免疫动物可产生了针对金刚烷胺的特异性抗体,用于快速检测食品中的金刚烷胺残留。

附图说明

[0018] 图1为金刚烷胺半抗原的质谱检测结果。

[0019] 图2为BSA的MALDI-TOF-MAS图。

[0020] 图3为金刚烷胺抗原“金刚烷胺半抗原+BSA”的MALDI-TOF-MAS图。

[0021] 图4为金刚烷胺酶联免疫检测试剂盒标准曲线。

具体实施方式

[0022] 以下的实施例便于更好地理解本发明,但并不限定本发明。下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。下述实施例中所用的试验材料,如无特殊说明,均为自常规生化试剂商店购买得到的。

[0023] 实施例1、金刚烷胺半抗原的制备

一、金刚烷胺半抗原的制备

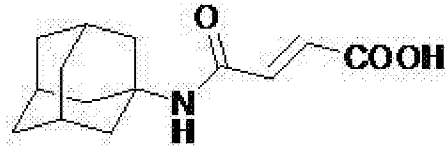
0.94g金刚烷胺盐酸盐溶于30ml无水吡啶,加入马来酸酐0.49g,溶解后,加入4-二甲氨基吡啶10mg,70℃回流反应3h,旋蒸除去吡啶,加去离子水10ml,冰醋酸调pH5.0,析出大量

沉淀,过滤,水洗沉淀,干燥后得半抗原。

[0024] 二、金刚烷胺半抗原的鉴定

对所得产品进行质谱鉴定, $-MS:M-1=248.7$ (图1)。

[0025] 结果显示其化学结构式如式1所示,即为金刚烷胺半抗原。



[0026] 式1。

[0027] 实施例2、金刚烷胺人工抗原的制备和鉴定

一、金刚烷胺免疫抗原的合成

称取5.57mg半抗原溶于1ml DMF,加入EDC 4.3mg,NHS 5.2mg,室温搅拌反应2h; 50mg BSA溶于5ml 0.1M碳酸氢钠缓冲液,将上述活化药物逐滴加入到蛋白溶液中,室温搅拌过夜,PBS 4度透析72小时,期间换透析液6次。将透析液在无菌条件下过0.22 μm 孔径的滤膜,分装于安培瓶中,-20度保存。

[0028] 同法制备包被原。

[0029] 二、金刚烷胺人工抗原的鉴定

免疫原MALDI-TOF-MS鉴定结果显示偶联比为: $R=(AMD-MH-BSA)-(BSA)/249.7=(73828.009-67485.901)/249.7=25.40$ (图2和图3)。即免疫原中,所述金刚烷胺半抗原(式1)与牛血清白蛋白(BSA)偶联的摩尔比为25.40:1。

[0030] 实施例3、酶标单抗的制备和特异性鉴定

一、金刚烷胺单抗的制备

1、用上述制备出的免疫原按100 μg /只,以生理盐水溶解免疫原与弗氏完全佐剂等体积混匀,颈背部皮下注射免疫6~8周龄Ba1b/c雌鼠,初次免疫后第7、14、28天以免疫原与弗氏不完全佐剂等体积混匀,各追加免疫一次,融合前3天以免疫复合物100 μg /只,不加弗氏佐剂再追加免疫一次。

[0031] 2、按常规方法进行,取免疫小鼠的脾细胞与处于对数生长期的小鼠骨髓瘤细胞(SP2/0)混合,然后在45s内缓慢加入预热的融合剂(PEG4000)进行融合,用HAT培养基悬浮均匀,再加入适量的饲养细胞,培养于96孔培养板,于37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱中培养,5天后用HT培养基半换液,9天时候进行全换液。

[0032] 3、细胞融合后,待细胞长到培养孔面积的1/4时,采用分步筛选法筛选杂交瘤细胞。初选采用间接ELISA方法,以包被抗原(预先用方阵法常规滴定其最佳包被浓度和阳性血清稀释度)包被酶标板,加入被测孔培养上清,孵育,清洗后加入羊抗鼠IgG-HRP和1gM-HRP,OPD进行显色反应。筛选出的阳性孔再用间接竞争ELISA方法筛选,先将细胞上清与100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的金刚烷胺等体积混合,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴作用30min,再加入到包被好的酶标板中。同时用PBS取代金刚烷胺作对照,其余步骤同上。若经金刚烷胺阻断后的OD_{450nm}值下降到对照孔的50%以下,则判为阳性,经2~3次检测都为阳性的孔,立即用有限稀释法进行亚克隆化。

[0033] 4、将2~3次亚克隆建株后的杂交瘤细胞扩大培养,收集上清液用间接ELISA测定效价,冻存;并取8~10周龄Ba1b/c小鼠腹腔注射液体石蜡0.5mL/只,7~10日后腹腔注射杂交瘤细胞1~2 $\times 10^6$ /只,7~10日后抽取小鼠腹水,离心取上清,测定效价,并冻存储用。

[0034] 二、酶标抗体的制备

1、称取辣根过氧化物酶(HRP)2 mg溶解于0.5 mL水中,加入0.5 mL 0.06 mol/L NaIO₄溶液,4℃避光作用30 min;

2、加入160 mmol/L的乙二醇0.5mL,室温作用30 min;

3、加入步骤一制备的金刚烷胺单抗2 mg,混匀后装入处理过的透析袋中,置1000 mL的0.05 mmol/L碳酸钠缓冲液中透析,4℃过夜;

4、透析液吸至10 mL的离心管中,加0.25mL 5g/L的NaBH₄溶液,混匀后置4℃2 h;

5、加入等体积的饱和硫酸铵溶液,4℃作用30 min后4℃下3000 r/min离心25 min,弃上清;

6、将沉淀溶于1.5 mL0.02 mol/L pH 7.4的PBS中,吸入透析袋内,在0.02mol/L pH 7.4 PBS透析,4℃过夜(中途更换PBS 3次);

7、将透析袋中液体吸至微量离心管中,4℃下10000r/min离心30min,将上清液吸出,加等量甘油,混匀,-20℃保存备用。

[0035] 三、酶标金刚烷胺抗体效价的测定

金刚烷胺标准品购自Sigma公司。

[0036] 用方阵滴定法确定金刚烷胺包被抗原和步骤一制备的单抗的工作浓度,金刚烷胺包被抗原的工作浓度为2.5μg/mL,单克隆抗体的工作浓度为1:60000。

[0037] 用不同浓度的金刚烷胺标准品溶液做实验溶液,其浓度如下:0、0.5、1.5、4.5、13.5、40.5μg/L。采用8组平行试验(n=8)。

[0038] 竞争性ELISA方法:

(1)用上述工作浓度的金刚烷胺抗原包被酶标板,将金刚烷胺标准品实验溶液与酶标抗体溶液同时加入酶标板微孔中,同时设置空白孔(将添加的抗体溶液换成高纯水,其它一致)和阴性对照孔(将标准品实验溶液用PBS溶液代替,其它一致),25℃避光环境中反应30min;

(2)倒出孔内液体,用洗涤液洗涤3~5次,将酶标板倒置在吸水纸上拍干;

(3)加入底物显色溶液到酶标板微孔中,25℃避光环境中反应15min;

(4)加入终止液,轻轻振荡混匀,用酶标仪在波长450nm处测定OD值。

[0039] 以OD值为纵坐标,以金刚烷胺实验溶液浓度的log₁₀值为横坐标,绘制半对数标准曲线图。标准曲线具有完整的反S形状,并具有上平台和下平台,标准曲线的平行测定次数8次,实验重复性良好,相对标准偏差(变异系数)均在10%以内。

[0040] 根据标准曲线得出半数抑制量(IC₅₀),确定检测灵敏度。

[0041] 抑制率用以下式计算:

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{(\text{OD}_{\text{max}} - \text{OD}_{\text{min}}) \cdot (\text{OD}_x - \text{OD}_{\text{min}})}{(\text{OD}_{\text{max}} - \text{OD}_{\text{min}})^2} \times 100\%$$

式中:OD_{max}:为不加标准品时的吸光值,OD_x为标准品x时的吸光值,OD_{min}为空白对照孔的吸光值。

[0042] 由上述公式计算得金刚烷胺抗体在缓冲液中的半数抑制量(IC₅₀)为1.3μg/L。

[0043] 实施例4、检测金刚烷胺的酶联免疫试剂盒及其制备

一、酶联免疫试剂盒由下述物质组成:

- 1、包被金刚烷胺半抗原的酶标板；
- 2、酶标金刚烷胺抗体工作液：实施例3中所述酶标抗体溶液；
- 3、金刚烷胺标准品：金刚烷胺标准品溶液浓度分别为0、0.5、1.5、4.5、13.5、40.5 $\mu\text{g/L}$ ；
- 4、底物显色液：由A液和B液组成，A液为2%过氧化脲的水溶液，B液为1%四甲基联苯胺(TMB)的水溶液；

5、终止液：0.2M硫酸水溶液；

6、浓缩洗涤液：每1升所述洗涤液是按照如下方法配制得到的：将10mL吐温-20、5g叠氮化钠和990mL磷酸盐缓冲液混合，得到所述洗涤液；所述磷酸盐缓冲液的浓度为0.01M pH值为7.4；

二、包被有AMD-OVA的酶标板及其制备

包被AMD-OVA的聚苯乙烯酶标板：用0.05M的碳酸盐溶液将抗原稀释至2.5 $\mu\text{g/mL}$ ，包被96孔聚苯乙烯酶标板，每孔100 μL ，37 $^{\circ}\text{C}$ 温育2h，倾去包被液，用洗涤液洗涤3次，每次10s，拍干，然后在每孔中加入150 μL 封闭液，37 $^{\circ}\text{C}$ 温育2h，倾去孔内液体，干燥后用铝膜真空密封保存。

[0044] 包被缓冲液：pH9.6，0.05mol/L的碳酸钠缓冲液；

封闭液：每1升封闭液按照如下方法配制：将5mL马血清、1g叠氮化钠、30g酪蛋白混合，用磷酸盐缓冲液溶解并定容至1000mL，得到封闭液；其中，磷酸盐缓冲液的浓度为0.02M，pH值为7.2。

[0045] 三、试剂盒检测方法

(一)样品前处理

鸡肉、猪肉、鸭肉、鸡蛋(稀释系数：2)

- 1、准确称取 2 ± 0.01 g均质后的样品于50 mL离心管中；
- 2、加入1 mL 1% 乙酸溶液、7mL乙腈，剧烈涡动3 min；
- 3、室温(25 ± 2 $^{\circ}\text{C}$)下4000 g 离心5min；
- 4、取2 mL上清液于干净离心管中；
- 5、60-70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气吹干；
- 6、加入0.5mL 样品稀释液，剧烈涡动30 s；
- 7、取200 μL 上清液于新的离心管中，加入200 μL 样品稀释液，剧烈涡动30 s；
- 8、取50 μL 进行检测。

[0046] (二)用试剂盒检测

1、标准曲线的制作

向包被有AMD-OVA的酶标板微孔中加入金刚烷胺标准品溶液50 μL ，然后加入酶标抗体工作液50 μL /孔，轻轻振荡混合均匀，用盖板膜盖板后置25 $^{\circ}\text{C}$ 避光环境中反应30min。小心揭开盖板膜，将孔内液体甩干，加入洗涤工作液250mL/孔，充分洗涤4~5次，每次间隔10s，泼掉板孔内洗涤液，用吸水纸拍干。加入底物A液50 μL /孔、底物B液50 μL /孔，轻轻振荡混匀，25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱避光显色15min，每孔加入终止液50 μL ，轻轻振荡混匀，用酶标仪，测定每孔吸光度值。

[0047] 用每个浓度的标准品溶液的吸光度平均值除以第一个标准品溶液(0标准)的吸光度值(B_0)再乘以100%，得到百分吸光度值。以金刚烷胺标准品浓度($\mu\text{g/L}$)的半对数值为X

轴,百分吸光度值为Y轴,绘制标准曲线图。得到的标准曲线如图4所示。

[0048] 百分吸光度值($\%$) $= (B/B_0) \times 100\%$

2、样品中金刚烷胺浓度的测定

用每个检测样本溶液的吸光度平均值(B)除以第一个标准品溶液(0标准)的吸光度值(B_0)再乘以100%,得到百分吸光度值。相对应每一个检测样本溶液的百分吸光度值,则可从标准曲线上读出检测样本溶液的吸光度值,再根据标准品溶液的浓度值换算出样本溶液中金刚烷胺的残留量,最后再乘以各样品前处理过程的稀释倍数,即可计算出样品中金刚烷胺的浓度。

[0049] 四、试剂盒检测效果评价

(一)准确度和精密度试验

向不含金刚烷胺的鸡肉样品中添加金刚烷胺标准品,使金刚烷胺标准品在样品中的终浓度分别为1、2、4 $\mu\text{g/L}$;将添加后的样品分别按照实验三中所述方法进行前处理,得到检测样本溶液。

[0050] 从三个不同批次的试剂盒中各抽取3个试剂盒进行检测,检测方法如实验三中所述,每个实验重复5次,分别计算变异系数。结果分别见表1。

[0051] 表1准确度和精密度试验结果

样品	添加浓度 ($\mu\text{g/L}$)								
	1			2			4		
	平均回收率	批内变异系数	批间变异系数	平均回收率	批内变异系数	批间变异系数	平均回收率	批内变异系数	批间变异系数
鸡	88.7	11.6	10.1	93.9	13.6	9.9	91.3	11.0	9.8
肉	96.9	7.3		91.2	9.1		97.3	6.4	
	86.9	9.4		92.6	7.9		95.1	12.5	

批内变异系数:同一次测定中各平行样本的变异系数。

[0052] 批间变异系数:同一样本在不同批次测定结果的变异系数,取其平均值。

[0053] 结果表明:鸡肉样品的平均添加回收率在86.9~97.3%,批内变异系数在6.4~13.6%,批间变异系数在9.8~10.1%。

[0054] (二)试剂盒保存期

试剂盒保存条件为2~8 $^{\circ}\text{C}$,经过15个月的测定,试剂盒的最大吸光度值(0标准),50%抑制浓度、金刚烷胺添加实际测定值均在正常范围之内。考虑到运输和使用过程中,会有非正常保存条件出现,将试剂盒在37 $^{\circ}\text{C}$ 保存的条件下放置9天,进行加速老化实验,结果表明该试剂盒的各项指标完全符合要求。考虑到试剂盒冷冻情况发生,将试剂盒放入-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷冻9天,测定结果也表明试剂盒各项指标完全正常。从以上结果可得出试剂盒可以在2~8 $^{\circ}\text{C}$ 至少可以保存12个月以上。

[0055] (三)交叉反应率试验

选择与AMD结构或功能相似的其他药物进行交叉反应试验,通过各种药物的标准曲线分别得到其50%抑制浓度。用下式计算试剂盒对其它类似物的交叉反应率。与其他药物的交叉反应率越小,说明金刚烷胺酶联免疫检测试剂盒对金刚烷胺的检测特异性越好。结果见表2。

$$[0056] \quad \text{交叉反应率}(\%) = \frac{\text{引起 50\% 抑制的全部抗生素浓度}}{\text{引起 50\% 抑制的其他药物浓度}} \times 100\%$$

表2 金刚烷胺试剂盒交叉反应率

药物名称	交叉反应率 (%)
金刚烷胺	100.0
阿莫西林	<1
氯唑西林	<1
苯唑西林	<1
头孢噻吩	<1

试验结果表明,本发明试剂盒对金刚烷胺的交叉反应率为100%、阿莫西林、氯唑西林、苯唑西林、头孢噻吩的交叉反应率均小于1%,所以试剂盒对金刚烷胺的特异性好,即本发明试剂盒可以检测金刚烷胺。

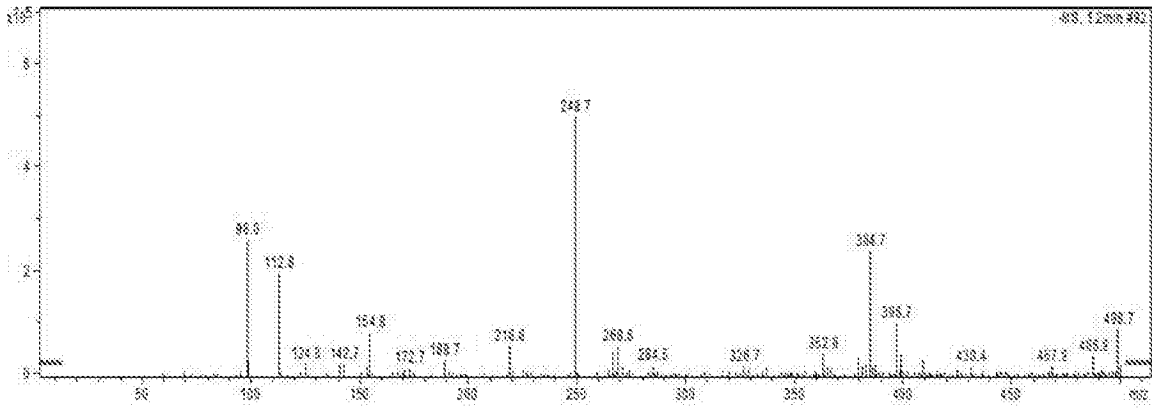


图1

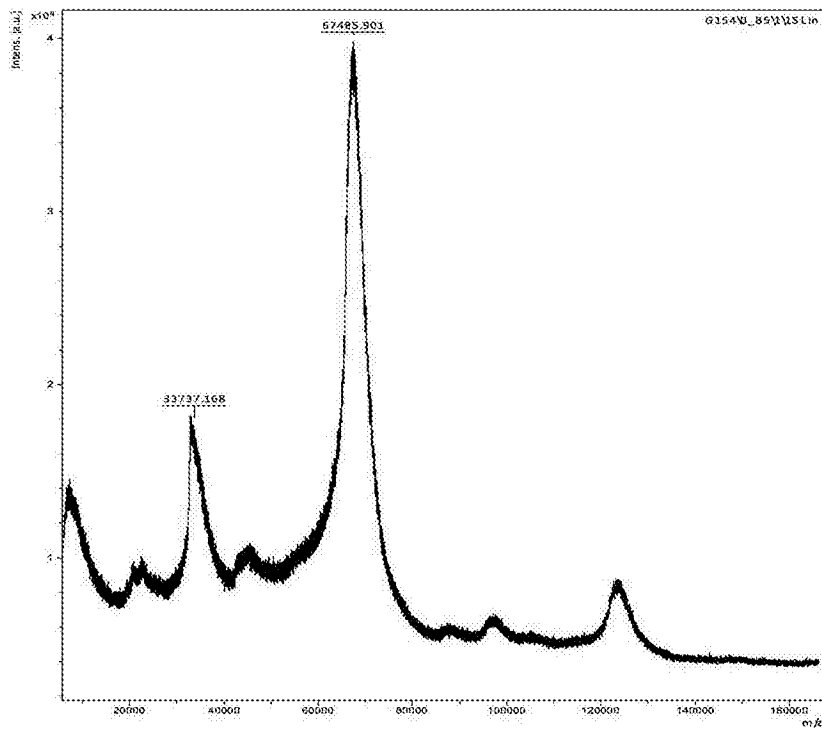


图2

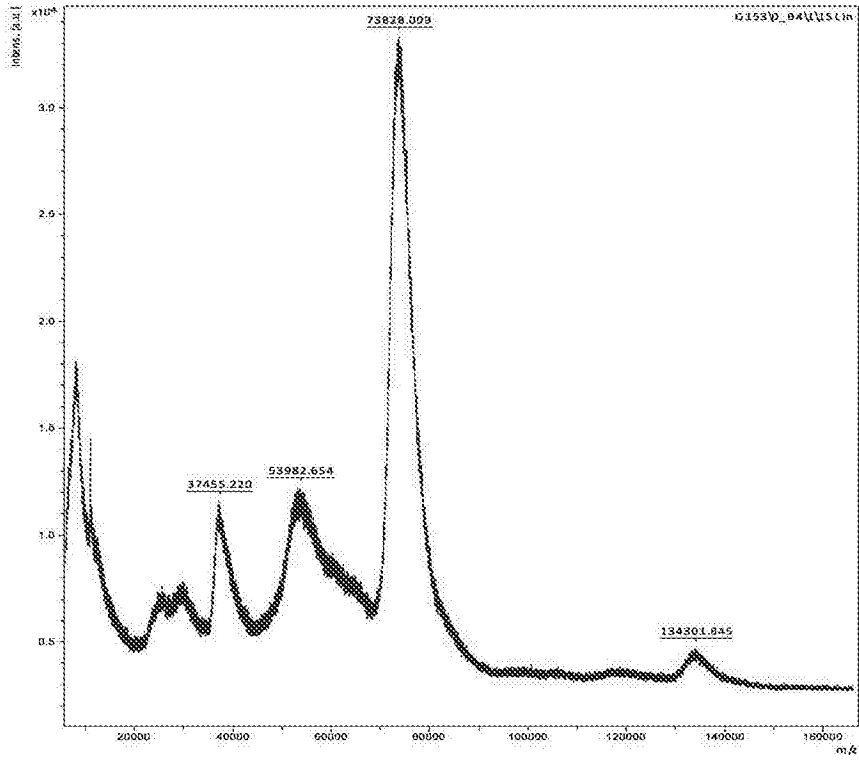


图3

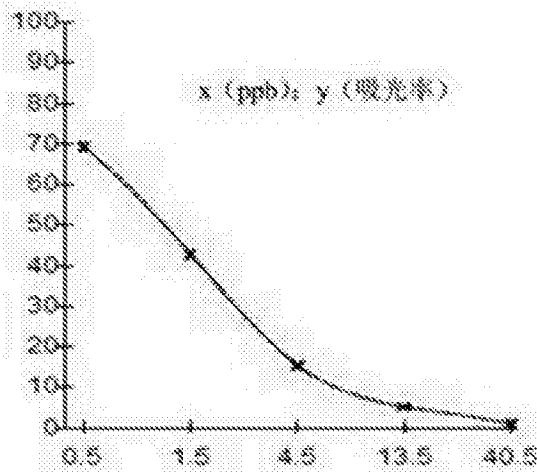


图4

专利名称(译)	一种金刚烷胺人工抗原及其制备方法与应用		
公开(公告)号	CN105906522A	公开(公告)日	2016-08-31
申请号	CN201610280030.1	申请日	2016-04-29
[标]申请(专利权)人(译)	北京维德维康生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京维德维康生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京维德维康生物技术有限公司		
[标]发明人	秦誉 丁亚芳 李延山 张秀芹 吴雨洋 王照鹏 杨柳 李向梅 聂丽 贾良曦		
发明人	秦誉 丁亚芳 李延山 张秀芹 吴雨洋 王照鹏 杨柳 李向梅 聂丽 贾良曦		
IPC分类号	C07C231/02 C07C233/09 C07K14/765 C07K14/77 C07K14/795 C07K14/00 C07K16/44 G01N33/53 G01N33/577		
CPC分类号	C07C231/02 C07C233/09 C07K14/00 C07K14/765 C07K14/77 C07K14/795 C07K16/44 G01N33/53 G01N33/577		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种金刚烷胺半抗原和相应的人工抗原，同时本发明也公开了所述金刚烷胺半抗原和相应的人工抗原的制备方法及其应用。本发明提供的金刚烷胺半抗原是式1所示产物，用式1所示产物与载体蛋白连接可以得到金刚烷胺抗原。所述金刚烷胺抗原可应用于制备金刚烷胺特异性抗体。本发明制备方法简便可行、成本较低，半抗原产率较高。本发明的金刚烷胺人工抗原，通过免疫动物可产生了针对金刚烷胺的特异性抗体，可用于制备检测金刚烷胺残留的酶联免疫检测试剂盒，具有简单、快速、处理样品量大、灵敏度高、特异性强等诸多优点。

