



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103487574 A

(43) 申请公布日 2014. 01. 01

(21) 申请号 201310485455. 2

(22) 申请日 2013. 10. 16

(71) 申请人 深圳市大爱医疗科技有限公司

地址 518000 广东省深圳市宝安区西乡固戍
社区茶西下围园工业区 B 栋 7 楼

(72) 发明人 张二盈 章国建

(74) 专利代理机构 深圳市精英专利事务所

44242

代理人 李新林

(51) Int. Cl.

G01N 33/533 (2006. 01)

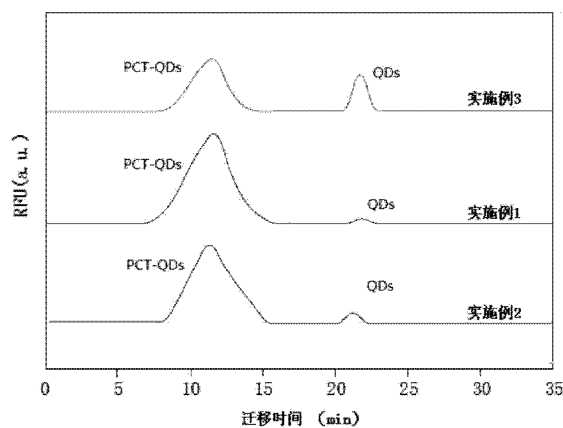
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

一种量子点标记免疫球蛋白的方法

(57) 摘要

本发明属于纳米生物技术领域,具体为一种量子点标记免疫球蛋白的方法,包括清洗量子点、活化、二次清洗量子点、清洗免疫球蛋白、偶联和分离步骤。本发明利用了水溶性量子点的结构特征和 EDC 活化羧基的反应特点,以及缩合反应的反应特点,通过优化各个步骤的条件,使量子点表面的羧基得到充分的活化并处于合适的标记环境中;通过优化偶联步骤的条件,使量子点通过缩合反应均能结合到免疫球蛋白的表面,标记效率高。通过排阻层析分离纯化经偶联步骤所得的反应液,可回收未反应的免疫球蛋白继续进行标记,提高免疫球蛋白的利用率,节约成本。由本发明制备的蛋白-量子点偶联物的活性高,并且操作及使用的设备简单,可工业化放大生产。



1. 一种量子点标记免疫球蛋白的方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1)清洗量子点:用 pH=7.2-7.5 的磷酸盐缓冲液清洗量子点至保存量子点的原缓冲液除去,并用 pH=7.2-7.5 的磷酸盐缓冲液保存量子点;所述量子点为羧基水溶性量子点;

(2)活化:向步骤(1)所得的量子点溶液中加入 EDC 和 NHS 并混合均匀,在 23-25℃ 下反应 50-70min 得活化量子点;所述 EDC、NHS 和量子点的物质的量之比为 20000-25000:5000:1;

(3)二次清洗量子点:用 pH=8.3-8.5 的硼酸盐缓冲液清洗步骤(2)所得活化量子点至 EDC、NHS 和磷酸盐缓冲液除去,并用 pH=8.3-8.5 硼酸盐缓冲液保存活化量子点,备用;

(4)清洗免疫球蛋白:用 pH=8.3-8.5 的硼酸盐缓冲液清洗免疫球蛋白并超滤浓缩除去免疫球蛋白原保存液中的 NaN_3 ,用 pH=8.3-8.5 硼酸盐缓冲液保存免疫球蛋白,备用;

(5)偶联:将步骤(3)所得活化量子点溶液与步骤(4)所得免疫球蛋白溶液混合均匀,在 23-25℃ 反应 5-7h 得反应液;活化量子点与免疫球蛋白的摩尔比为 1:8-10;

(6)分离:通过排阻层析分离步骤(5)的反应液得蛋白-量子点偶联物溶液和免疫球蛋白回收液;蛋白-量子点偶联物溶液经超滤浓缩后加入封闭液并在 4℃ 下保存;免疫球蛋白回收液经超滤浓缩后回收再利用。

2. 根据权利要求 1 所述一种量子点标记免疫球蛋白的方法,其特征在于,所述步骤(6)中浓缩后的蛋白-量子点偶联物溶液中还加入 NaN_3 ,使蛋白-量子点偶联物溶液中 NaN_3 的浓度为 0.01-0.05mg/mL。

3. 根据权利要求 1 所述一种量子点标记免疫球蛋白的方法,其特征在于,所述步骤(2)中,EDC、NHS 和量子点的摩尔比为 25000:5000:1。

4. 根据权利要求 1 所述一种量子点标记免疫球蛋白的方法,其特征在于,所述步骤(5)中,活化量子点与免疫球蛋白的摩尔比为 1:10。

5. 根据权利要求 4 所述一种量子点标记免疫球蛋白的方法,其特征在于,所述步骤(5)中,活化量子点的浓度为 $0.8 \mu\text{mol/L}$ 。

6. 根据权利要求 5 所述一种量子点标记免疫球蛋白的方法,其特征在于,所述步骤(5)中,活化量子点溶液与免疫球蛋白溶液混合后在不断摇动中反应。

7. 根据权利要求 1 所述一种量子点标记免疫球蛋白的方法,其特征在于,所述步骤(6)中,排阻层析柱的填料为 superdex200 或 Sephacryl300,流速为 1.5ml/min,柱长为 40-60cm。

8. 根据权利要求 1 所述一种量子点标记免疫球蛋白的方法,其特征在于,所述封闭液为 Gly 封闭液,Gly 的浓度为 1mg/mL,溶剂为 50mmol/L、pH=8.3-8.5 的硼酸盐缓冲液。

9. 根据权利要求 1 所述一种量子点标记免疫球蛋白的方法,其特征在于,所述羧基水溶性量子点为核壳型量子点或单一化合物形成的量子点。

10. 根据权利要求 9 所述一种量子点标记免疫球蛋白的方法,其特征在于,所述核壳型量子点为 ZnS/CdSe 或 ZnS/CdTe 形成的量子点;所述单一化合物为以下化合物中的任一种:第 IIIA 族元素和第 VA 族元素形成的化合物、第 IIA 族元素和第 VIA 族元素形成的化合物、第 IIB 族元素和第 VIA 族元素形成的化合物、第 IVA 族元素和第 IVA 族元素组成的化合物、第 IVA 族元素和第 VIA 族元素组成的化合物。

一种量子点标记免疫球蛋白的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及纳米生物技术领域,尤其涉及一种量子点标记免疫球蛋白的方法。

背景技术

[0002] 量子点(QDs)是一种由一定数量的实际原子组成的聚集体,且三维尺寸均小于100nm的半导体化合物。量子点具有发光强度高、激发光谱宽、发射光谱窄、荧光寿命长、表面修饰多功能化和稳定性好等众多优点,在荧光检测领域具有取代传统有机荧光染料的潜力,已成为新一代生物荧光标记物。在各种免疫实验中,通过在蛋白上标记荧光分子以达到跟踪蛋白和检测蛋白含量为目的的方法已经被广泛应用。

[0003] 2009年张国华等在《食品科学》(2009, Vol. 30, No. 12P254-257)发表了用水溶性量子点标记莱克多巴胺抗体的方法。申请号为201110451644.9的中国专利“一种定量检测人心肌钙蛋白I的荧光免疫层析方法及其试剂盒”和申请号200810048733.7的中国专利“一种检测乳腺癌石蜡包埋组织抗原的量子点免疫荧光试剂盒”,分别提出了类似的量子点标记免疫球蛋白的方法。但是,这些文献的中仅描述了量子点标记蛋白的基本原理,仅适用于实验室科研中量子点的研究,不适于工业化放大生产。此外,现有的量子点标记蛋白的方法存在标记后活性大幅降低、蛋白原料损失过大,标记效率低等问题。

发明内容

[0004] 本发明解决的技术问题是提供一种可放大工业化生产的量子点标记免疫球蛋白的方法,且解决了免疫球蛋白标记后活性大幅降低、免疫球蛋白损耗大、效率低和成本高的问题。

[0005] 为解决上述技术问题,本发明采用以下技术方案:一种量子点标记免疫球蛋白的方法,包括以下步骤:

[0006] (1)清洗量子点:用pH=7.2-7.5的磷酸盐缓冲液清洗量子点至保存量子点的原缓冲液完全除去,用pH=7.2-7.5的磷酸盐缓冲液保存量子点并超滤浓缩。

[0007] 所述pH=7.2-7.5的磷酸盐缓冲液的浓度为10mmol/L。

[0008] 所述超滤浓缩为在20-25℃和5000-7000r/min的条件下,用100K的超滤管离心6-8min。

[0009] 所述量子点为羧基水溶性量子点;所述羧基水溶性量子点为核壳型量子点或单一化合物形成的量子点。

[0010] 所述核壳型量子点为ZnS/CdSe或ZnS/CdTe形成的量子点。

[0011] 所述单一化合物为以下化合物中的任一种:第IIIA族元素和第VA族元素形成的化合物、第IIA族元素和第VIA族元素形成的化合物、第IIB族元素和第VIA族元素形成的化合物、第IVA族元素和第IVA族元素组成的化合物、第IVA族元素和第VIA族元素组成的化合物。具体地,所述单一化合物为GaSb、InAs、InP、InGaAs、InAlAs、MgSe、MgTe、CaS、CaSe、CaTe、SrS、SrSe、SrTe、BaS、BaSe、BaTe、ZnS、ZnSe、ZnTe、CdS、CdSe、CdTe、SiC、SiGe、

SiSe、SiTe 和 SiS 中的任一种。

[0012] (2)活化:按比例分别称取 EDC(1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐)和 NHS(N-羟基琥珀酰亚胺),并将 EDC 和 NHS 直接加入步骤(1)所得的量子点溶液中,用振荡器混合 5-8 次后在 23-25℃ 下反应 50-70min,得活化量子点;所述 EDC、NHS 和量子点的物质的量之比为(20000-25000):5000:1。优选地,EDC、NHS 和量子点的摩尔比为 25000:5000:1。优选地,在 0-4℃ 且空气湿度小于或等于 30% 的条件下称取 EDC 和 NHS,并将其迅速加入反应液中。更优选地,在 0-4℃ 的冰盒中称取 EDC 和 NHS。

[0013] (3)二次清洗量子点:用 pH=8.3-8.5 的硼酸盐缓冲液清洗步骤(2)所得活化量子点至 EDC、NHS 和磷酸盐缓冲液完全除去,用 pH=8.3-8.5 硼酸盐缓冲液保存活化量子点并超滤浓缩,备用。

[0014] 所述 pH=8.5 的硼酸盐缓冲液的浓度为 50mmol/L;所述超滤浓缩为在 20-25℃ 和 5000-7000r/min 的条件下,用 100K 的超滤管离心 6-8min。

[0015] (4)清洗免疫球蛋白:用 pH=8.3-8.5 的硼酸盐缓冲液清洗免疫球蛋白并超滤浓缩除去免疫球蛋白原保存液中的 NaN_3 ,用 pH=8.3-8.5 硼酸盐缓冲液保存免疫球蛋白,备用。

[0016] 所述 pH=8.3-8.5 的硼酸盐缓冲液的浓度为 50mmol/L;所述超滤浓缩为在 1-4℃ 和 3000-5000r/min 的条件下,用 50K 的超滤管离心 8-10min。

[0017] (5)偶联:将步骤(3)所得活化量子点溶液与步骤(4)所得免疫球蛋白溶液混合均匀,在 23-25℃ 及不断摇动下反应 5-7h,得蛋白-量子点偶联物反应液;活化量子点与免疫球蛋白的摩尔比为 1:8-10。优选地,活化量子点与免疫球蛋白的摩尔比为 1:10,活化量子点的浓度为 $0.8 \mu\text{mol/L}$ 。

[0018] (6)分离:通过排阻层析分离步骤(5)的反应液得蛋白-量子点偶联物溶液和免疫球蛋白回收液;蛋白-量子点偶联物溶液经超滤浓缩后加入封闭液并在 4℃ 下保存;免疫球蛋白回收液经超滤浓缩后回收再利用。排阻层析中使用的排阻层析柱的填料为 superdex200 或 Sephacryl300,流速为 1.5ml/min,柱长为 40-60cm。所述封闭液为 Gly 封闭液,Gly 的浓度为 1mg/mL,溶剂为 50mmol/L、pH=8.3-8.5 的硼酸盐缓冲液。

[0019] 步骤(6)中浓缩后的蛋白-量子点偶联物溶液中加入 NaN_3 ,使蛋白-量子点偶联物溶液中 NaN_3 的浓度为 0.01-0.05mg/mL,以使蛋白-量子点偶联物溶液可长期保存。

[0020] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:本发明利用了水溶性量子点的结构特征和 EDC 活化羧基的反应特点,以及缩合反应的反应特点,通过优化各个步骤的条件,使量子点表面的羧基得到充分的活化并处于合适的标记环境中;通过优化偶联步骤的条件,使量子点通过缩合反应均能结合到免疫球蛋白的表面,标记效率高。通过排阻层析分离纯化经偶联步骤所得的反应液,可回收未反应的免疫球蛋白继续进行标记,提高免疫球蛋白的利用率,节约成本。由本发明制备的蛋白-量子点偶联物的活性高,并且操作及使用的设备简单,可工业化放大生产。

附图说明

[0021] 图 1 为毛细管电泳鉴定实施例 1-3 的量子点标记效率;

[0022] 图 2 为实施例 2 制备的 PCT-QDs 放置不同时间后的荧光光谱图;

[0023] 图 3 为毛细管电泳鉴定实施例 5 的量子点标记效率。

具体实施方式

[0024] 为了更充分理解本发明的技术内容,下面结合具体实施例对本发明的技术方案作进一步介绍和说明。

[0025] 实施例 1

[0026] 选用荧光波长为 525nm 的 CdTe/ZnS 核壳型量子点标记降钙素原(Procalcitonin, PCT) 抗体。

[0027] (1)清洗量子点:取 10 μ L 8 μ mol/mL 的 CdTe/ZnS 核壳型量子点于 EP(eppendorf)管中,并向 EP 管中加入 2mL 10mmol/L, pH=7.2 磷酸盐缓冲液,混匀后用 100K 超滤管在 5000r/min, 25℃ 条件下离心 6min,回收量子点于 EP 管中。重复以上步骤三次,并使最后一次量子点溶液的总容积不超过 50 μ L。用微量 pH 计检测量子点溶液的 pH 并调节 pH 值至 7.2。

[0028] (2)活化:在湿度小于或等于 30% 及 0-4℃ 的冰盒中称取 2mmol 的 EDC 和 0.5mmol 的 NHS 并迅速加入经步骤(1)所得的量子点溶液中,用涡旋振荡器震荡均匀后置于摇床上反应 50min,反应温度为 23℃,得活化量子点溶液。

[0029] (3)二次清洗量子点:向步骤(2)的活化量子点溶液中加入 2mL 50mmol/L、pH=8.3 的硼酸盐缓冲液,混匀后用 100K 超滤管在 5000r/min、20℃ 条件下离心 6min,回收量子点于 EP 管中。重复以上步骤三次,使最后一次活化量子点溶液的总容积不超过 200 μ L。用微量 pH 计检测活化量子点溶液的 pH 并调节 pH 值至 8.3。

[0030] (4)清洗免疫球蛋白:取 0.8 μ mol 的 PCT 抗体于 EP 管中,加入 2mL 50mmol/L、pH=8.3 硼酸盐缓冲液,混匀后用 50K 超滤管在 3000r/min、1℃ 条件下离心 8min。重复以上步骤三次,使最后一次 PCT 抗体溶液总容积不超过 50 μ L。用微量 pH 计检测 PCT 抗体溶液的 pH 并调节 pH 值至 8.3。

[0031] (5)偶联:将步骤(3)的活化量子点溶液与步骤(4)的 PCT 抗体溶液混合,混匀后置于摇床上反应 5h,反应温度 23℃,得 PCT 抗体-QDs 反应液,PCT 抗体-QDs 简称 PCT-QDs。用毛细管电泳检测量子点和 PCT 抗体的偶联情况,如图 1 所示。

[0032] (6)分离:通过排阻层析分离步骤(5)的 PCT-QDs 反应液,得 PCT-QDs 溶液和 PCT 回收溶液。排阻层析柱的填料为 superdex200,流速为 1.5mL/min,凝胶长 40cm。

[0033] 用 100K 超滤管将 PCT-QDs 溶液超滤浓缩至 200 μ L 以内,测 PCT-QDs 溶液的浓度后向其加入 Gly (甘氨酸)浓度为 1mg/mL 的 Gly 封闭液,然后置于 4℃ 下保存;需长期保存时,还需向其中加入 NaN_3 ,使蛋白-量子点偶联物溶液中 NaN_3 的浓度为 0.05mg/mL,严禁冻存。将 PCT 回收液置于 EP 管中后,用 50K 超滤管在 3000r/min, 4℃ 条件下离心 10min,检测浓度后可再次用于相同量子点的标记。

[0034] Gly 封闭液的溶剂为 50mmol/L、pH=8.3-8.5 的硼酸盐缓冲液。

[0035] 实施例 2

[0036] (1)清洗量子点:取 10 μ L 8 μ mol/mL 的 CdTe/ZnS 核壳型量子点于 EP 管中,并向 EP 管中加入 2mL 10mmol/L, pH=7.5 磷酸盐缓冲液,混匀后用 100K 超滤管在 8000r/min, 25℃ 条件下离心 8min,回收量子点于 EP 管中。重复以上步骤三次,并使最后一次量子点溶液的总容积不超过 50 μ L。用微量 pH 计检测量子点溶液的 pH 并调节 pH 值至 7.5。

[0037] (2) 活化: 在湿度小于或等于 30% 及 0-4℃ 的冰盒中称取 2.5mmolEDC 和 0.5mmolNHS 并迅速加入经步骤(1)所得的量子点溶液中,用涡旋振荡器震荡均匀后置于摇床上反应 80min,反应温度为 25℃,得活化量子点溶液。

[0038] (3) 二次清洗量子点:向步骤(2)的活化量子点溶液中加入 2mL50mmol/L、pH=8.5 的硼酸盐缓冲液,混匀后用 100K 超滤管在 8000r/min、25℃条件下离心 8min,回收量子点于 EP 管中。重复以上步骤三次,使最后一次活化量子点溶液的总容积不超过 200 μ L。用微量 pH 计检测活化量子点溶液的 pH 并调节 pH 值至 8.5。

[0039] (4) 清洗免疫球蛋白:取 0.8 μ mol 的 PCT 抗体于 EP 管中,加入 2mL50mmol/L、pH=8.5 硼酸盐缓冲液,混匀后用 50K 超滤管在 5000r/min、4℃条件下离心 10min。重复以上步骤三次,使最后一次 PCT 抗体溶液总容积不超过 50 μ L。用微量 pH 计检测 PCT 抗体溶液的 pH 并调节 pH 值至 8.5。

[0040] (5) 偶联:将步骤(3)的活化量子点溶液与步骤(4)的 PCT 抗体溶液混合,混匀后置于摇床上反应 7h,反应温度 25℃,得 PCT 抗体-QDs 反应液,PCT 抗体-QDs 简称 PCT-QDs。用毛细管电泳检测量子点和 PCT 抗体的偶联情况,如图 1 所示。

[0041] (6) 分离:通过排阻层析分离步骤(5)的 PCT-QDs 反应液,得 PCT-QDs 溶液和 PCT 回收溶液。排阻层析柱的填料为 superdex200,流速为 1.5mL/min,凝胶长 60cm。

[0042] 用 100K 超滤管将 PCT-QDs 溶液超滤浓缩至 200 μ L 以内,测 PCT-QDs 溶液的浓度后向其加入 Gly 浓度为 1mg/mL 的 Gly 封闭液,然后置于 4℃下保存;长期保存时,还需向其中加入 NaN_3 ,使蛋白-量子点偶联物溶液中 NaN_3 的浓度为 0.05mg/mL,严禁冻存。将 PCT 回收液置于 EP 管中后,用 50K 超滤管在 3000r/min、4℃条件下离心 10min,测定浓度后可再次用于相同量子点的标记。

[0043] 实施例 3

[0044] 本实施与实施例 1 和 2 的不同之处在于:采用说明书中关键参数范围外的标记条件进行标记,标记效率显著下降。

[0045] (1) 清洗量子点:取 10 μ L,8 μ mol/mL 的 CdTe/ZnS 核壳型量子点于 EP 管中,并向 EP 管中加入 2mL,10mmol/L,pH=7.4 磷酸盐缓冲液,混匀后用 100K 超滤管在 7000r/min,25℃条件下离心 8min,回收量子点于 EP 管中。重复以上步骤三次,并使最后一次量子点溶液的总容积不超过 50 μ L。用微量 pH 计检测量子点溶液的 pH 并调节 pH 值至 7.5。

[0046] (2) 活化:在湿度小于或等于 30% 及 0-4℃ 的冰盒中称取 2.5mmolEDC 和 0.5mmolNHS 并迅速加入经步骤(1)所得的量子点溶液中,用涡旋振荡器震荡均匀后置于摇床上反应 80min,反应温度为 25℃,得活化量子点溶液。

[0047] (3) 偶联:将步骤(2)的活化量子点溶液与 PCT 抗体溶液混合,混匀后置于摇床上反应 7h,反应温度 23-25℃,得 PCT 抗体-QDs 反应液,PCT 抗体-QDs 简称 PCT-QDs。用毛细管电泳检测量子点与 PCT 抗体的偶联情况,如图 1 所示。

[0048] 实施例 4

[0049] 本实施与实施例 1 的不同之处在于:量子点选用荧光波长为 650nm 的 GaSb。

[0050] 实施例 5

[0051] 本实施与实施例 1 的不同之处在于:实施例 1 中的各物质的用量均放大 5000 倍。用毛细管电泳检测量子点与 PCT 抗体的偶联情况,如图 3 所示。

[0052] 验证实验：

[0053] 通过毛细管电泳鉴定实施例 1、2 和 3 制备的 PCT-QDs 的量子点标记效率,检测结果如图 1 所示。实施例 3 制备 PCT-QDs 的方法,QDs 的峰面积最大,明显大于实施例 1 和实施例 2 的峰面积。即实施例 1 和实施例 2 的方法制备 PCT-QDs,量子点与免疫球蛋白的标记率高;实施例 3 的方法制备 PCT-QDs,量子点残留量大。通过公式 $\text{PCT-QDs}/(\text{PCT-QDs}+\text{QDs})$ 计算实施例 1-3 的量子点标记效率,实施例 1 的标记效率为 98.4%,实施例 2 的标记效率为 97.7%,实施例 3 的标记效率为 81.2%。

[0054] 用荧光分光光度计分别检测实施例 1 制备的纯化后 PCT-QDs 在放置 5min、1h、24h、3d、10d 和 30d 时的荧光光谱,检测结果如图 2 所示,图中 1 为 QDs 的曲线;2 为 QDs-PCT, 5min 的曲线;3 为 QDs-PCT, 1h 的曲线;4 为 QDs-PCT, 3h 的曲线;5 为 QDs-PCT, 10d 的曲线;6 为 QDs-PCT, 30d 的曲线。放置不同时间段的 PCT-QDs 的荧光轻度峰值有降低的趋势,但变化很慢,表明所得 PCT-QDs 比较稳定。

[0055] 通过毛细管电泳鉴定实施例 5 放大 5000 倍制备的 PCT-QDs 的量子点标记效率,检测结果如图 3 所示,QDs 的峰面积较小。由此可见,即使放大 5000 倍进行制备,本方法仍然保持很高的标记效率。

[0056] 以上所述仅以实施例来进一步说明本发明的技术内容,以便于读者更容易理解,但不代表本发明的实施方式仅限于此,任何依本发明所做的技术延伸或再创造,均受本发明的保护。

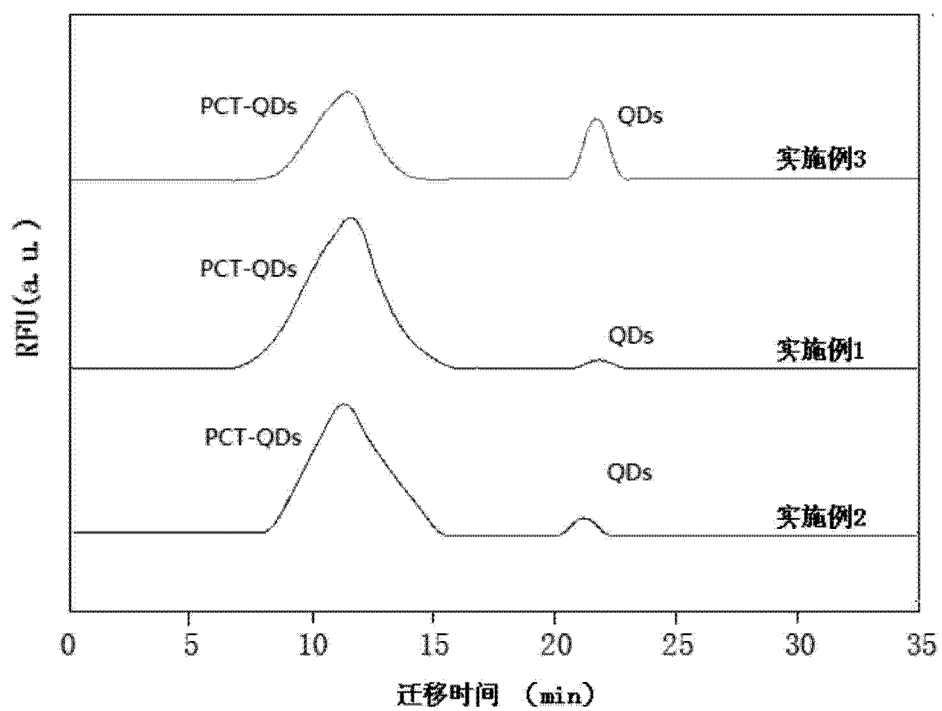


图 1

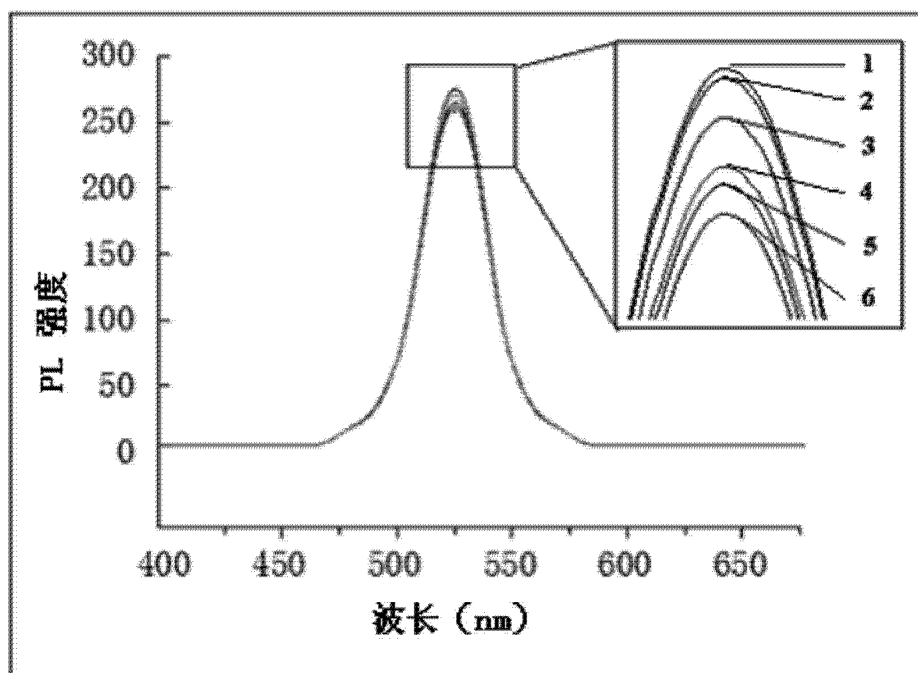


图 2

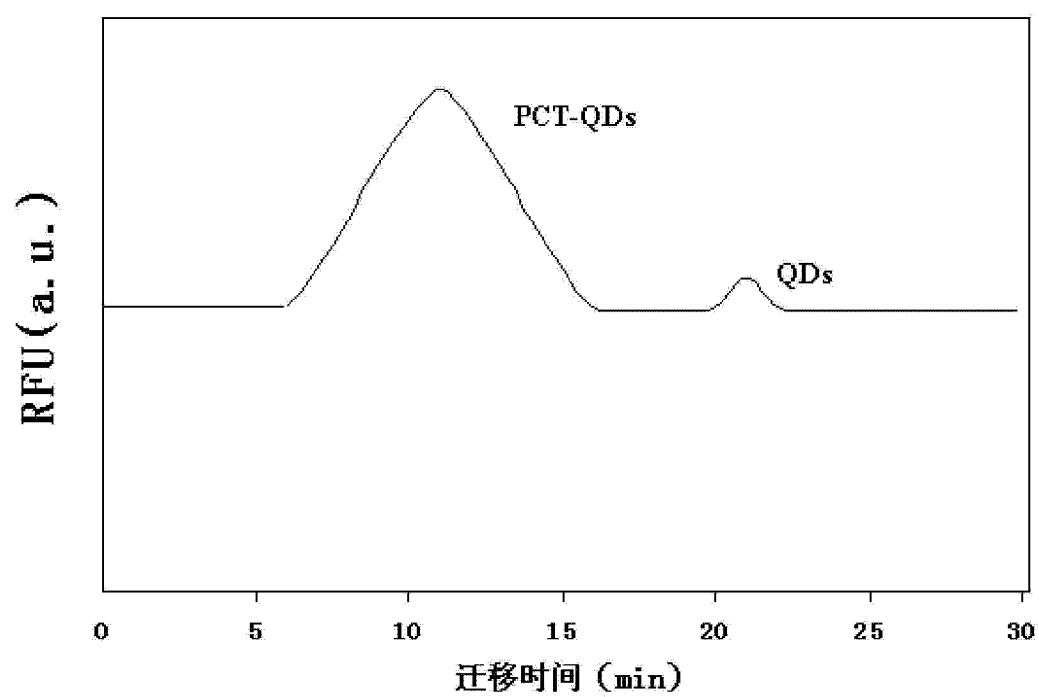


图 3

专利名称(译)	一种量子点标记免疫球蛋白的方法		
公开(公告)号	CN103487574A	公开(公告)日	2014-01-01
申请号	CN201310485455.2	申请日	2013-10-16
[标]申请(专利权)人(译)	深圳市大爱医疗科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	深圳市大爱医疗科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	深圳市大爱医疗科技有限公司		
[标]发明人	张二盈 章国建		
发明人	张二盈 章国建		
IPC分类号	G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533 A61K49/0067 C07K16/00 G01N33/588 G01N33/6854		
代理人(译)	李新林		
其他公开文献	CN103487574B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于纳米生物技术领域，具体为一种量子点标记免疫球蛋白的方法，包括清洗量子点、活化、二次清洗量子点、清洗免疫球蛋白、偶联和分离步骤。本发明利用了水溶性量子点的结构特征和EDC活化羧基的反应特点，以及缩合反应的反应特点，通过优化各个步骤的条件，使量子点表面的羧基得到充分的活化并处于合适的标记环境中；通过优化偶联步骤的条件，使量子点通过缩合反应均能结合到免疫球蛋白的表面，标记效率高。通过排阻层析分离纯化经偶联步骤所得的反应液，可回收未反应的免疫球蛋白继续进行标记，提高免疫球蛋白的利用率，节约成本。由本发明制备的蛋白-量子点偶联物的活性高，并且操作及使用的设备简单，可工业化放大生产。

