



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108287234 A

(43)申请公布日 2018.07.17

(21)申请号 201710173694.2

(22)申请日 2017.03.22

(71)申请人 广东顺德工业设计研究院(广东顺德创新设计研究院)

地址 528300 广东省佛山市顺德区北滘镇
广东工业设计城设计广场二期B2区三层

(72)发明人 柯长洪 刘华敏 李家玉

(74)专利代理机构 广州华进联合专利商标代理有限公司 44224

代理人 林青中 张春耀

(51)Int.Cl.

G01N 33/531(2006.01)

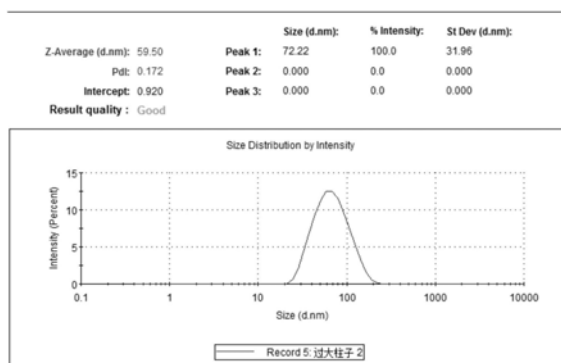
权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

纳米免疫磁珠及其制备方法和应用

(57)摘要

本发明公开了一种纳米免疫磁珠及其制备方法和应用。本发明的纳米免疫磁珠的制备方法可以制备50nm级别的葡聚糖包被 Fe_3O_4 和/或 $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ 的纳米免疫磁珠,得到的该纳米免疫磁珠的粒径小,并且粒径分布均匀,稳定性好,可以避免磁珠聚集和沉降。此外,通过合成得到的纳米免疫磁珠偶联抗体,可以保证每批磁珠表面抗体的量基本一致,可重复性好,分选出来阳性细胞纯度达到90%以上,杂质含量低,可广泛应用在细胞的特异性分选和分离过程中。该纳米免疫磁珠的制备方法快捷、简便,成本较低,可广泛应用。



1. 一种纳米免疫磁珠的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

步骤一:配制无氧反应溶液,所述无氧反应溶液中加入有葡聚糖、 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} ,其中, Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的浓度之和为 $0.03\text{mol/l} \sim 1\text{mol/l}$, Fe^{3+} 与 Fe^{2+} 的摩尔比为 $0.25:1 \sim 4:1$, Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的物质的量之和与葡聚糖的物质的量的比例为 $90:1 \sim 15:1$,所述葡聚糖为羟基葡聚糖或羧基葡聚糖;

步骤二:将所述无氧反应溶液在 50°C 下以 $500 \sim 1200\text{rpm/min}$ 搅拌反应 10min ,再加入氨水调节酸碱度至 pH 为 $9.0 \sim 11$,在 $50 \sim 100^\circ\text{C}$ 下继续搅拌反应 $30\text{min} \sim 2\text{h}$;

步骤三:反应结束后冷却至室温,离心去除溶液中较大的颗粒,收集的溶液用酸调节酸碱度至中性,然后用 $0.22\mu\text{m}$ 的亲水性滤膜过滤以进一步除杂,得到的滤液纯化后即得葡聚糖包被 Fe_3O_4 和/或 $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ 的所述纳米免疫磁珠。

2. 如权利要求1所述的纳米免疫磁珠的制备方法,其特征在于,所述葡聚糖的分子量为 $20\text{kDa} \sim 100\text{kDa}$ 。

3. 如权利要求1所述的纳米免疫磁珠的制备方法,其特征在于,所述葡聚糖的分子量为 20kDa 、 40kDa 或 100kDa 。

4. 如权利要求1所述的纳米免疫磁珠的制备方法,其特征在于, Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的浓度之和为 0.09mol/l 。

5. 如权利要求1所述的纳米免疫磁珠的制备方法,其特征在于, Fe^{3+} 与 Fe^{2+} 的摩尔比为 $2:1$ 。

6. 如权利要求1所述的纳米免疫磁珠的制备方法,其特征在于, Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的物质的量之和与葡聚糖的物质的量的比例为 $90:1$ 、 $45:1$ 、 $30:1$ 、 $18:1$ 或 $15:1$ 。

7. 如权利要求1所述的纳米免疫磁珠的制备方法,其特征在于,在所述步骤二中,是将所述无氧反应溶液在 50°C 下以 1000rpm/min 搅拌反应 10min 紧接着加入氨水调节酸碱度至 pH 为 10 ,在 70°C 下继续搅拌反应 1h 。

8. 如权利要求1所述的纳米免疫磁珠的制备方法,其特征在于,在所述步骤三中,所述离心的转速是 3000rpm ,时间是 5min 。

9. 一种纳米免疫磁珠,其特征在于,使用如权利要求1~8中任一项所述的纳米免疫磁珠的制备方法制备得到。

10. 如权利要求9所述的纳米免疫磁珠在细胞分选中的应用。

纳米免疫磁珠及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及细胞工程领域,尤其是涉及一种纳米免疫磁珠及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 细胞分选在临床诊断、细胞免疫治疗等方面具有非常重要的作用。临床诊断方面,例如:胎儿细胞分离以判断胎儿是否有遗传缺陷;癌细胞分离以实现癌症的早期诊断和治疗;造血干细胞移植,可作为恶性肿瘤大剂量放疗、化疗后造血支持治疗的主要措施。细胞免疫治疗方面,如从患者外周血单个核细胞中分离出免疫细胞,在体外采用细胞因子将其激活成为细胞因子诱导的杀伤性细胞,如DC-CIK细胞,或是采用基因工程技术给T细胞加入一个能识别肿瘤细胞并且同时激活T细胞的嵌合抗体使其在体外大量扩增后重新输回体内,从而杀死具有相应特异性抗原的肿瘤细胞,如CAR-T细胞等。

[0003] 细胞分选方法主要有两大类:一类是基于细胞群之间存在沉降系数的差异而建立起来的密度梯度离心法(Density gradient centrifugation);另一类是基于免疫识别特性的方法,包括荧光激活细胞分选方法(Fluorescence-activated cell sorting,FACS)和磁性激活细胞分选法(亦称为磁珠分选法,Magnetic-activated cell separation,MACS)。密度梯度离心法简单易行,但分离得到的细胞纯度低,且细胞表面的标志不明确,特异性较差,因此,目前已较少使用此种方法。流式细胞分选所得的细胞纯度高、回收率高、不易被污染,但此方法所需的设备昂贵、耗时、对细胞刺激较大,且需要高水平的技术支持以及专业的操作人员。此外,该方法在一段时间内只能分选一个细胞样品。

[0004] 磁珠分选法是20世纪70年代发展起来的一种优异的细胞分选技术。其涉及的免疫磁珠是一种包被有单克隆抗体的磁性颗粒,可与靶细胞表面的抗原结合。在外加磁场中,通过抗体与磁珠相连的靶细胞被吸附而滞留在分选柱中,无该种表面抗原的细胞由于不能与磁珠连接而没有磁性,不能在磁场中停留,从而达到细胞富集纯化的目的。目前商品化的用于细胞分选的磁珠产品主要包括德国美天旎(Miltenyi)纳米级葡聚糖包覆的超顺磁性磁珠和美国戴诺(Dynal)微米级聚苯乙烯磁珠。而相对于戴诺微米级聚苯乙烯磁珠而言,美天旎的50nm左右的磁珠具有以下优势:1、磁珠与细胞结合后,无需将磁珠解离下来,且对细胞生理和活性无任何影响;2、葡聚糖包裹的纳米磁珠可降解、生物相容性好,对细胞无任何毒性;3、附着有小磁珠的靶细胞可进行流式分析而不受太大影响,对后续实验无影响;4、分选出来的靶细胞纯度高,可避免其他非特异细胞的干扰。

[0005] 虽然美天旎的50nm磁珠性能较好,但是价格昂贵,国内的研究机构和企业基本依靠国外进口,这也让中小企业望而却步。虽然国内也陆续开发用于细胞分析、蛋白纯化的磁珠,但是这些磁珠粒径主要分布在微米级,而且包裹层主要集中在有机和无机物质,所得到磁珠的生物相容性和可降解性比较差,很难应用于生物体内。而有些包被的糖类物质是采用两步法包裹,首先是采用共沉淀法合成纳米裸磁珠,再在表面用葡聚糖进行包裹,这样就会使得得到的纳米粒子容易聚集,分散性比较差,如申请号为CN200710176211的专利申请中提到的方法;而采用一步法葡聚糖包裹的纳米粒子,虽得到的稳定性较好,但是在基团修

饰过程中用到溴化氰,然而溴化氰有剧毒也限制了其应用(如Clonis YD,Small DAP.High-performance dye-ligand Chromatograph.In Reactive in Protein and Enzyme Technology (M).London:Macmillan Press,1987.87-100)。

发明内容

[0006] 基于此,有必要提供一种粒径较小、稳定性好且制备方法简便的纳米免疫磁珠及其制备方法和应用。

[0007] 本发明解决上述技术问题的技术方案如下。

[0008] 一种纳米免疫磁珠的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

[0009] 步骤一:配制无氧反应溶液,所述无氧反应溶液中加入有葡聚糖、 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} ,其中, Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的浓度之和为 $0.03\text{mol/l} \sim 1\text{mol/l}$, Fe^{3+} 与 Fe^{2+} 的摩尔比为 $0.25:1 \sim 4:1$, Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的物质的量之和与葡聚糖的物质的量的比例为 $90:1 \sim 15:1$,所述葡聚糖为羟基葡聚糖或羧基葡聚糖;

[0010] 步骤二:将所述无氧反应溶液在 50°C 下以 $500 \sim 1200\text{rpm/min}$ 搅拌反应 10min ,再加入氨水调节酸碱度至 pH 为 $9.0 \sim 11$,在 $50 \sim 100^\circ\text{C}$ 下继续搅拌反应 $30\text{min} \sim 2\text{h}$;

[0011] 步骤三:反应结束后冷却至室温,离心去除溶液中较大的颗粒,收集的溶液用酸调节酸碱度至中性,然后用 $0.22\mu\text{m}$ 的亲水性滤膜过滤以进一步除杂,得到的滤液纯化后即得葡聚糖包被 Fe_3O_4 和/或 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 的所述纳米免疫磁珠。

[0012] 在步骤一配置溶液时,可先向溶剂中通过氮气除氧,后续制备过程选择在无氧条件下,如氮气或惰性气体氛围中进行反应。

[0013] 在其中一个实施例中,所述葡聚糖的分子量为 $20\text{kDa} \sim 100\text{kDa}$ 。

[0014] 进一步,在其中一个实施例中,所述葡聚糖的分子量为 20kDa 、 40kDa 或 100kDa 。

[0015] 在其中一个实施例中, Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的浓度之和为 0.09mol/l 。

[0016] 在其中一个实施例中, Fe^{3+} 与 Fe^{2+} 的摩尔比为 $2:1$ 。

[0017] 在其中一个实施例中, Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的物质的量之和与葡聚糖的物质的量的比例为 $90:1$ 、 $45:1$ 、 $30:1$ 、 $18:1$ 或 $15:1$ 。进一步,在其中一个实施例中, Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的物质的量之和与葡聚糖的物质的量的比例为 $45:1$ 。

[0018] 在其中一个实施例中,在所述步骤二中,是将所述无氧反应溶液在 50°C 下以 1000rpm/min 搅拌反应 10min ,再加入氨水调节酸碱度至 pH 为 10 ,在 70°C 下继续搅拌反应 1h 。氨水可选用浓度为 $5\text{mol/L} \sim 15\text{mol/L}$ 的浓氨水,浓氨水的加入量可按照每 100ml 无氧反应溶液加入 $8\text{ml} \sim 50\text{ml}$,如可以选择加入 8ml 、 12ml 、 16ml 、 24ml 或 50ml ,在其中一个实施例中,浓氨水的加入量可按照每 100ml 无氧反应溶液加入 12ml 的量加入。

[0019] 在其中一个实施例中,在所述步骤三中,所述离心的转速是 3000rpm ,时间是 5min 。

[0020] 在其中一个实施例中,在所述步骤三中,使用浓度为 $0.1\text{M} \sim 2.0\text{M}$ 的 HCl 或冰醋酸进行酸碱度调节,如可使用浓度为 1.0M 的 HCl 调节酸碱度至 pH 为 7.0 。

[0021] 在其中一个实施例中,在所述步骤三中,所述纯化是过分离柱(德国美天旌,MS分离柱)纯化,以除去其中游离的葡聚糖。

[0022] 一种纳米免疫磁珠,使用上述任一实施例所述的纳米免疫磁珠的制备方法制备得到。

[0023] 该制备得到的纳米免疫磁珠可调整至浓度为6mg/ml保存在4℃下备用。

[0024] 上述纳米免疫磁珠在细胞分选中的应用。

[0025] 如在其中一个实施例中,该应用包括将纳米免疫磁珠与特异性抗体结合以及使用结合有特异性抗体的纳米免疫磁珠与靶细胞通过特异性抗体-靶细胞表面抗原结合,并在磁场中筛选的步骤。对于羧基葡聚糖,可直接将其与特异性抗体相结合;对于羟基葡聚糖,可先将羟基葡聚糖氧化成醛基葡聚糖,在将醛基葡聚糖与特异性抗体相结合。

[0026] 在其中一个实施例中,对于羟基葡聚糖包被的纳米免疫磁珠,可通过如下方法将羟基葡聚糖氧化为醛基葡聚糖:

[0027] 向羟基葡聚糖包被的纳米免疫磁珠溶液中加入高碘酸钠,其中,高碘酸钠的加入量满足:纳米免疫磁珠:高碘酸钠=0.125~8:1(质量比),常温避光搅拌反应30min~3h,反应结束后过柱分离纯化除去游离葡聚糖,用10mM~100mM、pH为7.0~9.0硼酸钠溶液洗涤后,即得。进一步,还可调整醛基葡聚糖包被的纳米免疫磁珠的浓度为4mg/ml保存备用。

[0028] 进一步,在其中一个实施例中,纳米免疫磁珠与高碘酸钠的质量比可以为8:1、4:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4或1:8,其中1:1为优选的质量比例。

[0029] 更进一步,在其中一个实施例中,避光搅拌反应时间为1h。

[0030] 再进一步,在其中一个实施例中,是使用20mM、pH为8.5硼酸钠溶液洗涤3次。

[0031] 将醛基葡聚糖或羧基葡聚糖包被的纳米免疫磁珠与特异性抗体结合可按照但不限于如下步骤进行,如在其中一个实施例中,对于保存备用的浓度4mg/ml的醛基葡聚糖或羧基葡聚糖包被的纳米免疫磁珠,可取100μl,用20mM、pH为8.5硼酸钠稀释一倍后,按照纳米免疫磁珠:抗体质量比为1~100:1比例加入抗体,常温反应振荡混匀1h~12h,反应结束后,向反应体系中加入过量的NaBH₄反应30min~3h,过柱分离纯化,用PBS缓冲液洗涤多次,加入磷酸盐缓冲液于4℃保存备用即可。其他体积可按照比例进行调整。

[0032] 进一步,在其中一个实施例中,可按照纳米免疫磁珠:抗体质量比为5:1、15:1、30:1或100:1的比例加入浓度5mg/ml的抗体。其中,纳米免疫磁珠:抗体质量比优选是15:1,常温反应振荡混匀的时间优选为6h。

[0033] 更进一步,在其中一个实施例中,可按照纳米免疫磁珠:NaBH₄质量比为20:1、10:1、1:10或1:20比例加入浓度为0.25M的NaBH₄。其中,优选的比例是10:1,优选的反应时间为1h。

[0034] 通过上述纳米免疫磁珠的制备方法可以制备50nm级别的葡聚糖包被Fe₃O₄和/或γ-Fe₂O₃的纳米免疫磁珠,得到的该纳米免疫磁珠的粒径小,并且粒径分布均匀,稳定性好,可以避免磁珠聚集和沉降。此外,通过合成得到的纳米免疫磁珠偶联抗体,可以保证每批磁珠表面抗体的量基本一致,可重复性好,分选出来阳性细胞纯度达到90%以上,杂质含量低,可广泛应用在细胞的特异性分选和分离过程中。该纳米免疫磁珠的制备方法快捷、简便,成本较低,可广泛应用。

附图说明

[0035] 图1为实施例1制备得到的纳米免疫磁珠的粒径分布检测结果图;

[0036] 图2为实施例4制得的羟基纳米免疫磁珠的SEM图;

[0037] 图3为实施例5分选出来的CD4T细胞的荧光染色结果图。

具体实施方式

[0038] 为了便于理解本发明,下面将参照相关附图对本发明进行更全面的描述。附图中给出了本发明的较佳实施例。但是,本发明可以以许多不同的形式来实现,并不限于本文所描述的实施例。相反地,提供这些实施例的目的是使对本发明的公开内容的理解更加透彻全面。

[0039] 除非另有定义,本文所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域的技术人员通常理解的含义相同。本文中在本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具体的实施例的目的,不是旨在于限制本发明。本文所使用的术语“和/或”包括一个或多个相关的所列项目的任意的和所有的组合。

[0040] 实施例1 50nm羟基葡聚糖包被的纳米免疫磁珠的合成

[0041] 首先称取8.0g羟基葡聚糖(分子量40kDa),溶解到100ml去离子水中,通氮除氧10min后,加入1.62g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和0.62g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,1000rpm/min搅拌50℃水浴加热10min后,加入12ml浓度为15mol/L的浓氨水调节酸碱度至pH为10.0;温度升至70℃保温继续反应1h后,停止反应冷却至室温;3000rpm离心5min将溶液中大颗粒离心除去后,用1.0M HCl调节酸碱度至中性,再用0.22 μm 的亲水性滤膜过滤,将得到的滤液用德国美天旋MS分选柱除去溶液中游离的葡聚糖;取6mg/mL羟基葡聚糖纳米磁珠用超纯水稀释至1mg/ml,DLS对其粒径进行表征,三次求平均值,即可得到50nm羟基葡聚糖包被的纳米磁珠,4℃保存。

[0042] 如图1所示,得到的羟基葡聚糖包被的纳米磁珠的平均粒径为59.50nm,且羟基磁珠呈现球状单颗粒分布,尺寸均匀。

[0043] 下表1是得到的羟基葡聚糖包被的纳米磁珠的稳定性结果。

[0044] 表1羟基磁珠不同时间粒径检测

[0045]

	平均粒径	峰值粒径	PDI
放置1月	59.50	72.2	0.172
放置3月	58.65	71.5	0.174
放置6月	60.12	72.1	0.171

[0046] 从表1可以看到羟基磁珠在4℃可以存储半年以上纳米粒子之间不会发生聚集而影响纳米粒子性能,为后续细胞分选应用提供了稳定性保证。

[0047] 实施例2葡聚糖:铁离子/亚铁离子为1:90合成50nm羟基葡聚糖包被的纳米免疫磁珠

[0048] 首先称取4.4g羟基葡聚糖(分子量40kDa),溶解到100ml去离子水中,通氮除氧10min后,加入1.62g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和0.62g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,1000rpm/min搅拌50℃水浴加热10min后,加入12ml浓度为15mol/L的浓氨水调节酸碱度至pH为10.0;温度升至70℃保温继续反应1h后,停止反应冷却至室温;3000rpm离心5min将溶液中大颗粒离心除去后,用1.0M HCl调节酸碱度至中性,再用0.22 μm 的亲水性滤膜过滤,将得到的滤液用德国美天旋MS分选柱除去溶液中游离的葡聚糖;取6mg/mL羟基葡聚糖纳米磁珠用超纯水稀释至1mg/ml,DLS对其粒径进行表征,三次求平均值,即可得到58nm羟基葡聚糖包被的纳米磁珠,4℃保存。

[0049] 实施例3葡聚糖:铁离子/亚铁离子为1:15合成50nm羟基葡聚糖包被的纳米免疫磁

珠

[0050] 首先称取24g羟基葡聚糖(分子量40kDa),溶解到100ml去离子水中,通氮除氧10min后,加入1.62g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和0.62g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,1000rpm/min搅拌50℃水浴加热10min后,加入12ml浓度为15mol/L的浓氨水调节酸碱度至pH为10.0;温度升至70℃保温继续反应1h后,停止反应冷却至室温;3000rpm离心5min将溶液中大颗粒离心除去后,用1.0M HCl调节酸碱度至中性,再用0.22 μm 的亲水性滤膜过滤,将得到的滤液用德国美天旋MS分选柱除去溶液中游离的葡聚糖;取6mg/mL羟基葡聚糖纳米磁珠用超纯水稀释至1mg/ml,DLS对其粒径进行表征,三次求平均值,即可得到55nm羟基葡聚糖包被的纳米磁珠,4℃保存。

[0051] 实施例4 50nm羟基葡聚糖包被的纳米磁珠的SEM图

[0052] 取10 μL 用水稀释过的0.1mg/mL羟基纳米免疫磁珠(实施例1,葡聚糖:铁离子/亚铁离子为1:45)滴到铜网上,待其自然晾干后,用SEM进行表征,结果如图2所示:从左图可以看到羟基磁珠呈均匀颗粒状分布,右图看到大部分磁珠粒径为60nm左右,与DLS检测结果基本一致。

[0053] 实施例5纳米免疫磁珠偶联抗体

[0054] 取500 μl 实施例1制得的6mg/ml羟基葡聚糖包被的纳米免疫磁珠于EP管中,按照高碘酸钠:纳米免疫磁珠=1:1的质量比加入高碘酸钠溶液,室温避光振荡反应1h后,采用磁分离过柱法除去纳米粒子所带的杂质,最后用20mM pH为8.5的硼酸钠溶液洗脱下来,调节纳米免疫磁珠浓度为5mg/mL。

[0055] 按照纳米免疫磁珠:特异性抗体=15:1的质量比,将特异性抗体加入到磁珠溶液中,振荡混匀反应6h,然后加入过量的硼氢化钠,如按照特异性抗体:硼氢化钠=1:1的质量比加入,用硼氢化钠还原得到特异性抗体偶联的纳米免疫磁珠,再次用过柱法纯化特异性抗体偶联磁珠,4℃保存。

[0056] 实施例6 CD4抗体偶联磁珠用于人CD4T细胞提取

[0057] 1. 20ml加入抗凝剂的人新鲜血液用PBS(磷酸盐缓冲液)稀释2倍,按照血液:淋巴分离液=1:1的体积比将稀释好的血液平铺到淋巴分离液上;采用离心方法得到外周血单个核细胞,调整细胞浓度为 3×10^7 个细胞/ml;

[0058] 2. 浆100 μl 3×10^7 个细胞/ml的细胞悬液与5 μl CD4抗体偶联的纳米免疫磁珠(使用实施例2所使用的方法制备得到,用CD4抗体作为特异性抗体)用移液枪混匀后于4℃静置15min;

[0059] 3. 1200rpm、5min离心弃上清,向细胞沉淀中加入500 μl 缓冲液重悬;

[0060] 4. 用美天旋分选柱清洗细胞3次,每次500 μl 缓冲液洗涤后,加入1ml缓冲液将细胞冲洗下来收集至EP管中;

[0061] 5. 细胞用1200rpm、5min离心弃上清,向细胞沉淀中加入100 μl 缓冲液重悬,加入10 μl PE标记的CD4抗体4℃孵育5min;

[0062] 6. 1200rpm、5min离心弃上清,向细胞沉淀中加入100 μl PBS缓冲液重悬,荧光显微镜观察细胞荧光。

[0063] 结果如图3所示,由图3可以看出用免疫磁珠分选出来的细胞进行荧光标记后,显微镜下看到带有荧光的细胞达到90%。

[0064] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实

施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

[0065] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

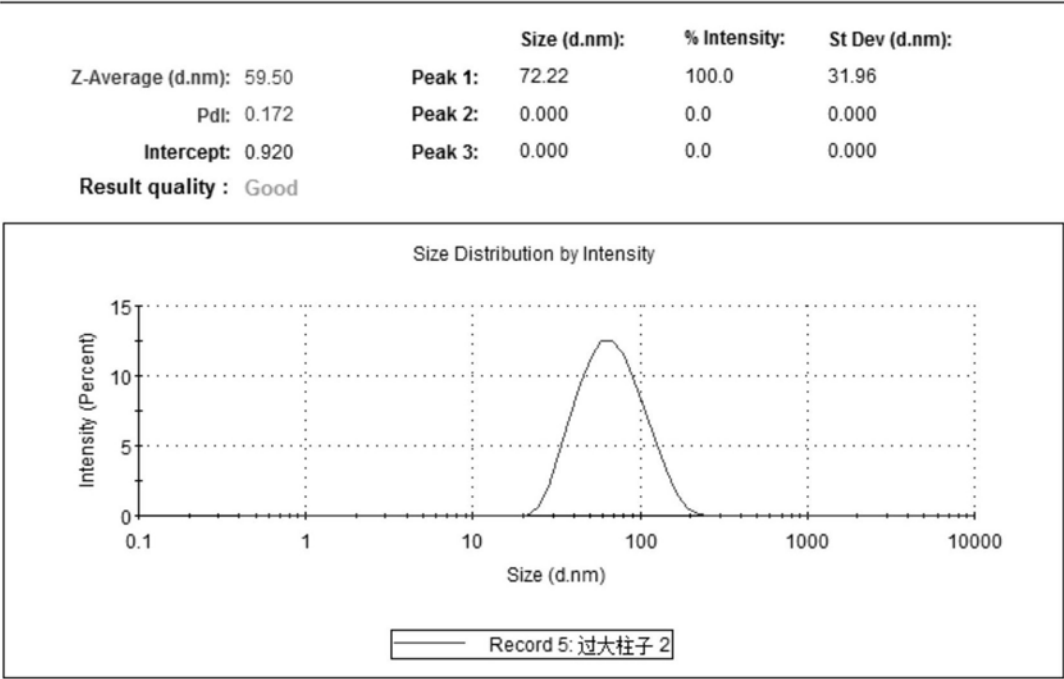


图1

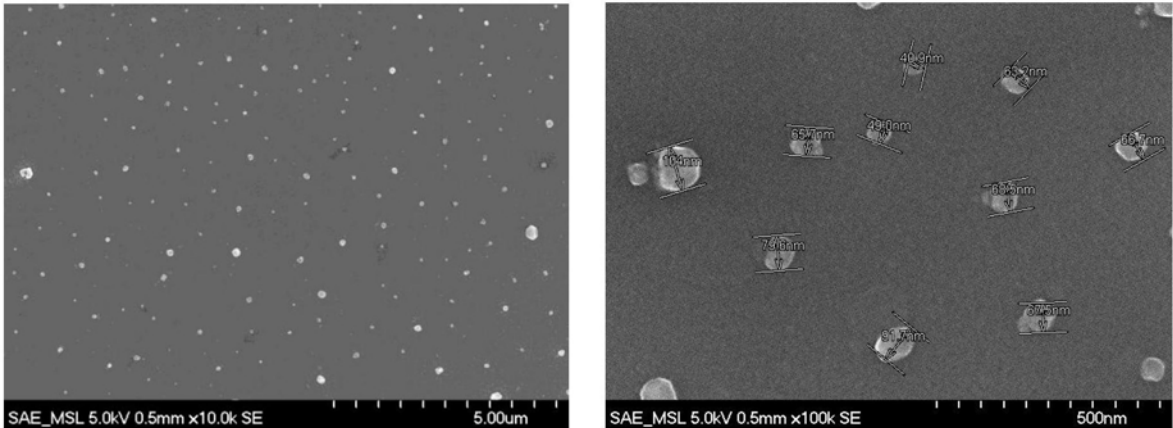


图2

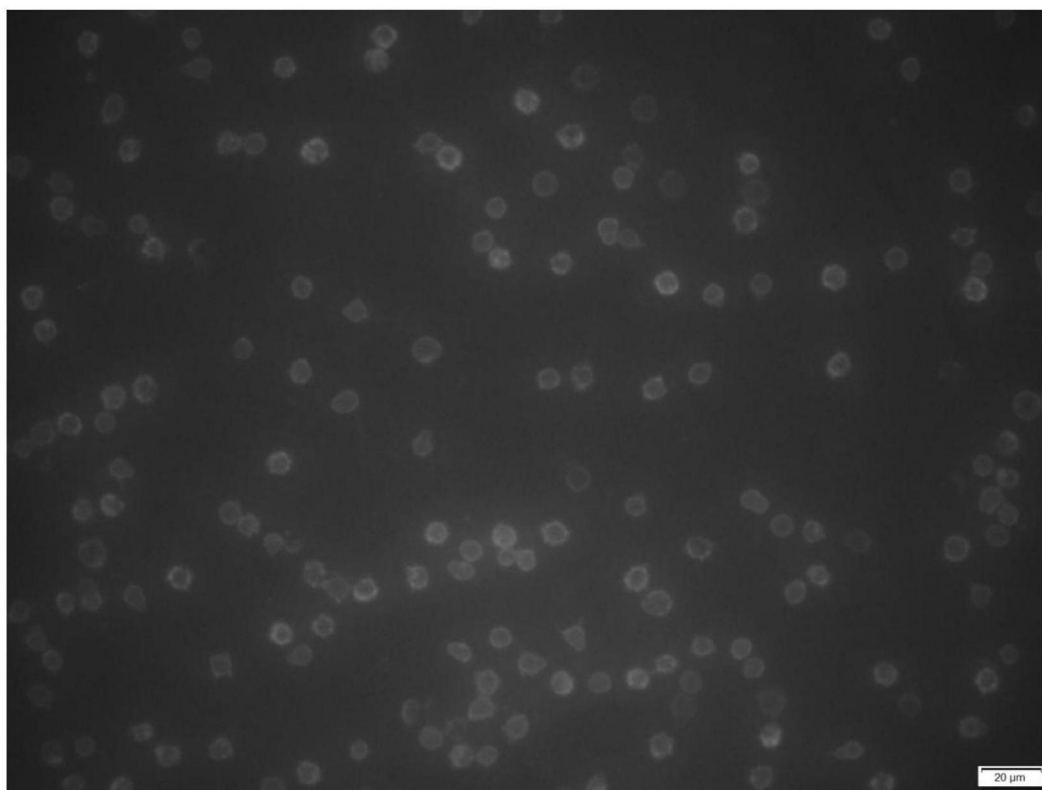


图3

专利名称(译)	纳米免疫磁珠及其制备方法和应用		
公开(公告)号	CN108287234A	公开(公告)日	2018-07-17
申请号	CN201710173694.2	申请日	2017-03-22
[标]申请(专利权)人(译)	广东顺德工业设计研究院(广东顺德创新设计研究院)		
申请(专利权)人(译)	广东顺德工业设计研究院(广东顺德创新设计研究院)		
当前申请(专利权)人(译)	广东顺德工业设计研究院(广东顺德创新设计研究院)		
[标]发明人	柯长洪 刘华敏 李家玉		
发明人	柯长洪 刘华敏 李家玉		
IPC分类号	G01N33/531		
代理人(译)	林青中		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种纳米免疫磁珠及其制备方法和应用。本发明的纳米免疫磁珠的制备方法可以制备50nm级别的葡聚糖包被Fe₃O₄和/或γFe₂O₃的纳米免疫磁珠，得到的该纳米免疫磁珠的粒径小，并且粒径分布均匀，稳定性好，可以避免磁珠聚集和沉降。此外，通过合成得到的纳米免疫磁珠偶联抗体，可以保证每批磁珠表面抗体的量基本一致，可重复性好，分选出来阳性细胞纯度达到90%以上，杂质含量低，可广泛应用于细胞的特异性分选和分离过程中。该纳米免疫磁珠的制备方法快捷、简便，成本较低，可广泛推广应用。

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 59.50	Peak 1: 72.22	100.0	31.96
Pdi: 0.172	Peak 2: 0.000	0.0	0.000
Intercept: 0.920	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality : Good			

