



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104459108 A

(43) 申请公布日 2015. 03. 25

(21) 申请号 201410663555. 4

(22) 申请日 2014. 11. 19

(71) 申请人 天津大学

地址 300072 天津市南开区卫津路 92 号天津大学

(72) 发明人 史清洪 朱俐燕 白姝 孙彦

(74) 专利代理机构 天津市北洋有限责任专利代理事务所 12201

代理人 王丽

(51) Int. Cl.

G01N 33/543(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

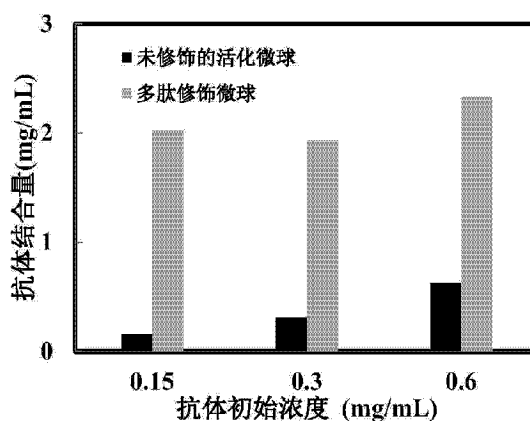
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

一种多肽分子定向固定抗体的免疫检测材料及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种多肽分子定向固定抗体的免疫检测材料及其制备方法。免疫固相材料是在羟基化的固相材料表面偶联与抗体分子 Fc 片段具有特异性相互作用的多肽分子,进而通过抗体与多肽分子结合形成表面定向排布的抗体单分子层的方法获得的。多肽分子具有 5~12 个氨基酸残基,并且含有赖氨酸、精氨酸或者半胱氨酸。较化学偶联方法特异性更高,具有更好的耐受性和稳定性,可以重复更多次地利用;免疫固相材料中抗体分子更具定向排布的趋势,其中抗体 Fc 片段与多肽分子结合并靠近固相材料表面,而抗原结合域向外,其与待检分子结合的空间位阻较小;制备工艺简单、成本更低。该免疫固相材料在免疫比浊分析、ELISA 等技术中具有重要的应用前景。



1. 一种利用多肽分子在固体表面定向固定抗体分子的免疫固相材料,其特征在于,免疫固相材料是在羟基化的固相材料表面偶联与抗体分子 Fc 片段具有特异性相互作用的多肽分子;多肽分子具有 5 ~ 12 个氨基酸残基,并且含有赖氨酸、精氨酸或者半胱氨酸。

2. 如权利要求书 1 所述的固相材料,其特征在于所述羟基化的固相材料为球形粒子或者平展的固体基片。

3. 如权利要求书 2 所述的固相材料,其特征在于所述球形粒子粒径为 80 ~ 170nm。

4. 如权利要求书 1 所述的固相材料,其特征在于所述的与抗体分子 Fc 片段具有特异性相互作用的多肽分子选自 HYFKFD、HFRXRHL、HWRGWV、HWRGWVC、FYWHCLDE、FYFCRWE、FYIHCLPE、FYIHCKKE、FYCHWALE、FYCHWQDE、FYCHTIDE、FYRHCQRE、FYCHHKTE、FYCHLQKE、FYCHRKAE、FYCHNQDE、FYCHRQEE 或 FYNHCASE。

5. 权利要求书 1 中所述的一种利用多肽分子在固体表面定向固定抗体分子的免疫固相材料的制备方法,其特征是免疫固相材料是在羟基化的固相材料表面偶联与抗体分子 Fc 片段具有特异性相互作用的多肽分子,通过抗体与多肽分子结合形成表面定向排布的抗体单分子层的方法获得的。

6. 如权利要求 5 所述的方法,其特征在于包括如下的过程:羟基化的固相材料经清洗后浸泡于含有环氧基试剂和氢氧化钠的二甲基亚砷溶液中活化处理;活化的固相材料浸泡于含有多肽分子的磷酸缓冲液中反应偶联多肽分子;反应后的固相材料浸泡与硼氢化钠溶液中还原固相材料表面未反应的环氧基;洗涤后的多肽修饰固相材料浸泡于抗体溶液中,结合抗体后的固相材料经磷酸缓冲液清洗后得到免疫固相材料。

7. 如权利要求书 6 所述的方法,其特征在于氢氧化钠的摩尔浓度为 0.1 ~ 1.5mol/L,固相材料每平米表面积对应环氧基试剂的加入量为 0.2 ~ 5.0mmol。

8. 如权利要求书 6 所述的方法,其特征在于磷酸缓冲液的浓度为 2 ~ 50mmol/L,磷酸缓冲液的 pH 值为 7 ~ 11,固相材料每平米表面积对应多肽分子的加入量为 0.01 ~ 1.0 μ mol。

9. 如权利要求书 6 所述的方法,其特征在于抗体的浓度为 0.1 ~ 5.0mg/mL,溶剂为 pH5.5 ~ 8.5 的 10mmol/L 磷酸缓冲液。

10. 如权利要求书 6 所述的方法,其特征在于活化的固相材料偶联多肽分子中磷酸缓冲液的 pH 值为 7 ~ 8.5。

一种多肽分子定向固定抗体的免疫检测材料及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及用于免疫检测和分析的固相材料,特别是一种利用多肽分子在固体表面定向固定抗体分子的免疫固相材料及其制备方法,属于生物医药领域中的免疫检测技术领域。

背景技术

[0002] 基于抗原和抗体反应检测生物样品中微量成分的免疫分析方法,因其高度的特异性被普遍地应用于医学检验、食品安全、环境评估等各个领域。抗体在固相材料表面的固定化技术则是免疫分析方法成功与否的关键所在。目前,常用的抗体固定化技术是基于抗体分子与固相材料表面功能基团间的共价偶联实现的,抗体分子中氨基酸残基的氨基、羧基、巯基等则提供了偶联反应所需要的活性基团。众多的图书和其他出版物已经对此进行了系统地介绍。抗体分子中参与偶联反应的活性基团可能存在于抗体的活性部位或者对蛋白质分子的稳定有着重要作用,由此固定化过程往往引起活性部位的屏蔽、抗体活性及稳定性的降低(如图 1a 所示)。此外,偶联反应不仅发生在抗体分子中也可能发生在杂蛋白上,因此固定过程对抗体纯度有非常高的要求。为了缓解进而改善上述问题,若干新型的抗体定向固定化方法也被先后报道。公开号为 10-2012-0130552 的韩国专利报道了利用环糊精定向固定抗体的方法用于酶联免疫吸附分析(ELISA)。O' Shannessy 和 Quarles 首先报道了经高碘酸钠适度氧化后的抗体与生物素酰肼偶联的方法【J. Appl Biochem., 1985, 7:355】。此后,该课题组将此方法应用于抗体在含有酰肼基团的固相材料上的固定化过程,实现了抗体的定向固定化,维持了固定抗体分子的高活性【Biotechnol. Appl. Biochem., 1987, 9:488】。公开号为 TW 201028692A1 的台湾地区专利则提供了一种抗体 Fc 片段上糖链分子中空间相邻羟基提供与有机硼酸反应生成有机硼酸酯定向固定抗体的方法。但是上述过程中,抗体 Fc 片段上糖链分子的过度氧化及抗体分子中其他糖链或基团的氧化都将导致抗体分子亲和性的减弱和结合率的下降。公开号为 CN1402007A 的中国专利报道了通过在固体基片表面修饰蛋白 A 形成单分子膜层用于抗体固定的方法,示意图如图 1b 所示。由于蛋白 A 分子在特异性结合抗体 Fc 片段的同时,不影响可变区 Fab 结构,从而保证了抗原抗体最大程度的结合。公开号为 US 2012/0238039A1 的美国专利进一步提供了一种改进的蛋白 A 与固相材料偶联的方法,通过蛋白 A 与肌粘合蛋白的融合,借助肌粘合蛋白与固相材料的结合实现蛋白 A 的固定化。此外,韩国生命工学研究院郑凤铉等人公开了一种偶联单链寡核苷酸的蛋白 G 变体在固相材料上的固定化方法,通过单链寡核苷酸与结合与固相材料表面的寡核苷酸互补链的结合,为抗体的定向固定提供活性位点【PCT/KR2008/002739】。但是上述抗体固定所需的蛋白(如蛋白 A/G 或含有蛋白 A/G 的融合蛋白等)需要通过基因重组和细胞培养获得,成本高;另一方面,基于蛋白 A/G 和抗体 Fc 片段特异性结合的抗体固定化技术虽可避免传统固定化方法带来的缺陷,但蛋白 A/G 分子对环境的苛刻要求造成了其稳定性的下降,进而限制了技术的应用。针对目前抗体定向固定化技术中的上述缺陷,本发明提出了一种更为简捷、高效的基于多肽分子的抗体定向固定化方

法（如图 1c 所示），通过在固相材料表面偶联与抗体 Fc 片段有特异性作用的多肽分子，制备得到抗体固定化的免疫固相材料。该免疫固相材料在免疫比浊分析、ELISA 等技术中具有重要的应用前景。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种利用多肽分子在固体表面定向固定抗体分子的免疫固相材料及其制备方法。本发明所述的定向固定抗体分子的免疫固相材料及其制备方法具有制备技术简捷、稳定且易于实施、抗体结合效率高、可重复使用等优点。

[0004] 本发明是通过下述的技术方案加以实现的：

[0005] 一种利用多肽分子在固体表面定向固定抗体分子的免疫固相材料，免疫固相材料是在羟基化的固相材料表面偶联与抗体分子 Fc 片段具有特异性相互作用的多肽分子；多肽分子具有 5～12 个氨基酸残基，并且含有赖氨酸、精氨酸或者半胱氨酸。

[0006] 所述羟基化的固相材料为球形粒子或者平展的固体基片。

[0007] 所述球形粒子粒径为 80～170nm。

[0008] 所述的与抗体分子 Fc 片段具有特异性相互作用的多肽分子选自 HYFKFD、HFRXRHL、HWRGWV、HWRGWVC、FYWHCLDE、FYFCRWE、FYIHLPE、FYHCKKE、FYCHWALE、FYCHWQDE、FYCHTIDE、FYRHCQRE、FYCHHKTE、FYCHLQKE、FYCHRKAE、FYCHNQDE、FYCHRQEE 或 FYNHCASE。

[0009] 本发明的一种利用多肽分子在固体表面定向固定抗体分子的免疫固相材料的制备方法，免疫固相材料是在羟基化的固相材料表面偶联与抗体分子 Fc 片段具有特异性相互作用的多肽分子，通过抗体与多肽分子结合形成表面定向排布的抗体单分子层的方法获得的。

[0010] 所述的方法包括如下的过程：羟基化的固相材料经清洗后浸泡于含有环氧基试剂和氢氧化钠的二甲基亚砷溶液中活化处理；活化的固相材料浸泡于含有多肽分子的磷酸缓冲液中反应偶联多肽分子；反应后的固相材料浸泡与硼氢化钠溶液中还原固相材料表面未反应的环氧基；洗涤后的多肽修饰固相材料浸泡于抗体溶液中，结合抗体后的固相材料经缓冲液清洗后得到免疫固相材料。

[0011] 所述的氢氧化钠的摩尔浓度为 0.1～1.5mol/L，固相材料每平米表面积对应环氧基试剂的加入量为 0.2～5.0mmol。

[0012] 所述的磷酸缓冲液的浓度为 2～50mmol/L，磷酸缓冲液的 pH 值为 7～11，固相材料每平米表面积对应多肽分子的加入量为 0.01～1.0 μ mol。

[0013] 所述的抗体的浓度为 0.1～5.0mg/mL，溶剂为 pH 5.5～8.5 的 10mmol/L 磷酸缓冲液。

[0014] 所述的活化的固相材料偶联多肽分子中磷酸缓冲液的 pH 值为 7～8.5。

[0015] 本发明提供的固体表面定向固定抗体分子的免疫固相材料及其制备方法，具有如下的优势：

[0016] 第一，本发明采用多肽分子与抗体结合的方法制备免疫固相材料，该方法较化学偶联方法特异性更高，较蛋白 A 结合抗体的方法具有更好的耐受性和稳定性，可以重复更多次地利用；

[0017] 第二，本发明制备的免疫固相材料中抗体分子更具定向排布的趋势，其中抗体 Fc

片段与多肽分子结合并靠近固相材料表面,而抗原结合域向外(如图 1c 所示),其与待检分子结合的空间位阻较小;

[0018] 第三,定向排布的抗体分子提高了抗体的利用率,进而免疫固相材料的灵敏度得以增大;

[0019] 第四,本发明涉及的免疫固相材料相对于同类的其他免疫固相材料而言,制备工艺更加简单、成本更低。

[0020] 第五,该免疫固相材料在免疫比浊分析、ELISA 等技术中具有重要的应用前景。

附图说明

[0021] 图 1 是化学偶联法 (a)、蛋白 A 结合法 (b)、多肽分子结合法 (c) 固定抗体的示意图。

[0022] 图 2 是不同抗体初始浓度下多肽修饰微球和未修饰的活化微球抗体结合量比较

[0023] 图 3 是不同抗体初始浓度下粒径为 122nm 的多肽修饰纳米粒子和未修饰的活化纳米粒子抗体结合量比较。

具体实施方式

[0024] 下面的实例将对本发明涉及的免疫固相材料及其制备方法予以进一步说明。

[0025] 一种利用多肽分子在固体表面定向固定抗体分子的免疫固相材料的制备方法,包括如下的过程:羟基化的固相材料经充分清洗后浸泡于含有环氧基试剂和氢氧化钠的二甲基亚砜溶液中活化处理,其中氢氧化钠的摩尔浓度为 0.1 ~ 1.5mol/L,固相材料每平米表面积对应环氧基试剂的加入量为 0.2 ~ 5.0mmol;活化的固相材料浸泡于含有前述多肽分子的磷酸缓冲液中反应偶联多肽分子,磷酸缓冲液的浓度为 2 ~ 50mmol/L,磷酸缓冲液的 pH 值为 7 ~ 11,固相材料每平米表面积对应多肽分子的加入量为 0.01 ~ 1.0 μ mol;反应后的固相材料浸泡与硼氢化钠溶液中还原固相材料表面未反应的环氧基;充分洗涤后的多肽修饰固相材料浸泡于抗体溶液中,抗体的浓度为 0.1 ~ 5.0mg/mL,溶剂为 pH 5.5 ~ 8.5 的 10mmol/L 磷酸缓冲液;结合抗体后的固相材料经相同的磷酸缓冲液清洗后得到免疫固相材料。

[0026] 上述的一种利用多肽分子在固体表面定向固定抗体分子的免疫固相材料的制备方法,其特征在于活化的固相材料偶联多肽分子中磷酸缓冲液的 pH 值为 7 ~ 8.5。

[0027] 免疫固相材料是在羟基化的固相材料表面偶联与抗体分子 Fc 片段具有特异性相互作用的多肽分子;多肽分子具有 5 ~ 12 个氨基酸残基,并且含有赖氨酸、精氨酸或者半胱氨酸。

[0028] 羟基化的固相材料为球形粒子或者平展的固体基片。球形粒子粒径为 80 ~ 170nm。

[0029] 所述的与抗体分子 Fc 片段具有特异性相互作用的多肽分子选自 HYFKFD、HFRXRHL、HWRGWV、HWRGWVC、FYWHCLDE、FYFCRWE、FYIHCLPE、FYYHCKKE、FYCHWALE、FYCHWQDE、FYCHTIDE、FYRHCQRE、FYCHHKTE、FYCHLQKE、FYCHRKAE、FYCHNQDE、FYCHRQEE 或 FYNHCASE。

[0030] 实施例 1

[0031] 将 2.0g 平均粒径为 1.67 μ m 的羟基化聚甲基丙烯酸缩水甘油酯粒子(表面积约

为 7.2m^2) 置于 50mL 锥形瓶中后,依次加入二甲基亚砜 4mL、环氧氯丙烷 2mL 以及浓度为 1.0mol/L 的氢氧化钠 4mL;上述溶液充分混匀后,在 25°C 和 170rpm 条件下反应 2.5h。反应结束后在 5000rpm 条件下离心 5min 并收集产物。离心产物依次用无水乙醇洗涤 5 次,再用蒸馏水反复洗涤,直到离心的上清液滴加酚酞后为无色。制得的粒子表面含有环氧基团,用 20% 的乙醇保存在 4°C 冰箱备用。

[0032] 环氧基活化的粒子置于 25mL 锥形瓶中,依次加入 1mg 七肽 HWRGWVC 和 10mL 含有 1mmol/L EDTA 的 10mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.4)。上述混合物充分混匀至多肽完全溶解后,置于 25°C 和 170rpm 条件下反应 6h;此后,加入硼氢化钠至其终浓度为 0.1mol/L ;待硼氢化钠溶解后,在相同条件下反应至少 12h。反应结束后,在 5000rpm 条件下离心 5min 收集产物;收集的产物经无水乙醇和蒸馏水反复洗涤后,用 20% 的乙醇保存在 4°C 冰箱备用。

[0033] 各取三份 0.2g 多肽修饰粒子和未修饰多肽的活化粒子置于三个 25mL 锥形瓶中,然后加入 5mL 含 0.15、0.30 和 0.60mg/mL 抗体的 10mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.4);混合物在 25°C 恒温水浴摇床中吸附 0.5h 后,离心去除 5000rpm 离心 5min 收集上清液,测定上清液中抗体的含量,计算免疫粒子结合抗体的情况。结果如图 2 所示。结果表明,多肽修饰粒子具有更高的抗体结合量。

[0034] 实施例 2

[0035] 如实施例 1,依次加入二甲基亚砜 8.886mL、环氧氯丙烷 0.114mL 以及浓度为 1.0mol/L 的氢氧化钠 1mL 合成环氧基活化的粒子;此后,环氧基活化的粒子置于 25mL 锥形瓶中,依次加入 0.068mg 七肽 HFRXRHL 和 10mL 含有 1mmol/L EDTA 的 2mmol/L 磷酸缓冲液 (pH7.0);其中各取三份 0.2g 制备的多肽修饰粒子和未修饰多肽的活化粒子置于三个 25mL 锥形瓶中,然后加入 5mL 含 0.10、0.30 和 5.0mg/mL 抗体的 10mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 5.5)。

[0036] 免疫粒子的抗体结合量高于未修饰多肽的活化粒子对照组。

[0037] 实施例 3

[0038] 将 2.0g 平均粒径为 $1.67\mu\text{m}$ 的羟基化聚甲基丙烯酸缩水甘油酯粒子置于 50mL 锥形瓶中后,加入 20mL 乙二胺和 10mL 蒸馏水,在 70°C 水浴中反应 12h。反应结束后冷却到室温并离心洗涤,离心转速为 5000rpm,离心时间为 5min。用无水乙醇洗涤 1 次,再用蒸馏水反复洗涤,直到离心的上清液为中性。制得的微球表面为氨基基团,用 20% 的乙醇保存在 4°C 冰箱备用。

[0039] 取氨基粒子和实施例 1 中多肽修饰粒子各 5mg 置于不同离心管中,分别加入 $100\mu\text{L}$ 含有 $8\mu\text{g/mL}$ 的 anti-HRP 和 20mg 碳二亚胺的 10mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 中,悬浮多肽修饰微球并在 37°C 下温育 30min。然后,在 5000rpm 离心 5min 收集沉淀;向沉降的粒子中各加入 $10\mu\text{L}$ 浓度为 $100\mu\text{g/mL}$ 的 HRP 溶液,在 37°C 下温育 30min 后用 5000rpm 离心 5min,将上清转移测定 HRP 的浓度。结果显示,多肽修饰粒子中每克 anti-HRP 可结合 HRP 的质量是氨基粒子中每克 anti-HRP 结合 HRP 质量的 3 倍,展示多肽修饰粒子具有更好的抗体活性。

[0040] 实施例 4

[0041] 将 1.4g 平均粒径为 122nm 的羟基化聚甲基丙烯酸缩水甘油酯粒子 (表面积约为 31.6m^2) 置于 50mL 锥形瓶中后,依次加入二甲基亚砜 0.12mL、环氧氯丙烷 12.38mL 以及浓度为 4.0mol/L 的氢氧化钠 7.5mL;上述溶液充分混匀后,在 25°C 和 170rpm 条件下反应 4h。

反应结束后在 5000rpm 条件下离心 5min 并收集产物。离心产物依次用无水乙醇洗涤 5 次,再用蒸馏水反复洗涤,直到离心的上清液滴加酚酞后为无色。制得的纳米粒子表面含有环氧基团,用 20% 的乙醇保存在 4℃ 冰箱备用。

[0042] 环氧基活化的纳米粒子置于 25mL 锥形瓶中,依次加入 35.15mg 八肽 FYWHCLDE 和 10mL 含有 1mmol/L EDTA 的 50mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 11)。上述混合物充分混匀至多肽完全溶解后,置于 25℃ 和 170rpm 条件下反应 4.0h;此后,加入硼氢化钠至其终浓度为 0.1mol/L;待硼氢化钠溶解后,在相同条件下反应至少 12h。反应结束后,在 5000rpm 条件下离心 5min 收集产物;收集的产物经无水乙醇和蒸馏水反复洗涤后,用 20% 的乙醇保存在 4℃ 冰箱备用。

[0043] 称取 48mg 抗体溶于 3mL 10mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 8.5) 中,配制浓度为 16mg/mL 的抗体溶液,用孔径为 0.22 μ m 的针头过滤器过滤;在 1.5mL 离心管中加入约 0.8mg 多肽修饰纳米粒子后,依次加入不同体积的 10mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 8.5) 和抗体溶液配成浓度为 1.0、2.0、3.5 和 5.0mg/mL 的蛋白溶液;上述混合物在 25℃ 空气摇床中吸附 2h。吸附后离心取上清 400 μ L,再加入 1mL 的 10mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 8.5),在 280nm 波长下测量吸光值。根据物料衡算,计算多肽修饰纳米粒子的吸附量。同时,未修饰多肽的环氧基活化纳米粒子作为对照。结果如图 3 所示。结果表明,多肽修饰纳米粒子的抗体结合量是活化纳米粒子的 3-9 倍。

[0044] 实施例 5

[0045] 羟基化的硅片 (表面积约为 0.1m²) 置于 50mL 锥形瓶中后,依次加入二甲基亚砜 5.99mL、环氧氯丙烷 10 μ L 以及浓度为 1.0mol/L 的氢氧化钠 4mL;上述溶液充分混匀后,在 25℃ 条件下静置反应 6h。反应结束后收集产物并用无水乙醇洗涤 5 次后,再用蒸馏水反复洗涤,直到硅片清洗液中滴加酚酞后为无色。制得的硅片表面含有环氧基团,用 20% 的乙醇保存在 4℃ 冰箱备用。

[0046] 环氧基活化的硅片置于 25mL 锥形瓶中,依次加入 10mL 含有 0.01mg 八肽 FYCHWALE 和 1mmol/L EDTA 的 10mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 8.5)。上述混合物充分混匀至多肽完全溶解后,置于 25℃ 和 170rpm 条件下反应 6h;此后,加入硼氢化钠至其终浓度为 0.1mol/L;待硼氢化钠溶解后,在相同条件下反应至少 12h。反应结束后,在 5000rpm 条件下离心 5min 收集产物;收集的产物经无水乙醇和蒸馏水反复洗涤后,用 20% 的乙醇保存在 4℃ 冰箱备用。

[0047] 多肽修饰硅片表面浸没于含有 8 μ g/mL 的 anti-HRP 和 20mg 碳二亚胺的 10mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 中并在室温下温育 30min。然后,除去液体并用 10mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 冲洗后,加入浓度为 100 μ g/mL 的 HRP 溶液温育 30min;收集上清液,测定 HRP 的浓度。同时,未修饰多肽的环氧基活化硅片作为对照。结果表明,多肽修饰硅片的 anti-HRP 活性是活化硅片的 4.3 倍。

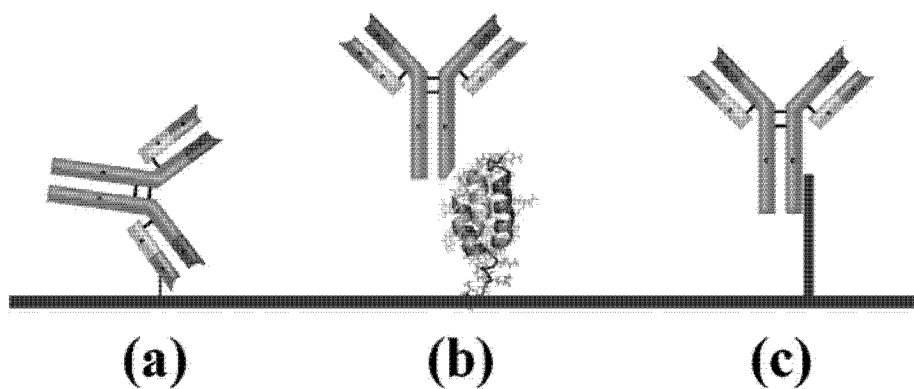


图 1

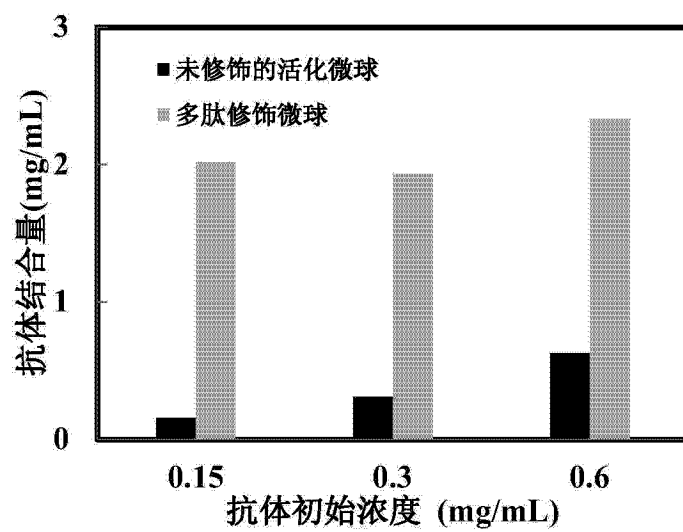


图 2

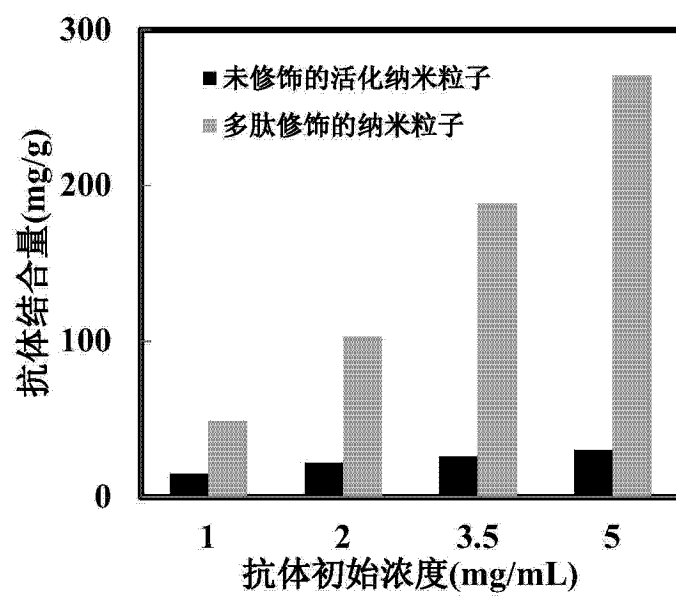


图 3

专利名称(译)	一种多肽分子定向固定抗体的免疫检测材料及其制备方法		
公开(公告)号	CN104459108A	公开(公告)日	2015-03-25
申请号	CN201410663555.4	申请日	2014-11-19
[标]申请(专利权)人(译)	天津大学		
申请(专利权)人(译)	天津大学		
当前申请(专利权)人(译)	天津大学		
[标]发明人	史清洪 朱俐燕 白姝 孙彦		
发明人	史清洪 朱俐燕 白姝 孙彦		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/54353 G01N33/531 G01N33/68		
代理人(译)	王丽		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种多肽分子定向固定抗体的免疫检测材料及其制备方法。免疫固相材料是在羟基化的固相材料表面偶联与抗体分子Fc片段具有特异性相互作用的多肽分子，进而通过抗体与多肽分子结合形成表面定向排布的抗体单分子层的方法获得的。多肽分子具有5~12个氨基酸残基，并且含有赖氨酸、精氨酸或者半胱氨酸。较化学偶联方法特异性更高，具有更好的耐受性和稳定性，可以重复更多次地利用；免疫固相材料中抗体分子更具定向排布的趋势，其中抗体Fc片段与多肽分子结合并靠近固相材料表面，而抗原结合域向外，其与待检分子结合的空间位阻较小；制备工艺简单、成本更低。该免疫固相材料在免疫比浊分析、ELISA等技术中具有重要的应用前景。

