



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103278521 A

(43) 申请公布日 2013. 09. 04

(21) 申请号 201310222453. 4

(22) 申请日 2013. 06. 06

(66) 本国优先权数据

201210500073. 8 2012. 11. 30 CN

(71) 申请人 中国检验检疫科学研究院

地址 100123 北京市朝阳区高碑店北路甲 3 号

(72) 发明人 邹明强 陈翊平

(51) Int. Cl.

G01N 24/08 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

G01N 33/569 (2006. 01)

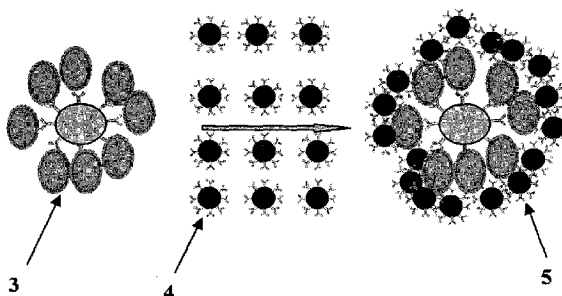
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

一种检测生物大分子的磁共振免疫传感方法

(57) 摘要

一种检测生物大分子的磁共振弛豫时间免疫传感方法。采用聚苯乙烯微球经偶联上特异性抗体 (1) 后用以捕获样品中生物大分子抗原 (2), 可特异性结合基于超顺磁纳米颗粒的弛豫时间传感探针 (4), 使其由原来的分散状态变为聚集的团簇状态, 进而引起周围水分子质子的弛豫时间改变, 根据改变量与生物大分子 (2) 含量的函数关系使用低场核磁共振仪进行检测。采用所述聚苯乙烯微球-抗体偶联物 (1) 克服了磁共振免疫反应空间位阻并增加了特异性结合位点。与通常的磁共振弛豫时间传感方法相比, 使用本发明的方法可显著提高生物大分子 (2) 检测灵敏度, 样品前处理步骤简便, 分析速度快, 具有十分广泛的应用前景和开发价值。



1. 一种检测生物大分子的磁共振弛豫时间免疫传感检测方法,其特征在于:采用聚苯乙烯(Polystyrene,PS)微球作为载体经表面修饰与待测物--抗生物大分子(2)抗原(Ag)的抗体(Ab)偶联而制备成复合富集试剂(PS-Ab)(1),用超顺磁纳米颗粒(SMP)经表面修饰与Ab偶联而制备成磁弛豫时间传感探针(MRS)(4),将PS-Ab-Ag(3)与MRS混合,基于PS-Ab-Ag(3)上的Ag与MRS(4)上的Ab发生的特异性免疫反应,引起水溶液中MRS(4)状态(分散或者聚集)发生变化,从而引起磁场均匀性发生改变,进而导致周围水分子质子的横向弛豫时间(T_2)发生显著改变,使检测体系中分散状态的磁颗粒转变为聚集状态或者使聚集状态转变为分散状态,利用 T_2 状态改变程度(ΔT_2)与Ag含量的函数关系,通过用核磁共振仪测试 T_2 即实现Ag含量的磁共振弛豫时间免疫传感检测。

2. 根据权利要求1所述的复合富集试剂(PS-Ab)(1),其特征在于:PS微球粒径为200-2000nm,表面修饰有羧基或者氨基;抗生物大分子抗原(Ag)(2)为玉米枯萎病菌或禽流感病毒等生物大分子物质;Ab为抗玉米枯萎病菌或抗禽流感病毒等的抗体。

3. 根据权利要求1所述的磁弛豫时间传感探针(MRS)(4)的制备方法,其特征在于:SMP粒径为20-60nm,经N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)和1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)进行活化使SMP与Ab偶联而制备成MRS(4),SMP与抗体的摩尔比为1:10-1:50。

4. 根据权利要求2所述的PS-Ab(1)的制备方法,其特征在于:PS微球经使用NHS和EDC进行活化作用后与Ab偶联而制备成PS-Ab(1),PS微球与Ab的摩尔比为1:10-1:50。

5. 如权利要求1、2、4所述的生物大分子的磁共振弛豫时间免疫传感检测方法及相关试剂的制备方法,其特征是:一方面,PS-Ab(1)可捕获待测Ag;另一方面,被捕获的Ag可与MRS特异性结合,克服免疫反应空间位阻且使结合位点增多,显著改变了 T_2 。上述两方面均可提高检测Ag的灵敏度。

一种检测生物大分子的磁共振免疫传感方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测生物大分子的方法,尤其涉及一种利用聚苯乙烯微球作为免疫亲和载体进行待测生物大分子富集并直接参与磁共振免疫反应的传感检测方法及相关试剂制备与使用方法。

背景技术

[0002] 传染性的植物性致病菌和动物性病毒是出入境检验检疫工作中重点监控对象,对这些传染性的有害物进行及时、准确、便捷的检测,对保护人类健康及生命安全、保障国门安全、维护社会稳定具有重要的意义。

[0003] 目前检测该致病菌和病毒的检测方法主要包括分离培养检测、免疫检测、分子生物学等方法。分离培养方法简单、易行,但由于其检测灵敏度低、耗时长,无法达到检疫要求。免疫分析法具有简单、快速、成本低等优点,适合于大规模样品筛查,但其灵敏度比较低,因此其使用也受到一定的限制。分子生物学方法检测灵敏度较高,特异性较好,但需要昂贵的仪器和较高的专业技术,因此其应用受到一定限制。因此,口岸检验检疫急需建立一种快速、灵敏检测致病菌和病毒的方法。

[0004] 超顺磁纳米颗粒(Superparamagnetic particles, SMP)是20世纪80年代出现的一种新型纳米磁性材料,因其比表面积大以及在外界磁场下可定向运动,在免疫分离分析、核酸分离与杂交、靶向给药、核磁共振成像等领域到了广泛应用。J Perez等发现SMP在水溶液中当其状态(分散或者聚集)变化时会引起磁场均匀性发生改变,进而显著引起周围水分子质子的横向弛豫时间(T_2)发生改变。SMP经表面修饰,偶联上相关抗体/抗原或给体/受体后即可制备成特异性的磁弛豫时间传感探针(Magnetic relaxation switches, MRS),通过特异性亲和反应,使体系中磁颗粒的状态发生改变,由于状态改变的程度与目标分子含量相关,通过弛豫时间的改变可间接得到目标分子的含量。目前,基于SMP的MRS传感技术具有处理简单、快速、灵敏、无损、适于现场检测等优点,在生物分子间相互作用研究、大分子/小分子目标物分析等方面得到了应用。研究表明在MRS体系中,通过增加检测物的免疫结合位点的方式可以使磁探针状态的改变量增大,从而提高方法的检测灵敏度。

[0005] 免疫亲和富集技术具有的选择性好、富集效率高和分离速度快等优点,在样品前处理中得到了广泛的应用。由于纳米颗粒的比表面积大,且具有良好的生物相容性和稳定性,因此常作为载体用于免疫亲和体系。当这些纳米颗粒偶联上抗体之后,可以从复杂的生物或者环境样品中提取和富集待测目标物。SMP因其独特的磁分离优势,在免疫亲和富集方面已得到广泛应用。然而,基于磁共振弛豫时间传感原理的检测方法,SMP是构成传感探针MRS的中心单元,其状态的改变(分散或聚集)可直接主导周围水分子质子的弛豫时间改变,因此SMP不宜作为待测生物大分子亲和富集的载体,需要找到一种新的免疫亲和载体。

[0006] 通常,磁共振弛豫时间传感免疫分析方法系在均相水溶液或悬浮液体系中进行。考虑到聚苯乙烯(Polystyrene, PS)微球密度小(与水接近),分散性好,胶体性质稳定,悬浮性好等特点,本发明提供一种用PS微球作待测组分富集载体用于样品前处理和磁共振

免疫传感检测的方法。一方面简化了样品前处理步骤,提高了分析速度,并通过样品特异性富集而提高了检测灵敏度;另外一方面,所使用的 PS 微球与磁共振弛豫时间免疫传感方法兼容,通过载体上捕获到的抗原 (Ag) 与 MRS 磁探针上的抗体 (Ab) 发生特异性反应,形成以 PS 微球为中心的网状结构,即克服了免疫反应通常面临的空间位阻问题,又增加了反应结合位点。上述两方面作用,使磁共振免疫反应中 MRS 状态的改变程度增大,从而显著提高了检测灵敏度。同时,样品前处理步骤简单,分析速度加快。

发明内容

[0007] 本发明的目的是提供一种简便、快速、灵敏检测生物大分子(细菌和病毒)的磁共振弛豫时间免疫传感分析方法。采用本发明的方法,用 PS 微球作为免疫亲和载体,在样品前处理中进行生物大分子 Ag 的快速提取、富集,同时将 PS 微球捕获到的 Ag 与检测体系中 MRS 上偶联的 Ab 进行特异性免疫反应,使用低场磁共振分析仪,实现了生物大分子灵敏、简便、快速检测,克服了目前分子生物学检测方法操作复杂、免疫检测方法灵敏度低等缺点。

[0008] 利用 PS 微球作为富集载体的检测生物大分子的磁共振免疫传感方法,其分析步骤如下:

[0009] 1. 复合富集试剂 (PS-Ab) (1) 的制备

[0010] 1.1 磷酸盐缓冲溶液的配制:磷酸氢二钠 (0.2M) 和磷酸二氢钠 (0.2M) 按照一定量的比例混合,配制成 0.01M 磷酸盐缓冲溶液, $\text{pH} = 7.0-7.4$ 。

[0011] 1.2 封闭液的配制:用摩尔浓度为 0.01M、 $\text{PH} = 7.4$ 的 PBS 溶解牛血清蛋白 (BSA) 使其重量百分比浓度为 0.1-1%;溶解后牛血清蛋白 (BSA) 的优选重量百分比浓度为 0.1% -1%。

[0012] 1.3PS 微球的活化:取 2-10mg 颗粒直径为 500-2000nm、具有氨基或羧基的 PS 微球于 1.5mL 离心管中,置于超声波清洗器中超声 30s 后放入涡旋振荡器中振荡 10s,以 5000-8000rpm 的离心力离心 5min-10min 后倒掉废液,然后每次用 200 μL 磷酸盐-氢氧化钠缓冲溶液洗涤,洗涤 2-3 次;再加入 80-300 μL 上述磷酸盐-氢氧化钠缓冲溶液复溶,加入 5-20 μL 质量浓度为 50mg/ml 的 N-羟基琥珀酰亚胺 (N-Hydroxysulfosuccinimide sodium salt, NHS) 和 5-20 μL 质量浓度为 50mg/ml 的 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 [1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride, EDC], 摇振 20min;以 5000-8000rpm 离心力离心 5min-10min 后倒掉废液,每次用 200 μL 摩尔浓度为 0.01M、 $\text{PH} = 7.4$ 的 PBS 洗涤,洗涤 2-3 次,再溶于 50-300 μL 上述磷酸盐缓冲溶液,得到活化的 PS 微球悬浮液。

[0013] 1.4 抗生物大分子的抗体 (Ab) 与活化 PS 微球的偶联:取 80-100 μL 上述活化微球悬浮液于离心管中,加入 0.1-0.5mgAb (蛋白含量:5-10mg/mL), 摇振 0.5-2 小时,以 5000-8000rpm 离心力离心 5-10min 后倒掉废液,再溶于 500-1000 μL 上述封闭液,得到固定有 Ab 的微球即复合富集试剂 (PS-Ab) (1), 保存于 4°C 冰箱中。

[0014] 2. 磁共振弛豫时间传感探针 (MRS) (4) 的制备

[0015] 2.1SMP 微球活化:取 200-500 μL 颗粒直径为 20-60nm 的 SMP 微球于 1.5mL 离心管中,置于超声波清洗器中超声 30s 后放入涡旋振荡器中振荡 10s,再加入 5-20 μL 质量浓度为 50mg/ml 的 NHS 和 5-20 μL 质量浓度为 25mg/ml 的 EDC, 摇振 10-20min 进行活化,待磁

分离柱纯化。

[0016] 2.2 磁分离柱纯化:将内径为 1mm 的磁分离柱放在梯度磁场磁分离架上,取 400-600 μ L 上述活化好的 SMP 微球悬浮液至磁分离柱中,过柱使其吸附在磁分离柱上,然后加入 1000-3000 μ L 上述 PBS 磷酸盐缓冲溶液洗涤以除去过量 EDC、NHS 及副产物;然后取下磁分离柱,再加入 500-1000 μ L 上述磷酸盐缓冲溶液淋洗磁分离柱,得到纯化的活化 SMP 微球悬浮液。

[0017] 2.3 抗生物大分子抗体 (Ab) 与 SMP 微球的偶联:将上述纯化的活化 SMP 微球悬浮液转移至离心管中,加入 0.1-0.3mg Ab (蛋白含量 5-10mg/mL), 摇振 0.5-2 小时,经梯度磁场分离柱分离去除未反应完全的抗体,然后取下磁分离柱,再加入 500-1000 μ L 上述封闭液淋洗,得到固定有 Ab 的 MRS(4) 悬浮液,保存于 4℃。

[0018] 3. 免疫亲和富集 - 磁共振弛豫时间传感检测步骤

[0019] 3.1 标准曲线制作

[0020] 3.1.1 PS-Ab(1) 微球亲和富集:取 100 μ L 上述 PS-Ab(1) 溶液与 1000 μ L 不同浓度梯度的生物大分子 (Ag) (2) 标准系列分别混合在 1.5mL 离心管中,室温下涡旋 10min,经 5000rpm 的离心力下离心 5min,用 100 μ L 上述磷酸盐缓冲溶液复溶,制得系列捕获 Ag 的 PS 微球复合物 (PS-Ab-Ag) (3)。

[0021] 3.1.2 免疫反应:分别取 100 μ L 上述系列 PS-Ab-Ag(3) 微球复合物于 96 孔细胞培养板中,分别加入 100 μ L 上述 MRS(4),于 37℃ 下反应 15min,制得待测 PS-Ab-Ag-MRS(5) 的标准系列。

[0022] 3.1.3 磁共振弛豫时间测试:分别取 180 μ L 上述 PS-Ab-Ag-MRS(5) 的标准系列至核磁共振试管中,用低场核磁共振检测仪分别测量待测试样及阴性样品的横向弛豫时间。以弛豫时间改变量 (ΔT_2) 为纵坐标,以生物大分子 Ag 含量为横坐标,绘制成标准曲线。其中, ΔT_2 按照式 (1) 表示。

[0023] $\Delta T_2 = T_{2sample} - T_{2blank} \dots \dots \dots (1)$

[0024] 式中:

[0025] $T_{2sample}$:待测试样弛豫时间三次平行测量平均值;

[0026] T_{2blank} :阴性样品弛豫时间三次平行测量平均值。

[0027] 3.2 试样测定

[0028] 以待测实际样品替代标准系列,按 3.1 标准曲线制作的操作步骤进行测试,根据实际样品测得的弛豫时间,从上述标准曲线中推导出实际样品中生物大分子 (Ag) (2) 的含量。

附图说明

[0029] 图 1:使用聚苯乙烯微球捕获生物大分子示意图。

[0030] 1 为复合富集试剂 (PS-Ab) 2 为生物大分子 (Ag); ;3 为 PS-Ab-Ag 复合物

[0031] 图 2:磁共振免疫传感原理示意图。

[0032] 3 为生物大分子 -PS 微球复合物 ;4 为磁传感探针 (MRS) ;5 为 PS-Ab-Ag-MRS 聚集团簇

具体实施方式

[0033] 本发明通过以下实施例作进一步具体描述。

[0034] 实施例 1 :模拟样品的制备

[0035] 以检测样品中玉米枯萎菌含量为例。

[0036] 取 20 粒玉米种子样品于 50mL 离心管中,用 30mL 3-5% 的 NaClO 浸泡消毒处理 5min-15min,用 10mL 无菌水冲洗 3 次。用 40mL PBS 缓冲溶液 (0.01mol/L, pH7.4) 浸泡,4℃ 过夜。将浸泡液移入离心管,以 1000r/min 离心 10min,取上清液移入另外离心管,以 10000r/min 离心 15min,弃去上清液,用 100mL 上述 PBS 缓冲溶液悬浮沉淀,制备成玉米种子基质液。用该基质液作为稀释液配制成不同含量玉米枯萎细菌 (10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 , 10 and 0 cfu/mL) 的系列阳性样品。不加玉米枯萎细菌,按上述操作步骤制备阴性样品。

[0037] 实施例 2 :复合试剂 PS-Ab 偶联物的制备

[0038] 以检测样品中玉米枯萎菌含量为例。

[0039] 1. 磷酸盐缓冲溶液的配制:磷酸氢二钠 (0.2M) 和磷酸二氢钠 (0.2M) 按照 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4 = 4 : 1$ 比例) 混合,配制成 0.01M 磷酸盐缓冲溶液, pH = 7.4。

[0040] 2. 封闭液的配制:用摩尔浓度为 0.01M、PH = 7.4 的 PBS 溶解牛血清蛋白 (BSA) 使其重量百分比浓度为 0.5%。

[0041] 3. PS 微球的活化:取 5mg 颗粒直径为 1000nm 羧基的 PS 微球于 1.5mL 离心管中,置于超声波清洗器中超声 30s 后放入涡旋振荡器中振荡 10s,以 6000rpm 的离心力离心 8min 后倒掉废液,然后每次用 200 μ L 磷酸盐 - 氢氧化钠缓冲溶液洗涤,洗涤 2-3 次;再加入 150 μ L 上述磷酸盐 - 氢氧化钠缓冲溶液复溶,加入 10 μ L 质量浓度为 50mg/ml 的 NHS 和 10 μ L 质量浓度为 50mg/ml 的 EDC,摇振 20min;以 5000rpm 离心力离心 10min 后倒掉废液,每次用 200 μ L 摩尔浓度为 0.01M、PH = 7.4 的 PBS 洗涤,洗涤 2-3 次,再溶于 200 μ L 上述磷酸盐缓冲溶液,得到活化的 PS 微球悬浮液。

[0042] 4. 玉米枯萎菌抗体与活化 PS 微球的偶联:取 100 μ L 上述活化微球悬浮液于离心管中,加入 0.3mg 玉米枯萎菌多克隆抗体 (蛋白含量:10mg/mL),摇振 1 小时,以 8000rpm 离心力离心 6min 后倒掉废液,再溶于 600 μ L 上述封闭液,得到固定有玉米枯萎菌多克隆抗体的微球即复合富集试剂 (1),保存于 4℃ 冰箱中。

[0043] 实施例 3 :磁共振磁弛豫时间传感探针 (MRS) 的制备

[0044] 以检测样品中玉米枯萎菌含量为例。

[0045] 1. SMP 微球活化:取 300 μ L 颗粒直径为 50nm 的 SMP 微球于 1.5mL 离心管中,置于超声波清洗器中超声 30s 后放入涡旋振荡器中振荡 10s,再加入 10 μ L 质量浓度为 50mg/ml 的 NHS 和 10 μ L 质量浓度为 25mg/ml 的 EDC,摇振 15min 进行活化,待磁分离柱纯化。

[0046] 2. 磁分离柱纯化:将内径为 1mm 的磁分离柱放在梯度磁场磁分离架上,取 500 μ L 上述活化好的 SMP 微球悬浮液至磁分离柱中,过柱使其吸附在磁分离柱上,然后加入 1500 μ L 上述 PBS 磷酸盐缓冲溶液洗涤以除去过量 EDC、NHS 及副产物;然后取下磁分离柱,再加入 800 μ L 上述磷酸盐缓冲溶液淋洗磁分离柱,得到纯化的活化 SMP 微球悬浮液。

[0047] 3. 玉米枯萎菌 MRS 制备:将上述纯化的活化 SMP 微球悬浮液转移至离心管中,加入 0.3mg 玉米枯萎菌单克隆抗体 (蛋白含量 5mg/mL),摇振 0.5 小时,经梯度磁场分离柱分离去除未反应完全的抗体,然后取下磁分离柱,再加入 500-1000 μ L 上述封闭液淋洗,得到

玉米枯萎菌 MRS (4), 保存于 4℃。

[0048] 实施例 4 : 细菌生物大分子检测

[0049] 以检测样品中玉米枯萎菌含量为例。

[0050] 1. 标准曲线的绘制

[0051] 1) 玉米枯萎菌的富集

[0052] 分别取玉米枯萎细菌 (2) 标准系列 ($10^7, 10^6, 10^5, 10^4, 10^3, 10^2, 10^1$ and 0 cfu/mL) 于 1.5mL 离心管中, 加入 100 μ L 粒径为 1000nm 的 PS-Ab (1), 涡流旋转 10min, 以 5000rpm 离心力离心 5min, 弃上清液, 用 100 μ L 上述 PBS 缓冲溶液复溶, 得 PS-Ab-Ag (3) 微球复合物标准系列。

[0053] 2) 免疫反应

[0054] 分别取上述 PS-Ab-Ag (3) 微球聚合物标准系列于 96 孔细胞培养板中, 分别加入 100 μ L 颗粒直径为 50nm 的 MRS (4), 于 37℃ 反应 15min, 得到 PS-Ab-Ag-MRS (5) 复合物, 待测。

[0055] 3) 仪器测试

[0056] 用低场核磁共振分析仪 (1.5T) 对上述试样进行弛豫时间测量, 以弛豫时间改变量 (ΔT_2) 为纵坐标, 以样品中玉米枯萎菌含量为横坐标, 绘制成标准曲线。

[0057] 仪器参数如下: 磁场强度 59.095MHz (^1H), 磁体温度 40℃, CPMG 序列 Carr-Purcell-Meiboom-Gill pulse sequence, 1500 个自旋回波, 回旋时间 2ms, 重复时间 3s。

[0058] 2. 实际样品检测

[0059] 以实施例 1 制备的模拟样品为例, 按上述步骤操作, 根据标准曲线中弛豫时间的改变量和分析物浓度之间的关系, 测得样品中玉米枯萎细菌浓度。

[0060] 实施例 5 : 病毒生物大分子检测

[0061] 以 H9N2 亚型禽流感病毒检测为例。

[0062] 1. 标准曲线绘制

[0063] 1) 病毒的富集

[0064] 用 H9N2 亚型禽流感病毒接种鸡胚, 获鸡胚尿囊液。用上述 PBS 缓冲溶液进行连续倍比稀释, 直至稀释至 2^{12} 倍。分别取 1000 μ L 不同稀释比的 H9N2 亚型禽流感病毒 (2) ($2^{12}, 2^{11}, 2^{10}, 2^9, 2^8, 2^7, 2^6, 2^5, 2^4, 2^3, 2^2$, 和 2^0) 于 1.5mL 离心管中, 分别加入 100 μ L 粒径为 1000nm 的 PS-Ab (1) 微球, 涡流旋转 10min 后, 以 5000rpm 离心力离心 5min, 弃上清液, 用 100 μ L 上述 PBS 缓冲溶液复溶, 得 PS-Ab-Ag (3) 微球聚合物标准系列。

[0065] 2) 免疫反应

[0066] 分别取上述 PS-Ab-Ag (3) 微球聚合物标准系列于 96 孔细胞培养板中, 分别加入 100 μ L 颗粒直径为 50nm 的 MRS (4), 于 37℃ 反应 15min, 得到 PS-Ab-Ag-MRS (5) 复合物, 待测。

[0067] 3) 仪器测试

[0068] 用低场核磁共振分析仪 (1.5T) 对上述试样进行弛豫时间测量, 以弛豫时间改变量 (ΔT_2) 为纵坐标, 以样品中玉米枯萎菌含量为横坐标, 绘制成标准曲线。

[0069] 仪器参数如下: 磁场强度 59.095MHz (^1H), 磁体温度 40℃, CPMG 序列

Carr-Purcell-Meiboom-Gill pulse sequence, 1000 个自旋回波, 回旋时间 2ms, 重复时间 2s。

[0070] 2. 实际样品检测

[0071] 以样品代替 H9N2 亚型禽流感病毒标准系列, 按上述步骤操作, 根据标准曲线中弛豫时间的改变量和待测物浓度之间的关系, 测得样品中 H9N2 亚型禽流感病毒含量。

[0072] 本发明所需的细菌和病毒抗原可到相关专业的研究单位、公司购买或定制; 所需的仪器、设备、试剂均有市售。

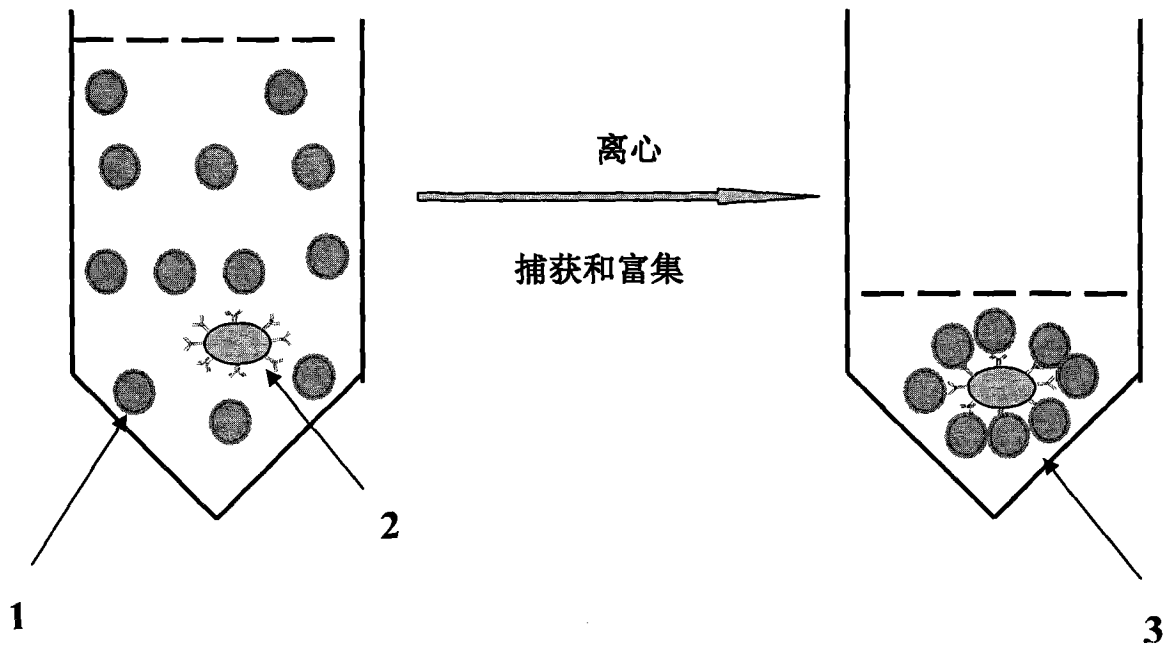


图 1

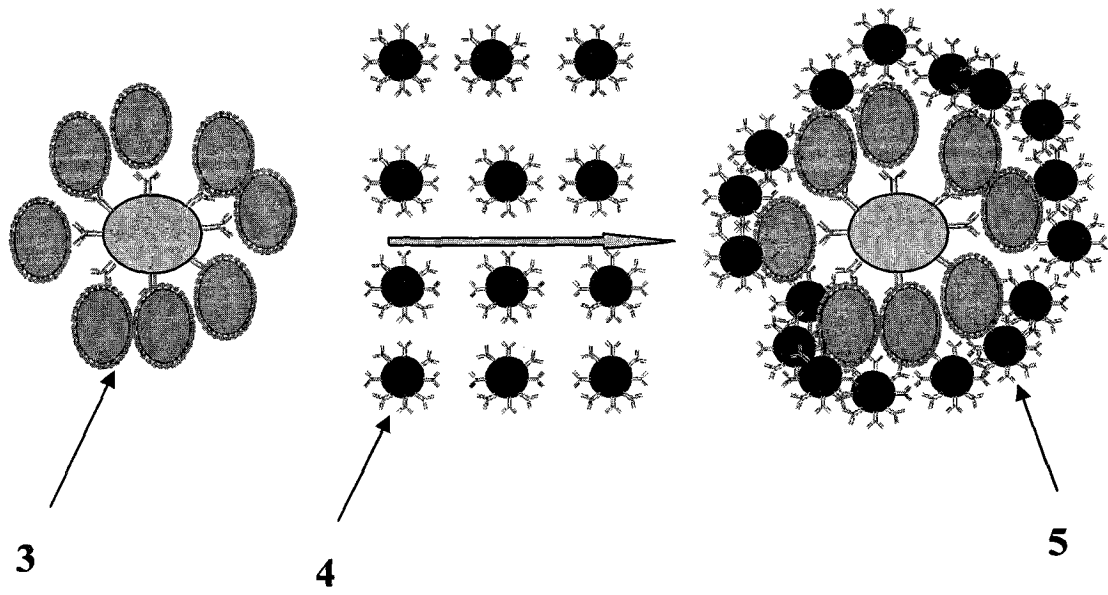


图 2

专利名称(译)	一种检测生物大分子的磁共振免疫传感方法		
公开(公告)号	CN103278521A	公开(公告)日	2013-09-04
申请号	CN201310222453.4	申请日	2013-06-06
申请(专利权)人(译)	中国检验检疫科学研究院		
当前申请(专利权)人(译)	中国检验检疫科学研究院		
[标]发明人	邹明强 陈翊平		
发明人	邹明强 陈翊平		
IPC分类号	G01N24/08 G01N33/531 G01N33/569		
优先权	201210500073.8 2012-11-30 CN		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种检测生物大分子的磁共振弛豫时间免疫传感方法。采用聚苯乙烯微球经偶联上特异性抗体(1)后用以捕获样品中生物大分子抗原(2)，可特异性结合基于超顺磁纳米颗粒的弛豫时间传感探针(4)，使其由原来的分散状态变为聚集的团簇状态，进而引起周围水分子质子的弛豫时间改变，根据改变量与生物大分子(2)含量的函数关系使用低场核磁共振仪进行检测。采用所述聚苯乙烯微球-抗体偶联物(1)克服了磁共振免疫反应空间位阻并增加了特异性结合位点。与通常的磁共振弛豫时间传感方法相比，使用本发明的方法可显著提高生物大分子(2)检测灵敏度，样品前处理步骤简便，分析速度快，具有十分广泛的应用前景和开发价值。

