



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111154001 A

(43)申请公布日 2020.05.15

(21)申请号 201911402102.5

G01N 33/531(2006.01)

(22)申请日 2019.12.30

(71)申请人 南昌大学

地址 330000 江西省南昌市红谷滩新区学府大道999号

(72)发明人 钟引凤 涂追 黄云祥 刘贝
付金衡 李燕萍 何庆华

(74)专利代理机构 北京众合诚成知识产权代理有限公司 11246

代理人 袁红梅

(51)Int.Cl.

C07K 19/00(2006.01)

C12N 15/62(2006.01)

C12N 15/70(2006.01)

C07K 1/22(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页
序列表3页 附图1页

(54)发明名称

一种黄曲霉毒素B₁纳米抗体免疫吸附材料及其制备方法和应用

(57)摘要

本发明涉及基因工程抗体技术及分子克隆技术,具体涉及一种黄曲霉毒素B₁纳米抗体免疫吸附材料,为偶联黄曲霉毒素B₁纳米抗体融合蛋白的琼脂糖凝胶,黄曲霉毒素B₁纳米抗体融合蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.1所示,其核酸序列如SEQ ID NO.2所示。本发明采用基因工程技术,将特异性针对黄曲霉毒素B₁的单域重链抗体与自偶连标签蛋白融合,可实现重组表达配基的免纯化、特异性一步定向偶联,极大地简化亲和吸附材料的制备流程,降低成本,同时,避免了传统偶联方法存在的配基结合位点占用,从而提高免疫亲和吸附材料的吸附容量。



1. 一种黄曲霉毒素B₁纳米抗体免疫吸附材料,其特征在于,所述吸附材料为偶联黄曲霉毒素B₁纳米抗体融合蛋白的琼脂糖凝胶,所述黄曲霉毒素B₁纳米抗体(G8-Halo)融合蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.1所示,其核酸序列如SEQ ID NO.2所示。

2. 根据权利要求1所述的一种黄曲霉毒素B₁纳米抗体免疫吸附材料的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) G8-Halo表达载体的构建:以pET-25b-G8-DIG3为模板,以G8-F0与G8-R0为引物进行PCR扩增获得PCR产物,用Sfi I、Nde I对G8的目的基因与pET-30a-T9-Halo进行双酶切,琼脂糖凝胶电泳验证双酶切产物并使用割胶回收试剂盒对目的基因和载体进行回收;将纯化回收的目的基因与载体按摩尔比10:1的比例配置连接体系,并将连接产物钙转化至DH5 α 感受态细胞中,37℃倒置培养过夜;用引物T7-promer和G8-R0确定是否插入目的基因,挑选阳性克隆子进行酶切验证,与预期结果一样的测序,得到片段G8-Halo及其DNA序列;

(2) G8-Halo的融合表达:将pET-30a-G8-Halo载体转化至BL21 (DE3) 感受态细胞中培养,当OD₆₀₀=0.5时,向培养物中加入IPTG诱导剂于18℃进行诱导培养;培养物离心,收集菌体沉淀用PBS缓冲液重悬菌体沉淀,将细胞悬液超声破碎至悬液澄清,离心后分别收集上清和沉淀,用Ni柱纯化获得G8-Halo蛋白;

(3) G8-Halo蛋白的固定化与偶联:取Halolink Resin离心后弃上清,加入binding buffer充分混匀,离心后弃上清,重复操作2次,用binding buffer重悬Halolink Resin,加入G8-Halo蛋白充分混匀,室温振荡使Halolink Resin始终悬浮于结合缓冲液中;加入1mL wash buffer充分混匀,离心后弃上清,重复操作2次;获得偶联黄曲霉毒素B₁纳米抗体融合蛋白的琼脂糖凝胶。

3. 装载有如权利要求1所述的一种黄曲霉毒素B₁纳米抗体免疫吸附材料的亲和柱。

4. 根据权利要求3所述的亲和柱的制备方法,其特征在于,取3mL空层析柱管,组装好后将制备的琼脂糖凝胶注入柱内至1mL,缓慢加入平衡缓冲液稳定凝胶面后,待凝胶面稳定后缓慢加入20%乙醇至整个柱填料,封住柱底置于4℃冰箱中储存。

5. 根据权利要求3所述的亲和柱的应用,其特征在于,所述黄曲霉毒素B₁纳米抗体免疫亲和柱对上机前样品提取液进行净化与浓缩。

6. 根据权利要求5所述的亲和柱的应用,其特征在于,所述亲和柱用超纯水清洗柱体,再用PBS缓冲液平衡免疫亲和柱,加入样品提取稀释液,PBS缓冲液洗去杂质,甲醇洗脱,收集洗脱液,即获得净化与浓缩后的样品提取液。

一种黄曲霉毒素B₁纳米抗体免疫吸附材料及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及基因工程抗体技术及分子克隆技术,特别是针对黄曲霉毒素B₁单域重链抗体的免疫亲和材料的制备。

背景技术

[0002] 黄曲霉毒素(Aflatoxin,AF)是由黄曲霉(*Aspergillus flavus*)和寄生曲霉(*Aspergillus parasiticus*)产生的次级代谢产物,具有致畸、致癌、致突变的危害,尤以黄曲霉毒素B₁的危害最为严重。许多国家都对食品中的黄曲霉毒素B₁做了限量标准,但真菌毒素多为痕量检测,且受污染的对象基质,多比较复杂,增大了检测难度。因此其前处理技术的好坏在很大程度上决定了检测结果的准确与否。近几年来,免疫亲和层析柱已被广泛应用于真菌毒素的净化处理,免疫亲和柱可选择性地将真菌毒素从提取液中分离出来,提高荧光分析的灵敏性,降低检测限。

[0003] 免疫亲和吸附材料的制备过程涉及载体的选择、空白介质活化、配基偶联、封闭未偶联位点,以及清洗保存等步骤,其中介质活化及配基偶联过程是影响介质性能的关键。且市场上的免疫亲和柱多由单克隆抗体和多克隆抗体制备而成,具有价格昂贵、特异性差、产品不稳定等问题。

发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种针对黄曲霉毒素B₁的免疫亲和吸附材料,可以被用于纯化和检测AFB₁。

[0005] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案是:

[0006] 本发明提供一种黄曲霉毒素B₁纳米抗体免疫吸附材料,所述吸附材料为偶联黄曲霉毒素B₁纳米抗体融合蛋白的琼脂糖凝胶,所述黄曲霉毒素B₁纳米抗体(G8-Halo)融合蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.1所示,其核酸序列如SEQ ID NO.2所示。

[0007] 本发明还提供了上述黄曲霉毒素B₁纳米抗体免疫吸附材料的制备方法,包括以下步骤:

[0008] (1) G8-Halo表达载体的构建:以pET-25b-G8-DIG3为模板,以G8-F0与G8-R0为引物进行PCR扩增获得PCR产物,用Sfi I、Nde I对G8的目的基因与pET-30a-T9-Halo进行双酶切,琼脂糖凝胶电泳验证双酶切产物并使用割胶回收试剂盒对目的基因和载体进行回收;将纯化回收的目的基因与载体按摩尔比10:1的比例配置连接体系,并将连接产物钙转化至DH5 α 感受态细胞中,37℃倒置培养过夜;用引物T7-promer和G8-R0确定是否插入目的基因,挑选阳性克隆子进行酶切验证,与预期结果一样的测序,得到片段G8-Halo及其DNA序列;

[0009] (2) G8-Halo的融合表达:将pET-30a-G8-Halo载体转化至BL21(DE3)感受态细胞中培养,当OD₆₀₀=0.5时,向培养物中加入IPTG诱导剂于18℃进行诱导培养;培养物离心,收集菌体沉淀用PBS缓冲液重悬菌体沉淀,将细胞悬液超声破碎至悬液澄清,离心后分别收集上

清和沉淀,用Ni柱纯化获得G8-Halo蛋白;

[0010] (3) G8-Halo蛋白的固定化与偶联:取Halolink Resin离心后弃上清,加入binding buffer 充分混匀,离心后弃上清,重复操作2次,用binding buffer重悬Halolink Resin,加入 G8-Halo蛋白充分混匀,室温振荡使Halolink Resin始终悬浮于结合缓冲液中;加入 1mL wash buffer充分混匀,离心后弃上清,重复操作2次;获得偶联黄曲霉毒素B1纳米抗体融合蛋白的琼脂糖凝胶。

[0011] 利用偶联黄曲霉毒素B1纳米抗体融合蛋白的琼脂糖凝胶制备亲和柱,上述取3mL空层析柱管,组装好后将制备的琼脂糖凝胶注入柱内至1mL,缓慢加入平衡缓冲液稳定凝胶面后,待凝胶面稳定后缓慢加入20%乙醇至整个柱填料,封住柱底置于4℃冰箱中储存。

[0012] 利用上述亲和柱对样品提取液进行净化与浓缩,将亲和柱用超纯水清洗柱体,再用 PBS缓冲液平衡免疫亲和柱,加入样品提取稀释液,PBS缓冲液洗去杂质,甲醇洗脱,收集洗脱液,即获得净化与浓缩后的样品提取液。

[0013] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:

[0014] 本发明采用基因工程技术,将特异性针对黄曲霉毒素B₁的单域重链抗体与自偶连标签蛋白融合,可实现重组表达配基的免纯化、特异性一步定向偶联,极大地简化亲和吸附材料的制备流程,降低成本,同时,避免了传统偶联方法存在的配基结合位点占用,从而提高免疫亲和吸附材料的吸附容量。纳米抗体具有耐酸碱、热稳定、易表达、特异性高等优点。本发明提供的由黄曲霉毒素B₁单域重链抗体的融合蛋白制成的免疫亲和吸附材料价格便宜、可反复使用、特异性好、吸附容量高,具有广泛的商业用途。

附图说明

[0015] 图1为菌落PCR鉴定转化子;泳道M:DNA分子量marker;泳道1-9:随机挑选克隆的菌落PCR产物。

[0016] 图2为重组融合蛋白SDS-PAGE结果。泳道M:蛋白质分子量marker;泳道1:细胞破碎上清流穿液;泳道2:洗涤液;泳道3:洗脱液。

具体实施方式

[0017] 下面通过载体的构建表达、融合蛋白的表达及免疫亲和材料的制备及应用,对本发明做进一步说明,这些具体实施例不应以任何方式被解释为限制本发明的应用范围。

[0018] 实施例1:

[0019] (1) pET-30a-G8-Halo载体的构建

[0020] 以含有抗AFB₁纳米抗体编码基因的载体pET-25b-G8-DIG3 (“基于纳米抗体-碱性磷酸酶融合蛋白的一步酶联免疫吸附分析法检测黄曲霉毒素B₁”中公开序列,实验室自制,) 为模板,以表1中的G8-F0与G8-R0为引物进行PCR扩增获得PCR产物。PCR反应50uL 体系为:ddH₂O37.5uL,模板 (pET-25-G8-DIG 1ng/uL) 1uL,dNTP (2.5mM) 4uL,5×PS Buffer 5uL,G8-F0 1uL,b72℃30s,共经25个循环,最后72℃10min充分延伸。G8 (F0/R0) PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳分离后为409bp,用TaKaRa Fragment Purification Kit纯化。

[0021] 表1 PCR引物

	引物名称	序列
	G8-F0	5'-ggaattccatagGCCCAGCTGCAATTAGTGG-3'
	G8-R0	5'-tcgcggccggctgggcccTGACTTGAGACAGTGACTTG-3'
[0022]	T7-promter	5'-TAATACGACTCACTATAGgg

[0023] 注：下划线为酶识别位点

[0024] 用SfiI、NdeI对编码G8的PCR产物和含有Halo标签编码基因的质粒载体 pET-30a-T9-Halo("One-step orientated immobilization of nanobodies and its application for immunoglobulin purification."已公开)进行双酶切,琼脂糖凝胶电泳验证双酶切产物并使用割胶回收试剂盒对目的基因和载体进行回收。将纯化回收的目的基因与载体按摩尔比10:1的比例配置连接体系,16℃金属浴连接过夜,并将连接产物钙转化至DH5α感受态细胞中,37℃倒置培养过夜。用引物T7-promer和G8-R0初步确定是否插入目的基因。

[0025] 挑选阳性克隆子(图1)进行酶切验证,与预期结果相符的送公司测序,得到片段G8-Halo的DNA序列,G8-Halo的核酸序列具体如SEQ ID NO.2所示。

[0026] 依据DNA测序结果及密码子表可获得针对黄曲霉毒素B1的纳米抗体融合蛋白的氨基酸序列及G8-Halo的氨基酸序列如SEQ ID NO.1所示。

[0027] 实施例2:G8-Halo纳米抗体的融合表达

[0028] 将测序正确的pET-30a-G8-Halo载体转化至BL21(DE3)感受态细胞中,从平板上挑取单菌落接种于LB-K试管培养基中,37℃220rpm过夜培养;将上述菌液按1%接种量接种于50mL LB-K培养基中,37℃、220rpm振荡培养,当OD₆₀₀=0.5时,向培养物中加入IPTG诱导剂至最终浓度为0.5mM,随后将其置于18℃进行诱导培养12h。

[0029] 将上一步诱导表达后的培养物8000rpm离心20min,收集菌体沉淀用1/10体积的PBS缓冲液重悬菌体沉淀,将细胞悬液超声破碎10min至破碎细胞悬液澄清,4℃,8000 rpm离心20min后分别收集上清和沉淀;SDS-PAGE分析目的蛋白表达情况(图2),然后再将蛋白用Ni柱进行纯化。

[0030] 实施例3:Halo-Tag蛋白的固定化与偶联

[0031] 取50μL Halolink Resin(购自Promega,胶体积,下同)置于1.5mL离心管中,3000 rpm离心1min后弃上清。向上一步离心管中加入400μL binding buffer(100mM Tris、150mM NaCl、5%甘油pH 7.6)充分混匀,3000rpm离心2min后弃上清,重复操作2次。100μL binding buffer重悬Halolink Resin,加入50μL Halo-Tag标签的蛋白充分混匀,室温振荡2h使Halolink Resin始终悬浮于结合缓冲液中。3000rpm离心2min后取上清,用Bradford法测定上清液中蛋白浓度并计算偶联量。加入1mL wash buffer(100mM Tris、150mM NaCl、5%甘油、1mg/mL BSA pH 7.6)充分混匀,室温振荡5min,3000 rpm离心2min后弃上清,重复操作2次。

[0032] 装柱:取3mL空层析柱管,组装好后将制备的琼脂糖凝胶注入柱内至1mL,缓慢加入平衡缓冲液稳定凝胶面后,待凝胶面稳定后缓慢加入20%乙醇至整个柱填料,封住柱底置

于4℃冰箱中储存。通过Bradford法测定反应前、后抗体含量(595nm),并计算偶联量。根据公式:偶联量=(偶联前抗体总量-偶联后抗体总量)/胶体积

[0033] 实施例4:亲和层析材料用于AFB₁检测样品前处理

[0034] 将实施例3制备的免疫亲和柱用5mL超纯水清洗柱体,再用5mL 1×PBS缓冲液(pH=7.4)平衡免疫亲和柱,加入5mL 100ng/mL AFB₁的标品,5mL 1×PBS缓冲液(pH=7.4)洗去杂质,1mL甲醇洗脱,收集洗脱液用高效液相色谱检测AFB₁的含量,计算得出亲和层析柱的柱容量为135~200ng。

[0035] 分别称取5g研磨后的AFB₁阴性玉米、小麦试样(精确至0.01g)于50mL离心管中,添加AFB₁标准品至终浓度10μg/kg,50μg/kg,100μg/kg,加入20.0mL乙腈-水溶液(84+16)或甲醇-水溶液(70+30),涡旋混匀,置于超声波/涡旋振荡器或摇床中振荡20min(或用均质器均质3min),在6000r/min下离心10min(或均质后玻璃纤维滤纸过滤),取上清液备用。将实施例3制备的免疫亲和柱用5mL超纯水清洗柱体,再用5mL 1×PBS缓冲液(pH=7.4)平衡免疫亲和柱,加入10mL样品提取稀释液,5mL 1×PBS缓冲液(pH=7.4)洗去杂质,1mL甲醇洗脱,收集洗脱液用高效液相色谱检测AFB₁的含量,计算回收率,每个加标浓度设置3个平行实验。结果如表2所示,制备的亲和柱对AFB₁的平均回收率为90.5~97.8%,重复使用10次后,亲和柱对AFB₁回收率大于85%。

[0036] 表2亲和层析加标回收实验结果

	样品	加标量	回收率	相对标准偏差(%)
		(μg/kg)	(%)	
[0037]	玉米	10	90.5	6.1
		50	95.4	6.0
		100	96.7	7.9
	小麦	10	97.8	6.0
		50	90.6	6.6
		100	94.5	8.9

序列表

<110> 南昌大学

<120> 一种黄曲霉毒素B1纳米抗体免疫吸附材料及其制备方法和应用

<160> 2

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 432

<212> PRT

<213> Lama pacos

<400> 1

```

Met Ala Gln Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
1           5           10           15
Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Gly Thr
           20           25           30
Ile Tyr Gly Met Gly Trp Phe Arg Glu Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
           35           40           45
Phe Val Ala Thr Leu Trp Trp Thr Val Gly Ala Pro Tyr Tyr Ala Asp
           50           55           60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Asp Lys Asn Thr
65           70           75           80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Thr Tyr
           85           90           95
Tyr Cys Ala Leu Asp Asn Arg Arg Ser Tyr Val Asp Tyr His Ser Val
           100          105          110
Ser Glu Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
           115          120          125
Gln Ala Gln Pro Ala Glu Ile Gly Thr Gly Phe Pro Phe Asp Pro His
           130          135          140
Tyr Val Glu Val Leu Gly Glu Arg Met His Tyr Val Asp Val Gly Pro
145          150          155          160
Arg Asp Gly Thr Pro Val Leu Phe Leu His Gly Asn Pro Thr Ser Ser
           165          170          175
Tyr Val Trp Arg Asn Ile Ile Pro His Val Ala Pro Thr His Arg Cys
           180          185          190
Ile Ala Pro Asp Leu Ile Gly Met Gly Lys Ser Asp Lys Pro Asp Leu
           195          200          205
Gly Tyr Phe Phe Asp Asp His Val Arg Phe Met Asp Ala Phe Ile Glu
210          215          220

```

Ala Leu Gly Leu Glu Glu Val Val Leu Val Ile His Asp Trp Gly Ser			
225	230	235	240
Ala Leu Gly Phe His Trp Ala Lys Arg Asn Pro Glu Arg Val Lys Gly			
	245	250	255
Ile Ala Phe Met Glu Phe Ile Arg Pro Ile Pro Thr Trp Asp Glu Trp			
	260	265	270
Pro Glu Phe Ala Arg Glu Thr Phe Gln Ala Phe Arg Thr Thr Asp Val			
	275	280	285
Gly Arg Lys Leu Ile Ile Asp Gln Asn Val Phe Ile Glu Gly Thr Leu			
	290	295	300
Pro Met Gly Val Val Arg Pro Leu Thr Glu Val Glu Met Asp His Tyr			
	305	310	315
Arg Glu Pro Phe Leu Asn Pro Val Asp Arg Glu Pro Leu Trp Arg Phe			
	325	330	335
Pro Asn Glu Leu Pro Ile Ala Gly Glu Pro Ala Asn Ile Val Ala Leu			
	340	345	350
Val Glu Glu Tyr Met Asp Trp Leu His Gln Ser Pro Val Pro Lys Leu			
	355	360	365
Leu Phe Trp Gly Thr Pro Gly Val Leu Ile Pro Pro Ala Glu Ala Ala			
	370	375	380
Arg Leu Ala Lys Ser Leu Pro Asn Cys Lys Ala Val Asp Ile Gly Pro			
	385	390	395
Gly Leu Asn Leu Leu Gln Glu Asp Asn Pro Asp Leu Ile Gly Ser Glu			
	405	410	415
Ile Ala Arg Trp Leu Ala Ala Ala Leu Glu His His His His His His			
	420	425	430

<210> 2

<211> 1297

<212> DNA

<213> Lama pacos

<400> 2

```

atggcccagc tgcaattagt ggagtcggga ggcggtctgg tgcaggccgg tgactcatta 60
cggctgagct gtgcagcaag cggacgcaca ggaacgattt acggtatggg ttggttccgg 120
gaagcccctg gtaaagagcg ggaatttgta gccacactgt ggtggacggc cggagcgcct 180
tattacgccg actccgtaaa aggccgcttt accatcagtc gtgataacga taagaatact 240
gtatatattgc aaatgaactc actgaaacct gaagacactg ccacatatta ttgtgccctg 300
gataatcggc gaagttatgt tgattatcac tcagtttccg agtacgatta ttggggacag 360
ggcacacaag tcaactgtctc aagtcaggcc cagccggccg agatcggtac cggcttcccc 420
tttgacccgc actacgttga ggtgctgggt gaacgtatgc actatgtgga cgttggtccg 480

```


cgtgatggca ccccggtgct gttcctgcac ggcaaccga ccagcagcta cgtgtggcgt 540
aacatcattc cgcacgttgc gccgaccac cgttgcatcg cgccgatct gattggtatg 600
ggcaagagcg acaaaccgga tctgggttat ttctttgacg atcacgtgcg tttcatggac 660
gcgtttatcg aagcgtggg cctggaggaa gtggttctgg ttattcacga ttggggtagc 720
gcgctgggct ttcactgggc gaagcgtaac ccggagcgtg ttaaaggtat cgcgttcattg 780
gaatttatcc gtccgattcc gacctgggac gaggggccg agttcgcgcg tgagaccttc 840
caggcgtttc gtaccaccga cgtgggcccgt aagctgatca tcgatcaaaa cgttttcatc 900
gaaggtagcc tgccgatggg cgtggttcgt ccgctgaccg aggtggaaat ggaccactac 960
cgtgagccgt tcctgaaccc ggttgatcgt gaaccgctgt ggcgttttcc gaacgagctg 1020
ccgatcgcg gtgaaccggc gaacattgtg gcgctggtt aggaatatat ggactggctg 1080
caccagagcc cgggtccgaa actgctgttc tggggtacc cgggcgttct gatcccgccg 1140
gcggaggcgg cgcgtctggc gaagagcctg ccgaactgca aagcgtgga tattggtccg 1200
ggcctgaacc tgctgcaaga ggacaaccg gatctgatcg gtagcgaaat tgcgcgttgg 1260
ctggcgcccg cactcgagca ccaccaccac caccact 1297



图1

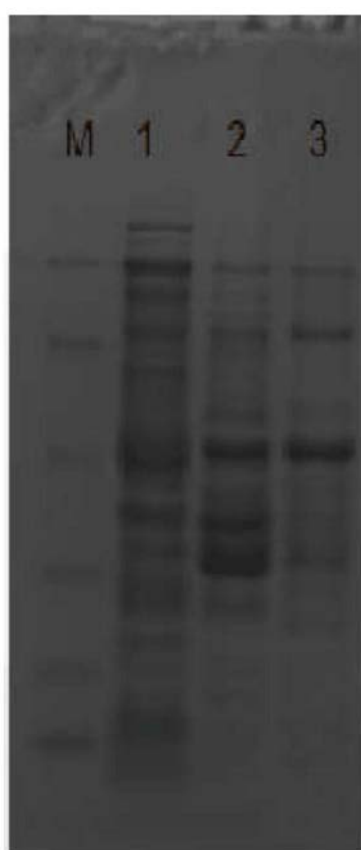


图2

专利名称(译)	一种黄曲霉毒素B1纳米抗体免疫吸附材料及其制备方法和应用		
公开(公告)号	CN111154001A	公开(公告)日	2020-05-15
申请号	CN201911402102.5	申请日	2019-12-30
[标]申请(专利权)人(译)	南昌大学		
申请(专利权)人(译)	南昌大学		
当前申请(专利权)人(译)	南昌大学		
[标]发明人	涂追 黄云祥 刘贝 付金衡 李燕萍 何庆华		
发明人	钟引凤 涂追 黄云祥 刘贝 付金衡 李燕萍 何庆华		
IPC分类号	C07K19/00 C12N15/62 C12N15/70 C07K1/22 G01N33/531		
代理人(译)	袁红梅		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及基因工程抗体技术及分子克隆技术，具体涉及一种黄曲霉毒素B1纳米抗体免疫吸附材料，为偶联黄曲霉毒素B1纳米抗体融合蛋白的琼脂糖凝胶，黄曲霉毒素B1纳米抗体融合蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.1所示，其核酸序列如SEQ ID NO.2所示。本发明采用基因工程技术，将特异性针对黄曲霉毒素B1的单域重链抗体与自偶连标签蛋白融合，可实现重组表达配基的免纯化、特异性一步定向偶联，极大地简化亲和吸附材料的制备流程，降低成本，同时，避免了传统偶联方法存在的配基结合位点占用，从而提高免疫亲和吸附材料的吸附容量。

