研究论文

# 利用人免疫球蛋白构建免疫磁珠富集金葡菌条件优化

梁光明[1]，刘 阳[2]，孙力军[*1]，王雅玲[*1]，徐德峰[1]，
刘唤明[1]，罗 林[2]，陈 宏[2]，励建荣[3]

（1. 广东海洋大学 食品科技学院，广东湛江 524088；2. 国家海产品质量监督检验中心，广东 湛江 524000；
3. 渤海大学 化学化工与食品安全学院，辽宁锦州，121013）

**摘要**：利用人免疫球蛋白制备富集金黄色葡萄球菌的免疫磁珠及优化条件；利用化学键法制备免疫磁珠，并用矩阵法和单因素法优化免疫磁珠制备条件，通过磁珠对抗体饱和吸附量及加入量相关性评价磁珠与抗体固定化程度，根据免疫磁珠的特异性、灵敏性及饱和捕捉量来考察 $IMB_{S.aureus}$ 对金葡菌的富集能力；结果显示采用 MB-M 型磁珠，加入质量浓度均为 5 mg/L 的活化剂 EDC 和 NHS，于 24 ℃偶联人 IgG，24 h 得到 $IMB_{S.aureus}$，其饱和吸附量为 393.27 μg，磁珠与人 IgG 加入量具有相关性，$IMB_{S.aureus}$ 特异性好、灵敏度高（26 CFU/10 mL），0.2 mL $IMB_{S.aureus}$ 饱和捕捉菌液浓度为 $10^6$ CFU/mL；通过优化，磁珠装载人 IgG 分子的能力提高了 5 倍，检测限提高了 4 倍，富集金葡菌的效率大大增强，成本降低，为人免疫球蛋白磁珠富集和分离金黄色葡萄球菌实际应用创造了条件。

**关键词**：金黄色葡萄球菌；免疫磁法；人免疫球蛋白；富集

**中图分类号**：Q 93-332；TS 207.4　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2013)03—0265—07

# Condition Optimization of Building Immunomagnetic Bead Using Human Immunoglobulin G for Enrichment *Staphylococcus aureus*

*LIANG Guang-ming*[1]，*LIU Yang*[2]　*SUN Li-jun*[*1]，*WANG Ya-ling*[*1]，*XU De-feng*[1]，
*LIU Huan-ming*[1]，*LUO Lin*[2]，*CHEN Hong*[2]，*LI Jian-rong*[3]

（1. College of Food Science，Guangdong Ocean University，Zhanjiang 524025，China；2. National Marine Products Quality Supervision & Inspection Center，Zhanjiang 524000，China；3. College of Chemistry，Chemical Engineering and Food Safety，Bohai University，Jinzhou 121013，China）

**Abstract**：The aim of this study is to determine the building conditions for developing immunomagnetic bead using human immunoglobulin G enrichment of *Staphylococcus aureus*. For this，the preparation conditions of immunomagnetic beads was optimized by matrix method and the single factor，and the the degree of fixed antibody to immunomagnetic bead was evulated by the amount of saturated adsorption capacity and correlation. Inspect enrichment ability of

**收稿日期**：2012-03-30

**基金项目**：国家自然科学基金项目(30972287)；国家“十二五”支撑计划项目(2012BAD29B06)；广东省教育厅及广东海洋大学引进人才基金项目(0812311)；广东省科技厅省部级产学研项目(2011B090400154)。

* **通信作者**：孙力军(1965—)，男，安徽凤阳人，工学博士，教授，硕士研究生导师，主要从事海产品质量与安全研究。E-mail：dfsun01@126.com
王雅玲(1965—)，女，辽宁凤城人，农学博士，教授，硕士研究生导师，主要从事海产品质量与安全研究。
E-mail：wangylchina@163.com



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

immunomagnetic bead to *Staphylococcus aureus* according to specificity, sensitivity and saturation catches. Aas a result, the homemade $IMB_{S.aureus}$ was obtained. The bead was adopted the type of MB-M, added activator combination EDC and NHS (5 mg/L), then incubated 24 h with human immunoglobulin G at 24 ℃; Adsorption capacity of $IMB_{S.aureus}$ was 393.27 μg; There was correlation between the contents of beads and human immunoglobulin G; $IMB_{S.aureus}$ has high specificity, sensitivity (26 CFU/10 mL) and catch capability. The aboved results demonstrated that Homemade $IMB_{S.aureus}$ exhibited the characters of stable property, strong accumulation ability and low costs. This manuscript provided a novel way to deal with rapid detection about food-borne pathogens.

**Keywords**: *Staphylococcus aureus*, Immunomagnetic bead-based separation, Human immunoglobulin G, Concentration

金黄色葡萄球菌(简称"金葡菌")可在各种恶劣环境下生长,并极易产生毒素(最低致病剂量为 1 μg/kg[1-3])。虽然目前检测金葡菌的方法较多,但是由于常规检测方法在菌浓度较低时易造成漏检,多数免疫学方法操作复杂,而灵敏度和准确性较好的分子学方法价格昂贵,需专业人员操作[4-5]等原因,使得金葡菌引起的食源性中毒事件依然发生。因此,亟待建立一种金葡菌快速检测方法弥补以上不足。

新兴技术免疫磁快速分离法可有效地收集、浓缩大量样品中的少量病原微生物,并且对目的菌的富集具有高分离率、高特异性、无污染、操作简便等特点。其原理是:磁珠在一定条件下结合抗体成为抗体-磁珠二联体,将其加入样品中,根据特异性结合原理形成抗原-抗体-磁珠复合物,即免疫磁珠(Immunomagnetic bead, IMB)在磁力作用下发生力学移动,使之与样品中的干扰物质分离,从而达到富集特定抗原的目的。目前,该方法已在分离致病性微生物方面取得了显著成绩,研究多集中于沙门氏菌[6-7]、大肠杆菌 O157:H7[8-11]、单增李斯特氏菌[12-14]、副溶血弧菌[15]等,其中免疫磁法分离大肠杆菌已纳入标准方法(SN 0169-2010)中。近年来,学者将该方法与其他方法(ELISA、PCR 等)相结合,在省略前增菌步骤的同时,IMB 凭借其高特异性,有效地提高了分离准确率(95%以上),可在 2~6 h 内完成检验[16]。

但是,现有的商品化免疫磁珠不仅价格昂贵,且品种不齐全,分离金葡菌的商品化免疫磁珠暂未问世。根据免疫磁珠分离原理,构建稳定高效的免疫磁珠的关键是获得高纯度的抗体。然而,商品化金葡菌抗体不易得到,需要经过繁琐的过程进行自制,纯度不易控制,且价格昂贵。目前已知,人免疫球蛋白的 Fc 片段具有与致病性金黄色葡萄球菌细胞表面一种特有的蛋白质(金葡菌 A 蛋白,SPA)特异性结合的能力[17],可以用于金葡菌的分离。目前,商品化人免疫球蛋白纯度高、稳定性好、价格合理、获得途径多,为制备稳定性好,分离效率高,价格合理的金黄色葡萄球菌免疫磁珠提供了有利条件。本文作者拟对用于富集金葡菌的人免疫球蛋白免疫磁珠的制备条件进行优化,为构建高效快速的金黄色葡萄球菌快速检测技术奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

AllMag 超顺磁性聚合物纳米微球(简称磁珠),购自上海奥润微纳新材料科技有限公司。选用磁珠型号分别为 PM3-008(简称 MB-S),PM3-020(简称 MB-M),PM3-100(简称 MB-B)。3 种磁珠均为单分散系列,表面基团为羧基,平均粒径分别为 100 nm,180 nm 和 1 000 nm。

碳二亚胺(EDC)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)、2-吗啉乙磺酸(MES),购于广州齐云生物科技有限公司;人免疫球蛋白(简称"人 IgG"),购于上海鼎国生物科技有限公司。

### 1.2 $IMB_{S.aureus}$ 制备条件的优化

磁珠中加入活化缓冲液(0.1 mol/L MES 和体积分数 0.05%的吐温-20,pH 6.0~6.5)调节 pH;先后加入 EDC 和 NHS,与磁珠摇床反应 30 min,偶联缓冲液(0.1 mol/L MES,体积分数 0.1%的 BSA,体积分数 0.05%的吐温-20,pH 7.0~7.4)磁力吸附洗涤;加入人 IgG 与磁珠偶联,结合后磁力吸附取分离液,考马斯亮蓝法测定磁珠与人 IgG 的结合量;加入洗



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

涤缓冲液（0.1 mol/L MES，体积分数 0.05%的吐温-20，pH 7.0~7.4），磁力吸附洗涤，加入封阻液（0.2 mol/L pH8.5 Tris 溶液，体积分数 0.1%的 BSA，体积分数0.05%吐温-20）室温作用 1~2 h，存放于保存缓冲液（0.1 mol/L MES，pH 7.4）中，4 ℃保存待用。

$IMB_{S.aureus}$ 富集金葡菌时，取已制备 $IMB_{S.aureus}$ 加入到金葡菌菌悬液中，37 ℃孵育 1 h，磁力吸附，洗涤缓冲液洗涤磁珠，加入 1 mL 无菌生理盐水，振荡均匀后倒入培养基中，37 ℃培养 24 h，记录菌落数。

**1.2.1** *磁珠型号* 取 MB-S，MB-B 和 MB-M3 种磁珠各 2 mg，均加入等量人 IgG 偶联，根据 3 种磁珠与人 IgG 的结合率判断各型号磁珠与免疫球蛋白的结合能力；$IMB_{S.aureus}$ 制备后加入到等浓度金葡菌菌悬液（300 CFU/mL）中富集培养，记录菌落数。

**1.2.2** *活化剂浓度* 根据矩阵法原理[18]，将活化剂 EDC 和 NHS 质量浓度均设置为 1~6 mg/L 进行梯度组合，对 2 mg MB-B 磁珠进行活化，确定活化剂组合 EDC 和 NHS 的最佳使用浓度。

**1.2.3** *磁珠与人 IgG 偶联温度* 取 2 mg MB-B 磁珠，活化后与人 IgG 进行偶联，分别于 4 ℃，24 ℃和 37 ℃振摇 12 h，比较不同温度下磁珠与人 IgG 的结合率，确定制备 $IMB_{S.aureus}$ 最佳温度。

**1.2.4** *磁珠与人 IgG 偶联时间* 取 2 mg MB-M 磁珠，活化后于 24 ℃与人 IgG 偶联 8、12、16、20、24、28 h，了解磁珠与人 IgG 偶联过程，确定制备 $IMB_{S.aureus}$ 的最佳时间。

### 1.3 磁珠与特异蛋白质结合能力的评价

**1.3.1** *MB-M 对人 IgG 的饱和吸附量的测定* 取磁珠 2 mg，分别与人 IgG 0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5 mg 偶联，通过结合率确定磁珠对人 IgG 的承载能力。

**1.3.2** *MB-M 与人 IgG 使用量的相关性* 分别取磁珠 1、1.5、2、2.5、3、3.5 mg，相应加入人 IgG 0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4 mg，计算结合率，分析磁珠使用量与人 IgG 结合量间的相关性。

### 1.4 $IMB_{S.aureus}$ 富集金葡菌能力的评价

**1.4.1** *$IMB_{S.aureus}$ 饱和捕捉量* 在最佳条件下制备 $IMB_{S.aureus}$，分别取 $IMB_{S.aureus}$ 1、1.5、2、2.5、3、3.5 mL，加入到等浓度金黄色葡萄球菌菌悬液中（$10^6$ CFU/mL），记录菌落数，确定 $IMB_{S.aureus}$ 饱和捕捉量。

**1.4.2** *$IMB_{S.aureus}$ 特异性的确定* 将 $IMB_{S.aureus}$ 分别加入到金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、链球菌、藤黄球菌的菌悬液中，观察免疫磁珠捕捉各种菌的能力。将培养后各平板菌落进行血浆凝固酶实验，确定 $IMB_{S.aureus}$ 的特异性。

**1.4.3** *$IMB_{S.aureus}$ 灵敏性的确定* 制备 1 mL 和 10 mL 不同浓度金葡菌菌悬液，将 $IMB_{S.aureus}$ 加入到菌悬液中进行富集分离；同时按照传统菌落计数法进行检测，即对于 10 mL 菌悬液，需从中吸取 1 mL 后进行培养。记录菌落数。

## 2 结果与分析

### 2.1 $IMB_{S.aureus}$ 最佳制备条件

**2.1.1** *磁珠型号的选择* 等量 MB-S，MB-M 和 MB-B 分别与人 IgG 结合，结合数分别为 37.34 μg，127.82 μg 和 98.83 μg。当 3 个型号的免疫磁珠加入到等浓度金葡菌菌悬液后，MB-S 和 MB-B 制备的免疫磁珠对金黄色葡萄球菌的捕捉量分别为（112±15.52）CFU/mL，（253±22.87）CFU/mL，分离能力较弱，分离结果明显低于已知菌悬液浓度；而 MB-M 分离能力较强，可分离（291±11.44）CFU/mL，分离结果与已知菌悬液浓度菌相符。因此，确定 MB-M 为制备 $IMB_{S.aureus}$ 所用磁珠型号。

**2.1.2** *活化剂浓度优化* 结果表明，未加入活化剂的磁珠与人 IgG 结合量远低于加入活化剂后磁珠与人 IgG 的结合量，用未活化的磁珠制备免疫磁珠，基本不能捕获金葡菌，而用活化的磁珠制备免疫磁珠，可达到理想效果。由图 1 可知，当 EDC 和 NHS 质量浓度均达到 5 mg/L 时，结合量达到最大（133.27 μg）；当活化剂质量浓度增加到 6 mg/L 时，人 IgG 与磁珠偶联含量有所下降。因此，活化剂 EDC 和 NHS 的最佳质量浓度均为 5 mg/L。

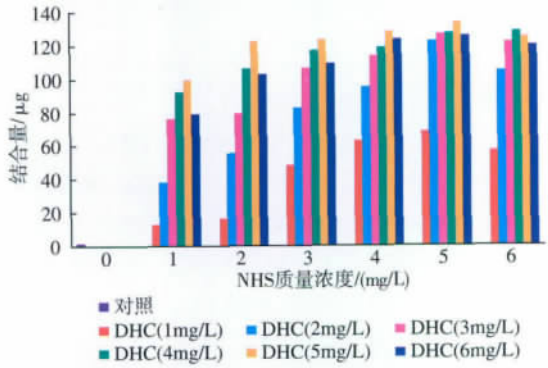



图 1 不同活化剂（EDC 和 NHS）组合条件下的磁珠结合 IgG 的量（μg）

Fig. 1 Optimal concentrations between EDC and NHS



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

**2.1.3** 偶联温度的确定 MB-M 磁珠与人 IgG 分别在 4、24、37 ℃下偶联，其结合率分别为 49.56%，89.79，67.59%。$IMB_{S.aureus}$ 制备中，磁珠与人 IgG 的偶联温度为 24 ℃。

**2.1.4** 偶联时间的确定 结果表明，随着时间的延长，磁珠与人 IgG 偶联量逐渐增多，18 h 后磁珠与人 IgG 偶联量趋于平缓，在 24 h 后磁珠与人 IgG 偶联量基本保持不变，达到最大结合量。因此选取 24 h 为磁珠与人 IgG 偶联的最佳时间(图 2)。

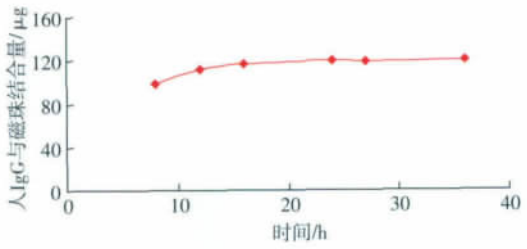



图 2 人 IgG 与磁珠偶联时间的确定

Fig. 2 Determine the couple time to Human IgG conjugated with magnetic beads

## 2.2 评价 MB-M 对人 IgG 的结合能力

**2.2.1.** 确定磁珠对人 IgG 的最大饱和吸附量 结果表明，在人 IgG 添加量小于 400 μg 时，磁珠对人 IgG 吸附量随着人 IgG 的加入而增加，当人 IgG 与磁珠结合量达到 400 μg，继续添加人 IgG 不会影响磁珠与人 IgG 结合量。因此确定磁珠对人IgG 饱和吸附量为 393.27 μg(图 3)。

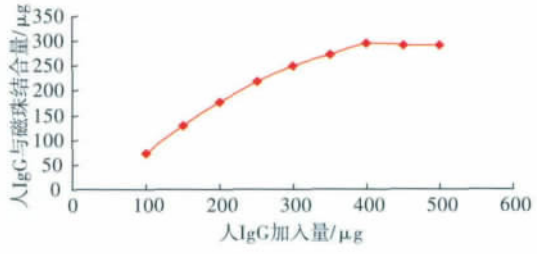



图 3 磁珠对人 IgG 饱和吸附量

Fig. 3 Determine saturation adsorption capacity to Human IgG conjugated with magnetic beads

**2.2.2** 磁珠加入量与人 IgG 结合量相关性的确定 结果表明，磁珠含量与人 IgG 加入量存在良好的线性关系，线性方程为 $y$=117.25$x$+55.984，线性相关系数 $R^2$=0.994 1(图 3)。根据这个结果，可以根据样品量而有选择地制备免疫磁珠，既避免浪费又可提高工作效率，同时为试剂盒研发后的大批量生产奠定基础。

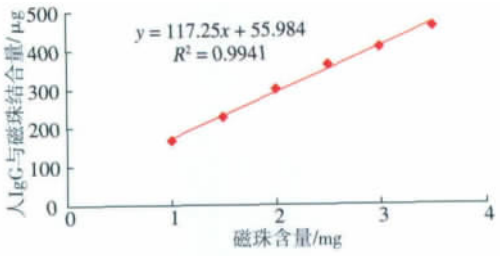



图 4 磁珠含量与人 IgG 加入量的线性关系

Fig. 4 Linear relationship between concentration of magnetic beads and Human IgG

## 2.3 $IMB_{S.aureus}$ 对金葡菌的富集能力评价

**2.3.1** 确定 $IMB_{S.aureus}$ 对金葡菌的最大捕捉量 结果表明：当免疫磁珠体积为 0.2 mL 时，捕获金黄色葡萄球菌的能力基本稳定，不因免疫磁珠含量增加而发生变化(图 4)。因此，0.2 mL $IMB_{S.aureus}$ 可作为捕获金黄色葡萄球菌的工作体积。

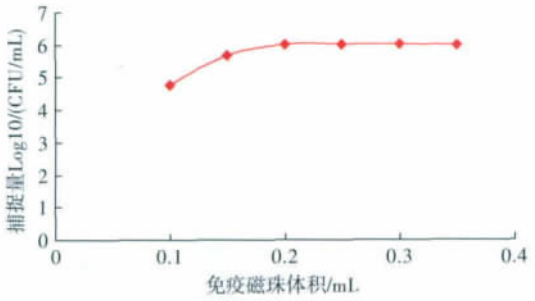



图 5 不同体积免疫磁珠对金葡菌的捕捉量

Fig. 5 Determine catch capacity to S.aureus conjugated with IMB

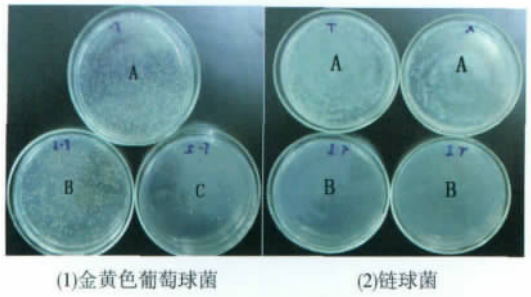
**2.3.2** 确定 $IMB_{S.aureus}$ 的特异性 图 6 表明，用 $IMB_{S.aureus}$ 分离金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、链球菌、藤黄球菌，分离效果有明显差异。$IMB_{S.aureus}$ 只捕获金黄色葡萄球菌，对链球菌、藤黄球菌和大肠杆菌几乎不结合。分别挑取各平板的菌落做血浆凝固酶试验，只有金黄色葡萄球菌使血浆凝固，而其他平板的菌落均未使血浆凝固。因此，自制 $IMB_{S.aureus}$ 具有良好的特异性。

**2.3.3** 确定 $IMB_{S.aureus}$ 的灵敏性 从表中数据可知，与常规菌落定量方法相比，$IMB_{S.aureus}$ 的富集能力较好，分离效果明显。当体积为 1mL 时，两种方法效果接近；当体积为 10 mL 时，$IMB_{S.aureus}$ 的分离效率显著好于传统方法，菌落浓度越小，效果越明显。通过实验数据计算可知，$IMB_{S.aureus}$ 捕捉率达到90%时最低

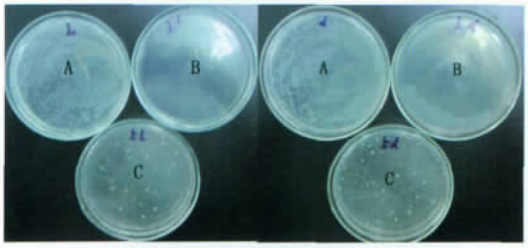


© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

检测菌落数为 26 CFU/10 mL(表 1)。




(1)金黄色葡萄球菌　(2)链球菌




(3)藤黄球菌　(4)大肠杆菌

A 为原菌悬液涂布的平板;
B 为$IMB_{S.aureus}$涂布的平板;
C 为上清液涂布的平板

图 6　$IMB_{S.aureus}$ 特异性效果图

Fig.6　$IMB_{S.aureus}$ specificity for *S.aureus*

表 1　$IMB_{S.aureus}$ 法和常规方法分离金葡菌的灵敏性比较

Table 1　Sensitivity of *S.aureus* isolated by $IMB_{S.aureus}$ and conventional method

| 菌液体积/mL | 参照菌落数/CFU | 免疫磁法相对误差/% | 传统方法相对误差/% |
|---|---|---|---|
| 1 | <30 | 0.96 | 1.03 |
| | 30–100 | 0.94 | 0.94 |
| | 100–200 | 0.95 | 1.42 |
| | 200–300 | 0.97 | 0.32 |
| 10 | <30 | 8.57 | 36.67 |
| | 30–100 | 4.72 | 24.53 |
| | 100–200 | 2.85 | 9.52 |
| | 200–300 | 3.57 | 9.09 |

## 3 讨 论

据文献[18]报道,磁珠的材料、粒径大小和制备方法对免疫磁珠的吸附能力有着较大的影响,本研究中对不同型号的商品化磁珠结合人 IgG 的能力进行了评估,筛选得到了一种对人 IgG 承载能力较高的磁珠,对于高效能的人 IgG 免疫磁珠的制备具有重要意义。此外,磁珠与球蛋白的偶联率与磁珠表面的活化基团的数量和性质直接相关,因此对磁珠表面基团的活化处理显得尤为重要,若活化处理不当,易出现结合容量低、测试反应过程球蛋白脱吸附率较高等现象,对免疫磁珠的灵敏度、精确度及检测限将造成直接的不利影响[18]。本研究中采用了共价结合法对活化剂组合(EDC 和 NHS)比例及浓度进行了优化,使得目标磁珠上的活化基团–羧基末端达到了最大活化度,提高了磁珠对人 IgG 的结合容量和结合度,从而获得了稳定、高效的人 IgG 免疫磁珠。另外,根据文献中报道,磁珠与抗体结合的温度与时间均不相同,本文作者根据自身实验条件摸索了适合实验用磁珠与人 IgG 的结合条件,进而将磁珠对抗体的结合量进行了优化。从研究结果可以看出,条件优化后制备的免疫磁珠其最低检测量已达到 26 CFU/10 mL,比相关文献[19]提高了 4 倍;磁珠装载人 IgG 分子的能力也提高了 5 倍[20]。另外,本研究中还对免疫磁珠的工作条件进行了优化。通过评价发现,经以上条件优化后而制备的免疫磁珠对金黄色葡萄球菌的富集能力强、特异性好、灵敏度高,且明显降低了检测成本,为免疫磁珠在金黄色葡萄球菌的快速富集和检测的普及应用打下了良好的基础。

## 4 结 语

本研究中采用化学键法自制 $IMB_{S.aureus}$,分别通过矩阵法和单因素法优化免疫磁珠制备条件,确定了磁珠型号(MB–M),活化剂质量浓度(EDC 和 NHS 均为 5 mg/L),最佳偶联时间(24 h)及温度(24 ℃);通过检测磁珠对抗体的饱和吸附度(393.27 μg)及加入量相关性来评价磁珠与抗体固定化程度;通过评价磁珠的特异性、灵敏性(26 CFU/10 mL)及饱和捕捉量(0.2mL)考察了免疫磁珠对金葡菌的富集效能。作者已将自主研发的 $IMB_{S.aureus}$ 申请专利,为高效快速检测金葡菌提供了可能。

## 参考文献:

[1] Mead P S,Slutsker L,Dietz V,et al. Food–related illness and death in the United States[J]. Emerg Infect Dis,1999(5):607–625.
[2] Valero A,Pérez–Rodríguez F,Carrasco E. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*:Effect of temperature,pH



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

and water activity[J]. **International Journal of Food Microbiology**,2009,133:186-194.

[3] Balaban N,Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins[J]. **International Journal of Food Microbiology**,2000(6):1-10.

[4] **袁桂兴,温剑. 金黄色葡萄球菌的快速检测方法**[J]. **生物技术通报**,2007(6):75-78.
YUAN Gui-xing,WEN Jian. Fast detection technique of *Staphylococcus aureus*[J]. **Biotechnology Bulletin**,2007(6):75-78.(in Chinese)

[5] **徐晓可,吴清平,张菊梅,等. 食品中金黄色葡萄球菌多重** PCR **检测方法的研究**[J]. **食品与生物技术学报**,2011,30(1):83-89.
XU Xiao-ke,WU Qing-ping,ZHANG Ju-mei,et al. Studies on detection of *Staphylococcus aureus* in foods by multiplex PCR[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2011,30(1):83-89.(in Chinese)

[6] Michael J B Lynch,Carlos G Leon-Velarde,Scott Mc Ewen,et al.Evaluation of an automated immunomagnetic separation method for the rapid detection of Salmonella species in poultry environmental samples [J]. **Journal of Microbiological Methods**,2004(58):285-288.

[7] Piia von Lode,Anniina Syrjala,Teemu Korpimaki,et al. An 8-hour system for Salmonella detection with immunomagnetic separation and homogeneous time-resolved fluorescence PCR [J]. **International Journal of Food Microbiology**,2008,125:158-161.

[8] TU Shu-I,Sue A. Reed Andrew G Gehring,et al. Detection of salmonella enteriditis from egg components using different immunomagnetic beads and time-resolved fluorescence[J]. **Food Anal Methods**,2007,2(1):14-22.

[9] Liu Y C,Li Y B. Detection of Escherichia coli O157:H7 using immunomagnetic separation and abs orbance measurement[J]. **Journal of Microbiological Methods**,2002,51(3):369-3771.

[10] **郭小英,王永宁,顾林岗,等. 化学发光磁酶免疫法检测** O157:H7 **大肠埃希氏菌**[J]. **细胞与分子免疫学杂志**,2006,22(3):395-398.
GUO Xiao-ying,WANG Yong-ning,GU Ling-ang,et al. Chemiluminescent detection of *E.coil* O157:H7 in food based on magnetic enzyme-linked immunoemthod[J]. **Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology**,2006,22(3):395-398.(in Chinese)

[11] Gehring A G,Albin D M,Irwin P L. Comparison of enzyme-linked immunomagnetic chemilumine-scence with U.S,Food and Drug Administration's Bacteriological Analytical Manual method for the detection of *Escherichia coli* O157:H7 [J]. **Joural of Microbiological Methods**,2006,67:527-533.

[12] **寇运同,雷质文,林修光,等. 用免疫磁珠捕集法快速检测食品中的单核细胞增生李斯特菌**[J]. **检验检疫科学**,2001,11(6):12-13.
KOU Yun-tong,LEI Zhi-wen,LIN Xiu-guang,et al. Using immunomagnetic capture assay for rapid detection of food in the monocyte hyperplasia bacteria Lester [J]. **Modern Commodity Inspection Science and Technique**,2001,11 (6):12-13.(in Chinese)

[13] **翁文川,杨汝德,焦红,等. 免疫磁分离-荧光** PCR **应用在肉类单增李斯特氏菌的检测**[J]. **中国人畜共患病学报**,2006,22(6):547-550.
WENG Wen-chuan,YANG Ru-de,JIAO Hong,et al. Detection of Listeria monocytogenes in meat products by means of immuno-magnetic cell separation combined with fluorescence PCR technique [J]. **Chinese Journal of Zoonoses**,2006,22(6):547-550.(in Chinese)

[14] Skierve E,Rorvikl M,Olsvik O. Detection of Listeria monocytogenes in foods by immunomagnetic separation [J]. **Applied and Environmental Microbiology**,1990,56(11):3478-3481.

[15] **张凡非,杉山宽治,西尾智裕,等. 利用免疫磁珠法分离环境及食品中产生** TDH **副溶血性弧菌的研究**[J]. **中国卫生监督杂志**,2004,11(1):7-9.
ZHANG Fan-fei,SHAN Shan Kuan-zhi,XI Wei Zhi-yu,et al. Study of isolating WTBXVibro parahaemolyticus WTBZ producing TDH from environemntal materialsand food using immunomagnetic separation method [J]. **Chinese Journal of Health Inspection**,2004,11(1):7-9.(in Chinese)

[16] **肖敏. 免疫比浊分析结合免疫磁分离技术在福氏志贺菌自动快速定量检测中的初步应用**[D]. **重庆:第三军医大学**,2009.

[17] Lindmark R,Kerstin T T,John S. Binding of immunoglobulins to protein A and immunoglobulin levels in mammalian sera [J]. **J**



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

**Immunol Meth**,1983,62:1-13.
[18] 李玲. 基于量子点和免疫磁珠技术同步检测抗弓形虫 IgG 和 IgM 抗体的实验研究[D]. 重庆:第三军医大学,2009.
[19] 刘琳琳. 免疫磁性微球快速分离检验金黄色葡萄球菌新技术的研究[J]. 山东医学高等专科学校学报,2008,30:88-90.
LIU Lin-lin. Preparing immunomolecular-magnetic beads for rapid detection and separtion of *Stophycoccns aureus* [J]. **Journal of Shandong Medical College**,2008,30:88-90.(in Chinese)
[20] 刘琳琳. 免疫微球检测金黄色葡萄球菌与链球菌研究[J]. 中国热带医学,2008,8(2):193-195.
LIU Lin-lin. Preparting a specific inert immuno-magnetic beads for rapid detection and sepration of pathogenic bacteria[J]. **China Tropical Medicine**,2008,8(2):193-195.(in Chinese)

## 会　议　信　息

**会议名称(中文)**：第十五届中国科协年会生物技术与健康、农业国际论坛
**开始日期**：2013-05-25　　**结束日期**：2013-05-26
**所在城市**：贵州省　贵阳市　　**具体地点**：贵州师范大学学术报告厅
**主办单位**：中国生物工程学会　　**承办单位**：贵州师范大学
**联系人**：蒋玉清　　**联系电话**：010-64807678
**传真**：010-64807678　　E-MAIL：jiangyq@im.ac.cn
**会议网站**：http://www.biotechchina.org/index.php/Notice/show/id/94

**会议名称(中文)**：第七届中国工业生物技术发展高峰论坛
**所属学科**：动植物微生物学,生物物理学、生物化学及分子生物学,细胞生物学,生物技术与生物工程
**开始日期**：2013-05-09　　**结束日期**：2013-05-12
**所在城市**：天津市　和平区
**主办单位**：中国科学院生命科学与生物技术局等
**承办单位**：中国科学院天津工业生物技术研究所
**全文截稿日期**：2013-04-25
**联系人**：许虹　　**联系电话**：02284861996
**传真**：02284861943　　E-MAIL：biotech@tib.cas.cn
**通讯地址**：天津市空港经济区西七道 32 号　　**邮政编码**：300308
**会议网站**：http://www.cas.cn/hy/hyyg/201301/t20130128_3757433.shtml

**会议名称(中文)**：2013 年第 4 届国际生物技术与食品科学会议
**会议名称(英文)**：2013 4th International Conference on Biotechnology and Food Science (ICBFS 2013)
**所属学科**：生物技术与生物工程,动物食品科学,生物医学工程学,公共卫生与预防医学
**开始日期**：2013-04-20　　**结束日期**：2013-04-21
**所在城市**：北京市　东城区
**主办单位**：Asia-Pacific Chemical, Biological & Environmental Engineering Society (APCBEES)
**联系人**：Miss Ding　　**联系电话**：+852-30697291
E-MAIL：icbfs@cbees.org
**会议网站**：http://www.icbfs.org/



© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net