

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510025324.1

[51] Int. Cl.  
C12N 5/00 (2006.01)  
C12M 1/00 (2006.01)  
G01N 1/02 (2006.01)  
G01N 33/50 (2006.01)  
G01N 33/53 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009年7月22日

[11] 授权公告号 CN 100516201C

[22] 申请日 2005.4.22

[21] 申请号 200510025324.1

[73] 专利权人 上海师范大学

地址 200234 上海市桂林路100号

[72] 发明人 沈鹤柏 李兴玉 陈伟 忻茜

[56] 参考文献

WO03/089906A2 2003.10.30

$\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 及其复合物磁粉的研究进展.  
郭秀盈等. 化学工业与工程, 第21卷第2期.  
2004

核壳型磁性高分子微球的制备及应用进展.  
常兰等. 暨南大学学报, 第25卷第3期. 2004

利用吸附单克隆抗体—磁珠分离系统分离  
CD34+造血祖细胞. 裴雪涛等. 中华血液学杂  
志, 第16卷第5期. 1995

免疫磁性微球的研究进展. 徐辉等. 化学  
工业与工程, 第20卷第1期. 2003

审查员 吴汀晨

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 徐迅

权利要求书1页 说明书9页 附图2页

[54] 发明名称

免疫磁性纳米粒子细胞分离器及其制法和应  
用

[57] 摘要

本发明涉及一种免疫磁性纳米粒子细胞分离器,它具有如下的三层结构:(1)由核壳型磁性纳米粒子构成的内核层;(2)包覆内核层的N-(2-氨基乙基)-3-氨基丙基三甲氧基硅烷中间层;(3)包覆中间层的抗体和/或配体外壳层。本发明还涉及制备该免疫磁性纳米粒子细胞分离器的方法。本发明的免疫磁性纳米粒子细胞分离器可简单地分离靶细胞,例如CD34+细胞。

1. 一种制备磁性纳米粒子细胞分离器的方法，所述的细胞分离器含有如下的三层结构：

(1)由核壳型磁性纳米粒子构成的内核层；

(2)包覆内核层的中间层；

(3)包覆中间层的抗体外壳层，所述抗体外壳层是通过固化剂或交联剂或席夫键与中间层连接的抗体，其中所述的抗体是抗 CD34 抗体，

其中，所述方法包括以下步骤：

(1)在含磁性纳米粒子和内核层外壳形成剂的微乳液体系中，通过油包水型反相微乳液法，形成核壳型磁性纳米粒子，所述的核壳型磁性纳米粒子包括内核和外壳，

所述的磁性纳米粒子选自：铁的氧化物、铁、镍、镍-铁合金、或其组合；

所述的内核层外壳形成剂形成的外壳成分选自：二氧化硅、琼脂糖、烯烃聚合物、聚丙烯腈、环氧化合物、或其组合；

(2)使用 N-(2-氨基乙基)-3-氨基丙基三甲氧基硅烷对步骤(1)的核壳型磁性纳米粒子表面进行修饰，得到修饰了氨基的磁性纳米粒子；

(3)用抗体对步骤(2)的修饰了氨基的磁性纳米粒子的表面进行修饰，形成免疫磁性纳米粒子细胞分离器，其中所述的抗体是抗 CD34 抗体。

2. 根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述微乳液体系中 TritonX-100、正己醇、环己烷按 1: 1-3 : 4-6 的比例均匀混合。

## 免疫磁性纳米粒子细胞分离器及其制法和应用

### 技术领域

本发明涉及一种纳米生物分离器，更具体地说，本发明涉及一种免疫磁性纳米粒子细胞分离器。本发明还涉及该分离器的制备方法及应用。

### 背景技术

众所周知，纳米技术领域是当今最热门的科学技术研究领域，将纳米技术应用于生物科学领域中所形成的新兴科学技术-纳米生物技术，是利用纳米技术研究和解决生命科学领域中的重大问题的科学，它正成为当前重要的前沿科学研究领域之一。

现在，磁性纳米粒子在生物技术领域中的应用前景日益受到人们的关注。磁性纳米粒子经常被用作生物样品磁场分离的分离介质。用磁性纳米粒子的分离方法操作简便、所需设备廉价，同时分离速度快，有利于保持样品的生物活性。目前，运用越来越广泛。

当前，世界上将造血干细胞应用于疾病治疗已成为研究热点。尤其是应用于儿童恶性肿瘤和非恶性肿瘤治疗和白血病治疗的成功范例屡见不鲜，迄今世界上已经有 3000 多例成功治疗的范例，而造血干细胞 CD34+ 的应用最为频繁。

目前，CD34+ 细胞的主要来源是从脐带血分离出 CD34+ 细胞，然后进行体外增殖。从脐带血中分离 CD34+ 细胞的方法很多，但都存在种种缺点，不能方便、快捷和高效的分离出 CD34+ 细胞。虽然人们将利用磁性系统分离视为解决这一难题的希望，但是尚没有对这类磁性纳米粒子细胞分离器结构的详细报道。

因此，本领域迫切需要开发一种磁性纳米粒子细胞分离器，以便方便、快捷和高效的分离出细胞表面具有特定抗原标志物的细胞，如 CD34+ 细胞等。

## 发明内容

本发明的目的是提供一种免疫磁性纳米粒子细胞分离器。

本发明的另一个目的是提供制备该免疫磁性纳米粒子细胞分离器的方法。

本发明的再一个目的是将该免疫磁性纳米粒子细胞分离器应用于分离具有特定细胞表面标记物的细胞。

在本发明的第一方面，提供了一种免疫磁性纳米粒子细胞分离器，它含有如下的三层结构：

(1)由核壳型磁性纳米粒子构成的内核层；

(2)包覆内核层的 AEAPS[N-(2-氨基乙基)-3-氨基丙基三甲氧基硅烷]中间层；

(3)包覆中间层的抗体和/或配体外壳层。

在另一优选例中，所述的核壳型磁性纳米粒子内核层包括内核和外壳。所述内核层的内核成分选自：铁的氧化物、铁、镍、镍-铁合金、或其组合。较佳地，所述内核层的内核成分是铁的氧化物。所述内核层的外壳成分选自二氧化硅、琼脂糖、烯烃聚合物、聚丙烯腈、环氧化合物、或其组合。较佳地，所述内核层的外壳成分是二氧化硅。

其中，所述抗体和/或配体外壳层是通过固化剂或交联剂(例如乙醇、甲醛、戊二醛等)或席夫键与中间层连接的抗体或配体。更佳地，所述的固化剂或交联剂选自戊二醛。

在另一优选例中，所述的抗体是抗 CD34 抗体。

在本发明的第二方面，提供了一种制备免疫磁性纳米粒子细胞分离器的方法，它包括以下步骤：

(1)在含磁性纳米粒子和内核层外壳形成剂(如正硅酸乙酯)的微乳液体系中，通过油包水型反相微乳液法，形成核壳型磁性纳米粒子，所述的核壳型磁性纳米粒子包括内核和外壳，

所述的磁性纳米粒子选自：铁的氧化物、铁、镍、镍-铁合金、或其组合；

所述的内核层外壳形成剂形成成分选自下组的外壳：二氧化硅、琼脂糖、烯炔聚合物、聚丙烯腈、环氧化合物、或其组合；

(2)使用 N-(2-氨基乙基)-3-氨基丙基三甲氧基硅烷对步骤(1)的核壳型磁性纳米粒子表面进行修饰，得到修饰了氨基的磁性纳米粒子；

(3)使用抗体或配体对步骤(2)的修饰了氨基的磁性纳米粒子的表面进行修饰，形成免疫磁性纳米粒子细胞分离器。

其中，所述微乳液体系中 TritonX-100、正己醇、环己烷按 1:(1-3):(4-6) 的比例均匀混合。

在本发明的第三方面，提供了本发明所述的免疫磁性纳米粒子细胞分离器的用途，它被用于分离细胞，所述的细胞的表面具有与所述抗体结合的抗原，或者与所述配体结合的受体。

在本发明的第四方面，提供了一种分离细胞的方法，包括步骤：将该免疫磁性纳米粒子细胞分离器与含有靶细胞的溶液接触，形成所述免疫磁性纳米粒子细胞分离器与靶细胞的复合物，然后在外磁场的引导下分离出所述的复合物。

### 附图说明

图 1 是修饰了氨基的磁性纳米粒子的表面增强拉曼效应图，表明氨基被修饰在磁性纳米粒子的表面，而且被修饰在磁性纳米粒子表面的氨基在银的基底上有很好的拉曼增强效应。

图 2 是利用免疫磁性纳米粒子进行细胞分离的效果图。2 次分离结果都表明，该细胞分离器可以有效地分离 CD34+造血干细胞，有优良的分选效果。

图 3A 和 3B 是通过细胞分离器分离出来的细胞进行培养后增殖的图。其中图 3A 为细胞培养十天后观察到的集落；图 3B 为细胞培养十四天后观察到的一个集落。这表明分离出来的细胞仍然具有很好的生物活性。

### 具体实施方式

本发明者经过广泛而深入的研究，发明了磁性纳米粒子的表面修饰能识别并结合抗体或配体等蛋白质物质，然后用这种磁性纳米粒子去捕获靶细

胞，再在外磁场的作用下进行分离的技术。

本发明的制备免疫磁性纳米粒子细胞分离器的方法包括以下步骤：

#### (1)制备磁性纳米粒子

用二次蒸馏水分别配制  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  和  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  的混合溶液及  $\text{NaOH}$  溶液。在铁盐的混合溶液中  $\text{Fe}^{2+}$  离子的浓度为  $0.1-0.2\text{mol/l}$ ， $\text{Fe}^{3+}$  离子的浓度为  $0.1-0.3\text{mol/l}$ ， $\text{NaOH}$  溶液的浓度为  $2-3\text{mol/l}$ 。在剧烈搅拌下将体积为混合盐溶液体积一半的  $\text{NaOH}$  溶液缓慢地滴加到混合盐溶液中。将所得到的固体沉淀在  $40^\circ\text{C}-60^\circ\text{C}$  下陈化 12h，用二次蒸馏水将沉淀物清洗数次，过滤后再在  $40^\circ\text{C}-80^\circ\text{C}$  的条件下干燥 24h，在玛瑙研钵中研磨后即得产物。

#### (2)二氧化硅在 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 表面的修饰

将 TritonX-100、正己醇、环己烷按 1:(1-3):(4-6)的比例均匀混合，形成透明稳定的微乳液体系。将上述微乳液体系置于超声波中处理 30-60 分钟，再向其中加入 0.01-1g 的 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (磁性纳米粒子)，用超声波处理 3 分钟后取出上层液倒入三颈烧瓶中，搅拌 30-60 分钟使之均匀。取 1ml 一定浓度的浓氨水用 2ml 二次蒸馏水稀释，将其缓慢加入到不断搅拌的微乳液中，持续搅拌 10-60 分钟使氨水均匀分散在微乳液中。1 小时后，向微乳液中滴加 1-5ml 的正硅酸乙酯(内核层外壳形成剂)，同时不断地搅拌 10 小时，并将体系的温度保持在  $15-40^\circ\text{C}$  之间。向体系中加入丙酮使粒子沉淀，或者将体系静置过夜使粒子自然沉淀，使用乙醇清洗粒子。将清洗后的粒子置于  $300-700^\circ\text{C}$  的条件下煅烧 1-4 个小时，收集核壳型磁性纳米粒子。

#### (3)用 N-(2-氨基乙基)-3-氨基丙基三甲氧基硅烷 (AEAPS)修饰磁性纳米粒子表面

取 15mg 磁性纳米粒子加入 30-50ml 的甲醇和丙三醇的混合液(甲醇：丙三醇的体积比为 2：3-2：1)中，用超声波处理 20-60 分钟；称取 0.01-1g AEAPS(N-(2-氨基乙基)-3-氨基丙基三甲氧基硅烷)，用超声波处理 10-60 分钟；将这两种溶液混合均匀，在  $10-95^\circ\text{C}$  的条件下反应 1-6 小时，然后取出粒子并用甲醇清洗 3 次，接着在  $100-300^\circ\text{C}$  真空干燥，收集粒子(FSM)。

#### (4)抗体或配体在磁性纳米粒子表面的修饰

取步骤(3)中制备的粒子，加至 pH 为 7.0-8.0 的缓冲液体系(如磷酸盐缓冲

体系)中,加入用量为使交联剂(或固化剂)在体系中的浓度约为0.5%-2%,形成混合溶液。所述的混合溶液用超声波处理30-60分钟。然后用磷酸盐缓冲液洗涤约1-5次(更佳地2-3次)。

取一定量的抗体或配体(与磁性纳米粒子的重量或摩尔浓度比虽然没有特别限制,但通常以1:6-1:3为佳),加入到上述粒子的混合溶液中。在4-40℃的反应温度下反应1-6小时,从而将抗体或配体上的COOH在固定剂的作用下与中间层上的氨基反应,使抗体或配体通过席夫键直接连接于中间层。反应结束后,磁性分离所述的粒子,用磷酸盐缓冲液洗涤约2-3次。这样得到的免疫磁性纳米粒子细胞分离器可置于磷酸盐缓冲液中保存备用。

适用于本发明的抗体或配体没有特别的限制。可以是任何针对细胞表面上的抗原或受体的抗体或配体。例如,抗CD34抗原的抗体。

核壳型磁性纳米粒子内核层的内核成分除了铁的氧化物以外,还可包括铁、镍(Ni)或者镍(Ni)和铁(Fe)等的合金。

核壳型磁性纳米粒子内核层的外壳成分除了二氧化硅等无机包裹层以外,还有琼脂糖、烯烃聚合物、聚丙烯腈、环氧化合物等有机包裹层。对于选定的外壳成分,可根据现有技术选用合适的内核层外壳形成剂。例如当外壳成分为二氧化硅时,可选用正硅酸乙酯或其它合适的内核层外壳形成剂。

本发明的主要优点在于:

- (1)使用的磁性纳米粒子是单分散性的,不产生团聚现象,磁性纳米粒子的形状和直径易于控制;
- (2)能识别靶细胞的抗体或配体通过化学键与磁性纳米粒子连接,牢固性好,不易脱落;
- (3)本发明方法简便而高效。

下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,或按照制造厂商所建议的条件。

## 实施例 1

### 磁性纳米粒子的内核层的制备方法

采用改进的化学共沉淀制备磁性粒子的内核层，具体方法如下：用二次蒸馏水分别配制  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  和  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  的混合溶液及  $\text{NaOH}$  溶液。在铁盐的混合溶液中  $\text{Fe}^{2+}$  离子的浓度为  $0.1-0.2\text{mol/l}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  离子的浓度为  $0.1-0.3\text{mol/l}$ ,  $\text{NaOH}$  溶液的浓度为  $2-3\text{mol/l}$ 。在剧烈搅拌下将体积为混合盐溶液体积一半的  $\text{NaOH}$  溶液缓慢地滴加到混合盐溶液中。将所得到的固体沉淀在  $40^\circ\text{C}-60^\circ\text{C}$  陈化 12h, 用二次蒸馏水将沉淀物清洗数次, 过滤后再在  $40^\circ\text{C}-80^\circ\text{C}$  的条件下干燥 24h, 在玛瑙研钵中研磨后即得产物。

## 实施例 2

### 核壳型核壳磁性纳米粒子的制备方法

将 TritonX-100、正己醇、环己烷按 1:2:5 的比例均匀混合, 形成透明稳定的微乳液体系。将上述微乳液体系置于超声波中处理 30-60 分钟, 再向其中加入 0.5g 的  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ , 用超声波处理 6 分钟后取出上层液倒入三颈烧瓶中, 搅拌 30 分钟使之均匀。取 1ml 一定浓度的浓氨水用 2ml 二次蒸馏水稀释, 30 分钟后将其缓慢加入到不断搅拌的微乳液中, 持续搅拌 30 分钟使氨水均匀分散在微乳液中。1 小时后, 向微乳液中滴加 1-3ml 的正硅酸乙酯, 同时不断地搅拌 10 小时, 并将体系的温度保持在  $15-30^\circ\text{C}$  之间。向体系中加入丙酮使粒子沉淀, 或者将体系静置过夜使粒子自然沉淀, 使用乙醇清洗粒子。将清洗后的粒子置于  $400-700^\circ\text{C}$  的条件下, 锻烧 1-4 个小时, 收集粒子。

## 实施例 3

### 免疫磁性纳米粒子细胞分离器的制备

#### (a)用硅烷修饰磁性纳米粒子表面

取 20mg 实施例 2 中制得的磁性纳米粒子, 加入 50ml 的甲醇和丙三醇 5:3 的组成的混合液中, 用超声波处理 20-60 分钟; 称取 3ml AEAPS, 用超声波处理 10-60 分钟; 将这两种溶液混合均匀, 在  $60^\circ\text{C}$  的条件下反应 5 小时, 然后取出粒子并用甲醇清洗 3 次, 接着在  $40-80^\circ\text{C}$  真空干燥 2 小时, 收集粒子。

从图 1 中可以看出,氨基被修饰到磁性纳米粒子的表面,而且有很好的拉曼增强效应。

### **(b)在磁性纳米粒子的表面修饰抗体**

取 1-3mg 如上制备的粒子,加至 pH 为 7.0-8.0 的磷酸盐缓冲体系中,加入用量为 50-200  $\mu$ l 交联剂(戊二醛),形成混合溶液。所述的混合溶液用超声波处理 10-30 分钟。然后用磷酸盐缓冲液洗涤 2-3 次。

取约 3 微克的抗 CD34 抗体(购自 Biomedica 公司),加入到含约 2ml 的上述粒子的混合溶液中。在 2-10 $^{\circ}$ C 的反应温度下反应 3 小时,从而将抗体上的 COOH 与中间层上的氨基在交联剂的作用下进行反应,使抗体通过席夫键直接连接于中间层。反应结束后,磁性分离出所述的粒子,用磷酸盐缓冲液洗涤 3 次。这样得到的免疫磁性纳米粒子细胞分离器被置于磷酸盐缓冲液中保存备用。

## **实施例 4**

### **免疫磁性纳米粒子细胞分离器的制备**

#### **(a)用硅烷修饰磁性纳米粒子表面**

取 10-20mg 实施例 2 中制得的磁性纳米粒子,加入 30ml 的 1:1 的甲醇和丙三醇组成的混合液中,用超声波处理 20-60 分钟;称取 2ml AEAPS,用超声波处理 10-60 分钟;将这两种溶液混合均匀,在 60-85 $^{\circ}$ C 的条件下反应 2-4 小时,然后取出粒子并用甲醇清洗 3 次,接着在 60 $^{\circ}$ C 真空干燥 2 小时,收集粒子。

#### **(b)抗体对磁性纳米粒子的修饰**

取 0.5mg 如上制备的粒子,加至 pH 为 7.0-8.0 的磷酸盐缓冲体系中,加入用量为 50-100  $\mu$ l 交联剂(戊二醛),形成混合溶液。所述的混合溶液用超声波处理 30-60 分钟。然后用磷酸盐缓冲液洗涤 2-3 次。

取约 1.5 微克的抗 CD34+单克隆抗体(购自 Biomedica 公司),加入到含约 0.5mg 的上述粒子的混合溶液中。在 2-10 $^{\circ}$ C 的反应温度下反应 3 小时,从而将抗体上的 COOH 与中间层上的氨基在交联剂的作用下进行反应,使抗体通过席夫碱直接连接于中间层。反应结束后,磁性分离出所述的粒子,用磷酸盐

缓冲液洗涤 3 次。这样得到的免疫磁性纳米粒子细胞分离器被置于磷酸盐缓冲液中保存备用。

## **实施例 5**

### **免疫磁性纳米粒子细胞分离器的制备**

#### **(a)用硅烷修饰磁性纳米粒子表面**

取 30mg 实施例 2 中制得的磁性纳米粒子，加入 50ml 的 5:3 的甲醇和丙三醇组成的混合液中，用超声波处理 20-60 分钟；量取 3ml AEAPS，用超声波处理 10-60 分钟；将这两种溶液混合均匀，在 50-85℃ 的条件下反应 3 小时，然后取出粒子并用甲醇清洗 3 次，接着在 40-80℃ 真空干燥 2 小时，收集粒子。

#### **(b)抗体对磁性纳米粒子的修饰**

取 1mg 如上制备的粒子，加至 pH 为 7.0-8.0 的磷酸盐缓冲体系中，加入用量为 50-150  $\mu$ l 交联剂(戊二醛)，形成混合溶液。所述的混合溶液用超声波处理 30-60 分钟。然后用磷酸盐缓冲液洗涤 2-3 次。

取约 3 微克的抗 CD34 抗体(购自 Biomedica 公司)，加入到含约 2mg 的上述粒子的混合溶液中。在 2-10℃ 的反应温度下反应 3 小时，从而将抗体上的 COOH 与中间层上的氨基在交联剂的作用下进行反应，使抗体通过形成席夫键直接连接于中间层。反应结束后，磁性分离出所述的粒子，用磷酸盐缓冲液洗涤 3 次。这样得到的免疫磁性纳米粒子细胞分离器被置于磷酸盐缓冲液中保存备用。

## **实施例 6**

### **分离干细胞**

取实施例 3-5 中制得的免疫磁性纳米粒子细胞分离器 100-200  $\mu$ l (0.5mg/ml)，加入 0.5ml 含细胞的混合溶液中，在 4 $\pm$ 2℃ 下放置 0.25-0.5 小时。其中，在所述的含细胞的培养液中，含有约 3 $\times$ 10<sup>4</sup> 个的目标细胞和 9 $\times$ 10<sup>5</sup> 个无关的其他单个核细胞。

在外在磁场的作用下收集磁性纳米粒子，除去清液。用 RPMI-1640 培养液清洗磁性纳米粒子三次。将磁性纳米粒子悬浮于细胞培养液中，用流式细

胞仪或显微镜观察分离结果。

结果：实施例 3-5 制得的核壳型核酸磁性纳米粒子是单分散性的，不会产生团聚现象，且其形状和直径易于控制。此外，能识别 CD34+细胞(靶细胞)，而且 CD34+细胞的结合牢固性好，不易脱落，因此分离效果非常好。

从图 2 中可以看出免疫磁珠的分离效果达到了比较理想的结果(脐带血中 CD34+细胞的百分比为 0.5-4%)。

从图 3 中可以看出分离出来的细胞仍然具有很高的增殖能力。

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文章被单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本发明的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

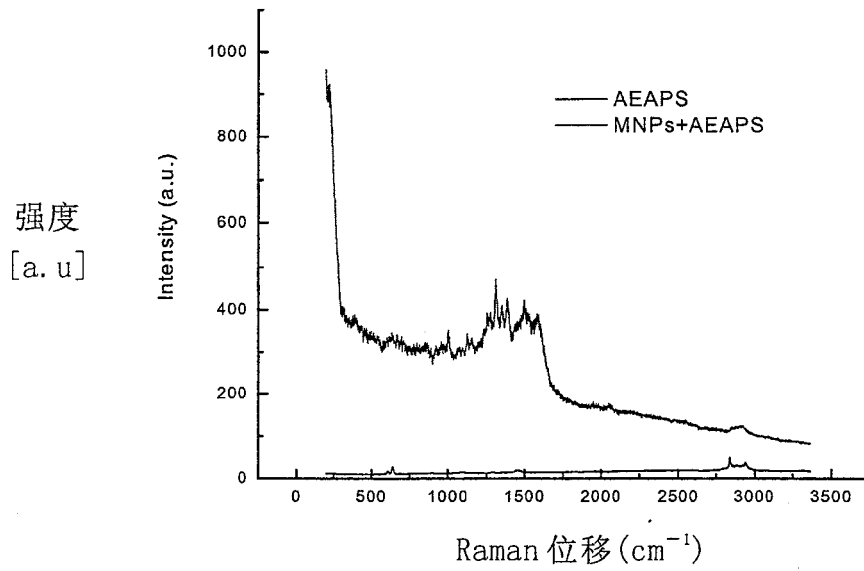


图 1

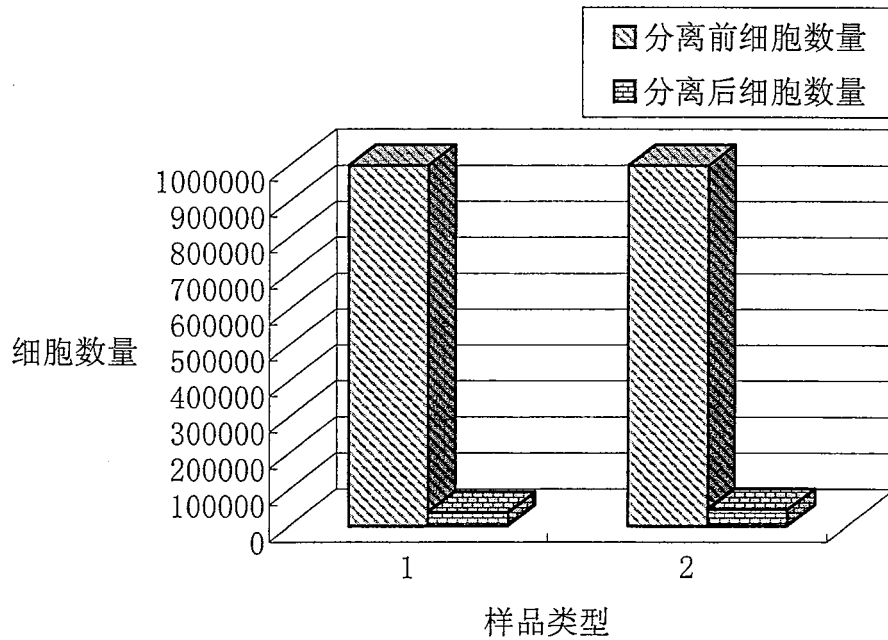


图 2

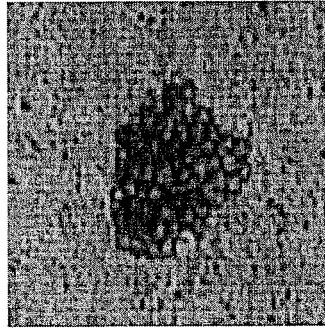


图 3A

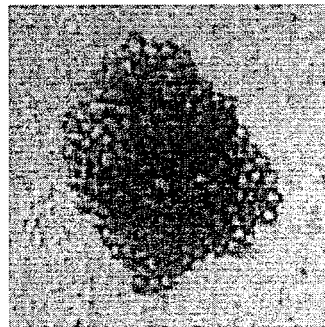


图 3B

专利名称(译)	免疫磁性纳米粒子细胞分离器及其制法和应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN100516201C</a>	公开(公告)日	2009-07-22
申请号	CN200510025324.1	申请日	2005-04-22
[标]申请(专利权)人(译)	上海师范大学		
申请(专利权)人(译)	上海师范大学		
当前申请(专利权)人(译)	上海师范大学		
[标]发明人	沈鹤柏 李兴玉 陈伟 忻茜		
发明人	沈鹤柏 李兴玉 陈伟 忻茜		
IPC分类号	C12N5/00 C12M1/00 G01N1/02 G01N33/50 G01N33/53		
代理人(译)	徐迅		
其他公开文献	CN1850966A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种免疫磁性纳米粒子细胞分离器，它具有如下的三层结构：(1)由核壳型磁性纳米粒子构成的内核层；(2)包覆内核层的N-(2-氨基乙基)-3-氨基丙基三甲氧基硅烷中间层；(3)包覆中间层的抗体和/或配体外壳层。本发明还涉及制备该免疫磁性纳米粒子细胞分离器的方法。本发明的免疫磁性纳米粒子细胞分离器可简单有效地分离靶细胞，例如CD34+细胞。

