

生化平台-乳胶微球包被推荐工艺

1. 乳胶包被常用方法

物理吸附方法：包被的乳胶微球稳定性差，批间差可控性差

化学偶联方法：推荐

2. 化学偶联方法推荐工艺

2.1 涉及配方

偶联缓冲液：50mM Mes, pH=6.5

封闭缓冲液：10%BSA

保存缓冲液：100mM Tris, 1%山梨醇, pH=9.0

2.2 偶联

取 100ul 乳胶微球（固含量为 10%）到 2ml 的离心管中，加入 1ml 偶联缓冲液，加入适量抗体，37℃，摇床震荡 30 分钟。

注意：①抗体加入过程中边振边加；

②NHS 纯化的抗体，包被比例推荐 1:0.1-0.15；ProteinA 纯化的抗体，包被比例推荐 1:0.3-0.4。

2.3 活化

加入新鲜配置的 10mg/ml EDC 溶液，建议使用 5 倍羧基含量的 EDC，37℃，摇床震荡 60 分钟

注意：①EDC 需现配现用，可分装小规格，每次取用一只，注意防潮；

②计算微球表面基团的含量，如活化效果差，可提升为 10 倍或者 15 倍用量。

2.4 封闭

加入十分之一体积的封闭缓冲液，37℃，摇床震荡 60 分钟，可适当延长至 120 分钟

注意：JSR 现有高分子材料 CE210/CE510 作为封闭剂，有条件的客户可以进行尝试

2.5 清洗保存

高速离心 13000r/min*10min, 4℃，弃上清，沉淀用超纯水重悬清洗，离心清洗重复两次，最后一次用保存缓冲液重悬。

3.微球的选择

根据项目的灵敏度和线性范围选择粒径，高灵敏度选用大粒径，长线性用小粒径，同时要求时，可用大小粒径混用，比如全量程 CRP 就可以选用大小粒径，抗体只需一个多抗即可。

4.包被过程可能存在的问题

4.1 偶联后超声对于化学键的影响以及抗体效价的影响？

→只要注意温度的管控（一般用冰浴），一般不会对化学键和抗体有影响。

4.2 大粒径的羧基胶乳，在 EDC 活化时很容易产生沉淀。

→凝集和沉淀不是很严重的话，可以继续试验（或打散后继续进行试验）。如果较为严重的话，建议减少 EDC 的量，或同时减少 EDC 和胶乳的浓度。

4.3 包被过程中，需不需要加入少量表面活性剂如吐温？

→如果有可能的话，尽可能不要添加活性剂。也要根据实验情况，加入活性剂会改善凝集现象。

4.4 包被后的胶乳发现 37℃加速的稳定性不佳，整体反应值降低。

→可尝试加入甘氨酸，表面活性剂，氯化胆碱，糖类验证稳定性

4.5 包被后的胶乳出现沉淀，是否可以超声后继续使用

→理论上是可以的，但超声后要测试验证下，同时说明稳定性不太好，需要继续摸索稳定性

4.6 包被后的胶乳本底高，是否有解决方案

→两种可能性，可以尝试调整 R1 里面的组分看是否能改善；另外一种可能是微球没有超声分散完全，可尝试继续超声，但一定要注意，过量的超声可能会使微球和抗体的灵敏度降低

此文章内容为本司实际生产过程中的方法及可能出现的问题，分享给客户及同行朋友，如有不足欢迎指导！