

蓝色羧基微球

1 产品介绍

蓝色羧基微球是由基础聚苯乙烯微球染色值得，通过独特的修饰工艺，表面官能团含量可控可调，该产品可用于定性和半定量检测，表面为羧基基团的蓝色聚苯乙烯微球，可以共价偶联的方式与抗原/半抗原、抗体、多肽及核酸探针等配体偶联，为免疫诊断、生物分离提供了理想材料。本产品可用于“胶乳增强免疫比浊（PET）”、“凝集试验（LAT）”以及“固相免疫检测”等试剂产品的开发。

产品特点及优势：

- 微球粒度均一、精确可控，尺寸偏差小；
- 色彩鲜艳，可根据客户需求调节表面电荷密度(PA)或羧基含量；
- 可控的亲/疏水性表面，减少了非特异性结合影响；
- 稳定的批量化生产能力，批间差小；
- 通过引入其他官能团加强胶体稳定性，从而提升试剂稳定性和凝集反应活性。

表 1. 蓝色羧基胶乳微球产品基本信息

项目	性能
微球材质	聚苯乙烯
微球粒度偏差	CV 值<3%
颜色	蓝色
表面官能团	羧基 (COOH)
微球密度	1.05 g/cm ³
保护液	0.05%叠氮化钠水溶液
储存条件	室温或冰箱储藏 (2-8°C最佳, 切勿冻存), 密封保存

2 羧基胶乳微球应用

羧基胶乳微球适用于胶乳增强免疫比浊法诊断试剂的研发，胶乳增强技术是通过化学共价键偶联将抗体连接在胶乳颗粒上，当抗原抗体结合形成抗原-抗体-胶乳颗粒复合物，增加了免疫复合物的直径，提高了检测敏感性，也减少了受到其他非特异性反应的影响。

通常使用的化学偶联试剂为 EDC 或 EDC/NHS 组合，其加入量可按照标记时微球羧基含量计算，建议羧基与 EDC (EDC/NHS) 比例在 1: 1-4。

蛋白偶联量的计算可参考公式 $S=(6/\rho Sd)(C)$ ，S 表示达到表面饱和和所需的蛋白量 (mg 蛋白/g 微球)， ρS 表示微球材料的密度 (1.05 g/cm³)，d 表示微球粒径 (μm)，C 表示微球的载量 (mg/m²)。每 mg 微球饱和和标记量如下：

粒径 (nm)	50	100	200	300	400
蛋白 (μg)	280-350	142-171	71-86	47-57	35-43

3 蛋白偶联方法

3.1 化学试剂的准备 (建议)

偶联液 (Reaction Buffer): MES, 20-100 mmol/L, pH 5.0-6.5;

EDC 溶液: 1% w/v; NHS 溶液: 1% w/v;

封闭液 (Blocking Buffer): BSA, 2% w/v;

保存液 (Storage Buffer): HEPES, 20-100 mmol/L, pH 7.4, 长期保存加入 0.01% Proclin 及 0.5% BSA。

3.2 化学偶联方法（一步法）

- 1) 准备适量偶联液，现用现配；
- 2) 用偶联液溶解抗体，使其浓度为 1 mg/ml，室温混匀 5 min；
- 3) 用偶联液悬浮微球，使其浓度为 1% w/v，室温混匀 5 min；
- 4) 将抗体溶液与微球悬液按照 1: 10 混合，室温下混匀 1 h；
- 5) 准备 EDC 溶液，现配现用；
- 6) 按需求量将 EDC 溶液加入到上述微球悬液中，室温混匀 2 h；
- 7) 离心去上清，加入与反应体系等体积的纯水，清洗 1 遍（可增加次数）；
- 8) 准备封闭液，加入与反应体系等体积的封闭液，37℃混匀 1 h；
- 9) 离心去上清，将包被微球用保存液重悬。

3.3 化学偶联方法（简单二步法）

- 1) 准备适量偶联液，现用现配；
- 2) 每 ml 微球悬液加入 20 mg 的 EDC，室温混匀 30 min，然后再加入少量的 EDC 溶液，继续室温孵育 30 min；
- 3) 离心去除多余 EDC，用等体积的偶联液清洗两次微球，用偶联液重悬；
- 4) 用偶联液溶解抗体到 1 mg/ml，将抗体快速加入微球悬液中，室温混匀 2 h；
- 5) 离心去上清，加入与反应体系等体积的纯水，清洗 1 遍（可增加次数）；
- 6) 准备封闭液，加入与反应体系等体积的封闭液，37℃混匀 1 h；
- 7) 离心去上清，将包被微球用保存液重悬。

3.4 NHS 中间活化酯两步法：

- 1) 准备适量偶联液，现用现配；
- 2) 准备 NHS 溶液，按照羧基浓度的 2 倍加入适量 NHS，室温混匀 5 min；
- 3) 准备 EDC 溶液，按照羧基浓度的 1 倍加入适量 EDC，室温混匀 30 min；
- 4) 离心去上清，用偶联液清洗 1 次（可增加次数）；
- 5) 用偶联液重悬微球到浓度为 1% w/v；
- 6) 用偶联液稀释蛋白浓度至 1 mg/ml，向微球悬液中立即加入一定体积的抗体溶液，室温混匀 2 h；
- 7) 离心去上清，加入与反应体系等体积的纯水，清洗 1 遍（可增加次数）；
- 8) 准备封闭液，加入与反应体系等体积的封闭液，37℃混匀 1 h；
- 9) 离心去上清，将包被微球用保存液重悬。

4 常见问题

4.1 聚集

1) 聚集出现在活化阶段（两步法）

调节缓冲液浓度或 pH；降低 EDC/NHS 加入量或降低微球浓度；缩短活化时间或降低活化温度；快速混匀。

2) 聚集出现在加入蛋白后

一步法换两步法；加入蛋白后立即出现沉淀并分层，更换缓冲液或调节 pH；尝试将微球加入蛋白溶液；扩大反应体系，降低微球浓度；蛋白浓度过高时会出现贴壁，尝试吹打或者超声将其分散；加入蛋白前，将微球超声分散；快速混匀。

3) 聚集出现在封闭后

降低封闭剂浓度；缩短封闭时间；更换封闭剂。

4) 聚集出现在离心后

注意离心转速和时间；可尝试吹打重悬后适当超声。

5) 微球自身聚集

用乙醇溶液稀释，超声并静置，去除聚集颗粒；纯水稀释，选择合适滤膜过滤；加入微量 SDS。

6) 聚集出现在标记完成后

检查标记过程中是否有聚集情况；保存条件是否适宜；检查保存液组分及浓度，是否过期；检查标记使用的试剂是否被污染；蛋白是否出现异常；封闭时提高封闭剂浓度或延长封闭时间，保存液中适当加入封闭剂。

4.2 蛋白标记偶联率

1) 蛋白无法吸附到微球上

调节缓冲液 pH 或尝试其他缓冲液；加入更多的蛋白；微球使用前进行清洗，去除微球中的表面活性剂，释放其占据的蛋白结合位点；检查 EDC/NHS 是否过期。

2) 标记时加入了大量的蛋白，偶联后无活性

解决方法：检查蛋白自身情况；选择合适缓冲液及调节 pH；降低蛋白加入量，从而改变蛋白与微球结合的空间构象；使用表位稀释物，占据微球上的部分蛋白结合位点，防止蛋白靠的太近。

3) 标记完成储存一段时间后，活性降低

解决方法：检查保存条件，降低储存温度到 2~8℃；降低储存液中的封闭剂及表面活性剂浓度，防止抗体被替换；确认储存液中无能与抗体竞争的杂质，防止长时间取代抗体；加入适当蛋白保护剂。

5 订购信息及相关产品

名称	货号	规格	粒径
蓝色羧基微球	BL103200-10ml	10 ml	
	BL103200-100ml	100 ml	200 nm
	BL103200-1000ml	1000 ml	