



时间分辨微球(羧基)偶联方法

粒径: 100nm-300nm

激发/发射: 365/610nm

时间分辨微球参数

I. 微球的清洗

一般取 1mg 微球(10mg/ml) 标记 0.1mg 抗体, 不同项目可进行两边浓度摸索优化。

具体操作流程如下:

1. 100ul 微球 + 900 ul 标记缓冲液 (50mM MES,pH 6.0, 或者 0.05MPBS,pH 6.0);
2. 17000rpm,离心 20min, 第一遍;
3. 去掉上清, 用 1000ul 标记缓冲液重悬微球;
4. 17000rpm,离心 20min, 第二遍;
5. 去掉上清, 用 1000ul 标记缓冲液重悬微球 (离心后微球重悬可使用水浴超声仪, 建议功率 500-700W, 超声时长 2-5min, 下同), 备用。

II. 微球的活化

各称取 20mg NHS 和 EDC,用标记缓冲液溶解,现用现配,即 20mg/ml NHS 和 EDC; 取 20ul NHS, 加入到清洗后的微球中, 快速混匀;
然后再取 5ul EDC 加入到微球中, 快速混匀; 室温孵育, 20-30min。

III. 清洗去除残留

EDC 将活化后的微球:

1. 17000rpm,离心 20min, 第一遍;
2. 去掉上清, 用 1000ul 标记缓冲液重悬微球;
3. 17000rpm,离心 20min, 第二遍;
4. 去掉上清, 用 1000ul 标记缓冲液重悬微球, 备用。

IV. 微球与抗体的偶联

取 0.1mg 抗体溶解于 (50mM MES,pH 8.5, 或者 0.05MPBS,pH 8.5) 于 2ml 离心管中, 加入活化后的微球, 快速混匀后, 室温孵育, 3 小时。

V. 封闭

配制 20mg/ml 的 BSA, 即称取 20mg BSA,用终浓度 100mM 乙醇胺溶液充分溶解, 备用。

微球标记抗体后, 加入 100ul 上述封闭液 (含 BSA), 室温孵育 1 小时。

VI. 去除未结合的抗体

此步骤目的是通过高速离心的方法去除游离的未结合微球的抗体;

具体流程如下:

1. 17000rpm,离心 20min, 第一遍;

2. 去掉上清, 用 1000ul 稀释液 (50mM PBS, pH 7.4 或 50mM Tris, pH 8.0)

重悬微球;

3. 17000rpm, 离心 20min, 第二遍;

4. 去掉上清, 用 1000ul 稀释液重悬微球, 即为抗体-微球标记复合物, 4°C 放置备用, 如长期保存需加入终浓度为 0.2% BSA 和 0.02% NaN₃ 溶液。

注意事项

1. 保存条件: 本产品需要于 2-8°C 保存, 切勿冷冻;
2. 本产品在使用前确认处于均匀的悬浮状态, 有轻微结块可以用超声去除;
3. 本产品活化后建议立即进行偶联实验, 活化状态不宜长时间保存;
4. 本产品仅供科研使用。

www.mlbio.cn



微信公众号



手机官网

企业信息:

上海酶联生物科技有限公司

办公地址: 上海市松江区云凯路66号临港科技绿洲T2栋16楼

电 话: 4008-898-798

传 真: 021-66980655

E-MAIL: 2881505699@qq.com