



体外诊断用 AIE 荧光微球使用说明书

1 产品介绍

本系列荧光微球是聚苯乙烯包覆聚集诱导发光 (AIE) 分子而得, AIE 分子嵌入在微球内部, 由于聚集诱导发光特点, 聚集时不会发生荧光猝灭效应, 能够大幅度地提高 AIE 分子的荧光效率, 绝对量子产率高达 90% 以上; 同时 AIE 分子被聚苯乙烯包裹后, 隔绝了外界环境对其影响, 荧光稳定性大大提高, 荧光效果持久稳定。同时, 我们根据产品应用方向不同, 制备不同粒径、不同色光和多种功能基团的微球, 满足客户多样化的需求。

2 适用产品型号

粒径	200 nm	300 nm	400 nm
黄色荧光 (Em.550nm)	NAYPC-020	NAYPC-030	NAYPC-040
红色荧光 (Em.610nm)	NARPC-020	NARPC-030	NARPC-040

3 使用方法

3.1 AIE 荧光微球标记工艺

3.1.1 所需材料

- 1、AIE 荧光微球: 1 wt% (固含量)。
- 2、反应缓冲液: pH=6.0 0.005M MES 缓冲液 (活化); pH= 6.5 0.005M MES 缓冲液 (偶联)。
- 3、偶联剂: EDC/NHS。
- 4、封闭液: 甘氨酸封闭液 (1%甘氨酸+0.05% BSA)。
- 5、保存液: Tris 微球保存液 (0.02M Tris + 0.1% Tween-20 + 0.5% BSA + 0.03% Proclin300 , PH8.0)。

3.1.2 标记工艺流程

- 1、取 100 μ L 的 AIE 荧光微球溶液 (1 wt%), 加入 500 μ L MES PH6.0 缓冲液洗一次, 离心去上清;
- 2、加入 500 μ L MES PH6.0 缓冲液复溶微球, 之后加入 30 μ L EDC 和 90 μ L NHS (浓度均为 3mg/mL, MES PH6.0 缓冲液现用现配) 于黑暗中旋转震荡 30min, 离心去上清;
- 3、加入 500 μ L MES PH6.5 缓冲液洗一次, 加入 500 μ L MES PH6.5 缓冲液复溶微球, 加入 20 μ g 抗体 (抗体用量根据项目具体情况变化) 于黑暗中旋转震荡 2h, 离心去上清;
- 4、加入 500 μ L 封闭液复溶, 于黑暗中旋转震荡 1h, 离心去上清;
- 5、加入 500 μ L 保存液洗一次, 离心去上清;



6、加入 100 μ L 保存液复溶并于 2-8 $^{\circ}$ C 保存。

注：离心转速推荐 15000rpm (22000xg)，离心时间 15-20min。

3.2 AIE 荧光微球层析工艺

3.2.1 所需材料

- 1、结合垫：Millipore GFDX203000 或奥斯龙 8951 或奥斯龙 8964
- 2、样品垫：上海金标 BT53 或上海捷宁 SB08
- 3、预处理缓冲液：0.02M Tris + 2%蔗糖 + 1% Tween-20 + 0.5% BSA + 0.5% PVP K30 + 0.5% PEG 4000 + 0.1% Casein Na + 0.03% Proclin300, PH7.4;
- 4、微球稀释液：0.05M Tris + 15%蔗糖 + 0.5% Tween-20 + 1% BSA + 0.5% PVP K30 + 0.5% PEG 4000 + 0.03% Proclin300, PH8.0;

3.2.2 层析工艺流程

- 1、结合垫预处理：采用喷金仪进行垫处理，结合垫宽度为 12mm，喷垫参数为：喷量 5.0 μ l/cm；间距：3.3mm；数量：3，喷垫完成后放置烘箱烘干备用。
- 2、样品垫预处理工艺：采用喷金仪进行垫处理，样品垫宽度为 15mm，喷垫参数为：喷量 9.0 μ l/cm；间距：3.3mm；数量：4，喷垫完成后放置烘箱烘干备用。
- 3、微球溶液的配制：5%T 线标记微球+2%C 线标记微球+ 93%微球稀释液；
- 4、微球溶液喷垫工艺：采用喷金仪进行喷垫，喷垫参数为：喷量 4.0 μ l/cm；间距：0 mm；数量：1，喷垫完成后放置烘箱烘干备用。

4 使用注意事项

- 1、AIE 荧光微球在使用之前应涡旋混匀或超声混匀，探入式超声是重悬微球最有效方式。
- 2、EDC 对湿度非常敏感，受潮或结块后不能使用，EDC 溶液使用应现用现配，NHS 也应现用现配。
- 3、为了达到较优的偶联效果，所用的偶联反应缓冲液体系中应不含游离氨基，尤其 Tris、甘氨酸、醋酸缓冲液不可使用。
- 4、反应缓冲液体系中加入痕量表面活性剂（Tween 20 等，不超过 0.01%）可有效避免微球的团聚。
- 5、微球溶液浓度可根据项目信号值进行调整，T 线标记微球推荐用量为 3%~8%；C 线标记微球推荐用量为 1%~2%。
- 6、垫材质、垫预处理缓冲液、微球稀释液、活化剂用量和抗体比例等可根据项目性能进行优化；

本方案仅供研究初期参考，具体实验条件请研究人员依据自身项目进行优化