定性侧向层析中膜面存在背景颜色的解决方案

Technical Note 007

纳 微
NanoMicro

简介

本文档概述了定性侧向层析中，当选用红色乳胶微球或者金纳米颗粒作为标记物时，在样品移动完之后，膜面上会残留红色背景颜色（褪板不干净）的现象发生的原因及其解决方案。

适用对象

本文档适用于PolymStar® LD系列彩色微球，特别是PolymStar® LD030/040R-Carboxyl红色聚苯乙烯微球用于侧向层析开发。

膜面存在背景颜色的原因

在侧向层析过程中，标记了特异性抗体/抗原的红色微球与待测物结合，并通过毛细作用侧向流动。由于NC膜本身是多孔材料，其孔径有一定的大小分布。当微球本身处于良好分散状态的时候，其流体力学直径在200 – 500 nm之间，可以很容易地扩散通过NC膜的膜孔。但当微球由于各种原因出现团聚，分散性下降，扩散速率减慢，还容易出现堵膜，进而导致背景颜色的产生，甚至进一步出现假阳性等问题。因此，保证微球在整个使用过程中的分散性良好，使微球能够顺畅通过膜孔，是避免膜面存在背景颜色难以褪去这一现象的根本办法。

改善微球分散性的解决方案

改善微球分散性主要通过优化两个过程的参数来实现，其一是微球偶联蛋白的过程，其二是偶联完蛋白后干燥喷垫的过程。第一个过程的优化可参考文档《TN003：EDC/Sulfo-NHS两步法共价偶联抗体条件的优化》。在第二个过程中，可以优化的的参数包括：

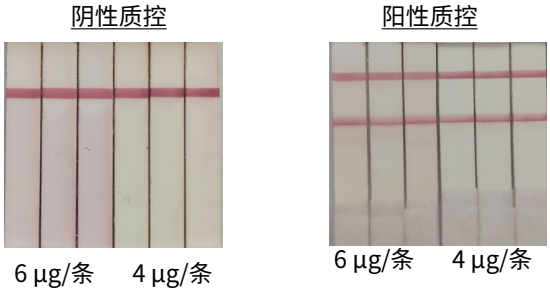
1）**微球喷垫的浓度**。过高的微球用量不但会导致膜面背景颜色的产生，还有可能带来假阳性。

2）**微球偶联后的分散缓冲液**。可以加入适当的蛋白或表面活性剂，但注意不要过量，否则可能影响免疫相互作用。

3）**微球偶联后的分散方式**。适当增加超声分散的功率或者延长超声分散的时间都有助于解决此问题。

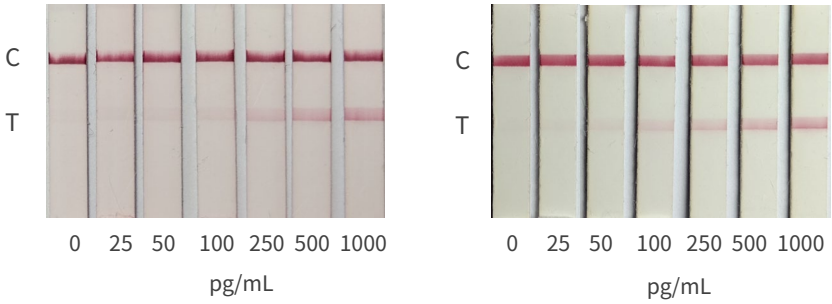
以下给出部分解决方案的效果示例。示意图均使用新冠抗原作为检测项目，标记物为PolymStar® LD030R-Carboxyl（红色聚苯乙烯微球，羧基，0.3 μm）偶联新冠N蛋白抗体，层析膜为UniSart® CN140硝酸纤维素膜：

1）**降低微球喷垫的浓度**。将平均每根试纸条的微球用量从6 μg降至4 μg。



从上图可以看出，降低微球用量可以有效改善膜面背景颜色残留的现象。

2）**增加超声功率或超声时长**。将偶联抗体后的微球稀释到0.4% w/v，总体积0.25 mL，超声探头功率设定为195 W，每次超声5 s，间隔3 s，共持续1 min。



图示左侧为超声时长共持续1 min，右侧为超声时长共持续3 min，可以看出增加超声时长可以明显改善膜面背景颜色残留的现象。