

## Octet® VHH 生物传感器

适用于 VHH 抗体的定量分析和动力学表征



### 技术说明

**适用范围：**本技术说明介绍了使用 Octet® VHH 生物传感器表征 VHH 抗体的动力学和定量分析工作流程。

**关键字或短语：**Octet®, 生物层干涉, BLI, 动力学分析, 定量分析, VHH, Nanobodies®, 抗体捕获, 生物传感器再生

### 摘要

VHH 抗体（或称 Nanobodies®）的发现最早可追溯到 20 世纪 90 年代初，由于其体积小、稳定性高、结合性能强、修饰和生产过程简便且经济，已成为诊断、治疗及生物技术领域诸多研究中最具通用性和效力的工具之一<sup>1-3</sup>。为加快 VHH 抗体的开发和优化，必须有一种快速、可靠的方法对其进行定量和动力学表征。在此背景下，Octet® VHH 生物传感器提供了一种可靠且经济的方案，能够对细胞培养物中粗样品，或纯化样品中的 VHH 进行非标记的动力学和定量分析。

了解更多：[www.sartorius.com.cn](http://www.sartorius.com.cn)

# 简介

Octet® VHH 生物传感器对源自骆驼科动物（包括羊驼、美洲驼和骆驼）的 VHH 抗体以及人源化 VHH 抗体表现出高度特异性（图 1A），并且不与兔或小鼠的 Fab 或 Fc 片段，以及小鼠和兔的 IgG 相互作用，但对人和山羊 IgG 表现出少量结合（图 1B）。在 VHH 表征方面，这些生物传感器具有高结合载量和灵敏度，以及宽广的定量动态范围。此外，这些生物传感器性价比非常高，在动力学和定量分析中可再生多达 10 次，同时保持测量的一致性和精确性。因此，Octet® VHH 生物传感器非常适用于各种高通量应用，包括先导分子的识别和优化、细胞株开发、工艺开发、以及粗提蛋白和纯化蛋白样品质量控制。本技术说明介绍了利用 Octet® VHH 生物传感器表征 VHH 抗体的动力学和定量分析工作流程，并提供了使用这些生物传感器进行检测优化的指导原则。

## 动力学分析工作流程

Octet® VHH 生物传感器预先包被有抗 VHH 抗体混合物，可直接从粗样品或纯化样品中捕获骆驼科和人源化的 VHH 抗体。这些生物传感器对羊驼、美洲驼、骆驼和人源化 VHH 抗体具备高结合载量，因此适用于低浓度样品分析和各种蛋白质的表征。

图 2 展示了一个利用 Octet® VHH 生物传感器表征分析物与 VHH 抗体之间相互作用的分析工作流程。为获得良好结果，动力学分析需针对以下方面优化：a) 检测缓冲液；b) 配体固化浓度；c) 分析物浓度。此外，在配体固化步骤前，用预处理缓冲液对 Octet® VHH 生物传感器表面进行预湿也很重要，这既能增强基线稳定性，也能为 VHH 捕获与分析物结合打造更均匀、更稳定的传感器表面。

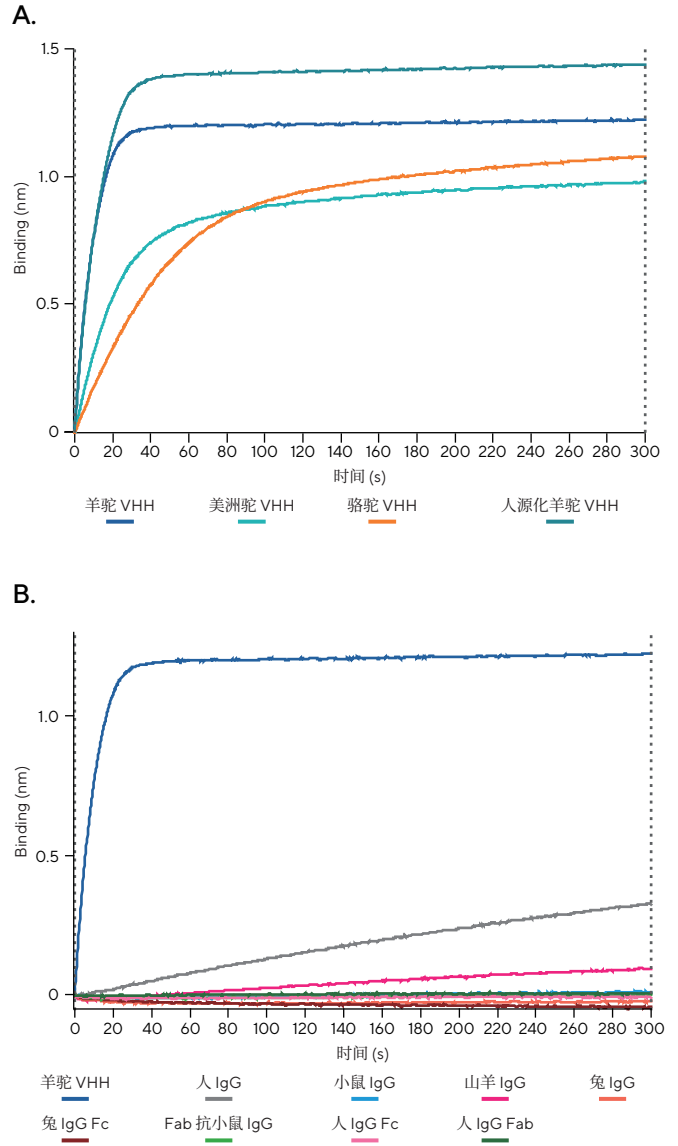


图 1. Octet® VHH 生物传感器的特异性。(A) 与羊驼、美洲驼、骆驼和人源化 VHH 具有很强的结合能力。(B) 不与兔或小鼠的 Fab 或 Fc 片段，以及小鼠和兔的 IgG 结合。所有样品的检测浓度均为 5  $\mu\text{g/mL}$ 。

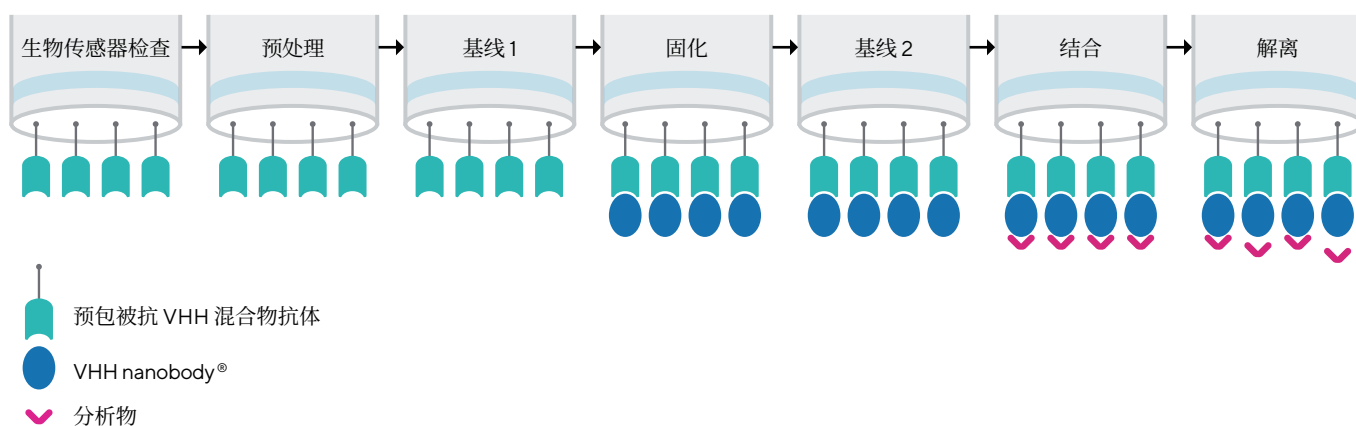
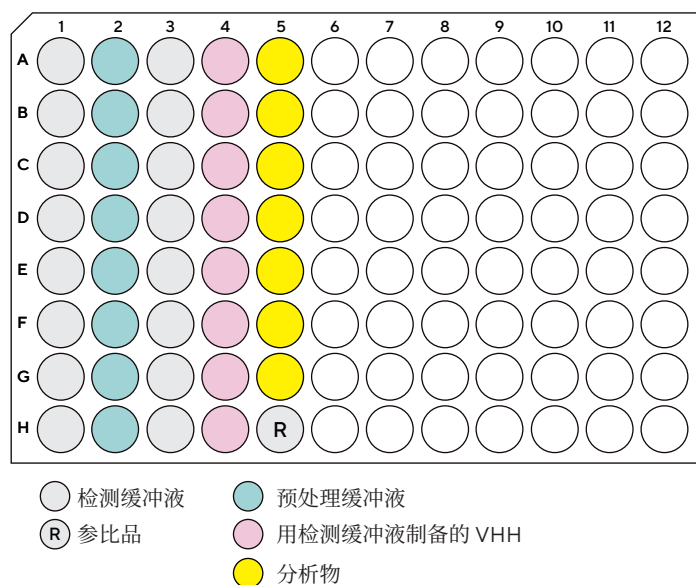


图 2. Octet® VHH 生物传感器动力学分析工作流程通常包含以下 7 个步骤：(1) 生物传感器检查。(2) 预处理，以增强基线稳定性。(3) 基线 1，在配体固化前进行基线漂移检查。(4) 固化（捕获）VHH 抗体。(5) 基线 2，在分析物结合前进行配体稳定性检查和基线漂移检查。(6) 结合动力学分析。(7) 解离动力学分析。

## 必备材料

- Octet® BLI 仪器，搭载 Octet® BLI Discovery 和 Analysis Studio 软件
- Octet® VHH 生物传感器，赛多利斯货号 18-5178 (1 盒)、18-5179 (5 盒)、18-5180 (20 盒)
- 所有 Octet® BLI 仪器必备：96 孔黑色平底微孔板，赛多利斯货号 18-5172 (10 块)、18-5173 (100 块)
- Octet® R8e、RH16 和 RH96 仪器可选配：
  - Octet® 384 孔黑色斜底微孔板，赛多利斯货号 18-5166 (10 块)、18-5167 (100 块)
  - 384 孔黑色平底微孔板 (Greiner Bio-One 货号 781209)
- **检测缓冲液。** 建议使用含 0.1% BSA 的 Octet® 1X 动力学分析缓冲液 (1X KB)。该缓冲液可通过将 Octet® 10X 动力学分析缓冲液 (赛多利斯货号 18-1105) 用 1X PBS (pH 7.4) 稀释 10 倍并加入 0.1% w/v BSA 制备。也可以使用其他缓冲液，前提是不会对固化 VHH 的稳定性和活性产生不利影响。有关选择理想检测缓冲液的指导，请参阅“动力学分析最佳实践”部分。
- **预处理缓冲液。** 理想的预处理缓冲液是配对分子的再生缓冲液，如果尚未确定再生缓冲液，可先用 10 mM 甘氨酸 (pH 1.7) 代替。
- **用于固定的 VHH 抗体。** VHH 抗体储备液既可溶解于缓冲溶液中，也可溶解于细胞培养上清液等复杂混合物中，需使用检测缓冲液稀释并制备 VHH 抗体样品。
- **与 VHH 抗体相互作用的分析物蛋白。** 分析物储备液同样既可溶解于缓冲溶液中，也可溶解于细胞培养上清液等复杂混合物中，需使用检测缓冲液稀释并制备分析物样品。
- 有关在 Octet® 软件中设置动力学分析的详细信息，请参阅 Octet® BLI Discovery 软件用户指南<sup>4</sup>。图 3 展示了使用 Octet® VHH 生物传感器进行动力学表征分析的微孔板布局和检测设计。在所有步骤中，96 孔板使用 200 μL 样品体积，标准 384 孔平底孔板使用 80-120 μL 样品体积，斜底 384 孔板使用 40-80 μL 样品体积。

A.



B.

步骤	描述	步骤类型	时间 (s)	振荡速度 (rpm)
第 1 步	在检测缓冲液中进行生物传感器检查	自定义/基线	60	1000
第 2 步	预处理	自定义/再生	5	1000
第 3 步	预处理	自定义/中和	10	1000
第 4 步	预处理	自定义/再生	5	1000
第 5 步	预处理	自定义/中和	10	1000
第 6 步	预处理	自定义/再生	5	1000
第 7 步	预处理	自定义/中和	10	1000
第 8 步	在检测缓冲液中进行“基线 1”	基线	120	1000
第 9 步	在检测缓冲液中进行 VHH 的固化	固化	180-300	1000
第 10 步	在检测缓冲液中进行“基线 2”	基线	120	1000
第 11 步	在检测缓冲液中进行分析物结合	结合	180-300*	1000
第 12 步	在检测缓冲液中进行分析物解离	解离	180-300*	1000

图 3.(A) 样品板图。(B) VHH 动力学分析的检测步骤及相关参数。\* 注：结合和解离时间取决于具体样品，应通过实验确定。

## 动力学分析程序

### 检测前准备

待所有试剂和样品升温至室温后，进行生物传感器预湿预湿和检测设置。向微孔板的每个孔中加入 200  $\mu$ L 检测缓冲液，完成 VHH 生物传感器的预预湿。预湿预湿在 96 孔黑色平底孔板中进行，至少持续 10 分钟。根据图 3 所示的孔板图和检测步骤设置检测程序，或者采用自定义程序。

### 预湿预湿后生物传感器的预处理

向样品板的第 2 列加入再生缓冲液或 10 mM 甘氨酸 (pH 1.7) (适用于 VHH)。在快速检查生物传感器状态后执行预处理，通常包含 3 个“再生 5 s + 中和 5-10 s”的循环。

### 基线 -1

向样品板的第 3 列加入检测缓冲液。此基线步骤应运行足够长的时间 (至少 120 s)，使任何观察到的基线漂移都能趋于稳定。

### VHH 抗体固化

用检测缓冲液将 VHH 抗体稀释到适当浓度，然后添加到样品板的第 4 列。所用配体的浓度取决于其与结合分析物的亲和力，以及配体和分析物的大小。典型的固定浓度为 0.2 - 0.8  $\mu$ g/mL，持续 300 秒，并且应针对所研究的每种相互作用进行优化。

为获得良好的动力学数据和准确的亲和力常数，应执行固化优化实验，以确定理想的配体固化浓度和时间。在固化步骤中，长时间缓慢固化可确保配体固定更均匀。理想情况下，固化步骤中的结合曲线将显示信号逐渐增加，并且不应达到饱和。尽可能减少配体与分析物的固化量，以降低固定化 VHH 周边的空间位阻，保障结合效率。

### 基线 -2

此基线步骤在与 -“基线 -1”相同的缓冲液孔中进行，同样需运行至少 120 s，以便观测残留配体解离导致的信号漂移衰减情况。更多信息请参阅“动力学分析最佳实践”部分。

## 与相互作用的分析物结合

如果要进行详细的动力学表征，则分析物蛋白必须经过纯化，且浓度已知。建议对分析物蛋白进行至少五种浓度的滴定系列实验，并对所有浓度进行全局拟合，以确定  $k_a$ 、 $k_{dis}$  和 KD 值。通常情况下，最高分析物浓度应大于预期 KD 的 10 倍。对于筛选检测或定性相互作用分析，只需一种浓度即可表征相互作用蛋白的结合情况。分析物样品必须用与基线和解离步骤相同的缓冲液进行稀释。此步骤使用了参比品，即不含分析物的检测缓冲液空白，以便扣除背景基线 -2 的漂移。结合时间取决于分析物样品，约为 30 到 300 s 或更长时间。

## 相互作用分析物的解离

解离步骤在与基线步骤 8 和 10 相同的缓冲液孔中进行。在基线 -2 和解离步骤中使用相同的孔，可以在数据分析中使用步骤间校正功能，从而实现更精确的曲线拟合。

## 处理和分析数据

1. 将数据固化到 Octet® Analysis Studio 软件中。
2. 通过指定参考扣除方法、y 轴对齐（基线步骤）、步骤间校正（解离步骤）来处理数据，并检查 Savitzky-Golay 滤波。
3. 通过指定分析步骤、拟合方法（1:1 结合、局部或全局拟合）和目标时间窗口来分析数据。
4. 要导出分析后的数据，请单击 Save Report（保存报告）生成 Excel 报告。

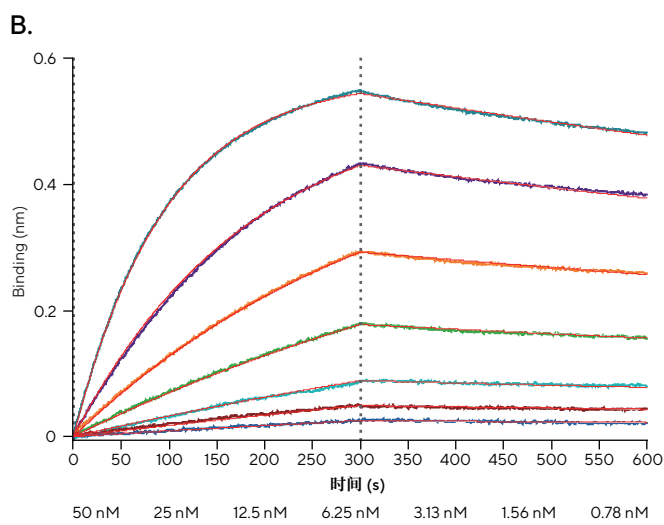
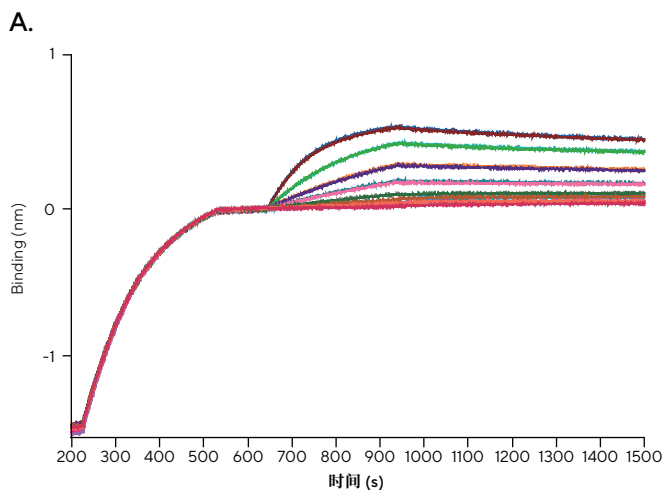
## 动力学分析最佳实践

- 当使用基于捕获的生物传感器（例如 Octet® VHH 生物传感器）时，捕获的 IgG 配体与生物传感器之间会发生一定程度的背景解离，这种背景解离（或图 2 中的基线 2 漂移）取决于样品，但通过降低配体浓度，以及使用经过优化的检测缓冲液可以缓解。

- 由于 VHH 分子较小且对空间位阻效应敏感，因此需要在不同的缓冲液中筛选配体和分析物浓度，以确定最佳检测条件。
- 配体固化优化应考虑配体分子在不同缓冲液条件下的稳定性，因此除确定理想固化浓度外，还需考察配体在不同缓冲体系中的稳定性。例如，可以评估不同的检测缓冲液（如 1X KB + 0.1% BSA 和 1X KB 或其他感兴趣的缓冲液）对基线 -2 信号的影响，同时测试 3-4 种配体固化浓度。理想的配体浓度和检测缓冲液可使基线 -2 信号在 2 min 基线运行期间的波动不超过  $\pm 0.03$  nm。
- 配体固化量超过所需量可能导致固化不均匀，并产生伪影，如非特异性结合、异质性或传质传输。然而，如果固定的配体不够，分析物结合步骤中的信号可能低于检测水平。有关动力学分析中配体固化优化的更多详细信息，请参阅应用指南“使用 Octet® BLI 平台进行生物分子结合动力学分析”<sup>5</sup>。
- 基线 -2 的其余漂移可以通过扣除结合步骤中参比品的信号进行纠正。参比品是指，在固化步骤中浸入配体溶液，然后在结合步骤中浸入不含分析物的缓冲液的生物传感器。
- 每个生物传感器的基线 -2 和解离步骤应始终在相同的孔中进行，这一点至关重要，能够在处理数据时使用步骤间校正功能对齐结合与分离步骤。
- 为提高数据质量，需在配体固化前对 Octet® VHH 生物传感器进行预处理。

## 代表性数据

图 4 展示了 Octet® VHH 生物传感器固化 0.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  抗 GFP VHH (Proteintech, 产品目录号 gt-250)，然后对 GFP (Proteintech, 产品目录号 Ag33633) 进行动力学分析的结果，该检测的动力学分析结果见表 1。



**图 4.** 在 Octet® R8 仪器上进行抗 GFP VHH 与 GFP 分析物的结合动力学分析。(A) 完整检测的原始数据，包括固化 0.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的抗 GFP VHH，然后对 GFP 分析物 (MW 30.38 kDa) 进行动力学分析的完整过程。使用 Octet® 1X KB + 0.1% BSA 作为检测缓冲液，使用 10 mM 甘氨酸 (pH 1.7) 作为预处理缓冲液。(B) 数据处理后的结合和解离曲线（包括使用 0 nM 曲线进行参考扣除，并使用 1:1 结合模型进行拟合）。

$K_D$ (M)	$k_a$ (1/Ms)	$k_{dis}$ (1/s)	Full $R^2$
2.15E-09	2.01E-05	4.32E-04	0.9998

**表 1.** 针对图 4 所示数据，使用 Octet® VHH 生物传感器获得的抗 GFP VHH 与 GFP 之间相互作用的动力学结果（1:1 结合模型，全局拟合）。

## 定量分析工作流程

Octet® VHH 生物传感器可用于定量分析浓度范围为 0.04 – 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的粗样品和纯化样品，具体取决于检测条件。对于浓度范围为 0.3–100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 VHH 样品，建议使用 400 rpm 的振摇速度，检测时间为 1 min。但对于浓度范围为 0.04 – 1.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 VHH 样品，建议使用 96 孔板，振摇速度为 1000 rpm，检测 2 分钟，以提高灵敏度。

## 必备材料

- Octet® BLI 仪器，搭载 Octet® BLI Discovery 和 Analysis Studio 软件
- Octet® VHH 生物传感器，赛多利斯货号 18-5178 (1 盒)、18-5179 (5 盒)、18-5180 (20 盒)
- 所有 Octet® BLI 仪器必备：96 孔黑色平底微孔板，赛多利斯货号 18-5172 (10 块)、18-5173 (100 块)
- Octet® R8e、RH16 和 RH96 仪器可选配：
  - Octet® 384 孔黑色斜底微孔板，赛多利斯货号 18-5166 (10 块)、18-5167 (100 块)
  - 384 孔黑色平底微孔板 (Greiner Bio-One 货号 781209)
- VHH 抗体纯化标准品（与未知样品为同种分子），用作校准标准品。
- Octet® 样品稀释剂（赛多利斯货号 18-1104），用于稀释所有样品。若要定量未稀释的粗样品，则需要一种具有相同基质且不含目标分子的空白缓冲液。

## 样品基质效应缓解的稀释因子测定

细胞培养基等复杂基质中的成分可能会干扰检测性能，使用 Octet® 样品稀释缓冲液稀释样品基质是尽可能减少基质效应的有效方法。表 2 描述了针对各种样品类型的稀释指导原则。然而，在执行定量分析之前，应先根据经验确定是否需要稀释样品。

样品类型	样品稀释剂缓冲液中推荐的最低稀释倍数
Octet® 样品稀释剂中的 VHH	原液
CHO-SFM 中的 VHH	1:3
DMEM 中的 VHH	1:4
DMEM + 10% FBS 中的 VHH	1:2
PBS 中的 VHH	1:2
2x YT 中的 VHH	1:2

表 2. 常见样品类型的推荐最低稀释倍数。在所有情况下，稀释样品、标准品和生物传感器预湿预湿溶液的基质应尽可能匹配。

## 检测的精度和准确度

定量动态范围可能因样品基质而异。为确定任何基质的定量范围，应按如下方式进行精密度和准确度研究：

1. 使用在“样品基质稀释因子测定”实验中确定的稀释因子，使用适当的基质稀释剂中制备一系列蛋白质标准品。根据实验目标，稀释系列应涵盖整个检测范围，例如，在 400rpm 下运行的检测应为 0.3-100  $\mu\text{g/mL}$ 。
2. 使用与步骤 1 中相同的基质稀释剂，制备两份已知浓度的蛋白质样品，用于回收率检测。这些样品的浓度不应超过所生成的标准曲线范围，建议一份为低浓度、一份为高浓度。在计算回收率时，这些样品在检测中将被定义为未知样品。
3. 将制备好的标准品和样品一式三份转移到样品板上。建议从 A 至 H 列排列样品。至少在一个孔中加入空白稀释基质，用于数据分析中的参考扣除。图 5 显示了孔板图示例。
4. 在匹配的基质稀释剂中预湿预湿生物传感器 10 分钟。
5. 使用与“样品基质稀释因子测定”实验中相同的检测参数，设置基本定量分析。定义样品重复组，计算重复平均值和 %CV。
6. 运行实验。检测过程中数据将实时显示。数据文件、方法文件和检测图将自动保存。
7. 将数据加载到 Octet® Analysis Studio 软件中。
8. 如果包含空白基质作为参比品，请使用“参考扣除”选项酌情修正数据。
9. 计算结合速率。结果表格将显示计算浓度和数据统计信息。

10. 通过选择标准曲线浓度下限和上限可接受的 %CV 值来定义检测的动态范围。
11. 如有必要，可排除标准曲线中超出规定动态范围的数据点。
12. 选择合适的方程来拟合标准曲线。建议 4 参数或 5 参数逻辑模型开始拟合，也可以使用其他模型，但需进行适当验证。若存在低浓度数据点，为获得更好的回收率结果，应使用 5 参数逻辑方程。
13. 利用未知样品的计算浓度值评估检测的准确度和精度，确定 % 回收率和 %CV。

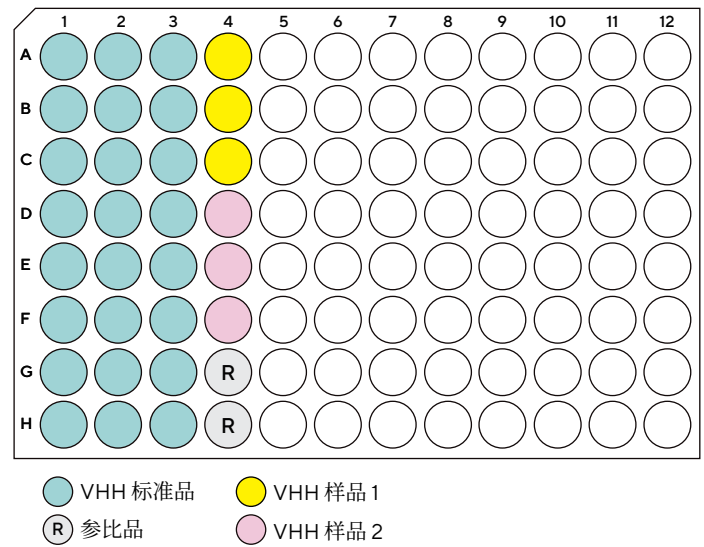


图 5. 加标回收率检测的孔板布局示例。

## 目标蛋白定量分析

1. 根据前几节优化步骤中确定的条件，制备样品、校准标准品和预湿溶液。
2. 使用之前在优化实验中描述的参数，设置基本定量分析。图 6 展示了检测设置示例。
3. 运行检测。
4. 将数据加载到 Octet® Analysis Studio 软件中。按照之前的优化步骤进行分析，以确定样品浓度和数据统计信息。
5. 要导出分析数据，请单击 Save Report（保存报告）并选择所需的格式：Excel 或 PDF。

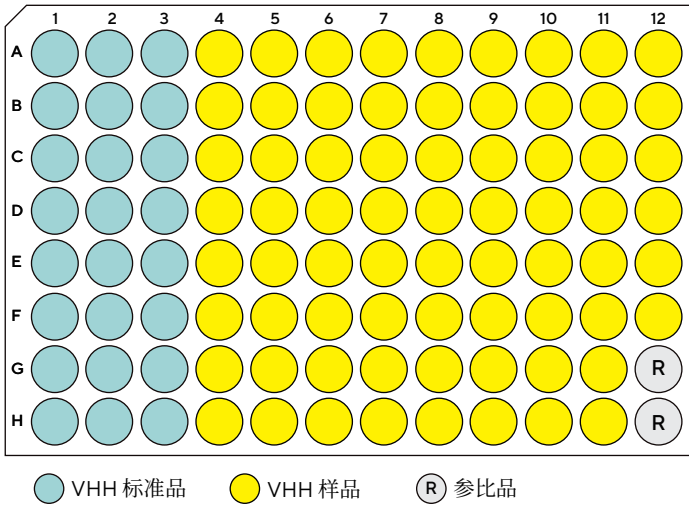


图 6. 使用 96 孔微孔板进行常规定量分析的孔板布局示例。

## 定量分析最佳实践

建议对定量分析进行以下优化步骤：

- 校准标准品的分子应与未知样品的分子相同。
- 校准标准品的浓度范围应涵盖未知样品（供试品）的预期浓度范围。
- 如果供试品的预期浓度 >100  $\mu\text{g/mL}$ ，则需确定达到目标检测性能所需的最小稀释倍数。
- 供试品、标准品、参比品和预湿溶液的基质尽可能匹配。
- 使用匹配基质中的空白（浓度为零）样品作为阴性对照进行背景信号扣除，在优化准确度和检测低浓度分析物时，这一点尤为重要。
- 执行 spike/recovery 研究，确定检测的动态范围。

## 代表性数据

图 7 和图 8 显示了在 Octet® RH96 系统上使用 Octet® VHH 生物传感器检测 VHH 的结果。

采用两种不同的检测设置运行了两条标准曲线，以展示定量动态范围 0.04-100  $\mu\text{g/mL}$ 。

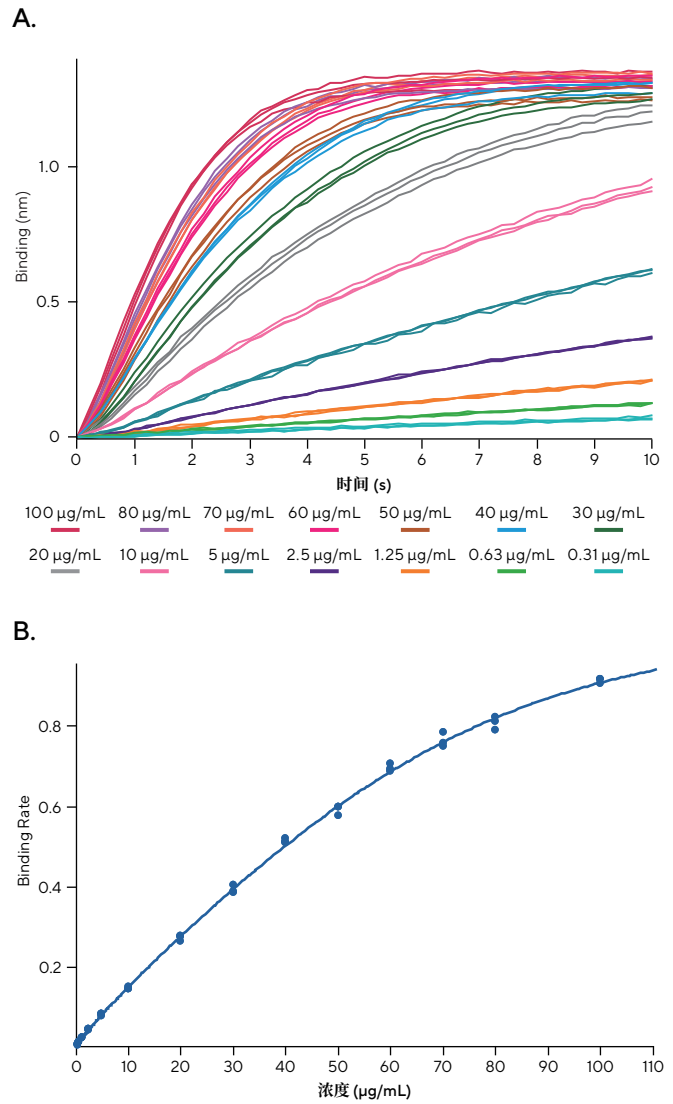
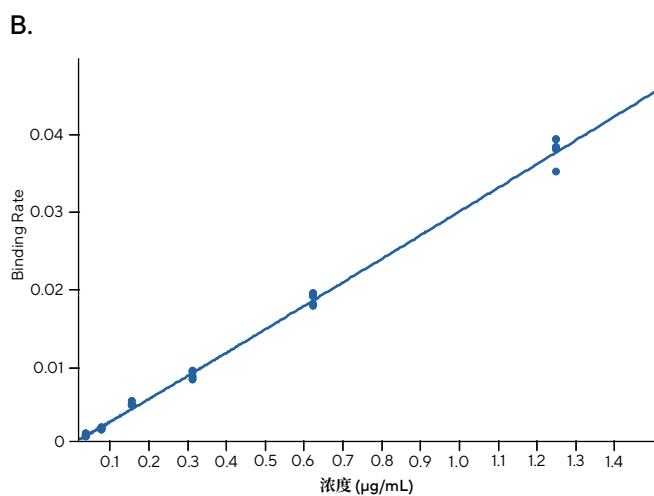
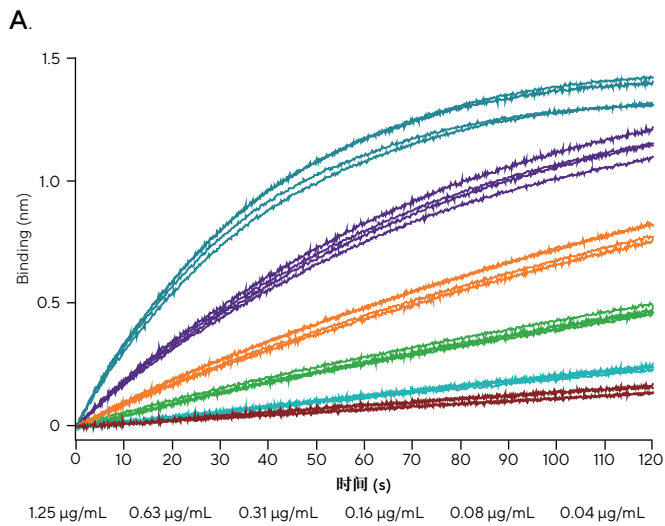


图 7. 使用 Octet® VHH 生物传感器定量分析 VHH。(A) VHH 在 0.3-100  $\mu\text{g/mL}$  动态范围内的剂量反应。在 Octet® RH96 仪器上进行三次重复检测，检测参数为：振摇速度 400 rpm，检测时间 1 min，数据处理读板时间 10 s。(B) VHH 校准标准品三次重复检测生成的标准曲线，使用 5PL（加权 Y）拟合模型计算。所有样品均以 Octet® 样品稀释剂缓冲液为基质。



**图 8.** 使用 Octet® VHH 生物传感器定量分析 VHH。(A) VHH 在 0.04-1.25 µg/mL 动态范围内的剂量反应。在 Octet® RH96 仪器上进行三次重复检测，检测参数为：振摇速度 1000 rpm，检测时间 2 min。(B) VHH 校准标准品三次重复检测生成的标准曲线，使用 5PL（未加权）拟合模型计算。所有样品均以 Octet® 样品稀释剂缓冲液为基质。

表 3 和表 4 显示了计算浓度、重复检测的 %CV 和浓度回收率 %。为了计算动态范围的准确数据，建议在动态范围的上限和下限两端各增加一个浓度水平。例如，为了获得 100 µg/mL 和 0.2 µg/mL 的准确数据，建议在稀释曲线和标准曲线的两端分别增加 200 µg/mL 和 0.1 µg/mL 数据点。

已知浓度 (µg/mL)	计算浓度 (µg/mL)	%CV (n=3)	%回收率
100	101.44	2%	101%
80	77.92	4%	97%
70	70.53	4%	101%
60	61.17	2%	102%
50	48.99	3%	98%
40	41.13	1%	103%
30	29.88	3%	100%
20	19.68	3%	98%
10	9.84	2%	98%
5	5.03	3%	101%
2.5	2.62	4%	105%
1.25	1.26	3%	101%
0.63	0.63	3%	101%
0.31	0.31	2%	97%

**表 3.** VHH (0.3-100 µg/mL) 三次重复定量分析的计算浓度、%CV 和 %回收率。

已知浓度 (µg/mL)	计算浓度 (µg/mL)	%CV (n=3)	%回收率
1.25	1.25	5%	98%
0.63	0.63	3%	99%
0.31	0.31	4%	100%
0.16	0.18	6%	115%
0.08	0.07	5%	88%
0.04	0.04	14%	91%

**表 4.** VHH (0.04-1.25 µg/mL) 三次重复定量分析的计算浓度、%CV 和 %回收率。

# Octet® VHH 生物传感器的再生

Octet® VHH 生物传感器可在动力学和定量分析中经济高效地再生并重复使用多达 10 次，以生成配体 - 分析物对的重复数据，或连续分析大量样品。再生操作如下：将生物传感器浸入甘氨酸溶液中 5 s，然后再浸入检测缓冲液中 5-10 s。这些再生步骤应连续重复三次，以完全去除结合的 VHH 或相互作用复合物。完成再生后，可将生物传感器用 VHH 固定，进行新的分析。由于生物传感器的再生性能取决于具体 VHH 样品，为获得良好结果，应针对每次检测优化甘氨酸的浓度和 pH 值。此外，建议在首次固化配体之前运行再生方案，对生物传感器进行预处理。

再生效果取决于所捕获的分子，每次再生循环后结合载量可能会略微下降。确切的可再生次数应通过实验确定，并取决于检测的精密度要求。图 9 和图 10 以及表 5 和表 6 显示了 6 次再生循环的动力学和定量分析示例。

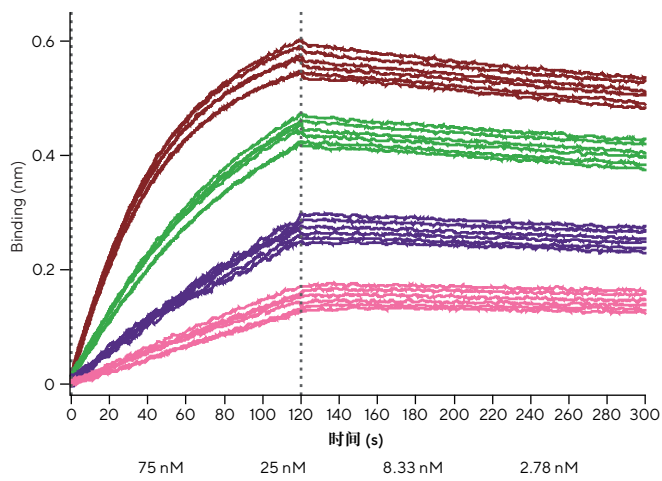


图 9. 经过 6 次再生循环，抗 GFPVHH-GFP 动力学分析的结合 - 解离曲线叠加图。数据轨迹紧密重叠，6 次再生循环过程中，动力学参数间的变异性较低。

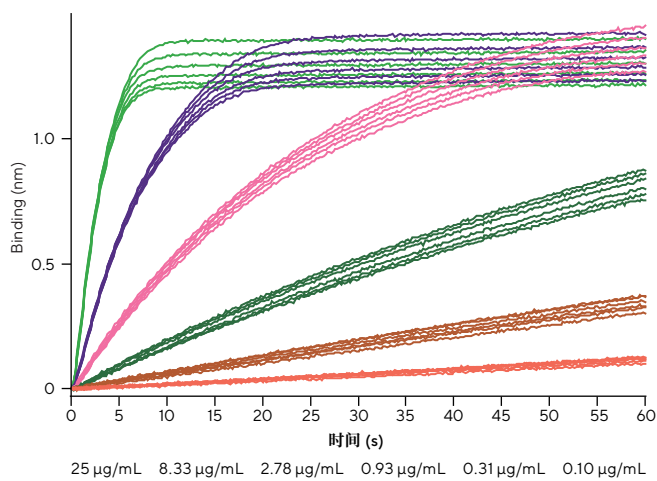


图 10. 经过 6 次再生循环，抗 GFP VHH 定量分析的结合曲线叠加图，浓度范围为 0.10-25 µg/mL。

循环	$K_D$ (M)	$k_a$ (1/Ms)	$k_{dis}$ (1/s)
第1次再生	2.78E-09	2.30E+05	6.40E-04
第2次再生	2.67E-09	2.16E+05	5.75E-04
第3次再生	2.53E-09	2.13E+05	5.39E-04
第4次再生	2.45E-09	2.24E+05	5.48E-04
第5次再生	2.57E-09	2.21E+05	5.68E-04
第6次再生	2.50E-09	2.18E+05	5.43E-04
平均值 (6次再生)	2.58E-09	2.20E+05	5.69E-04
%CV (6次再生)	5%	3%	7%

表 5. 使用 50 mM 甘氨酸 (pH 1.9) 进行 6 次再生循环, 抗 -GFP VHH-GFP 结合分析的  $K_D$ 、 $k_a$  和  $k_{dis}$  值及相应的 %CV。

已知浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	平均计算浓度 (6次再生)	%CV (6次再生)
25	25.03	2%
8.33	8.40	1%
2.78	3.07	6%
0.93	1.00	11%
0.31	0.33	11%
0.10	0.11	10%

表 6. 抗 -GFP VHH 定量分析 6 次再生循环的计算浓度和 %CV。

## 再生技巧

- 应筛选再生缓冲液, 以确定有效、安全地去除蛋白质配体的最佳条件。
- 当采用再生操作时, 为使结果更加稳定, 建议在第一次检测循环之前对生物传感器进行预处理。
- 当用于定量应用时, 确保生物传感器完全再生至关重要, 这是因为定量结果在很大程度上取决于生物传感器的表面载量。例如, 若经过多次再生循环后载量降低 20%, 可能会造成定量精密度降低 10-20%。

## 参考文献

1. Hamers-Casterman, et al. Naturally occurring antibodies devoid of light chains, *Nature*, 1993, 363, 446.
2. Alexander and Leong. Discovery of nanobodies®: A comprehensive review of their applications and potential over the past five years, *J Nanobiotechnology*, 2024, 22, 1.
3. Jin, et al. Nanobodies®: A review of generation, diagnostics, and therapeutics, *Int J Mol Sci*, 2023, 24, 5994.
4. Octet® BLI Discovery Software User Guide.
5. Application Note: Biomolecular Binding Kinetic Assays on the Octet® BLI Platform.

# 联系我们

更多联系信息，请访问

[www.sartorius.com.cn](http://www.sartorius.com.cn)

赛多利斯莱珀思（上海）贸易有限公司

邮箱 [leadscn@sartorius.com](mailto:leadscn@sartorius.com)

服务热线 400 920 9889 | 800 820 9889

