



Inhalt

1. Polylactat
ein neuer Werkstoff mit
innovativen Eigenschaften

2. Eigenschaften und Vorteile
 - niedriger Hintergrund
 - erweiterter Standardkurvenbereich
 - Beschichtung bei pH 4,5 bis 9,5
 - Bindung problematischer Konjugate

3. Technische Daten
 - Allgemeine Hinweise
 - Näpfchengeometrie
 - Außenmaße

4. Bestellinformation

Enzyme Linked Immunosorbent Assay Microplatten aus Polylactat: Eigenschaften, Vorteile, Anwendungsgebiete

Immunologische Testverfahren, insbesondere Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISAs) werden in der Laborroutine überwiegend in Microplatten aus Polystyrol durchgeführt.

Greiner Bio-One bietet hierzu seit Jahren seine bewährte MICROLON® Produktlinie an. Die Oberfläche einer nicht modifizierten Microplatte aus Polystyrol (MICROLON® 200 Produkte) ist hydrophob und bindet vor allem hydrophobe Moleküle. Um hydrophile Moleküle zu binden, müssen die Microplatten in einem physikalischen oder chemischen Prozess modifiziert werden (MICROLON® 600 Produkte).

Trotz Austestung verschiedenster Microplatten-Hersteller oder Polystyrol-Chargen Hersteller bleiben bei manchen Proteinen die Ergebnisse im ELISA unbefriedigend. Alternativen zu den klassischen Polystyrol Microplatten waren bis vor kurzem nicht vorhanden.

ELISA 96 Well Microplatten im 12x8-Streifen-Format von Greiner Bio-One aus dem neuartigen Werkstoff Polylactat sollen hier Abhilfe schaffen und neue Versuchsmöglichkeiten bei der immunologischen Testung von Peptiden, Proteinen oder Konjugaten erschließen. **Polylactat** (PLA) ist das Polymer der Milchsäure.

Es wird über das dimere Zwischenprodukt Laktid synthetisiert und kann ähnlich wie Polystyrol kunststofftechnisch verarbeitet werden. Poly lactat ist im Gegensatz zu Polystyrol vollständig biologisch abbaubar und kann aus nachwachsenden Rohstoffen gewonnen werden. Die Beständigkeit des Poly lactats genügt den Anforderungen im ELISA. Unter Einwirkung hoher Temperaturen ($> 60\text{ }^{\circ}\text{C}$) oder hoher Luftfeuchte ($> 60\%$) wird Poly lactat langsam autokatalytisch abgebaut.

Eigenschaften, Vorteile, Anwendungsgebiete

1. Hintergrund und Variationskoeffizient in Poly lactat Microplatten

Die Bindungskapazität einer Polymeroberfläche wird zum einen durch die chemische Struktur, zum anderen durch die Oberflächeneigenschaften der Matrix bestimmt. Diese wiederum hängen vom Herstellprozess ab.

Poly lactat kann bei geringen Temperaturen verarbeitet werden. Dadurch wird die Gefahr von Temperaturschwankungen während der Produktion minimiert. Dieses und die Polyesterchemie des Materials ergeben einen sehr niedrigen Hintergrund und Variationskoeffizienten (VK) im Test (Abbildung 1, $\text{VK} < 2\%$).

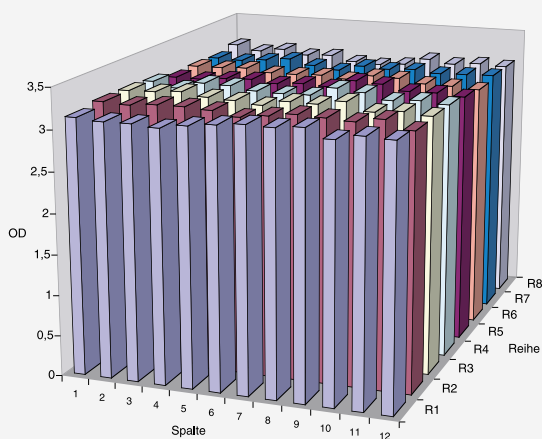


Abbildung 1:
Variationskoeffizient in einer 96 Well Poly lactat Microplatte $\text{VK} = 1,6$

2. Erweiterter Standardkurvenbereich

Viele ELISA-Systeme beruhen auf mit Antikörpern beschichteten Microplatten. Die Quantifizierung des nachzuweisenden Proteins oder Haptens erfolgt anhand eines Vergleiches mit einer Standardkurve, welche nach Möglichkeit einen großen Messbereich umfassen sollte. Um den Standardkurvenbereich von Poly lactat Microplatten anhand von Immunglobulin G zu ermitteln, wurden in vergleichenden Testreihen aufgereinigte Immunglobulin-Fractionen gelöst in PBS adhäsiv an Polystyrol- und Poly lactat-Oberflächen gebunden. Die Ergebnisse (Abbildung 2) zeigen, dass mit Poly lactat Microplatten im oberen Standardkurvenbereich in jedem Fall bis zu $5\text{--}10\text{ }\mu\text{g}$ Proteine nachgewiesen werden können. Im unteren Bereich werden je nach Beschaffenheit des spezifischen Immunglobulins noch Nachweisgrenzen bis zu 5 ng Protein pro Nöpfchen erreicht.

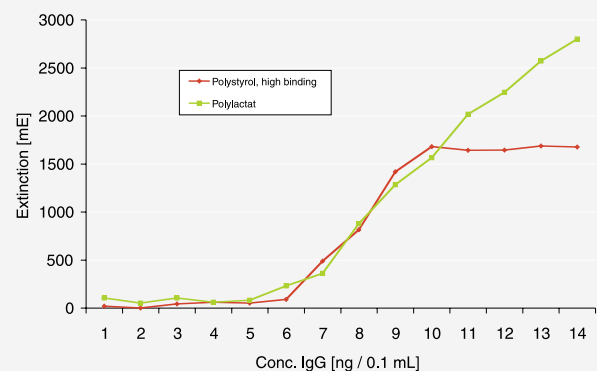


Abbildung 2:
Standardkurve (IgG) in einer 96 Well Polystyrol bzw. 96 Well Poly lactat Microplatte

3. Einfluß des pH-Wertes auf die Proteinbindung

Bei der Beschichtung von Poly lactat Microplatten mit unterschiedlicher Proteinen, hier am Beispiel von Immunglobulin G, zeigt sich, dass im Bereich zwischen $\text{pH } 4,5$ und $\text{pH } 9,5$ vergleichbare Proteinmengen gebunden werden (Abb. 3). Poly lactat Microplatten weisen keine Beschränkungen hinsichtlich des pH -Wertes auf. Dies ist insbesondere für Proteine oder Konjugate von Vorteil, die

sich nur im schwach sauren oder basischen Bereich lösen lassen. Um eine homogene Bindung in den Nöpfchen der Microplatten zu gewährleisten, müssen diese bei niedrigen pH-Werten beschichtet werden.

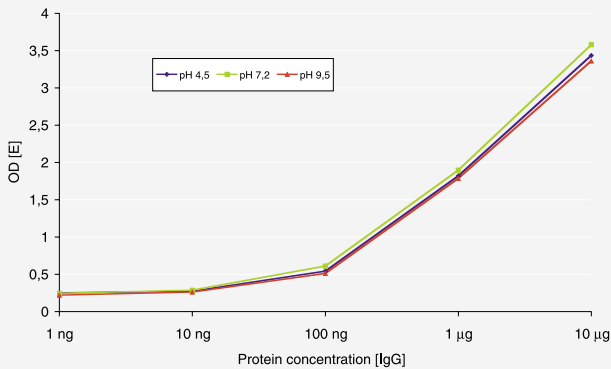


Abbildung 3:
Einfluß des pH Wertes auf die Proteinbindung (IgG) in 96 Well Polylactat Microplatten

4. Nachweis niedermolekulare Haptene

Niedermolekulare Haptene sind in enzymimmunologischen Testverfahren schwierig nachzuweisen. Das niedrige Molekulargewicht verhindert oft das Erreichen der Detektionsgrenzen. Mit niedermolekularen Haptene ist daher die Leistungsfähigkeit eines Testsystems besonders leicht aufzuzeigen. In einem Vergleichstest auf Polystyrol und Polylactat Microplatten wurde das weit verbreitete Pestizid MCPA

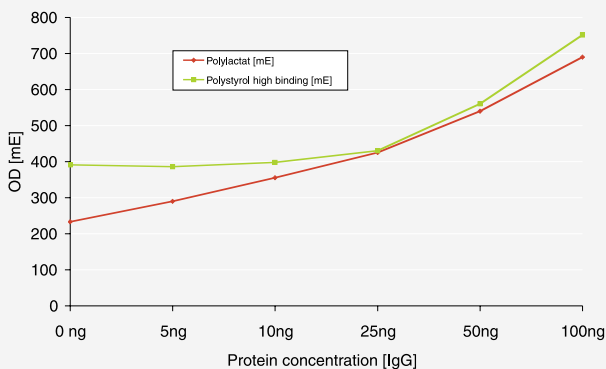


Abbildung 4:
MCPA Nachweis in 96 Well Polylactat und 96 Well Polystyrol Microplatten

(Molekulargewicht 200,62 g/Mol) als Hapten untersucht. Der Vergleich der Standardkurven (Abb. 4) zeigt, dass sich auf Polylactat Microplatten bei geringerem Background geringere Mengen Hapten nachweisen lassen.

5. Technische Daten

Um erfolgreich mit Polylactat Microplatten zu arbeiten, müssen übliche ELISA-Protokolle meist nicht verändert werden.

Zum Erzielen reproduzierbarer Ergebnisse ist eine Beschichtung über Nacht und die Verwendung von PBS Puffer anstatt des üblichen PBA Puffers empfehlenswert. Bei kolorimetrischen Tests sollte berücksichtigt werden, daß der Farbumschlag langsamer in Polylactat Microplatten als in Polystyrol Microplatten verläuft.

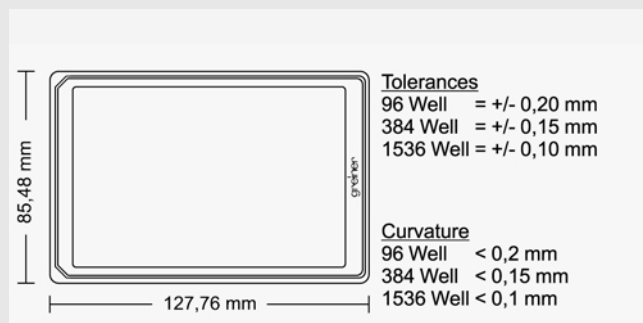


Abbildung 5:
Außenmaße und Toleranzen einer Standard Microplatte

Bestellinformation

	Kat.-Nr.	Format	Produktbeschreibung	Stk. pro Btl./Kart.
	762 870	96 Well	Streifen-Platte, 12 x F8 Streifen, F-Boden, Polylactat, transparent	5/100