



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106841633 A

(43)申请公布日 2017.06.13

(21)申请号 201611227071.0

G01N 33/558(2006.01)

(22)申请日 2016.12.27

G01N 33/533(2006.01)

(71)申请人 郑乐民

地址 350015 福建省福州市马尾区湖里路
27号1#楼2-33B室(自贸试验区内)

申请人 福建普立辰生物技术有限公司

(72)发明人 郑乐民 段学军 赵明明 王洋
刘昌杰 闫宝山 何萌萌 路美玲
彭明辉 李瑶 李国帅

(74)专利代理机构 北京英创嘉友知识产权代理
事务所(普通合伙) 11447

代理人 耿超 王浩然

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

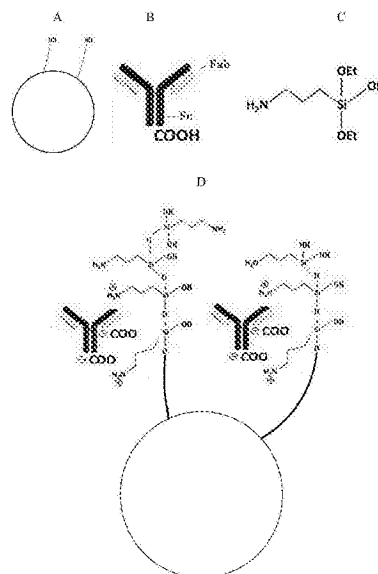
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54)发明名称

在荧光微球表面定向包被抗体的方法及其
在糖化载脂蛋白A1检测中的用途

(57)摘要

本公开涉及一种在荧光微球表面定向包被抗体的方法及其在糖化载脂蛋白A1检测上的应用,包括:将抗体与荧光微球按照1-4:50的质量比在pH为8.0-8.5的反应缓冲液中结合反应20-40min获得抗体标记微球;其中,所述荧光微球表面具有羟基官能团;所述反应缓冲液为含有0.8-1.2mg/mL的带氨基基团的烷基硅氧烷和9-11mg/mL的BSA的硼酸盐缓冲液。通过上述技术方案,使得抗体更倾向于以Fc区去接近荧光微球表面的羟基官能团,而使得Fab得以向外伸展。本公开的技术具有以下优点:提高抗体的利用率,改善检测灵敏度;不需共价修饰抗体,减少抗体活性的损失,当用于制备荧光免疫层析试纸条时可以有效控制试纸条的批间差;包被工艺较其他方法更加简化和易操作。



1. 一种在荧光微球表面定向包被抗体的方法,其特征在于,所述方法包括:将抗体与荧光微球按照1-4:300的质量比在pH为8.0-8.5的反应缓冲液中结合反应20-40min获得抗体标记微球;

其中,所述荧光微球表面具有羟基官能团;

所述反应缓冲液为含有质量体积百分比为0.8-1.2%的带氨基基团的烷基硅氧烷和质量体积百分比为9-11%的BSA的硼酸盐缓冲液。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述带氨基基团的烷基硅氧烷为(3-氨基丙基)三乙氧基硅烷、(3-氨基丙基)二甲基乙氧基硅烷和(3-氨基丙基)二甲基甲氧基硅烷中的至少一种。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中,所述荧光微球为聚苯乙烯包埋镧系元素微球、聚乙烯包埋量子点微球或聚苯乙烯包埋有机荧光染料微球。

4. 根据权利要求1或2所述的方法,其中,在所述反应缓冲液中,抗体的用量按质量体积百分比计为1.5-2%。

5. 根据权利要求4所述的方法,其中,所述方法还包括在结合反应前用pH为8.0-8.5的硼酸盐缓冲液对抗体透析16-24小时。

6. 根据权利要求1或5所述的方法,其中,所述抗体为糖化载脂蛋白A1的单克隆抗体、糖化载脂蛋白A1多克隆抗体或载脂蛋白A1单克隆抗体。

7. 权利要求1-6中任意一项所述的方法制备的抗体标记微球。

8. 权利要求7所述的抗体标记微球在免疫检测中的用途,其中,所述用途包括检测糖化载脂蛋白A1。

9. 一种荧光免疫层析试纸条,其特征在于,所述试纸条的标记垫上含有权利要求7所述的抗体标记微球。

10. 根据权利要求9所述的试纸条,其中,所述标记垫上含有的抗体标记微球是将所述抗体标记微球以2-3mg/mL的浓度溶于喷涂缓冲液中,使用3-5 μ L/cm的喷涂速度通过喷金点膜机喷涂在标记垫上干燥后得到的;

其中,所述喷涂缓冲液为含有质量体积百分比为0.3-0.7%的BSA和质量体积百分比为0.2-0.3%的Tween-20的浓度为0.01-0.03M的磷酸盐缓冲液,所述喷涂缓冲液的pH值为7.2-7.6。

在荧光微球表面定向包被抗体的方法及其在糖化载脂蛋白A1检测中的用途

技术领域

[0001] 本公开涉及医学检验领域,具体地,涉及一种在荧光微球表面定向包被抗体的方法及其在糖化载脂蛋白A1检测中的用途。

背景技术

[0002] 免疫试纸快速检测技术是基于免疫层析原理建立起来的一种适用于现场检测的技术,典型的免疫试纸包括样品垫、标记垫、包被膜和吸收垫。以微孔膜作为固相载体,经渗透和毛细管虹吸作用使待测样品中的抗体或抗原与膜上包被的抗原或抗体结合,通过标记垫上标记物来呈现反应结果。常见的标记材料包括胶体金标记及荧光标记,荧光标记的优点在于可以进行定量分析。而样品中的待检测物与标记垫中荧光标记材料的结合效率是决定检测成功与否的关键因素。

[0003] 因此如何增强待检测物与标记物的结合是提高检测灵敏度和准确性所必须解决的技术问题。

发明内容

[0004] 本公开的目的是提供一种提高待检测物与标记物的结合效果的方法。

[0005] 为达到上述目的,本公开的第一个方面提供了一种在荧光微球表面定向包被抗体的方法,所述方法包括:将抗体与荧光微球按照1-4:300的质量比在pH为8.0-8.5的反应缓冲液中结合反应20-40min获得抗体标记微球;

[0006] 其中,所述荧光微球表面具有羟基官能团;

[0007] 所述反应缓冲液为含有质量体积百分比为0.8-1.2%的带氨基基团的烷基硅氧烷和质量体积百分比为9-11%的BSA的硼酸盐缓冲液。

[0008] 可选的,所述带氨基基团的烷基硅氧烷为(3-氨基丙基)三乙氧基硅烷、(3-氨基丙基)二甲基乙氧基硅烷和(3-氨基丙基)二甲基甲氧基硅烷中的至少一种。

[0009] 可选的,所述荧光微球为聚苯乙烯包埋镧系元素微球、聚乙烯包埋量子点微球或聚苯乙烯包埋有机荧光染料微球。

[0010] 可选的,在所述反应缓冲液中,抗体的用量按质量体积百分比计为1.5-2%。

[0011] 可选的,所述方法还包括在结合反应前用pH为8.0-8.5的硼酸盐缓冲液对抗体透析16-24小时。

[0012] 可选的,所述抗体为糖化载脂蛋白A1的单克隆抗体、糖化载脂蛋白A1多克隆抗体或载脂蛋白A1单克隆抗体。

[0013] 本公开的第二个方面提供一种抗体标记微球,所述抗体标记微球是利用本公开的第一个方面所述的方法制备的。

[0014] 本公开的第三个方面还提供了本公开的第二个方面所述的抗体标记微球在免疫检测中的用途,包括检测糖化载脂蛋白A1。

[0015] 本公开的第四个方面提供一种荧光免疫层析试纸条,所述试纸条的标记垫上含有本公开第二个方面所述的抗体标记微球。

[0016] 可选的,所述标记垫上含有的抗体标记微球是将所述抗体标记微球以2-3mg/mL的浓度溶于喷涂缓冲液中,使用3-5 μ L/cm的喷涂速度通过喷金点膜机喷涂在标记垫上干燥后得到的;

[0017] 其中,所述喷涂缓冲液为含有质量体积百分比为0.3-0.7%的BSA和质量体积百分比为0.2-0.3%的Tween-20的浓度为0.01-0.03M的磷酸盐缓冲液,所述喷涂缓冲液的pH值为7.2-7.6。

[0018] 通过上述技术方案,本公开提供了在荧光微球表面定向包被抗体的方法,利用该方法使得抗体更倾向于以Fc区段去接近荧光微球表面的羟基官能团,而使得Fab区段得以向外伸展。本公开的技术具有以下优点:可以提高抗体的利用率,改善试剂性能,提高试剂在用于检测时的灵敏度;本公开的方法不需共价修饰抗体的步骤,从而减少了抗体活性的损失,当用于制备荧光免疫层析试纸条时可以有效控制试纸条的批间差;本公开的包被工艺较其他方法更加简化和易操作。特别的,当利用本公开所提供的方法和抗体标记微球进行糖化载脂蛋白A1的检测时,可以获得更高的检测灵敏度和特异性。

[0019] 本公开的其他特征和优点将在随后的具体实施方式部分予以详细说明。

附图说明

[0020] 附图是用来提供对本公开的进一步理解,并且构成说明书的一部分,与下面的具体实施方式一起用于解释本公开,但并不构成对本公开的限制。在附图中:

[0021] 图1是抗体标记微球结构示意图

[0022] A为荧光微球,B为抗体,C为APTES,D为抗体标记微球;

[0023] 图2是人糖化载脂蛋白A1荧光标记免疫层析试纸条阴性结果示意图;

[0024] 图3是人糖化载脂蛋白A1荧光标记免疫层析试纸条阳性结果示意图。

[0025] 附图标记说明

[0026] 1样品垫 2标记垫 3T线

[0027] 4基膜 5C线 6吸水垫

[0028] 7基板

具体实施方式

[0029] 以下结合附图对本发明的具体实施方式进行详细说明。应当理解的是,此处所描述的具体实施方式仅用于说明和解释本发明,并不用于限制本发明。

[0030] 本公开的第一个方面提供了一种在荧光微球表面定向包被抗体的方法,所述方法包括:将抗体与荧光微球按照1-4:300的质量比在pH为8.0-8.5的反应缓冲液中结合反应20-40min获得抗体标记微球;

[0031] 其中,所述荧光微球表面具有羟基官能团;

[0032] 所述反应缓冲液为含有质量体积百分比为0.8-1.2%的带氨基基团的烷基硅氧烷和质量体积百分比为9-11%的BSA的硼酸盐缓冲液。

[0033] 在本公开的一种优选的实施方式中,为了进一步提高抗体的利用率,抗体与荧光

微球的质量比优选为1.5-3.5:300。

[0034] 其中,在进行结合反应前,可以先用pH为8.0-8.5的硼酸盐缓冲液对抗体透析16-24小时。所述透析过程可以按照本领域常规的抗体透析方法进行,可选的,透析的温度为3-5℃;透析结束后可以将含有抗体的溶液调整浓度后备用。

[0035] 可选的,所述方法可以包括先用磷酸盐缓冲液或硼酸盐缓冲液将荧光微球进行复溶后再将荧光微球溶液与抗体溶液混合。

[0036] 本公开中,若无特殊说明,所述的硼酸盐缓冲液的浓度为0.03-0.07M,pH为8.0-8.5,磷酸盐缓冲液的浓度为0.01-0.03M,pH为7.2-7.6。

[0037] 其中,所述带氨基基团的烷基硅氧烷为(3-氨基丙基)三乙氧基硅烷、(3-氨基丙基)二甲基乙氧基硅烷和(3-氨基丙基)二甲基甲氧基硅烷中的至少一种,特别优选的,所述带氨基基团的烷基硅氧烷为(3-氨基丙基)三乙氧基硅烷(APTES)。

[0038] 其中,所述荧光微球为聚苯乙烯包埋镧系元素微球、聚乙烯包埋量子点微球或聚苯乙烯包埋有机荧光染料微球。

[0039] 其中,所述荧光微球的尺寸优选为50-300nm。

[0040] 其中,在所述反应缓冲液中,抗体的用量按质量体积百分比计为1.5-2%。特别优选的,为了进一步提高烷基硅氧烷对荧光微球的包被效果、提高抗体的利用率、以及使得抗体在荧光微球表面能够更好的吸附,所述反应缓冲液中抗体的用量按质量体积百分比计为1.6-1.8%。

[0041] 其中,在本公开第一个方面的一种具体实施方式中,所述抗体为糖化载脂蛋白A1的单克隆抗体、糖化载脂蛋白A1多克隆抗体或载脂蛋白A1单克隆抗体。

[0042] 本公开的第二个方面提供一种抗体标记微球,所述抗体标记微球是利用本公开的第一个方面所述的方法制备的。

[0043] 本公开所述的抗体标记微球的结构的核心部分为荧光微球,荧光微球表面包被有带氨基基团的烷基硅氧烷,抗体的Fc结构片段接近荧光微球表面的羟基官能团,抗体的Fab结构片段向外伸展,使得抗体更容易与待测的抗原相结合,抗体标记微球的结构如图1所示。

[0044] 在本公开的一种具体的实施方式中,所述抗体为糖化载脂蛋白A1的单克隆抗体,所述荧光微球为聚苯乙烯荧光微球,所述带氨基基团的烷基硅氧烷为3-氨基丙基三乙氧基硅烷。

[0045] 本公开的第三个方面还提供了本公开的第二个方面所述的抗体标记微球在免疫检测中的用途,所述用途包括检测糖化载脂蛋白A1。

[0046] 所述免疫检测包括通过特异性识别的抗原抗体反应原理进行检测的技术,包括荧光免疫层析试纸检测技术、免疫荧光技术、酶联免疫吸附技术、酶免疫组化技术等。

[0047] 本公开的第四个方面提供一种荧光免疫层析试纸条,所述试纸条的标记垫上含有本公开第二个方面所述的抗体标记微球。

[0048] 在本公开第四个方面的一种具体的实施方式中,所述试纸条包括在基板上依次相连接的吸水垫、基膜、标记垫和样品垫;所述基膜上设置有C线和T线,所述C线上包被有IgG的抗体,所述标记垫中含有包被了第一单克隆抗体的抗体标记微球;所述T线上包被有第二单克隆抗体。

[0049] 其中,荧光免疫层析试纸条的检测原理可能包括:将待检样品滴入样品垫中,若样品中有待测抗原,待检样品中的待测抗原先和所述抗体标记微球表面的第一单克隆抗体结合,由于毛细管作用,待测抗原和抗体标记微球形成的复合体沿基膜向前泳动,到达检测线时遇到包被在硝酸纤维素基膜上的第二单克隆抗体,由于第一单克隆抗体和第二单克隆抗体分别能与待测抗原的不同抗原表位结合,从而形成“抗体标记微球-待测抗原-第二单克隆抗体”复合体,从而使得荧光微球富集在检测线上,形成特异性的层析线;没有和待测抗原结合的抗体标记微球则会直接通过检测线,达到质控线后被质控线上的IgG抗体捕获,从而使得荧光微球富集在质控线上形成层析线,即判为阳性结果;若样品中无待测抗原,由于无法在检测线上形成“抗体标记微球-待测抗原-第二单克隆抗体”复合体,从而使得检测线上不会产生荧光微球富集,没有和待测抗原结合的抗体标记微球则会直接通过检测线,达到质控线后被质控线上的IgG抗体捕获,从而使得荧光微球富集在质控线上,即判为阴性结果。

[0050] 可选的,所述标记垫上含有的抗体标记微球是将所述抗体标记微球以2-3mg/mL的浓度溶于喷涂缓冲液中,使用3-5 μ L/cm的喷涂速度通过喷金点膜机喷涂在标记垫上干燥后得到的;

[0051] 其中,所述喷涂缓冲液为含有质量体积百分比为0.3-0.7%的BSA和质量体积百分比为0.2-0.3%的Tween-20的浓度为0.01-0.03M的磷酸盐缓冲液,所述喷涂缓冲液的pH值为7.2-7.6。

[0052] 在本公开的一种实施方式中,可以首先绘制待测抗原的标准曲线从而利用该标准曲线对待测抗原进行定量检测。

[0053] 标准曲线的绘制:将待测抗原标准品配制成梯度浓度标准溶液进行荧光强度测定,以T线、C线的荧光强度比值(T线检测值/C线检测值)为纵坐标,待测抗原标准溶液浓度为横坐标,建立方程并拟合成标准曲线。

[0054] 在本公开第四个方面的一种具体的实施方式中,所述待测抗原为糖化载脂蛋白A1。

[0055] 以下通过实施例进一步详细说明本公开:

[0056] 以下实施例中,除特别说明外硼酸盐缓冲液的浓度为0.03-0.07M,pH为8.0-8.5,磷酸盐缓冲液的浓度为0.01-0.03M,pH为7.2-7.6。

[0057] 实施例1

[0058] 本实施例用于说明本公开所述的方法。

[0059] 制备糖化载脂蛋白A1抗体溶液:用硼酸盐缓冲液将糖化载脂蛋白A1抗体(Cosmo Bio,Tokyo,Japan)透析得到糖化载脂蛋白A1抗体溶液,透析温度为4 $^{\circ}$ C,透析时间18h;将糖化载脂蛋白A1抗体溶液浓度调整为1.6mg/mL。

[0060] 抗体的定向包被:用125 μ L缓冲液将2.4mg聚苯乙烯荧光微球(聚苯乙烯包埋有机荧光染料微球,尺寸为200nm)悬浮后,加10 μ L糖化载脂蛋白A1抗体溶液到荧光微球悬浮液中,使所述的糖化载脂蛋白A1抗体与荧光微球的质量比约为1:150,加入工作浓度为1mg/mL的3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APTES)和工作浓度为10mg/mL的BSA形成反应缓冲液,室温反应30min后在15000rpm、4 $^{\circ}$ C条件下离心收集得到抗体标记微球1。

[0061] 实施例2

[0062] 采用实施例1的方法制备抗体标记微球,区别仅在于,APTES的工作浓度为0.8mg/mL,BSA的工作浓度为9mg/mL,制备获得抗体标记微球2。

[0063] 实施例3

[0064] 采用实施例1的方法制备抗体标记微球,区别仅在于,APTES的工作浓度为1.2mg/mL,BSA的工作浓度为11mg/mL,制备获得抗体标记微球3。

[0065] 实施例4

[0066] 采用实施例1的方法制备抗体标记微球,区别仅在于,聚苯乙烯荧光微球的用量为4.8mg,糖化载脂蛋白A1抗体与荧光微球的质量比为1:300,制备获得抗体标记微球4。

[0067] 实施例5

[0068] 采用实施例1的方法制备抗体标记微球,区别仅在于,聚苯乙烯荧光微球的用量为1.2mg,糖化载脂蛋白A1抗体与荧光微球的质量比为1:75,制备获得抗体标记微球5。

[0069] 实施例6

[0070] 采用实施例1的方法制备抗体标记微球,区别仅在于,将APTES替换为等质量的(3-氨基丙基)二甲基乙氧基硅烷,制备获得抗体标记微球6。

[0071] 对比例1

[0072] 采用实施例1的方法制备抗体标记微球,区别仅在于,反应体系中不添加APTES,制得抗体标记微球D1。

[0073] 对比例2

[0074] 采用实施例1的方法制备抗体标记微球,区别仅在于,所述带氨基基团的烷基硅氧烷的工作浓度为1.5mg/mL,制得抗体标记微球D2。

[0075] 制备例1-8

[0076] 用喷金点膜机将第二单克隆抗体和兔抗鼠IgG喷于硝酸纤维素膜上,形成相互平行的检测T线和质控C线,然后烘干;分别将抗体标记微球1-6和D1-D2分别以2.3mg/mL的浓度溶于喷涂缓冲液中,使用4 μ L/cm的喷涂速度均匀的喷涂在标记垫上,所述喷涂缓冲液为含有0.3-0.7%的BSA和0.2-0.3%的Tween-20浓度为0.01-0.03M磷酸盐缓冲液,pH值为7.2-7.6。

[0077] 对于T线和C线,喷金点膜机的喷涂速度为1 μ L/cm,T线为浓度1mg/mL的第二单克隆抗体,C线为浓度1mg/mL的兔抗鼠IgG抗体。

[0078] 然后将样品垫、金标垫、喷有T线和C线的基膜(硝酸纤维素膜)和吸水纸依次连接组装,而后裁切包装备用。共得到8种荧光免疫层析试纸。

[0079] 测试例1

[0080] 本测试例用于说明荧光免疫层析试纸条(即利用抗体标记微球1-6和D1-D2制备的试纸条)在检验实际样本时的敏感性和特异性。

[0081] (1) 样品制备:采集人血清100 μ L。

[0082] (2) 检测:取试纸条,室温平衡10分钟,打开包装取出试纸条;将50 μ L血清与50 μ L的含0.2%(质量体积百分比)BSA浓度为0.02M,pH为7.4的磷酸盐缓冲液混匀后,从中取80 μ L混合液加入到试纸条样品垫上,静置15分钟后,将试纸条按照箭头方向插入干式荧光免疫检测仪中判定结果。

[0083] (3) 结果判定:当时纸条质控线有荧光,检测线无荧光,判为阴性,记为“-”;当试

纸条质控线有荧光,同时检测线有荧光,判为阳性,记为“+”;检测荧光强度与待检抗原量成正比,荧光越强说明待检抗原含量越高,质控线无荧光条带则判为试纸条失效。阴性和阳性结果示意图如图2、3所示,箭头所指分别为加样处和层析方向。

[0084] 选用购买的含有60mg/mL人血清白蛋白、100ng/mL癌胚抗原、1.6mg/mL高密度脂蛋白HDL的溶液和糖化载脂蛋白A1标准品进行特异性测定,检测结果如表1所示,结果表明,用抗体标记微球1-6制备的试纸条可以特异性识别人糖化载脂蛋白A1,但与人血清白蛋白、癌胚抗原、高密度脂蛋白HDL不呈现阳性反应。而用对比例制备的抗体标记微球D1和D2制备的试纸则出现了非特异性的检测结果,说明利用本公开所述的方法对抗体进行定向包被可以提高检测的特异性。

[0085] 表1试纸条特异性试验结果

[0086]

试纸	人糖化载脂蛋白A1标准品	人血清白蛋白	癌胚抗原	高密度脂蛋白HDL
1	+	-	-	-
2	+	-	-	-
3	+	-	-	-
4	+	-	-	-
5	+	-	-	-
6	+	-	-	-
D1	+	-	+	-
D2	+	+	-	-

[0087] 将人糖化载脂蛋白A1进行梯度稀释,用试纸条进行灵敏度检测,检测结果见表2,表2结果显示,用抗体标记微球1-6制备的试纸条的灵敏度可达10ng/mL,而用对比例制备的抗体标记微球D1和D2制备的试纸则出现了试纸条灵敏度仅为100ng/mL和1μg/mL的检测结果,说明利用本公开所述的方法对抗体进行定向包被可以提高检测的灵敏度,提高抗体的利用率。

[0088] 表2试纸条灵敏度试验结果

[0089]

稀释度 试纸条	1 mg/mL	100 μg/mL	10 μg/mL	1 μg/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	1ng/mL
1	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+
D1	+	+	+	+	-	-	-
D2	+	+	+	+	+	-	-

[0090] 以上结合附图详细描述了本公开的优选实施方式,但是,本公开并不限于上述实施方式中的具体细节,在本公开的技术构思范围内,可以对本公开的技术方案进行多种简

单变型,这些简单变型均属于本公开的保护范围。

[0091] 另外需要说明的是,在上述具体实施方式中所描述的各个具体技术特征,在不矛盾的情况下,可以通过任何合适的方式进行组合,为了避免不必要的重复,本公开对各种可能的组合方式不再另行说明。

[0092] 此外,本公开的各种不同的实施方式之间也可以进行任意组合,只要其不违背本公开的思想,其同样应当视为本公开所公开的内容。

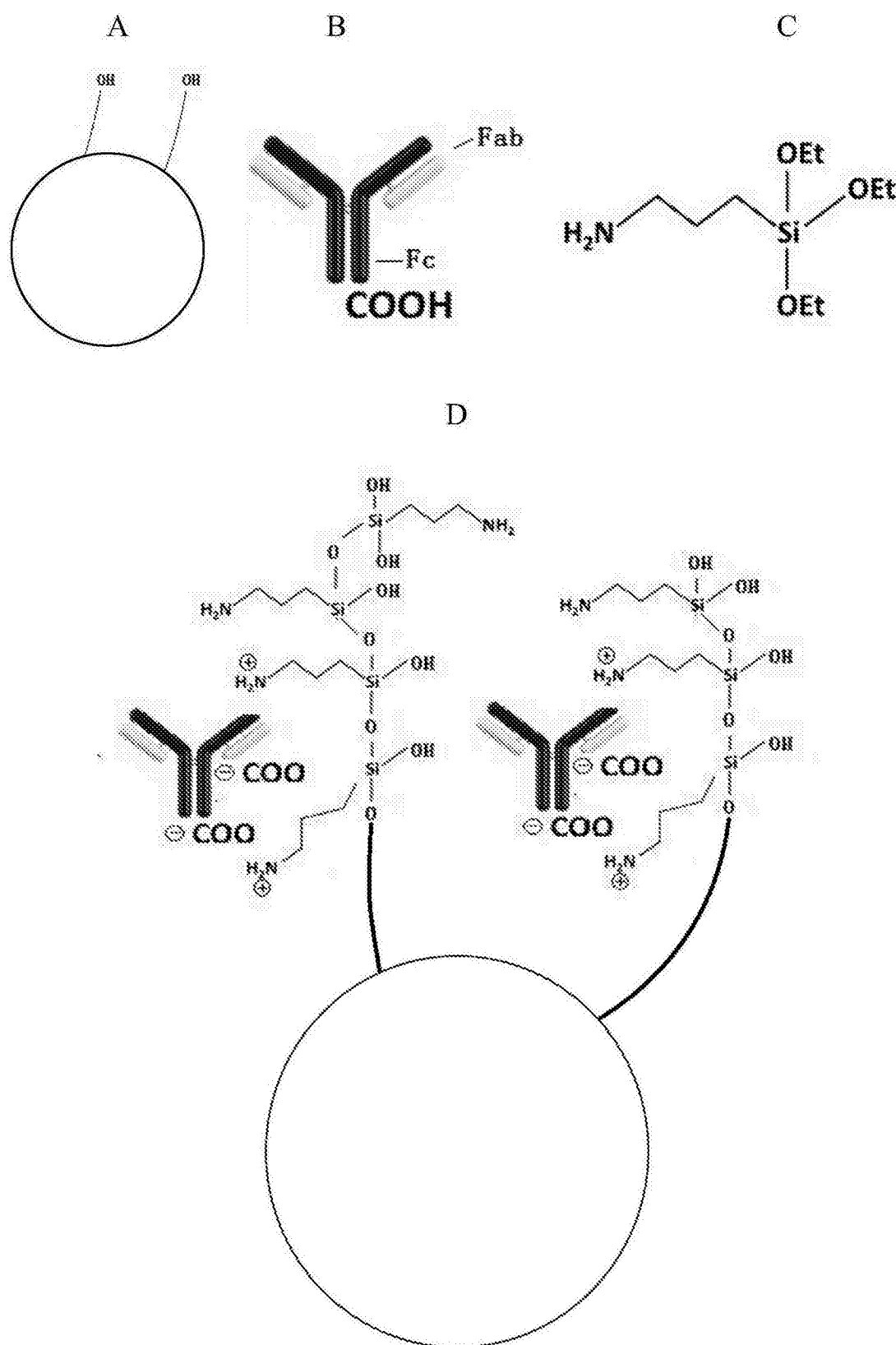


图1

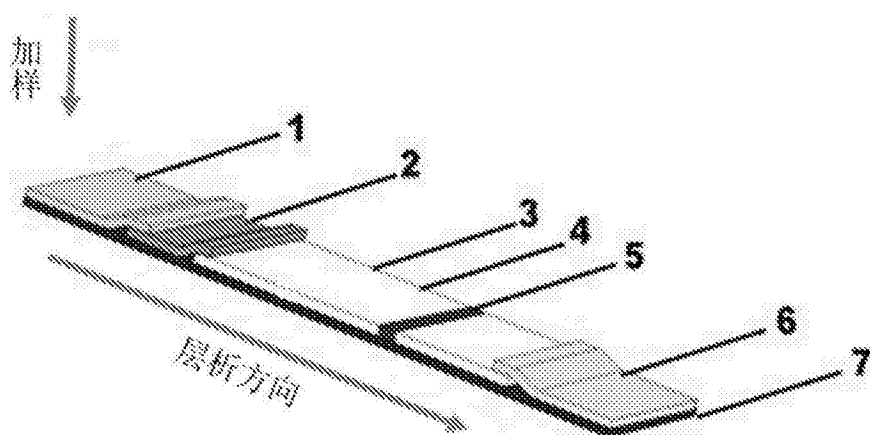


图2

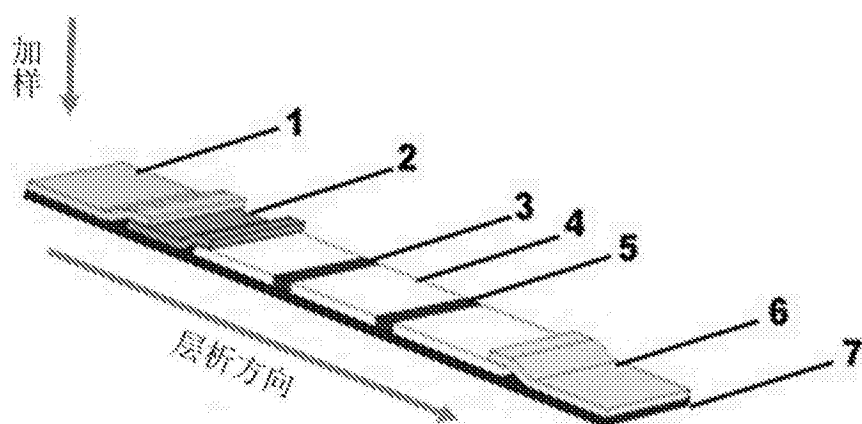


图3

专利名称(译)	在荧光微球表面定向包被抗体的方法及其在糖化载脂蛋白A1检测中的用途		
公开(公告)号	CN106841633A	公开(公告)日	2017-06-13
申请号	CN201611227071.0	申请日	2016-12-27
[标]申请(专利权)人(译)	郑乐民		
申请(专利权)人(译)	郑乐民		
当前申请(专利权)人(译)	郑乐民		
[标]发明人	郑乐民 段学军 赵明明 王洋 刘昌杰 闫宝山 何萌萌 路美玲 彭明辉 李瑶 李国帅		
发明人	郑乐民 段学军 赵明明 王洋 刘昌杰 闫宝山 何萌萌 路美玲 彭明辉 李瑶 李国帅		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/577 G01N33/558 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/558 G01N33/577 G01N33/68		
代理人(译)	耿超 王浩然		
其他公开文献	CN106841633B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本公开涉及一种在荧光微球表面定向包被抗体的方法及其在糖化载脂蛋白A1检测上的应用，包括：将抗体与荧光微球按照1-4：50的质量比在pH为8.0-8.5的反应缓冲液中结合反应20-40min获得抗体标记微球；其中，所述荧光微球表面具有羟基官能团；所述反应缓冲液为含有0.8-1.2mg/mL的带氨基基团的烷基硅氧烷和9-11mg/mL的BSA的硼酸盐缓冲液。通过上述技术方案，使得抗体更倾向于以Fc区去接近荧光微球表面的羟基官能团，而使得Fab得以向外伸展。本公开的技术具有以下优点：提高抗体的利用率，改善检测灵敏度；不需共价修饰抗体，减少抗体活性的损失，当用于制备荧光免疫层析试纸条时可以有效控制试纸条的批间差；包被工艺较其他方法更加简化和易操作。

