

CE-SDS纯度检测试剂盒使用说明书

OPERATION MANUAL OF CE-SDS PURITY ASSAY KIT

CE-SDS纯度检测试剂盒基本信息

组成	数量	货号
毛细管 50 μ m内径 非涂层	3	ZF-CE-0002
SDS 样品缓冲液A (PH=9.0)	50mL	ZF-CE-0003
SDS 样品缓冲液B (PH=6.5)	50mL	ZF-CE-0004
凝胶缓冲液(专存配方)	100mL	ZF-CE-0005
内标标准品(14.5kD 蛋白, 51 μ g/ml)	0.5mL	ZF-CE-0006
酸冲洗液	100mL	ZF-CE-0007
碱冲洗液	100mL	ZF-CE-0008
蛋白分子量标准品(用于CE-MW, 可选购)	0.5mL	ZF-CE-0009

【样品处理】

1. 蛋白分子量标准品制备

(1) 非还原模式

用样品缓冲液溶解稀释蛋白分子量标准品,使蛋白的终浓度在0.2-2mg/ml之间,总体积95 μ l。加入5 μ l N-乙基马来酰亚胺(NEI)溶液。盖好瓶盖,用封口膜封好,并充分混匀,离心机6000rpm离心至少1分钟。70°C水浴10分钟。室温冷却至少3分钟,离心机6000rpm离心至少1分钟。转移95 μ l制备好的样品至内插管中,内插管放入进样瓶中,盖好进样瓶盖。

(2) 还原模式

用样品缓冲液溶解稀释蛋白分子量标准品,使蛋白的终浓度在0.2-2.0mg/ml之间,总体积为95 μ l。加入5 μ l 2-巯基乙醇,盖好瓶盖,用封口膜封好,并充分混匀,离心机6000rpm离心至少1分钟。70°C水浴10分钟。室温冷却至少3分钟,离心机6000rpm离心至少1分钟。转移95 μ l制备好的样品至内插管中,内插管放入进样瓶中,盖好进样

【温馨提示】

巯基乙醇相关操作应在通风橱操作

本试剂盒相关操作需使用超纯水

样品缓冲液A (PH=9.0) 是参考2015版药典[4], 已有项目的检测方法未发生变更, 建议使用样品缓冲液A。

样品缓冲液B (PH=6.5) 是参考2020版药典[5], 根据报道[6], 蛋白质样品预处理时, 在高温高碱条件下, 蛋白质更易产生异常碎片, 影响非还原CE-SDS实验数据准确度。新项目的检测方法, 方法开发阶段, 建议使用样品缓冲液B。

【毛细管电泳实验运行】

1. 毛细管电泳仪

Beckman Pa800, Agilent 7100, Maurice等。

2. 基本条件设置

样品盘温度: $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 毛细管温度: $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$

3. 毛细管预处理

碱冲洗液在60psi压力下冲洗3分钟, 然后用酸冲洗液60psi压力下冲洗2分钟。最后用超纯水在70psi压力下冲洗1分钟, 在每次样品运行前都应进行该步骤。

4. 凝胶缓冲液预填充

凝胶缓冲液在30psi压力下冲洗15分钟, 每次样品运行前都应该进行该步骤。

5. 样品进样

正端进样: -5KV, 20S

反端进样: 5KV, 20S

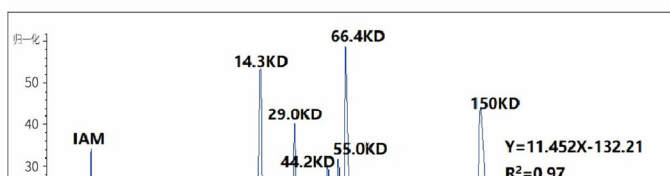
6. 样品分离

正端分离: 电压-15KV 分离时间40分钟。

反端分离: 电压15KV 分离时间15分钟。

【典型图谱】

1. 蛋白质分子量标准品典型图谱



2. 单抗在非还原模式下的CE-SDS典型图谱 (IAM)

