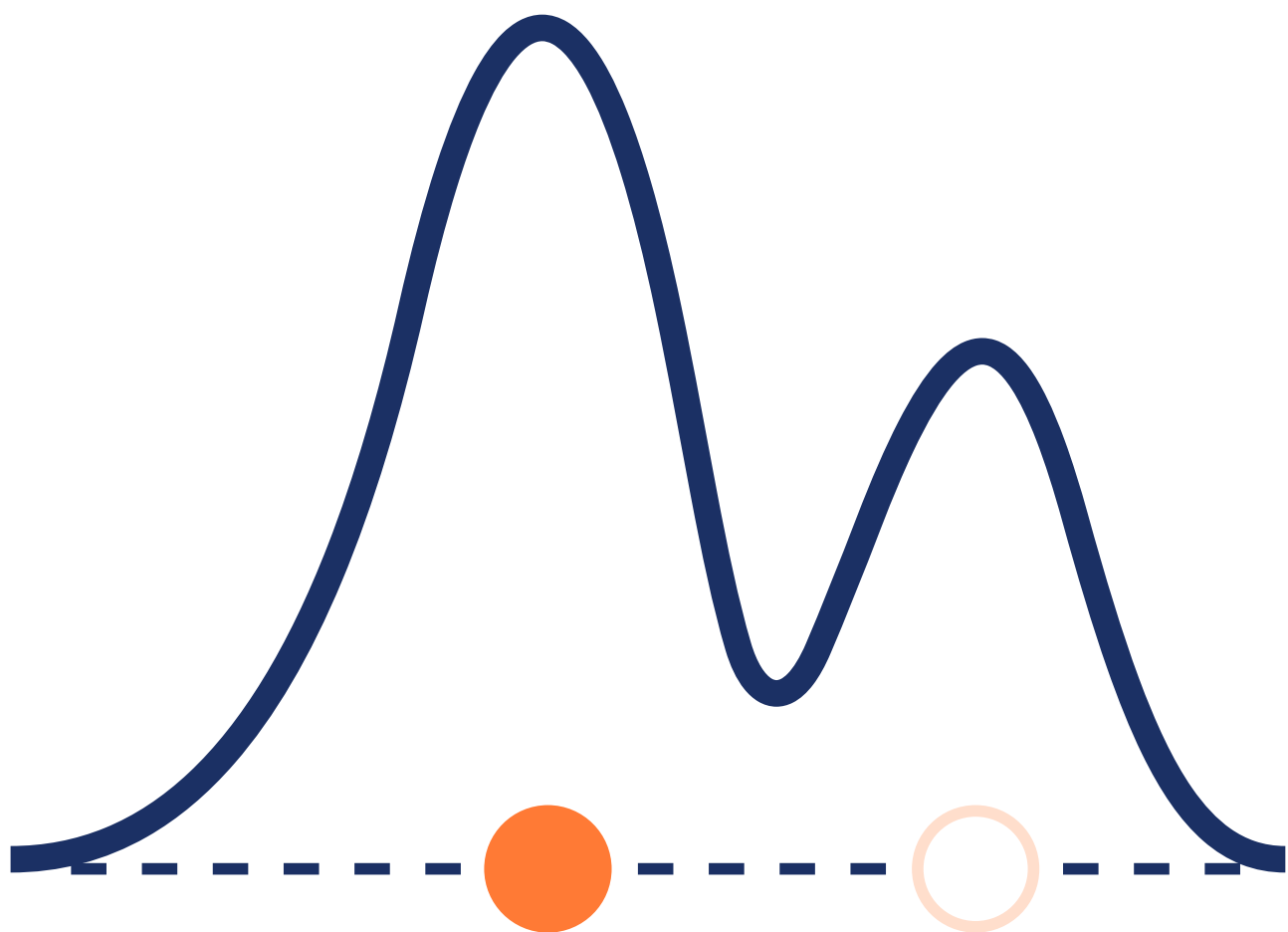


化学发光中的标记物纯化



化学发光免疫分析中，根据发光平台的不同，需要对抗原或抗体等分子进行基于不同平台的标记，如直接发光法通常标记吡啶酯、ABEI 等小分子化合物，酶促发光平台通常标记辣根过氧化物酶 (HRP) 或碱性磷酸酶 (AP) 等，而电化学发光平台则需要标记三联吡啶钌等分子。

在标记完成之后，标记产物的分离纯化非常重要，分离纯化可将游离的标记物或游离的抗原 / 抗体，以及可能存在的不同的标记物形式进行去除，从而只保留比较均一的抗原 / 抗体 - 标记物。从而达到尽可能降低分析过程中的检测本底并避免出现假阳性问题，同时保证试剂的批间差最小化，保证试剂的稳定性。

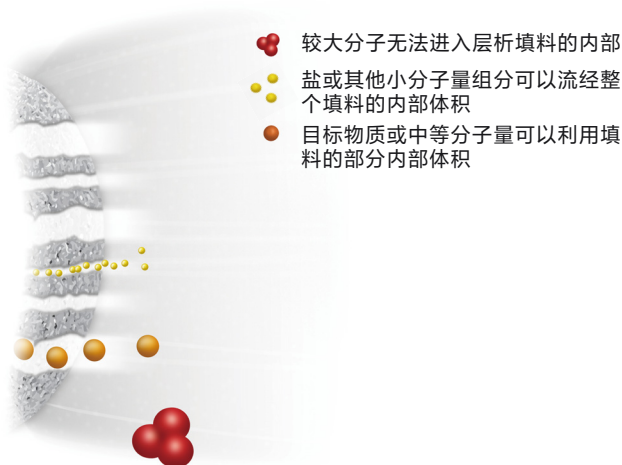
使用凝胶过滤层析 (SEC) 进行标记物纯化

凝胶过滤层析根据生物分子大小及形状对其进行分离，样品加入凝胶过滤层析柱之后，在层析柱上进行分离，大分子先洗脱，小分子后洗脱。

- 高自动化：配合设备使用，可全自动完成多个样品的纯化过程，节省时间和人力成本
- 优重复性：层析方法可重复性好，纯化方法一旦确定，可保证不同批次纯化效果一致，从而保证试剂的批间差最小化
- 全数据记录：整个实验过程的数据可被完整的记录。保证原料生产过程的可追溯性



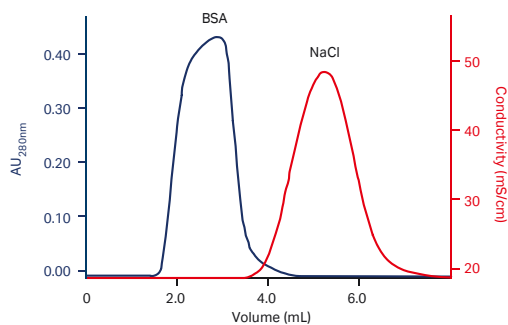
层析原理动画



图：凝胶过滤层析 (SEC) 示意图

小分子标记物纯化

- 以吡啶酯、ABEI、三联吡啶钌等分子为标记物
- 标记物分子量较小
- 标记物与被标记的抗原/抗体分子量相差较大
- 使用 Desalting 脱盐柱进行纯化



图：使用 HiTrap™ Desalting 柱进行脱盐实验。其中蓝色为蛋白紫外吸收峰 (标记物纯化中此处为标记了小分子的抗原 / 抗体)，红色为 NaCl 电导峰 (标记物纯化中此处为游离的小分子标记物)。

小分子标记物纯化

- 常用 Desalting 脱盐柱可满足绝大部分小分子标记物的纯化，对于特别的分子量较小的被标记物（如多肽等）的标记后纯化，可选择 Sephadex™ G-10、Sephadex G-15 等填料
- 根据上样体积不超过柱体积的 25% 的标准选择合适体积的脱盐柱



Sephadex G
层析介质



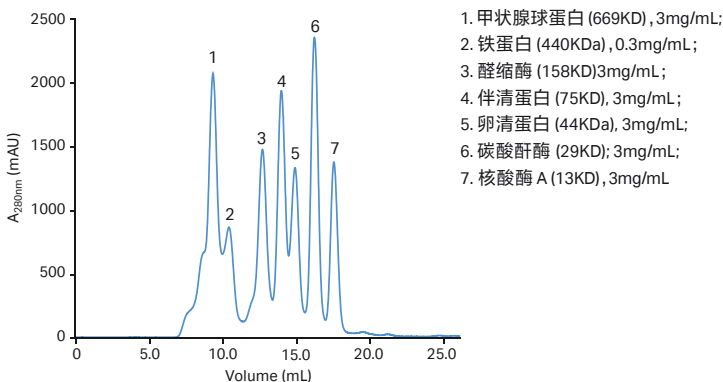
图：不同规格的 Desalting 脱盐柱

大分子标记物纯化

- 以辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶等为标记物
- 标记物分子量较大
- 标记物通常与被标记物分子量相差较小
- 使用高分辨凝胶过滤 (Superdex™ 系列凝胶过滤层析柱) 进行纯化



Superdex
层析介质



图：使用 Superdex 200 Increase 10/300 GL 蛋白分离结果图。

选择合适的高分辨凝胶过滤层析柱

- Superdex 200 系列填料可对分子量 10-600KDa 范围内的分子进行有效的分离，广泛的应用于抗原 / 抗体酶标记后的标记物分离纯化。对于分子量较小的抗原（小于 30KDa）进行酶标记后，如果需要对游离的抗原进行去除，可以使用 Superdex 75 系列（可对分子量 3-70KDa 范围内的分子进行分离）填料进行分离
- 根据上样体积约为 2-3% 柱体积的标准选择合适体积的高分辨凝胶过滤层析柱



上样量	柱规格	推荐上样体积
	Tricorn 10/300 GL	≤500μL
	HiLoad 柱形 16/600	0.5-5mL
	HiLoad 柱形 26/600	5-15mL

图：不同规格的高分辨凝胶过滤层析柱及其推荐上样体积

使用 ÄKTA™ pure 层析系统进行全自动的标记物纯化

ÄKTA pure 层析系统是一款灵活和直观的全自动层析系统。可用于快速纯化从微克到克水平的目标产物。同时 ÄKTA pure 是一台可靠的系统，它的硬件以及 UNICORN™ 软件与各种层析柱和填料一起可满足任何纯化挑战。



ÄKTA pure
层析系统

ÄKTA pure 主要性能特点：

- 模块化设置, 可根据需求灵活配置系统, 兼容所有的纯化技术
- 尺寸实用, 可根据需要放置在试验台上或层析冷柜中
- 两款不同型号设备 (ÄKTA pure 25 和 ÄKTA pure 150) 满足不同规模的纯化需求
- 软件界面友好, 流路直观, 操作简便
- 软件符合 FDA 21CFR Part 11 对数据完整性要求, 具有多级权限管理、审计追踪、电子签名等功能



图：ÄKTA pure 层析系统

订购信息

Desalting 脱盐柱系列

产品	产品代码
HiTrap Desalting 5×5 mL (Sephadex G-25 SF)	17140801
HiPrep™ Desalting 1×53 mL (Sephadex G-25 F)	17508701
HiPrep Desalting 4×53 mL (Sephadex G-25 F)	17508702
Sephadex G-25 Superfine 100g	17003101
Sephadex G-25 Fine 100g	17003201
Sephadex G-25 Medium 100g	17003301
Sephadex G-15 100g	17002001
Sephadex G-10 100g	17001001

高分辨凝胶过滤系列

产品	产品代码
Superdex 200 Increase 10/300 GL	28990944
Superdex 75 Increase 10/300 GL	29148721
HiLoad™ 16/600 Superdex 200 pg	28989335
HiLoad 26/600 Superdex 200 pg	28989336
HiLoad 16/600 Superdex 75 pg	28989333
HiLoad 26/600 Superdex 75 pg	28989334
Superdex 200 Increase HiScale™ 16/40, 40 cm*	29321905
Superdex 200 Increase HiScale 26/40, 40 cm*	29321906

*Superdex Increase HiScale 系列预装柱为客户定制产品 (Customer Design Product)。

cytiva.com

如需查看当地办公室的联系信息, 请访问 cytiva.com/contact

Cytiva 和 Drop 标识是 Global Life Sciences IP Holdco LLC 或其附属公司的注册商标。HiLoad、HiPrep、Superdex、Sephadex 和 UNICORN 是 Global Life Sciences Solutions USA LLC 或作为 Cytiva 开展业务的附属公司的商标。

UNICORN 软件的任何使用都受生命科学软件产品的 Cytiva 标准软件最终用户许可协议的约束。本标准软件最终用户许可协议的副本可根据要求提供。

Alias 是 Spark Holland BV 的商标。所有其他第三方商标都是其各自所有者的财产。

© 2012-2020 Cytiva

所有商品和服务的销售需遵守在 Cytiva 运营之供应商公司的销售条款和条件。可应要求提供这些条款与条件的副本。如需了解最新信息, 请联系您当地的 Cytiva 代表。

CY15786-17Aug20-BR

