

Experion 自动电泳系统 也能实现银染的灵敏度

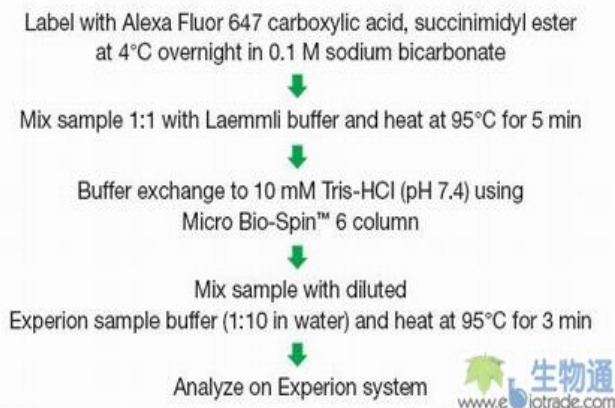


毛细管电泳是分离 SDS-蛋白质的常用手段。它具有效率高、速度快、样品和试剂消耗量少的特性，但最大的缺点就是在上样之前要做大量的准备工作，不但增加了分析时间，还限制了通量。

自动化的微量电泳系统因其在分离 SDS-蛋白上的快速、便利，而替代了传统的毛细管电泳仪。例如，Bio-Rad 的 Experion 自动化电泳系统是基于芯片的分离系统，能在 30 分钟内处理 10 个样品。它覆盖的蛋白分子量范围为 10-260 kD，分辨率与 4-20% 的梯度胶类似。该系统还采用了动态的染色-脱色化学技术，以及荧光检测，不过灵敏度就不算太高，仅仅与考马斯蓝染色相当。

为了增强 Experion 系统的灵敏度，在制备生物制品时能检测到更低水平的杂质，Bio-Rad 的研究人员最近开发了一种方法——用荧光染料预标记蛋白。实验表明，在电泳之前用 Alexa Fluor 647 染料标记蛋白，会使 Experion 的灵敏度增加 80-500 倍，可与 PAGE 胶的银染结果相媲美。他们还研究了染料与蛋白的摩尔比所产生的影响。

实验流程如下：



这种新方法所带来的灵敏度增加归结于荧光强度的增强，以及样品制备步骤的调整。

同时染色步骤的改进也有助于降低荧光背景。你实际上得到的灵敏度依赖于染料和蛋白的摩尔比，以及信号的增强与峰值的变宽之间的平衡。研究人员用不同量的 Alexa Fluor 647 预标记 BSA，并用 Experion 系统分析。结果表明，当染料与蛋白的摩尔比为 1:100 时，灵敏度比未标记时增加了 500 倍，但同时也观察到显著的峰值变宽。这意味着在灵敏度增加的同时，分辨率有所下降。

这种预标记的新方法不需要对 Experion 仪器做任何硬件或软件上的改变，只需要使用 Experion Pro260 芯片和 Experion Pro260 分析试剂盒中的试剂，再加入简单稀释的缓冲液和染料即可。通过比较 Experion 系统与 SDS-PAGE 中 IgG 重链的条带强度，表明 Experion 系统所能达到的灵敏度与 PAGE 胶的银染相当。由于这两种技术中条带的强度都依赖于碱性基团的数量，因此银染和 Experion 系统的检测极限都随蛋白的变化而变化。总的来说，用荧光染料预标记蛋白的新方法拓宽了 Experion 系统的检测能力，使它可用于检测生物制品中的痕量物质，及单克隆抗体制备中的杂质。

如果你想详细了解这项技术，请点击以下链接下载详细的技术指南：

http://www.bio-rad.com/cm_upload/Literature/218750/Bulletin_5719A.pdf

(生物通 余亮)