

肽分离

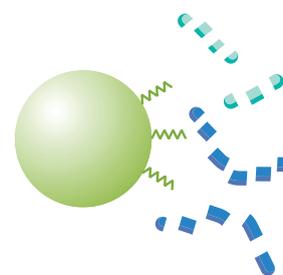
肽谱分析

表征蛋白质需要进行肽谱分析。用于确认蛋白质的种类，并鉴定和定量翻译后修饰。

首先，用酶（如胰蛋白酶）裂解纯化的蛋白质，得到一系列肽片段。酶的特异性裂解能够产生蛋白质的特征性肽指纹图谱。对肽片段的鉴定可以进一步确认蛋白质的类型，肽裂解谱的变化可以用来鉴定蛋白质生产或纯化过程中可能发生的翻译后修饰。

反相 UHPLC/HPLC 结合 MS 或 UV 检测，是分析肽裂解物的首选技术。LC/MS 用于肽片段的鉴定，以及测定序列覆盖率，而 LC/UV 更常用于监测/质控部门进行肽谱比较。

肽裂解物为复杂的混合物，要达到完全覆盖（即分离所有肽），需要采用高效/高分离度色谱柱。AdvanceBio 肽谱分析色谱柱旨在为蛋白质鉴定和翻译后修饰鉴定提供高分离度肽谱分析。这些色谱柱使您能够快速分离和鉴定蛋白质一级结构中的氨基酸取代/修饰。



使用安捷伦肽混标进行质量保证测试

色谱柱: AdvanceBio 肽谱分析色谱柱
653750-902
2.1 × 150 mm, 2.7 μm

流速: 0.5 mL/min

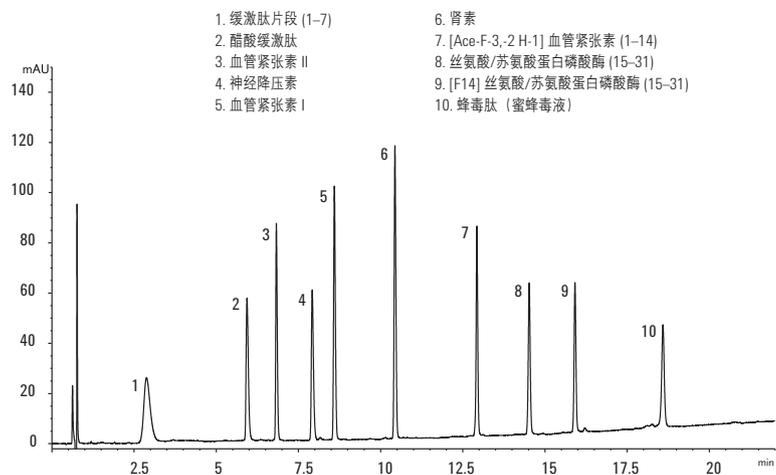
进样量: 3 μL

梯度: A: 水 (0.1% TFA), B: 乙腈 (0.1% TFA), 0 至 25 min,
 B 由 15% 升至 65%; 25 至 26 min, B 由 65% 升至 95%

柱温: 55 °C

检测器: 220 nm

样品: 肽谱分析混标 (每个肽, 0.5–1.0 μg/μL), 部件号
 5190-0583



用于测试每批 AdvanceBio 肽谱分析色谱柱的混标的谱图。该混标包含 10 种分子量在 757–2845 Da 的亲水、疏水和碱性肽。另外还使用小分子探针针对每个色谱柱进行测试以确保效率。

技巧和工具



Agilent InfinityLab 孔板和密封垫是高通量 LC/MS 应用的理想样品容器。

请访问: <https://www.agilent.com.cn/zh-cn/product/microplates>

信赖 AdvanceBio 色谱柱带来更快速、更一致的生物药物分析

AdvanceBio 肽谱分析色谱柱是安捷伦日益增多的先进生物色谱柱系列的组成部分。它们旨在为肽和蛋白质、抗体、偶合物、新生物实体和生物药物的分离和表征提供一致、卓越的性能。AdvanceBio 色谱柱中蕴含的科技有助于提高准确度和分析效率，从而为实验室的快速高效分析提供支持。

有关安捷伦肽谱分析解决方案的订购信息，请参考第 205 页。



技巧和工具

如需了解有关安捷伦生物色谱柱的更多信息，请访问：www.agilent.com/chem/bioHPLC



DNA 和 RNA 寡核苷酸的分离

寡核苷酸又重新引起关注，因为其应用越来越多，包括潜在的治疗作用。其合成流程与较成熟的肽合成流程相似，即采用活性固相合成树脂，通过不断添加特定核苷酸，来构建所需要的序列。

在 5' 羟基端用二甲氧基三苯甲烷 (DMT) 基团进行保护，断裂的目标核苷酸仍连着这些保护基团。由于 DMT 具有疏水性，在第一阶段进行该处理非常有用。为提高寡核苷酸的稳定性，特别是对酶降解的稳定性，可以对其进行化学改性，如用硫置换氧，形成硫代磷酸酯。使用化学合成生产生物分子时，每个添加循环的偶联效率都不是 100%。从固相合成支持相上裂解下来的样品含有缺失序列（丢失了一个或几个残基的寡核苷酸），以及某些由于双偶联或支链连接产生的更大的寡核苷酸。样品混合物非常复杂，需要高效的技术进行分析。

