

mAb亚基标准品

内容

- I. 简介
- II. 推荐的复溶方法
- III. 保存和稳定性
- IV. 序列和质量信息
- V. RPLC条件以及典型数据示例
- VI. HILIC条件以及典型数据示例
- VII. 典型MS数据
- VIII. 订购信息

I. 简介

Waters® mAb亚基标准品可用于LC和LC-MS的基准测试、不同的仪器和实验室的技术测试，以及系统适应性测试。此标准品由经过还原的IdeS酶解NIST参比物质8671（NIST mAb，一种由小鼠细胞系表达的人源IgG1κ）经过滤和稳定化处理制成。每瓶含有约25 µg标准品。

注：由于接触了高浓度的还原剂和变性剂，经过还原和变性的IdeS酶解mAb往往容易降解。因此，为了避免其降解，mAb亚基标准品在冻干之前进行了过滤。此外，mAb亚基标准品中还添加了稳定剂以延长其长期稳定性。这些特殊的辅料是专为这款标准品选择的，无论是在反相色谱还是亲水作用色谱分析中都不会干扰LC分离。

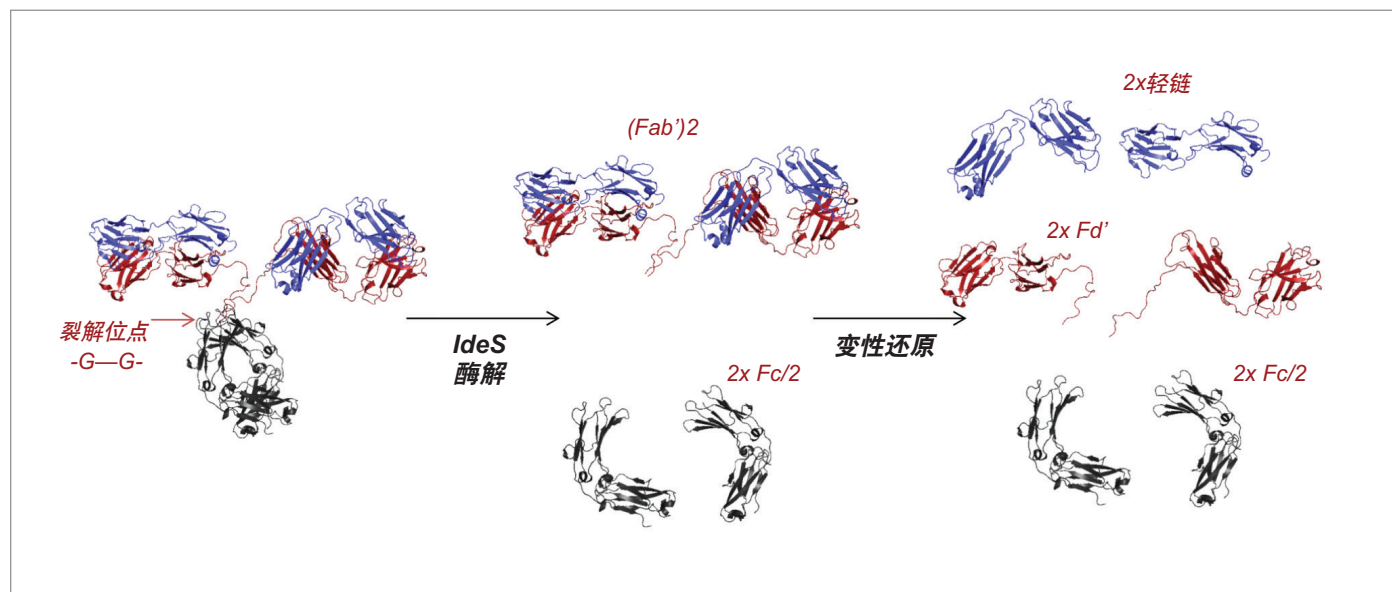


图1. 单克隆抗体的IdeS酶解和还原。

II. 推荐的复溶方法

建议使用50~100 μL水相稀释剂溶解标准品，并小心地抽吸或涡旋混合。对于内径2.1 mm的反相(RP)色谱柱，推荐进样体积为0.5~4 μL，载样量0.25~1.00 μg。如果采用亲水作用色谱(HILIC)，须减小进样体积，最大限度减弱溶剂效应。

III. 保存和稳定性

收到标准品后，在复溶之前请直接以原包装的形式储存在-20 °C下（使用期限标示于包装上）。复溶后，标准品可在4-8 °C下储存七天而不降解。

IV. 序列和质量信息

Fc/2序列

GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV
LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPG

IgG糖基化的典型位点用粗体标出。

LC序列

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCSASSRVGYMHVYQKPKG
KAPKLLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFF
ATYYCFQSGSGYPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDSSTYSLSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC

Fd'序列

pQVTLRESGPALVKPTQTLTCTFSGFSLSTAGMSVGWIR
QPPGKALEWLADIWDDKKHYNPSLKDRLTISKDTSKNQ
VVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGQGTITVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV
SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG

V. RPLC条件以及典型数据示例

- 系统: ACQUITY™ UPLC™ H-Class Bio
- 色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C₄蛋白分析专用柱, 300 Å, 1.7 μm, 2.1 x 50 mm (部件号: [186004495](#))
- 柱温: 80 °C
- 流动相A: 0.1% TFA(v/v)水溶液
- 流动相B: 0.1% TFA(v/v)的乙腈溶液
- 流速: 0.2 mL/min
- 样品温度: 10 °C
- UV检测: 280 nm, 10 Hz
- 密封清洗液和LC自动进样器清洗液: 90%水/10%乙腈(v/v)
- 复溶试剂: 100 μL 0.1%甲酸的水溶液
- 进样体积: 4 μL

梯度:	时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
	0.00	0.2	85.0	15.0	6
	20.00	0.2	45.0	55.0	6
	20.30	0.2	20.0	80.0	6
	21.30	0.2	20.0	80.0	6
	21.60	0.2	85.0	15.0	6
	25.00	0.2	85.0	15.0	6

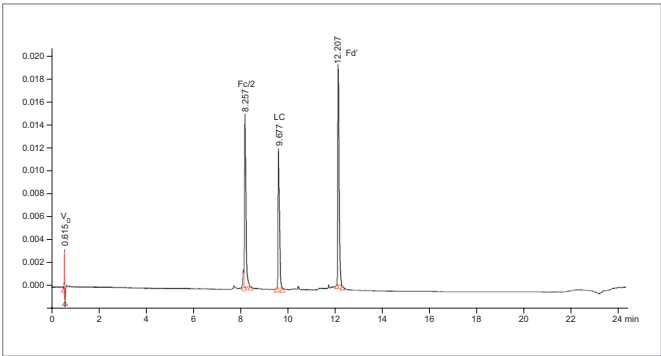


图2. 使用ACQUITY UPLC H-Class Bio系统和ACQUITY UPLC BEH C₄蛋白分析专用柱 (300 Å, 1.7 μm, 2.1 × 50 mm) 分析mAb亚基标准品得到的典型RPLC色谱图。将25 μg mAb亚基标准品溶于100 μL 0.1%甲酸水溶液中制得样品，进样4 μL进行分析。

系统:	ACQUITY UPLC H-Class Bio	梯度:	时间	流速	
色谱柱:	BioResolve™ RP色谱柱, 450 Å, 2.7 μm, 2.1 x 50 mm (部件号: 176004156)		(min)	(mL/min)	%A %B 曲线
柱温:	80 °C		0.00	0.2	85.0 15.0 6
流动相A:	0.1%酸性添加剂(v/v)水溶液		20.00	0.2	45.0 55.0 6
流动相B:	0.1%酸性添加剂(v/v)的乙腈溶液		20.30	0.2	20.0 80.0 6
流速:	0.2 mL/min		21.30	0.2	20.0 80.0 6
样品温度:	10 °C		21.60	0.2	85.0 15.0 6
UV检测:	280 nm, 10 Hz		25.00	0.2	85.0 15.0 6
密封清洗液和LC自					
动进样器清洗液:	90%水/10%乙腈(v/v)				
复溶剂剂:	100 μL 0.1%甲酸的水溶液				
进样体积:	4 μL				

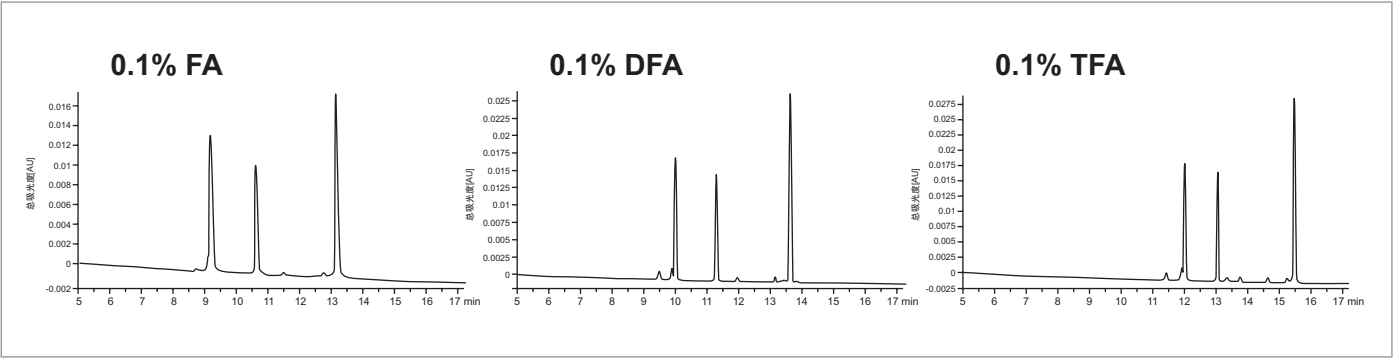


图3. 使用ACQUITY UPLC H-Class Bio系统和BioResolve RP色谱柱（450 Å, 2.7 μm, 2.1 × 50 mm）分析mAb亚基标准品得到的典型RPLC色谱图。将25 μg mAb亚基标准品溶于100 μL 0.1%甲酸水溶液中制得样品，进样4 μL，采用不同的酸性添加剂（FA，甲酸；DFA，二氟乙酸；TFA，三氟乙酸）进行分析。

VI. HILIC条件以及典型数据示例

系统: ACQUITY UPLC I-Class

色谱柱: ACQUITY UPLC Glycoprotein BEH Amide
糖蛋白分析专用柱, 300 Å,1.7 µm,
2.1 x 150 mm (部件号: [176003702](#))

柱温: 60 °C

流动相A: 0.1% TFA(v/v)水溶液

流动相B: 0.1% TFA(v/v)的乙腈溶液

流速: 0.4 mL/min

样品温度: 10 °C

密封清洗液和LC自动进样器清洗液: 30%水/70%乙腈(v/v)

复溶体积: 50 µL水

进样体积: 0.5 µL

FLR检测: 发射波长280 nm/激发波长360 nm, 5 Hz

梯度:	时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
	0.0	0.4	15.0	85.0	6
	0.2	0.4	18.0	72.0	6
	10.2	0.4	36.0	64.0	6
	10.3	0.4	15.0	85.0	6
	13.3	0.4	15.0	85.0	6

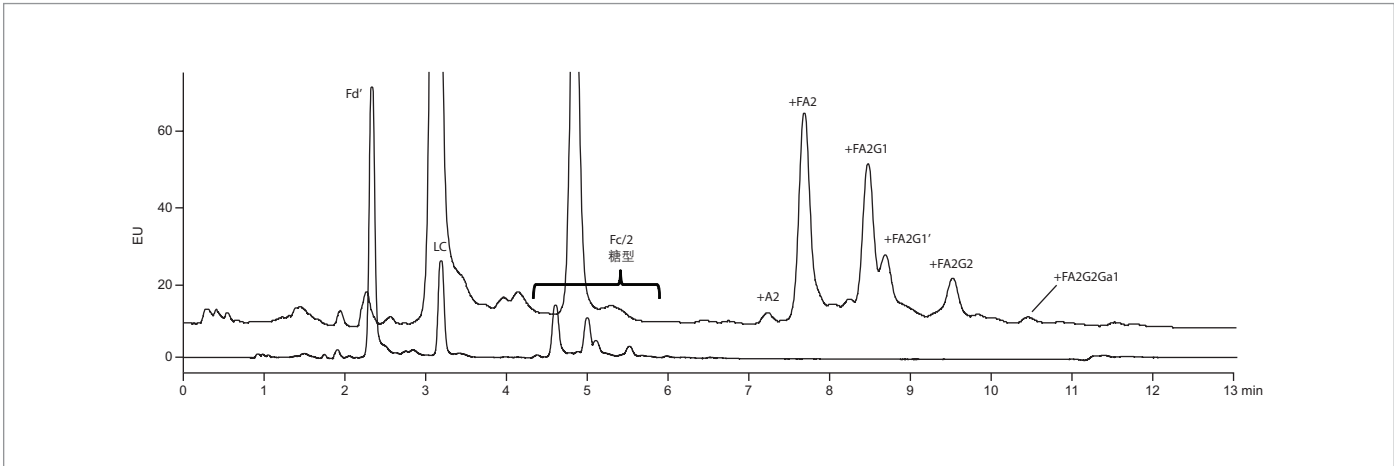


图4. 使用ACQUITY UPLC I-Class系统和ACQUITY UPLC Glycoprotein BEH Amide糖蛋白分析专用柱（300 Å, 1.7 µm, 2.1 × 150 mm）分析mAb亚基标准品得到的典型HILIC色谱图。将25 µg mAb亚基标准品溶于50 µL水中制得样品，进样0.5 µL进行分析。

VII. 典型MS数据

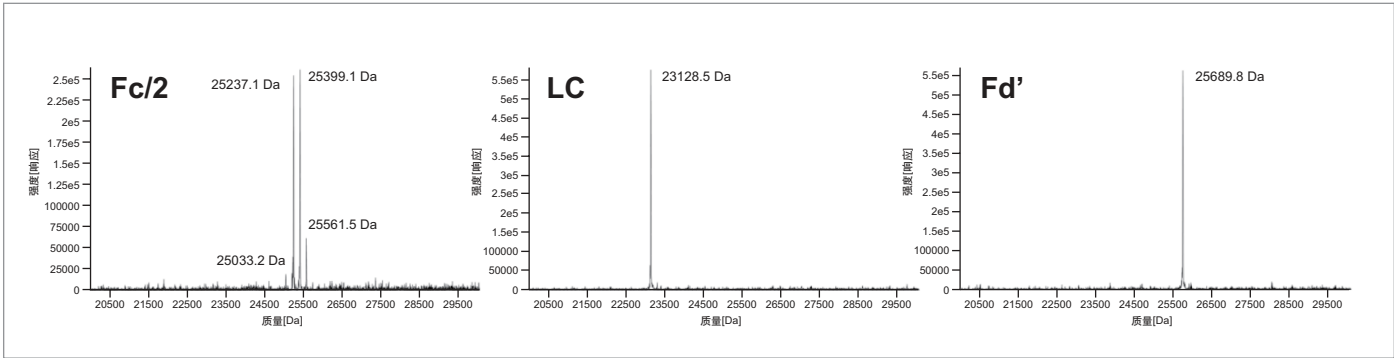


图5. 使用Xevo™ G2 QTof质谱仪获得的mAb亚基标准品的去卷积ESI质谱图。

表1. mAb亚基标准品的分子量

亚基	分子量 平均, 理论 (Da)
LC	23127.8
Fd'	25689.2
Fc/2 + A2	25033.1
Fc/2 + FA2	25236.3
Fc/2+ FA2G1	25398.5
Fc/2 + FA2G2	25560.6
Fc/2 + FA2G2Ga1	25722.8

VIII. 订购信息

产品说明	部件号
mAb亚基标准品	186008927
ACQUITY UPLC BEH C ₄ , 300 Å, 1.7 µm, 2.1 x 50 mm蛋白分析专用柱	186004495
BioResolve RP色谱柱, 450 Å, 2.7 µm, 2.1 x 50 mm	176004156
ACQUITY UPLC Glycoprotein BEH Amide, 300 Å, 1.7 µm, 2.1 x 150 mm糖蛋白分析专用柱	176003702

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。ACQUITY、UPLC、BioResolve和Xevo是沃特世公司的商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

沃特世中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010 - 5209 3866
上海: 021 - 6156 2666
广州: 020 - 2829 5999
成都: 028 - 6765 3588
香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676
www.waters.com