



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106770595 B

(45)授权公告日 2019.05.14

(21)申请号 201611101526.4

G01N 33/68(2006.01)

(22)申请日 2016.12.02

(56)对比文件

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106770595 A

CN 105758943 A, 2016.07.13,

US 3579433 A, 1971.05.18,

CN 102553438 A, 2012.07.11,

US 3791950 A, 1974.02.12,

EP 0382426 A2, 1990.08.16,

(43)申请公布日 2017.05.31

(73)专利权人 中国科学院生态环境研究中心

地址 100085 北京市海淀区北京海淀区双清路18号

审查员 周洁

(72)发明人 何滨 王丁一 严雪婷 胡立刚
江桂斌

(74)专利代理机构 中科专利商标代理有限责任
公司 11021

代理人 任岩

(51)Int.Cl.

G01N 27/447(2006.01)

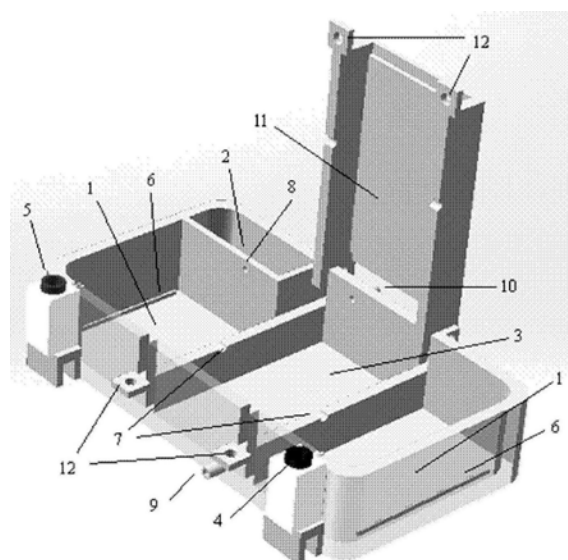
权利要求书1页 说明书7页 附图4页

(54)发明名称

用于蛋白分离的电泳槽及采用其的柱状凝胶电泳装置

(57)摘要

一种用于蛋白分离的电泳槽及采用其的柱状凝胶电泳装置,该电泳槽包括正极侧的缓冲溶液槽、负极侧的缓冲溶液槽、位于中间的冷却水槽和位于正极侧的洗脱溶液槽;所述电泳槽中设置有安放柱状凝胶管的位置。所述电泳槽通过3D打印技术制造,例如采用高分子聚合物材料制成,优选由PLA塑料制成。本发明的电泳槽及采用其的柱状凝胶电泳装置根据所填充的聚丙烯酰胺的不同以及结合ICP-MS等仪器可用于不同分子量蛋白的离线分离和在线分离及检测,且具有分析时间短,成本低,制造过程简单,死体积小,分离条件选择范围广,分离度高,可根据实际需要进行改装等特点,并具有不断优化的可能。



1. 一种用于蛋白分离的电泳槽,其特征在于,包括正极侧的缓冲溶液槽、负极侧的缓冲溶液槽、位于中间的冷却水槽和位于正极侧的洗脱溶液槽;所述电泳槽中设置有安放柱状凝胶管的位置,使凝胶管能完全浸没于冷却水槽中,所述电泳槽构成的柱状凝胶电泳装置为水平柱状凝胶电泳装置,其中柱状凝胶管水平放置,所述正极侧的缓冲溶液槽与洗脱溶液槽相邻的壁上设有洗脱管插孔,所述洗脱溶液槽用于为洗脱装置提供溶液,所述电泳槽通过洗脱装置与电感耦合等离子体质谱仪进样口连接。

2. 根据权利要求1所述的电泳槽,其特征在于,所述电泳槽采用高分子聚合物材料制成。

3. 根据权利要求2所述的电泳槽,其特征在于,所述电泳槽采用PLA塑料制成。

4. 根据权利要求1所述的电泳槽,其特征在于,所述电泳槽的深度为3.5-5cm,宽度为8-12cm,总长度为18-22cm。

5. 根据权利要求1所述的电泳槽,其特征在于,所述电泳槽中冷却水槽的长度为5.5-9cm;正极侧的缓冲溶液槽和洗脱溶液槽的长度为5-6cm;负极侧的缓冲溶液槽的长度为5-6cm。

6. 根据权利要求5所述的电泳槽,其特征在于,所述电泳槽中冷却水槽的长度为5.5cm;正极侧的缓冲溶液槽和洗脱溶液槽的长度为6cm;负极侧的缓冲溶液槽的长度为5cm。

7. 根据权利要求1所述的电泳槽,其特征在于,在所述正极侧的缓冲溶液槽和负极侧的缓冲溶液槽同一侧的外部分别设置有正、负电极的电极座,并装有电极。

8. 根据权利要求1所述的电泳槽,其特征在于,所述冷却水槽一侧外部的顶端设置有活动卡板,用于固定柱状凝胶管和封闭冷却水槽;所述活动卡板一端和冷却水槽的另一侧分别设置有两个拧紧螺丝孔,使用时用于插入螺丝拧紧活动卡板。

9. 一种柱状凝胶电泳装置,其特征在于,所述柱状凝胶电泳装置采用如权利要求1至8任意一项所述的电泳槽,并包括凝胶管以及洗脱装置。

用于蛋白分离的电泳槽及采用其的柱状凝胶电泳装置

技术领域

[0001] 本发明属于生物化学检测分析技术领域,更具体地涉及一种用于蛋白分离的电泳槽及采用其的柱状凝胶电泳装置。

背景技术

[0002] 蛋白质作为生物体的基本组成物质,是生物体各种重要功能的执行者,对蛋白质组成、结构和功能的研究具有重要的研究意义和实际价值。其中电泳技术是蛋白质分离测定中应用最广泛和最有效的方法。

[0003] 电泳技术主要包括等电聚焦电泳(IEF)和聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE),PAGE是以具有网状立体结构的聚丙烯酰胺凝胶为支持介质,在电场作用下,待分离的蛋白质分子根据分子荷电量、大小及形状不同被分离成许多条明显的区带。PAGE又可分为变性(SDS-PAGE)与非变性凝胶电泳(Native-PAGE)。变性凝胶电泳(SDS-PAGE)通过十二烷基磺酸钠(SDS)与蛋白反应而使蛋白失活,可将蛋白质转化成分子量不同而结构相似的物质,因此无论蛋白的性质如何,均可根据分子量的不同而得到分离,质荷比小的蛋白移动得快、远,质荷比大的蛋白移动得慢。SDS-PAGE操作简单灵活,分辨率高,重现性好,是使用最为广泛的蛋白质分离技术。

[0004] 根据支持物的装置形式不同,凝胶电泳又可分为平板式电泳、垂直板式电泳和柱状电泳。其中柱状凝胶更有利于样品的浓缩和分离后的收集以及与后续检测系统的联用。柱状凝胶电泳可以根据需求选择不同内径和长度的玻璃管,玻璃管内填充琼脂糖可用于分离核酸,填充聚丙烯酰胺凝胶可用于分离蛋白质。经过柱状电泳分离后的蛋白质通过洗脱装置进行洗脱,并与电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)技术联用进行分析和检测。柱状凝胶电泳与ICP-MS技术联用已被成功应用于在线分离DNA、RNA和小分子物质。

[0005] 然而现有的商业化柱状凝胶电泳装置虽然可以用于多肽、RNA、DNA以及蛋白等多种物质的分离和检测,普适性好,但也导致其凝胶柱的内径较大,洗脱装置死体积较大,因此整个柱状电泳装置对蛋白的分离效率和分析灵敏度都较低,并且造价高昂,操作较复杂。如何对柱状电泳装置进行优化和改进是影响蛋白质分析和检测的重要因素。

[0006] 3D打印技术是一种与传统的材料加工方法截然相反的技术,该技术基于三维CAD模型数据,通过增加材料逐层制造的方式来快速构造物体。其采用直接制造与相应数学模型完全一致的三维物理实体模型的制造方法并通过数字技术材料打印机来实现打印过程。这种技术的特点在于其几乎可以造出任何形状的物品,并且免除了传统工艺需要多道加工程序的烦琐过程,制造周期短,成本低。近几年来,3D打印技术作为一项前沿性的先进制造技术迅猛发展,在工业制造、生物医学、建筑制造、文化艺术等领域逐步发挥了重要的作用。不过目前尚未有将3D打印技术应用于柱状凝胶电泳装置的先例。

发明内容

[0007] 有鉴于此,本发明的主要目的在于提供一种用于蛋白分离的电泳槽及采用其的柱

状凝胶电泳装置,以解决上述技术问题中的至少之一。

[0008] 为实现上述目的,作为本发明的一个方面,本发明提供了一种用于蛋白分离的电泳槽,其特征在于,包括正极侧的缓冲溶液槽、负极侧的缓冲溶液槽、位于中间的冷却水槽和位于正极侧的洗脱溶液槽;所述电泳槽中设置有安放柱状凝胶管的位置。

[0009] 其中,所述电泳槽通过3D打印技术制造。

[0010] 其中,所述电泳槽采用高分子聚合物材料制成,优选由PLA塑料制成。

[0011] 其中,所述电泳槽的深度为3.5-5cm,宽度为8-12cm,总长度为18-22cm。

[0012] 其中,所述电泳槽中冷却水槽的长度为5.5-9cm;正极侧的缓冲溶液槽和洗脱溶液槽的长度为5-6cm;负极侧的缓冲溶液槽的长度为5-6cm。

[0013] 其中,所述电泳槽中冷却水槽的长度为5.5cm;正极侧的缓冲溶液槽和洗脱溶液槽的长度为6cm;负极侧的缓冲溶液槽的长度为5cm。

[0014] 其中,所述正极侧的缓冲溶液槽与洗脱溶液槽相邻的壁上设有洗脱管插孔,在所述正极侧的缓冲溶液槽和负极侧的缓冲溶液槽同一侧的外部分别设置有正、负电极的电极座,并装有电极。

[0015] 其中,所述冷却水槽一侧外部的顶端设置有活动卡板,用于固定柱状凝胶管和封闭冷却水槽;所述活动卡板一端和冷却水槽的另一侧分别设置有两个拧紧螺丝孔,使用时用于插入螺丝拧紧活动卡板。

[0016] 作为本发明的另一个方面,本发明还提供了一种柱状凝胶电泳装置,其特征在于,所述柱状凝胶电泳装置采用如上所述的电泳槽。

[0017] 其中,所述柱状凝胶电泳装置为水平柱状凝胶电泳装置,其中的柱状凝胶管水平放置。

[0018] 基于上述方案可知,本发明的水平柱状凝胶电泳装置具有如下有益效果:(1)本发明的水平柱状凝胶电泳装置可用于蛋白的快速离线分离;(2)本发明的水平柱状凝胶电泳装置结合ICP-MS等分析仪器可实现蛋白样品快速准确的在线分离和检测,提高了蛋白的分离效率和分析的灵敏度;(3)本发明的柱状凝胶管根据填充的聚丙烯酰胺凝胶的不同,配合电泳槽使用可实现不同蛋白质的快速分离;(4)本发明的水平柱状凝胶电泳装置主体使用3D打印制造,所用材料约为300克,造价约500元人民币左右,整个制造过程不到18个小时,质量轻,成本低廉,制造过程快捷简便;(5)本发明的洗脱装置死体积小,价格低廉,可实现一次性或重复使用;(6)本发明的柱状凝胶电泳装置结构简单,易于操作;(7)本发明的凝胶电泳装置具有较高的蛋白分离效率,且具有成本低廉、制造过程简单、死体积小、快速准确等特点,并且具有继续优化的可能。

附图说明

[0019] 图1是本发明的柱状凝胶管的结构示意图;

[0020] 图2是本发明的电泳槽的结构示意图;

[0021] 图3A和图3B分别是本发明的洗脱装置左半部分的剖面图和洗脱装置的结构分解示意图;

[0022] 图4A和图4B分别是使用本发明的柱状凝胶电泳蛋白分离装置(柱状凝胶管和电泳槽)对Bio-Rad公司所生产的Precision Plus Protein Dual Color蛋白标准品进行分离的

结果与Bio-Rad公司所提供的SDS-PAGE的分离效果图;

[0023] 图5是使用本发明的凝胶电泳蛋白分离装置结合ICP-MS对两种用 I^{127} 标记的标准蛋白进行在线分离和检测的电泳结果图,其中峰1为RA蛋白,峰2为CA蛋白。

[0024] 图6A是使用本发明的凝胶电泳蛋白分离装置结合ICP-MS对三种用 I^{127} 标记的标准蛋白进行在线分离和检测的电泳结果图,图6B是使用经过优化的商业化电泳装置在同样条件下对同样的三种标准蛋白进行检测的结果图,其中峰1为RA蛋白,峰2为CA蛋白,峰3为BSA蛋白。

[0025] 在上图中,附图标记含义如下:

[0026] 1.--缓冲溶液槽;2.--洗脱溶液槽;3.--冷却水槽;4.--负电极;5.--正电极;6.--电极丝槽;7.--凝胶管安放孔;8.--洗脱管插孔;9.--冷却水入口;10.--冷却水出口;11.--活动卡板;12.--拧紧螺丝孔;

[0027] 21.--凝胶管插孔;22.--小SPE筛板放置孔;23.--洗脱管;24.--接口;25.--20 μ m SPE筛板(小SPE筛板);26.--3kD透析膜;27.--3mm SPE筛板(大SPE筛板);28.--大SPE筛板放置孔;29.--缓冲溶液连通孔。

具体实施方式

[0028] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚明白,以下结合具体实施例,并参照附图,对本发明作进一步的详细说明。

[0029] 本发明涉及一种用于蛋白分离的水平柱状凝胶电泳装置,以及其中的柱状凝胶管、电泳槽和洗脱装置等三个主要部件。其中,电泳槽主体和洗脱装置主体采用3D打印制造,材质为高分子材料,例如PLA塑料和合成树脂,其具有如下优点:根据实际样品的情况,使用该水平柱状凝胶电泳装置及其所包含的柱状凝胶管和电泳槽,可用于蛋白的离线分离;使用该水平柱状凝胶电泳装置和其所包含的柱状凝胶管、电泳槽以及洗脱装置,结合ICP-MS等分析仪器,可用于蛋白的在线分离和检测。

[0030] 具体使用时,当需要离线检测时,在柱状凝胶管中填充不同的聚丙烯酰胺凝胶,向柱状凝胶管中加入待分离的蛋白样品,并安放于电泳槽中,然后向凝胶电泳槽的不同槽中分别加入缓冲溶液和冷却循环水,扣紧活动卡板,并将电泳槽的电极接通电源,之后蛋白样品会在电流的作用下在凝胶管中进行离线分离,整个过程操作简便,并且分离效率高。

[0031] 当需要在线检测时,在柱状凝胶管中填充不同的聚丙烯酰胺凝胶,将柱状凝胶管安放到电泳槽中,并与洗脱装置连接,洗脱装置的其中一侧洗脱管通过蠕动泵与电感耦合等离子体质谱仪进样口连接,向柱状凝胶管中加入待分离的蛋白样品,并安放于电泳槽中,然后向凝胶电泳槽的不同槽中分别加入缓冲溶液、洗脱溶液和冷却循环水,扣紧活动卡板,并将电泳槽的电极接通电源,之后蛋白样品会在电流的作用下在凝胶管中进行分离,并随洗脱液在蠕动泵的作用下进入ICP-MS进行分析和检测。这样可以同时实现蛋白样品快速准确的在线分离和检测,并且整个装置操作简便,死体积小,分离和检测效率高。

[0032] 具体地,本发明的水平柱状凝胶电泳装置包括柱状凝胶管、电泳槽及可选择的洗脱装置。

[0033] 其中,该水平柱状凝胶电泳装置采用水平结构,即柱状凝胶管水平放置。柱状凝胶管内可以填充不同种类的聚丙烯酰胺凝胶,根据检测需要来选择对应凝胶。例如,若需要分

离高分子量蛋白,则填充低浓度的凝胶;若需要分离低分子量蛋白,则填充高浓度凝胶;若需要分离宽分子量蛋白,则可填充梯度凝胶。经过反复试验验证和核算,柱状凝胶管的长度可根据填充凝胶的多少设置,例如为8-12cm,外径则优选为4-6mm,进一步优选为4mm,内径优选为2-2.2mm,进一步优选为2.2mm,从而极大地改善对于蛋白的分离效率。

[0034] 其中,电泳槽包括正、负极侧的缓冲溶液槽、位于中间的冷却水槽以及位于正极侧的洗脱溶液槽。正极侧的缓冲溶液槽与洗脱溶液槽相邻的壁上设有洗脱管插孔,在两个缓冲溶液槽一侧的外部分别有正负电极的电极座,并装有电极,与电极连接的导电铂丝通过槽上的小孔沿着电极丝卡槽延伸到两个缓冲溶液槽底部,在两个缓冲溶液槽与冷却水槽相接的壁上分别有凝胶管安放孔,冷却水槽的两侧分别设有冷却水入口和冷却水出口,冷却水槽一侧外部顶端有活动卡板,用于固定凝胶管和封闭冷却水槽,活动卡板一端和冷却水槽另一侧分别有两个拧紧螺丝孔,使用时用于插入螺丝拧紧活动卡板。

[0035] 作为优选,电泳槽采用高分子聚合物材料,例如PLA塑料制成。进一步优选地,电泳槽通过3D打印技术制造。电泳槽的深度例如为3.5-5cm,宽度例如为8-12cm,总长度例如为18-22cm。

[0036] 其中,电泳槽中冷却水槽的长度例如为6-9cm,正极侧缓冲溶液槽和洗脱溶液槽的长度例如为5-6cm,负极侧缓冲溶液槽的长度例如为5-6cm。

[0037] 作为优选,电泳槽中的缓冲溶液槽壁上的凝胶管安放孔的直径例如为4mm。

[0038] 其中,电泳槽中的冷却水槽一侧外部顶端的活动卡板与对应的电泳槽壁之间用生料带缠绕以避免漏水,使用时用螺丝分别插入活动卡板一端和冷却水槽另一侧的两个拧紧螺丝孔中以拧紧活动卡板。

[0039] 洗脱装置包括可拼装的前后两个部分,前半部分的前端设置有长6-8mm、直径为5.5-7.5mm的柱状凝胶管的插孔,中间加有橡胶软管以保证气密性,前半部分的中间为长1.3mm、直径为4mm的圆孔,用于放置安捷伦公司所生产的20 μ m SPE筛板(小SPE筛板),在圆孔的两侧分别通过一根洗脱管连接,在前半部分的后端设置有长4.1mm、直径11.2mm的接口与后半部分相接。后半部分的前端设置有长1.6mm、直径为9.2mm的圆孔,用于放置艾杰尔公司所生产的3mm SPE筛板(大SPE筛板),在大SPE筛板前端放置有MYM生物技术有限公司生产的3kD透析膜,在后半部分的后端设置有与缓冲溶液储存容器相通的连接孔。

[0040] 作为优选,洗脱装置的主体部分例如采用高分子聚合物材料,如合成树脂制成。进一步优选地,洗脱装置主体部分通过3D打印技术制造。

[0041] 在一个优选实施方式中,洗脱装置在使用时,将本发明的凝胶管插入到洗脱装置前半部分并接触小SPE筛板。在另一个优选实施方式中,洗脱装置在使用时将前后两个部分拼装在一起,并用封口膜缠紧接口处。

[0042] 作为优选,洗脱装置使用前需要对大、小SPE筛板和透析膜充分润湿,并排除空气以保证效果。

[0043] 作为优选,洗脱装置在使用时两根洗脱管分别位于上下两端,上端的洗脱管通过电泳槽上的洗脱管插孔插入到洗脱溶液槽中,下端的洗脱管与蠕动泵侧的套管连接,并在蠕动泵的流速控制下引入电感耦合等离子体质谱仪。

[0044] 当该水平柱状凝胶电泳装置用于蛋白的离线分离时,需同时使用柱状凝胶管以及电泳槽两个部件;当该水平柱状凝胶电泳装置用于蛋白的在线分离时,需同时使用柱状凝

胶管、电泳槽以及洗脱装置三个部件。

[0045] 本发明还公开了一种采用如上所述的水平柱状凝胶电泳装置的凝胶电泳蛋白分离检测系统。

[0046] 作为一个优选实施方式,本发明公开了一种用于蛋白分离的水平柱状凝胶电泳装置,该装置包含柱状凝胶管、电泳槽和洗脱装置三个部件,其中柱状凝胶管使用石英玻璃加工制成,电泳槽主体和洗脱装置主体使用商业化3D打印机打印。电泳槽主体使用3D Systems公司所生产的CubePro3D桌面级打印机打印,打印材料为PLA塑料,耗材约300g,耗时约18个小时。洗脱装置主体使用Formlabs公司所生产的Form2桌面级3D打印机打印,打印材料为合成树脂,耗材约5g,耗时约1个小时。

[0047] 下面结合附图对本发明的另一个优选实施方式作进一步说明。

[0048] 如图1所示,该用于蛋白分离的柱状凝胶管长度为8cm、外径为4mm,内径为2.2mm。

[0049] 该柱状凝胶管在工作时,需要在里面填充不同体积和浓度的聚丙烯酰胺凝胶,之后放置到本发明的电泳槽上的凝胶管安放孔上,结合本发明的电泳槽以及洗脱装置等使用,在加入蛋白样品并通电以后,蛋白样品会在电流的作用下从负极向正极移动并进行分离。

[0050] 如图2所示,该用于蛋白分离的柱状凝胶电泳槽使用PLA塑料制造,全重约为300克,所述电泳槽深度为4cm,宽度为10cm,总长度为20cm。该电泳槽包括:正、负极侧的两个缓冲溶液槽1、洗脱溶液槽2、冷却水槽3、负电极4、正电极5、电极丝槽6、凝胶管安放孔7、洗脱管插孔8、冷却水入口9、冷却水出口10、活动卡板11、拧紧螺丝孔12。电泳槽包括四个槽,分别是正、负极侧的两个缓冲溶液槽1、中间的冷却水槽3以及正极侧的洗脱溶液槽2,其中冷却水槽3的长度为5.5cm,正极侧的缓冲溶液槽1和洗脱溶液槽2的长度为6cm,负极侧的缓冲溶液槽1的长度为5cm。在两个缓冲溶液槽一侧的外部分别有正负电极4、5,正、负极侧的缓冲溶液槽1与冷却水槽3相邻的一侧分别有凝胶管安放孔7,其直径为4mm,与负电极4和正电极5连接的导电铂丝分别沿电极丝槽6铺设在正负极侧的缓冲溶液槽1的底部,正极侧的缓冲溶液槽1与洗脱溶液槽2相邻的壁上设有洗脱管插孔8。冷却水槽3的两侧设有冷却水入口9和冷却水出口10,冷却水槽一侧有活动卡板11,用于固定凝胶管和封闭冷却水槽3,活动卡板11一端和冷却水槽3另一侧分别有两个拧紧螺丝孔12,用于拧紧活动卡板11。

[0051] 该电泳槽在工作时,在正、负极侧的两个缓冲溶液槽1中分别加入150ml左右的缓冲溶液,将长8cm,外径为4mm的柱状凝胶管安放到凝胶管安放孔7中,然后将活动卡板11扣上,用两个螺丝通过拧紧螺丝孔12固定,其中活动卡板和电泳槽之间缠上生料带以避免漏液,将电导线分别将负电极4和正电极5接到电源上,在洗脱溶液槽2中加入适量洗脱溶液,配合使用的洗脱装置一端。

[0052] 如图3A、3B所示,该用于蛋白分离的洗脱装置包括可拼装的前后两个部分,前半部分的前端设置有长为8mm、直径为5.6mm的柱状凝胶管的插孔21,中间加有橡胶软管以保证气密性,前半部分的中间为长1.3mm、直径4mm的圆孔22,用于放置安捷伦公司所生产的20 μ m SPE筛板(小SPE筛板)25,在圆孔的两侧分别有一根洗脱管连接,在前半部分的后端设置有长为4.1mm、直径为11.2mm的接口24与后半部分相接。后半部分的前端设置有长1.6mm、直径为9.2mm的圆孔28,用于放置艾杰尔公司所生产的3mm SPE筛板(大SPE筛板)27,在大筛板前端放置有MYM生物技术有限公司生产的3kD透析膜26,在后半部分的后端设置有与缓冲溶液

储存容器连通的连接孔29。

[0053] 该洗脱装置在工作时,首先在圆孔22中放入安捷伦公司所生产的20 μ m SPE筛板(小SPE筛板)25,在圆孔28中放入艾杰尔公司所生产的3mm SPE筛板(大SPE筛板)27,在大SPE筛板27前端放置MYM生物技术有限公司生产的3kD透析膜26,将前半部分的接口24与后半部分拼接后,用封口膜缠紧拼接处,洗脱管23应在上下两端,上端洗脱管23通过本发明的电泳槽上的洗脱管插孔8插入到洗脱溶液槽2中,下端的洗脱管23与蠕动泵侧的套管连接,洗脱液从上端洗脱管23进入,经过小SPE筛板25后由下端洗脱管23导出洗脱装置,并在蠕动泵的流速控制下引入ICP-MS。

[0054] 下面通过几个具体检测实施例来说明本发明技术方案的有益效果。

[0055] 实施例1

[0056] 使用本发明的水平柱状凝胶电泳装置对蛋白标准品进行离线分离,并与商品化的参考结果进行对比。

[0057] 柱状凝胶管中的填充物为50 μ l浓度为4%的浓缩胶以及400 μ l浓度为10%的分离胶,所添加的蛋白标准品为Bio-Rad公司所生产的Precision Plus Protein Dual Color蛋白标准品。电泳槽中所使用的缓冲溶液为Tris-甘氨酸-SDS缓冲液,洗脱溶液为50mM的NH₄NO₃溶液,并在分段电压下进行分离。所用的电压第一段为30分钟60V以及第二段5小时200V,分离结果如图4A和图4B所示,图4A为本发明柱状凝胶电泳装置对Bio-Rad公司所生产的Precision Plus Protein Dual Color蛋白标准品进行分离的结果;图4B为Bio-Rad公司所提供的SDS-PAGE分离效果图。从图中可以看出,使用本发明柱状凝胶电泳装置对蛋白标准品进行分离形成的条带与商业化SDS-PAGE分离的结果非常吻合,证明本发明具有很好的蛋白分离能力。

[0058] 实施例2

[0059] 使用本发明的水平柱状凝胶电泳装置对两种用I¹²⁷标记的标准蛋白进行在线分离并与ICP-MS联用进行检测。

[0060] 所用的凝胶管中填充的聚丙烯酰胺凝胶为40 μ l浓度4%的浓缩胶以及180 μ l浓度10%的分离胶,所用I¹²⁷标记的两种标准蛋白均购自美国Sigma公司,样品上样量为20 μ L,蛋白浓度为0.01 μ g/ μ L电泳电压程序为100V 10min,200V 20min,600V 2h。使用的电泳缓冲盐溶液为:Tris-甘氨酸-SDS溶液。蛋白洗脱液为50mM的NH₄NO₃溶液。

[0061] 外接蠕动泵的转速为140 μ L/min,所使用的ICP-MS为安捷伦公司所生产的8800型ICP-MS。入射功率为1500W,碰撞气流速为15.0L/min,载气流速为0.80L/min,辅助气流速为0.80L/min,雾室温度为2 $^{\circ}$ C,质量数(m/z)为127I,积分时间为0.1秒。

[0062] 检测结果如图5所示,图中峰1为RA蛋白,峰2为CA蛋白。从图中可以看出,使用本发明柱状凝胶电泳装置能够快速准确的对两种用I¹²⁷标记的标准蛋白进行在线分离和检测,并且峰型较好,死体积较小。

[0063] 所使用的GE-ICP-MS在线联用系统如图1所示,该GE-ICP-MS在线联用系统对电泳仪凝胶管及洗脱装置进行了改造,将原有内径为6.5mm的玻璃凝胶管改为内径为2.5mm的石英管5,从而减少样品上样量,同时提高分离度和分辨率;利用3D打印的尼龙套管作为洗脱液引流装置8将底部滤芯9尺寸改小为8.2mm,减小溶液死体积,从而提高分离度。蛋白样品分离洗脱后通过PEEK液相管路三通11经蠕动泵12控制以140 μ L/min流速分别引入ICP-MS

13和组分收集器14。样品经雾室进入ICP-MS对金属元素和非金属元素进行检测。组分收集器收集样品进行后续的蛋白鉴定及其他检测。

[0064] 实施例3

[0065] 如图6A、6B所示,使用本发明的水平柱状凝胶电泳装置对三种用 I^{127} 标记的标准蛋白分别进行在线分离并与ICP-MS联用进行检测,并在同样条件下使用经过优化的商业化柱状凝胶电泳装置对同样的标准蛋白进行检测,其中由于蛋白中可能含有金属元素,因此同时检测了 I^{127} 以及 Zn^{65} 的信号,并对结果进行了比较。

[0066] 所用的凝胶管中填充的聚丙烯酰胺凝胶均为50 μ l浓度4%的浓缩胶以及200 μ l浓度10%的分离胶,所用 I^{127} 标记的三种标准蛋白均购自美国Sigma公司,样品上样量为20 μ L,蛋白浓度为0.01 μ g/ μ L电泳电压程序为100V 10min,200V 20min,600V 2h。使用的电泳缓冲盐溶液为:Tris-甘氨酸-SDS溶液。蛋白洗脱液为50mM的 NH_4NO_3 溶液。

[0067] 外接蠕动泵的转速为140 μ L/min,所使用的ICP-MS为安捷伦公司所生产的8800型ICP-MS。入射功率为1500W,碰撞气流速为15.0L/min,载气流速为0.80L/min,辅助气流速为0.80L/min,雾室温度为2 $^{\circ}$ C,质量数(m/z)为127I,积分时间为0.1秒。

[0068] 检测结果如图6A、图6B所示,图6A为本装置对三种蛋白的分离和检测结果,图6B为优化后的商业化电泳装置对三种蛋白的分离和检测结果,图中峰1为RA蛋白,峰2为CA蛋白,峰3为BSA蛋白。从图中可以看出,使用本发明柱状凝胶电泳装置能够快速准确的对三种用 I^{127} 标记的标准蛋白进行在线分离和检测,并且峰型及响应值皆好于优化后的商业化电泳装置,这表明本发明的电泳装置及其部件具有更好的蛋白分离效率及分析灵敏度。

[0069] 经过多次试验验证表明,本发明的用于蛋白分离的水平柱状凝胶电泳装置将凝胶管内径改小,不仅能够减少样品上样量,反复的实验结果表明更小的内径能够提高蛋白的分离度和电泳分辨率,并且分离条件选择范围广,但是太小的内径不利于凝胶的填充;利用3D打印的本发明的水平电泳槽结构简单,造价低廉,比现有商业化电泳槽易于操作;利用3D打印的本发明的洗脱装置造价低廉,制造过程简单,实验结果表明该洗脱装置死体积大大减少,因此明显提高了蛋白的检测效率和灵敏度,并可以实现一次性使用或者循环使用。通过将本发明柱状凝胶电泳装置及其所包含的柱状凝胶管、电泳槽和洗脱装置配合使用,并与ICP-MS等仪器联用,能够实现蛋白质的快速、准确的离线分离以及在线分离和检测。

[0070] 以上所述的具体实施例,对本发明的目的、技术方案和有益效果进行了进一步详细说明,应理解的是,以上所述仅为本发明的具体实施例而已,并不用于限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内,所做的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

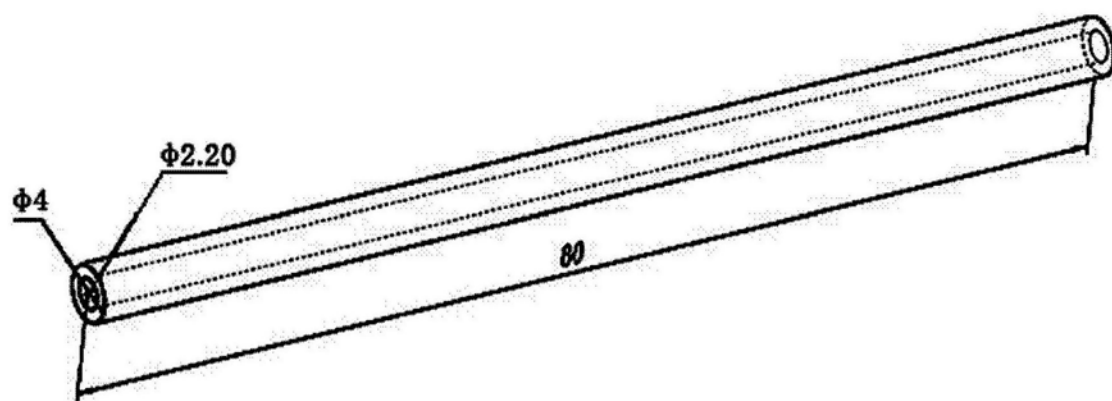


图1

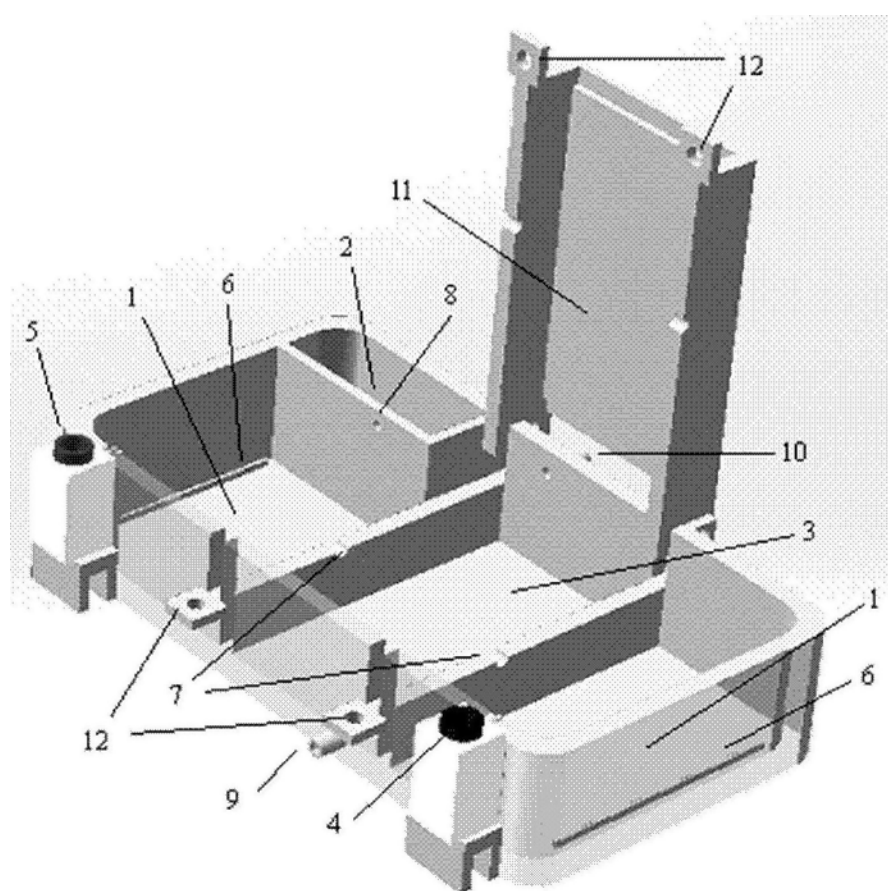


图2

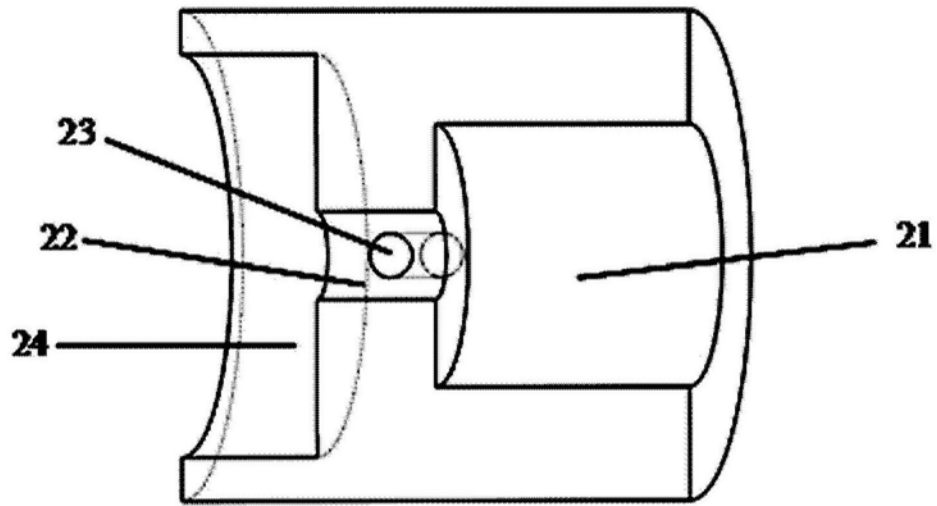


图3A

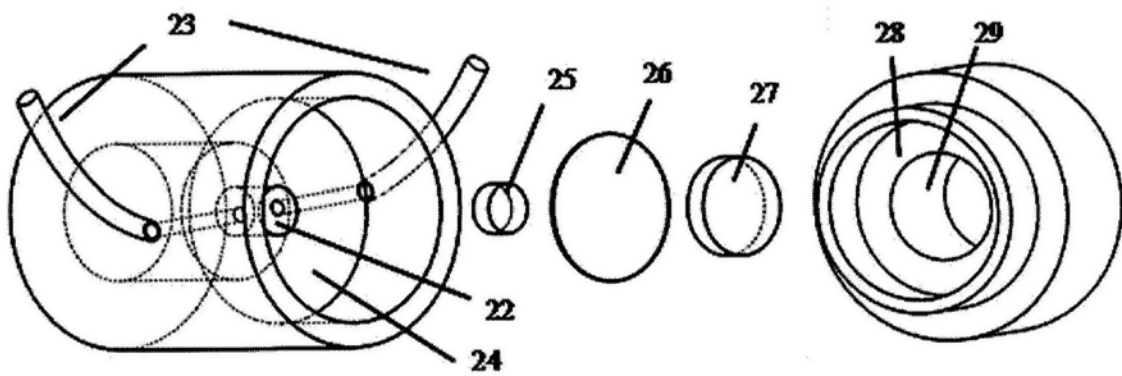


图3B

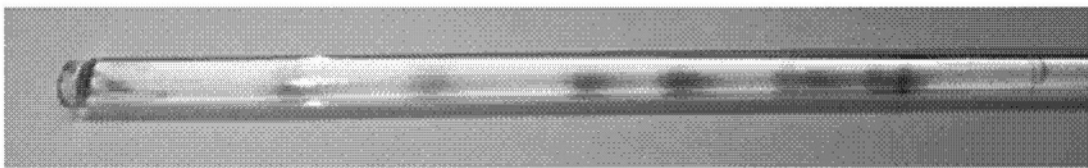


图4A

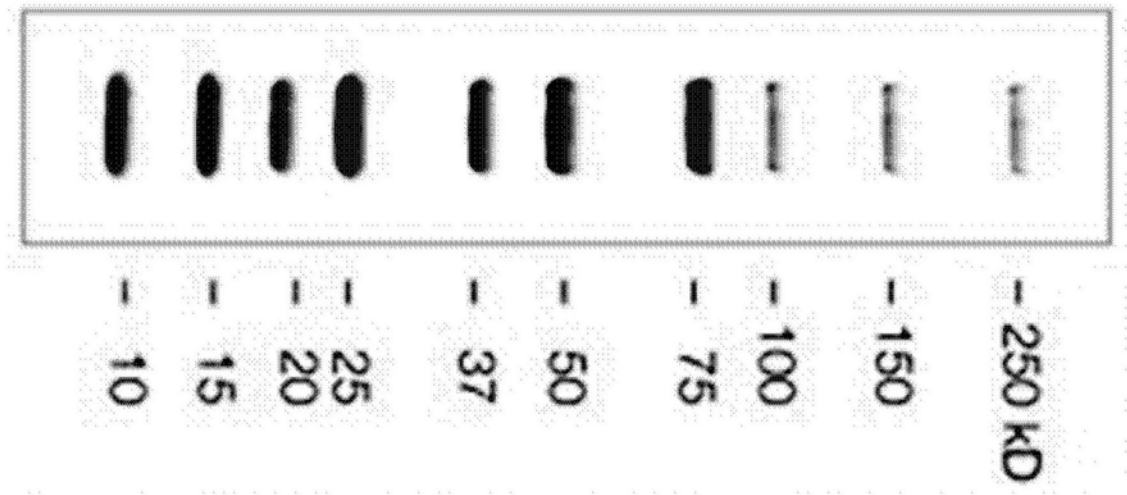


图4B

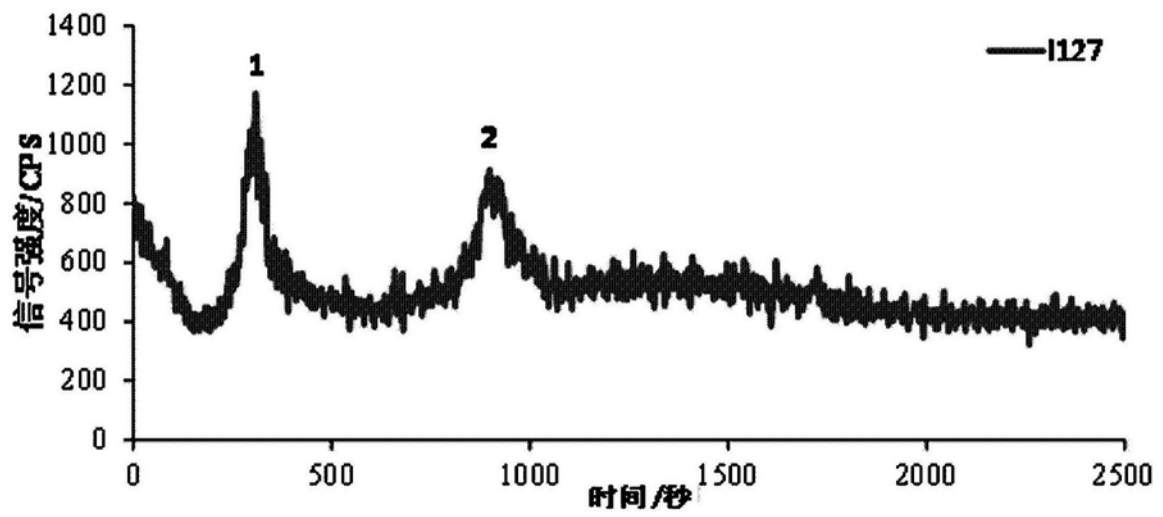


图5

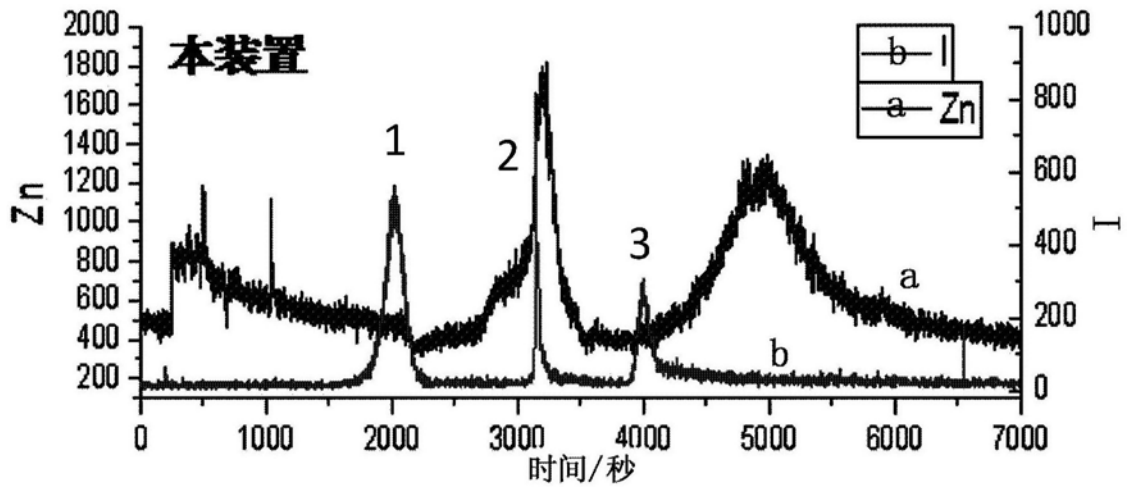


图6A

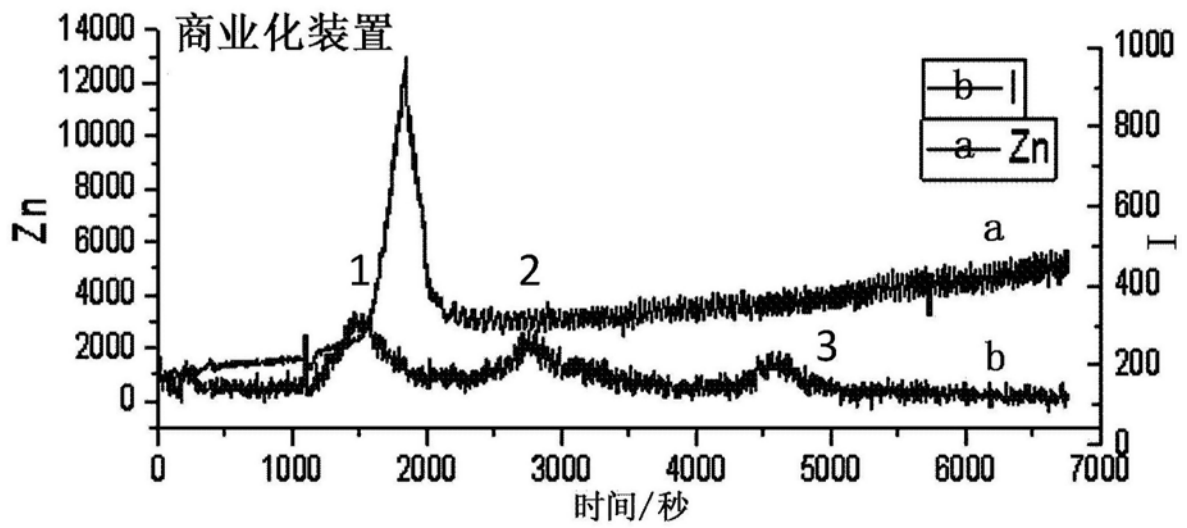


图6B