



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

体外诊断试剂原材料 抗体 质量评价方法

Raw materials for IVD reagent—Antibody—Quality evaluation method

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

草案版次选择

(本草案完成时间：2024年7月)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由××××提出。

本文件由××××归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

体外诊断试剂原材料 抗体 质量评价方法

1 范围

本文件描述了体外诊断试剂原材料中抗体的质量评价方法。

本文件适用于对基于抗原与抗体特异性反应的体外诊断试剂用原材料抗体的质量评价。

本文件不适用于免疫阳性抗体血清。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 免疫检测 immunometric assay

利用抗原抗体的特异性反应来识别样本中的微量分析物并产生信号，从而进行测试。

3.2 抗体 antibody

由免疫原性物质刺激B淋巴细胞产生，并能与免疫原性物质结合的特异性免疫球蛋白。

注：免疫原性物质的分子包含一种或多种带有独特化学成分的部分，即表位。

[来源：YY/T 29791.1—2019, 3.1]

3.3 B淋巴细胞 B-lymphocyte

B淋巴细胞（B lymphocyte）由哺乳动物骨髓（bone marrow）或鸟类法氏囊（bursa of Fabricius）中的淋巴样干细胞分化发育而来，故称B细胞。

3.4 重组抗体 recombinant antibody

又称基因工程抗体，是借助DNA重组技术和蛋白质工程技术，按人们意愿在基因水平上对抗体基因进行切割、拼接或修饰，重新组装而成的新型抗体分子。

3.5 单克隆抗体 monoclonal antibody

能够与某种免疫原性物质的单一表位发生特异性反应的抗体。

[来源：YY/T 29791.1—2019, 3.10]

3.6 多克隆抗体 polyclonal antibody

能够识别不同抗原决定簇的免疫球蛋白分子混合物。

[来源：YY/T 29791.1—2019, 3.11]

3.7 生物学来源 host

用于免疫制备抗体的动物物种或抗体恒定区的氨基酸序列与待分析抗体最相近的动物物种。

[来源：GB/T 40625-2021, 3.3]

3.8 纯度 purity

样品中目标蛋白含量占总蛋白含量的百分率。

3.9 功能性实验 functional test

功能性实验是指利用原料制备成试剂，并评估试剂的准确度、检出限等指标的系列实验。

注：各项指标均能达到预先制定的标准后，该原料才可认为合格。

3.10 抗原 antigen

可以诱导生物体产生抗体的物质，能够被相应抗体识别并与之结合。

[来源：GB/T 40625-2021, 3.2]

3.11 质量分析证书 certificate of analysis

质量分析证书是证明原材料已进行质量检测并得出测试结果的证明文件。

注：内容涵盖产品的质量检测结果以及相应的参数指标和技术规范。

4 质量评价指标

4.1 外观

在自然光下以正常视力或矫正视力目视检查，结果应符合以下几项要求：

- a) 包装标签应清晰无破损，液态样品；
- b) 制造商提供的信息应符合 GB/T 29791.1 中的相关规定。

4.2 蛋白浓度

可通过紫外-可见分光光度法、2,2'-联喹啉-4,4'-二羧酸法（BCA法）、考马斯亮蓝法（Bradford法）、福林酚法（Lowry法）等进行检测。

4.3 纯度

可使用SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法（SDS-PAGE法）、高效液相色谱法（HPLC法）或毛细管电泳法等方法检测抗体的纯度。

4.4 分子量

可使用SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法（SDS-PAGE法）、高效液相色谱法（HPLC法）或毛细管电泳法等方法进行检测。

4.5 功能性实验

一般应包括准确度、检出限、精密度等性能指标。

5 质量分析资料

通常应包括样品信息、检验信息、签发信息三个部分。相关要素可根据质量分析需求进行调整和补充。

5.1 样品信息

- a) 生产商名称
- b) 产品名称
- c) 抗体种类，如单克隆抗体/多克隆抗体/重组抗体
- d) 抗体亚型（单克隆抗体适用）
- e) 生物学来源
- f) 免疫原
- g) 状态及溶液信息
- h) 储存条件
- i) 批号
- j) 浓度
- k) 纯度
- l) 有效期

5.2 检验信息

- a) 检验项目：列出进行的分析项目或测试方法。
- b) 检验结果：对每个项目的具体结果进行记录，包括浓度、纯度等。
- c) 检验人员：进行分析的人员姓名或签名。
- d) 检验日期：记录进行分析的日期或时间。

5.3 签发信息

证书的签发单位名称、地址、联系方式等。

附 录 A
(资料性)
紫外-可见分光光度法

A.1 原理

由于蛋白质分子中常含酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸等苯环结构，在紫外280nm波长处有最大吸收峰，其吸收值与蛋白质浓度成正比，故可用280nm波长吸收值大小来测定蛋白质含量。

A.2 检测方法

- 1) 取供试品溶液，照紫外-可见分光光度法，在 280nm 的波长处测定吸光度，以吸收系数法或对照品比较法计算供试品中蛋白质的含量。
- 2) 取供试品溶液，照紫外-可见分光光度法，在 280nm 与 260nm 的波长处测定吸光度，按下式计算供试品中蛋白质的含量。

蛋白浓度 (mg/mL) = $1.5 \times A_{280} - 0.75 \times A_{260}$;

A.2.1 吸收系数法

按各品种项下的方法配制供试品溶液，在规定的波长处测定其吸光度，再以该品种在规定条件下的吸收系数计算含量。用本法测定时，吸收系数通常应大于 100，并注意仪器的校正和检定。

A.2.2 对照品比较法

按各品种项下的方法，分别配制供试品溶液和对照品溶液，对照品溶液中所含被测成分的量应为供试品溶液中被测成分规定量的 $100\% \pm 10\%$ ，所用溶剂也应完全一致，在规定的波长处测定供试品溶液和对照品溶液的吸光度后，按下式计算供试品中被测溶液的浓度：

$$CX = (AX/AR)/CR$$

式中 CX 为供试品溶液的浓度；

AX 为供试品溶液的吸光度；

CR 为对照品溶液的浓度；

AR 为对照品溶液的吸光度。

附录 B

(资料性)

Lowry 法蛋白浓度测定方法

B.1 原理

本法系依据蛋白质分子中含有的肽键在碱性溶液中与 Cu^{2+} 螯合形成蛋白质-铜复合物，此复合物使酚试剂的磷钼酸还原，产生蓝色化合物，同时在碱性条件下酚试剂易被蛋白质中酪氨酸、色氨酸、半胱氨酸还原呈蓝色反应。在一定范围内其颜色深浅与蛋白质浓度呈正比，以蛋白质对照品溶液作标准曲线，采用比色法测定供试品中蛋白质的含量。

本法灵敏度高，测定范围为 20-250 μg 。但对本法产生干扰的物质较多，对双缩脲反应产生干扰的离子，同样容易干扰福林酚反应，且影响更大。如还原物质、酚类、枸橼酸、硫酸铵、三羟甲基氨基甲烷缓冲液、甘氨酸、糖类、甘油等均有干扰作用。目前已有许多商业来源的改良试剂盒，可以减少干扰，也可根据其操作说明书进行检测。

B.2 试剂配置

碱性铜溶液：取氢氧化钠 10g，碳酸钠 50g，加水 400ml 使溶解，作为甲液；取酒石酸钾 0.5g，加水 50ml 使溶解，另取硫酸铜 0.25g，加水 30ml 使溶解，将两液混合作为乙液。临用前，合并甲、乙液，并加水至 500ml。

福林酚试液：将 10 ml 福林酚试剂（Folin-Ciocalteu）与 50 ml 水混匀便可。

B.3 检测方法

B.3.1 通常采用血清白蛋白（牛）对照品根据需求配置成不同梯度浓度。（参照药典对照品溶液取用量可在本法测定范围内进行适当调整）。

B.3.2 取各浓度的标准蛋白液及待测样品 20 μl 加入 96 孔板中，分别加入 200 μl 的碱性铜溶液，混匀，室温静置 10 分钟。

B.3.3 静置结束后，向各孔中加入 20 μl 的福林酚试液，立即振荡混匀，室温放置 30 分钟。

B.3.4 用酶标仪测定波长 750nm 处的吸光度，吸光度的读取范围可以从 650~750nm，这取决于可用的合适的滤光器（酶标仪）或者如果信号太强，不会对检测性能产生显著的影响。

B.3.5 以加入 0 μl 标准品的孔为空白对照，再将各个点的吸光度减去空白值，计算线性回归方程，从线性回归方程计算待测样品溶液中的蛋白质浓度，并乘以稀释倍数，即得。

附 录 C
(资料性)
BCA 法蛋白浓度测定方法

C.1 原理

本法系依据蛋白质分子在碱性溶液中将 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ ，2,2'-联喹啉-4,4'-二羧酸(BCA)与 Cu^+ 结合形成紫色复合物，在一定范围内其颜色深浅与蛋白质浓度呈正比，以蛋白质对照品溶液作标准曲线，采用比色法测定供试品中蛋白质的含量。

C.2 试剂配制

BCA工作液：取2,2'-联喹啉-4,4'-二羧酸钠1g，无水碳酸钠2g，酒石酸钠0.16g，氢氧化钠0.4g与碳酸氢钠0.95g，加水使溶解成100ml，调节pH值至11.25，作为甲液；另取4%硫酸铜溶液作为乙液。临用前取甲液100ml，加入乙液2ml，混匀，即得。

C.3 检测方法

C.3.1 通常采用血清白蛋白(牛)对照品根据需求配置成不同梯度浓度。(参照药典对照品溶液取用量可在本法测定范围内进行适当调整)

C.3.2 取各浓度的标准蛋白液及待测样品20 μl 加入96孔板中，向各孔的蛋白液中加入200 μl 的BCA工作液混匀，37度放置30分钟。

C.3.3 静置结束后，冷却至室温，用酶标仪测定562nm出的吸光度。

C.3.4 以加入0 μl 标准品的孔为空白对照，再将各个点的吸光度减去空白值，计算线性回归方程，从线性回归方程计算待测样品溶液中的蛋白质浓度，并乘以稀释倍数，即得。

附 录 D
(资料性)
考马斯亮蓝法 (Bradford 法)

D.1 原理

本法系依据在酸性溶液中考马斯亮蓝G250与蛋白质分子中的碱性氨基酸(精氨酸)和芳香族氨基酸结合形成蓝色复合物,在一定范围内其颜色深浅与蛋白质浓度呈正比,以蛋白质对照品溶液作标准曲线,采用比色法测定供试品中蛋白质的含量。

D.2 试剂配制

G250染液:取考马斯亮蓝G250 0.1g,加乙醇50ml溶解后,加磷酸100ml,加水稀释至1000ml,混匀。滤过,取滤液,即得。本试剂应置棕色瓶内,如有沉淀产生,使用前需经滤过。

D.3 检测方法

D.3.1 通常采用血清白蛋白(牛)对照品根据需求配置成不同梯度浓度。(参照药典对照品溶液取用量可在本法测定范围内进行适当调整)

D.3.2 取各浓度的标准蛋白液及待测样品10 μ l加入96孔板中,向各孔的蛋白液中加入200 μ l的G250染液,立即混匀。

D.3.3 并立即在595nm的波长处测定吸光度。

D.3.4 以加入0 μ l标准品的孔为空白对照,再将各个点的吸光度减去空白值,计算线性回归方程,从线性回归方程计算待测样品溶液中的蛋白质浓度,并乘以稀释倍数,即得。

附 录 E
(资料性)
SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法

E.1 原理

SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法是一种变性的聚丙烯酰胺凝胶电泳方法。SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法分离蛋白质的原理是根据大多数蛋白质都能与阴离子表面活性剂十二烷基硫酸钠(SDS)按重量比结合成复合物,使蛋白质分子所带的负电荷远远超过天然蛋白质分子的净电荷,消除了不同蛋白质分子的电荷效应,使蛋白质按分子大小分离。

E.2 仪器装置

恒压或恒流电源、垂直板或圆盘电泳槽和制胶模具。

E.3 试剂

E.3.1 水电阻率不低于 18.2MΩ·cm。

E.3.2 A液 1.5mol/L 三羟甲基氨基甲烷-盐酸缓冲液。称取三羟甲基氨基甲烷 18.15g,加适量水溶解,用盐酸调 pH 值至 8.8,加水稀释至 100ml。

E.3.3 B液 30%丙烯酰胺溶液-0.8% N,N'-亚甲基双丙烯酰胺溶液(避光保存)。

E.3.4 C液 1%十二烷基硫酸钠溶液。

E.3.5 D液 10% N,N,N',N'-四甲基乙二胺。

E.3.6 E液 10%过硫酸铵溶液,临用前配制。

E.3.7 F液 0.5mol/L 三羟甲基氨基甲烷-盐酸缓冲液。称取三羟甲基氨基甲烷 6.05g,加适量水溶解,用盐酸调 pH 值至 6.8,加水稀释至 100ml。

E.3.8 电极缓冲液 称取三羟甲基氨基甲烷 3g、甘氨酸 14.4g、十二烷基硫酸钠 1g,加适量水溶解,用盐酸调 pH 值至 8.3,加水稀释至 1000ml。

E.3.9 供试品缓冲液 称取三羟甲基氨基甲烷 0.303g、溴酚蓝 2mg、十二烷基硫酸钠 0.8g,量取盐酸 0.189ml、甘油 4ml,加水溶解并稀释至 10ml。该缓冲液用于非还原型 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳。如用于还原型 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,则再加 β-巯基乙醇 2ml。

E.3.10 分子量标准品 所选用的标准品的分子量范围应将供试品的分子量包括在其中。

E.3.11 固定液(蓝染法) 称取三氯醋酸 5g,加水 200ml 溶解后,加甲醇 200ml,再加水至 500ml。

固定液(银染 A 法) 取甲醇 250ml、冰醋酸 60ml,加水稀释至 500ml。

固定液(银染 B 法) 取甲醇 50ml、37%甲醇溶液 54μl,加水至 100ml。

E. 3.12 脱色液（银染 A 法） 取乙醇 100ml、冰醋酸 50ml，加水稀释至 1000ml。

E. 3.13 辅染液（银染 A 法） 称取重铬酸钾 10g，量取硝酸 2ml，加适量水溶解并稀释至 200ml。使用前 40 倍稀释。

E. 3.14 银染液（银染 A 法） 称取硝酸银 2.04g，加水溶解并稀释至 1000ml。

硝酸盐溶液（银染 B 法） 取硝酸银 0.8g，加水至 4.0ml，将此溶液滴加至 0.1mol/L 氢氧化钠溶液 20ml 与 25%氨溶液 1.5ml 的混合液中，摇匀，用水稀释至 100ml。

E. 3.15 显色液（银染 A 法） 称取碳酸钠 30g，加适量水溶解，加甲醛 0.5ml 并稀释至 1000ml。

显色液（银染 B 法） 取 1%枸橼酸溶液 2.5ml，37%甲醛溶液 270 μ l，加水至 500ml。

E. 3.16 终止液（银染 A 法） 取冰醋酸 10ml，加水稀释至 1000ml。

终止液（银染 B 法） 取冰醋酸 100ml，加水稀释至 1000ml。

E.3.17 考马斯亮蓝染色液 称取考马斯亮蓝 R250 1g，加入甲醇 200ml、冰醋酸 50ml、水 250ml，混匀。

E.3.18 保存液 取冰醋酸 75ml，加水至 1000ml，摇匀。

供试品溶液的制备 将供试品与供试品缓冲液按 3:1 的比例混匀，或照以下的规定制备，除另有规定外，置水浴中 100 $^{\circ}$ C 加热 3~5 分钟，对照品/标准品溶液同法操作。

E. 4 测定法

E. 4.1 制备分离胶溶液 根据不同分子量的需求，按下表制成分离胶溶液，灌入模具内至一定高度，加水封顶，室温下聚合（室温不同，聚合时间不同）。

凝胶种类		分离胶溶液						浓缩胶溶液
凝胶浓度		5%	7.5%	10%	12.5%	15%	17.5%	4.5%
试剂/ml	A 液	4	4	4	4	4	4	
	B 液	2.7	4	5.4	6.7	8	9.4	1.35
	C 液	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	0.9
	D 液	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.07
	E 液	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.07
	F 液							2.25
	G 液	7.3	6	4.88	3.3	2.28	0.88	4.33

E. 4.2 制备浓缩胶溶液

待分离胶溶液聚合后，用滤纸吸去上面的水层，再灌入浓缩胶溶液（配方见上表），插入样品梳，注意避免气泡出现。

E. 4.3 加样

待浓缩胶溶液聚合后小心拔出样品梳，将电极缓冲液注满电泳前后槽，在加样孔中加入供试品溶液与对照/标准品溶液 $5\mu\text{g}$ （银染法）或 $10\mu\text{g}$ 以上（考马斯亮蓝染色法）。

E. 4.4 电泳

垂直板电泳：恒压电泳，初始电压为 80V ，进入分离胶时调至 $150\sim 200\text{V}$ ，当溴酚蓝迁移胶底处，停止电泳。或恒流电泳，以恒流 10mA 条件下开始电泳，至供试品溶液进入分离胶后将电流调至 20mA ，直至电泳结束。

圆盘电泳：调节电流使每管 8mA 。

E. 4.5 固定与染色

E. 4.5.1 考马斯亮蓝法

电泳完毕，取出胶片（条），置固定液中 30 分钟，取出胶片（条），置染色液 $1\sim 2$ 小时，用脱色液脱色至凝胶背景透明后保存在保存液中。

E. 4.5.2 银染法

除另有规定外，银染法一般不用于定量试验；做定性试验时，上样量可以适当增加；做纯度试验时，若结果的量效关系不成正比，建议用考马斯亮蓝法染色。

E. 4.5.2.1 银染 A 法

将电泳后的凝胶浸入固定液中 $10\sim 12$ 小时，取出，用脱色液漂洗 3 次（温度不低于 25°C ），每次 10 分钟；漂洗后的凝胶浸于辅染液中 $7\sim 10$ 分钟后取出，用水浸洗 3 次，每次 2 分钟；将浸洗后的凝胶浸于银染液中，置较强日光或类似光源下照射 30 分钟，再置于室内光线下放置 20 分钟；将凝胶自银染液中取出，用水浸洗 2 次，每次 1 分钟；然后将凝胶浸于显色液中，每隔 2 分钟换洗 1 次，直至蛋白质条带显色完全；将凝胶浸于终止液中 10 分钟后，取出凝胶保存于水中。

E. 4. 5. 2. 2 银染 B 法

胶片浸在固定液中至少 2 小时后弃去固定液，用水浸洗至少 1 小时；胶片置 1%戊二醛溶液中 15 分钟后，用水洗 2 次，每次 15 分钟；胶片置硝酸银溶液中 15 分钟后，用水洗 3 次，每次 15 分钟；胶片置显色液中，待各条带显出后置终止液中。

E. 5 结果判断

用卡尺或用扫描定位法测量溴酚蓝指示剂和蛋白质迁移距离（如为圆盘电泳还应测量染色前后胶条长度，垂直板电泳胶片厚度低于 1mm，染色前后胶片长度基本不变）。按下式计算相对迁移率：

E. 5. 1 供试品主要成分迁移率应与对照品迁移率一致。

E. 5. 2 分子量以 R'_m 为横坐标，标准蛋白质的分子量对数值为纵坐标，进行线性回归，由标准曲线求得

$$\text{相对迁移率}(R'_m) = \frac{\text{蛋白质迁移距离}}{\text{脱色后胶条长度}} \times \frac{\text{脱色前胶条长度}}{\text{溴酚蓝指示剂迁移距离}}$$

供试品的分子量。

E. 5. 3 纯度

用灰度分析或峰面积归一法进行计算。

如使用商品化 SDS-聚丙烯酰胺预制电泳系统，生产厂家可能提供不同表面积和厚度的凝胶，为了达到最优的分离度，按厂家推荐的条件进行电泳，电泳时间和电流/电压需要按照厂家说明进行调整。

附录 F

(资料性)

抗体纯度测定 分子排阻色谱法 (SEC-HPLC)

F.1 原理

分子排阻色谱法是根据待测组分的分子大小进行分离的一种液相色谱技术。分子排阻色谱法的分离原理为凝胶色谱柱的分子筛机制。色谱柱多以亲水硅胶、凝胶或经过修饰的凝胶如葡聚糖凝胶 (Sephadex) 和琼脂糖凝胶 (Sepharose) 等为填充剂, 这些填充剂表面分布着不同孔径尺寸的孔, 分子浸入色谱柱后, 它们中的不同组分按其分子大小进入相应的孔内, 大于所有空孔径的分子不能进入填充物颗粒内部, 在色谱过程中不被保留, 最早被流动相洗脱至柱外, 表现为保留时间较短; 小于所有孔径的分子能自由进入填充剂表面的所有孔径, 在色谱柱中的的滞留时间交叉, 表现为保留时间较长; 其余分子则按分子大小以此被洗脱。

F.2 试剂准备

F.2.1 流动相准备

配制待测抗体样品检测所需的流动相 (如 150mM 磷酸钠缓冲液, pH7.0 的水溶液), 经 0.22 μm 滤膜过滤并超声脱气后, 放置室温备用。

F.2.2 待测样品准备

取待测样品, 使用流动相将待测样品稀释至合适浓度。将上述溶液置于离心管中离心, 离心后取上清, 加入至内插管。然后将其转移至液相进样瓶中, 并盖好瓶盖。

F.3 检测方法

F.3.1 液相色谱参考条件

F.3.1.1 色谱柱:

分子排阻色谱, 300mm \times 4.6mm, 填料粒径 5 μm , 孔径 300Å 或性能相当的色谱柱;

F.3.1.2 色谱柱温度:

30°C或其他合适温度;

F.3.1.3 流动相:

150mM 磷酸钠缓冲液, pH7.0 的水溶液或其他合适的缓冲液;

F.3.1.4 流速:

0.35mL/min 或其他合适的流速;

F.3.1.5 时间:

15 分钟或其他合适时间;

F.3.1.6 进样量:

10 μ L 或其他合适体积;

F.3.1.7 紫外分光检测波长:

280nm。

F.4 待测样品检测:

样品检测前需先平衡色谱柱，待色谱柱柱压与信号基线稳定后再进行待测样品测试。

F.5 结果分析

分析目标抗体峰（IgG 单体为主峰）及其他峰的峰面积，通过面积归一化法计算抗体的纯度。图谱各峰的界限为两峰间最低点到基线的垂直线。图 F.1 为 IgG 抗体的 SEC-HPLC

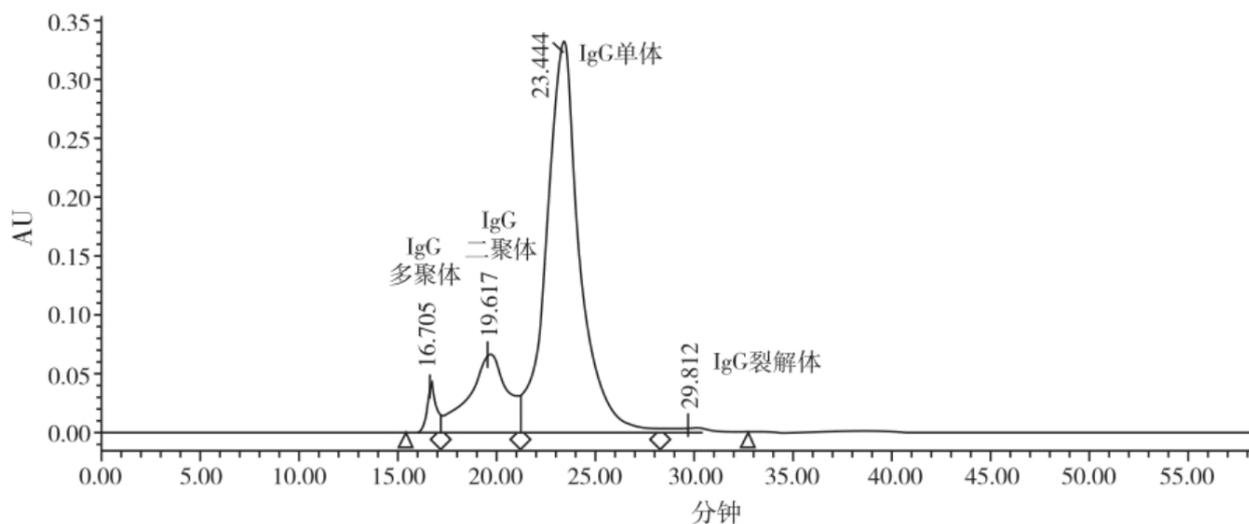


图 F.1 IgG 抗体的 SEC-HPLC 典型图谱

附录 G

(资料性)

抗体纯度测定 十二烷基硫酸钠毛细管电泳法 (CE-SDS)

G.1 原理

采用十二烷基硫酸钠毛细管电泳 (CE-SDS) 紫外检测方法, 在还原和非还原条件下, 依据分子量大小, 按毛细管电泳法, 定量测定抗体的纯度。

G.2 还原型十二烷基硫酸钠毛细管电泳 (还原型 CE-SDS)

G.2.1 待测样品配制

待测样品进行 CE-SDS 分析前需进行脱盐处理。脱盐缓冲液可参考检测仪器推荐的配方。待测样品缓冲液置换后, 回收脱盐后的蛋白溶液。

G.2.2 脱盐后蛋白样品均值浓度测定

测定脱盐后蛋白样品浓度。

G.2.3 还原型CE-SDS样品制备

取脱盐蛋白溶液, 加入含 SDS 样品分子量缓冲液, 然后加入 β -巯基乙醇混合均匀后, 70.0°C 加热 10 分钟或仪器建议的加热温度和时间, 待样品冷却至室温后进行分析。取样品至微量样品管, 再将微量样品管转移至通用瓶中并盖上盖子。

G.2.4 SDS分子量标准品的制备

取 SDS 分子量标准品, 加入含 SDS 样品分子量缓冲液, 然后加入 β -巯基乙醇混合均匀后, 70.0°C 加热 10 分钟或仪器建议的加热温度和时间, 待样品冷却至室温后进行分析。取样品至微量样品管, 再将微量样品管转移至通用瓶中并盖上盖子。

G.2.5 检测方法

采用毛细管电泳仪、PDA 检测器和 CE-SDS 毛细管, 进行纯度检测。

G.2.6 样品检测

样品检测前需先平衡毛细管, 待信号稳定后再进行蛋白样品测试。

G.2.7 结果计算

按面积归一化法计算, 以重链、非糖基化重链和轻链的修正面积分别占有修正峰面积之和的百分比分别计算重链、非糖基化重链和轻链的纯度, 三者之和即为产品纯度。(如图 G.1)。

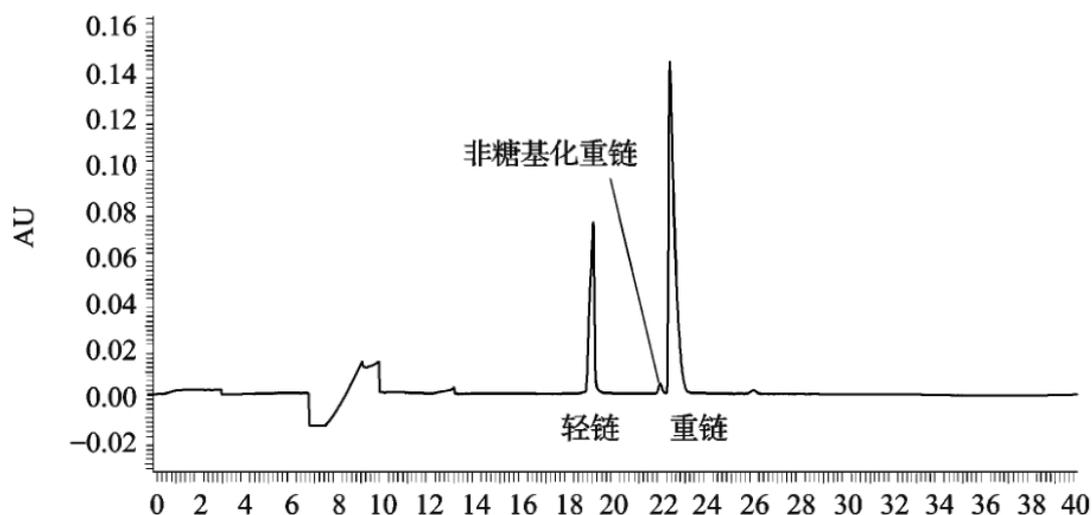


图 G.1 还原型 CE-SDS 典型图谱

G.3 非还原型十二烷基硫酸钠毛细管电泳（非还原型 CE-SDS）

G.3.1 待测样品配制

待测样品进行 CE-SDS 分析前需进行脱盐处理。脱盐缓冲液可参考检测仪器推荐的配方。待测样品缓冲液置换后，回收脱盐后的蛋白溶液。

G.3.2 脱盐后蛋白样品均值浓度测定

测定脱盐后蛋白样品浓度。

G.3.3 非还原型 CE-SDS 样品制备

取脱盐蛋白溶液，加入含 SDS 样品分子量缓冲液，然后加入碘乙酰胺溶液混合均匀后，70.0°C 加热 10 分钟或仪器建议的加热温度和时间，待样品冷却至室温后进行分析。取样品至微量样品管，再将微量样品管转移至通用瓶中并盖上盖子。

G.3.4 SDS 分子量标准品的制备

取 SDS 分子量标准品，加入含 SDS 样品分子量缓冲液，然后加入碘乙酰胺溶液混合均匀后，70.0°C 加热 10 分钟或仪器建议的加热温度和时间，待样品冷却至室温后进行分析。取样品至微量样品管，再将微量样品管转移至通用瓶中并盖上盖子。

G.3.5 检测方法

采用毛细管电泳仪、PDA 检测器和 CE-SDS 毛细管，进行纯度检测。

G.3.6 样品检测

样品检测前需先平衡毛细管，待信号稳定后再进行蛋白样品测试。

G.3.7 结果计算

按面积归一化法计算，以 IgG 主峰的修正面积占所有修正峰面积之和的百分比计算主峰的纯度。

(如图 3)。

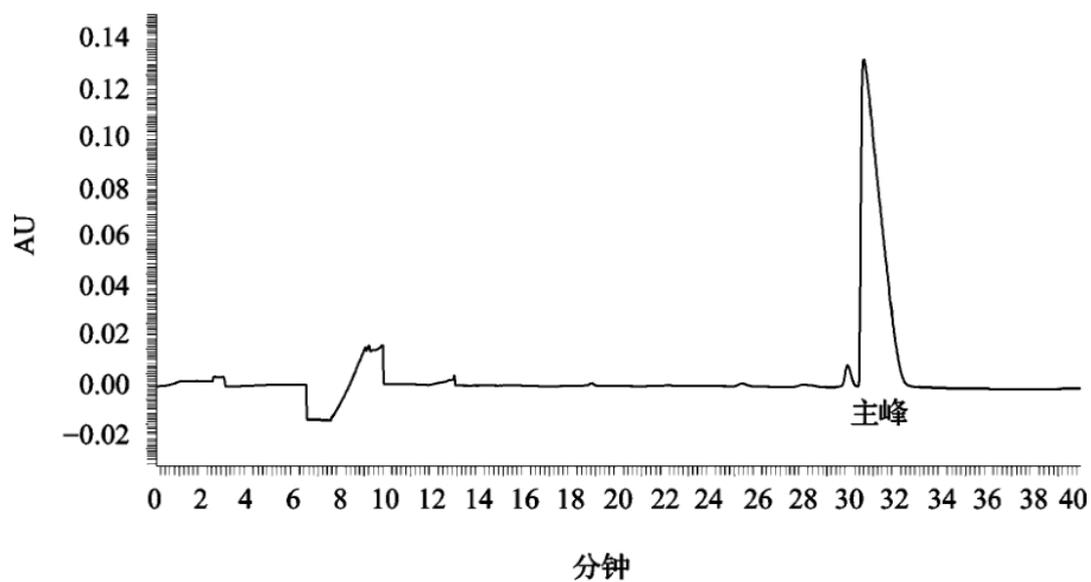


图 G.2 非还原型 CE-SDS 典型图谱

参 考 文 献

- [1] 体外诊断试剂主要原材料研究注册审查指导原则（2024年第1号），国家药品监督管理局
- [2] 何建文，殷珂，周明，等. 免疫检测词典[M]. 北京：人民卫生出版社，2017
- [3] D.J. 格拉斯. 生命科学实验指南系列：生命科学实验设计指南[M]. 丛羽生，译. 北京：科学出版社，2008
- [4] 大卫.韦德. 免疫检测原理与应用[M]. 李金明，何建文，译. 北京：人民卫生出版社，2021