

革新的な糖鎖マッピングカラム 高速かつ精密な結果が得られる アジレントの糖鎖分析ソリューション

AdvanceBio ワークフロー: Glycan マッピングカラム、サンプル前処理製品、標準試料

次の有望な生物製剤や信頼性の高いバイオシミラーの開発競争においては分析の精度や効率に妥協することはできません。分析時間を短縮すること、迅速に手順変更を行うことができること、分析のばらつきを最小限に抑えることなど、対応を求められる課題は多岐にわたります。

アジレントの AdvanceBio Glycan マッピングカラム、サンプル前処理製品、標準物質は、かつてない分離能で糖鎖マッピングを可能にし、作業時間の短縮を実現する画期的なカラムです。AdvanceBio Glycan マッピング製品は、2-AB ラベル化糖鎖の分析において、高い再現性を持ち、最適化されたワークフローを提供し、正確な同定および定量を実現します。



Agilent AdvanceBio Glycan マッピングソリューションは、Agilent AdvanceBio シリーズの一部です。AdvanceBio シリーズ製品は、タンパク質、抗体、複合物、新規生体物質、およびバイオ医薬品の完璧な特性分析のために、一貫性のある卓越した性能を提供できるように設計されています。

AdvanceBio 製品の基礎となる技術が精度と生産性を向上させ、分析のスピードアップとラボの効率化をサポートします。

最先端のカラム技術が糖鎖分析における問題解決をサポート

！ 問題点	✓ AdvanceBio Glycan マッピングワークフローで解決できること
複数の標準物質、カラムの準備	1つの部品番号で、糖タンパク質からの 2-AB ラベル化糖鎖の前処理に必要なすべてのものをご提供。さらに高速高分離分析を実現 HILIC メカニズムを使用したユニークな結合相が糖鎖分離をサポート
機器の制限	AdvanceBio Glycan マッピングカラムが、400 bar~1200 bar の範囲での分析と分離能を実現: • 1.8 μm の粒子: 1200 bar までの UHPLC 用 • 2.7 μm の表面多孔質粒子: 600 bar まで安定 低い背圧で高い分離能 すべての HPLC 機器に最適
再現性の高い糖鎖分析の実現が困難	サンプル前処理のコントロールとしての使用およびカラムとシステムの性能評価のための標準 Agilent IgG 糖鎖標準試料を用いたバッチ試験により再現性を確保



Agilent Technologies

複雑なバイオ医薬品の分離のための精度と効率の向上

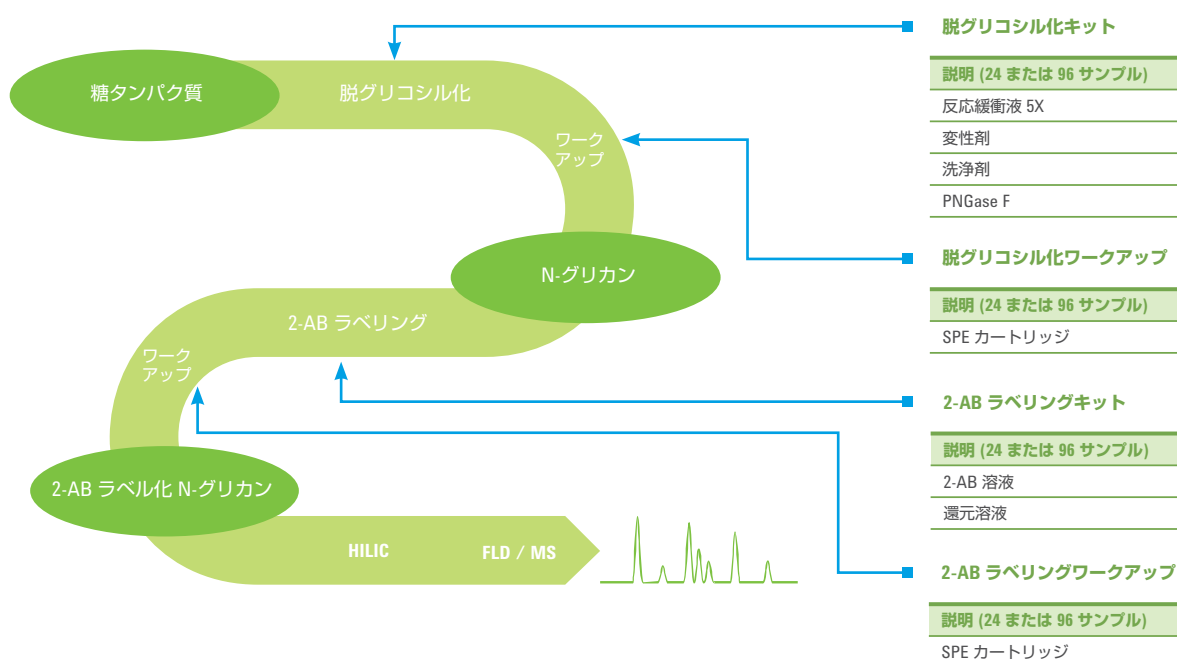
クロマトグラフィー分析の前に、反応混合物から N-結合型糖鎖を切断して単離し、LC 分析のための最終のクリーンアップおよびフォーマットの前に 2-AB ラベルで誘導体化する必要があります。

AdvanceBio Glycan のサンプル前処理キットは、サンプルの準備に必要なすべての試薬および最適化のためのヒントやコツが記載された文書を提供します。

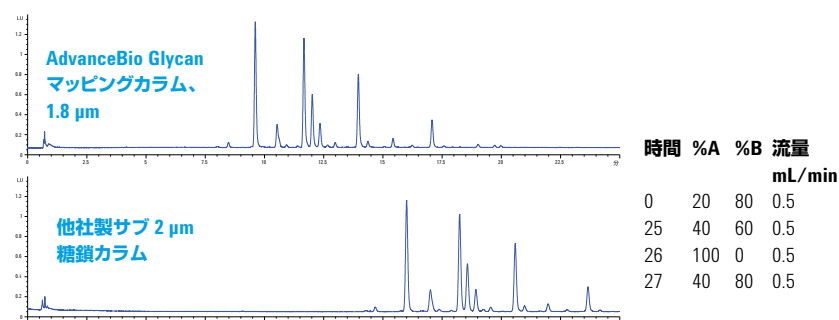
- 1 つの部品番号で、切断のための酵素、2-AB ラベルを含めたサンプル前処理キットを注文可能。

- 複雑なサンプルの準備のためのヒントやコツが記載された詳細で包括的なユーザガイド。
- ワークフローの 4 ステップそれぞれに対応したキットには個別の部品番号があり、柔軟な注文が可能。
- 24 および 96 サンプル用のキットにより、必要な分だけ購入が可能。

AdvanceBio Glycan マッピングカラムは質量分析計や蛍光検出器に使用される移動相に適合しています。



優れた結果を他社製品の約 40 % 短い時間で分析



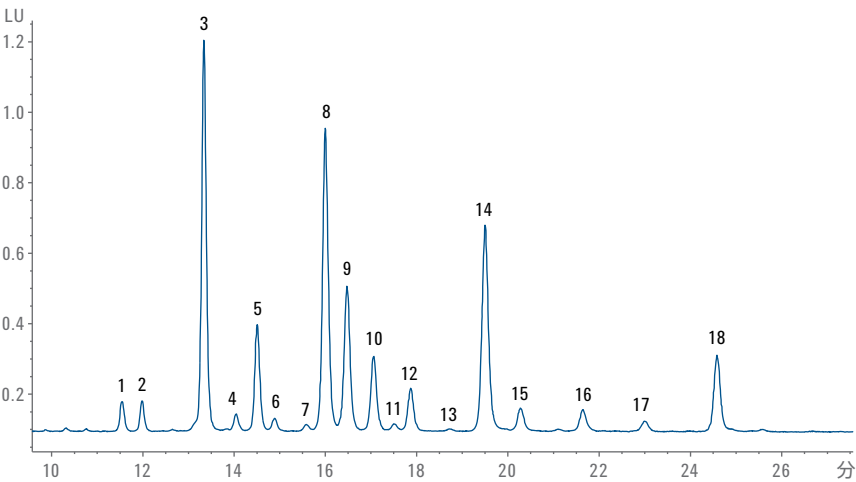
Agilent AdvanceBio Glycan マッピングカラムでは、2.1 x 150 mm の他社製サブ 2 μm のカラムよりも優れた分離能、幅の狭いバンド、高いピークキャパシティが得られます。

超高速糖鎖分析:

1.8 μm 粒子により 10 分未満で分析可能に

パラメータ	条件
カラム:	AdvanceBio Glycan マッピングカラム 2.1 x 150 mm, 1.8 μm (P/N 859700-913)
使用機器:	1260 Infinity 蛍光検出器 (FLD) 付き Agilent 1290 Infinity LC
カラム温度:	55 °C
サンプル温度:	10 °C
移動相 A:	100 mM NH ₄ 酢酸、pH = 4.5
移動相 B:	ACN
FLD:	励起 = 260 発光 = 430
注入量:	70:30 ACN:100 mM NH ₄ 酢酸中で 2 μL
サンプル:	Agilent 2-AB ラベル化 N-結合ヒト IgG Glycan ライブラリ (P/N 5190-6996)

優れた多用途性:400 bar 未満の低いカラム圧力で、高速かつ高分解能分析を実現



2.7 μm AdvanceBio Glycan マッピングカラムにより、低い背圧で高速な分析結果が得られました。2.7 μm AdvanceBio Glycan マッピング充填剤はアジレントの表面多孔質粒子を使用して低いカラム背圧で高い性能を実現しています。カラム長が 100 mm および 150 mm の場合、一般的なカラム圧は 2-AB ラベル化糖鎖の推奨分析メソッドでは 400 bar 未満となります。

クロマトグラフィー条件

パラメータ	値
グラジエント	分 %A %B 流量 (mL/min)
	0 85 15 0.5
	5 75 25 0.5
	35 64 36 0.5
	40 50 50 0.5
	42 50 50 0.5
	42.01 50 50 0.25
	43 0 100 0.25
	48 0 100 0.25
	50 85 15 0.25
	50.01 85 15 0.5
	51 85 15 0.5
注入量	2 μL
サーモスタット	6 °C
カラム温度	60 °C
FLD	Ex.260 nm、Em.430 nm
移動相 A	ACN
移動相 B	100 mM NH ₄ 塩酸、pH = 4.5

ピーク	Oxford	生物製剤 mAb スタイル	構造
1	FA1	G0-GlcNAc	
2	A2	G0	
3	FA2	G0F	
4	M5	Man5	
5	FA2B	G0FB	
6	A2G1	G1	
7	A2BG1	G1B	
8, 9	FA2G1	G1F	
10, 11	FA2BG1	G1FB	
12	A2G2	G2	
13	A2BG2	G2B	
14	FA2G2	G2F	
15	FA2BG2	G2FB	
16	FA2G1S1	G1FS1	
17	A2G2S1	A1	
18	FA2G2S1	A1F	

- ▲ フコース
- N-アセチルグルコサミン
- ガラクトース
- ◆ N-アセチルノイロミン酸
- マンノース

性能試験とリテンションマッピング用の糖鎖標準試料により、分析結果の一貫性を確保

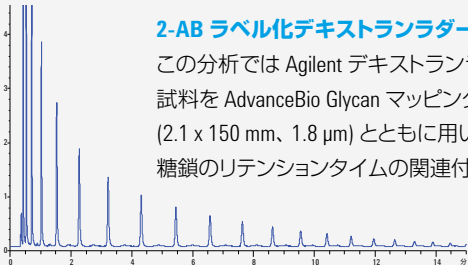


開発の初期段階で情報を逃したことが、後で大きな妨げとなることがあります。さらに、生産プロセスに一貫性がないと、グリコシル化に変化が生じ、免疫原性や効能に悪影響が出る可能性があります。アジレントの標準試料は、重要なデータが取り込まれ、すべてのワークフロー成分が最適に機能していることを確かめるのに役立ちます。2 種類から選択可能です。

- **デキストランラダー標準試料** – データ解析とレポート作成が容易になります。
- **IgG N-結合 Glycan 標準試料** – ワークフロー効率を確認できます。

2-AB ラベル化デキストランラダーの分離

この分析では Agilent デキストランラダー標準試料を AdvanceBio Glycan マッピングカラム (2.1 x 150 mm、1.8 μm) とともに用いて、未知の糖鎖のリテンションタイムの関連付けを行います。



移動相 A:	100 mM NH ₄ Fc、pH = 4.5	時間	%A	%B	流量
移動相 B:	ACN				mL/min
FLD:	Ex = 260 nm、Em = 430 nm	0	25	75	1.0
サンプル:	Agilent 2-AB	12	40	60	1.0
	(P/N 5190-6998) ラベル化	12.15	60	40	0.5
	デキストランラダー	12.5	60	40	0.5
		12.9	25	75	0.5
注入量:	2 μL (総量 10 pmol の	13.05	25	75	1.0
	糖鎖 / 1 μL 75/25ACN/ 水)	15	25	75	1.0

タンパク質分析用の高性能 LC 機器と消耗品



堅牢で優れた操作性:

100% 生体不活性の Agilent 1260 Infinity バイオイナートクォータナリ LC は、低い表面活性、耐食性、アクティブシール洗浄、四液混合などにより、優れた分析結果を提供します。



効率の新たなベンチマーク:

Agilent 1290 Infinity II LC システムは次世代 UHPLC です。最高 1300 bar の圧力と最高 5 mL/min の流量により、分析機器およびラボの効率を最大レベルまで向上させます。

高効率で信頼性の高い分析結果:

Agilent バイオイナート LC 消耗品により、よりシャープなピークと高い再現性が実現し、クロマトグラフィーの信頼性が向上します。



製品情報

AdvanceBio Glycan マッピングカラム

1.8 µm、1200 bar まで安定

説明	部品番号
2.1 x 100 mm	858700-913
2.1 x 150 mm	859700-913
Fast Guard, 2.1 mm, 1.8 µm	821725-905

2.7 µm の表面多孔質、600 bar まで安定

説明	部品番号
2.1 x 100 mm	685775-913
2.1 x 150 mm	683775-913
2.1 x 250 mm	651750-913
Fast Guard, 2.1 mm, 2.7 µm	821725-906
4.6 x 100 mm	685975-913
4.6 x 150 mm	683975-913
4.6 x 250 mm	680975-913

糖鎖標準試料

説明	部品番号
デキストランラダー標準試料, 10 µg, 0.5 mL	5190-6997
2-AB ラベル化デキストランラダー標準試料, 200 pmol	5190-6998
IgG N-結合型 Glycan ライブラリ, 20 µg, 0.5 mL	5190-6995
2-AB ラベル化 IgG N-結合型 Glycan ライブラリ, 200 pmol	5190-6996

AdvanceBio Glycan サンプル前処理キット*

説明	部品番号
AdvanceBio N-glycan サンプル前処理キット (24 サンプル)	5190-8000
AdvanceBio N-glycan 脱グリコシル化キット (24 サンプル)	5190-8001
AdvanceBio N-glycan 脱グリコシル化クリーンアップカートリッジ (24 サンプル)	5190-8002
AdvanceBio 2-AB Glycan ラベリングキット (24 サンプル)	5190-8003
AdvanceBio 2-AB Glycan ラベリングクリーンアップカートリッジ (24 サンプル)	5190-8004
AdvanceBio N-glycan サンプル前処理キット (96 サンプル)	5190-8005
AdvanceBio N-glycan 脱グリコシル化キット (96 サンプル)	5190-8006
AdvanceBio N-glycan 脱グリコシル化クリーンアップカートリッジ (96 サンプル)	5190-8007
AdvanceBio 2-AB Glycan ラベリングキット (96 サンプル)	5190-8008
AdvanceBio 2-AB Glycan ラベリングクリーンアップカートリッジ (96 サンプル)	5190-8009
脱グリコシル化およびラベリング用 96 ウェルプレート	5190-8010

* キットの価格についてはお問い合わせください。

詳細については agilent.com/chem/jp をご覧ください。

本資料記載の情報は、予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
©Agilent Technologies, Inc. 2016, 2018
Printed in Japan, April 1, 2018
5991-4730JAJP



Agilent Technologies