

单克隆抗体 N-糖分析的自动化工作流程

作者

Shuai Wu,
Zach Van Den Heuvel,
Steve Murphy, Aled Jones
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报介绍了使用 Agilent AssayMAP Bravo 和 Agilent GlykoPrep InstantPC 试剂盒进行 N-糖释放、标记和纯化的自动化工作流程。在单次实验中共分析了 24 个抗体样品，使用 Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF 进行 N-糖鉴定。

前言

单克隆抗体 (mAbs) 是一类重要的分子, 近年来被用于癌症免疫治疗并取得了极大的发展。糖基化对于维持抗体的稳定性和效力具有重要作用^[1]。因此, 在抗体的整个开发和生产过程中需要仔细监测糖型。高通量多聚糖样品前处理在克隆选择和细胞培养基优化过程中极为重要。安捷伦开发了使用 AssayMAP Bravo 和 GlykoPrep InstantPC 试剂盒的自动化工作流程, 用于 N-糖的释放、标记和纯化。

在该工作流程中, 自动化实验方案整合了 GlykoPrep InstantPC 试剂盒和 AssayMAP Bravo (图 1)。将 IgG 样品固定在 RX 小柱上并使其变性, 然后使用 PNGase F 进行柱上 N-糖释放。将释放的 N-糖洗脱到 InstantPC 染料中进行即时标记。最后的样本前处理步骤包括使用 CU 小柱进行 N-糖纯化。此方法利用基于小柱的平台, 全面整合了 InstantPC 染料和自动化液体处理器, 简化了 N-糖样品前处理。约 3 个小时即可完成整个流程, 实现了高通量样品前处理。InstantPC 标记的 N-糖无论在荧光检测 (FLD) 还是质谱 (MS) 检测中都能产生更强的信号。

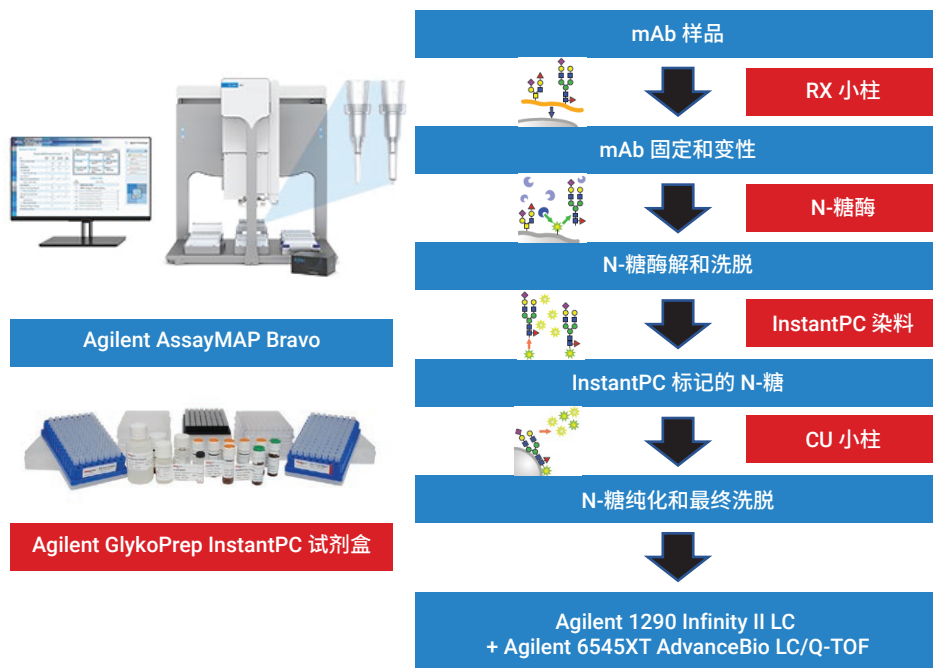


图 1. 使用 Agilent AssayMAP Bravo 和 Agilent GlykoPrep InstantPC 试剂盒的自动化 N-糖样品前处理

实验部分

材料

使用 InstantPC 的 GlykoPrep-plus N-糖前处理试剂盒, 96-ct 购自安捷伦 (原 ProZyme) (部件号 GPPPNG-PC), 包含以下模块: GlykoPrep-plus 消化模块, 96-ct (部件号 GSP-RX); InstantPC 标记模块 (部件号 GSP-PC); GlykoPrep 纯化模块, 96-ct (部件号 GSP-CU); GlykoPrep-plus 实验室耗材套装 (部件号 AM96-NG)。

安捷伦 CHO mAb 在安捷伦制备。

- 赫赛汀购自基因泰克 (NDC 50242-134-68)
- 人 IgG 在 ProZyme 制备
- NISTmAb 购自 NIST (RM 8671)
- 其余全部化学品均购自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)

自动化 N-糖样品前处理

安捷伦蛋白质样品前处理工作台软件包含预加载的工作流程, 用于通过 AssayMAP Bravo 平台实现对 GlykoPrep InstantPC 试剂盒的自动化操作。“RX 消化 - InstantPC 标记”工作流程位于“N-糖样品前处理”分类下的工作流程库中。该工作流程包含 5 个实验方案, 用于半自动化 N-糖样品前处理^[2]。简言之, 实验方案 1 用于设置试剂板, 实验方案 2 和实验方案 4 用于定义微量色谱小柱布局, 实验方案 3 和实验方案 5 用于自动化样品处理。

第一步使用“孔板和试剂设置实验方案”来准备 InstantPC 试剂盒中的试剂板。针对此步骤设计了专门的“试剂体积计算器”。根据待处理的样品列数和数量，计算器会给出每种试剂需要配制的准确体积，以及在试剂母板上分配这些试剂的具体位置说明。在实验中，共有 3 整列，总计 24 个样品，每种 mAb 各 50 μg 。在根据计算器将特定体积的试剂从试剂盒转移到试剂母板后，可根据图 2 在台板上放置不同的实验室耗材（实验方案 1，台板布局）。在台板位置 7，对 4 个 U 型底板贴上标签，并按消化缓冲液（最上方）、封闭试剂、变性试剂至 InstantPC 溶液（底部）的顺序叠放。在实验方案开始后，AssayMAP Bravo 按所需体积对不同的试剂进行分装。这是准备试剂板的关键步骤，以备后续的反应和多聚糖标记。计算器还会计算实验方案 3 中 RX 小柱的灌注溶液体积，以及实验方案 5 中所用的所有其他缓冲液的体积。

本应用的第二步仅为 RX 小柱转移方案，此时用户可设置台板，用于随后的反应并将小柱转移到台板位置 2，无需离开应用程序页面。在实验中，从第 1 列开始，转移了 3 整列小柱。

将 6 种不同的抗体样品，包括对照人 IgG、安捷伦 CHO mAb、赫赛汀、NISTmAb、利妥昔单抗和 SiLuMAb 归一化至 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 并加入起始样品板中，如图 3 所示。在实验方案 3 中进行 N-糖释放和

程序页面。在实验中，从第 1 列开始，转移了 3 整列小柱。

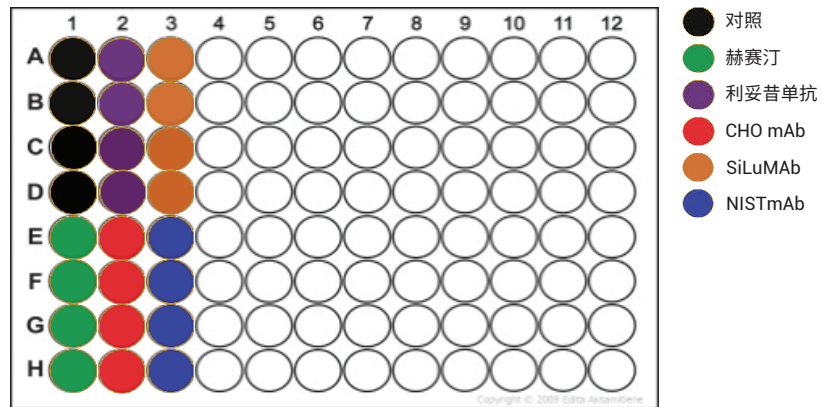


图 3. 96 孔板上的抗体样品位置

1 Plate & Reagent Setup Protocol

Deck Layout

1. Wash Station	2. Empty	3. Empty Seating Station
4. Processing Plate	5. Reagent Source Plate	6. Pipette Tips
7. 96-well U-bottom stack	8. Empty	9. Empty

Labware Table

1	96AM Tip Wash Station
2	None
3	96AM Cartridge Seating Station
4	96 PCR Block + 96 Eppendorf 30129300, PCR, Full Skirt, PolyPro
5	96 AbGene 1127, 1mL Deep Well, Square Well, Round Bottom
6	96 V11 LT250 Tip Box (19477.002)
7	Stack of 4: 96 Greiner 650201, U-Bottom Standard, PolyPro
8	None
9	None

Application Settings

Parameter	Value
Number of Columns to Manage	<input type="text" value="3"/>
Starting Column of Destination Plate	<input type="text" value="1"/>

Status 1

▶ Run Protocol 1 ⏸

图 2. Agilent InstantPC 软件中的试剂设置方案

标记。使用变性试剂对 50 μL mAb 样品（每种 mAb 4 个重复）进行变性。将 mAbs 平行固定到 24 个 RX 小柱上。然后进行封闭步骤，封闭 RX 小柱上剩余的活性结合位点。在 45 $^{\circ}\text{C}$ 下，吸取

PNGase F 加入小柱中，使 N-糖从固定的蛋白质上释放出来，将 mAbs 孵育 30 分钟。在反应终点，使用 InstantPC 溶液将游离 N-糖洗脱到板中，并即时标记 N-糖（图 4，台板位置 7）。

在实验方案 4 中转移纯化 (CU) 小柱。如图 5 所示设置台板布局后，使用实验方案 5 纯化 InstantPC 标记的 N-糖样品，去除过量的游离 InstantPC。使用 50 μL 的最终洗脱体积洗脱最终的 InstantPC 标记的多聚糖样品。

3 Immobilization, Digestion & InstantPC Labeling Protocol

Deck Layout

1. Wash Station	2. RX Cartridges	3. RX Priming Solution
4. Processing Plate	5. Denaturation Reagent	6. Samples
7. InstantPC Solution	8. Digestion Buffer	9. Blocking Reagent

Labware Table

- 96AM Tip Wash Station
- 96AM Cartridge Seating Station
- 12 Column, Low Profile Reservoir, Natural PP
- 96 PCR Block + 96 Eppendorf 30129300, PCR, Full Skirt, PolyPro
- 96 Greiner 650201, U-Bottom Standard, PolyPro
- 96 Eppendorf 30129300, PCR, Full Skirt, PolyPro
- 96 Greiner 650201, U-Bottom Standard, PolyPro
- 96 Greiner 650201, U-Bottom Standard, PolyPro
- 96 Greiner 650201, U-Bottom Standard, PolyPro

Application Settings

Parameter	Value	Units
Denaturant Volume	55	μL
Starting Sample Volume	55	μL
Denatured Sample Load Volume		μL
Sample Loading Flow Rate	5	$\mu\text{L}/\text{min}$
Temperature Set Point for Digestion	45	$^{\circ}\text{C}$
Duration of Digestion Step	30	minutes

Status 3

Run Protocol 3

图 4. Agilent InstantPC 软件中的 N-糖释放和标记实验方案

5 Cleanup Protocol

Deck Layout

1. Wash Station	2. CU Cartridges	3. Organic Waste
4. CU Eluate Collection	5. 1% Formic Acid in ACN	6. 1% Formic Acid in ACN
7. 1% Formic Acid in ACN	8. 10% ACN in Water	9. InstantPC Labeled Glycans

Labware Table

- 96AM Tip Wash Station
- 96AM Cartridge Seating Station
- 96 AbGene 1127, 1mL Deep Well, Square Well, Round Bottom
- 96 PCR Block + 96 Eppendorf 30129300, PCR, Full Skirt, PolyPro
- 12 Column, Low Profile Reservoir, Natural PP
- 12 Column, Low Profile Reservoir, Natural PP
- 12 Column, Low Profile Reservoir, Natural PP
- 12 Column, Low Profile Reservoir, Natural PP
- 12 Column, Low Profile Reservoir, Natural PP
- 96 Greiner 650201, U-Bottom Standard, PolyPro

Application Settings

Parameter	Value	Units
Final Eluate Volume	50	μL

Status 5

Run Protocol 5

图 5. Agilent InstantPC 软件中的 N-糖纯化实验方案

使用 LC/MS 进行 N-糖分析

将纯化的 N-糖样品进样至 LC/Q-TOF 系统, 无需进一步纯化。由于最终 N-糖样品的体积与初始的 mAb 样品相同, 1 μ L 最终样品即代表了从 1 μ g mAb 获得的 N-糖含量。Agilent 1290 Infinity II LC 配备 Agilent 1260 Infinity FLD 并与配备双安捷伦喷射流 (AJS) 离子源的 Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF MS 联用。使用亲水相互作用液相色谱 (HILIC) 分离 N-糖样品, 使用的色谱柱为 Agilent AdvanceBio 糖谱分析色谱柱, 2.1 \times 150 mm, 1.8 μ m (部件号 859700-913), 柱温 40 $^{\circ}$ C (图 6)。由于分离条件此前经过精心优化, 在本研究中使用了相同的梯度, 梯度时间为 28 分钟, 总运行时间为 35 分钟^[3]。LC 条件如表 1 所示。FLD 设置为 $\lambda_{\text{激发}} = 285$ nm, $\lambda_{\text{发射}} = 345$ nm, PMT 增益 = 10。

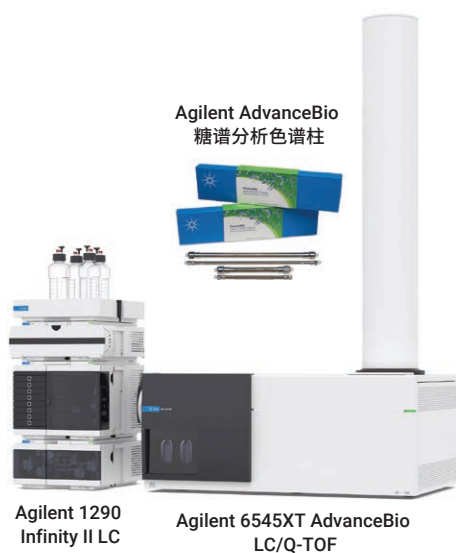


图 6. 使用 Agilent 1290 Infinity II LC 和 Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF 以及 Agilent AdvanceBio 糖谱分析色谱柱进行 N-糖分析

凭借双 AJS 离子源, 采用高分辨率 (4 GHz) 模式在 m/z 300–1700 质量范围内对 N-糖样品进行了分析, 扫描速率为 2 质谱图/秒, 详细的 Q-TOF 设置如表 2 所示。

表 1. UHPLC HILIC/FLD 条件

Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统			
色谱柱	Agilent AdvanceBio 糖谱分析色谱柱, 2.1 \times 150 mm, 1.8 μ m (部件号 859700-913)		
溶剂 A	50 mmol/L 甲酸, 用氢氧化铵将 pH 调至 4.5		
溶剂 B	乙腈		
梯度	时间 (min)	B (%)	流速 (mL/min)
	0.0	78.0	0.6
	0.5	74.0	0.6
	13.0	72.5	0.6
	28.0	61.0	0.6
	28.5	50.0	0.5
	28.6	50.0	0.4
	28.8	78.0	0.4
	31.0	78.0	0.5
	31.5	78.0	0.55
	33.5	78.0	0.6
	停止时间 = 35.0 min		
柱温	40 $^{\circ}$ C		
进样量	1 μ L		
FLD	$\lambda_{\text{激发}} = 285$ nm $\lambda_{\text{发射}} = 345$ nm		

表 2. LC/Q-TOF 参数

Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF	
离子源	双安捷伦喷射流
气体温度	150 $^{\circ}$ C
干燥气流速	9 L/min
雾化器	35 psi
鞘气温度	300 $^{\circ}$ C
鞘气流速	10 L/min
毛细管电压	3000 V
喷嘴电压	500 V
碎裂电压	120 V
锥孔电压	65 V
质量数范围	m/z 300–1700
扫描速率	2 质谱图/秒
采集模式	高分辨率 (4GHz)

结果与讨论

定量分析 InstantPC 标记的 N-糖

对照人 IgG 中包含 17 种经充分鉴定的 N-糖，通过与这些多聚糖比较保留时间和精确质量，可以鉴定 N-糖。在图 7A 和图 8A 中，标注了全部 17 种多聚糖。图 7B 至 7F 中具有相同保留时间的相同多聚糖未重复标记。此外，通过精确质量和单糖组成鉴定出了其他 5 种常见的 N-糖（在图 7B、7C、7D、8B、8C 和 8D 中进行了标记）。FLD 结果表明，这些多聚糖具有相同的保留时间和相似的相对峰丰度（图 8）。

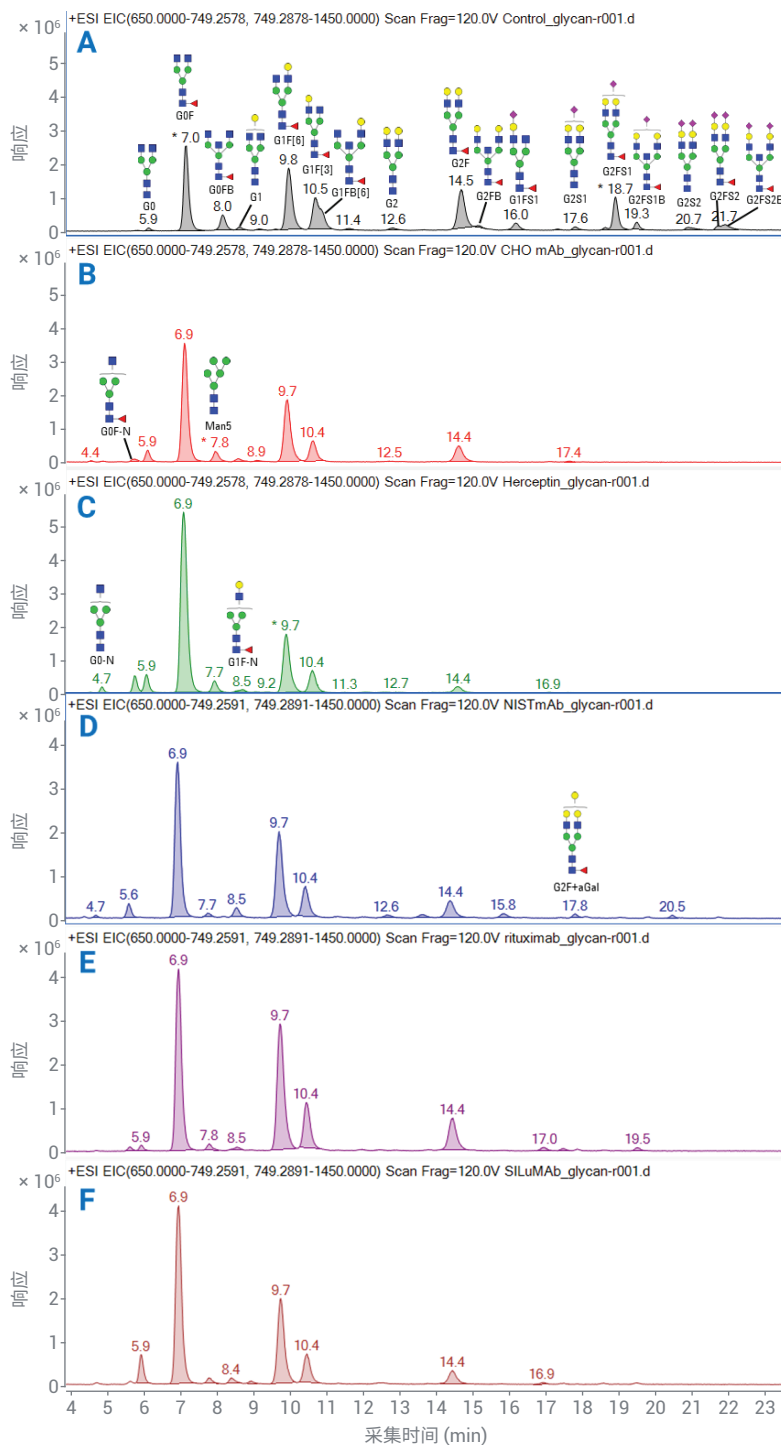


图 7. 来自全部样品的 InstantPC 标记的 N-糖的 LC/Q-TOF 分析。(A) 对照人 IgG; (B) CHO mAb; (C) 赫赛汀; (D) NISTmAb; (E) 利妥昔单抗; (F) SILuMAb

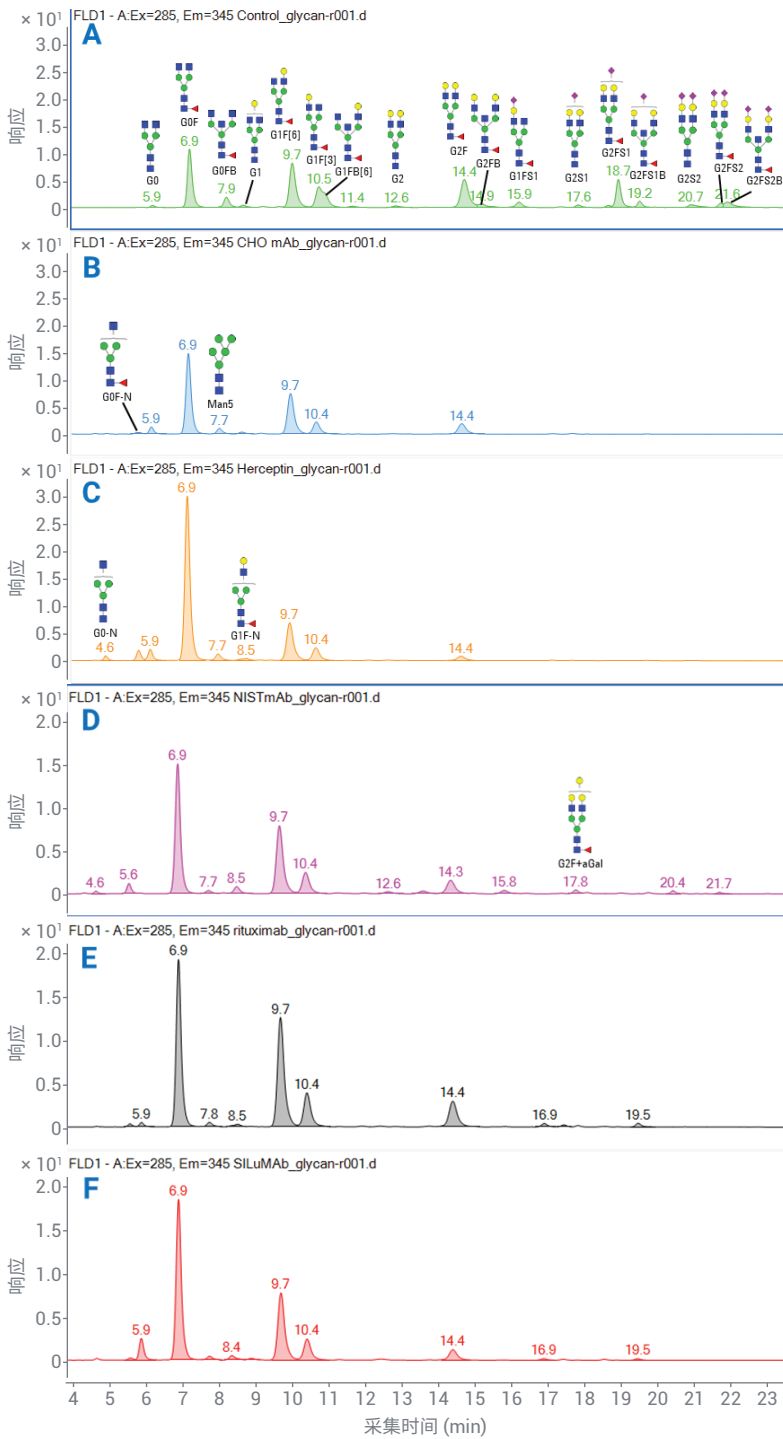


图 8. 来自全部样品的 InstantPC 标记的 N-糖的 LC/FLD 分析。(A) 对照人 IgG; (B) CHO mAb; (C) 赫赛汀; (D) NISTmAb; (E) 利妥昔单抗; (F) SILuMAB

表 3 列出了本研究中发现的 22 种 N-糖的详细信息，包括保留时间、理论质量、单糖组成、结构和通用名。

利用 MS 定量分析 InstantPC 标记的 N-糖

此外，还使用 Agilent MassHunter BioConfirm 10.0 软件，通过游离多聚糖工作流程分析了 InstantPC 标记的 N-糖样品。软件允许用户设置匹配标准，包括质量偏差、保留时间窗口、多聚糖离子形态和标签 (2-AB 和 InstantPC)，并利用其自带的评分系统验证结果。结果表明，大部分 N-糖表现为双电荷离子 $[M+2H]^{2+}$ ，此外还有其他形态，包括 $[M+NH_4+H]^{2+}$ 、 $[M+H+Na]^{2+}$ 和 $[M+H+K]^{2+}$ 。InstantPC 将 261.1477 Da 的单一同位素质量数添加至还原末端。本研究使用了内部多聚糖数据库，以便以高质量准确度 (< 2 ppm) 快速鉴定所有 mAbs 中的 N-糖。利用内部多聚糖数据库，BioConfirm 根据保留时间和精确质量从 24 个样品中快速鉴定并整合了 10 种标记的 N-糖。这 10 种多聚糖是所有 mAbs 中鉴定出的丰度最高的 10 种 N-糖。

图 9A 是根据 MS 检测结果获得的，展示了各种 mAb 中 10 种 N-糖的相对比例。10 种多聚糖根据其在 LC 色谱图中的保留时间顺序列出。相对丰度分析主要是比较同一 mAb 中不同 N-糖的比例。例如，利妥昔单抗 G0F 的比例为 40.85%，低于 CHO mAb (44.58%) 和 NISTmAb (44.67%) 中的相对比例。岩藻糖基化多聚糖 (G0F、G1F 和 G2F) 是丰度最高的多聚糖，在 10 种多聚糖中占比超过 90%。各种 N-糖的相对百分比平均值及 CV%

表 3. 从全部样品中鉴定出的 22 种 N-糖

峰编号	保留时间 (min)	理论 $[M+2H]^{2+}$	组成	结构	通用名
1	4.7	688.2856	Hex3HexNAc3		G0-GlcNAc
2	5.6	761.3130	Hex3HexNAc3dHex1		G0F-GlcNAc
3	5.9	789.8244	Hex3HexNAc4		G0
4	7.0	862.8534	Hex3HexNAc4dHex1		G0F
5	7.8	748.7987	Hex5HexNAc2		Man5
6	8.0	964.3931	Hex3HexNAc5dHex1		G0FB
7	8.4	870.8508	Hex4HexNAc4		G1
8	8.5	842.3410	Hex4HexNAc3dHex1		G1F-GlcNAc
9	9.8	943.8798	Hex4HexNAc4dHex1		G1F[6]
10	10.5	943.8798	Hex4HexNAc4dHex1		G1F[3]
11	10.7	1045.4195	Hex4HexNAc5dHex1		G1FB[6]
12	12.6	951.8772	Hex5HexNAc4		G2
13	14.5	1024.9062	Hex5HexNAc4dHex1		G2F
14	14.9	1126.4459	Hex5HexNAc5dHex1		G2FB
15	16.0	1089.4275	Hex4HexNAc4dHex1NeuAc1		G1FS1[3]
16	17.6	1097.4249	Hex5HexNAc4NeuAc1		G2S1
17	17.8	1105.9325	Hex6HexNAc4dHex1		G2F+aGal
18	18.7	1170.4539	Hex5HexNAc4dHex1NeuAc1		G2FS1
19	19.3	1271.9936	Hex5HexNAc5dHex1NeuAc1		G2FS1B
20	20.7	1242.9726	Hex5HexNAc4NeuAc2		G2S2
21	21.5	1316.0016	Hex5HexNAc4dHex1NeuAc2		G2FS2
22	21.7	1417.5413	Hex5HexNAc5dHex1NeuAc2		G2FS2B

($n = 4$) 列于表 4 中。在多个步骤后 (包括 N-糖释放、InstantPC 标记和纯化)，几乎所有 CV% 都小于 10%，表明该自动化工作流程具有高重现性。

利用 FLD 定量分析 InstantPC 标记的 N-糖

由于使用了 FLD 作为分析方法，因此还根据 FLD 检测结果对定量结果进行了评估。图 9B 汇总了 24 个样品的 FLD 结果。如图 9A 所示，对丰度最高的 10 种

N-糖计算了相对丰度并进行了标注。岩藻糖基化多聚糖 (G0F、G1F 和 G2F) 占 10 种多聚糖丰度的 90% 以上。FLD 检测得到的各 N-糖的相对峰面积百分比平均值及 CV% ($n = 4$) 如表 5 所示。

比较 MS 和 FLD 的定量结果，各种多聚糖显示出非常相似的相对丰度，所有多聚糖的差异均小于 5%，大部分多聚糖的差异小于 2%。

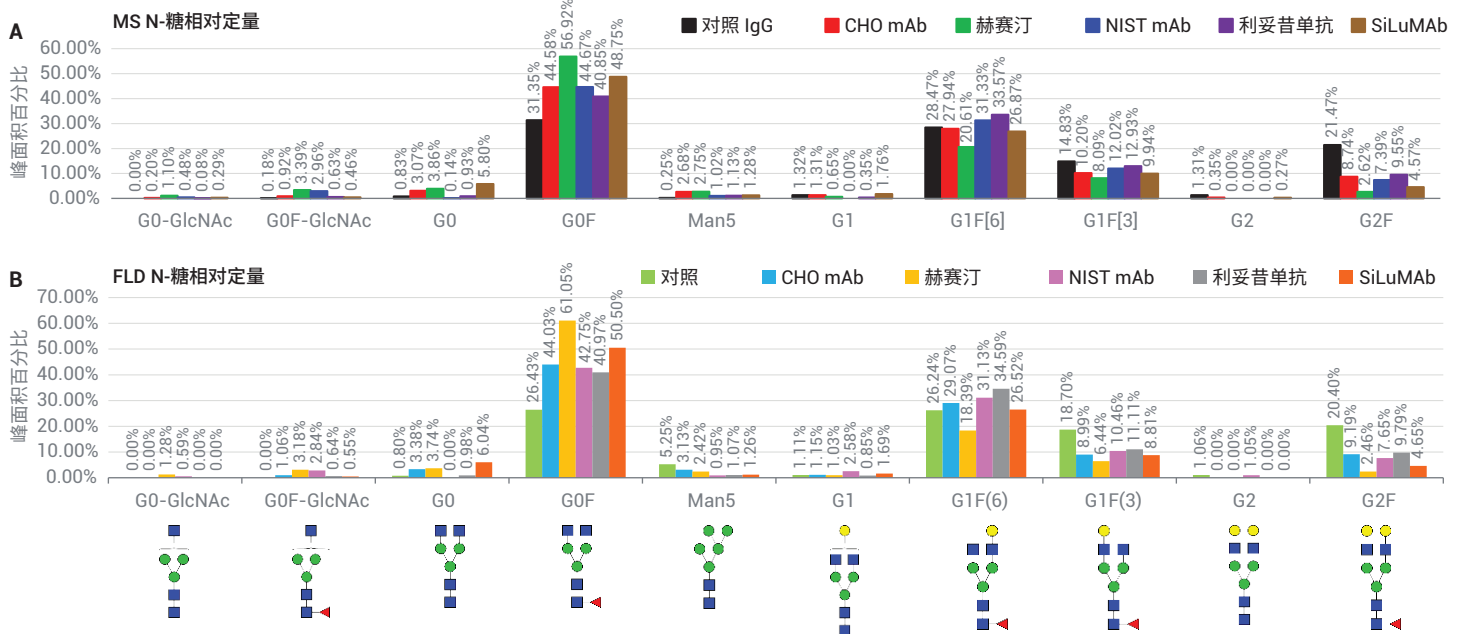


图 9A. MS 测得的 N-糖相对丰度。9B. FLD 测得的 N-糖相对丰度

表 4. MS 测得的来自 6 种 IgG 样品的 10 种主要 N-糖的平均相对峰面积百分比及 CV%

通用名	对照 IgG	CV%	CHO mAb	CV%	赫赛汀	CV%	NIST mAb	CV%	利妥昔单抗	CV%	SiLuMAB	CV%
G0-GlcNAc	0.00%	0.00%	0.20%	7.60%	1.10%	1.19%	0.48%	7.47%	0.08%	6.84%	0.29%	8.14%
G0F-GlcNAc	0.18%	5.31%	0.92%	13.10%	3.39%	1.85%	2.96%	7.88%	0.63%	4.51%	0.46%	8.82%
G0	0.83%	6.81%	3.07%	10.45%	3.86%	3.11%	0.14%	6.70%	0.93%	4.67%	5.80%	8.49%
G0F	31.35%	6.11%	44.58%	7.22%	56.92%	2.16%	44.67%	5.91%	40.85%	3.72%	48.75%	6.20%
Man5	0.25%	8.27%	2.68%	9.75%	2.75%	3.10%	1.02%	8.21%	1.13%	3.74%	1.28%	9.19%
G1	1.32%	6.56%	1.31%	9.14%	0.65%	3.25%	0.00%	0.00%	0.35%	2.54%	1.76%	8.56%
G1F[6]	28.47%	6.15%	27.94%	6.06%	20.61%	3.17%	31.33%	8.92%	33.57%	3.85%	26.87%	6.76%
G1F[3]	14.83%	6.30%	10.20%	9.22%	8.09%	3.09%	12.02%	11.05%	12.93%	5.63%	9.94%	7.60%
G2	1.31%	9.30%	0.35%	9.26%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.27%	6.77%
G2F	21.47%	7.54%	8.74%	8.27%	2.62%	2.95%	7.39%	8.03%	9.55%	5.96%	4.57%	6.07%

表 5. FLD 测得的来自 6 种 IgG 样品的 10 种主要 N-糖的平均相对峰面积百分比及 CV%

通用名	对照 IgG	CV%	CHO mAb	CV%	赫赛汀	CV%	NIST mAb	CV%	利妥昔单抗	CV%	SiLuMAB	CV%
G0-GlcNAc	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.28%	2.66%	0.59%	10.92%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
G0F-GlcNAc	0.00%	0.00%	1.06%	8.21%	3.18%	2.43%	2.84%	7.18%	0.64%	4.12%	0.55%	9.22%
G0	0.80%	6.03%	3.38%	8.95%	3.74%	3.05%	0.00%	0.00%	0.98%	5.90%	6.04%	9.23%
G0F	26.43%	5.54%	44.03%	9.38%	61.05%	3.43%	42.75%	7.89%	40.97%	4.16%	50.50%	8.79%
Man5	5.25%	5.85%	3.13%	9.58%	2.42%	14.36%	0.95%	11.55%	1.07%	5.96%	1.26%	10.77%
G1	1.11%	6.11%	1.15%	9.11%	1.03%	5.05%	2.58%	11.34%	0.85%	8.62%	1.69%	8.86%
G1F(6)	26.24%	7.09%	29.07%	9.08%	18.39%	2.99%	31.13%	9.62%	34.59%	3.96%	26.52%	7.43%
G1F(3)	18.70%	7.66%	8.99%	13.25%	6.44%	3.06%	10.46%	10.26%	11.11%	1.89%	8.81%	7.10%
G2	1.06%	8.33%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.05%	11.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
G2F	20.40%	7.67%	9.19%	8.44%	2.46%	2.96%	7.65%	9.75%	9.79%	6.59%	4.65%	5.35%

结论

使用 Agilent AssayMAP Bravo 和 Agilent GlykoPrep InstantPC 试剂盒实现了自动化 N-糖释放、标记和纯化工作流程。一次实验处理了 24 个抗体样品。AssayMAP 能够实现高通量、高重现性的样品前处理，提高了精密度，延长了无人值守的时间。InstantPC 标记的 N-糖在 MS 和 FLD 中均获得了更强的信号。Agilent AdvanceBio 糖谱分析色谱柱能够实现 N-糖的出色分离。Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF 提供了高灵敏度和精确质量检测，从而实现 N-糖鉴定。

利用内部 N-糖数据库，Agilent MassHunter BioConfirm 软件通过匹配保留时间和精确质量 (< 2 ppm) 实现了快速鉴定。BioConfirm 还可以通过批量分析对 N-糖进行相对定量并对 N-糖含量进行自动绘图。岩藻糖基化 N-糖 (G0F、G1F 和 G2F) 是全部 5 种 mAbs 中丰度最高的多聚糖，总丰度超过 90%。利用自动化样品前处理，各种多聚糖的 CV% 均小于 10%，表明该工作流程具有高重现性。

InstantPC 标记的 N-糖样品的 FLD 定量结果与 MS 定量结果相当。对于大部分多聚糖，两种方法的差异小于 2%，对于全部多聚糖小于 5%。这表明了如果利用 HPLC 对多聚糖实现了基线分离，MS 定量结果是否在可接受范围内，与使用 FLD 定量相比是否相对准确。这是通过 InstantPC 多聚糖标记的强 MS 响应实现的，特别是

与 2-氨基苯甲酰胺 (2-AA) 和 2-氨基苯甲酸 (2-AB) 等传统标记相比^[5]。

除了手动和自动化 GlykoPrep N-糖样品前处理试剂盒，安捷伦还提供新一代使用 InstantPC 的 AdvanceBio Gly-X N-糖样品前处理试剂盒，其包含 3 个模块：去糖基化模块、InstantPC 标记模块和纯化模块，并具有 24-ct 或 96-ct 两种规格^[6]。Gly-X InstantPC 试剂盒通过使用 5 分钟的 PNGase F 溶液内酶解以及 InstantPC 染料标记^[7]，将手动样品前处理时间缩短至 1 小时内，此外也提供了使用无需干燥的基质上标记程序的 2-AB 版本^[8]。未来的目标是开发在 Bravo 平台上完全整合 Gly-X 样品前处理与自动化 N-糖样品前处理的方案。

参考文献

1. Arnold, J. N. et al. The Impact of Glycosylation on the Biological Function and Structure of Human Immunoglobulins. *Annu.Rev. Immunol.* **2007**, 25, 21–50
2. GlykoPrep-plus Rapid N-Glycan Sample Preparation with InstantPC Automated on AssayMAP Technology, part number GPPNG-PC, Instruction Manual
3. Oscar, P. et al. 使用荧光检测器和可靠的安捷伦 LC/MSD XT 质量选择检测器进行单克隆抗体的 N-糖分析，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5991-8071ZHCN，**2017**
4. Wong, D. L. et al. 从样品前处理到数据分析的单克隆抗体 N-连接多聚糖全面分析方法，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5991-8550CHCN，**2017**
5. Yan, J. et al. Comparison of Common Fluorescent Labels for LC/MS Analysis of Released N-Linked Glycans (游离 N-糖的 LC/MS 分析中常用荧光标记的比较)，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5994-0942EN，**2019**
6. N-糖分析：更胜一筹的组合，*安捷伦科技公司产品样本*，出版号 5994-1647ZHCN，**2020**
7. 使用 InstantPC 的 Agilent AdvanceBio Gly-X N-糖前处理试剂盒：用于快速 FLD/MS 多聚糖分析的简化工作流程，*安捷伦科技公司产品样本*，出版号 5994-0918ZHCN，**2019**
8. Yan, J.; Jones, A. Streamlined Workflows for N-Glycan Analysis of Biotherapeutics Using Agilent AdvanceBio Gly-X InstantPC and 2-AB Express Sample Preparation with LC/FLD/MS (使用 Agilent AdvanceBio Gly-X InstantPC 和 2-AB Express 样品前处理与 LC/FLD/MS 简化生物治疗药物的 N-糖分析工作流程)，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5994-1348EN，**2019**

www.agilent.com

仅限科研使用。不用于临床诊断用途。

RA44343.663125

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司，2021
2021 年 6 月 14 日，中国出版
5994-3622ZHCN

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

