

# 生物治疗性糖蛋白的总唾液酸定量分析



## 简化和标准化唾液酸分析

生物治疗性糖蛋白上多聚糖的组成会影响免疫原性、药代动力学和药效学。多聚糖是由单糖组成的碳水化合物，根据组成和键合位置的不同可排列成多种不同的低聚糖结构。根据分子和应用的不同，末端唾液酸可能会降低清除率，降低抗体依赖性细胞毒性 (ADCC) 活性或具有抗炎作用。生物治疗药物中的两种常见唾液酸是 N-乙酰神经氨酸 (Neu5Ac) 和 N-羟乙酰神经氨酸 (Neu5Gc)。Neu5Ac 通常为主要形态，而 Neu5Gc 不能由人类合成，它存在于生物治疗药物中使其可能具有免疫原性。鉴于唾液酸在生物治疗性糖蛋白中的重要性，监测唾液酸的绝对含量至关重要。

AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒可用于快速定量游离唾液酸或从完整糖蛋白中释放的唾液酸，具有以下优点：

- 样品准备时间只需大约 1.5 小时，能够快速可靠地定量通过唾液酸酶 A 从完整蛋白质中释放的总唾液酸
- 唾液酸含量水平检测的动态范围宽
- 与微孔板检测仪兼容，提供荧光检测或吸收光检测
- 酶促释放可大大减少唾液酸的降解
- 方便易用的高通量 96 孔微孔板形式适合生成 48 或 96 个数据点
- 支持自动化

## 安捷伦设计和制造的总唾液酸定量分析解决方案

Agilent AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒 (GS48-SAQ 和 GS96-SAQ) 提供了所需的所有试剂，1.5 小时内即可完成唾液酸样品前处理。使用带荧光或吸收光检测功能的标准微孔板检测仪<sup>[1]</sup>快速、轻松完成分析。

在本指南中，您可以找到定量分析样品中的唾液酸所需的一系列消耗品。列出的产品已用于评估利妥昔单抗 (Rituxan, 一种单克隆抗体或 mAb)、依那西普 (恩利, 一种 Fc 融合蛋白)、西妥昔单抗 (爱必妥, 一种单克隆抗体) 和 NISTmAb 中存在的唾液酸<sup>[2]</sup>。也有研究使用 AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒对唾液酸进行定量分析，使用 AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒 (部件号 GS24-SAP) 对唾液酸进行种类分析和定量<sup>[3,4]</sup>。

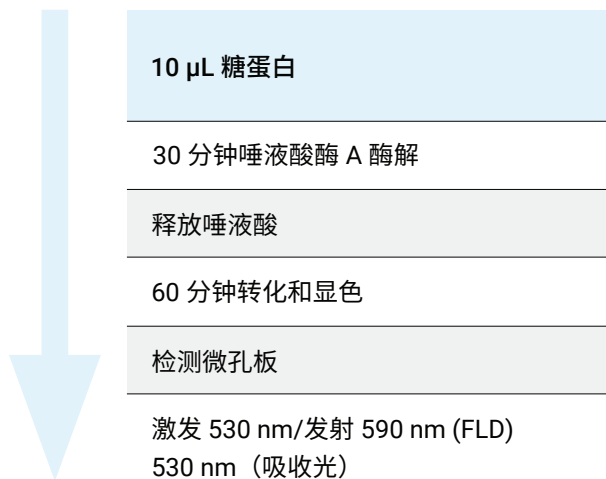
## 总唾液酸分析试剂盒化学原理和 workflow<sup>[4,5]</sup>:

该试剂盒利用偶联酶反应，将酶促释放的唾液酸转化为过氧化氢，然后过氧化氢与染料按化学计量比反应，从而产生强烈的荧光或吸收光信号。该方法可以在一个孔中完成唾液酸的酶促释放、转化、检测和定量，处理过程简单快捷。

### 第 1 步：唾液酸的释放（30 分钟）



### 第 2 步：检测释放的唾液酸（60 分钟）



有关 N-糖样品前处理和的信息，请参阅：N-糖分析：更胜一筹的组合 ([5994-1647ZHCN](#))

下图显示了 Agilent AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒随附的 Neu5Ac 定量标准品的线性和重现性数据：

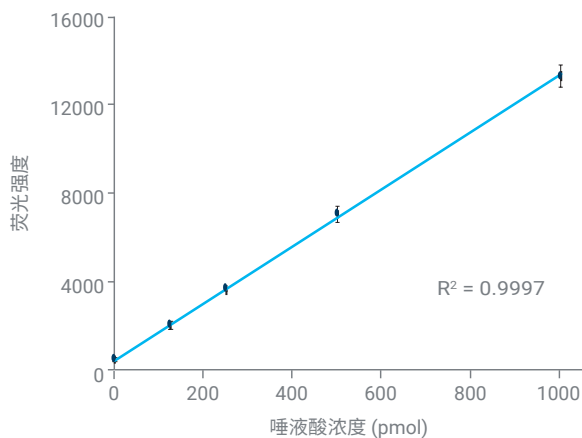


图 1. Agilent AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒标准曲线。五点标准曲线对应于 0、125、250、500 和 1000 pmol 唾液酸， $R^2$  为 0.9997

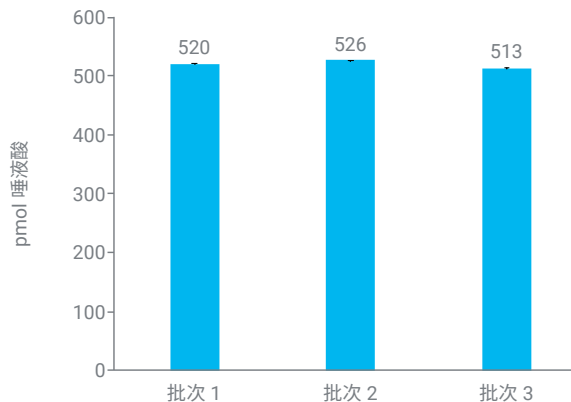


图 2. Neu5Ac 唾液酸标准品溶液批次间对比。500 pmol 唾液酸测量

## AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒入门指南

### 唾液酸样品注意事项

- 本试剂盒适用的样品包括糖蛋白、糖肽、糖脂、聚唾液酸或全细胞
- 对于荧光检测，本方法的动态范围为 40–1000 pmol，对于吸收光检测则为 500–4000 pmol。为确保信号处于有效范围内，可能需要调整样品浓度
- 有些样品可能含有游离唾液酸。在每次运行中，应添加一个含有样品和所有反应组分（唾液酸酶 A 除外）的阴性对照（样品空白），以计算样品中游离唾液酸的信号
- 在确定唾液酸含量前会减去阴性对照，因此低强度的固有糖蛋白荧光（或吸收光）不会干扰唾液酸定量分析
- 应将样品应溶于水、PBS 或类似缓冲液中。理想情况下，样品不应溶于高摩尔浓度的缓冲液中，以确保正确的反应 pH
- 导致唾液酸酶酶解不完全的因素包括：反应中的样品过多、孵育时间或温度不足或唾液酸受到唾液酸酶 A 空间位阻的影响
- 一些 O-乙酰化唾液酸并非 N-乙酰神经氨酸醛缩酶的理想底物，可能无法获得准确的唾液酸含量值。可以使用 AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒（部件号 GS24-SAP）进行 DMB 衍生化，再进行 HPLC 分析来确定是否存在 O-乙酰基<sup>[3,4]</sup>。如果存在，可以先进行温和的碱水解，使样品去 O-乙酰化，然后再用酶进行转化处理

### 孵育硬件

使用 AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒进行样品前处理时，样品需要在 37 °C 下酶促释放 30 分钟。此外还需在 37 °C 下孵育 60 分钟进行转化和显色。在加热 96 孔板中的样品时，建议使用能够进行 37 °C 孵育的实验室烘箱或加热器模块。还需要一个带有平面的加热模块，可兼容 96 孔裙边板（例如用于滴定板的 VWR 13259-295 模块化加热模块）。也可以选择使用具有 37 °C 温控功能的微孔板检测仪（不需要加热器和加热模块）。

孵育硬件（非安捷伦产品）	部件号
干式加热器模块，4 个模块（2 个）(Troemner)	HB4DG
用于滴定板的模块化加热模块 (VWR)	13259-295

### 轻松挑选和订购信息

要从安捷伦网上商城订购下表中列出的商品，请通过单击标题中的“我的列表”链接将商品添加至您的“收藏产品”列表中。然后输入您需要的产品数量，添加至购物车并继续结算。您的列表便会保留在“收藏产品”下，供您将来订购时使用。

如果这是您首次使用“收藏产品”，系统会要求您输入电子邮件地址进行账户验证。如果您已有安捷伦账户，可以直接登录。但是，如果您尚未注册安捷伦账户，则需要注册账户。该功能仅在启用了电子商务功能的地区有效。您也可以单击各物品的部件号，或通过客户服务中心或经销商渠道订购所有物品。

### 我的列表 1 AdvanceBio 总唾液酸定量分析消耗品

描述	部件号
<b>样品前处理</b>	
AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒，48 ct	GS48-SAQ
AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒，96 ct	GS96-SAQ
<b>标准品</b>	
牛胎球蛋白，热处理 (0.4 mg) <sup>*</sup>	WS0021
Agilent-NISTmAb，1 × 25 µL	5191-5744
Agilent-NISTmAb，4 × 25 µL	5191-5745
<b>Agilent PlateLoc 微孔板热封膜机可选部件<sup>†</sup></b>	
微孔板可撕铝膜	24210-001

\* 不支持在线购买。请联系当地安捷伦客户服务中心了解订购信息

<sup>†</sup> 了解有关 Agilent PlateLoc 微孔板热封膜机的更多信息

### 参考文献

1. Agilent BioTek 微孔板检测仪：
  - a. Synergy H1 Hybrid 多功能微孔板检测仪
  - b. Synergy Neo2 Hybrid 多功能微孔板检测仪
  - c. Synergy LX 多功能微孔板检测仪
2. 用于生物治疗药物中唾液酸分析与定量的改进工作流程 (5994-2352ZHCN)
3. 使用 AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒和 LC/FLD/MS 分析生物治疗性糖蛋白的唾液酸 (5994-4201ZHCN)
4. Agilent AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒宣传单页 (5994-2788ZHCN)
5. Agilent AdvanceBio Total Sialic Acid Quantitation Kit (Agilent AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒，5994-1227EN)

## Agilent CrossLab: 助力客户成功

CrossLab 代表了安捷伦集服务和消耗品于一体的独特解决方案，以支持客户获得 workflows 的成功、提高生产力和运营效率。我们在每一次互动中为您提供深刻见解，助您实现业务目标。我们提供从方法优化和培训到实验室整体移机和操作分析的一系列产品和服务，帮助您管理仪器和实验室，确保实现理想性能。

如需了解有关 CrossLab 的更多信息，请访问 [www.agilent.com/crosslab](http://www.agilent.com/crosslab)

了解更多信息：

[www.agilent.com/chem/glycananalysis](http://www.agilent.com/chem/glycananalysis)

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://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](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

DE91950304

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。