



Agilent AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒

NANA 和 NGNA 类唾液酸的快速定量

优势和益处

检测:

- 工作流程 (包括孵育期) 可在约 5 个小时内完成
- 1-2000 pmol 的宽唾液酸检测范围
- 对唾液酸化水平较低的蛋白质的检测灵敏度可达皮摩尔级

规格:

- 96 孔板形式
- 试剂盒中包括预分装的 NANA 和 NGNA 定量标准品
- 试剂盒中包括唾液酸定性分析参比组合
- 支持自动化

作为相关 AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒 (部件号 GS48-SAQ 和 GS96-SAQ) 的补充, 该试剂盒使用酶标仪定量分析总唾液酸含量, 但不区分唾液酸的种类

简化生物治疗性糖蛋白中唾液酸的分析与定量

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。*N*-糖或 *O*-糖非还原末端的唾液酸封端可在介导治疗性糖蛋白的有效性中发挥非常重要的作用。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。在生物治疗药物中发现的两种常见唾液酸是 *N*-乙酰神经氨酸 (NANA 或 Neu5Ac) 和 *N*-羟乙酰神经氨酸 (NGNA 或 Neu5Gc)。Neu5Ac 通常为形态, 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。因此, 对治疗性糖蛋白中唾液酸的绝对含量以及不同唾液酸种类的含量的监测都至关重要。

Agilent AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒 (部件号 GS24-SAP) 为唾液酸的分析与定量提供了一种灵敏的高通量方法。通过酸水解从糖蛋白中释放出唾液酸, 然后用荧光团 1,2-二氨基-4,5-亚甲基二氧基苯 (DMB) 对其进行衍生化, 从而可以通过具有荧光检测 (FLD) 和可选的质谱 (MS) 检测功能的反相 (RP) 液相色谱进行分离 (图 1)。

了解更多信息

www.agilent.com/chem/glycananalysis

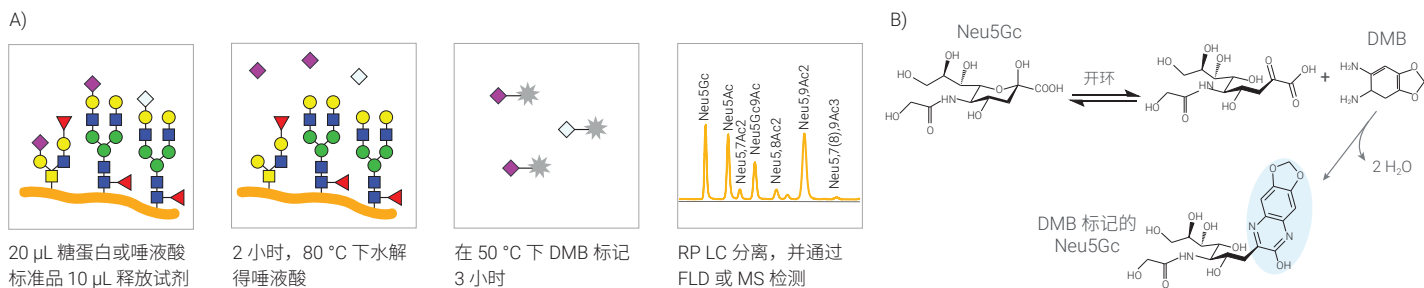


图 1. A) 唾液酸释放和 DMB 标记工作流程概览, B) 唾液酸 Neu5Gc 的 DMB 标记机制

所需的设备和样品前处理注意事项

AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒适用于多种不同的样品类型, 包括糖蛋白、糖肽、糖脂、聚唾液酸以及全细胞。

根据样品类型和浓度的不同, 可能需要对高度唾液酸化的样品进行稀释, 而对于唾液酸化水平较低的单克隆抗体等样品则可能需要通过干燥和复溶于少量去离子水中对其进行浓缩。按照推荐的使用方式, 该试剂盒包含的试剂足够用于生成 24 个数据点。这足以将 6 个样品各平行制备三份, 或将 9 个样品各平行制备两份, 更多详情请参阅说明书。本方法的动态范围为 1–2000 pmol 唾液酸/样品孔。用户需要提供的设备包括能够为所需的孵育步骤提供 50 $^{\circ}\text{C}$ 和 80 $^{\circ}\text{C}$ 恒定温度的热循环仪或带盖加热模块。分析需要使用具有荧光检测功能的分析型 HPLC 系统 (HPLC 或 UHPLC), 如需了解更多信息, 请参阅说明书。

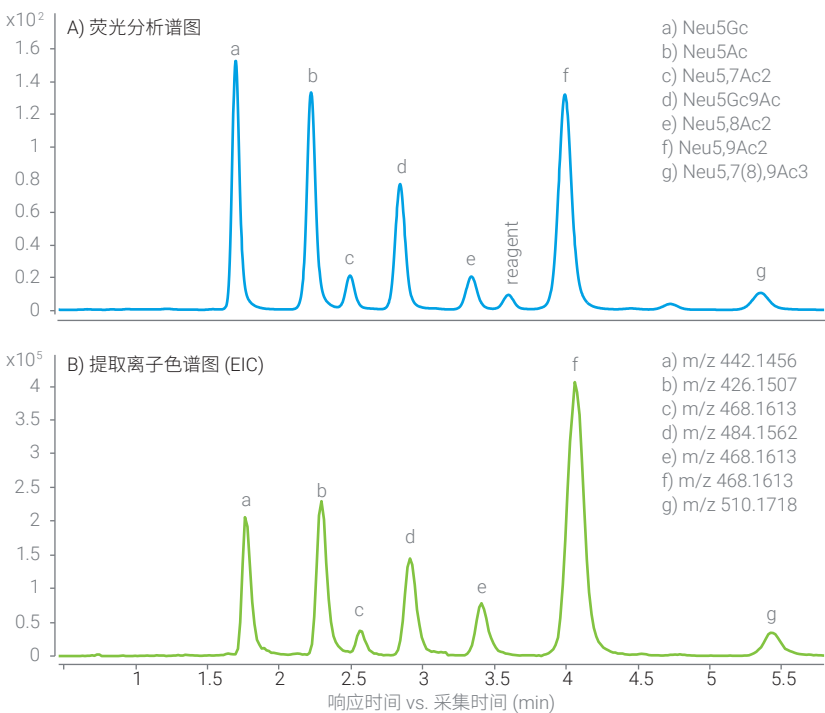
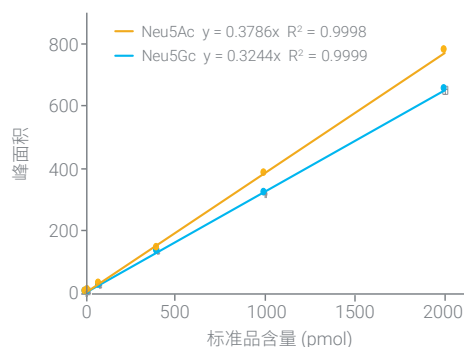


图 2. DMB 标记 SARP 的 UHPLC 色谱图。DMB 标记的唾液酸参比组合的 A) 荧光分析谱图和 B) 提取离子色谱图, $[\text{M}+\text{H}]^+$

唾液酸分析与定量

- 通过本工作流程, 可使用已知唾液酸种类的唾液酸参比组合 (SARP) 对唾液酸种类进行定性识别 (分析) (图 2), 也可以使用 Neu5Ac 和 Neu5Gc 定量标准品进行绝对定量 (图 3)
- 使用该试剂盒获得的总唾液酸定量 (Neu5Ac 和 Neu5Gc) 结果与使用 AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒 (部件号 GS48-SAQ 或 GS96-SAQ) 获得的数据相当 (表 1)
- Neu5Ac 和 Neu5Gc 的定量结果与较早的 DMB 标记工作流程 (GKK-407) 获得的结果相当 (表 2)



唾液酸	LOD (pmol)	LOQ (pmol)
Neu5Gc	0.012	0.040
Neu5Ac	0.016	0.053

图 3. Neu5Gc 和 Neu5Ac 校准曲线, $n = 2$ 。表中显示 Neu5G 和 Neu5Ac 的检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ)

表 1. 使用 Agilent AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒 (部件号 GS24-SAP) 获得的总唾液酸 (Neu5Ac 和 Neu5Gc) 定量结果与使用 Agilent AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒 (部件号 GS48-SAQ) 获得的数值比较, n = 3

	AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒		AdvanceBio 总唾液酸定量分析试剂盒	
	pmol/μg	%CV	pmol/μg	%CV
Rituxan	0.62	4.17%	0.47	5.04%
恩利	220	1.65%	210	12.34%
Erbitux	3.80	7.26%	3.49	0.69%
胎球蛋白	226	4.45%	232	7.39%

表 2. 使用 Agilent AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒 (部件号 GS24-SAP) 获得的 Neu5Gc 和 Neu5Ac 定量结果 (pmol/μg) 与使用额外 Neu5Ac 定量标准品的 Glyko Signal DMB 唾液酸标记试剂盒 (部件号 GKK-407) 获得的数值比较, n = 3

ND = 未检出

糖蛋白	唾液酸	AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒		GKK-407	
		pmol/μg	%CV	pmol/μg	%CV
Rituxan	Neu5Gc	0.02	1.76%	ND	-
	Neu5Ac	0.60	4.25%	0.58	1.12%
恩利	Neu5Ac	223	2.92%	226	3.57%
Erbitux	Neu5Gc	3.68	1.02%	ND	-
	Neu5Ac	0.12	4.46%	ND	-
胎球蛋白	Neu5Gc	4.78	4.90%	ND	-
	Neu5Ac	222	4.44%	201	1.47%

了解更多信息:

www.agilent.com/chem/glycananalysis

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

如需了解关于 AdvanceBio 唾液酸定量分析的更多信息, 请访问:

http://www.agilent.us/chem/sialic_acid_quantitation

DE.7510648148

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, 2020
2020 年 11 月 10 日, 中国出版
5994-2788ZHCN

订购信息

部件号	名称
GS24-SAP	Agilent AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒, 24 ct

试剂盒组成

Agilent AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒包含以下用于绝对定量与唾液酸鉴定的试剂和标准品。

单元: AdvanceBio 唾液酸分析与定量试剂盒 GS24-SAP		
组成	单位	储存
100 μmol/L N- 乙酰神经氨酸 (NANA、NeuAc) 唾液酸标准品, 200 μL	1	-20 °C
100 μmol/L N- 羟乙酰神经氨酸 (NGNA、NeuGc) 唾液酸标准品, 200 μL	1	-20 °C
唾液酸参比组合, 冻干	1	-20 °C
样品瓶 A: 标记稀释液, 300 μL	1	-20 °C
样品瓶 B: 还原剂	2	-20 °C
样品瓶 C: DMB 染料	2	-20 °C
样品瓶 D: 释放试剂, 300 μL	1	-20 °C
联管	6	-20 °C 至室温
96 孔反应板	1	-20 °C 至室温