アプリケーションノート

バイオ医薬品/医薬品

モノクローナル抗体 N- 結合型グリカン分析の自動化ワークフロー

著者

Shuai Wu,
Zach Van Den Heuvel,
Steve Murphy, and Aled Jones
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、Agilent AssayMAPBravo および Agilent GlykoPrep InstantPC キットを用いた N-グリカンの遊離、標識化、およびクリーンアップの自動化ワークフローについて説明します。1 回の実験で合計 24 個の抗体を分析し、Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF を使用して N-グリカンを同定しました。

はじめに

モノクローナル抗体（mAb）は、がん免疫療法において、近年開発が盛んな重要な物質です。抗体の安定性と有効性を維持するうえで、グリコシル化が重要な役割を果たします。[1] したがって、抗体の開発プロセスや製造全体を通じて、グリカンが注意深くモニタリングされます。クローン選択や細胞培養の最適化プロセスには、ハイスループットのグリカンサンプル前処理が不可欠です。アジレントは、AssayMAP Bravo および GlykoPrep InstantPC キットを用いて、N-グリカンの遊離、標識化、および精製を行う自動化ワークフローを開発しました。

このワークフローでは、AssayMAP Bravo を用いる GlykoPrep InstantPC キットが自動化プロトコルに組み込まれています（図 1）。RX カートリッジに IgG サンプルを固定して変性させた後、PNGase F を使用してカートリッジ上で N-グリカンを遊離しました。遊離 N-グリカンは、高速標識化のために InstantPC Dye に溶出させました。サンプル前処理の最後の段階には、CU カートリッジを使用した N-グリカンのクリーンアップ手順が含まれます。このメソッドでは、カートリッジベースのプラットフォームにより、InstantPC 色素と自動分注器が完全に統合され、N-グリカンサンプル前処理を効率化できます。ハイスループットのサンプル前処理は約 3 時間で完了しました。InstantPC で標識化された N-グリカンは、蛍光検出（FLD）と質量分析（MS）の両方の測定でより強いシグナルを発生します。

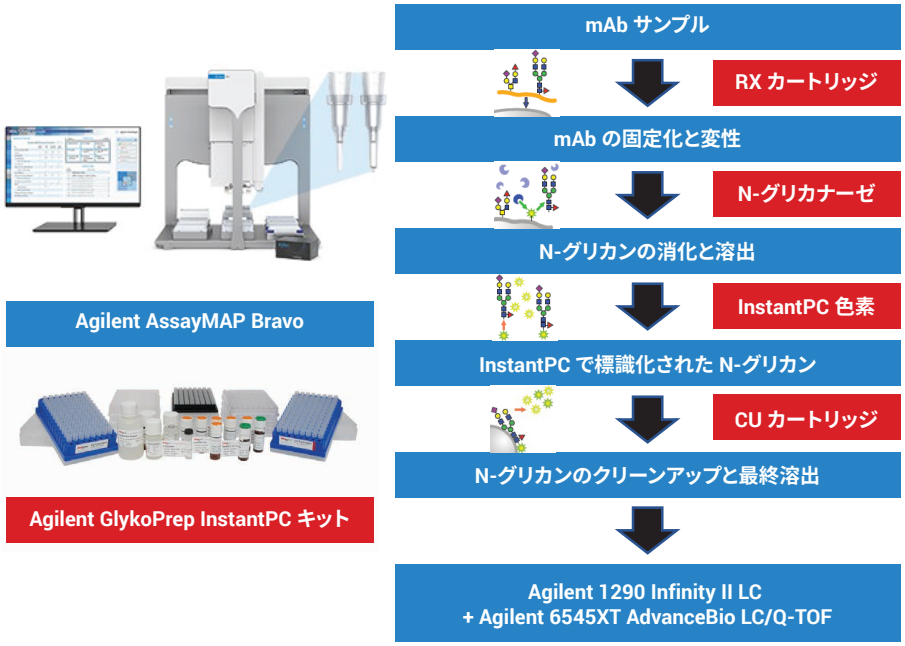

図 1. Agilent AssayMAP Bravo および Agilent GlykoPrep InstantPC キットを使用した自動化された N-グリカンサンプル前処理

実験方法

試料調製

GlykoPrep-plus N-グリカンサンプル前処理キットと InstantPC キット、96-ct はアジレント（旧 ProZyme）製で（部品番号 GPPPNG-PC）、次のモジュールが含まれています。GlykoPrep-plus 消化モジュール、96-ct（部品番号 GSP-RX）、InstantPC 標識化モジュール（部品番号 GSP-PC）、GlykoPrep クリーンアップモジュール、96-ct（部品番号 GSP-CU）、GlykoPrep-plus ラボウェアセット（部品番号 AM96-NG）

Agilent CHO mAb は、アジレントで処方されました。

- ハーセプチンはGenentech 社（NDC 50242-134-68）から購入しました。
- ヒト IgG は ProZyme で処方されました。
- NISTmAb は NIST から購入しました（RM 8671）。
- 他の化学物質はすべて、Sigma-Aldrich 社（米国ミズーリ州セントルイス）の製品を使用しました。

自動化による N-グリカンサンプル前処理

Agilent Protein Sample Prep Workbench ソフトウェアには、AssayMAP Bravo プラットフォームを使用して GlykoPrep InstantPC キットを自動化するワークフローがあらかじめロードされています。「RX Digestion – InstantPC Labeling」ワークフローは、ワークフローライブラリ内の N-グリカンサンプル前処理法カテゴリにあります。このワークフローには、半自動 N-グリカンサンプル前処理用の 5 つのプロトコルが含まれています。[2]簡単に説明すると、プロトコル 1 では試薬プレートの設定、プロトコル 2 と 4 ではマイクロクロマトグラフィーカートリッジのレイアウト定義、プロトコル 3 と 5 ではサンプラ処理が行えます。

最初のステップでは、「Plate & Reagent Setup Protocol（プレートと試薬設定プロトコル）」を使用して、InstantPC キットから試薬プレートを準備します。このステップ用に、専用の「試薬容量計算機」が設計されました。カラムと処理するサンプル数に基づいて、計算機は各試薬の正確な量と、試薬ソースプレートのどこに試薬を分注するかについて指示を出します。今回の実験では、すべてのウェルが埋まった 3 列を用います。合計 24 のサンプルで、各 mAb を 50 µg 使用します。計算機に従って一定量の試薬がキットから試薬ソースプレートに移されると、図 2（プロトコル 1、デッキレイアウト）に従って、さまざまなラボウェアをデッキにセットアップ可能になります。デッキ位置 7 で、4 つの U 底プレートにラベルを付け、消化バッファ（上）、ブロッキング試薬、変性試薬から InstantPC 溶液（下）まで積み重ねる必要があります。プロトコルが開始された後、AssayMAP Bravo でさまざまな試薬が必要な量だけ分注されました。これは、後続の反応とグリカン標識用の試薬プレートを準備するための重要なステップです。計算機は、プロトコル 3 で使用する RX カートリッジプライミング溶液の量と、プロトコル 5 で使用するすべてのバッファ溶液の量も計算します。

このアプリケーションの 2 番目のステップは、RX カートリッジ移送プロトコルのみです。このプロトコルでは、ユーザーは後続の反応のためにデッキをセットアップし、アプリケーションページを離れることなくカートリッジをデッキの位置 2 に移送できます。カートリッジの完全に埋まった 3 列は、列 1 から始まる実験に移送されました。

図 3 に示すように、6 種類の抗体サンプル、すなわちコントロールのヒト IgG、Agilent CHO mAb、ハーセプチン、NIST mAb、リツキシマブ、および SILuMAb を 1 µg/µL に正規化し、元のサンプルプレートに配置しました。N-グリカンの遊離と標識化はプロトコル 3 で実行しました。50 µL の mAb サンプル（各 mAb に対して 4 つの繰り返し分析用）を、変性試

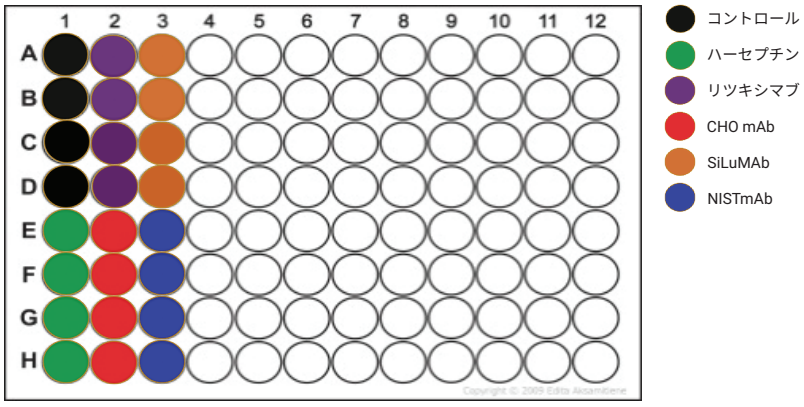

図 3. 96 ウェルプレート上の抗体サンプル位置

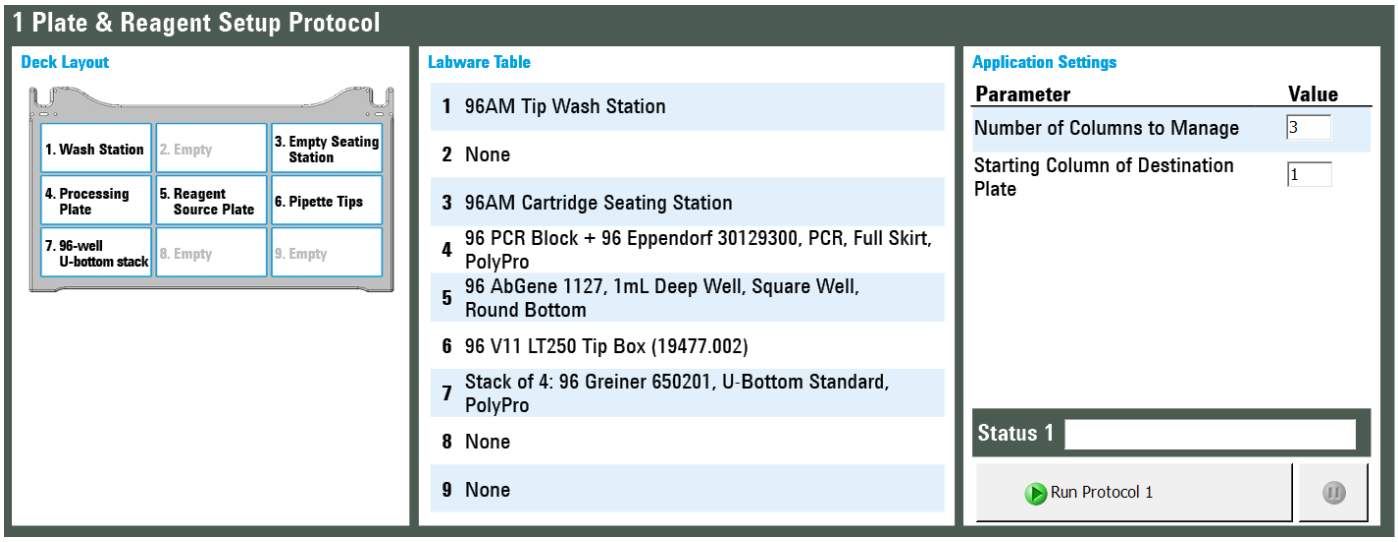

図 2. Agilent InstantPC ソフトウェアの試薬設定プロトコル

薬を使用して変性しました。mAb は 24 個の RX カートリッジに並行して固定化しました。その後、ブロッキングステップを使用して、RX カートリッジの残りのアクティブな結合点をブロックしました。PNGase F を 45 °C でカートリッジに吸引することにより、固定化されたタンパク質から N-グリカンを遊離し、mAb を 30 分間インキュベートしました。反応の最後に、遊離 N-グリカンを InstantPC 溶液でプレートに溶出させ、N-グリカンを即座に標識化しました（図 4、デッキの位置 7）。

クリーンアップ（CU）カートリッジはプロトコル 4 で移送しました。デッキレイアウトを図 5 のように設定したら、InstantPC で標識化された N-グリカンサンプルをプロトコル 5 で洗浄し、余分な遊離 InstantPC を除去しました。最終的な InstantPC で標識化されたグリカンサンプルは、50 µL の最終溶出量で溶出させました。

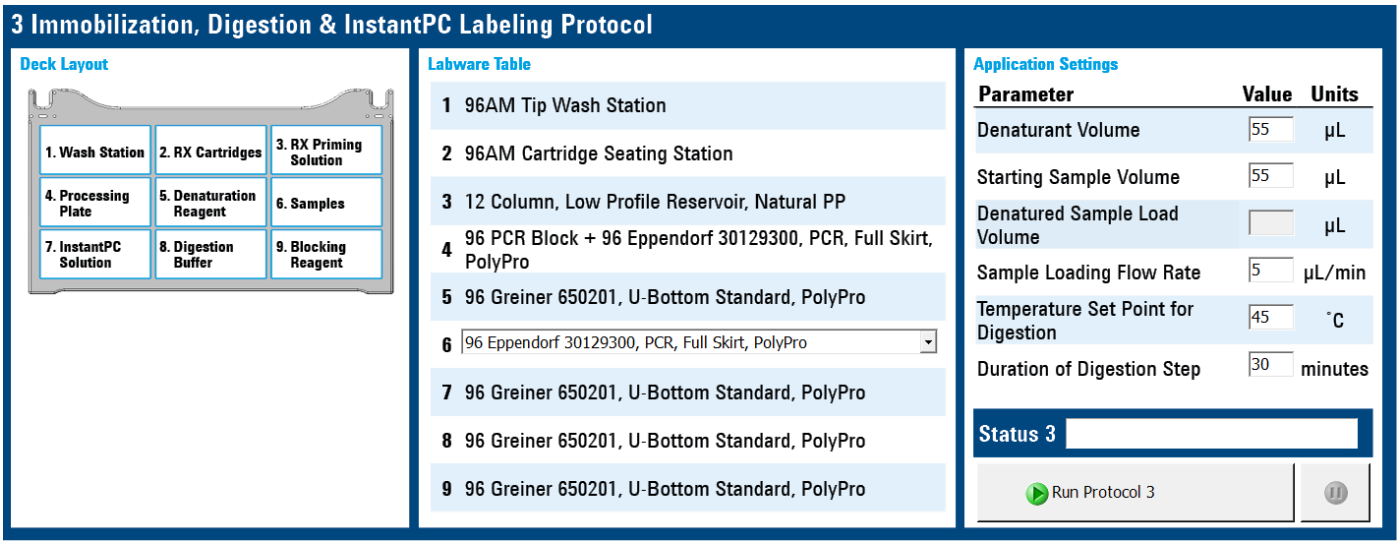

図 4. Agilent InstantPC ソフトウェアの N-グリカン遊離および標識プロトコル

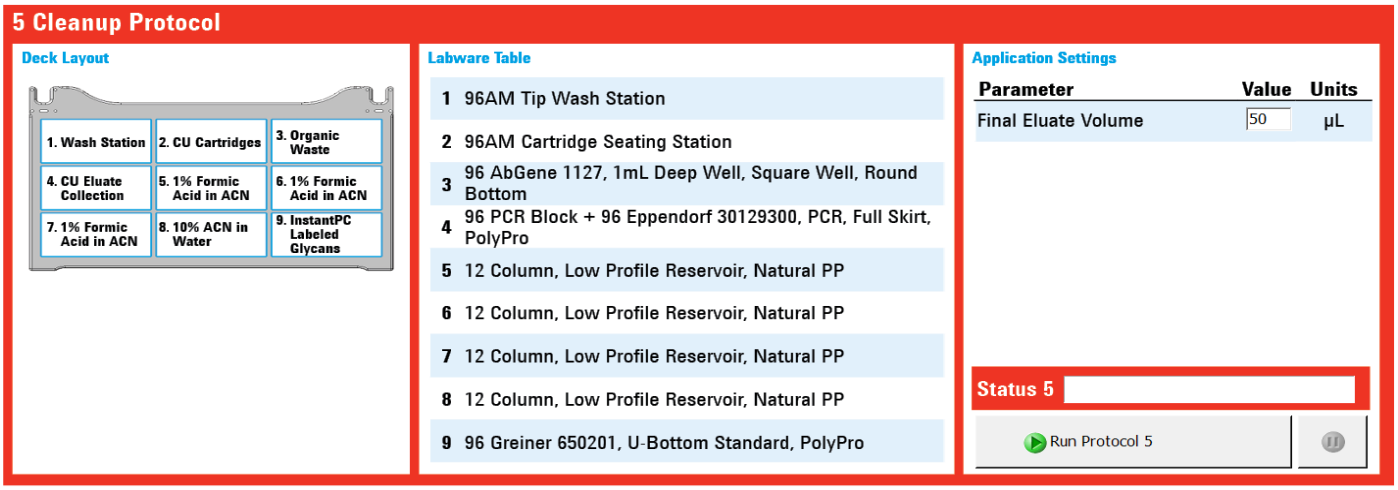

図 5. Agilent InstantPC ソフトウェアの N-グリカンクリーンアッププロトコル

LC/MS による N-グリカン分析

洗浄した N-グリカンサンプルを、さらに精製することなく LC/Q-TOF システムに注入しました。最終的な N-グリカンサンプルの量は元の mAb サンプルと同じであるため、1 µL の最終サンプルは 1 µg の mAb から調製される N-グリカンの量を表します。Agilent 1290 Infinity II LC にはAgilent 1260 Infinity FLD を取り付けて、デュアル Agilent Jet Stream（AJS）イオン源付きの Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF MS と接続しました。N-グリカンサンプルは、Agilent AdvanceBio グリカンマッピングカラム、2.1×150 mm、1.8 µm（部品番号 859700-913）を使用した親水性相互作用液体クロマトグラフィー（HILIC）によって、カラム温度 40 °Cで分離しました（図 6）。分離条件は以前に注意深く開発されたものであるため、本研究では、同じ条件の合計実行時間 35 分間の 28 分間のグラジエントを採用しました。[3] LC 条件を表 1 に示します。FLD は PMT ゲイン = 10 で、λ_{Ex} = 285 nm、λ_{Em} = 345 nm に設定しました。

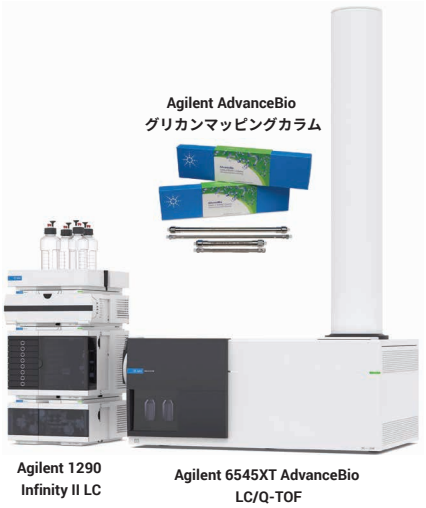

図 6. Agilent AdvanceBio グリカンマッピングカラム搭載のAgilent 1290 Infinity II LC および Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF を使用した N-グリカン分析

N-グリカンサンプルは、デュアル AJS イオン源を使用し、*m/z* 300 ～ 1,700 の質量範囲、高分解能（4 GHz）モード、2 スペクトル/秒のスキャンレートで分析しました。表 2 に詳細な Q-TOF 設定を示します。

表 1. UHPLC HILIC/FLD 条件

Agilent 1290 Infinity II LC システム	
カラム	Agilent AdvanceBio グリカンマッピング、2.1 x 150 mm、1.8 µm（部品番号 859700-913）
溶媒 A	50mM ギ酸（水酸化アンモニウムで pH 4.5 に調整）
溶媒 B	アセトニトリル
グラジエント	時間（分） B（%） 流量（mL/分） 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 停止時間 = 35.0 分
カラム温度	40 °C
注入量	1 µL
FLD	λ_{Ex} = 285 nm λ_{Em} = 345 nm

表 2. LC/Q-TOF パラメータ

Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF	
イオン源	デュアル Agilent Jet Stream
ガス温度	150 °C
ドライガス流量	9 L/分
ネブライザ	35 psi
シースガス温度	300 °C
シースガス流量	10 L/分
Vcap	3,000 V
ノズル電圧	500 V
フラグメンタ	120 V
スキマ電圧	65 V
質量範囲	*m/z* 300 ～ 1,700
スキャン速度	2 スペクトル/秒
取り込みモード	高分解能（4GHz）

結果と考察

InstantPC で標識された N-グリカンの定性分析

コントロールのヒト IgG には、特性解析が十分になされている 17 種類の N-グリカンが含まれていました。リテンションタイムと精密質量をこれらのグリカンと比較することで、N-グリカンを同定できます。図 7A と図 8A では、17 個のグリカンすべてに注釈が付けられています。図 7B ～ 7F の同じリテンションタイムの同じグリカンは標識化されていません。さらに、他の 5 つの一般的な N-グリカン（図 7B、7C、7D、8B、8C、および 8D で標識化されているもの）は、精密質量と単糖組成によって識別したものです。FLD の結果はこれらのグリカンについて、リテンションタイムが同じで、相対ピーク存在量も同じであることを示しています（図 8）。

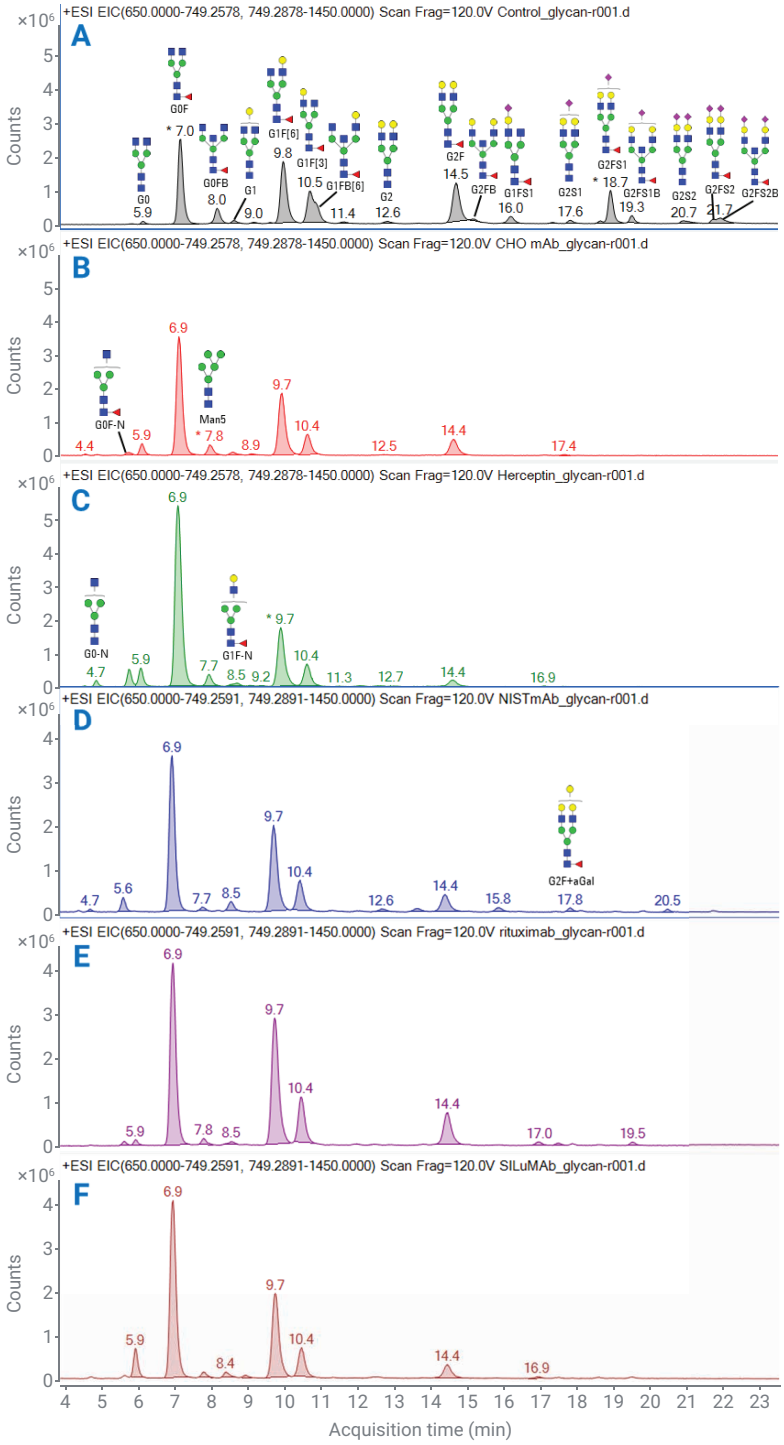

図 7. すべてのサンプルの InstantPC で標識された N-グリカンの LC/Q-TOF 分析。(A) コントロール ヒト IgG、(B) CHO mAb、(C) ハーセプチン、(D) NISTmAb、(E) リツキシマブ、(F) SILuMAb

図 8. すべてのサンプルの InstantPC で標識された N-グリカンの LC/FLD 分析。
(A) コントロール ヒト IgG、(B) CHO mAb、(C) ハーセプチン、(D) NISTmAb、
(E) リツキシマブ、(F) SILuMAb

表 3 に、この研究で見つかった 22 個の N-グリカンの詳細情報を示します。グリカンは、リテンションタイム、理論質量、単糖組成、構造、および一般名に基づいてリストされています。

InstantPC で標識された N-グリカンと MS の定量分析

InstantPC で標識付けされた N-グリカンサンプルも、Agilent MassHunter BioConfirm 10.0 ソフトウェアで遊離グリカンワークフローを使用して解析しました。このソフトウェアを使用すると、質量誤差、リテンションタイムウィンドウ、グリカンイオン種、タグ（2-AB および InstantPC）などのマッチング基準を設定し、独自のスコアリングシステムで結果を検証できます。N-グリカンは、主に 2 価イオン $[M + 2H]^{2+}$ として観測されましたが、$[M + NH_4 + H]^{2+}$、$[M + H + Na]^{2+}$、$[M + H + K]^{2+}$ などの他の種も計測されました。[4] InstantPC は、還元末端に 261.1477 Da のモノアイソトピック質量を追加しました。本研究では内部グリカンデータベースを実装して、すべての mAb において高い質量精度（<2 ppm）で N-グリカンを迅速に同定しました。BioConfirm は、内部グリカンデータベースを使用して、リテンションタイムと精密質量に基づいて、24 個のサンプルから 10 個の標識化された N-グリカンをすばやく同定して積分しました。これら 10 個のグリカンが、すべての mAb で同定された N-グリカンのうち、最もアバンダンスの大きかった上位 10 個のグリカンです。

図 9A はMS 測定から生成したもので、各 mAb からの 10 個の N-グリカンの相対比を表します。10 個のグリカンは、LC クロマトグラムからのリテンションタイムの順序に基づいてリストに記載されています。相対アバンダンス解析では、多くの場合、同じ mAb 内の異なる N-グリカン比を比較します。例えば、40.85 % の比率を示すリツキシマブ G0F は、CHO mAb（44.58 %）および NISTmAb（44.67 %）よりも相対比率が低くなっています。フコシル化グリカン（G0F、G1F、および G2F）が最もアバンダンスが大きかったグリカンで、10 種類のグリカンの 90 % 以上を占めていました。各 N-グリカンの相対的な割合の平均値を、CV%（n = 4）とともに表 4 に示しました。N-グリカンの遊離、InstantPC の標識化、クリーンアップなどの複数のステップの後、CV% はほぼすべて 10 % 未満となり、自動化されたワークフローの高い再現性を示しました。

表 3. すべてのサンプルから同定された 22 個の N-グリカンのまとめ

ピーク番号	R.T.（分）	理論的 $[M;2H]^{2+}$	組成	構造	一般名
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

InstantPC で標識された N-グリカンの FLD による定量分析

分析メソッドとして FLD を使用したため、定量結果も FLD 測定に基づいて評価しました。図 9B は、24 サンプルの FLD 結果をまとめたものです。図 9A と同様、相対アバンダンスを計算し、最もアバンダンスの大きい上位 10 個の N-グリカンについて注釈を付けました。フコシル化グリカン（G0F、G1F、および G2F）が、10 種類のグリカンの 90 % 以上を占めました。N-グリカンの平均相対パーセンテージ面積を、FLD によって測定された CV%（n = 4）とともに表 5 にリストしました。

MS と FLD の定量結果を比較すると、各グリカンの相対アバンダンスは非常に類似した結果を示し、すべてのグリカンで 5 % 未満、大半のグリカンで 2 % 未満の差でした。

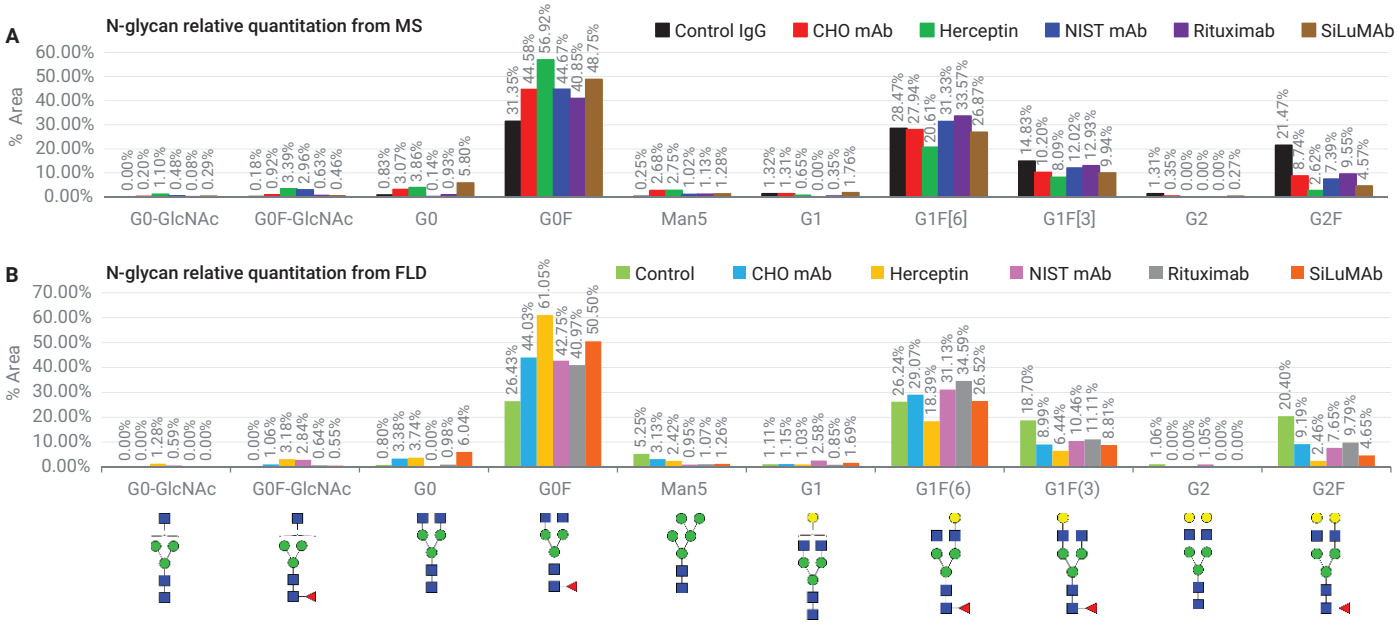

図 9A. MS で測定した N-グリカンの相対アバンダンス。9B.FLD で測定した N-グリカンの相対アバンダンス

表 4. MS で測定した 6 つの IgG サンプルにおける 10 個の主要な N-グリカンの平均相対 % 面積および CV%

一般名	コントロール IgG	CV%	CHO mAb	CV%	ハーセプチン	CV%	NIST mAb	CV%	リツキシマブ	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 で測定した 6 つの IgG サンプルにおける 10 個の主要な N-グリカンの平均相対 % 面積および CV%

一般名	コントロール IgG	CV%	CHO mAb	CV%	ハーセプチン	CV%	NIST mAb	CV%	リツキシマブ	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 %

結論

自動化された N-グリカンの遊離、標識化、およびクリーンアップワークフローを、Agilent AssayMAP Bravo および Agilent GlykoPrep InstantPC キットを用いて実験しました。1 回の実験で 24 個の抗体サンプルを処理しました。AssayMAP を使用すると、高スループットで再現性の高いサンプル前処理が可能となり、精度の向上と無人による自動稼働時間の延長が実現します。InstantPC で標識化された N-グリカンは、MS とFLD の両方でシグナルが増強されました。Agilent AdvanceBio グリカンマッピングカラムは、N-グリカンの優れた分離を実現します。Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF は、高感度で正確な質量測定により N-グリカンの同定を実現します。

N-グリカンのデータベースを内蔵する Agilent MassHunter BioConfirm ソフトウェアは、リテンションタイムと精密質量（<2 ppm）の照合により、迅速な同定を可能にします。BioConfirm では、バッチ分析により、N-グリカンの相対定量と N-グリカン成分の自動プロットも可能です。フコシル化 N-グリカン（G0F、G1F、および G2F）は、5 つの mAb の中でアバンダンスが最も大きいグリカンであり、合計で 90 % 以上のアバンダンスです。自動化されたサンプル前処理法を使用すると各グリカンの CV% は 10 % 以内であり、ワークフローの高い再現性が示されました。

InstantPC で標識された N-グリカンサンプルの FLD 定量では、MS 定量と同等の結果が示されました。2 つのメソッドの差は、大半のグリカンで 2 % 以内、すべてのグリカンで 5 % 以内です。これは、グリカンが HPLC によってベースライン分離されている場合、MS 定量が許容範囲内にあり、FLD を使用した定量と比較して相対的に正確であるかどうかの指標となります。これは、特に 2- アミノベンズアミド（2-AA）や 2- アミノ安息香酸（2-AB）などの従来の標識と比較した場合に、InstantPC グリカン標識の強力な MS 応答によって可能になります。

アジレントは、手動および自動のGlykoPrep N-グリカンサンプル調製キットに加えて、InstantPC を搭載した次世代の AdvanceBio Gly-X N-グリカン調製キットを提供しています。これは、脱グリコシル化モジュール、InstantPC ラベリングモジュール、および 24-ct または 96-ct のオプションのクリーンアップモジュールという 3 つのモジュールで構成されます。[6] Gly-X InstantPC キットは、5 分間の PNGase F 溶液内消化と InstantPC dye[7] による標識化を使用することにより、手作業でのサンプル調製時間を 1 時間以下に短縮し、さらにドライダウンなしのオンマトリックス標識化手順[8] を使用した 2-AB バージョンも提供します。今後の目標は、Bravo プラットフォームでの Gly-X サンプル調製を自動化された N-グリカンサンプル調製と完全に統合するためのプロトコルを開発することです。

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.*Agilent LC/MSD XT を用いた蛍光検出および質量選択検出によるモノクローナル抗体 N-グリカンの分析.*Agilent Technologies application note*, publication number 5991-8071JAJP, **2017**.
4. Wong, D. L. *et al.*モノクローナル抗体のN-グリカン分析:サンプル前処理からデータ解析までの包括的手法.*Agilent Technologies application note*, publication number 5991-8550JAJP, **2017**.
5. Yan, J. *et al.*Comparison of Common Fluorescent Labels for LC/MS Analysis of Released N-Linked Glycans.*Agilent Technologies application note*, publication number 5994-0942EN, **2019**.
6. N-Glycan Analysis: Better Together. *Agilent Technologies brochure*, publication number 5994-1647EN, **2020**.
7. Agilent AdvanceBio Gly-X N-グリカンサンプル前処理とInstantPC キット. *Agilent Technologies brochure*, publication number 5994-0918JAJP, **2019**.
8. Yan, J.; Jones, A. Agilent AdvanceBio Gly-X InstantPC および 2-AB Express サンプル前処理と LC/FLD/MS を用いた生物製剤の N-グリカン分析の効率的なワークフロー . *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-1348JAJP, **2019**.

ホームページ
www.agilent.com/chem/jp

カストマコンタクトセンタ
0120-477-111
email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等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. 2021

Printed in Japan, June 14, 2021
5994-3622JAJP
RA44343.663125

Agilent
Trusted Answers