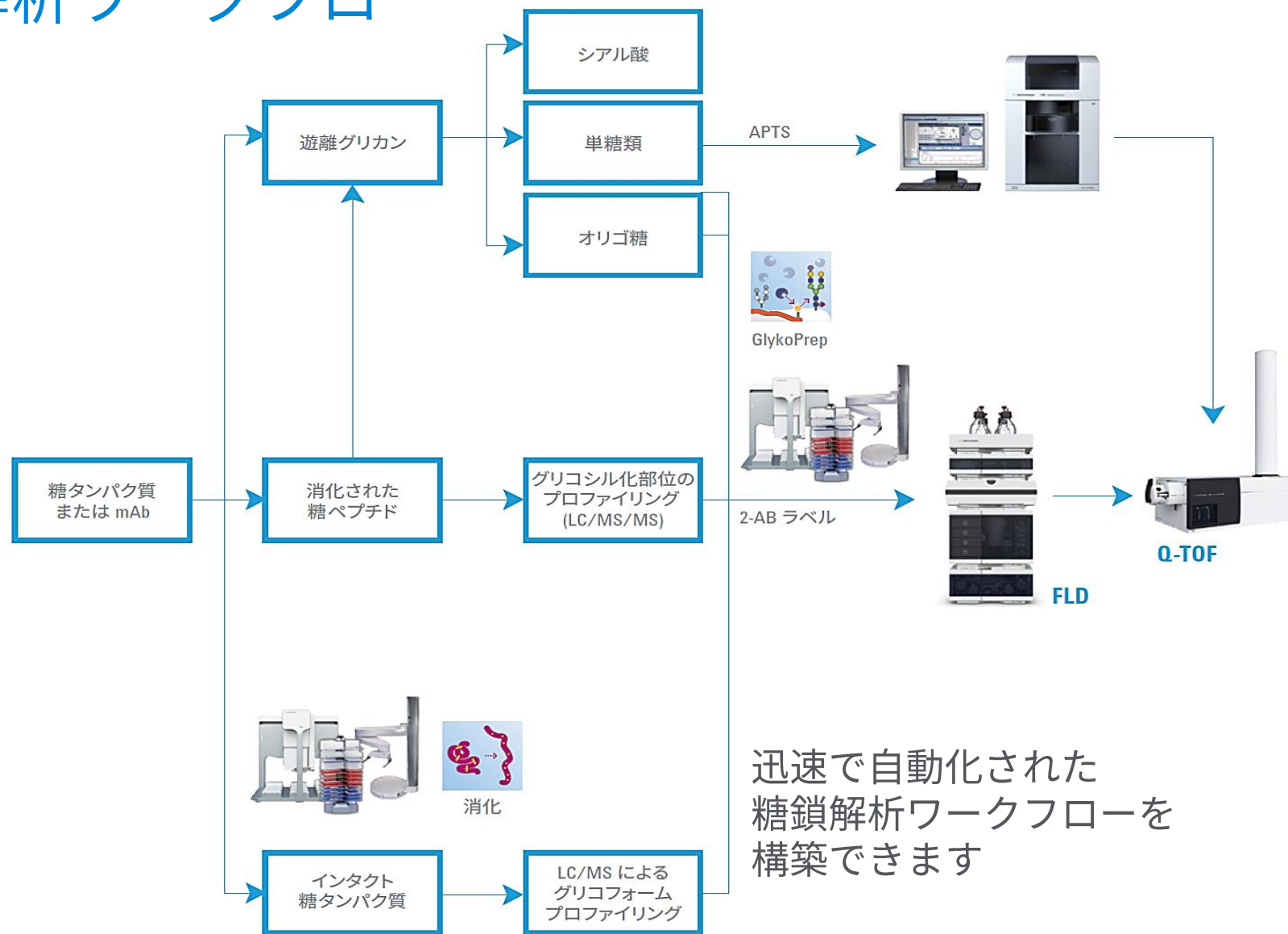


# 糖鎖解析を自動化・省力化する ワークフローソリューション (ダイジェスト版)

2018年7月12日  
アジレント・テクノロジー株式会社

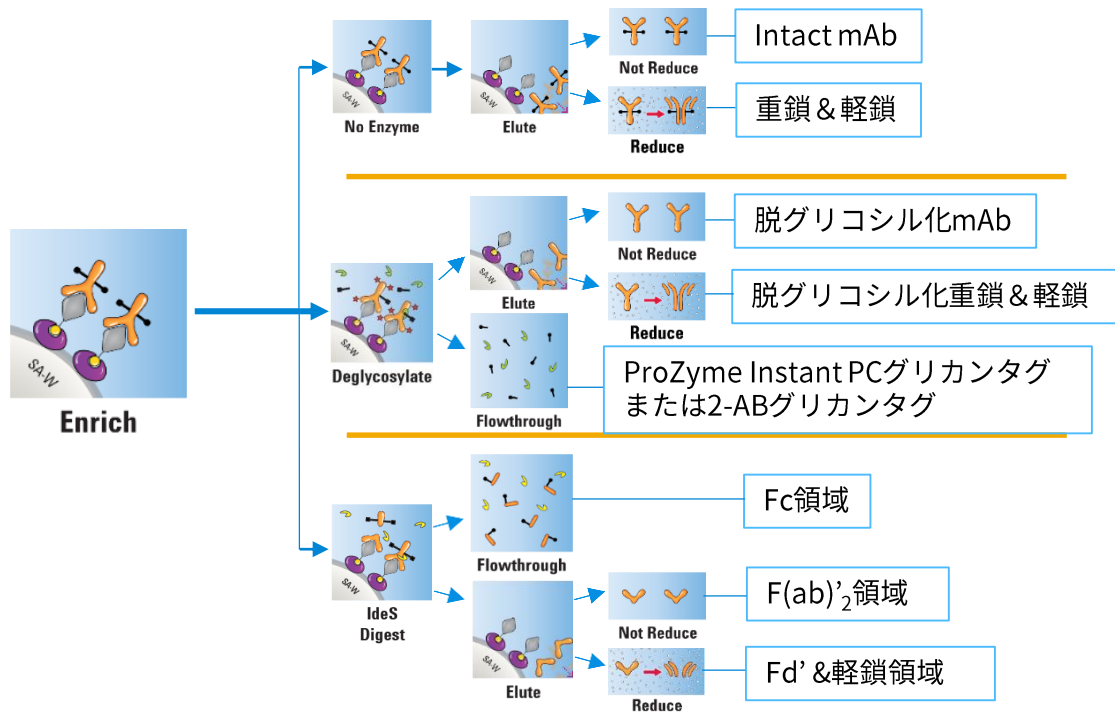


# 糖鎖の特性解析ワークフロー

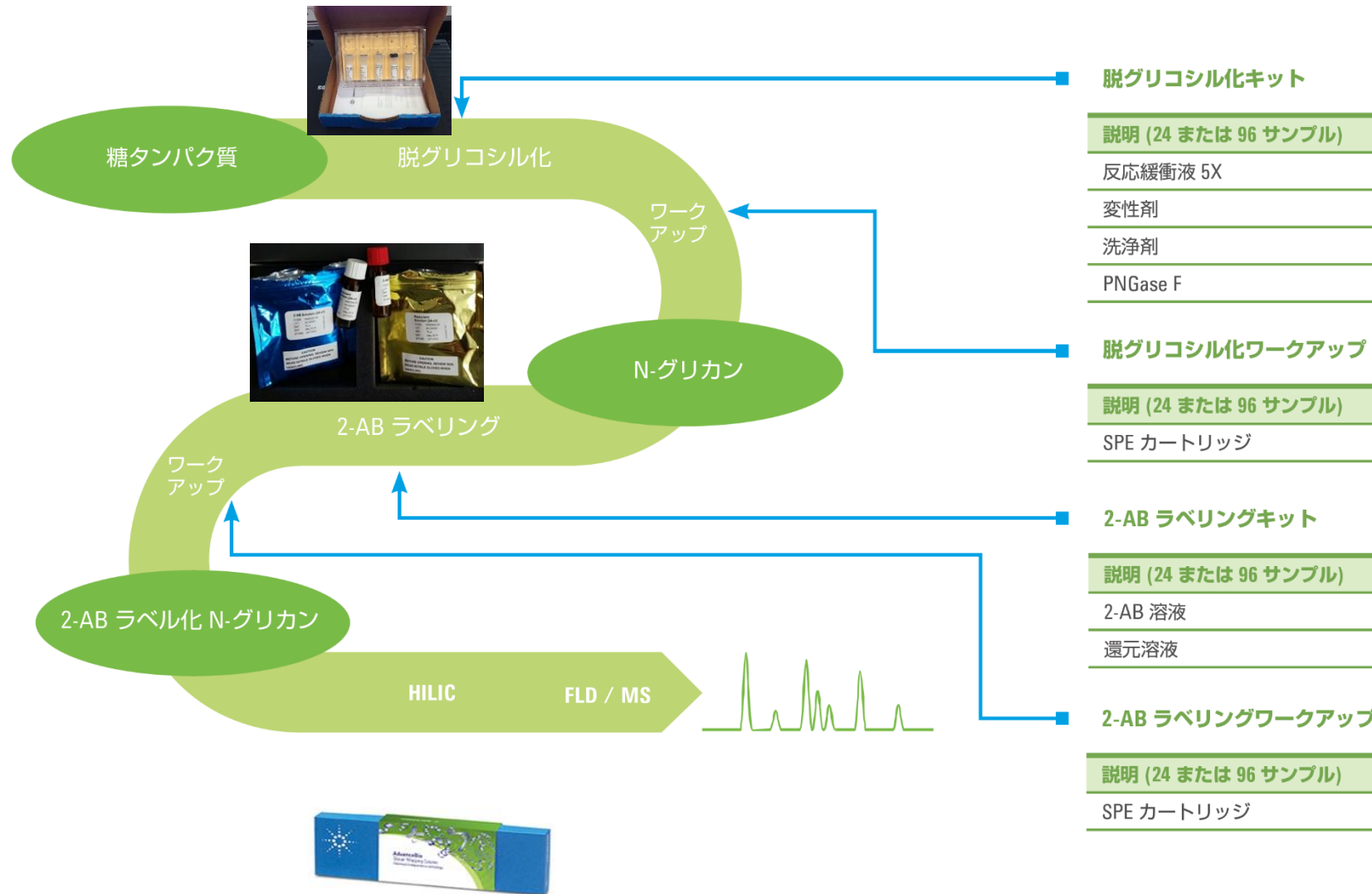


標識されていない遊離グリカンも MS 分析の対象となります。

# サンプル前処理の自動化



# 糖鎖分析用サンプル前処理キット



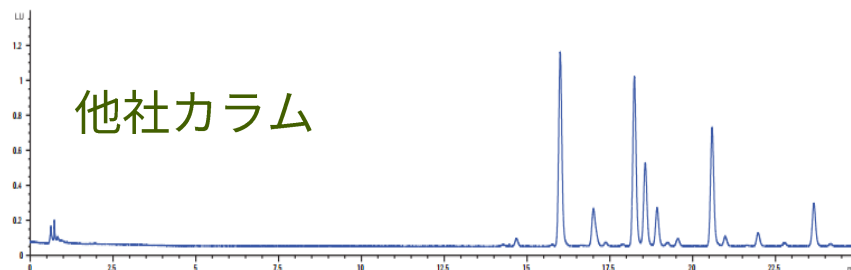
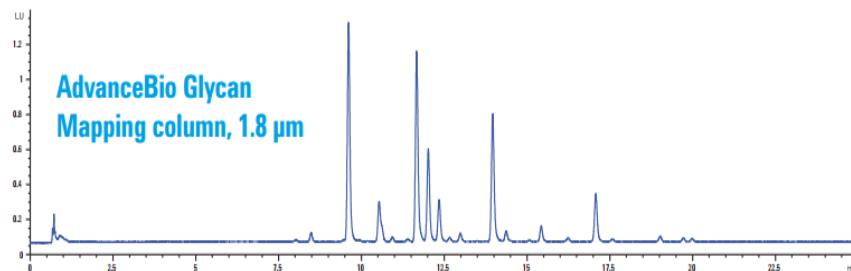
# 糖鎖分析カラム

## AdvanceBio Glycan Mapping

抗体の糖鎖分析向けの

高速高分離カラム

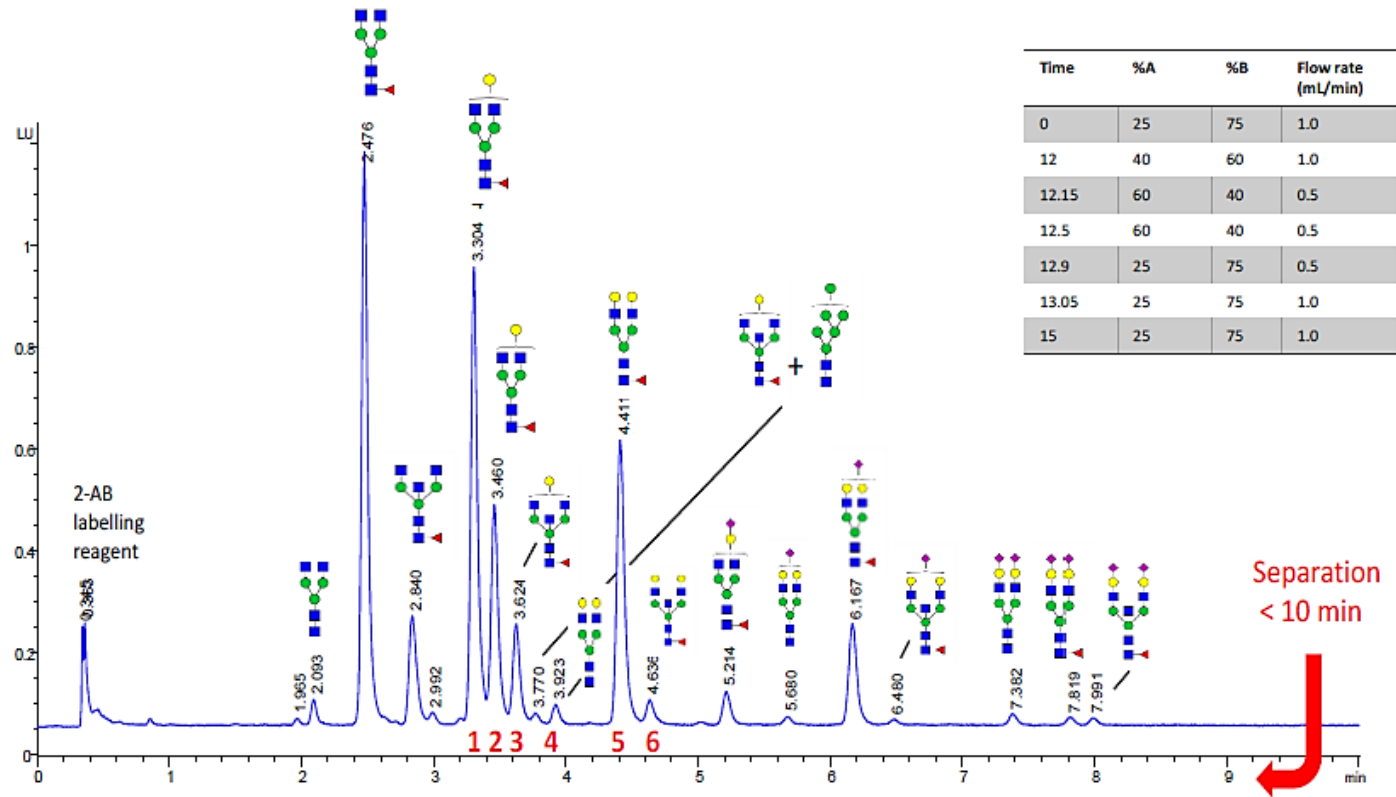
- 粒子径2.7 $\mu\text{m}$ (コアシェル型)と1.8 $\mu\text{m}$ (全多孔性)
- HILICモードを用いて分析
- 2-AB(2-アミノベンズアミド)でラベルした抗体の糖鎖分析などに最適



Time	%A	%B	Flow rate mL/min
0	20	80	0.5
25	40	60	0.5
26	100	0	0.5
27	40	80	0.5

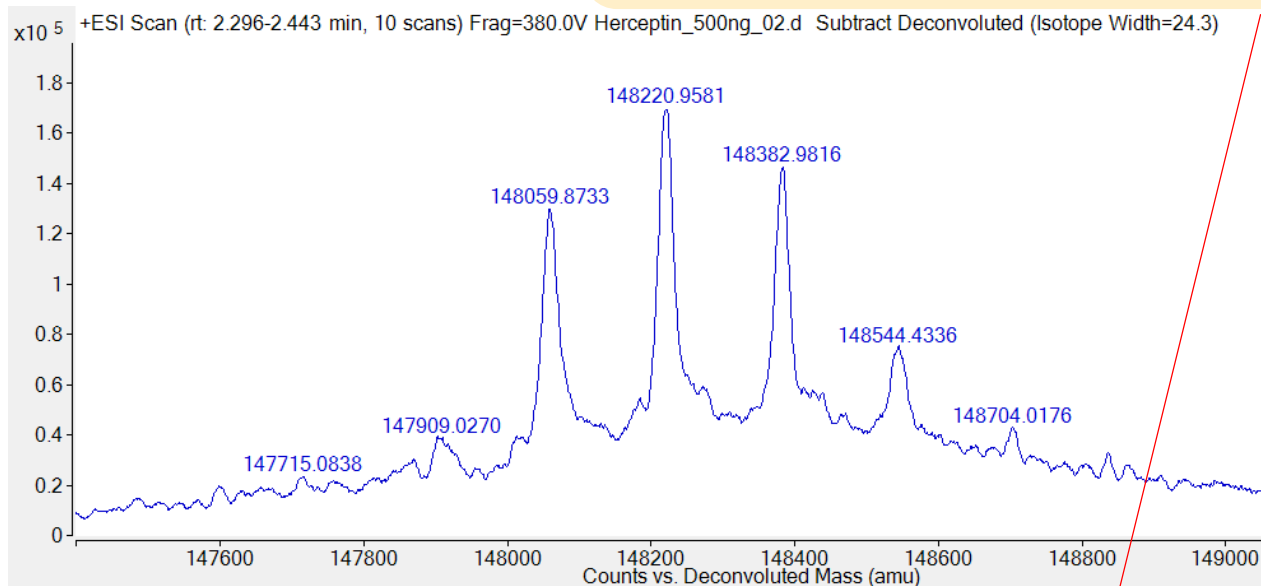
# 迅速な糖鎖分析例

## Rapid Separation of 2-AB labeled N-linked Human IgG Glycans: AdvanceBio Glycan Mapping 2.1 x 150 mm, 1.8 μm



column	Avg. RT (min)	RS 2,1	RS 3,2	R S4,3	RS 6,5	avg. PW (min)	Bp (bar) , [30% A]	Peak Capacity
AdvanceBio Glycan Mapping, 1.8 μm 2.1 x 150mm	3.93	1.63	1.70	3.05	2.09	0.059	298	135

# 糖鎖解析 (BioConfirmソフトウェア)



Pred Mods
1*G0F (NGA2F)/G1F(3052.8593)
1*G0F (NGA2F)/G1F(3052.8593)
1*G0F (NGA2F)/G2F(3215.0025)
2*G0F (NGA2F)(1445.3580)
1*G0F (NGA2F)/G2F(3215.0025)
1*G1F/G2F(3377.1458)

Deconvolution Results (zoomed) Biomolecule Fragment Spectrum  
 Biomolecules: 6 found, 6 shown, filtered on Sequence

General			Sequence Match					Pred Mods
Score	Mass	RT	Seq Name	Tgt Seq Mass	Diff (Bio, pp)	Score (Bio)	Missed	
99.95	148220.9581	2.329	Intact Herceptin_All Links Defined	148220.9758	-0.12	99.95	0 + 0 + 0 + 0	1*G0F (NGA2F)/G1F(3052.8593)
99.85	148221.0078	2.705	Intact Herceptin_All Links Defined	148220.9758	0.22	99.85	0 + 0 + 0 + 0	1*G0F (NGA2F)/G1F(3052.8593)
99.29	148383.0489	2.313	Intact Herceptin_All Links Defined	148383.1191	-0.47	99.29	0 + 0 + 0 + 0	1*G0F (NGA2F)/G2F(3215.0025)
98.86	148058.9216	2.639	Intact Herceptin_All Links Defined	148058.8326	0.6	98.86	0 + 0 + 0 + 0	2*G0F (NGA2F)(1445.3580)
97.31	148382.9816	2.313	Intact Herceptin_All Links Defined	148383.1191	-0.93	97.31	0 + 0 + 0 + 0	1*G0F (NGA2F)/G2F(3215.0025)
37.24	148544.4336	2.313	Intact Herceptin_All Links Defined	148545.2623	-5.58	37.24	0 + 0 + 0 + 0	1*G1F/G2F(3377.1458)

予測された糖鎖修飾を表示

# NEW 遊離糖鎖ワークフロー

データベースを  
活用



糖鎖タグを選択  
(オプション)

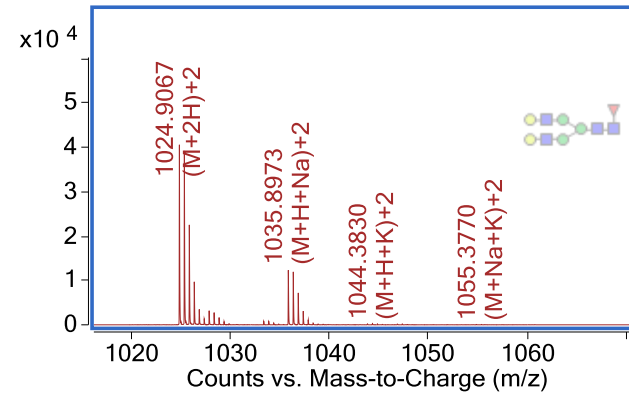
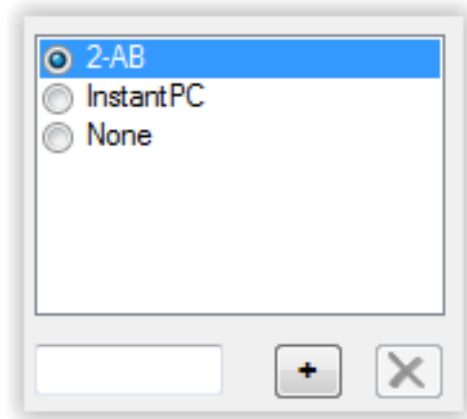


BioConfirm が糖  
鎖解析を実行



見つかった糖鎖  
がレポートに  
出力される

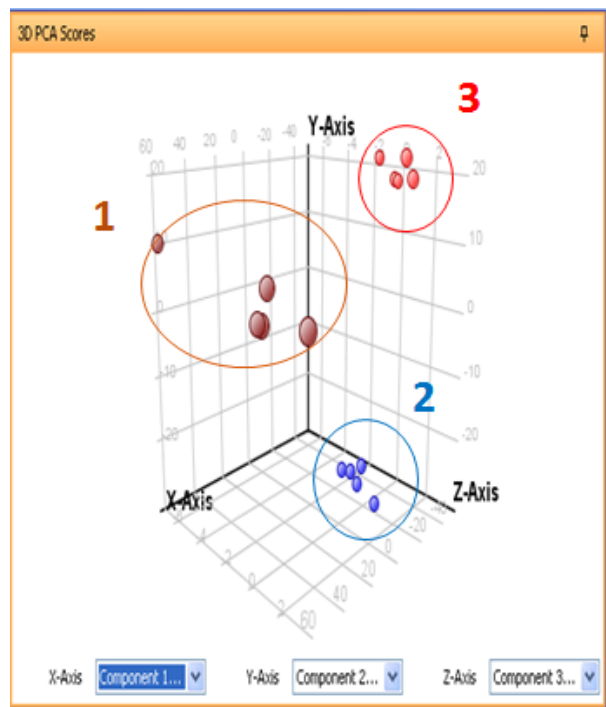
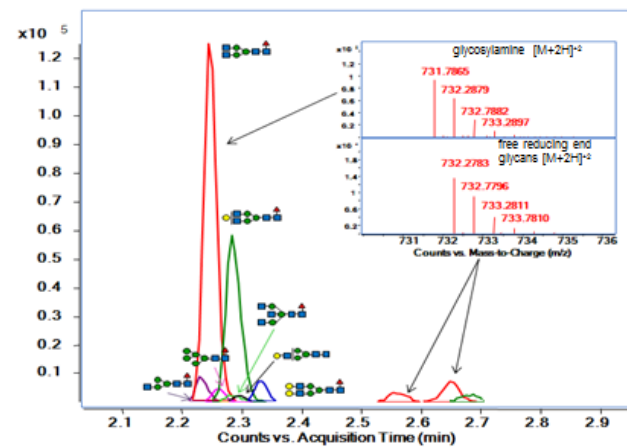
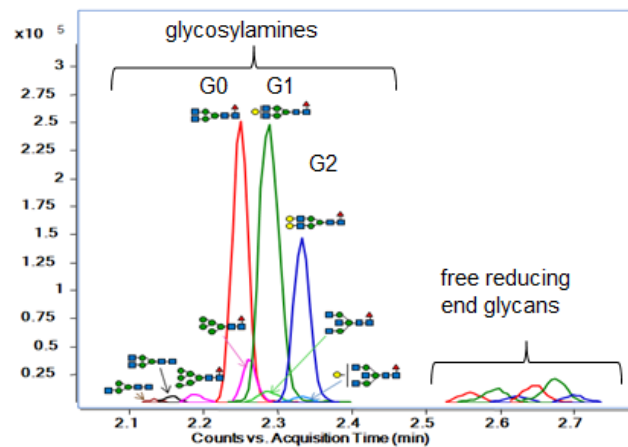
Name	Formula	MW	...
2-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
3-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
4-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
5-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
6-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
7-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
8-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
9-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
10-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
11-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
12-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
13-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
14-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
15-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
16-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
17-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
18-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
19-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...
20-AB	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	282.13	...



Name	Diff (Tgt, ppm)	Score (Tgt)	Hits	Notes	Flags (Tgt)	DBID	Glycan Tag	Type
H3N4F1G0A0	1.12	99.1	1	Hex3HexNAc4a...			12	InstantPC
H4N3F1G0A0	-0.49	99.72	1	Hex4HexNAc3a...			5	InstantPC
H3N5F1G0A0	0.25	99.87	1	Hex3HexNAc5a...			3	InstantPC
H4N4F1G0A0	-0.79	99.55	1	Hex4HexNAc4a...			7	InstantPC
H3N3F1G0A0	0.83	99.02	1	Hex4HexNAc4a...			10	InstantPC
H3N3F1G0A0	-0.86	99.54	1	Hex4HexNAc4a...			7	InstantPC
H4N4F1G0A0	1.02	98.44	1	Hex4HexNAc4a...			10	InstantPC
H5N3F1G0A0	0.33	99.3	1				1	InstantPC
H5N4F1G0A0	0.52	99.83	1	Hex5HexNAc4a...			6	InstantPC
H5N4F1G0A0	0.12	99.75	1	Hex5HexNAc4a...			6	InstantPC
H4N3F1G1A0	0.23	98.65	1	Hex4HexNAc3a...			2	InstantPC
H6N4F1G0A0	-0.13	99.48	1	Hex6HexNAc4a...			4	InstantPC



# 多変量解析によるバイオシミラー相違（糖鎖）の視覚化



Legend - 3D PCA Scores

Color by Name

- Biosimilar m-2
- Biosimilar m-1
- Biosimilar m-2

- Samples from the same manufacturer clearly cluster together.
- Three clusters obtained for three biosimilars.

Compound	Component 1	Component 2	Component 3	Component 4	Mass	Retention Tl...
1395.5034@...	0.97297	0.22898	0.01821	-0.00292	1395.50342	9.484
1477.5565@...	0.97297	0.22892	0.01805	-0.00321	1477.55652	9.500
1531.4764@...	0.97296	0.22914	0.01772	-0.00269	1531.47644	9.500
1515.5032@...	0.36736	0.92802	0.00569	0.02071	1515.50317	9.508
2955.1162@...	0.40119	0.91309	0.02705	0.02034	2955.11621	9.505
1499.532@9...	0.97281	0.22946	0.0168	-0.00032	1499.53198	9.504
1274.4773@...	0.30777	0.94949	-0.00251	0.01671	1274.47729	9.516
1328.3948@...	0.9729	0.22888	0.01753	-0.00362	1328.39478	9.518
1531.4749@...	0.10688	0.88254	-0.03253	0.09404	1531.47485	9.533
1477.5564@...	0.27151	0.96067	-0.00281	0.01639	1477.55640	9.534
1598.5826@...	0.97273	0.22906	0.01637	-0.0015	1598.58264	9.561
1312.4005@...	0.72689	0.47033	0.08743	0.03539	1312.40051	9.560
1258.482@9...	0.4196	0.90416	0.00489	-0.04143	1258.48206	9.570
2720.0442@...	0.60486	0.60838	-0.47331	-0.1689	2720.04419	9.571
1515.4817@...	0.67165	-0.73835	0.01984	-0.02143	1515.48169	9.583
1483.539@9...	0.97273	0.22949	0.018	-0.00534	1483.53894	9.585

サンプル前処理自動化

データ解析

分離

検出  
(質量分析)

6545XT  
AdvanceBio LC/Q-TOF

本ダイジェスト版をご覧いただきありがとうございました。

糖鎖分析ソリューションおよび弊社製品についてのお問い合わせ、さらには、本資料の<詳細版；糖鎖解析の国内及び海外事例を含む>をご希望の方は、所定のフォームからご連絡ください。

下記QRコード、もしくは、URLからアクセスできます。



QRコード

<https://www.chem-agilent.com/form/?name=glycans>