

## グリカンマッピングワークフロー

# AGILENT ADVANCEBIO GLYCAN 1.8 $\mu\text{m}$ マッピングカラム



本書では、生体分子の分析に最適な LC システムとその構成について説明します。また、入門用の一般的なメソッドと、このメソッドを特定の分離目標に合わせて最適化する方法についても説明します。

### Agilent 1290 Infinity UHPLC システム

#### 移動相

溶離液 A: 100 mM のアンモニウムギ酸、pH 4.5

溶媒 B: アセトニトリル

(質量分析に対応)

#### 検出 (G1321B)

Agilent 1260 Infinity 蛍光検出器、

ex 260 nm、em 430 nm、8  $\mu\text{L}$  セル

#### カラムコンパートメント (G1316C)

40  $^{\circ}\text{C}$  で使用すると、カラム寿命が長くなります。60  $^{\circ}\text{C}$  で使用すると、ピークがシャープになりますが、カラム寿命が大幅に短くなります。選択性と分解能は、温度によって変化する可能性があります。

#### サンプル注入 (G4226A)

最大分解能の場合、1 ~ 2  $\mu\text{L}$  を注入。

サンプルは、まず  $\text{H}_2\text{O}$  で溶解し、最終的に ACN:水 = 70:30 で作製します。サンプルは冷却してください。

#### ポンプ (G4220A)

高分解能分析で 0.5 mL/min、高速分析で最高 1.0 mL/min。

高極性溶媒でのカラム洗浄は、必ず低流速で実行してください。



AdvanceBio Glycan マッピング製品には、サンプル前処理法、ラベル付きとラベルなしの標準溶液、および 1.8  $\mu\text{m}$  と 2.7  $\mu\text{m}$  のカラムが含まれます。

### AdvanceBio Glycan マッピング、 1.8 $\mu\text{m}$ 、耐圧 1200 bar

説明	部品番号
2.1 x 100 mm	858700-913
2.1 x 150 mm *	859700-913
Fast Guard, 2.1 mm、	651750-913

\* カラムの推奨初期サイズ

どちらのグラジエントの傾きも 1.25 %/mL です。さまざまな種類のグリカンを含むサンプルで最高の分解能を実現するには、開始点と終了点の調整が必要な場合があります。例えばグリカン構造が大きい場合、最適な結果を出すには、75 ~ 55 % のアセトニトリルグラジエントが必要な場合があります。

#### 分解能の推奨グラジエント

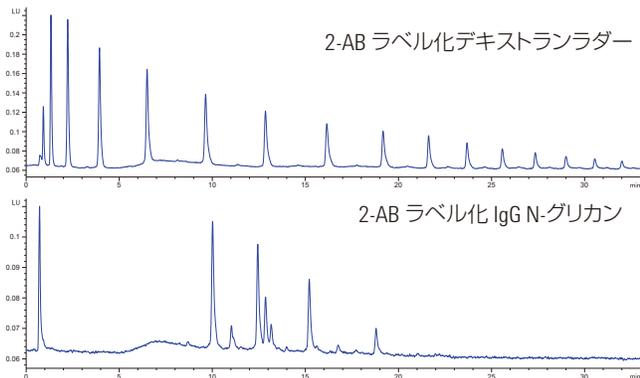
時間	溶離液 A	溶離液 B	流量
0	20 %	80 %	0.5 mL/min
32	40 %	60 %	0.5 mL/min
33	80 %	20 %	0.5 mL/min
35	80 %	20 %	0.5 mL/min
36	20 %	80 %	0.5 mL/min
45	20 %	80 %	0.5 mL/min

#### 速度の推奨グラジエント

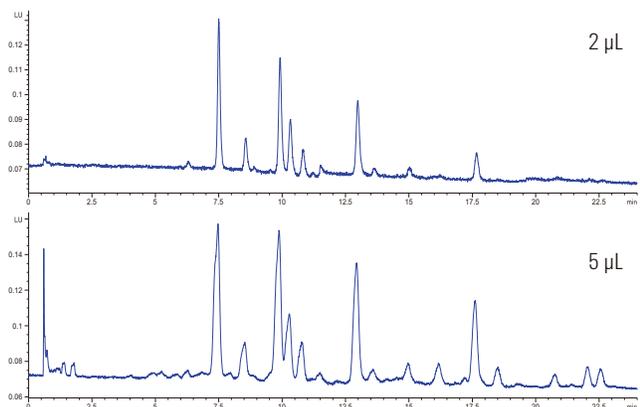
時間	溶離液 A	溶離液 B	流量
0	25 %	75 %	1.0 mL/min
12	40 %	60 %	1.0 mL/min
12.5	80 %	20 %	0.5 mL/min
13.5	80 %	20 %	0.5 mL/min
14	25 %	75 %	0.5 mL/min
15	25 %	75 %	1.0 mL/min
20	25 %	75 %	1.0 mL/min



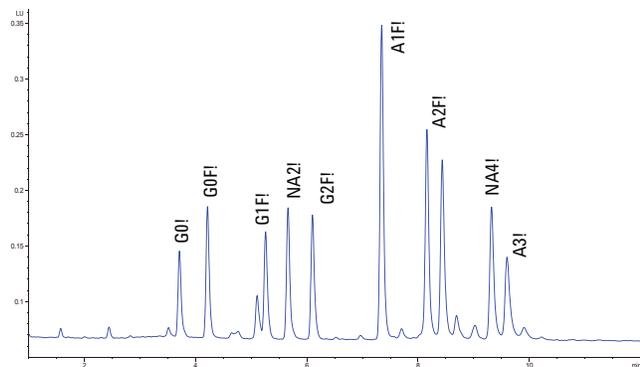
Agilent Technologies



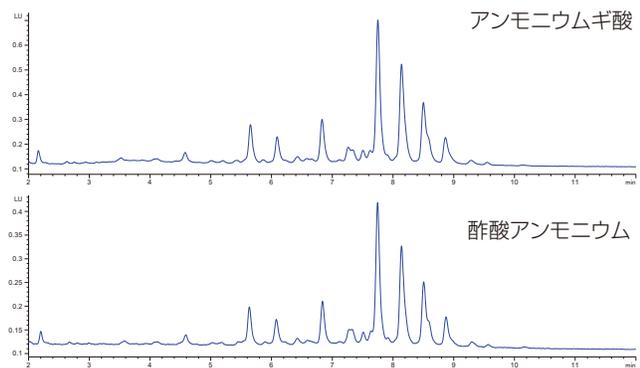
2-AB ラベル化デキストランラダー (p/n 5190-6998) および  
2-AB ラベル化ヒト IgG N-グリカンライブラリ (p/n 5190-6996) の高分解能分離。



2-AB ラベル化ヒト IgG N-グリカンライブラリ (2 µL と 5 µL を比較した場合)。



2-AB ラベル化 N-グリカンの高速分解能 (一時的なピーク指定)。



ウシのフェチュインなどで検出されるグリカンは、アンモニウムギ酸や酢酸アンモニウムの移動相で溶出する場合があります。

時間	溶離液 A	溶離液 B	流量
0	20 %	80 %	0.5 mL/min
32	40 %	60 %	0.5 mL/min
33	80 %	20 %	0.5 mL/min
35	80 %	20 %	0.5 mL/min
36	20 %	80 %	0.5 mL/min
45	20 %	80 %	0.5 mL/min

サンプルは、水で溶解してからアセトニトリルを追加して、最終的に水:アセトニトリル = 30:70 の割合に調製する必要があります。小さいカラム寸法 (2.1 x 150 mm) の場合は、注入量を少なくする必要があります。左の図は、5 µL を注入した結果を示しています。2 µL を注入した場合と比べて、ピークの幅が広くなり、分解能が失われています。

時間	溶離液 A	溶離液 B	流量
0	25 %	75 %	1.0 mL/min
12	40 %	60 %	1.0 mL/min
12.5	80 %	20 %	0.5 mL/min
13.5	80 %	20 %	0.5 mL/min
14	25 %	75 %	0.5 mL/min
15	25 %	75 %	1.0 mL/min
20	25 %	75 %	1.0 mL/min

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本資料に記載の情報、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., 2015  
Printed in Japan, August 15, 2015  
5991-6183JAP