

Agilent AdvanceBio Gly-X InstantPC

迅速な N-グリカンサンプル前処理

Agilent AdvanceBio Gly-X InstantPC の試薬および消耗品を使用すると、N-グリカンの遊離、ラベリング、クリーンアップなど、分析のためのサンプル前処理をわずか 1 時間で完了できます。シンプルなワークフローステップを順を追って説明します。



サンプル前処理には、以下のアイテムも必要です。

ラボ消耗品および器具

ピペットおよびピペットチップ
エッペンドルフチューブ
メスシリンダー (250 mL 以上)
保管用ガラスベッセル (250 mL 以上)
サーマルサイクラー

その他の試薬

ギ酸
アセトニトリル



1. N-グリコシダーゼ希釈標準溶液を調製します。ピペットでサンプルあたり 1.2 μL の N-グリコシダーゼを 1 本のエッペンドルフチューブに移します。**必ず、分注ステップ間でピペットチップを交換してください。**

所要時間：1 分 合計時間：1 分



2. サンプルあたり 2 μL の消化緩衝液をエッペンドルフチューブに加えます。必ず、分注ステップ間でピペットチップを交換してください。N-グリコシダーゼと消化緩衝液を 4 $^{\circ}\text{C}$ に戻します。

所要時間：1 分 合計時間：2 分



3. InstantPC 色素溶液を調製します。150 μL の InstantPC 色素溶媒 (緑色のキャップ) を InstantPC 色素 (オレンジ色のキャップ) に加えます。溶解するまでボルテックスします。色素は乾燥固体で提供され、溶媒を加えると溶液になります。InstantPC 色素溶媒を -20 $^{\circ}\text{C}$ に戻します。

所要時間：5 分 合計時間：7 分



4. ロード/洗浄溶液を調製します。6 mL のギ酸をガラス製メスシリンダーに加えます。

所要時間：3 分 合計時間：10 分



5. アセトニトリルを加えて 240 mL にします。

所要時間：3 分 合計時間：13 分



6. メスシリンダー内の溶液を保管用ガラスベッセルに移します。ふたをしっかりと閉め、回して混合します。
 所要時間：1分 合計時間：14分



7. Gly-X 脱グリコシル化。サンプルを前処理する Gly-X 脱グリコシル化プレートの各ウェルに 2 μ L の Gly-X 変性剤をピペットで分注します。
 所要時間：1分 合計時間：15分



8. 各ウェルに 20 μ L の糖タンパク質サンプルを加えます。ピペットで十分に混合します。**必ず、分注ステップ間でピペットチップを交換してください。**
 所要時間：3分 合計時間：18分



9. ベンチトップにプレートを軽く打ちつけ、ウェルの底にサンプルを集めます。Gly-X 脱グリコシル化プレートをヒーターに載せ、カバーを付けずに 90 $^{\circ}$ C で 3 分間インキュベートします。
 所要時間：5分 合計時間：23分



10. プレートをとり外してベンチトップに置き、室温で 2 分間放置します。その後、プレートの各サンプルウェルに 2 μ L の N-グリコナーゼ希釈標準溶液を加えます。ピペットで十分に混合します。
 所要時間：3分 合計時間：26分



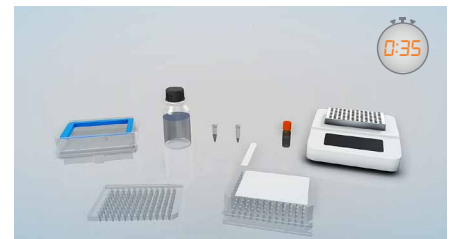
11. ベンチトップにプレートを軽く打ちつけ、ウェルの底にサンプルを集めます。Gly-X 脱グリコシル化プレートをヒーターに載せ、カバーを付けずに 50 $^{\circ}$ C で 3 分間インキュベートします。
 所要時間：3分 合計時間：29分



12. InstantPC ラベリング。プレートの各サンプルウェルに 5 μ L の InstantPC 色素溶液を加えます。ピペットで十分に混合します。
 所要時間：3分 合計時間：32分



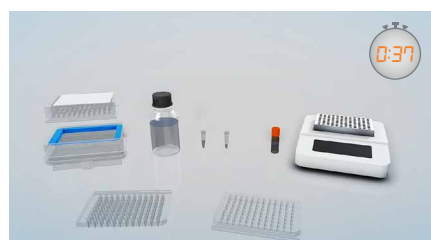
13. ベンチトップにプレートを軽く打ちつけ、ウェルの底にサンプルを集めます。Gly-X 脱グリコシル化プレートをヒーターに載せ、カバーを付けずに 50 $^{\circ}$ C で 1 分間インキュベートします。
 所要時間：2分 合計時間：34分



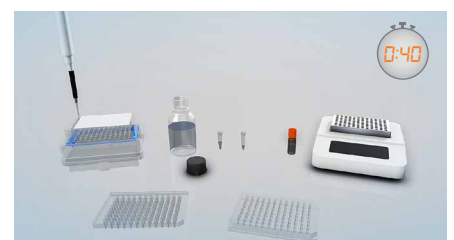
14. InstantPC のクリーンアップ。Gly-X クリーンアッププレートの白色のキャップを慎重に取り外します。
 所要時間：1分 合計時間：35分



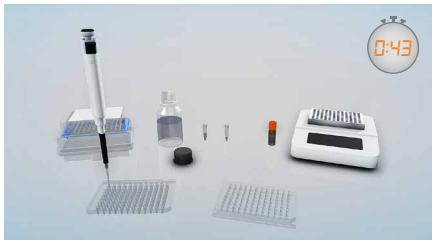
15. 真空マニホールドに廃液トレイを取り付けます。
 所要時間：1分 合計時間：36分



16. 真空マニホールドの上に Gly-X クリーンアッププレートを載せます。
 所要時間：1分 合計時間：37分

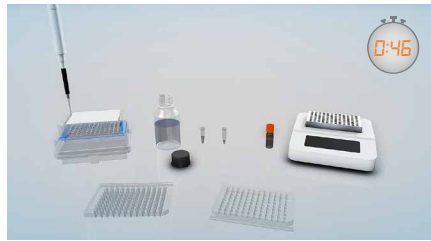


17. Gly-X 脱グリコシル化プレートの各サンプルに対応する Gly-X クリーンアッププレートのウェルに 400 μ L のロード/洗浄溶液を加えます。
 所要時間：3分 合計時間：40分



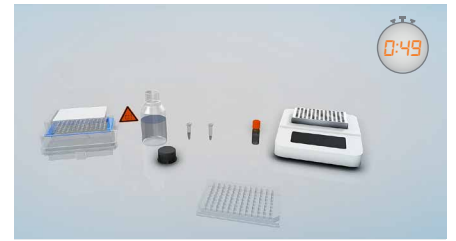
18. Gly-X 脱グリコシル化プレートの最初のサンプルウェルに 150 μL のロード/洗浄溶液を加えます。ピペットで十分に混合します。

所要時間：3分 合計時間：43分



19. Gly-X 脱グリコシル化プレートから Gly-X クリーンアッププレートの対応するウェルにサンプル全量 (約 172 μL) を移します。ピペットで十分に混合します。すべてのサンプルを Gly-X クリーンアッププレートに移し終えるまで、ステップ 18 および 19 を繰り返します。

所要時間：3分 合計時間：46分



20. ポンプを使用して真空 (5 in Hg 未満) を適用し、液体をウェルに通過させて廃液プレートへ排出します。

所要時間：3分 合計時間：49分



21. 各ウェルに 600 μL のロード/洗浄溶液を加えます。再度 2 in Hg の真空を適用して通液します。このステップをさらに 2 回繰り返し、合計 3 回洗浄します。

所要時間：10分 合計時間：59分



22. Gly-X クリーンアッププレートを脇へ置いておきます。Gly-X 真空マニホールドスペーサ (黒色) とコレクションプレート (PCR プレート) を取り付けます。

所要時間：1分 合計時間：60分



23. Gly-X クリーンアッププレートを再び真空マニホールドに載せます。サンプルが入っているクリーンアッププレートの各ウェルに 100 μL の Gly-X InstantPC 溶出液を加えます。2 in Hg 未満の真空を適用します。

所要時間：3分 合計時間：63分



24. コレクションプレート (PCR プレート) を取り出します。分析前に各サンプルを混合します。プレートをホイルでカバーします。

所要時間：3分 合計時間：66分



25. コレクションプレートをマルチサンプルラにセットし、分析を実行します。

所要時間：1分 合計時間：67分

グリカンのサンプル前処理製品および分析用消耗品が すべてアジレントで揃います

以下の製品をご用意しています。

- 幅広い N-グリカンラベルの、迅速で使いやすいサンプル前処理キット
- ラベル化 N-グリカン標準およびライブラリ
- ラベルなし N-グリカン標準およびライブラリ
- N-グリカンの構造特性解析用エンドグリコシダーゼおよびエキソグリコシダーゼ
- インタクト糖タンパク質から遊離グリカンや単糖類まで、あらゆるレベルの分析に適した HILIC カラムおよびその他 LC 用消耗品

詳細については、[グリカン分析のホームページ](#)をご覧ください。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタ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 2, 2021
5994-3482JAJP
DE44343.6400462963