

# 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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu$ 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  $\mu$ 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



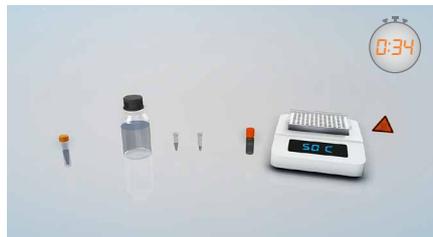
10. プレートを取り外してベンチトップに置き、室温で 2 分間放置します。その後、プレートの各サンプルウェルに 2  $\mu$ L の N-グリコナーゼ希釈標準溶液を加えます。ピペットで十分に混合します。  
 所要時間：3分 合計時間：26分



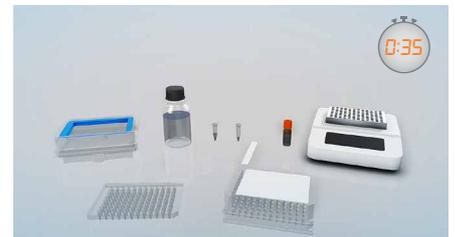
11. ベンチトップにプレートを軽く打ちつけ、ウェルの底にサンプルを集めます。Gly-X 脱グリコシル化プレートをヒーターに載せ、カバーを付けずに 50  $^{\circ}$ C で 3 分間インキュベートします。  
 所要時間：3分 合計時間：29分



12. InstantPC ラベリング。プレートの各サンプルウェルに 5  $\mu$ 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



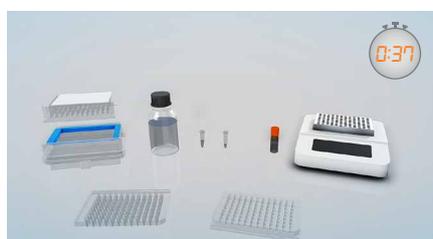
13. ベンチトップにプレートを軽く打ちつけ、ウェルの底にサンプルを集めます。Gly-X 脱グリコシル化プレートをヒーターに載せ、カバーを付けずに 50  $^{\circ}$ C で 1 分間インキュベートします。  
 所要時間：2分 合計時間：34分



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



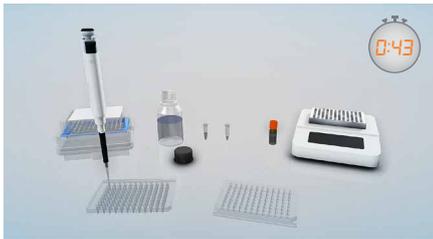
15. 真空マニホールドに廃液トレイを取り付けます。  
 所要時間：1分 合計時間：36分



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  $\mu$ 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  $\mu\text{L}$  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



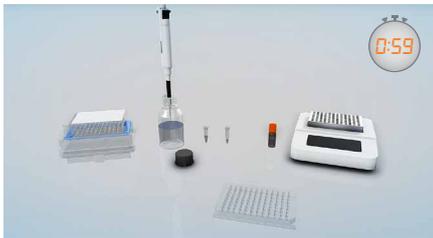
**19.** Gly-X 脱グリコシル化プレートから Gly-X クリーンアッププレートの対応するウェルにサンプル全量 (約 172  $\mu\text{L}$ ) を移します。ピペットで十分に混合します。すべてのサンプルを Gly-X クリーンアッププレートに移し終えるまで、ステップ 18 および 19 を繰り返します。

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  $\mu\text{L}$  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



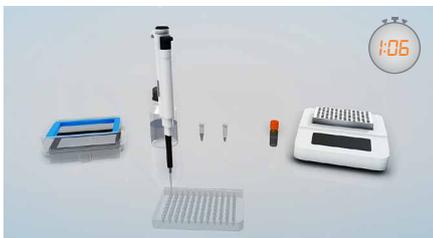
**22.** Gly-X クリーンアッププレートを脇へ置いておきます。Gly-X 真空マニホールドスぺーサ (黒色) とコレクションプレート (PCR プレート) を取り付けます。

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  $\mu\text{L}$  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](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタマコンタクトセンタ

**0120-477-111**

[email\\_japan@agilent.com](mailto: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