

糖基化表征

一级氨基酸序列的翻译后修饰（包括糖基化）将会造成功能上的变化，并且可能影响生物药物的疗效和免疫源性。多聚糖结构还会影响蛋白质在血浆中的半衰期以及单克隆抗体触发具有治疗意义的免疫应答的能力。监管机构将糖基化归为关键质量属性，因此在糖蛋白原研药、生物仿制药或改良型生物相似药的开发阶段，研究人员必须对糖基化进行表征并且在可接受的范围内获得定量结果。

可采用多种分析方法获得蛋白糖基化的结构和形态信息。

- 对于结构鉴定，包括糖基化位点的鉴定，可使用质谱检测联用反相和亲和和相互作用色谱 (HILIC)
- 含有唾液酸的多聚糖也会向蛋白质传递更多电荷，并且可使用离子交换色谱进行表征

当对糖蛋白和糖肽进行表征并获得糖基化位点的数量和位置信息后，就需要对单个多聚糖进行鉴定和定量。要进行这类分析，必须先将多聚糖从蛋白质上切下，再用 HILIC 色谱柱进行分析。由于多聚糖不含发色团，所以使用具有荧光发色团的试剂对其进行衍生，以使用 FLD 检测器进行分析和定量。



亲和相互作用色谱柱选择

应用	安捷伦色谱柱	备注
从糖蛋白上裂解下来的多聚糖 包括单克隆抗体	AdvanceBio 糖谱分析色谱柱	氨基键合相可缩短平衡时间并提高多聚糖选择性。
	1.8 μm	该色谱柱基于全多孔颗粒填料，适合高速分离和高通量应用。耐压高达 1200 bar，可与 1290 Infinity II 液相色谱仪一起使用。
	2.7 μm	基于 Poroshell 技术，可制得具有更小的扩散距离的表面多孔颗粒填料。这在较低的压力下实现了高分离度分离，并能够使用更长的柱长来提高分离效率。
亲水性多肽和糖肽	ZORBAX RRHD 300 Å, 1.8 μm	300 Å 硅胶颗粒可与 ZORBAX RRHD 300 Å, 1.8 μm 反相色谱柱进行正交分离。
	AdvanceBio 糖谱分析色谱柱	氨基键合相为亲水性小分子肽和糖肽提供可选的 HILIC 官能团。

AB

AB

AB AdvanceBio 系列产品的一部分

技巧和工具

可以将 Agilent BioHPLC 色谱柱与 InfinityLab Quick Connect 快速连接接头和无金属的生物惰性毛细管连接。

了解更多信息：www.agilent.com/chem/5991-7469EN