

AdvanceBio 糖谱分析色谱柱

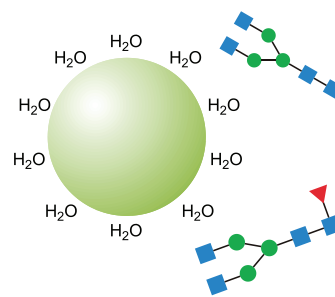
用于从糖蛋白（包括单克隆抗体）中选择性地去除 N-糖的 AdvanceBio 糖谱分析色谱柱、标准品和样品前处理产品。

分析速度 — 1.8 μm 色谱柱可实现高通量的 N-糖分析，适合由于样品数量庞大或需要快速得到数据而需要将速度作为主要考虑因素的应用

分离度 — 使用 2.7 μm 颗粒和 250 mm 柱长的色谱柱实现高分离度分离。这种更高的分离度可对目标多聚糖以及表达过程中可能出现的蛋白糖基化谱图变化进行准确的定量分析

综合性方法 — 覆盖样品前处理、色谱分析和数据解析，确保鉴定和定量的可重现性以及准确度

订购简便 — 使用一个部件号就可订购用于蛋白质溶解到 2-AB 标记的多聚糖纯化的全部样品前处理工作流程，以及针对样品前处理工作流程中每个阶段的试剂盒，具有更多功能



色谱柱性能指标

| 键合相 | 内径 (mm) | 填料 | 封端 | pH 稳定性 | 操作温度 | 压力限值 |
|----------|-----------|--------------------------|----|--------|-------|----------|
| 酰胺 HILIC | 2.1 和 4.6 | 1.8 μm , 全多孔 | 否 | 2-7 | 40 °C | 1200 bar |
| 酰胺 HILIC | 2.1 和 4.6 | 2.7 μm , 表面多孔 | 否 | 2-7 | 40 °C | 600 bar |

对糖蛋白（包括单克隆抗体）的 N-糖组分谱进行分析时，需要使用 PNGase F 将 N-糖从蛋白质氨基酸主链上酶切下来。切下的 N-糖可使用亲和相互作用色谱联用质谱检测进行分析，或使用具有荧光发色团的试剂 2-氨基苯甲酰胺 (2-AB) 衍生化后通过 HPLC/UHPLC 联用 FLD 或 MS 进行分析。AdvanceBio 糖谱分析色谱柱用于鉴定和定量裂解的多聚糖时可提供 1.8 μm 填料的分析速度和 2.7 μm 填料的分离度。

分析速度

对于需要短运行时间的高通量分析，建议使用 AdvanceBio 糖谱分析 1.8 μm 色谱柱。

出色的结果 — 比竞争对手节约 40% 的时间

色谱柱: AdvanceBio 糖谱分析色谱柱,
859700-913
2.1 \times 150 mm, 1.8 μm

色谱柱 B: 竞争产品亚 2 μm 糖谱分析色谱柱

流动相: 100 mmol/L 甲酸铵, pH 4.5
B: ACN

进样量: 2 μL , 溶液为 70:30 乙腈: 100 mmol/L 甲酸铵

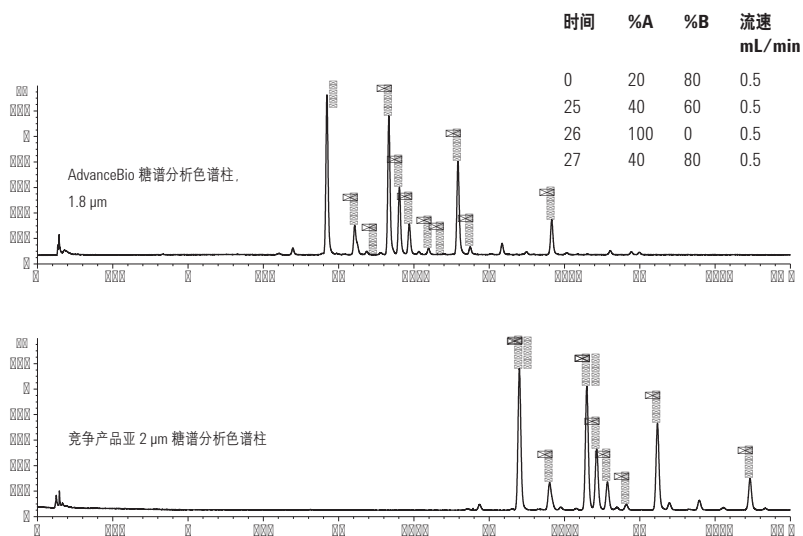
样品恒温箱: 10 $^{\circ}\text{C}$

FLD: 激发波长 = 260
发射波长 = 430

流速: 0.35 mL/min

仪器: 配备 1260 Infinity 荧光检测器 (FLD) 的 1290 Infinity 液相色谱系统

样品: 2-AB 标记的人 IgG N-糖文库 (部件号 5190-6996)



与 2.1 \times 150 mm 规格的非安捷伦亚 2 μm 糖分析色谱柱相比, AdvanceBio 糖谱分析色谱柱可提供更高的分离度、更窄的色谱峰以及更高的峰容量

分离度

对于高分离度分离，建议使用柱长更长的 AdvanceBio 糖谱分析 2.7 μm 填料。

出色的结果 — 比竞争对手节约 40% 的时间

色谱柱: AdvanceBio 糖谱分析色谱柱,
859700-913
2.1 \times 150 mm, 1.8 μm

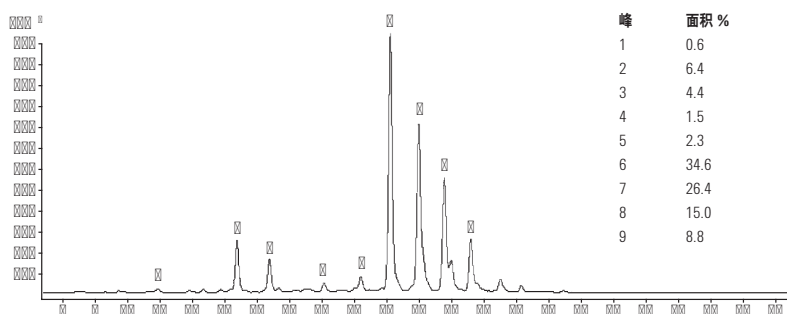
仪器: 1290 Infinity 二元液相色谱系统

缓冲液: A: 100 mmol/L 甲酸铵水溶液, pH 4.5

B: 乙腈

质谱条件:

| | |
|---------------|------------------------|
| 载气温度: | 250 $^{\circ}\text{C}$ |
| 鞘气温度: | 250 $^{\circ}\text{C}$ |
| 载气流速: | 8 L/min |
| 鞘气流速: | 8 L/min |
| 雾化器压力: | 25 psi |
| 毛细管电压: | 3500 V |
| 喷嘴电压: | 1000 V |
| 碎裂电压: | 200 V |
| 截取电压: | 45 V |
| Oct 1 RF Vpp: | 550 |
| 碰撞能量: | 15 和 30 V |
| 模式: | MS 和目标 MS/MS |



经过 2-AB 衍生化后，使用 UHPLC-FLD 对用 PNGase F 从胎球蛋白裂解下来的 N-糖进行分析。MS 的峰归属结果表明，从胎球蛋白裂解下来的 N-糖是包含 N-乙酰神经氨酸 (NeuAc) 但无岩藻糖的复杂双天线或三天线多聚糖。用 HILIC-UHPLC 分析胎球蛋白 2-AB N-糖，并利用质谱确定峰归属。

仪器条件

| | 抗体标准梯度 | 胎球蛋白梯度 | 卵清蛋白梯度 |
|---------|--|------------------------------------|---------------------------------|
| 初始流速 | 0.5 mL/min | 0.5 mL/min | 0.5 mL/min |
| 梯度 | 0 min 85% B | 0 min 75% B | 0-6 min 85% B |
| | 5 min 75% B | 45 min 50% B | 10 min 80% B |
| | 35 min 64% B | 47 min 40% B, 流速 0.5 mL/min | 60 min 70% B |
| | 40 min 50% B | 47.01 min, 流速 0.25 mL/min | 65 min 50% B, 流速 0.5 mL/min |
| | 42 min, 流速 0.5 mL/min 42.01 min, 流速 0.25 mL/min | 49 min 0% B | 65.01 min, 流速 0.25 mL/min |
| | 43 min 0% B | 51 min 0% B | 68 min 0% B |
| | 48 min 0% B | 51.01 min 75% B, 流速 0.25 mL/min | 73 min 0% B |
| | 50 min 85% B 50.01 min, 流速 0.25 mL/min | 52.00 min, 流速 0.5 mL/min | 74 min 85% B, 流速 0.25 mL/min |
| | 51 min, 流速 0.5 mL/min | | 75.00 min, 流速 0.5 mL/min |
| | 停止时间 | 51 min | 52 min |
| 后运行时间 | 20 min | 20 min | 20 min |
| 进样量 | 5 μ L | 1 μ L | 1 μ L |
| 温控自动进样器 | 5 $^{\circ}$ C | | |
| FLD | 激发波长 = 260 nm 发射波长 = 430 nm | | |
| 峰宽 | > 0.013 min (响应时间 0.25 s) (37.04 Hz) | | |

卵清蛋白 N-糖的详细信息

| 峰 | Oxford | 结构 |
|------|------------------------|----|
| 1 | A2G2S1 | |
| 2, 3 | A2G2S2 | |
| 4 | A3GGS2 | |
| 5 | A3G3S3, A3G3S2 (痕量) | |
| 6 | A3G3S3, A3G3S2 (痕量) | |
| 7 | A3G3S3, A3G3S4 (痕量) | |
| 8 | A3G3S4, A3G3S3 | |
| 9 | A3G3S4 | |

- 岩藻糖
- 半乳糖
- 甘露糖
- N-乙酰葡萄糖胺
- N-乙酰神经氨酸