

多糖類の分析

Application Note: AN 2.004-V1

治療用抗体は、癌、アレルギー、炎症、感染症、自己免疫疾患など多くの疾患の制御に重要な役割を果たす治療薬のカテゴリーです。治療用タンパク質上の糖鎖構造の解析は、クリアランスや作用機序における糖鎖の役割のために最も重要です。糖鎖分析の主な技術としては、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、質量分析 (MS) およびキャピラリー電気泳動 (CE) があります。

2-アミノ安息香酸 (2AB) はHPLCによる単糖またはオリゴ糖の分析によく用いられる色素です。

μLC-LEDIF 分析

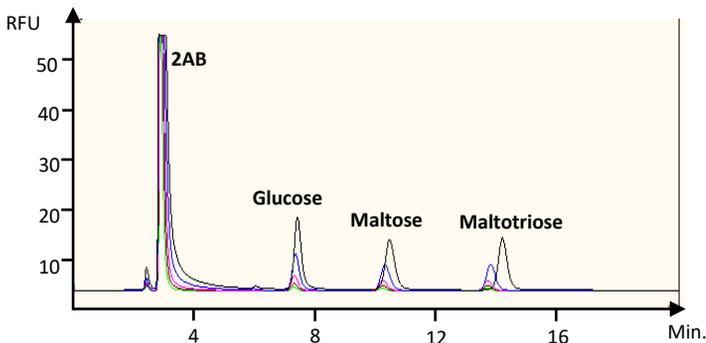


Figure 1 : 2ABで標識したグルコース、マルトース、マルトトリオースの5水準の濃度でのμLC/LEDIF分析 : 50 μM (黒)、25 μM (青)、10 μM (ピンク)、5 μM (茶)、2.5 μM (緑)

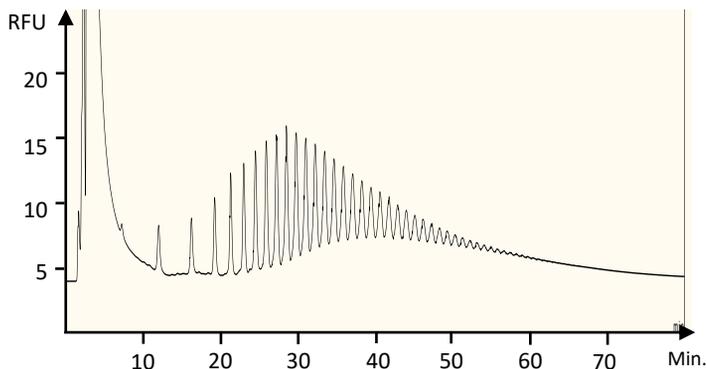
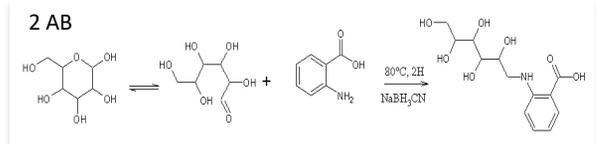


Figure 2 : μLC/LEDIFによる2AB標識デキストラン5000の分析

Figure 1と2はそれぞれ、2ABで標識した3種類の糖 (グルコース、マルトース、マルトトリオース) の分離と、μLC/LEDIFによるデキストランの分離を示しています。Figure 3は、0.25 μMから10 μMの範囲における検量線を示しています。

検量線は、糖の濃度と蛍光強度の間に直線的な相関を示しています。

2ABで標識したグルコースの検出限界は、365 nmのLEDで10 nMでした。



装置 :

HP1100 Agilent Technologies

検出器 : Picometrics ZETALIF LED with 365 nm LED

サンプル :

2ABで蛍光標識したデキストラン5000

標識 :

2 mgのデキストラン5000を15 μLの2AB溶液 (30 mgの2ABを500 μLのメタノール+2.5%の酢酸ナトリウム+2%のホウ酸で希釈) と10 μLのシアノ水素化ホウ素ナトリウム (238 μLを262 μLのメタノール+2.5%の酢酸ナトリウム+2%のホウ酸で希釈) で希釈しました。このサンプルを80 °Cで1時間加熱しました。反応後、溶液を蒸留水で希釈し、最終容量を250 μLとしました。

メソッド :

カラム : TSK gel NH2-100 150 X 2.0 mm, 3 μm, 東ソー
流量 : 0.2 mL/min

移動相 A : 1.5% トリエチルアミン + 1.5% 酢酸水溶液

移動相 B : 1.5% 酢酸含有アセトニトリル

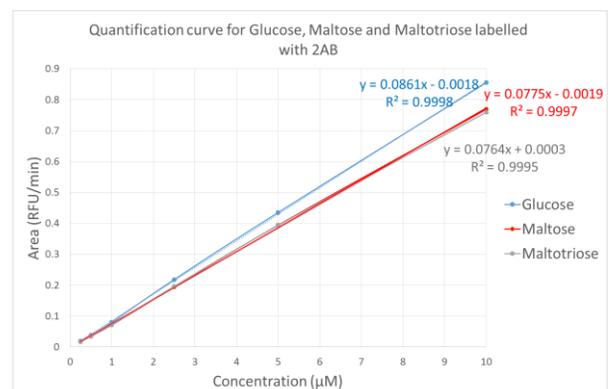


Figure 3 : μLC/LEDIF (365 nmLED) でのグルコース (青)、マルトース (赤)、マルトトリオース (灰) の検量線