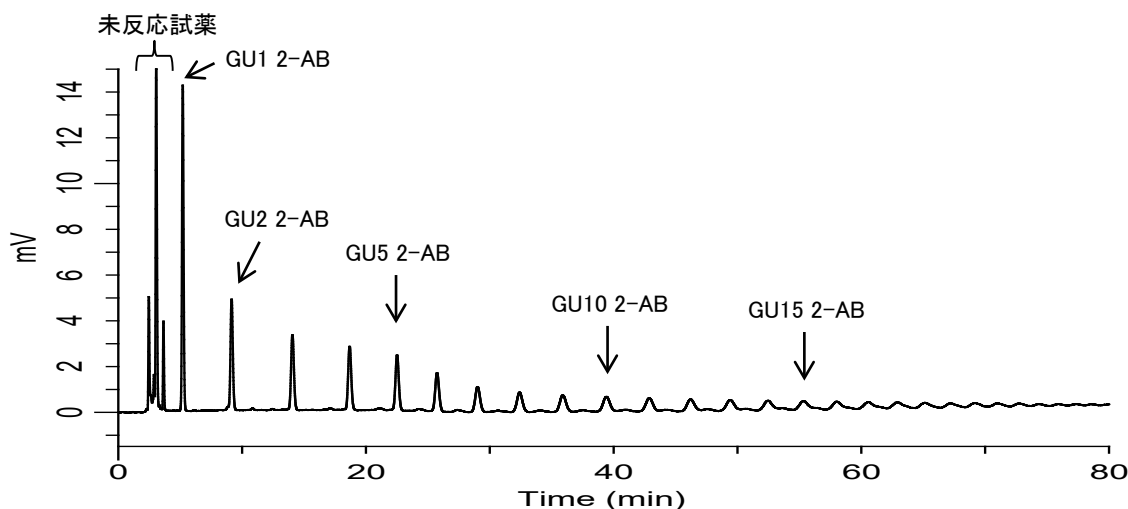


糖鎖を分析する際には、蛍光誘導体化してからHPLCで測定する方法が多く用いられます。誘導体化反応を行った直後の溶液には未反応の誘導体化試薬が大量に残存していますが、HPLCに注入する前に固相抽出を行うことで未反応試薬のみを除去することができます。

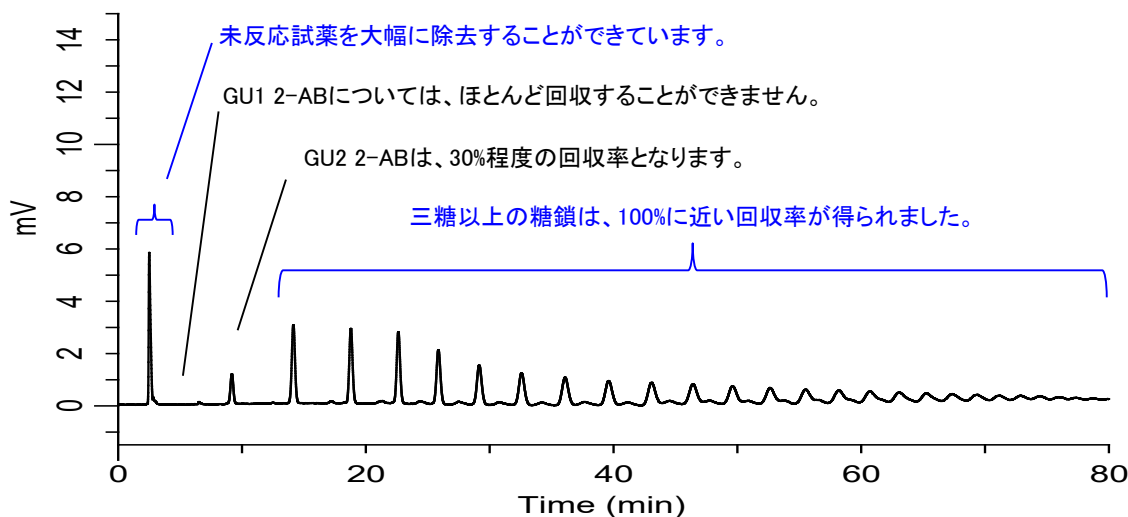
今回、スピンの固相カラムであるMonoSpinを使用して、2-アミノベンズアミド(2-Aminobenzamide, 2-AB)で誘導体化した糖鎖を未反応試薬と分離することができましたので、ご報告します。MonoSpin AmideとMonoSpin NH₂の2種類で評価した結果、両者とも三糖以上の糖鎖を回収することができました。

(Y. Yui, C. Aoyama, S. Ota)

精製する前の試料溶液を測定した場合



MonoSpin Amideで精製した後の溶液を測定した場合



HPLC条件

システム : GL7700 HPLC System
カラム : InertSustain Amide (5 μm, 250 × 4.6 mm I.D.)
溶離液 : A) CH₃CN
 B) 50 mM HCOONH₄ in H₂O (pH 4.4, HCOOH)

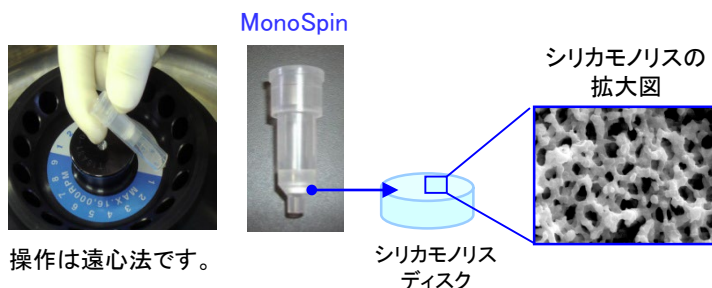
流量 : 1.0 mL/min
カラム温度 : 50 °C
検出 : FL Ex 330 nm Em 420 nm
 (FL7753 FL Detector)

注入量 : 25 μL
試料 : 2-AB Labeled Glucose Homopolymer Ladder

Time(min)	A(vol%)	B(vol%)
0	80	20
20	65	35
80	50	50
90	50	50

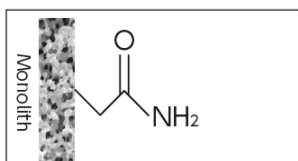
◆ MonoSpin とは？

MonoSpin シリーズは、均一な連続孔を持つシリカモノリスを用いたスピнкаラムです。空隙率の高いシリカモノリスを担体として用いているので、遠心操作だけで通液させることができます。そのため、短時間の簡便な操作で試料の精製・濃縮を行うことができます。また、ベッドボリュームが小さく液切れも良いので、試料量が少ない場合にも適しています。



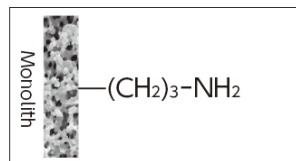
◆ MonoSpinを用いた精製について

MonoSpin Amide



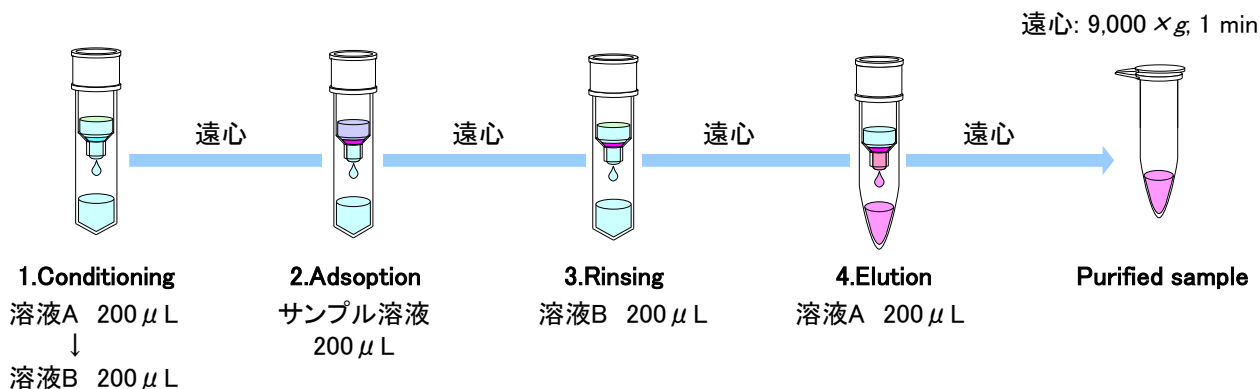
シリカモノリスの表面にアミド基を結合したカラムです。主にHILICモードで使われ、幅広い親水性化合物の抽出に最適です。

MonoSpin NH2



シリカモノリスの表面にアミノプロピル基を結合したカラムです。HILICモードの他、弱陰イオン交換カラムとしても使用できます。

精製手順



溶液A:

水:アセトニトリル:ギ酸=50:50:0.1 (v/v/v)

溶液B:

水:アセトニトリル:ギ酸=10:90:0.1 (v/v/v)

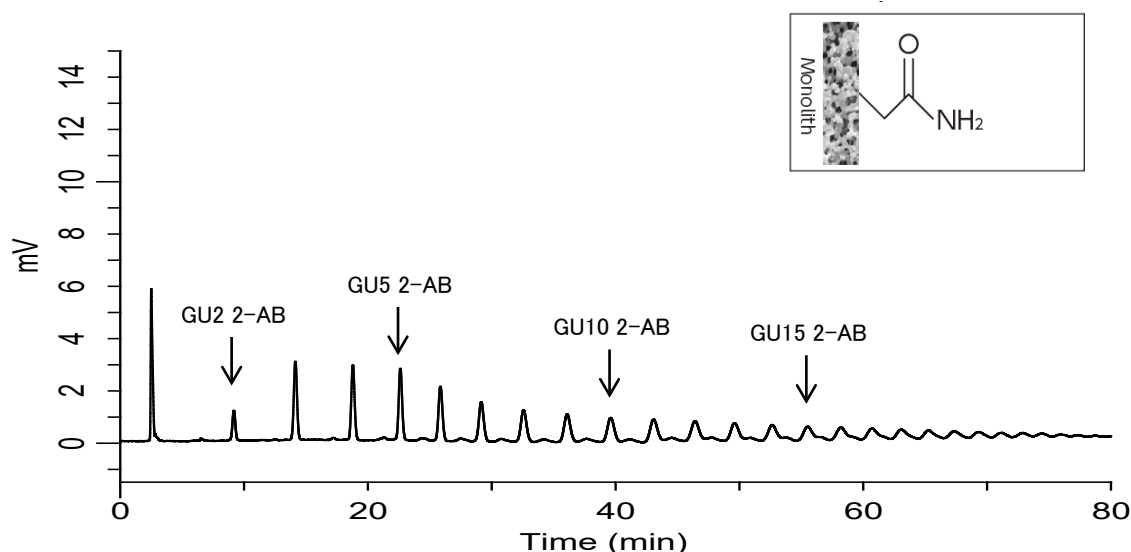
サンプル溶液:

今回は、2-AB糖鎖がDMSO:酢酸=70:30 (v/v)に溶けている溶液10 μLに対して、水を10 μL、アセトニトリルを180 μL添加して混合したものを使用しました。

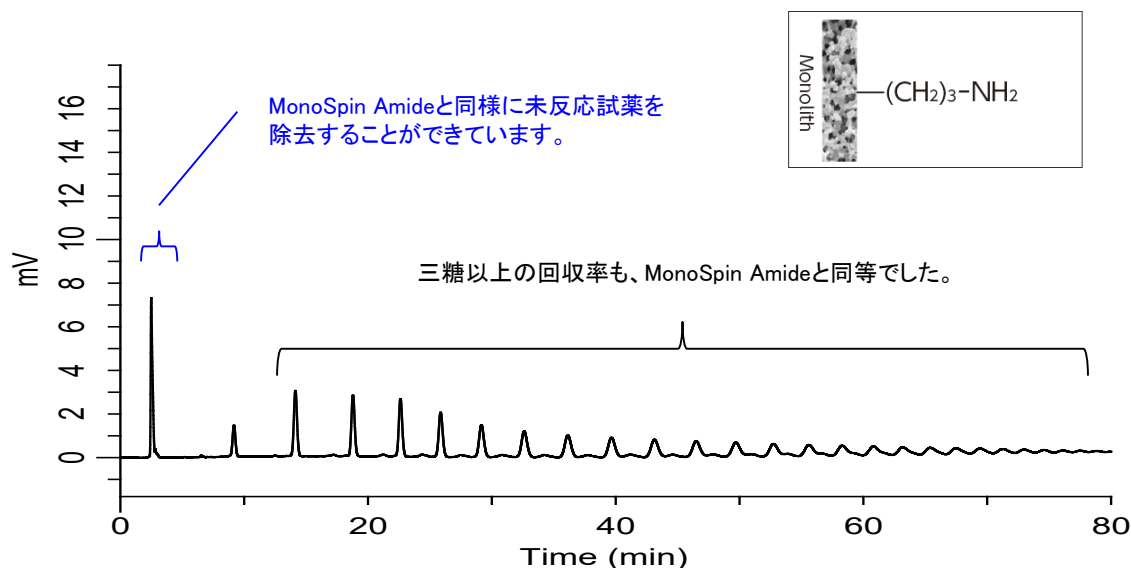
◆ MonoSpin Amideの代わりにMpsnoSpin NH2を使うと・・・

MonoSpin NH2でもMonoSpin Amideと同じ前処理操作で2-ABの未反応試薬の除去を行うことができます。MonoSpin NH2の場合、HILICモードだけでなく陰イオン交換モードも働きますが、今回の検討においてはMonoSpin Amideとほぼ同等の結果が得られました。

MonoSpin Amideで精製した場合

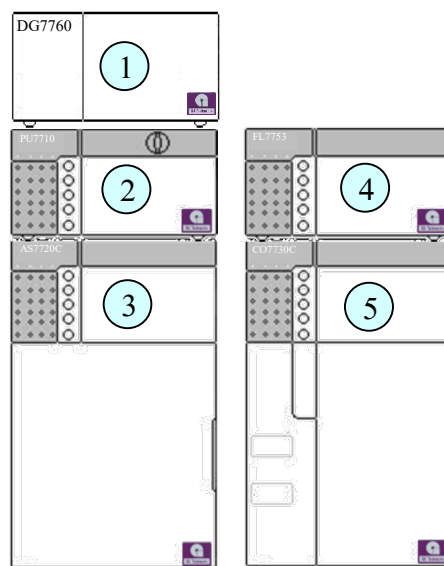


MonoSpin NH2で精製した場合



分析装置:GL7700 シリーズ

番号	品名	型式
①	脱気装置	DG7760
②	送液ポンプ	PU7710
③	オートサンプラー	AS7720C
④	蛍光検出器	FL7753
⑤	カラムオーブン	CO7730C



前処理カラム

MonoSpin®

MonoSpin S型と、回収用チューブ(1.7 mL)、廃液用チューブ(2 mL)がセットになっています。

品名	入数	Cat.No.
MonoSpin Amide	50本	5010-21727
	100本	5010-21728
MonoSpin NH2	50本	5010-21710
	100本	5010-21711



MonoSpin S型

回収用チューブ
(1.7 mL)廃液用チューブ
(2 mL)

その他の使用製品

分析カラム:

Cat. No. 5020-88632 InertSustain Amide (5 μ m, 250 x 4.6 mm I.D.)

オートサンプラーバイアル:

Cat.No. 1030-61022 1.5mLスクリューバイアル(褐色) 9-425 1000本入り

Cat.No. 1030-61222 PTFE/Siセプタム付きスクリューキャップ 9-425 1000個入り



ジーエルサイエンス株式会社

〒163-1130 東京都新宿区西新宿 6-22-1 新宿スクエアタワー 30F
TEL.03-5323-6611 FAX.03-5323-6622

※各試験法は、変更される場合がありますので、分析の前に確認されることをお勧めします。

データに起因し、直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しても、当社が責任をおうものではありません。また、記載事項につきましては、予告無しに改訂する場合がありますので、あらかじめご了承ください。

カスタマーサポートセンターでは、ノウハウのご提供と分析に関するフォローを行なっております。お困りの際には、カスタマーサポートセンターまでお気軽にお問い合わせください。

カスタマーサポートセンター (土・日・祝除く9:00-17:00)

☎ 04-2934-1100 ✉ info@gl.s.co.jp



【アプリケーションの検索はこちら】

https://www.gl.s.co.jp/technique/app/app_search.html