

BlotGlyco[®]キット、MALDI-TOF MS測定用プロトコルについて

BlotGlyco[®]シリーズのうち、MALDI-TOF MS用ラベル化合物 (aoWR) を含む品目 (BS-45403~6) の販売を終了しました。引き続きBlotGlyco[®]を用いてMALDI-TOF MS分析を行われる場合は、下記の要領でのサンプル調製をお勧めいたします。

【ラベル化試薬】

	MALDI-TOF MS用ラベル化合物 (aoWR)	代替法 (BOA)
化合物詳細	アミノキシ基含有ジペプチド (aoWR) 住友ベークライト独自化合物, 製造終了	O-benzylhydroxylamine 塩酸塩 (BOA) 東京化成、品番：B1079
ラベル化試薬としての質量数 (exact mass)	Trp-Arg-ONH ₂ = 432.22	C ₇ H ₉ NO = 123.06
MALDI ポジティブイオンモードで 観測されやすいイオン種	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺

【操作法】 BlotGlyco[®]キット付属の「(A) MALDI-TOF MS測定用操作プロトコル」を下記のように変更して操作してください

【従来】

8. 糖鎖再遊離／ラベル化

- 1) 反応用チューブを1.5mLエッペンドルフチューブに挿入する
- 2) MALDI-TOF MS用ラベル化合物のチューブに純水 220 μ L を加え、ボルテックスで攪拌して溶解させる (試薬濃度: 20 mM)
- 3) ポリマービーズにMALDI-TOF MS用ラベル化合物溶液 20 μ L を添加する
- 4) 2%酢酸／アセトニトリル 180 μ L を添加する
- 5) チューブを80°Cのヒートブロックで1 時間加熱する
- 6) 溶媒が完全に蒸発し、ビーズがカラカラに乾燥していることを確認する。乾燥していない場合は、さらに15分加熱を続ける

【代替法】

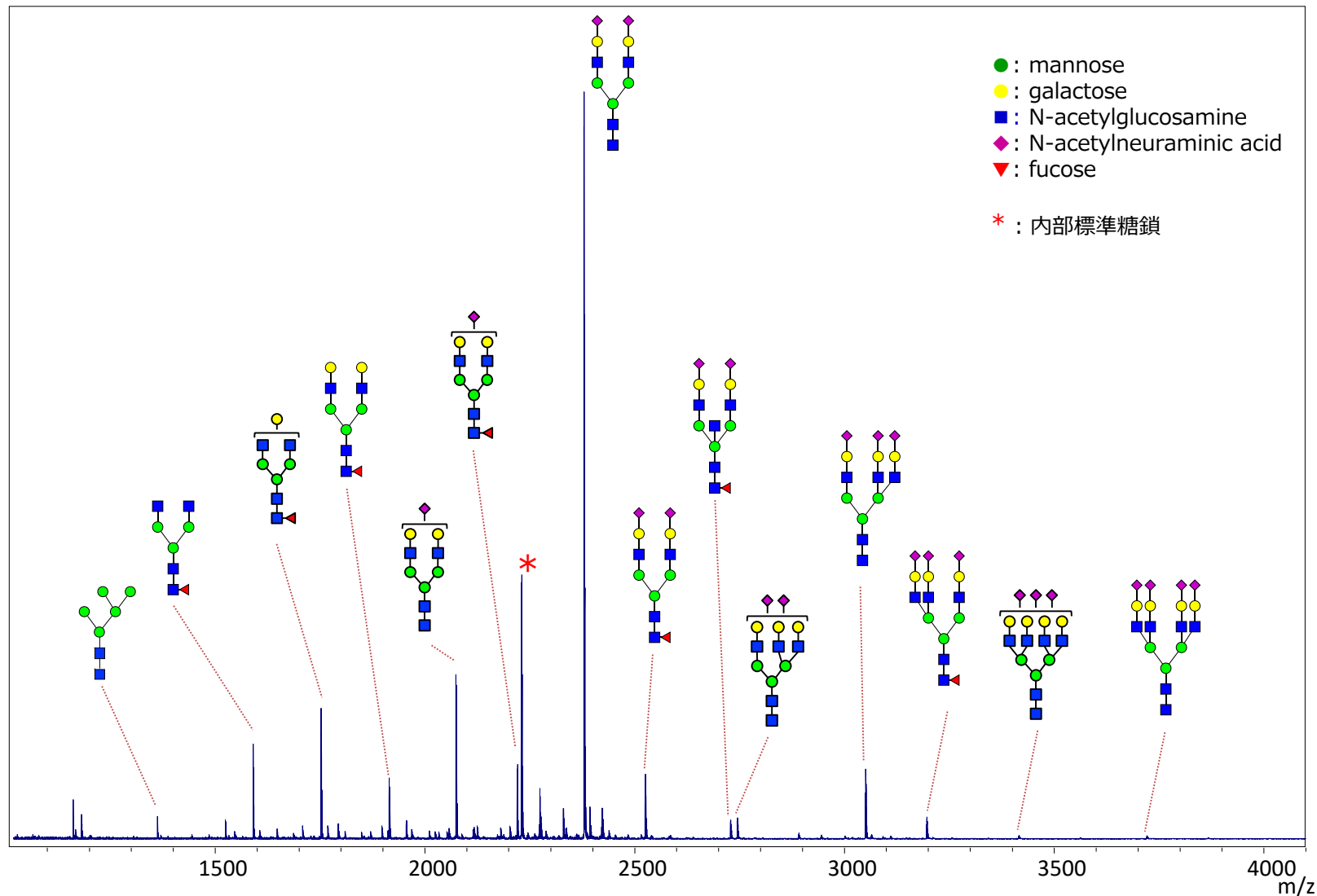
8. 糖鎖再遊離／ラベル化

- 1) 反応用チューブを1.5mLエッペンドルフチューブに挿入する
- 2) BOA を 50mM の濃度となるよう純水に溶解する
- 3) ポリマービーズに BOA 溶液 20 μ L を添加する
- 4) 2%酢酸／アセトニトリル 180 μ L を添加する
- 5) チューブを80°Cのヒートブロックで1 時間加熱する
- 6) 溶媒が完全に蒸発し、ビーズが乾燥していることを確認する。乾燥していない場合は、さらに15分加熱を続ける

データ例1 : ヒト血清糖タンパク質のN型糖鎖

ヒト血清5 μ Lを変性後、PNGaseFによりN型糖鎖を遊離させ、BlotGlyco[®]で精製・ラベル化後、MALDI-TOF MS測定を実施。
BOAラベル化体を「M+Na」⁺イオンとして測定。

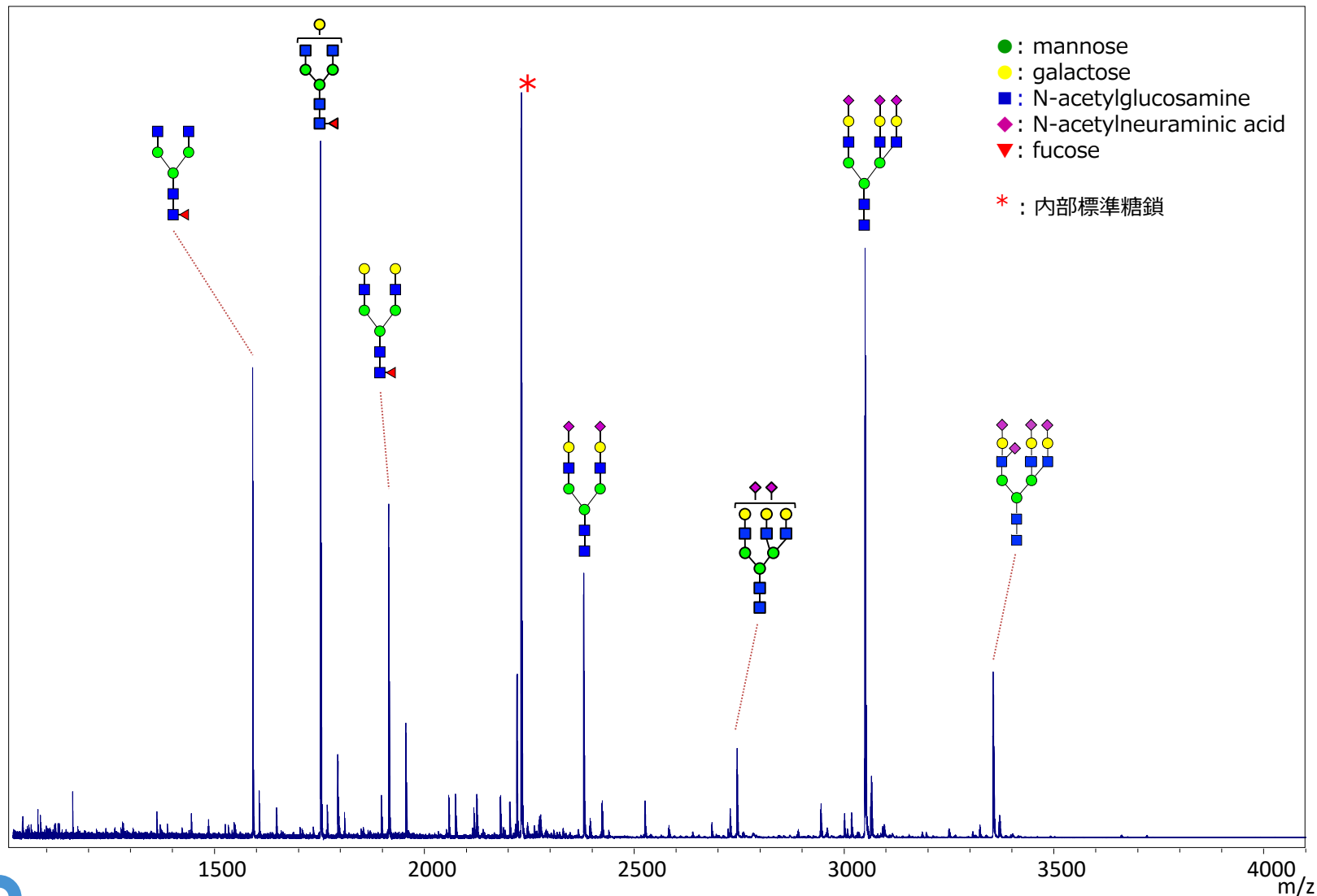
マトリックス: DHB, 測定装置: ultraflex III, Bruker



データ例2 : ヒトIgG および ウシFetuin由来N型糖鎖

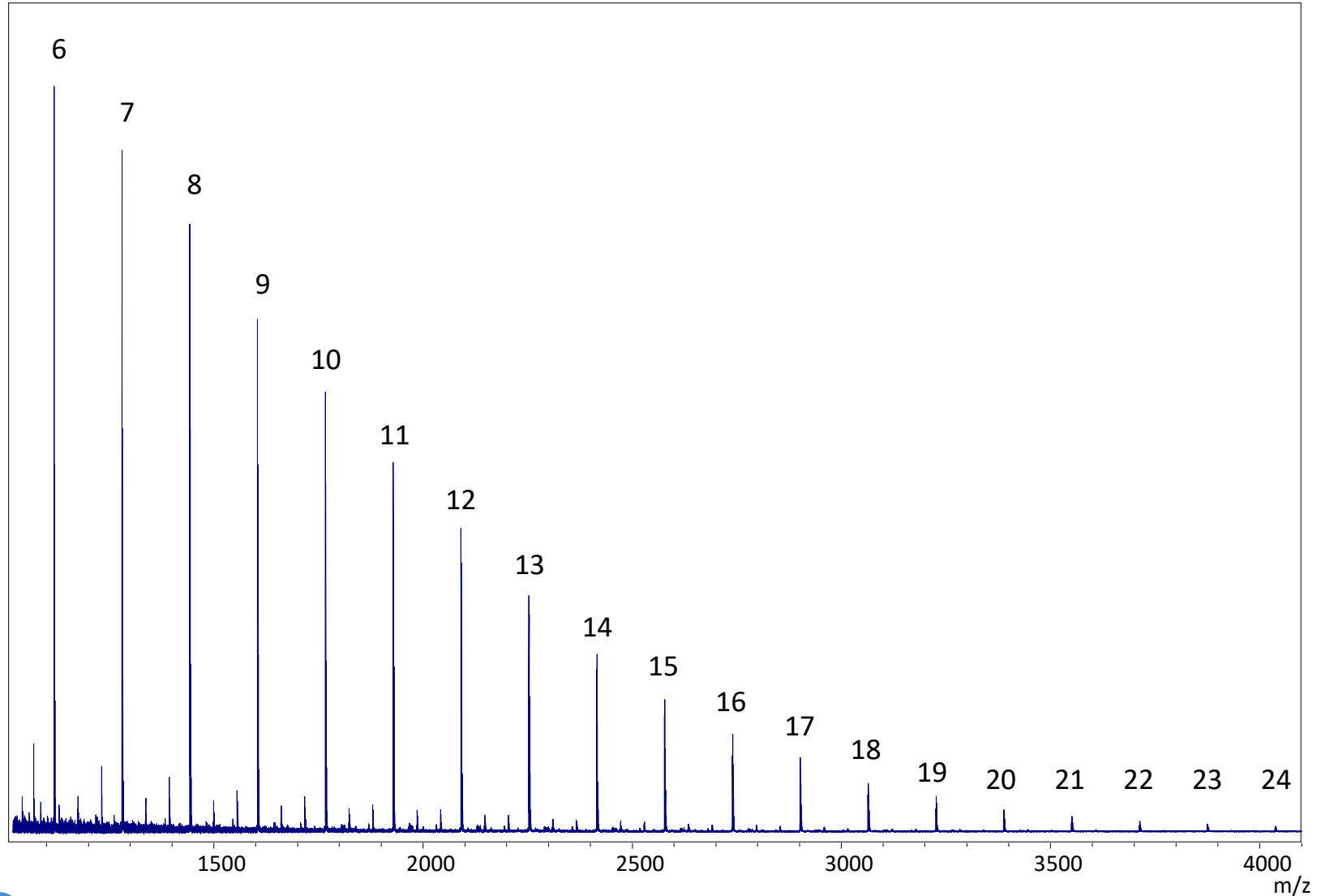
ヒトIgGとウシFetuin混合溶液 50 μ L (ヒトIgG 100 μ g、ウシFetuin 50 μ gを含む) を変性後、PNGaseFによりN型糖鎖を遊離させ、BlotGlyco[®]で精製・ラベル化後、MALDI-TOF MS測定を実施。BOAラベル化体を「M+Na」⁺イオンとして測定。

マトリックス: DHB, 測定装置: ultraflex III, Bruker, *:内部標準糖鎖



データ例3 : グルコースオリゴマー

グルコースオリゴマーをBlotGlyco®で精製・ラベル化後、MALDI-TOF MS測定を実施。数字はグルコースの重合度。
マトリックス: DHB, 測定装置: ultraflex III, Bruker,



お問合せ先：

住友ベークライト株式会社

ヘルスケア営業本部 バイオ事業開発部

Email: s-bio@sumibe.co.jp

Tel: 03-5462-4831

Fax: 03-5462-4835

