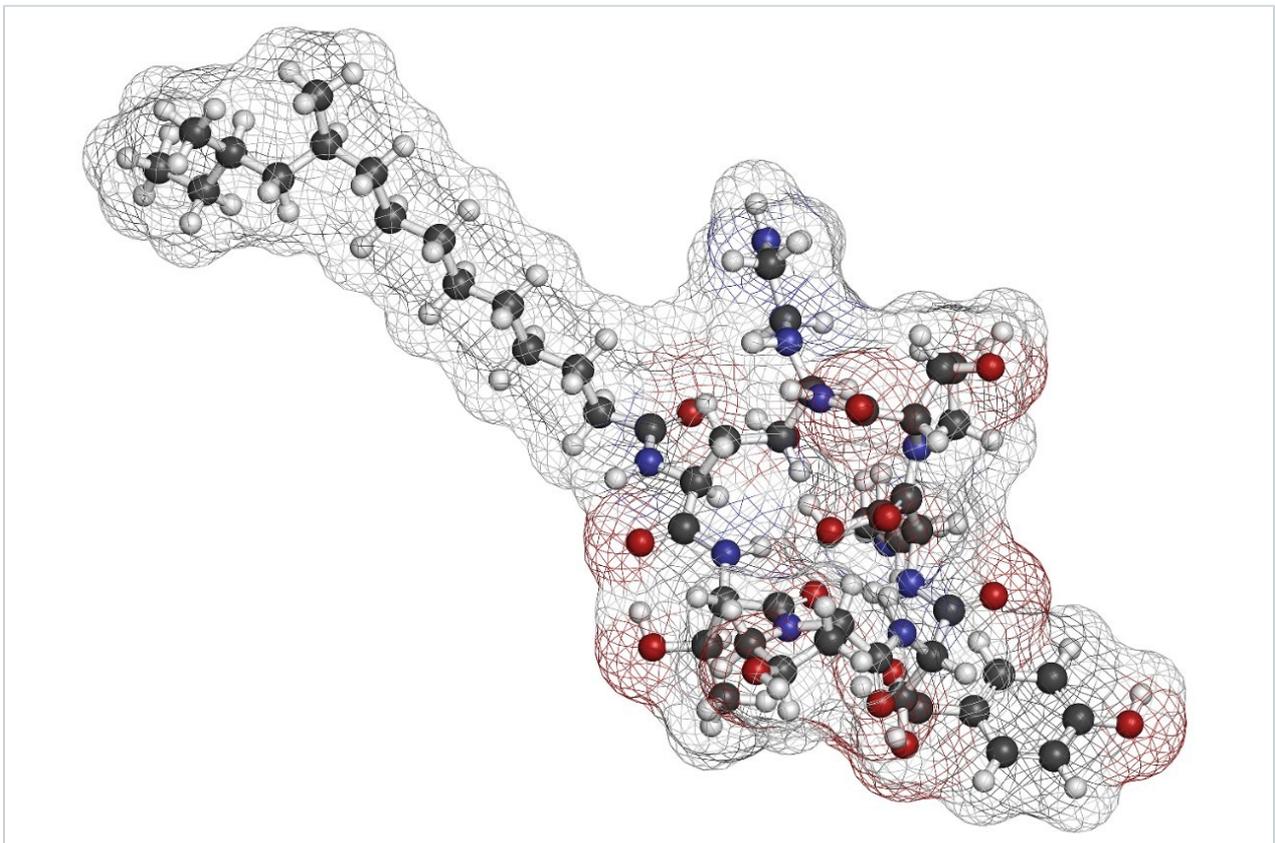


MaxPeak High Performance Surfaces テクノロジーによる遊離 N 型糖鎖の HILIC プロファイリングの改善

Xiaoxiao Liu, Matthew A. Lauber

Waters Corporation



要約

金属の影響を受けやすい化合物のクロマトグラフィー分析は、ステンレススチール製カラムハードウェアによって悪影響を受けることがあります。このような化合物は、吸着と二次相互作用により非対称なピークを示し、特に困難な低イオン強度の分離では回収率が低下します。この問題に対処するため、MaxPeak High Performance Surfaces (HPS) が開発されました。このテクノロジーにより、分析種がクロマトグラフィーカラムの金属表面と望ましくない相互作用をするのを防ぐ、非常に効果的な表面バリアが形成されます。遊離 N 型糖鎖に関しては、複数のシアル酸残基やリン酸化マンノース残基を含む酸性 N 型糖鎖において、このような問題が発生することがあります。酸性 N 型糖鎖は、特定のバイオ医薬品の安定性、有効性、免疫原性に影響を与えるため、しばしば重要品質特性とみなされます。グリコシル基を慎重にモニターおよび管理するために、N 型糖鎖はしばしば、遊離させて親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) および質量分析計により分析します。状況によっては、MS 適合性を維持しつつ良好なピーク形状と酸性 N 型糖鎖の回収率を達成することが、この技法では困難となります。MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラムにより、カラムコンディショニングに頼ることなく、超高圧 HILIC クロマトグラフィーによって高度にシアル化およびリン酸化された糖鎖を回収することが可能になりました。

アプリケーションのメリット

- MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラムにより、新しいカラムへの初回注入時から、期待される性能および糖鎖回収率の向上を実現
- 高度にシアル化およびリン酸化された糖鎖の正確なプロファイリングにおいて、時間のかかるカラムコンディショニングや不動態化が不要に
- 従来のステンレススチール製ハードウェアカラムと比較して、シアル化糖鎖の保持時間の再現性が改善
- MS グレードのギ酸アンモニウム濃縮液および RapiFluor-MS 糖鎖性能試験標準試料により、容易に導入できる遊離 N 型糖鎖アプローチの確立を支援

はじめに

バイオ医薬品パイプラインのペースがますます早くなっており、製品の重要品質特性 (CQA) の正確なモニタリングを加速化する必要性に常に追われています。グリコシル化は、医薬品の安定性、有効性、免疫原性に影響を与える CQA の一種です。糖鎖分析においては、迅速に糖鎖を遊離できるサンプル前処理と HILIC クロマトグラフィー分離の組み合わせが好まれてきました¹。ただし、酸性糖鎖はカラムの金属表面で失われる傾向があるため、その分析は困難でした。高イオン強度のキレート剤を添加した移動相によりこの問題を防ぐことができますが、そのような分離条件は MS との相性が悪く、ESI MS を用いる糖鎖の特性解析において問題が発生する可能性があります。分析種を大量にロードしてカラムを不動態化することも、この問題の解決に役立ちます。ただし、このアプローチには、時間のかかるカラムコンディショニング作業や、過剰なサンプルの入手可能性という制約があります。多くの場合、カラムの不動態化は可逆的で再現性がないため、目的のクロマトグラフィー性能達成において信頼性に欠けます。この問題に直接対処するために、MaxPeak High Performance Surfaces (HPS) が開発され、ACQUITY

Premier カラムの製造に利用されるようになりました^{2,3}。このカラム表面は無機-有機ハイブリッドシリカベースで、酸性糖鎖がクロマトグラフィーカラム内の金属表面と望ましくない二次相互作用するのを防ぐ、非常に効果的な表面バリアとして機能します。このアプリケーションでは、ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラムと従来のステンレス製カラムの両方において、不動態化の前と後でのカラム性能を念入りに調査しました。得られたデータにより、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier カラムでの、遊離糖鎖分離における回収率の向上、再現性の改善、カラムコンディショニングが不要になるなどのメリットが実証されています。

実験方法

サンプルの説明

- RapiFluor-MS シアル化糖鎖性能試験標準試料（Waters 製品番号：186008660 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/standards--reagents/186008660-rapifluor-ms-sialylated-glycan-performance-test-standard.html>>）は、標準試料 1 バイアルを 50 μ L の水に再溶解し、最終濃度が 8 pmol/ μ L になるように調製しました。 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/standards--reagents/186008660-rapifluor-ms-sialylated-glycan-performance-test-standard.html>>
- RapiFluor-MS 糖鎖性能試験標準試料（Waters 製品番号：186007983 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/standards--reagents/186007983-rapifluor-ms-glycan-performance-test-standard.html>>）は、標準試料 1 バイアルを 50 μ L の水に再溶解し、最終濃度が 8 pmol/ μ L になるように調製しました。
- フェチュインタンパク質溶液は、10 mg のウシフェチュインを 1 mL の水に溶解して、最終濃度が 10 mg/mL になるように調製しました。
- GlycoWorks RapiFluor-MS N-Glycan キットを使用し、取扱説明書（715004793EN <<https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/715004793en.pdf>>）に記載されているプロトコルに従って、15 μ g のアガルシダーゼの N 型糖鎖を遊離、標識、精製しました¹。遊離糖鎖の最終濃度は約 0.5 pmol/ μ L でした。

カラム初期性能試験のサンプルリスト例：

目的	サンプル名	注入量
ブランク	水ブランク	1 μ L
分析 - 糖鎖注入 1	RapiFluor-MS 糖鎖性能試験標準試料 (8 pmol/ μ L)	1 μ L
分析 - 糖鎖注入 2		1 μ L
分析 - 糖鎖注入 3		1 μ L
分析 - 糖鎖注入 4		1 μ L
コンディショニングおよび不動態化	フェチュインタンパク質溶液 (10 mg/mL)	1 μ L
ブランク	水ブランク	1 μ L
分析 (不動態化後) - 糖鎖注入 5	RapiFluor-MS 糖鎖性能試験標準試料 (8 pmol/ μ L)	1 μ L

従来のカラムを用いた糖鎖回収率 (%) の計算：

糖鎖 i の相対回収率 (%) = 従来のカラムを使用して得られた特定の糖鎖 i の FLR ピーク面積 / 不動態化した ACQUITY Premier カラムを使用して得られた糖鎖 i の FLR ピーク面積 X 100%

LC 条件

LC システム：	ACQUITY Premier システム (QSM)
データ取り込み：	MassLynx v4.1
カラム：	ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラム (1.7 μ m、130 Å、2.1 × 150 mm)、製品番号 186009524 ACQUITY UPLC Glycan BEH Amide カラム (1.7 μ m、130 Å、2.1 × 150 mm)、製品番号 186004742
サンプル温度	8 °C
サンプル注入量：	1 μ L
FLR 波長：	265 Ex./425 Em.
カラム温度：	60 °C

シール洗浄溶媒:	30% アセトニトリル/70% 18.2 MΩ 水 v/v (シール 洗浄間隔を 5 分に設定)
移動相 A:	50 mM ギ酸アンモニウム、pH 4.4
移動相 B:	アセトニトリル (LC-MS グレード)
アクティブプレヒーター:	有効
スキャンレート:	10 ポイント/秒
フィルタータイムコンスタント:	標準
注入開始でオートゼロ:	Yes
波長の自動ゼロ設定:	ベースラインを維持

グラジエント

時間 (分)	流速 (mL/分)	%A ¹	%B	曲線
0.0	0.4	25.0	75.0	初期条件
11.7	0.4	46.0	54.0	6
13.2	0.2	100.0	0	6
14.2	0.2	100.0	0	6
16.4	0.2	25.0	75.0	6
23.0	0.4	25.0	75.0	6

1. この試験では、カラムの迅速な評価のために 100% 水溶液を使用しますが、実用上、カラム寿命と性能を延ばすため、80% A および 20% B のマイルドな洗浄条件を推奨します。

MS 条件

MS システム: Xevo G2-XS QTof

イオン化モード:	ESI+
取り込み範囲:	700 ~ 3,000 Da
キャピラリー電圧:	2.2 kV
ソースオフセット:	50 V
コリジョンエネルギー:	オフ
コーン電圧:	75 V
脱溶媒ガス:	600 L/時間
ソース温度:	120 °C
脱溶媒温度:	500 °C
スキャンレート:	2 Hz

データ管理

クロマトグラフィーソフトウェア:	MassLynx v4.1
MS ソフトウェア:	MassLynxv4.1
データ解析:	UNIFI v.1.8

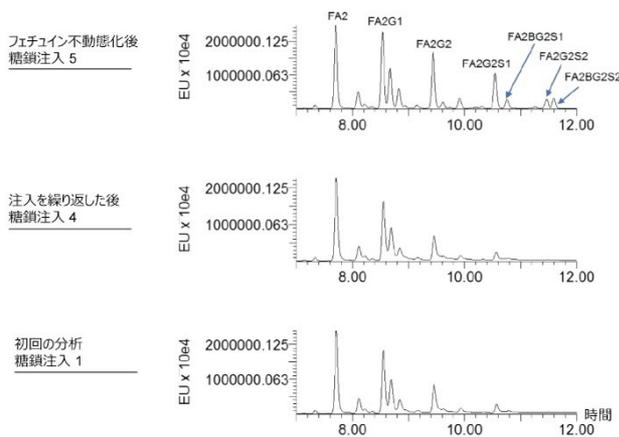
結果および考察

MaxPeak HPS を採用した ACQUITY Premier カラムの初期性能を調べるため、8 pmol の RapiFluor-MS 糖鎖性能試験標準試料を新品の ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラムに 4 回注入しました。続いて、カラムのコンディショニングおよび不動態化のために、高度にシアル化された糖タンパク質であるフェチュインを 10 mg/mL という高質量ロード (1 μ L) で 3 回注入しました。不動態化の後、RapiFluor-MS 糖鎖性能試験標準試料を再度注入し、カラム性能を確認しました (本研究で使用したサンプルリストの例については、「実験方法」セクションを参照)。比較のために、新品の従来型ステンレススチール製カラムでも同様の試験を実施しました。更に、Rapi

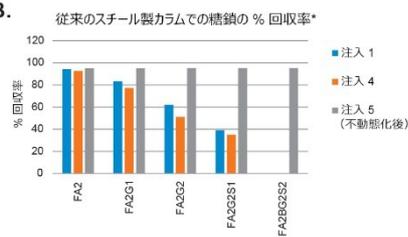
Fluor-MS シアル化糖鎖性能試験標準試料も比較試験に用いました。これらの実験では、MaxPeak Premier テクノロジーを採用した LC を使用して、LC ハードウェアベースの分離に対する影響を最小限に抑えました。

以前に発表された研究によると、HILIC クロマトグラフィーを用いることで、糖鎖性能試験標準試料から 19 種の糖鎖を分離できます⁴。図 1A に示すように、注入 1 の従来のスチール製カラムでは、19 種の糖鎖のうち 13 種のみが同定されました。また、7 種のシアル化糖鎖のうち 5 種は、初回の注入では検出できませんでした。更に、従来のカラムで分離された糖鎖の相対回収率を ACQUITY Premier カラムで得られた相対回収率と比較し、関連する FLR ピーク面積に基づいて、「実験方法」セクションに記載した式を用いて計算しました。ACQUITY Premier カラムとの比較において、最も豊富な単一シアル化糖鎖 FA2G2S1 の回収率は 40% 未満であり、二重シアル化糖鎖は、コンディショニングベースの不動態化なしでは検出できませんでした（図 1B）。従来のステンレススチール製カラムでの初回注入時には、少数の中性糖鎖にも回収率の問題が見られました。ステンレススチール製カラムで得られた FA2、FA2G1、FA2G2 の回収率はそれぞれ 95%、80%、60% でした（図 1B）。従来のスチール製カラムによる分離における糖鎖（特に酸性糖鎖）の損失は、分析種が金属表面に非特異的に結合した結果であると考えられます。このような望ましくない二次相互作用は、最善の努力を払っても、カラムコンディショニングでは除去が困難な場合があることが示されています。これらのカラムでは、糖鎖標準試料の注入を更に 3 回行いましたが、6 種の糖鎖はやはり分離されず（図 1A）、それらのピーク面積は残念ながら低いレベルのままでした（図 1B）。これらのやっかいな糖鎖種は、フェチュインタンパク質の高質量ロード注入を行い、コンディショニングに基づく不動態化により初めて回収できました。不動態化の後では、二重シアル化分子種を含む 19 種の糖鎖すべてが検出されました。コンディショニングベースの不動態化処理により、従来のスチール製カラムのピークキャパシティが 50 から 66 に改善しました（図 1C）。

A. 従来のスチール製カラム



B.



C.

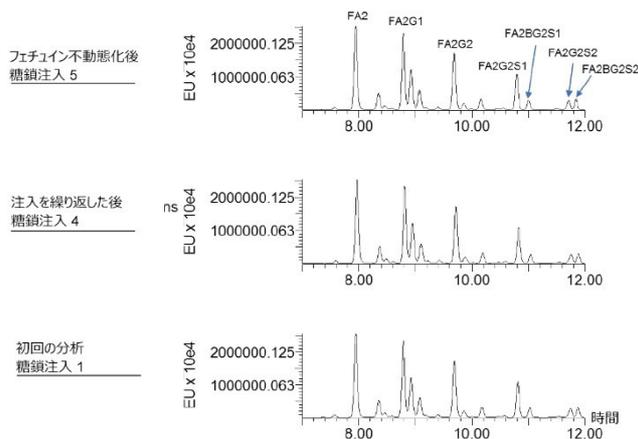


図 1. 従来のスチール製カラムを使用する場合の、カラムコンディショニングが N 型糖鎖の HILIC に及ぼす影響。

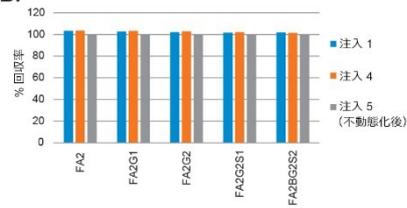
A) 2.1 × 150 mm の従来のスチール製 1.7 μm BEH Amide カラムを用いた RapiFluor-MS 糖鎖性能試験標準試料の FLR プロファイリング：注入 1（初回の分析）、注入 4（糖鎖標準試料の数回の繰り返し注入後）および注入 5（フェチュインベースのコンディショニングおよび不動態化の後）。B) 異なる注入における特定の糖鎖の回収率（%）。C) 異なる注入における従来のカラムのピークキャパシティー（Pc*）。

対照的に、MaxPeak HPS テクノロジーを導入した ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラムでは、あらゆる種類の糖鎖分子種において、初回注入で、カラムのコンディショニングに依存せず、優れたクロマトグラフィー回収率およびピーク分離が得られました。図 2A に示すように、19 種類の糖鎖分子種すべてが、初回の注入および分析で問題なく分離されました。驚くべきことに、サンプル中に存在する 7 種のシアル化糖鎖すべてが、その一部は相対含有量がわずか 0.5% であったにも関わらず検出されました。ACQUITY Premier カラムを用いて得られた糖鎖プロファイルは、コンディショニングベースの不動態化（注入 1、注入 4、注入 5）の前後で同等です（図 2A）。個々の糖鎖の回収率および分離の有効ピークキャパシティーは、注入 1 から注入 5 まで一貫していました（図 2B および 2C）。また、特筆すべき点として、ACQUITY Premier カラムを用いて得られた糖鎖プロファイルは、完全に不動態化された従来のスチール製カラムで得られた糖鎖プロファイルと同等であった点が挙げられます（図 3）。すべての分離した糖鎖の相対含有量の %RSD は、（1）不動態化した従来のスチール製カラム（注入 5）、（2）不動態化した ACQUITY Premier カラム（注入 5）、（3）ACQUITY Premier カラムの初回使用時（注入 1）の 3 つのデータポイントの平均で 8% 未満でした。（表 1）。この結果は、MaxPeak HPS テクノロジーにより正確な糖鎖プロファイルがもたらされ、分離度や選択性に対するハイブリッド表面の影響がほとんどないことを示しています。ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラムにより、糖鎖の回収率が著しく向上し、初回使用時のカラムコンディショニングが不要になりました。

A. ACQUITY Premier カラム



B. ACQUITY Premier カラムでの糖鎖の % 回収率*



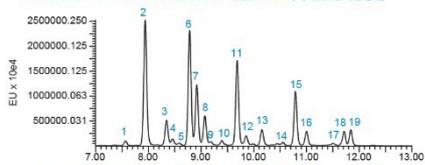
C. ACQUITY Premier カラムの実効 Pc*



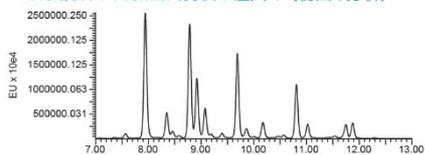
図 2. ACQUITY Premier カラム使用時の、カラムコンディショニングが N 型糖鎖の HILIC に及ぼす影響。

A) 2.1 × 150 mm の ACQUITY Premier 1.7 μm BEH Amide カラムを用いた RapiFluor-MS 糖鎖性能試験標準試料の FLR プロファイリング：注入 1（初回の分析）、注入 4（糖鎖標準試料の数回の繰り返し注入後）および注入 5（フェチュインベースのコンディショニングおよび不動態化の後）。B) 異なる注入における特定の糖鎖の回収率（%）。C) 異なる注入における ACQUITY Premier カラムのピークキャパシティ（Pc*）。

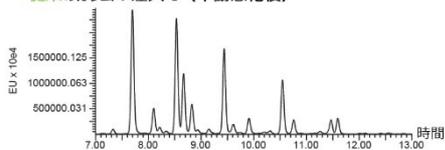
A. ACQUITY Premier カラム：注入 5（不動態化後）



ACQUITY Premier カラム：注入 1（初回の分析）



従来のカラム：注入 5（不動態化後）



* サンプル：糖鎖性能試験標準試料、ピークの注釈については表 1 を参照

B.

異なるカラムを用いた糖鎖プロファイリング

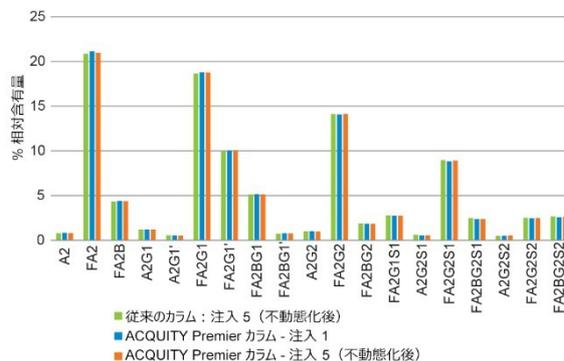


図 3. 不動態化処理した従来のスチール製カラムと ACQUITY Premier HILIC カラムで同等の糖鎖プロファイルが得られました。

A) 不動態化した従来のスチール製カラムを用いた注入 5（下）、および ACQUITY Premier カラムを用いた注入 1（中央）と注入 5（上）における RapiFluor-MS 糖鎖性能試験標準試料の FLR プロファイリング。B) 異なるカラムを用いて分離された糖鎖の相対含有量

糖鎖性能試験標準試料			% 相対含有量			従来のカラムと ACQUITY Premier カラムの間の糖鎖プロファイルの %RSD		
			ACQUITY Premier カラム		従来のカラム	平均相対含有量	標準偏差	%RSD
ピーク番号	糖鎖	RFMS 標識糖鎖の組成	1 回目の注入	5 回目の注入 (不動態化後)	5 回目の注入 (不動態化後)			
1	A2	C67H105O37N9	0.86	0.82	0.80	0.83	0.03	3.83
2	FA2	C73H115O41N9	21.13	20.98	20.84	20.98	0.15	0.69
3	FA2B	C81H128O46N10	4.40	4.38	4.35	4.38	0.03	0.60
4	A2G1	C73H15042N9	1.22	1.20	1.21	1.21	0.01	0.64
5	A2G1'	C73H15042N9	0.54	0.53	0.57	0.55	0.02	4.42
6	FA2G1	C79H125O46N9	18.78	18.77	18.65	18.73	0.07	0.39
7	FA2G1'	C79H125O46N9	10.03	10.05	10.01	10.03	0.02	0.21
8	FA2BG1	C87H138O51N10	5.17	5.15	5.14	5.16	0.02	0.30
9	FA2BG1'	C87H138O51N10	0.80	0.78	0.75	0.78	0.02	2.75
10	A2G2	C79H125O47N9	1.03	1.01	1.04	1.03	0.02	1.74
11	FA2G2	C85H135O51N9	14.07	14.15	14.12	14.11	0.04	0.30
12	FA2BG2	C93H148O56N10	1.87	1.86	1.90	1.88	0.02	1.15
13	FA2G1S1	C90H142O54N10	2.75	2.76	2.80	2.77	0.03	0.92
14	A2G2S1	C90H142O55N10	0.55	0.57	0.64	0.59	0.05	7.95
15	FA2G2S1	C96H152O59N10	8.83	8.92	8.97	8.91	0.07	0.82
16	FA2BG2S1	C104H165O64N11	2.40	2.41	2.49	2.43	0.05	2.07
17	A2G2S2	C101H159O63N11	0.51	0.55	0.51	0.52	0.02	3.70
18	FA2G2S2	C107H169O67N11	2.46	2.49	2.53	2.49	0.03	1.38
19	FA2BG2S2	C115H182O72N12	2.60	2.64	2.67	2.64	0.04	1.35

表 1. 従来のスチール製カラムおよび ACQUITY Premier カラムを用いて得られた糖鎖プロファイル - 不動態化前 (注入1) および不動態化後 (注入5)。

更に、ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラムは、リン酸化糖鎖の分析においても画期的な性能を発揮しました。マンノース-6-リン酸 残基を末端に持つリン酸化糖鎖は、酵素補充療法での取り込みに重要なリソソーム酵素のシグナルタグとして機能します⁵。一方、リン酸残基が存在するため、このグループの分析種は金属表面に吸着する傾向があり、LC 分析での回収が困難なことで知られています。MaxPeak HPS カラムハードウェアがリン酸化糖鎖の解析に有用かどうかを評価するために、アガルシダーゼから遊離した N 型糖鎖を、「実験方法」セクションの記載と同じ試験プロトコルで分析しました。ACQUITY Premier カラムと従来のステンレススチール製カラムの両方に、同じバッチの固定相を充填しました。単一リン酸化糖鎖である Man7-1P の、異なるカラムを用いた分離を図 4 にまとめました。他の酸性糖鎖種と同様、従来のスチール製カラムでは、コンディショニングによる不動態化処理を行わない場合、Man7-1P を同定できません。フェチュインによる不動態化処理後でも、従来のスチール製カラムでの Man7-1P のピークレスポンスは、ACQUITY Premier カラムで得られるピークレスポンスの約 70% に留まっています。

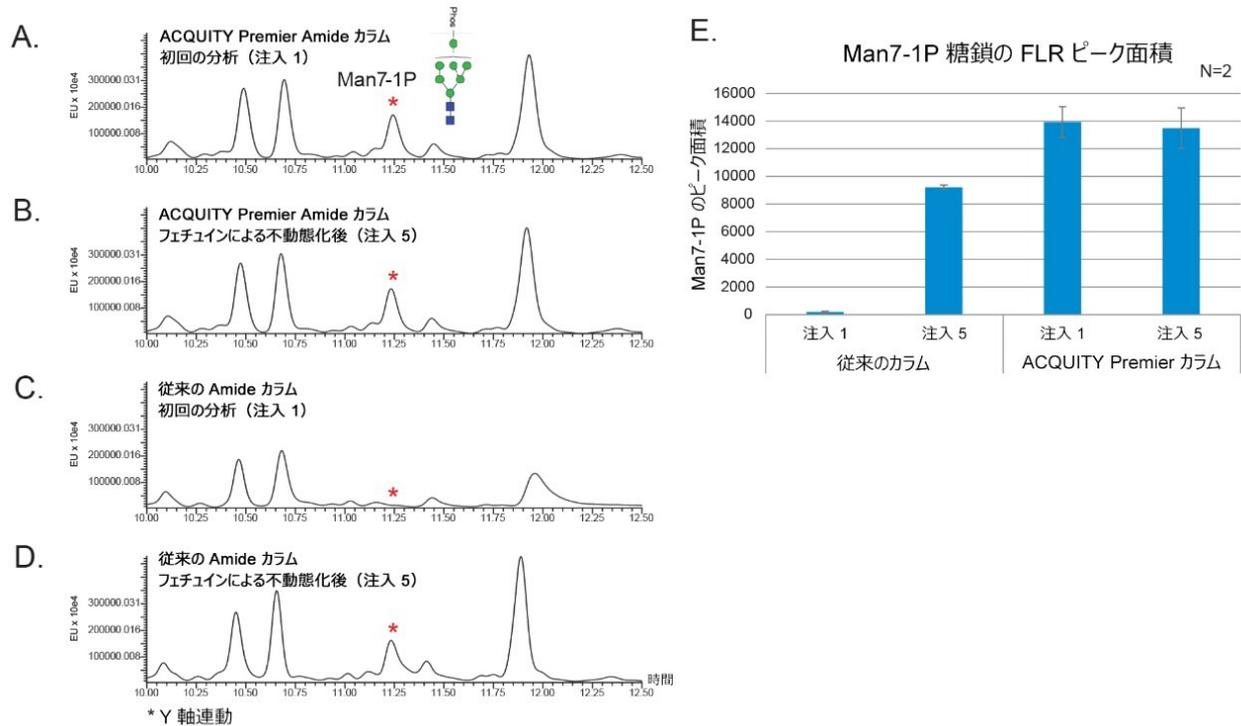


図 4. ACQUITY Premier Glycan Amide カラムによるリン酸化糖鎖の回収率の改善。

A、B) ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラムを用いた、不動態化前後 (A および B) における単一リン酸化糖鎖 (Man7-1P、* 印) の FLR 検出。C、D) 従来のスチール製カラムを用いた、不動態化前後 (C および D) における単一リン酸化糖鎖 (Man7-1P、* 印) の FLR 検出。E) FLR ピーク面積に基づく Man7-1P 糖鎖の回収率。

更に、ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラムでは、シアル化された糖鎖について、より再現性の高い保持時間が得られました。再現性を評価するため、フェチュインで不動態化処理した従来のスチール製カラムおよび ACQUITY Premier カラムにおいて、シアル化糖鎖性能試験標準試料の連続 4 回の注入を行いました。各カラムの種類につき、同一バッチの固定相を用いた 3 本の不動態化したカラムをこの試験に使用しました。保持時間および対応する %RSD 値を記録し、試験標準試料中で最も含有量の多い 6 種のシアル化糖鎖種について計算しました (図 5)。図からわかるように、3 本の ACQUITY Premier カラムでの糖鎖保持時間の %RSD は 0.12 ~ 0.22% の範囲内でしたが、従来のスチール製カラムで分析した場合、同じシアル化糖鎖でこの値が 1.15 ~ 1.96% に増加していました。

平均保持時間 (分)、n = 12

	従来のスチール製カラム		ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラム	
	平均RT + 標準偏差 (分)	%RSD	平均RT + 標準偏差 (分)	%RSD
ピーク1	10.89±0.13	1.17	10.87±0.01	0.12
ピーク2	11.26±0.13	1.15	11.23±0.01	0.12
ピーク3	12.15±0.15	1.24	12.13±0.02	0.15
ピーク4	12.55±0.18	1.43	12.52±0.02	0.16
ピーク5	12.87±0.21	1.64	12.84±0.02	0.19
ピーク6	13.42±0.26	1.96	13.39±0.03	0.22

*ピーク割り当て：A2G2S2 (ピーク 1、2)、A3G3S3 (ピーク 3、4)、A3S1G3S3 (ピーク 5、6)

RapiFluor-MS シアル化糖鎖性能試験標準試料のクロマトグラムの例

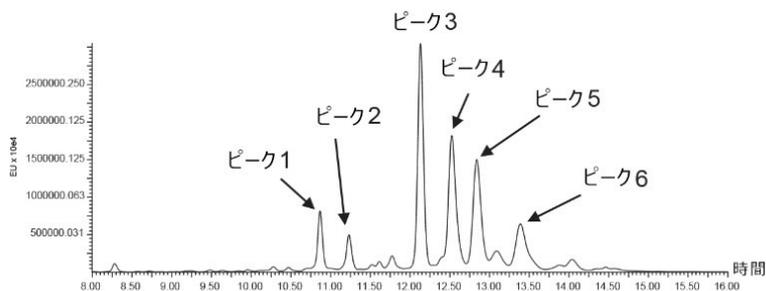


図 5. 不動態化処理後、従来のスチール製カラムまたは ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラムを用いて分離した 6 種類の主要なシアル化糖鎖分子種のカラム間での保持時間および RSD 値。3 本の従来型カラムおよび 3 本の ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラムをフェチェーンで不動態化処理し、RapiFluor-MS シアル化糖鎖性能試験標準試料をそれぞれ 4 回繰り返し注入して分離を行いました。シアル化糖鎖プロファイルのクロマトグラムの例を以下に示します。

結論

革新的な MaxPeak High Performance Surfaces テクノロジーは、様々なカラムケミストリーに使用され、ACQUITY Premier Glycan BEH Amide カラムを用いた糖鎖の HILIC モード分離などにおいて、クロマトグラフィ性能が向上しています。このアプリケーションノートでは、酸性糖鎖で顕著に見られる、糖鎖クロマトグラフィの回収率の向上と、新しいレベルの準備不要の性能について説明しています。遊離糖鎖のより正確なプロファイリングを容易に行うことができ、手間のかかるカラムコンディショニングや不動態化処理を回避できます。更に、これらのカラムでは、困難なリン酸化糖鎖の回収が容易になるとともに、シアル化糖鎖の保持時間の再現性が改善されています。結果として、遊離糖鎖プロファイリング LC-MS 分析の頑健性が更に高まっています。この点は、開発パイプラインからますます複雑な糖鎖プロファイルを有するタンパク質医薬品が出現するにつれて、より重要になっています。

参考文献

1. Lauber MA, Yu YQ, Brousmiche DW, Hua Z, Koza SM, Magnelli P, Guthrie E, Taron CH, Fountain KJ. Rapid Preparation of Released N-glycans for HILIC Analysis Using a Labeling Reagent that Facilitates Sensitive Fluorescence and ESI-MS Detection. *Anal Chem.* 2015;87(10):5401–9.
2. DeLano M, Walter TH, Lauber MA, Gilar M, Jung MC, Nguyen JM, Boissel C, Patel AV, Bates-Harrison and Wyndham K. Using Hybrid Organic-Inorganic Surface Technology to Mitigate Analyte Interactions with Metal Surfaces In UHPLC. *Anal Chem.* 2021;93(14): 5773–5781.
3. Lauber MA, Walter TH, DeLano M, Jung M, Boissel C, Gilar M, Smith K, Birdsall R, McDonald T, MacLean J, Nguyen J, Donegan M, Lame M, Rainville P, Belanger J, and Wyndham K. Low Adsorption HPLC Columns Based on MaxPeak High Performance Surfaces. *Waters White Paper 720006930EN* <<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720006930en.pdf>> , 2020.
4. Lauber MA, Morris MF, Brousmiche DW and Koza SM. Robustness of RapiFluor-MS N-Glycan Sample Preparations and Glycan BEH Amide HILIC Chromatographic Separations. *Waters Application Note 720005370EN* <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2015/rapifluor-ms-n-glycan-sample-preparations-and-glycan-beh-amide-hilic-chromatographic-separations.html>> , 2015.
5. Bones J, Mittermayr S, McLoughlin N, Hilliard M, Wynne K, Johnson GR, Grubb JH, Sly WS, Rudd PM. Identification of N-glycans Displaying Mannose-6-phosphate and Their Site of Attachment on Therapeutic Enzymes for Lysosomal Storage Disorder Treatment. *Anal Chem.* 2011 Jul 1;83(13):5344–52.

ソリューション提供製品

ACQUITY Premier システム <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>>

ACQUITY UPLC H-Class PLUS Bio システム <<https://www.waters.com/10166246>>

Xevo G2-XS QToF 四重極飛行時間型質量分析計 <<https://www.waters.com/134798222>>

ACQUITY UPLC FLR 検出器 <<https://www.waters.com/514222>>

MassLynx MS ソフトウェア <<https://www.waters.com/513662>>

UNIFI バイオ医薬品プラットフォームソリューション <

<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=10195515>>

720007263JA、2021 年 5 月

© 2021 Waters Corporation. All Rights Reserved.