

糖鎖分析メソッド集
コットン HILIC による糖鎖の精製

Ver. 20170822
Written by S. Natsuka

方法の概要と目的

微量糖鎖を HPLC や MS で分析する際に、脱塩や試薬除去のための前処理として汎用される方法である。有機溶媒の濃度が高い状態においてセルロースと水素結合で結合させ、洗いの後、水で溶出する。

この方法を使った時に引用すべき論文

Cotton HILIC SPE microtips for microscale purification and enrichment of glycans and glycoproteins. Maurice H.J. Selman, Mahdi Hemayatkar, André M. Deelder, Manfred Wuhrer. *Anal. Chem.*, **83**, 2492-2499 (2011).

(このプロトコルはこの原著を一部改変している。)

プロトコル

(1) チップの作製

3 mg Cotton (市販の化粧用コットンパフ)

↓ Push into the end of yellow tip

(この詰め方の強弱が成否を決める。強すぎると液が通り難くなり、弱いと吸着しなくなる。)

(2) チップの活性化

solvent A: 90% CH₃CN, 0.1% TFA

solvent B: DDW

The tip in glass tube

↓ Apply 0.2 mL sol. A

↓ cfg., 2000 rpm, 1 min

↓ Apply 0.2 mL sol. B

↓ cfg., 2000 rpm, 1 min

↓ Apply 0.2 mL sol. A

↓ cfg., 2000 rpm, 1 min



- ↓ Apply 0.2 mL sol. A
- ↓ cfg., 2000 rpm, 1 min
- (この操作で液抜けの悪いチップは除外する。)

Sample

- ↓ Prepare to be >85% CH₃CN
- ↓ Apply to the activated tip in a new glass tube
- ↓ cfg., 2000 rpm, 1 min

Flow-through

- ↓ Re-apply to the tip
- ↓ cfg., 2000 rpm, 1 min
- ↓ Apply 0.2 mL sol. A
- ↓ cfg., 2000 rpm, 1 min
- ↓ Apply 0.2 mL sol. A
- ↓ cfg., 2000 rpm, 1 min
- ↓ Switch to a new glass tube
- ↓ Apply 50 μL sol. B
- ↓ cfg., 2000 rpm, 1 min
- ↓ Apply 50 μL sol. B
- ↓ cfg., 2000 rpm, 1 min

Purified glycan