

## 使用BioAccord系统实现单克隆抗体轻链和重链质谱分析的平台方法

---

Henry Shion, Ying Qing Yu, Weibin Chen

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

---

### 摘要

在本研究中，我们使用Waters BioAccord系统通过蛋白质变性SEC-MS方法对还原单克隆抗体实现快速、常规的质谱分析。

本研究开发出一种蛋白质变性SEC/UV/MS方法，可以在线联用体积排阻色谱和光学、质谱检测，对mAb亚基进行定性和定量分析。科学家们需要这种成熟、稳健的分离技术，来解决高通量分析多种mAb的难题，无需针对特定mAb开发定制方法。亚2  $\mu\text{m}$  UPLC SEC方法能够在质谱分析条件下，快速分离分子水平的抗体轻链和重链。这种基于分子大小的分离可以弥补RP色谱的不足，与质谱联用时，可为抗体分析提供一种强大、稳健的平台解决方案。

### 优势

使用在线蛋白质变性SEC-MS方法，实现单克隆抗体轻链和重链亚基快速质谱分析的平台解决方案。

---

### 简介

---

生物制药行业目前处于开发阶段的生物治疗药物中，治疗性单克隆抗体(mAb)仍然占绝大多数。在mAb的药物研发生命周期中，通常会对其完整结构和亚基进行质谱分析，旨在确认序列完整性、监测产品变化以及鉴定产品。生物制药行业亟需一种简单通用的平台方法，能够对理化性质各异的mAb进行质量数测量，从而提高分析效率，尤其是药品的发现和早期开发阶段 — 这些时期通常需要高通量筛选多种mAb结构。

体积排阻色谱(SEC)是一种等度蛋白分离方法，选择性主要取决于蛋白质的平均斯托克斯半径，与蛋白质的分子量(MW)对数有关。与反相(RP)色谱法相比，SEC方法由于分析物回收率不受较高柱温影响且产品峰通常在可预测的位置洗脱（与分子的等电点(pI)和疏水性无关），因此更为通用。我们使用含30%乙腈、0.1%三氟乙酸(TFA)、0.1%甲酸(FA)的流动相，开发了一种蛋白质变性SEC方法，充分发挥体积排阻分离功能的优势，分离还原抗体轻链(LC)和重链(HC)亚基。将SEC分离结果传输到BioAccord系统，以获取还原片段的UV和质谱数据。该方法为mAb分析提供了稳健的工作流程，能够高度兼容多种缓冲液和配方助剂，可用作平台分析方法。



---

## 结果与讨论

本研究使用了有利于质谱分析的流动相（30%乙腈、0.1% TFA、0.1% FA），便于直接将SEC分离与在线UV和ESI-MS检测结合。SEC分离采用ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统和ACQUITY™ UPLC™ BEH SEC 200Å色谱柱（1.7 μm, 4.6 mm x 150 mm，部件号186005225），流速为0.40 mL/min。采用稳健的BEH杂化颗粒技术，确保填料的理化性质在高强度的SEC变性条件下仍然保持稳定。液流经过ACQUITY UPLC TUV检测器(280 nm)和联用的ACQUITY RDa MS检测器。使用低扩散ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统和亚2 μm UPLC BEH SEC颗粒，在6分钟的SEC运行时间内完全分离糖基化重链(HC)和后洗脱的轻链(LC)。

图1A显示了蛋白质变性SEC-MS分析所得5种还原mAb亚基（重链和轻链）的总离子流色谱图(TIC)。所有轻链和重链峰均实现了基线分离，方法的总运行时间为6 min，洗脱位置（保留时间）相同。图1B比较了还原NIST mAb亚基的TIC和TUV (280 nm)色谱图，显示后洗脱的盐类物质被切换至废液，尽量减少可能对ACQUITY RDa MS检测器造成的污染。

图2 A和B显示了NIST mAb LC (A)和HC (B)的累加原始谱图以及各自的去卷积谱图。图2C的组分汇总表表明，自动鉴定的主LC和HC峰具有良好的质量精度。

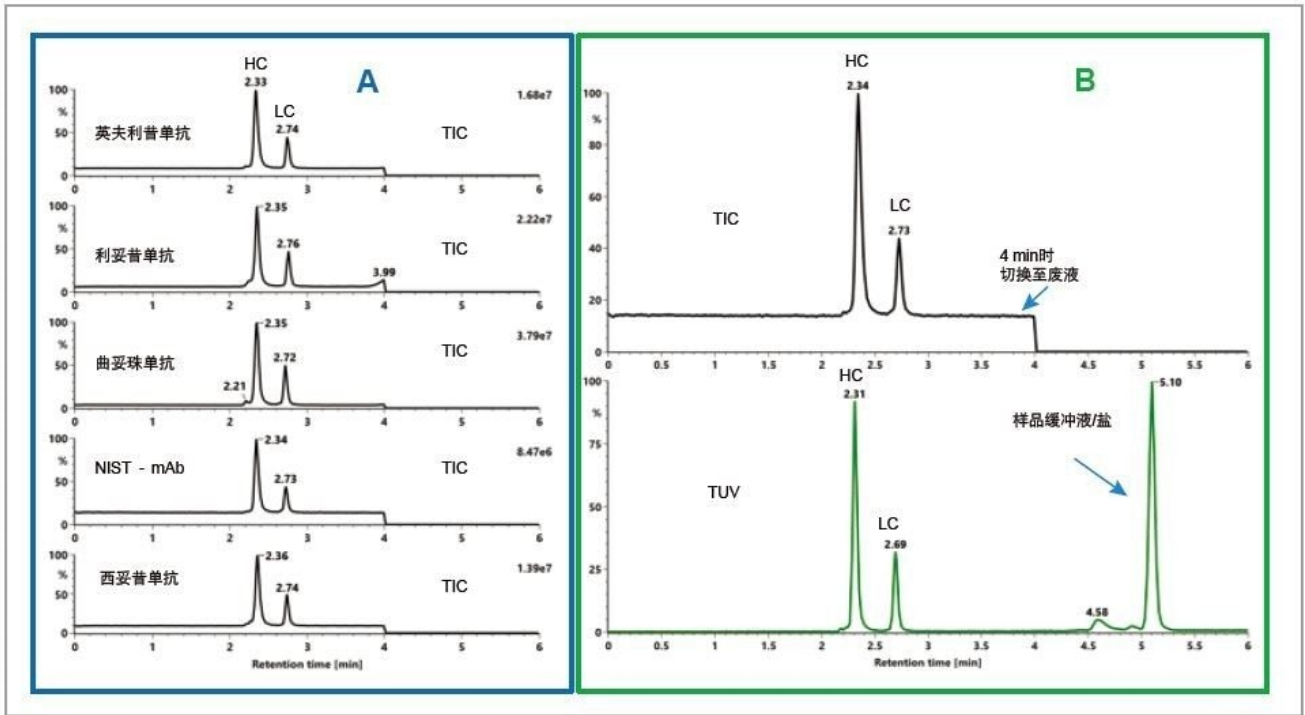


图1.A. 蛋白质变性SEC-MS分析所得多种还原mAb亚基（重链和轻链）的总离子流色谱图(TIC)。B. 还原NIST mAb亚基的TIC和TUV (280 nm)色谱图。

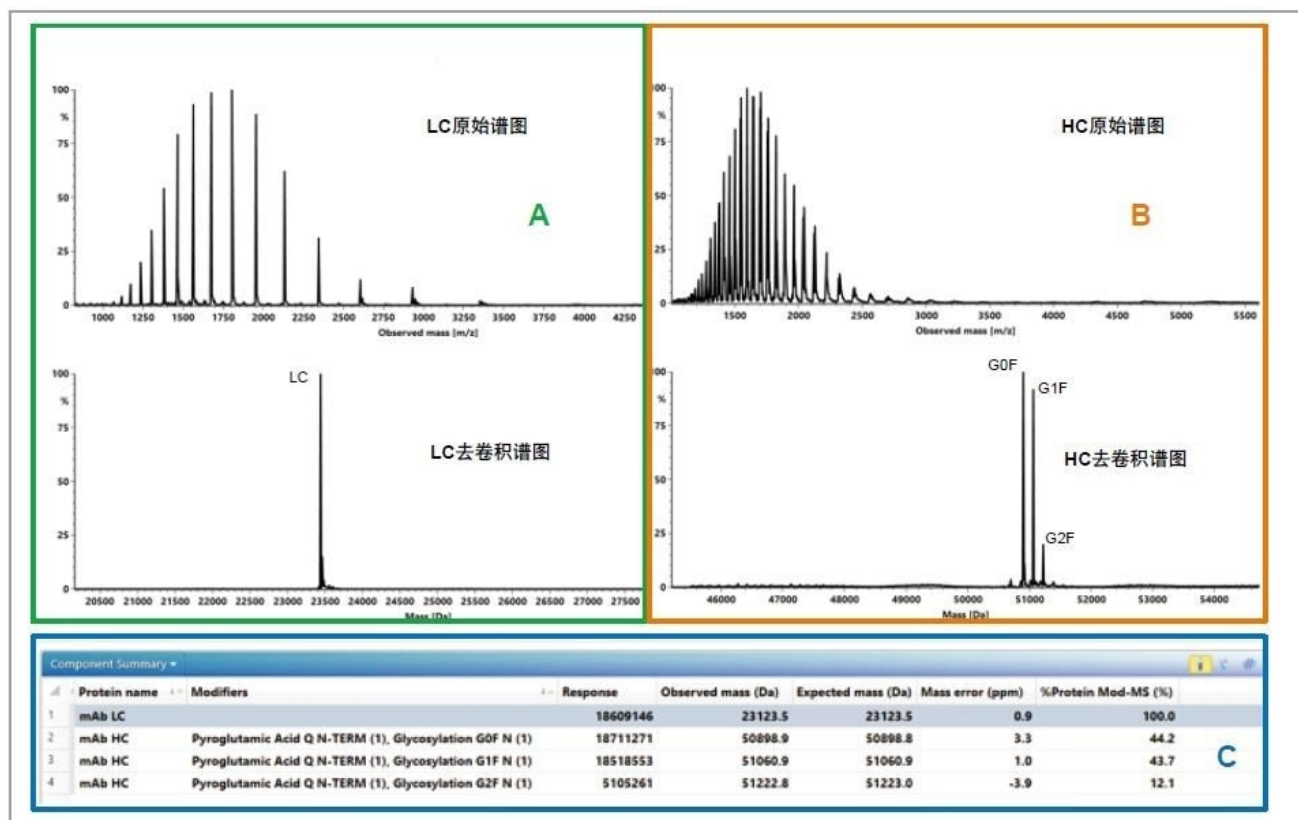


图2.蛋白质变性SEC-MS分析所得NIST mAb LC (A)和HC (B)的累加原始谱图以及各自的去卷积谱图。组分汇总表(C)表明,自动鉴定的主LC和HC峰具有良好的质量精度。

## 结论

本研究开发出一种蛋白质变性SEC/UV/MS方法,可以在线联用体积排阻色谱和光学、质谱检测,对mAb亚基进行定性和定量分析。科学家们需要这种成熟、稳健的分离技术,来解决高通量分析多种mAb的难题,无需针对特定mAb开发定制方法。亚2  $\mu\text{m}$  UPLC SEC方法能够在质谱分析条件下,快速分离分子水平的抗体轻链和重链。这种基于分子大小的分离可以弥补RP色谱的不足,与质谱联用时,可为抗体分析提供一种强大、稳健的平台解决方案。

---

## 特色产品

专为生物制药应用打造的BioAccord LC-MS系统 <

<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135005818>>

720006529ZH, 2019年4月

©2019 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie](#) [设置](#)

沪 ICP 备06003546号-2

京公网安备 31011502007476号