

MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier を用いた RPLC-MS ベースの分析における酸性ペプチドのクロマトグラフィー性能の向上

Robert E. Birdsall, Jacob Kellet, Samantha Ippoliti, Nilini Ranbaduge, Henry Shion, Ying Qing Yu

Waters Corporation

要約

LC ベースの分析テクノロジーにおける化合物のピーク形状の不良、テーリング、および回収率の低下に寄与する要因として、金属イオンによる分析種の吸着が、データ品質とアッセイの頑健性に悪影響を及ぼすことがあります。リン酸基、非荷電アミン、および脱プロトン化カルボン酸を持つ分析種は、このような現象の影響を特に受けやすくなっています。この現象は、タンパク質ベースの治療薬の開発および製造でよく見られます。分析種/表面間の吸着に対処するための現在の方法としては、イオン対添加剤、ハードウェアのコンディショニング、高イオン強度の移動相などが挙げられます。これらの戦略は有効であることが実証されていますが、MS ベースの分析法の場合でも、装置/技術の互換性の面で導入が困難であり、場合によっては腐食性試薬が用いられる長時間のコンディショニング手順を、安全かつ効率的な方法で実施するのも困難です。MaxPeak HPS テクノロジーを採用した新発売の ACQUITY Premier ブランドのカラムは、これらの課題に対するウォーターズのソリューションとなります。Waters ACQUITY Premier カラムは、影響を受けやすい化合物の分析種/表面間の相互作用を最小限に抑えつつ、卓越したクロマトグラフィー性能を提供できるように設計されています。この試験では、Waters NIST mAb トリプシン消化標準品を使用した RPLC-MS ベースのペプチドマッピングアッセイの回収率、再現性、頑健性の向上により、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier カラムの性能の向上を実証しています。この試験を要約すると、MaxPeak HPS テクノロジーは、治療用医薬品の開発および製造に幅広く適用でき、ウォーターズのテクノロジーで期待されるクロマトグラフィー性能を実現すると同時に、表面相互作用を起こしやすい分析種の再現性、ピーク形状、回収率を向上させることができることが確認さ

れました。

アプリケーションのメリット

- 回収率の向上とピークテーリングの低減による感度向上
- 添加剤を追加せずに従来の方法との互換性を実現
- アッセイ再現性の向上により分析法の頑健性が向上
- 分析法開発にかかる時間短縮による生産性の向上

はじめに

液体クロマトグラフィー（LC）における分析種/表面間の吸着は、LC ベースのテクノロジーにおける、化合物のピーク形状の不良、テーリング、回収率低下の要因として知られています¹⁻³。最近では、ルイス酸/塩基特性を示す分析種に対する特異的吸着のメカニズムとして、金属イオンによる吸着が確認されています⁴。この仮説は、リン酸基、非荷電アミン、脱プロトン化カルボン酸などの電子が豊富な部分を持つ分析種がルイス塩基として作用し、ルイス酸として作用する金属表面の電子不足部位に非共有的に吸着するというものです。金属イオンによる吸着を抑制する従来の方法としては、イオン対形成、ハードウェアのコンディショニング、高イオン強度の移動相などが挙げられます。大部分は成功していますが、分析種が金属表面との間で極めて強い相互作用（複数の電子が豊富な部分がある場合など）を示す場合や、アッセイを最適でない条件（弱イオン対強イオン対など）で実施する場合には、依然として課題が存在します。特に、RPLC-MS ベースのペプチド分析では、アスパラギン酸（D）残基またはグルタミン酸（E）残基を含むペプチドフラグメントが金属表面と相互作用して吸着特性を強めることがあるため、図 1 に示されるように、テーリングが増加し、金属イオンによる吸着を起しやすいため分析種における感度が低下します。近年では、金属キレート剤を移動相添加剤として使用することで、吸着によるアーティファクトの低減に成功を収めています⁵。ただし、このような添加剤を取り入れると、MS ベースの分析において新しいクロマトグラフィーアーティファクトが発生し、イオン化が抑制されるため、必ずしも理想的ではありません。このような課題により、添加剤やコンディショニング処理を追加することなく、金属イオンによる吸着を軽減できる新しいカラムや装置の必要性が高まっています。

MaxPeak HPS テクノロジーを採用した新発売の ACQUITY Premier ブランドのカラムは、これらの課題に対するウォーターズのソリューションとなります。ACQUITY Premier カラムは、影響を受けやすい化合物の分析種/表面間の相互作用を最小限に抑えつつ、卓越したクロマトグラフィー性能を提供できるように設計されています。このアプリケーションノートの目的は、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier を活用することで、バイオ医薬品の開発および製造で実施されるアッセイの再現性、回収率、および頑健性を向上させることで、ラボの生産性も向上し、リスクを軽減できることを実証することです。

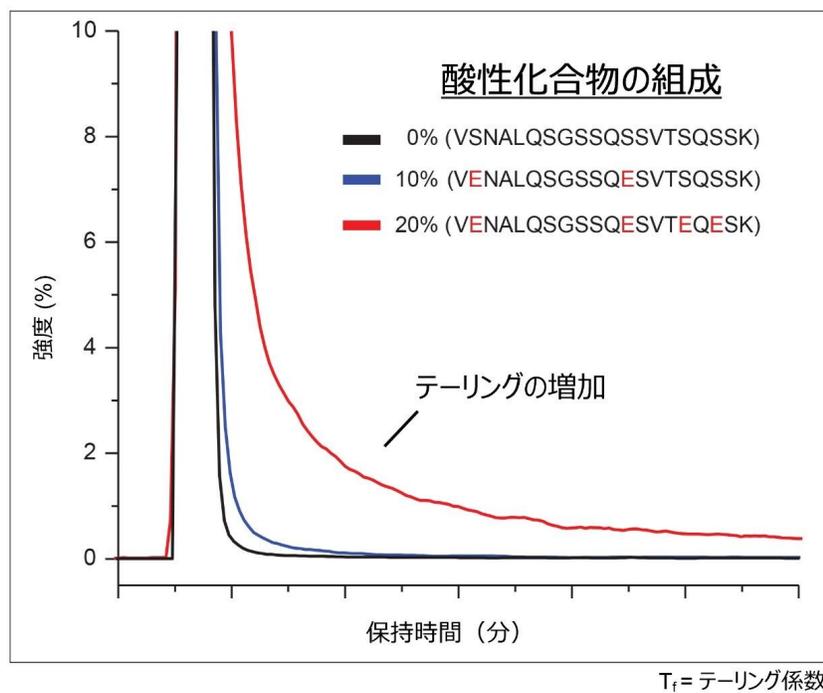


図 1. 合成酸性ペプチド。組成によって 0、2 つ、および 4 つのグルタミン酸 (E) 残基を含む、酸含有率が 0%、10%、20% の 3 種類の合成ペプチドについて、テーリングを評価しました。アイソクラティック条件 (MP A: 89%、MP B: 11%) では、複数の酸性残基を含むペプチドのテーリングの大幅な上昇が観察されました。

実験方法

カラムは、取扱説明書の記載に従ってコンディショニングしました。Waters mAb トリプシン消化標準品 (製品番号: [186009126](#)) は、0.2 mg/mL (SYNAPT XS) および 0.5 mg/mL (ACQUITY QDa) の濃度で 0.1% FA を含有する MS グレードの水に再溶解し、使用前に小分けして -80°C で保存しました。

LC 条件

LC システム:

ACQUITY H-Class Binary Bio PLUS

検出:	TUV、10 mm 分析用 FC、 $\lambda = 214 \text{ nm}$
バイアル:	MaxPeak HPS を採用した QuanRecovery (300 μL 、25 本入り、製品番号: 186009242)
カラム:	CSH 130 Å C ₁₈ カラム (2.1 × 100 mm、1.7 mm、製品番号: 186005297) ACQUITY Premier Peptide CSH 130 Å C ₁₈ カラム (2.1 × 100 mm、1.7 mm、製品番号: 186009461)
カラム温度:	60 °C
サンプル温度:	6 °C
注入量:	QDa = 10 μL 、Synapt XS = 1.0 μL
流速:	0.200 mL/分
移動相 A:	0.1 % ギ酸水溶液
移動相 B:	0.1 % ギ酸アセトニトリル溶液

グラジエントテーブル (図 2 ~ 7)

時間	流速 (mL/分)	%A	%B	カーブ ^a
初期条件	0.200	99	1	6
2.00	0.200	99	1	6
52.00	0.200	65	35	6
57.00	0.200	15	85	6
62.00	0.200	15	85	6
67.00	0.200	99	1	6
80.00	0.200	99	1	6

MS 条件 (図 1 および 6)

MS システム:	ACQUITY QDa
イオン化モード:	ESI+
取り込み範囲:	250~1,250 <i>m/z</i>
キャピラリー電圧:	1.5 kV
コーン電圧:	10 V
プローブ温度:	600 °C

MS 条件 (図 2~5)

MS システム:	SYNAPT XS
イオン化モード:	ESI+
取り込み範囲:	<i>m/z</i> 50 ~ 2000

キャピラリー電圧:	2.2 kV
コーン電圧:	20 V
イオン源温度:	120 °C
脱溶媒温度:	350 °C
コーンガス:	35 L/時間
脱溶媒ガス:	500 L/時間
ロックマス:	0.1% ギ酸含有アセトニトリル/水 (75/25) 中の 100 fmol/mL の Glu フィブリノペプチド B

データ管理

クロマトグラフィーソフトウェア:	Empower 3 FR4
MS ソフトウェア:	MassLynx 4.2
インフォマティクス:	UNIFI 1.9.4

結果および考察

業界における重要性:

ペプチドベースの分析は、品質ライフサイクル管理プロセスの一環として、タンパク質ベースの治療薬の特性解析と品質管理に欠かせない手段であることが証明されています。このプロセスの一環として、LC-MS ベースのデータは、一次配列でのタンパク質修飾とそれに関連する不純物を測定するために使用する情報を提供する上で重要な役割を果たします。これらの分析における質量情報の価値は、医薬品の開発および製造における生産性とデータ品質を向上させるための MS ベースの手法の役割を拡大するという新たな関心にある程度寄与しています。ただし、MS 検出を使用したペプチド分析は、クロマトグラフィー性能よりも感度を重視して、ギ酸などの弱い移動相添加剤を使用して実施されること

がよくあります。このことは、金属イオンによる吸着が起こりやすい微量不純物（「酸性」ペプチドなど）で問題となる場合があります。分析の再現性および結果の精度は、分析種/表面間の相互作用の度合いによって異なる場合があります。一例として、図 2A にはアスパラギンの脱アミド化が示されています。

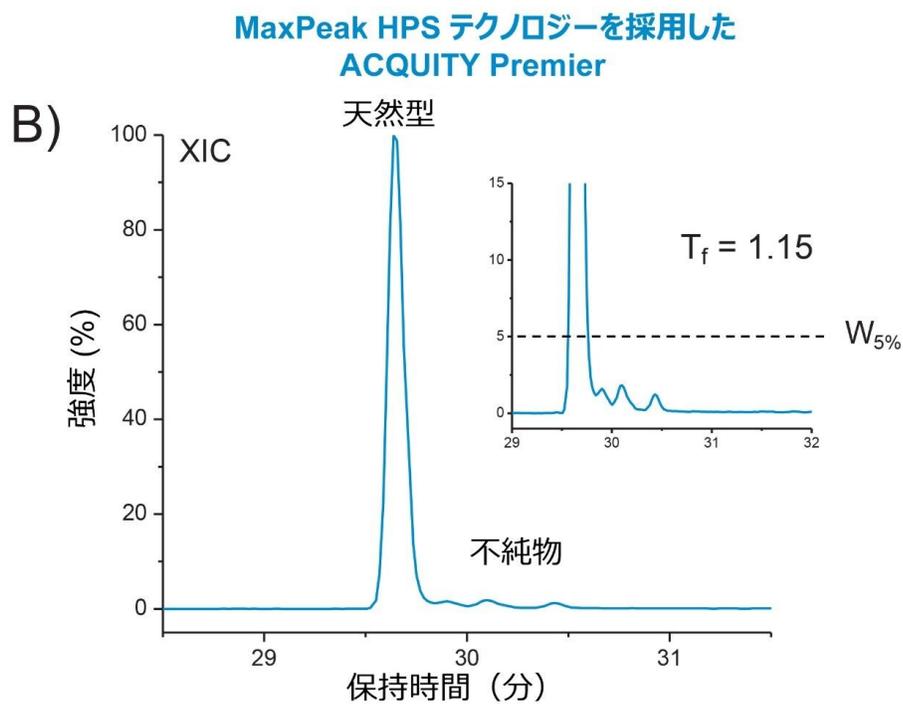
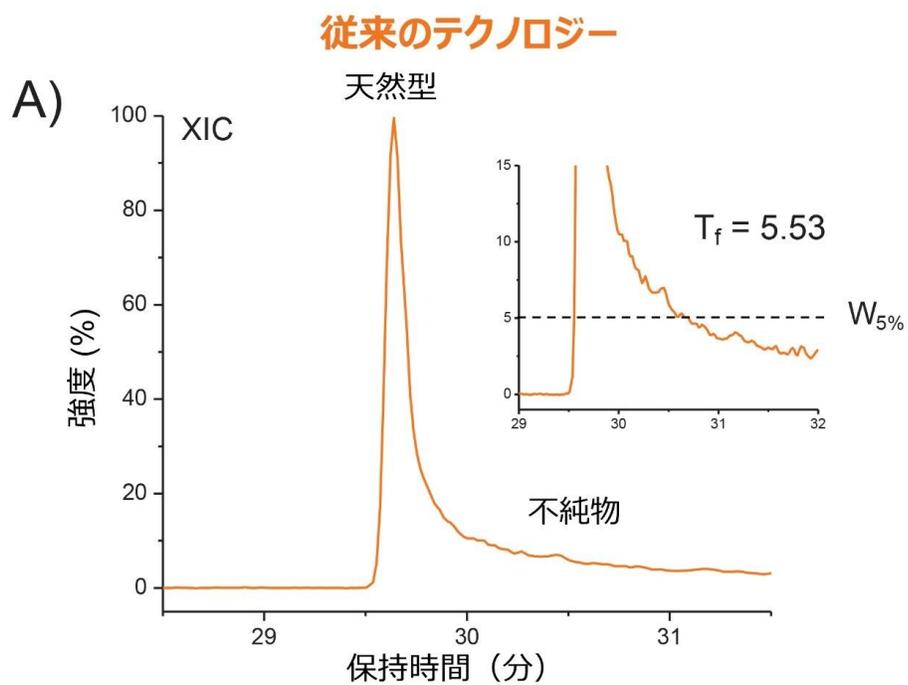


図 2. T37 PENNYK ペプチドに関連する重要品質特性。A) T37 のネイティブピークのテーリ

ング係数は、従来のステンレススチール製カラムを使用した場合 5.53 と算出されました。その結果、近接して溶出する脱アミド化された関連不純物を正確に検出できませんでした。B) CQA 関連の脱アミド化された不純物の検出が可能になる MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier カラムを使用した場合、ネイティブピークのテーリングは 79% 減少して 1.15 になりました。

アスパラギンの脱アミド化によるアスパラギン酸およびイソアスパラギン酸への転換は、薬剤の有効性に関連するモノクローナル抗体 (mAb) に共通の翻訳後修飾です。その結果、バイオ医薬品関連企業は、脱アミドなどの重要品質特性 (CQA) の管理とモニタリングに多大なリソースを投資しています。モニタリング対象の脱アミド化分子種のうち、T:37 ペプチド「PENNYK」 (配列: GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK) は、ルーチンモニターされている Fc ドメインペプチドです。このペプチドは脱アミドなどの翻訳後修飾の影響を受けやすく、4 つの「酸性」残基 (グルタミン酸 3 つ、アスパラギン酸 1 つ) を含むことが知られています。図 2A に示されるように、PENNYK ペプチドに関連する不純物は、ネイティブペプチドと物理化学的特性が類似しているために、ネイティブペプチドと近い位置に溶出されるため、テーリングアーティファクトによる同定エラーや波形解析エラーの影響を受けやすくなります。この例では、Waters ACQUITY UPLC CSH 130 Å C₁₈ カラムを使用して、従来の LC システムでギ酸ベースの RPLC ペプチドマッピングを実施したところ、ネイティブの PENNYK ペプチドのテーリング係数が 5.53 になりました。これにより、ネイティブピークの過度のテーリングにより、近接して溶出する不純物が検出できなくなりました。対照的に、Waters ACQUITY Premier Peptide CSH 130 Å C₁₈ カラムを使用して同じ分離を実施した結果、テーリングが 79% 減少し、ネイティブペプチドのテーリング係数は 1.15 になりました。性能が向上したことにより、脱アミド化された不純物の両方でクロマトグラフィー分離が可能になりました。これらはネイティブピークからほぼベースライン分離されていました。このような結果から、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier により、安全で有効な医薬品の開発および製造において、ラボでのクロマトグラフィー性能の向上がもたらされることが実証されました。

回収率の向上:

MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier を使用した場合のパフォーマンスの向上は、上流と下流の両方の作業でのアプリケーションにメリットをもたらすことができます。ペプチドフラグメント中に、グルタミン酸残基およびアスパラギン酸残基が高頻度で繰り返し検出されていることから、すべての酸性残基を含むペプチドにおいて、分析種/表面間の相互作用を最小限に抑えることで、再現性、ピーク形状、および回収率において MaxPeak HPS テクノロジーのメリットを享受できることが示唆されます。図 3 に示されるように、NIST mAb トリプシン消化物のトータルイオンクロマトグラム (TIC) を、4 つの酸性残基 (20%) を含む T:14 ペプチドフラグメント (SEQUENCE = VDNALQSGNSQESVTEQDSK) の回収率について評価しました。Waters UPLC CSH 130 Å C₁₈ カラム (図 3A) と、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した Waters ACQUITY Premier Peptide CSH 130 Å C₁₈ カラム (図 3B) を使用し、Waters SYNAPT XS 質量分析計で検出を行いました。図 3A に示されるように、T:14 ペプチドフラグメントは 0.2 μg

の質量負荷で検出されず、ACQUITY UPLC CSH 130 Å C₁₈ カラムを使用した場合、シーケンスカバー率が 90% に低下していました。これに対し、同じサンプルを同じ方法を用い、ACQUITY Premier Peptide CSH 130 Å C₁₈ カラム (図 3 B) で分離した場合、T:14 ペプチドの回収率が大幅に向上し、ペプチドマッピング分析のシーケンスカバー率が 94% になりました。MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier の利点は、回収率の向上だけではありません。

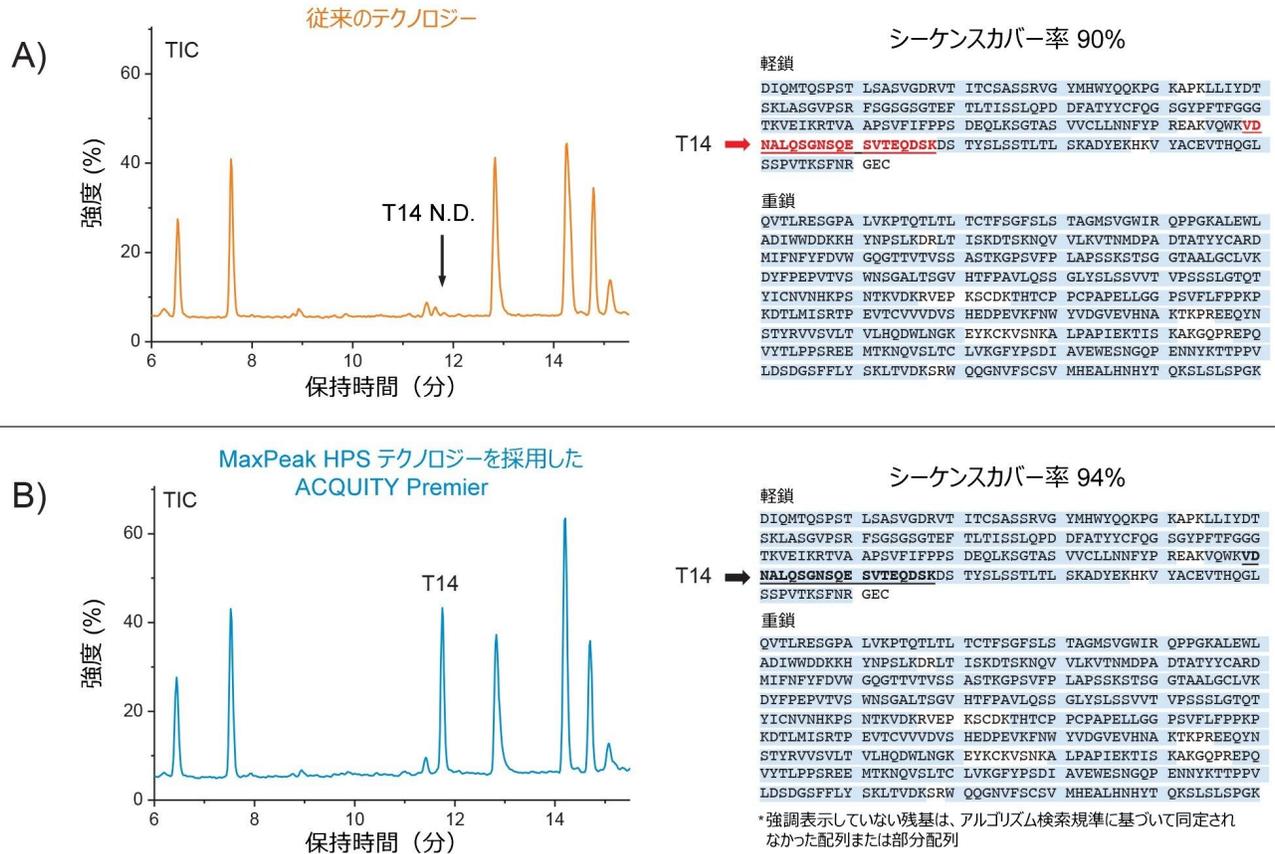


図 3. 回収率の向上。A) Waters NIST mAb 消化標準品のペプチドフラグメント T14 は、従来のステンレススチール製カラムを使用して、0.2 µg をロードした場合、LC-MS ベースのペプチドマッピングアッセイでは検出されず、結果として 90% のシーケンスカバー率となりました。B) MaxPeak HPS テクノロジーを用いた ACQUITY Premier カラムを活用した場合のペプチドフラグメント T14 の回収率。ペプチドフラグメント T14 の検出および同定が可能になり、シーケンスカバー率が向上しました (94%)。

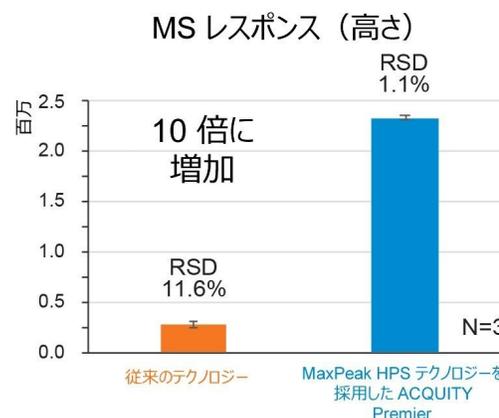
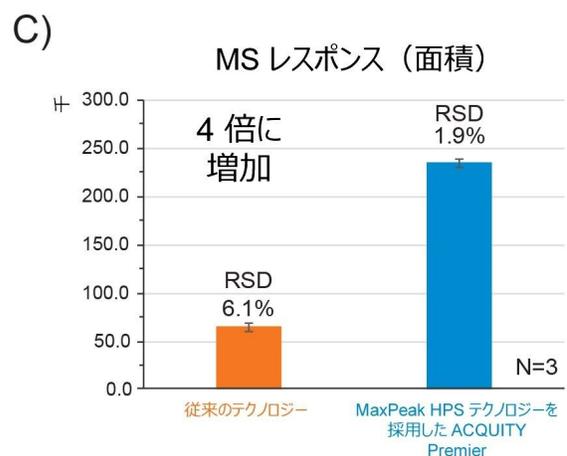
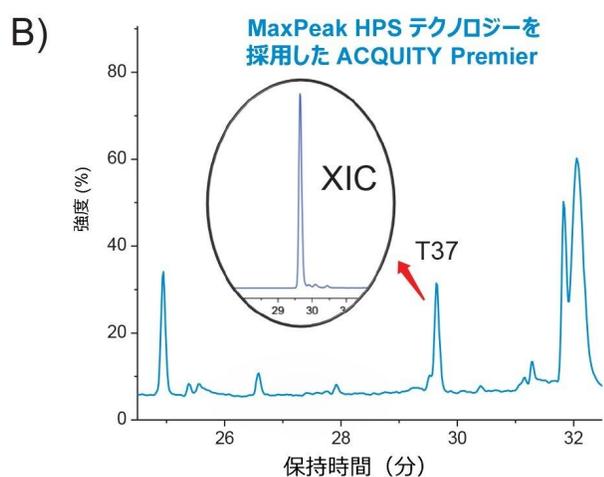
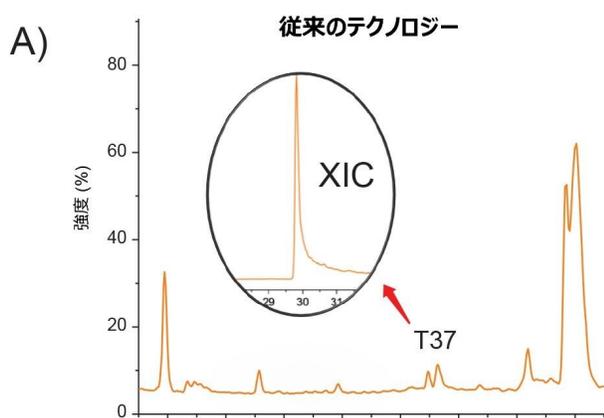


図 4. レスポンスの向上。A) 従来のカラム (ステンレススチール製) および B) MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier カラムで実施したペプチドマッピングについて、NIST レファレンス *mAb* 標準品のトリプシン消化物からのペプチドフラグメント T37 の回収率を評価しました。C) MaxPeak HPS テクノロジーによるテーリングの減少により、ピーク高さが 10 倍増加し、ピーク面積が 4 倍増加したことが確認されました。回収率の向上の結果、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier カラムを使用した場合、3 回の繰り返し注入で MS レスポンスのばらつきが最大約 90% 減少しました (高さの %RSD: 11.6% 対 1.1%)。

レスポンスの向上:

図 4 に示されるように、ペプチド T:37 を、同じサンプルおよびシステム構成を使用して、ペプチドフラグメント T:14 と同時に評価しました。図 4A に示されるように、ペプチドフラグメント T:37 を 0.2 μg ロードした XIC (m/z 848.7174) は、顕著なテーリングを示し、ネイティブピークと近接して溶出する関連不純物の検出が妨害されるとともに、装置レスポンスのばらつきの増加の原因となりました (図 4C)。一方、同じペプチドについて、MaxPeak HPS

テクノロジーを採用した ACQUITY Premier カラムで、同じ方法を使用して同じサンプルを分離すると、テーリングが減少し、回収率が向上した結果、ピーク高さが 10 倍、ピーク面積が 4 倍増加しました (図 4B)。MaxPeak HPS テクノロジーによる回収率の向上とピーク形状の改善により、アッセイの再現性が向上し、3 回の繰り返し注入について RSD 1.1 % で計算した MS レスポンス (高さ) のばらつきが 90% 減少しました。この結果は、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier を広範囲に適用することにより、酸性残基を含むペプチドのクロマトグラフィー性能が改善し、アッセイの頑健性と再現性が向上することを示しています。

ペプチド特性解析におけるデータ品質の改善:

ACQUITY Premier および MaxPeak HPS テクノロジーで確認された回収率およびクロマトグラフィー性能の向上により、データ品質と解釈の改善というメリットも得られました。上流の作業の一部であるタンパク質ベースの治療薬の特性解析は、候補医薬品のアミノ酸配列および関連不純物の決定において、ペプチドマッピングに大きく依存しています。これに関して、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier により、影響を受けやすい重要なペプチド分子種のテーリングを低減して分離することが可能となり、より高い信頼性で薬物候補の配列決定を行うことができます。この点は、図 5 に示したペプチドフラグメント T:37 のフラグメンテーションプロファイルで示されています。Waters SYNAPT XS 質量分析計で MS^E 取り込みモード (データインディペンデント取得) を使用して得た、T:37 (GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK) に関連する 4 つのピーク (挿入図) のスペクトルを図 5 に示します。この例では、重要な y 系列のフラグメンテーションイオンが観察されており、これらを使用して非修飾 (青色) および脱アミド化型またはスクシンイミド型 (赤色) の脱アミド化部位を割り当てました。まず、N393 に対応する y3 イオンについては、すべてのピークで非修飾です。次に、y4 イオンは、ピーク 3 以外のすべてのイオンで非修飾です。ピーク 3 には、N392 での脱アミド化を示す +0.9801 Da のシフトが見られます。ピーク 3 の y 系列は、予想通り、脱アミド化に対応する質量シフトを引き続き示しています。y9 イオンより前には、ピーク 2 と 4 で質量シフトは見られません。N387 に対応する y9 イオンは、ピーク 2 (脱アミド化) では +0.9870 Da、ピーク 4 (スクシンイミド中間体) では -17.0052 Da に認められます。したがって、これらのクロマトグラフィー分離された T:37 分子種は、ピーク 1 - 非修飾、ピーク 2 - N387 の脱アミド化、ピーク 3 - N392 の脱アミド化、ピーク 4 - N387 のスクシンイミド中間体、と明確に割り当てることができます。これらの結果より、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier では、分析の回収率と再現性が向上するだけでなく、テーリングの低減によって共溶出ピークが分離して検出器のレスポンスが向上し、データ解釈とペプチド同定の信頼性が高まることで、治療薬の開発と製造に関連する上流および下流の両方の作業をサポートできることが示されています。

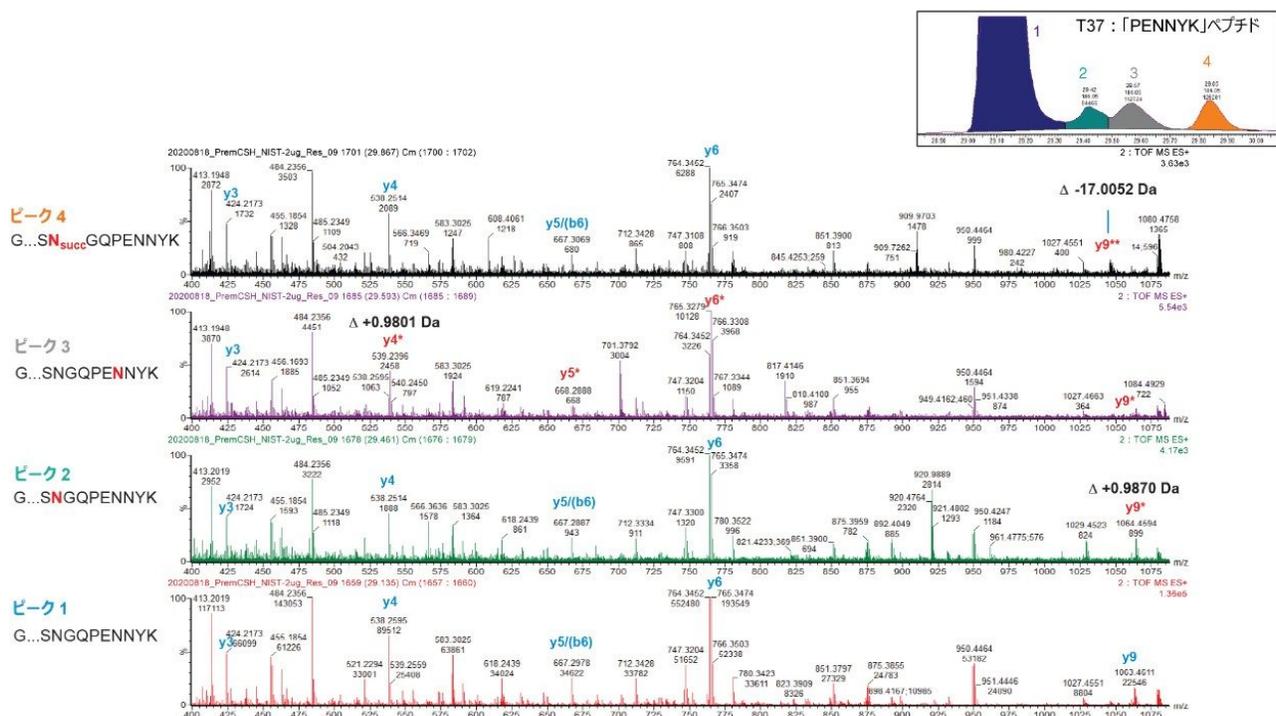


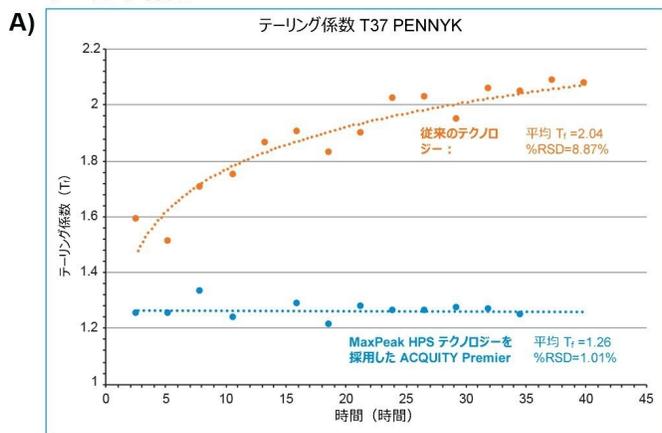
図 5. データ品質の向上。GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ペプチドおよびその脱アミド化分子種（右上の XIC に表示）の重要な y 系列のフラグメンテーションイオンにラベル付けした、 MS^E 高エネルギーフラグメンテーションスペクトル (m/z 400 ~ 1150)。一番下のパネルは、ピーク 1（非修飾）、中央のパネルはピーク 2 および 3（脱アミド化分子種）、一番上のパネルはピーク 4（スクシンイミド中間体）の MS^E スペクトルにそれぞれ対応します。非修飾の y イオンは青色で、脱アミド化 (*) およびスクシンイミド (**) の分子種は赤色でラベル付けています。

再現性の高いクロマトグラフィー性能:

分析法を開発環境から製造環境に移管する際、一貫した結果を効率的に取得できるようにし、医薬品の CQA を正確に反映させるためには、分析法性能基準としての再現性が重要です（再現性が悪いと、コストのかかる遅延が発生し、規制環境の場合と同様に、結果が規格外の場合に調査が必要になることがあります）。そのため、クロマトグラフィーの性能を安定させるための標準的な操作手順の一環として、多くの場合、コンディショニング手順が取り入れられています。このようなコンディショニング手順は、サンプルマトリックスの繰り返し注入などの比較的穏やかな手法から、硝酸やリン酸などの腐食性溶剤を使用して金属表面をコンディショニングするなどのより積極的な手法まで、多岐にわたります。これらの手法を行う利点があることは確かですが、時間がかかり、その間はラボや装置リソースが十分に使用できなくなります。MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier により、このように時間がかかり、時には危険を伴う手順を回避し、一貫性のある信頼性の高い性能が準備不要で活かせるようになります。

その一例として、CQA 関連の PENNYK ペプチドの例を図 6 に示します。洗浄したばかりの ACQUITY UPLC システム（リン酸洗浄）を用い、選択イオンレコーディング（SIR）の値を m/z 849.20 に設定したシングル四重極質量検出器（ACQUITY QDa）を用いて、ペプチドマッピング分離に ACQUITY Premier の MaxPeak HPS テクノロジーを使用する場合と使用しない場合で、PENNYK ペプチドのテーリング係数をモニターしました。図 6A に示されるように、MaxPeak HPS テクノロジーを使用しない場合の分離（従来のテクノロジー）では、ピークテーリングが増加し、システムが安定状態に近づくと、48 時間にわたって %RSD が 8.87% となりました。これとは対照的に、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier を使用して、洗浄したばかりのシステムで分析を実施した場合、安定で一貫性したクロマトグラフィー性能が得られ、ピークテーリングの %RSD は同じ期間で 1.01% でした。この例においては、MaxPeak HPS テクノロジーの再現性により、安定で一貫したクロマトグラフィー性能が実現しています。図 6B に示されるように、MaxPeak HPS テクノロジーを使用した場合、PENNYK ペプチドのクロマトグラフィー性能は、一連の 48 時間の注入にわたって一貫していて再現性が高く、相対的含有量が %RSD 2.5% 未満で正確に測定できました。この結果から、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier によって一貫性のある信頼性の高い結果が得られ、装置のダウンタイムと結果のばらつきを低減することで、ラボの生産性を向上できることが示されます。これらの重要な分析法性能により、安全で有効な医薬品をより早く上市することができるようになります。

テーリング係数



面積

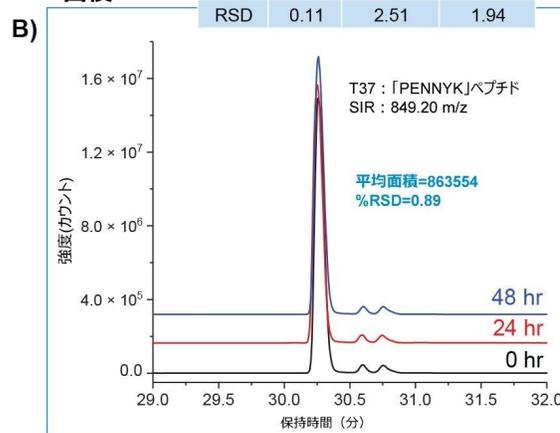


図 6. MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier の再現性。A) MaxPeak HPS テクノロジーを使用した場合 (青色のデータトレース) と使用しなかった場合 (オレンジ色のデータトレース) で、PENNYK ペプチドのテーリング係数を、洗浄したばかりのシステムで 48 時間以上にわたってモニターしました。MaxPeak HPS テクノロジーを使用せずに実施した分離のピークテーリングの %RSD が 8.87% と算出されたのに対し、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier を使用した場合は 1.01% でした。B) PENNYK ペプチドおよび関連する不純物のクロマトグラフィー性能は、一連の 48 時間注入にわたって一貫しており、相対的含有量の %RSD は 2.5% 未満でした (表の挿入図)。

従来の分析法との互換性:

医薬品の品質管理システムの一環として、医薬品のライフサイクルを改善する、新しいテクノロジーを評価することが推奨されます。評価の一環として、製薬会社は、新しいテクノロジーが治療薬の開発および製造に導入された既存の分析法にどのような影響を与えるかを判断するために、比較試験を頻繁に実施しています。これらの原則に従って、Maxpeak Premier テクノロジーを使用して実施した場合と使用しないで実施した場合の NIST mAb 消化物のペプチドマップについて、保持時間と選択性を比較しました。比較可能性を保つため、システムの準備 (データ取り込み前の酸洗浄) とカラムのコンディショニング (モノクローナル抗体のトリプシン消化物の 15 回の注入) に関して、両方のデータセットを同じ方法で生成しました。図 7A および 7B に示されるように、両方の分離についてクロマトグラムを詳しく調べ、相違を評価しました。比較しやすくするために、UV クロマトグラムの時間を揃えて、デュエルボリュームの差について調整し、同じスケールでプロットしました。定性的には、MaxPeak HPS テクノロジーによる分離は、ペプチド T:14 および T:37 (挿入図) のピークテーリングと回収率の改善を示しており、これまでの結論と一致していました。特に、ペプチドプロファイルは、プロファイルおよび含有量について相互に非常に一貫性があり、MaxPeak

HPSテクノロジーが分離に悪影響を与えなかったことを示しています。より厳密なアプローチを使用し、 $S/N \geq 3$ のピークを波形解析し、最後の溶出ピークをリファレンスピークとして用い、相対保持時間の関数として、相互にプロットしました。図7Cに示されるように、直交比較により、分離間の保持時間の優れた一致が得られ（傾き = 1.00）、時間オフセットはほとんどありませんでした（y軸切片 = -0.005）。このことから、MaxPeak HPSテクノロジーを使用した場合、選択性が大部分において保たれることが示されました。これらの結果から、MaxPeak HPSテクノロジーを採用したACQUITY Premierでは、分析種/表面間の相互作用を最小限に抑えることで、影響を受けやすい分析種の再現性、ピーク形状、回収率が向上し、クロマトグラフィーの選択性にほとんど影響を与えずに、従来のRPLCベースの分析法に適用できることを実証しています。

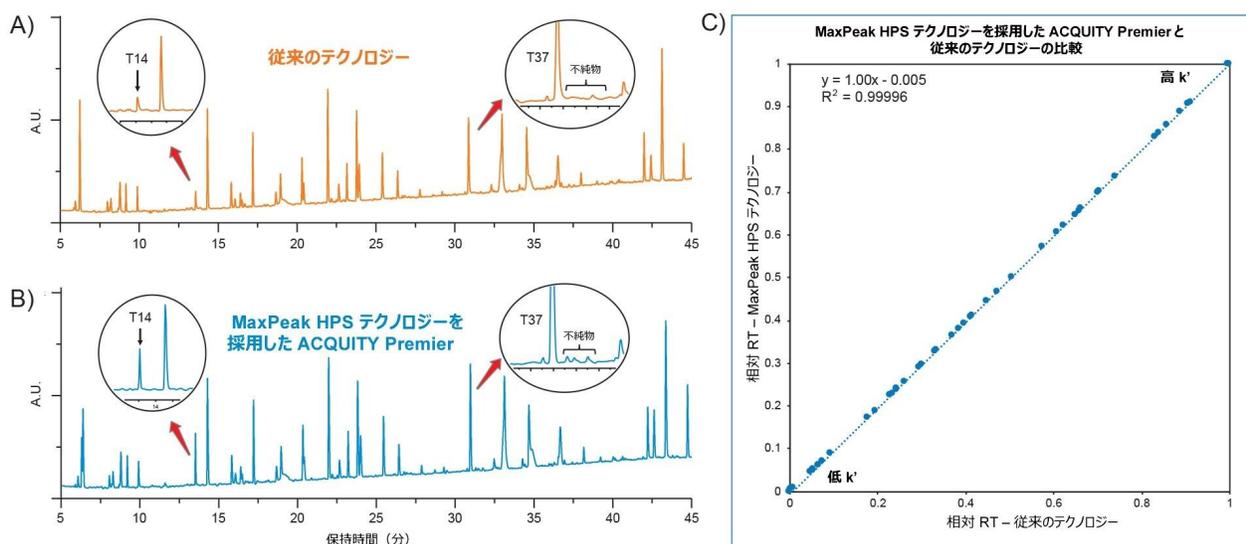


図7. 比較可能性。A) 従来の LC テクノロジーおよび B) MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier を使用して実施した NIST mAb 消化物のペプチドマッピングの間で、プロファイルおよび含有量に関して同等なペプチドプロファイルが得られました。C) $S/N \geq 3$ のピークの相対保持時間の直交比較から、保持時間の優れた一致が見られ（傾き = 1.00）、時間オフセットはほとんどありませんでした（y 軸切片 = -0.005）。このことから、MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier を使用すると、選択性が大部分において保たれることが示されました。

結論

液体クロマトグラフィーにおける分析種/表面間の吸着は、ピーク形状の不良、テーリング、回収率の低下の原因となることで、分析のばらつきが増加し、感度が低下して、表面相互作用を起こしやすい分析種において、結果の誤った解

釈につながる可能性があります。MaxPeak HPS テクノロジーを採用した ACQUITY Premier は、これらの課題に対処するためのウォーターズのソリューションです。Waters ACQUITY Premier カラムは、影響を受けやすい化合物の分析種/表面間の相互作用を最小限に抑えつつ、卓越したクロマトグラフィー性能を提供できるように設計されています。この試験を要約すると、MaxPeak HPS テクノロジーは、新規あるいは既存の治療用医薬品の開発および製造に幅広く適用でき、ウォーターズのテクノロジーで期待されるクロマトグラフィー性能を実現すると同時に、表面相互作用を起こしやすい分析種の再現性、ピーク形状、回収率を向上させることができることが実証されました。

参考文献

1. Giddings JC, Eyring H. A Molecular Dynamic Theory of Chromatography, *The Journal of Physical Chemistry*, 59 (1955) 416-421.
2. Fornstedt T, Zhong G, Guiochon G. Peak Tailing and Slow Mass Transfer Kinetics in Nonlinear Chromatography, *Journal of Chromatography A*, 742 (1996) 55-68.
3. Fornstedt T, Zhong G, Guiochon G. Peak Tailing and Mass Transfer Kinetics in Linear Chromatography, *Journal of Chromatography A*, 741 (1996) 1-12.
4. M. Lauber et al. Low Adsorption LC Technology Based on MaxPeak High Performance Surfaces. Waters White Paper 720006930EN <<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720006930en.pdf>> .2020.
5. Birdsall R, Kellett J, Yu YQ, Chen W. Application of Mobile Phase Additives to Reduce Metal-ion Mediated Adsorption of Non-phosphorylated Peptides in RPLC-MS-based Assays. *Journal of Chromatography B*, 1126-1127 (2019) 121773.

ソリューション提供製品

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

Empower クロマトグラフィーデータシステム <<https://www.waters.com/513188>>

ACQUITY UPLC チューナブル UV 検出器 <<https://www.waters.com/514228>>

ACQUITY QDa 質量検出器 <<https://www.waters.com/134761404>>

SYNAPT XS 高分解能質量分析計 <<https://www.waters.com/135020928>>

UNIFI 科学情報システム <<https://www.waters.com/134801648>>

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

720007003JA、2020 年 9 月



© 2024 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[利用規約](#) [プライバシーポリシー](#) [商標](#) [キャリア](#) [法的通知およびプライバシー通知](#) [Cookies](#)
[Cookie 環境設定](#)