SHIMADZU
Excellence in Science

Application News

No. C231

LC-MS

LCMS™-8060 を用いた核酸医薬品の定量性の検証と分子量確認

■概要

核酸医薬品は、各種疾患の原因となる標的遺伝子、あるいは標的タンパク質に結合することで薬効を発揮する合成オリゴヌクレオチドです。

ここでは、トリプル四重極型質量分析計 LCMS-8060 を用いた 20 塩基の 2′-MOE 修飾オリゴヌクレオチドの分析例をご紹介します。MRM モードによる検量線作成では、1～300 ng/mL の範囲で直線性が得られ、スキャンモードで得られた多価イオン質量スペクトルからデコンボリューションにより分子量を確認しました。

N. Kato

■分析条件

HPLC と MS の分析条件を表 1 に示します。オリゴヌクレオチドの逆相分離では、イオンペア試薬を用いることが一般的で、アミン系試薬としては TEA*1 などがよく使用されます。ここではより高感度に測定ができる HFIP*2 と DIPEA*3 を用いた移動相を使用しました。

表 1　分析条件

[HPLC conditions] (Nexera™)	
Column	: C18 ODS Column (50 mm×2.1 mm I.D., 2.5 µm)
Mobile phases	: A) 50 mmol/L HFIP and 10 mmol/L DIPEA B) Acetonitrile
Gradient Program	: B 5 % (0-0.5 min) – 15 % (0.5-3 min)
Flow rate	: 0.2 mL/min
Column Temp.	: 60 ℃
Injection volume	: 2 µL
[MS conditions] (LCMS-8060)	
Ionization	: ESI (Negative mode)
Probe Voltage	: -4 kV
Mode	: フルスキャン（*m/z* 500 - 2000） MRM（*m/z* 803.5 > 95.0）
CID gas	: 330 kPa
Nebulizing gas flow	: 3.0 L/min
Drying gas flow	: 8.0 L/min
Heating gas flow	: 12.0 L/min
DL Temp.	: 300 ℃
Heat Block Temp.	: 450 ℃
Interface Temp.	: 250 ℃

*1 Triethylamine
*2 1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol
*3 N,N-diisopropylethylamine

LCMS™-8060

■サンプル

配列：5'-mG-mC*-mC*-mU*-mC*-dA-dG-dT-dC*-dT-dG-dC*-dT-dT-dC*-mG-mC*-mA-mC*-mC*-3′

(m) 2′-O-(2-メトキシエチル) ヌクレオシド (2′-MOE)
(*) C と U の 5 位のメチル化体
(d) 2′-デオキシヌクレオシド

Average mass : 6436.39

■検量線

図 1 に MRM モードでの代表的なクロマトグラム、図 2 に検量線を示しました。1～300 ng/mL の範囲で検量線を作成しました。寄与率（R^2）は 0.998 でした。

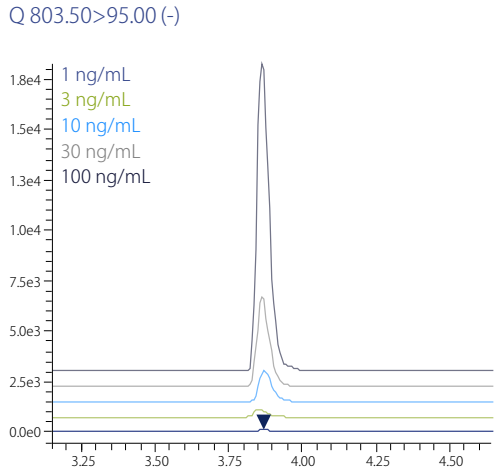

図 1　核酸医薬品の MRM クロマトグラム

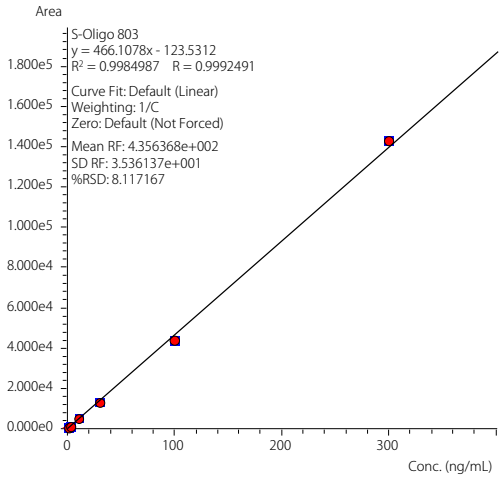

図 2　検量線

■スキャンモードのクロマトグラムとマススペクトル

図 3 にスキャンモードで測定したマスクロマトグラムを示しました。マスクロマトグラムは 6 価、7 価、8 価のイオンを選択しました。

図 4 にマススペクトルを示しました。5〜8 価のイオンが検出されました。

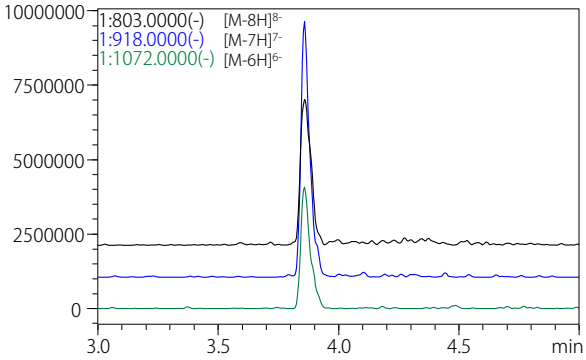

図 3　核酸医薬品のマスクロマトグラム

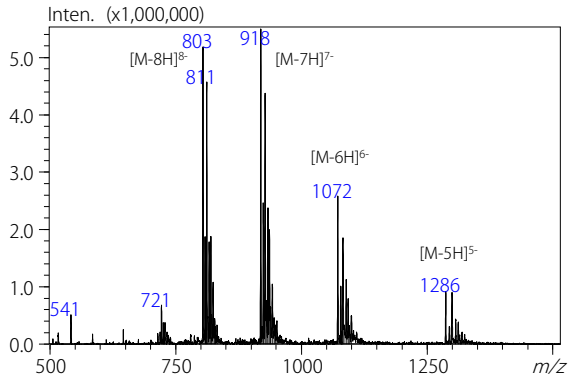

図 4　核酸医薬品のマススペクトル

■多価イオン解析ソフトウェアによるデコンボリューション

LabSolutions™ LCMS ソフトウェアのデコンボリューション機能を用い分子量計算を行った結果を図 5 に示しました。目的のマススペクトルを LabSolutions LCMS 上で表示し、デコンボリューションメニューを選択するだけで多価イオン解析を行うことができます。

デコンボリューション結果に示されるように、推定分子量は 6436.37 であることが確認されました。（理論値：6436.39）このようにほぼ誤差なく分子量を確認することができました。

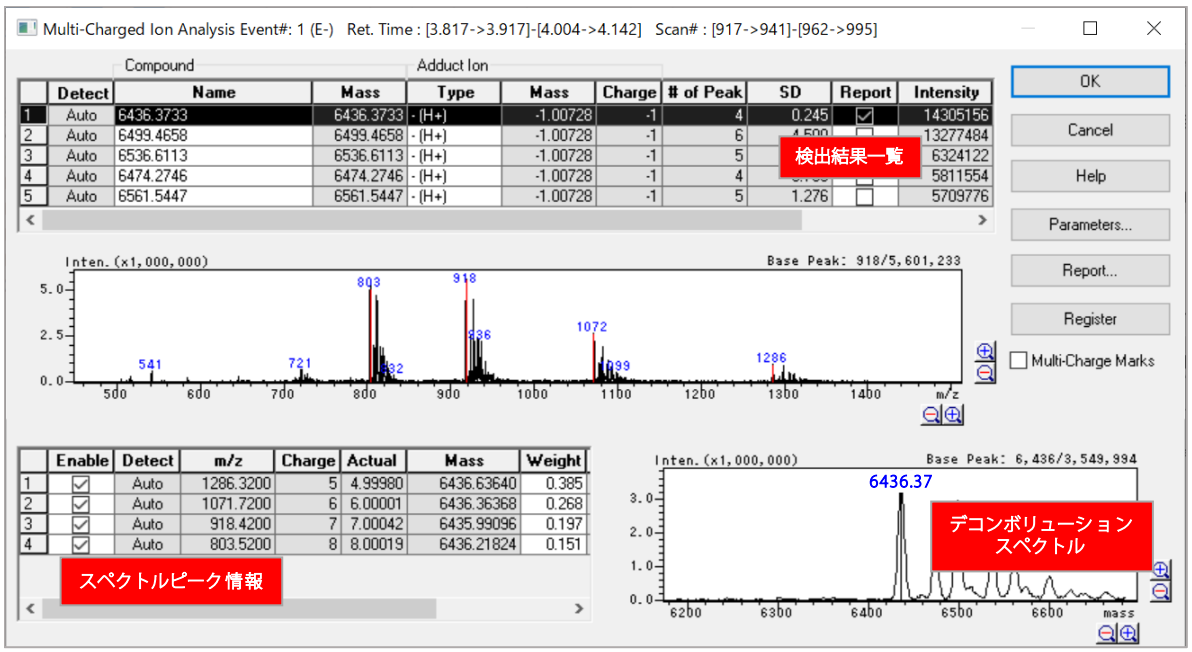

図 5　多価イオン解析結果

■まとめ

LCMS-8060 を用いた 2′-MOE 修飾オリゴヌクレオチドの分析例をご紹介しました。1〜300 ng/mL の範囲で検量線が取得でき、スキャンデータからデコンボリューション機能により小さい誤差範囲で分子量を確認することができました。

LCMS、Nexera、および LabSolutions は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部 グローバルアプリケーション開発センター
島津コールセンター 0120-131691 (075) 813-1691

初版発行：2020 年 9 月

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。
https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
https://solutions.shimadzu.co.jp/
会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。

LCMS-8060
超高速トリプル四重極型LC/MS/MSシステム

関連分野

- ライフサイエンス
- 医薬・バイオ医薬品
- 低分子医薬品
- 核酸・mRNA医薬品
- 核酸医薬品
- 定量解析（質量分析計）

- 価格お問い合わせ
- 製品お問い合わせ
- 技術お問い合わせ
- その他お問い合わせ