

## 四重極飛行時間型質量分析計を用いた インタクト抗体分析

中園 純菜

### ユーザーベネフィット

- ◆ 精密質量を取得可能な四重極飛行時間型質量分析計LCMS-9030により、インタクト抗体分析が可能です。
- ◆ LabSolutions Insight Explore™ CSDに搭載されたReSpecTアルゴリズムにより、タンパク質などの高分子化合物の多価イオン解析が可能です。
- ◆ 本ワークフローはモノクローナル抗体の糖鎖違いの質量スペクトルの確認に適用できます。

### はじめに

近年、モノクローナル抗体や抗体薬物複合体といった抗体医薬品は、標的分子に対する特異性の高さと副作用の少なさから、国内外問わず盛んに研究や開発がなされています。抗体医薬品は化学合成による大量生産が可能な低分子医薬品とは異なり、動物細胞を利用して産生されます。そのため、構造上の不均一性を防ぐことが難しく、抗体医薬品の研究や開発において特性評価は不可欠です。質量分析による特性評価の項目としては、インタクト抗体の分子量確認や糖鎖修飾の解析が挙げられます。

本稿では、四重極飛行時間型質量分析計LCMS-9030（図1）を使用して、モノクローナル抗体薬のトラスツマブを分析した例を紹介します。解析ソフトウェアLabSolutions Insight Explore CSDを用いて、取得したマススペクトルに対して多価イオン解析（デコンボリューション）を行いました。



図1 LCMS™-9030の外観

### 試料の前処理

本分析にはプロテインAカラムで精製処理したトラスツマブを使用しました。カラム精製後、抗体濃度が0.5 µg/µLになるように0.1%ギ酸水で希釈しました。

### トラスツマブの分析

分析条件を表1に示します。流路切替バルブを用いて、測定時間0~4.9分に廃液側、5~15分にMS側に試料を導入しました。

トラスツマブのマスクロマトグラムを図2に示します。保持時間約8.2分にピークが確認されました。

表1 分析条件

UHPLC (Nexera™ X3 system)	
Column	: Triart Bio C4 (2.1 mm I.D. x 150 mm L, S-3 µm, 300 Å, YMC)
Mobile Phase A	: 0.1% Formic acid - Water
Mobile Phase B	: 0.1% Formic acid - Acetonitrile
Gradient Program	: B Conc. 0% (0-5 min) – 70% (9 min) – 95% (9.5-10.5 min) – 0% (10.51 -15 min)
Flowrate	: 0.4 mL/min
Column Temperature	: 50 °C
Injection Volume	: 1 µL
MS (LCMS-9030)	
Ionization	: ESI positive
Nebulizing Gas Flow	: 3.0 L/min
Drying gas Flow	: 10.0 L/min
Heating gas Flow	: 10.0 L/min
Interface Temp.	: 300 °C
DL Temp.	: 250 °C
Block Heater Temp.	: 400 °C
MS Scan Range	: $m/z$ 1000-4000

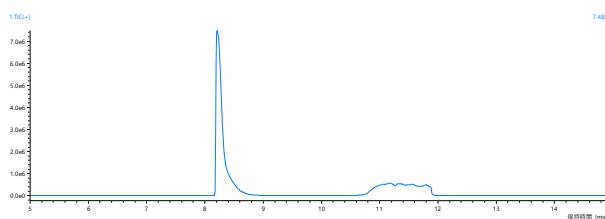


図2 トラスツマブのトータルイオンカレントクロマトグラム

### 多価イオン解析

タンパク質などの高分子化合物を測定した際に得られるマススペクトルでは複数の多価イオンが分布します。解析ソフトウェアLabSolutions Insight Explore CSDに搭載されたReSpecTアルゴリズム（Positive Probability社）は、多価イオンが分布するマススペクトルから、各分子の質量を解析することができます。

トラスツマブ（分子量約148,000）の多価イオン解析結果を図3に示します。結果画面では、最上部（図3-A）に処理対象マススペクトル、その下（図3-B）に解析の結果得られたゼロ価の質量スペクトル（多価イオン解析スペクトル）が表示されます。左下部（図3-C）には得られた多価イオン解析スペクトルがリスト化され、このリスト中で選択されている行に対応するマススペクトルのピークの情報が右下部（図3-D）にリストで表示されます。

本結果では、拡大した対象処理マスペクトルのピーク群（図3-E）に対応して、多価イオン解析スペクトルでは5つのピークが確認されました（図3-B）。図3-B中の青い数値

値はピーク間の質量差を示しており、フコース（平均分子量：146）およびガラクトース（平均分子量：162）違いのピークであると考えられます。

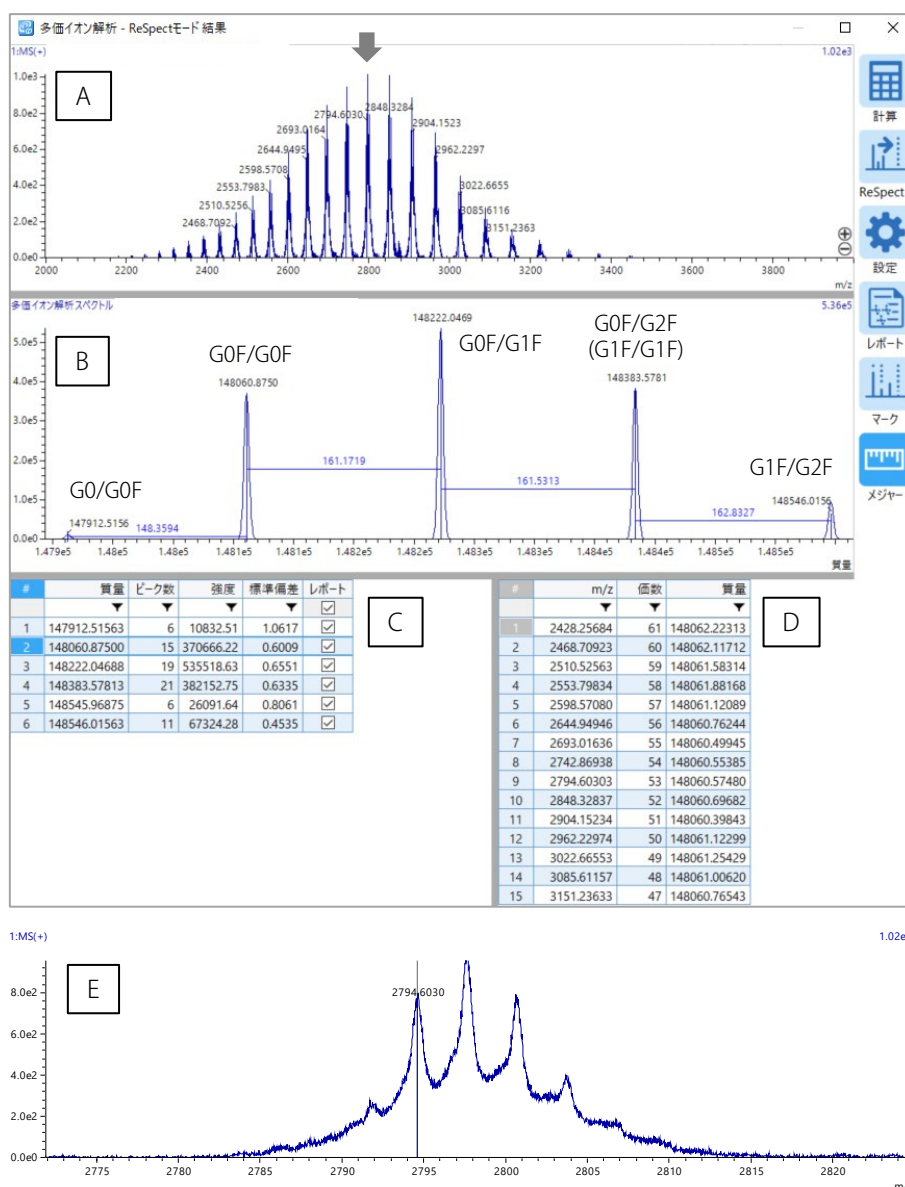


図3 トラスツズマブの多価イオン解析結果

A：処理対象マスペクトル、B：多価イオン解析スペクトル（青い数値はピーク間の質量差を示す）、C：多価イオン解析結果リスト、D：Cのリストで選択された行に対応するピーク情報、E：処理対象マスペクトルのうち最もアバダントピーク（Aの灰色矢印）の拡大

## ■まとめ

四重極飛行時間型質量分析計LCMS-9030を用いて、トラスツズマブをインタクト分析しました。LabSolutions Insight Explore CSDに搭載されたRespectアルゴリズムを用いて、取得したMSスペクトルに対して多価イオン解析を行った結果、糖鎖違いの多価イオン解析スペクトルピークを検出できました。本ワークフローはモノクローナル抗体や抗体薬物複合体などのインタクト抗体分析に適用可能です。

### 【謝辞】

試料は金沢大学薬学系の増尾友佑先生にご提供いただきました。ご協力いただいたことに深く謝意を表します。

LCMS、NexeraおよびLabSolutions Insight Exploreは、株式会社島津製作所またはその関係会社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  
<https://www.an.shimadzu.co.jp/>

01-00474-JP 初版発行：2023年 6月

島津コールセンター ☎ 0120-131691



このアプリがお役に立ちましたら、いいねボタンを押してください。

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。本文書に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。