

Application News

高速液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS™-2050

シングル四重極質量分析計による 合成DNAの分子量確認

中園 純菜

ユーザーベネフィット

- ◆ イナートUHPLCシステムNexera™ XS inertとシングル四重極型質量分析計LCMS-2050を用いることで、オリゴヌクレオチドの分析をLCと同様の感覚で簡便に行うことができます。
- ◆ 得られたマスペクトルの多価イオン解析によりオリゴヌクレオチドの分子量推定が可能です。

■はじめに

核酸医薬品は新しい創薬モダリティとして注目されており、近年開発および研究が盛んに行われています。核酸医薬品は一般的に化学合成により製造されており、合成したオリゴヌクレオチドが想定した塩基配列であるかを確認することは、製品の品質を担保する上で重要です。主成分が想定通りに合成されているかを確認するには、分子量情報が得られる質量分析計が有効です。ここでは、イナートUHPLCシステムとLCと同様の簡便な操作感、容易な操作性を可能としたシングル四重極型質量分析計LCMS-2050（図1）を用いて、理論値との質量誤差1 Da以内で合成DNAの分子量確認をした例をご紹介します。



図1 Nexera™ XS inert, LCMS™-2050システム

■サンプル

70 塩基からなる合成一本鎖DNA（配列：GGTGTCTCAGGCTCACGGACCACTGCACAACAATCCCACGACGT CGCCATTTTCTGCGATCCGGAAGGCGA）10 pmolを分析しました。

■分析条件

分析条件を表1に示します。LCシステムやカラムへの試料吸着を考慮し、LCはイナートUHPLCシステムであるNexera XS inertを、カラムはShim-pack Scepter™ Claris C18-120を用いました。Shim-pack Scepter Claris は、新規に開発されたバイオイナートコーティングを施したカラムボディにScepter シリーズの固定相を充填したイナートカラムです。MSはシングル四重極型質量分析計であるLCMS-2050を用いました。LCMS-2050は、ESI法とAPCI法、両方の長を有するイオン化である加熱型DUIS™を標準搭載しています。また、質量範囲は m/z 2-2000まで対応しているため、分子量の大きな核酸医薬品の分析にも使用できます。

表1 分析条件

[HPLC conditions] (Nexera XS inert)	
Column	: Shim-pack Scepter Claris C18-120 *1 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μ m)
Flow rate	: 0.3 mL/min
Mobile phase A	: 95.4 mM HFIP, 7.1 mM TEA in water
Mobile phase B	: 95.4 mM HFIP, 7.1 mM TEA in methanol
Time program	: 5%B (0-2 min) - 35%B (15 min) - 80%B (16-17 min) - 5%B (18-25 min)
Column temp.	: 50 °C
Detection	: PDA 200-400 nm
Injection volume	: 2.33 μ L (10 pmol)
[MS conditions] (LCMS-2050)	
Ionization	: ESI/APCI (DUIS), Negative mode
Interface voltage	: -2.0 kV
Mode	: Scan (m/z 600-2000)
Nebulizing gas flow	: 2.0 L/min
Drying gas flow	: 5.0 L/min
Heating gas flow	: 7.0 L/min
Desolvation temp.	: 450 °C
DL temp.	: 200 °C

*1: P/N 227-31210-02

■分析結果

合成DNAを分析して得られたUV (260 nm) クロマトグラム、トータルイオンクロマトグラムを図2に示します。保持時間11分付近にピークが確認されました。

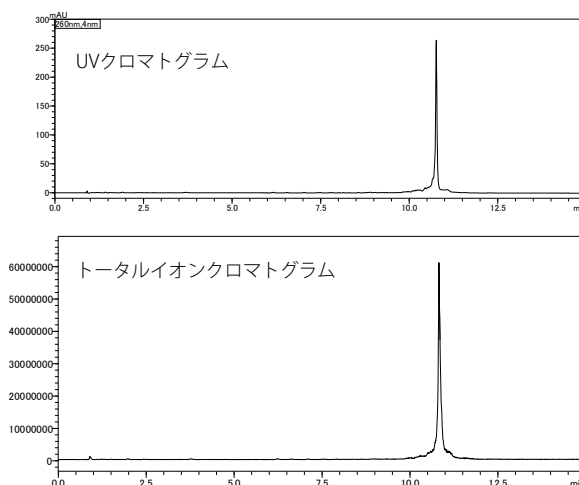


図2 合成DNAのUVクロマトグラムとトータルイオンクロマトグラム

保持時間11分付近に検出されたピークのマスペクトルを図3に示します。17~22価の多価イオンが検出されました。さらに、得られたマスペクトルをデコンボリューション機能を用いて多価イオン解析し分子量を推定したところ、21465.4と算出され理論分子量（21465.9）と1 Da以内の小さい質量誤差で結果が得られました（図4）。

■まとめ

イナートUHPLCシステムであるNexera XS inertとシングル四重極型質量分析計であるLCMS-2050を用い、合成一本鎖DNAの分子量確認を行いました。一般的に、デコンボリューション機能を用いて分子量推定を行う場合、より多くの多価イオンが得られる方が分子量推定の信頼性が高まります。今回、検出されたピークのマスペクトルを多価イオン解析した結果、理論分子量に対して1 Da以内の誤差で核酸医薬品主成分の分子量を推定することが可能でした。

LCMS-2050はLCと同様の容易な操作性に加え、高速、高感度、広質量範囲の分析が可能です。本システムは核酸医薬品の品質管理で有用な分析ツールです。

<関連アプリケーション>

1. シングル四重極質量分析計を用いた核酸医薬品の簡易的な不純物分析 [Application News No.01-00656-JP](#)
2. LabSolutions Insight™Biologicsを用いたオリゴヌクレオチド不純物解析ワークフロー [Application News No.01-00595A-JP](#)

<謝辞>

試料は国立研究開発法人医薬基盤研・健康・栄養研究所の笠原勇矢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。

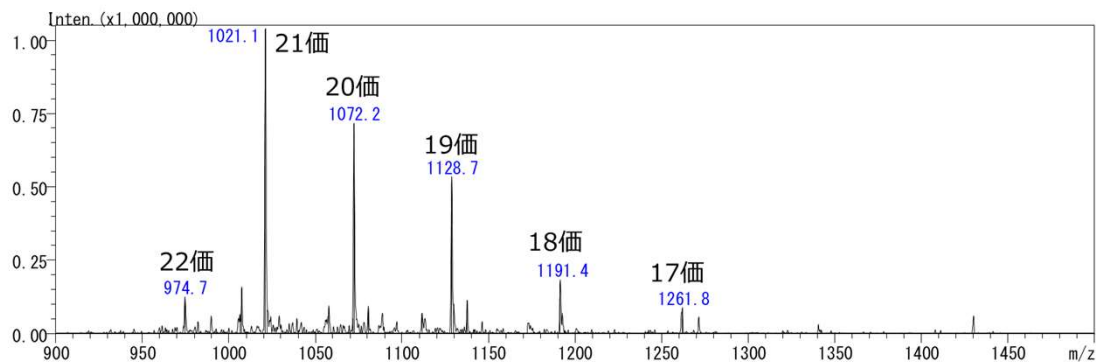


図3 合成DNAのマスペクトル

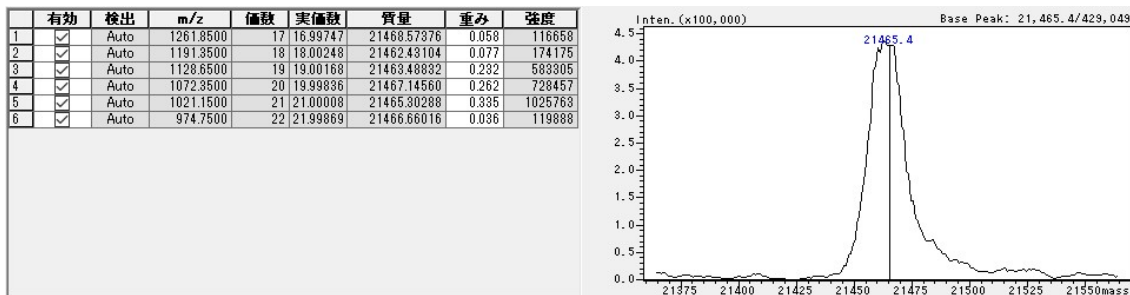


図4 多価イオン解析結果

LCMS、Nexera、DUISおよびShim-pack Scepter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/>

01-00662-JP 初版発行：2023年12月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

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。
本文中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。
本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

＞ アンケート

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-2050
シングル四重極質量分析計



＞ Nexera XS inert
超高速液体クロマトグラフ

関連分野

＞ バイオ医薬品

＞ 核酸医薬品

＞ 分子量測定・配列確認

＞ 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