

使用BioAccord系统进行游离N-糖分析

Ximo Zhang, Corey Reed, Henry Shion, William R. Alley, Robert E. Birdsall, Ying Qing Yu

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

本应用简报证明BioAccord系统能够简化分析工作流程，为游离寡糖分析获取高质量LC/光学/MS数据，并将这些数据转化为有意义的结果。

优势

- 配备SmartMS的BioAccord系统将全面的N-糖分析提升至全新水平。
-

简介

众所周知，糖基化修饰会对蛋白质药物的安全性和疗效性产生影响，因此，在整个产品生命周期内表征和监测生物治疗药物的糖谱至关重要，这样才能确保药物质量的一致性。糖谱通常通过分离带有荧光标记的游离N-糖进行评估。但传统LC-荧光(FLR)工作流程往往缺乏专属性，需要互补技术进行深入分析。质谱(MS)分析法可提供关键的结构信息，已广泛用作生物治疗药物开发流程中表征游离寡糖的正交分析技术。



图1.使用自动化GlycoWorks RapiFluor-MS N-糖分析试剂盒与装有UNIFI软件的BioAccord系统的游离寡糖应用解决方案

但是，使用高分辨率MS分析复杂的游离寡糖样品时，通常需要专家用户进行仪器操作、方法优化和数据解析。因此，具有正交检测能力的工作流程能够提高实验室工作人员的信心和生产率，并且易于部署，是生物制药行业迫切需要的工作流程。



图2.使用装有UNIFI科学信息系统的BioAccord系统的游离寡糖分析工作流程

结果与讨论

BioAccord系统经过专门设计，能够改善用户在工艺开发和生产环境中部署LC-MS工作流程时的运行体验和易操作性。该系统由配置光学检测器（TUV或FLR）的ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统和配套的ACQUITY RDa检测器组成，这种检测器可实现稳定的分离并提供准确的质量数信息，从而有效表征和监测生物治疗药物。LC-MS系统由符合法规要求的UNIFI科学信息系统软件平台控制，以自动化方式提供简化的数据采集、处理和报告过程（图1）。

游离寡糖分析工作流程受BioAccord系统支持，是一种经过专门设计的工作流程，已经使用ORENCIA（阿巴西普）（是一种融合蛋白，具有高度唾液酸化的复杂游离寡糖混合物）得到了证明。如图2所示，通过自动化样品制备平台(Andrew Alliance)用GlycoWorks RapiFluor-MS (RFMS) N-糖分析试剂盒试剂释放并标记N-糖，然后用150 mm ACQUITY BEH Amide糖基分析专用柱（部件号：186004742）进行分离，再用BioAccord系统进行荧光(FLR)和MS串联检测。在UNIFI的“游离寡糖FLR与MS确证”分析工作流程中，根据从校正保留时间（三次样条曲线拟合）转换得到的GU（葡萄糖单位）值并通过准确的质量数信息进行确证，以自动化方式进行多聚糖GU数据库搜索，从而实现峰鉴定。图3A所示为处理后的FLR谱图，每个峰均自动分配并标注了游离寡糖名称、检测的GU值和相关结构信息。借助ACQUITY RDa检测器，获得了甘露糖5等关键游离寡糖的高质量MS全扫描数据和提取离子色谱(XIC)数据（图3B），相对含量为0.2%。ACQUITY RDa检测器的灵敏度非常高，鉴定到了31种N-糖，质量数偏差小于10 ppm。GU值和质量数等支持性的数据可在组分汇总表中轻松获取（图3C）。总之，上述结果表明，BioAccord系统可提供一种有效的解决方案，提高生物治疗药物开发过程中游离寡糖分析的专属性和可信度。

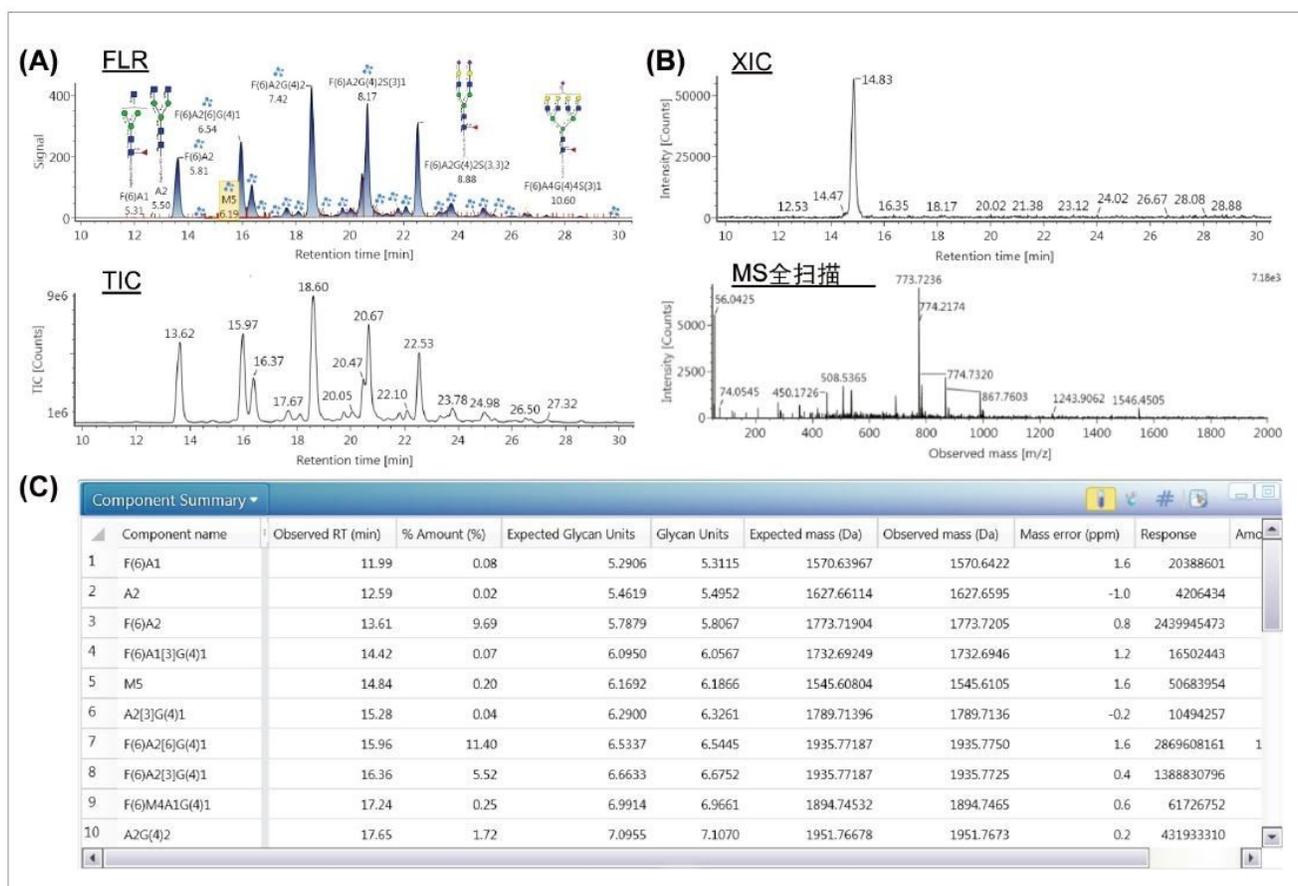


图3.融合蛋白阿巴西普的N-糖分析结果。上样量：4 pmol。(A) 游离N-糖分析的荧光色谱图和总离子流色谱图(TIC)。(B) 甘露糖5的提取离子色谱图(XIC)和MS全扫描质谱图。(C) 显示质量数误差在10 ppm范围内的已鉴定游离寡糖的组分汇总表。

结论

BioAccord系统经过专门设计，能够为后期开发和受监管的生物制药实验室提供简单的自动化设置，从而提高生产率。使用游离寡糖分析工作流程实现了高效分离并获得了准确的质量数信息，可用于游离寡糖定量分析和结构确认。该工作流程无缝集成至符合法规要求的UNIFI软件中，可用于在监管环境下提高游离寡糖分析的可信度而丝毫不影响生产率。

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/BioAccord-LC-MS-System-for-Biopharmaceuticals/nav.htm?cid=135005818>>

720006474ZH, 2019年1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