

## ACQUITY Premier と組み合わせた BioAccord LC-MS システムを用いたオリゴヌ クレオチド不純物の分析

---

Catalin E. Doneanu, Chris Knowles, Jonathan Fox, Harry Brumer, Ying Qing Yu, Joseph Fredette, Weibin Chen

Waters Corporation



---

要約

このアプリケーションノートでは、純度分析および大幅に修飾されたオリゴヌクレオチドとその不純物のインタクト質量確認のための、規制対応自動 LC-MS ワークフローについて説明します。

## アプリケーションのメリット

- ACQUITY Premier UPLC BSM システムや ACQUITY Premier OST カラムなど、MaxPeak High Performance Surfaces (HPS) を取り入れた製品カテゴリーにより、オリゴヌクレオチド不純物分析に対して重要な利点を提供される
- 自動化された規制対応ワークフローにより、イオンペア逆相 (IP-RP) LC-MS 分析法を用いる修飾オリゴヌクレオチドとその不純物のインタクト質量確認に対して、優れた質量精度 (15 ppm 未満) が提供される
- さらに、この自動化された規制対応ワークフローにより、すべてのサンプル成分について、0.2% という低い存在量レベルまで純度情報が得られる

---

## はじめに

近年、低分子医薬品およびタンパク質医薬品の有力な代替品として、オリゴヌクレオチド医薬品が注目を集めています<sup>1,2</sup>。オリゴヌクレオチド医薬品の製造および品質管理には、非常に選択性および感度の高い LC-MS 分析法が求められます。オリゴヌクレオチド分析用に質量分析ベースの分析法として広く受け入れられているものの 1 つは、イオンペア逆相クロマトグラフィー (IP-RP) 分離とそれに後続するネガティブイオンモードでの ESI-MS 検出です。この分析法を用いて、規制対応の waters\_connect データ取り込みおよび解析ソフトウェアで動作する BioAccord システムを採用したオリゴヌクレオチド分析の自動ワークフローが、最近報告されました<sup>3,4</sup>。このアプリケーションノートでは、ACQUITY Premier UPLC BSM システム、チューナブル紫外線 (TUV) 検出器、ESI-ToF ACQUITY RDa 質量検出器で構成される完全に統合された LC-MS システム (図 1 に示されたシステム) を、低レベルのオリゴヌクレオチド不純物の分析に使用しました。オリゴヌクレオチドには、金属表面と強く相互作用する傾向がある負に帯電したリン酸基が多数含まれているため、その分析は困難な課題です。これらの課題に対処するため、ウォーターズは、分析が困難な分析種に対処するために特別に設計された、より不活性な表面を提供する新しいテクノロジーファミリーである MaxPeak High Performance Surfaces (HPS) を開発しました<sup>5-10</sup>。最近発売された ACQUITY Premier UPLC BSM システムには、分析種とすべての種類の金属表面との相互作用を大幅に低減する非常に効果的なバリアを実現するために、このテクノロジーが流路全体に導入されています。2020 年に導入された ACQUITY Premier OST カラムとともに UPLC システム全体が、最近オリゴヌクレオチドのバイオアナリシス関連 LC-MS アプリケーションについてテストされました<sup>9</sup>。ここでは、オリゴヌクレオチドおよびその関連不純物のインタクト質量確認について、この UPLC システムの機能を調査しました。すべてのデータセットは、ACQUITY Premier と組み合わせた BioAccord LC-MS システムでフルスキャン MS モードで取り込み、BayesSpray 質量スペクトル電荷デコンボリューションアルゴリズムを使用して waters\_connect で解析し、各化合物について正確なインタクト質量測定を行いました。



図 1. ACQUITY Premier と組み合わせた BioAccord LC-MS システムのコンポーネント

## 実験方法

### 試薬およびサンプル前処理

トリエチルアミン (TEA、純度 99.5%、カタログ番号 65897-50ML) およびメタノール (LC-MS グレード、カタログ番号 34966-1L) は Honeywell (Charlotte, NC) から入手し、1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール (HFIP、純度 99%、カタログ番号 105228-100G) は Sigma Aldrich (St Louis, MO) から購入しました。HPLC グレードの脱イオン水 (DI) は、MilliQ システム (Millipore, Bedford, MA) を使用して精製しました。移動相は試験日に新たに調製し、使用しました。ヌクレオシドのうちの 19 種に 2'-OMe 修飾が含まれ、配列が GUA ACC AAG AGU AUU CCA UTT で元素組成が  $C_{229}H_{306}N_{76}O_{143}P_{20}$  の、長さ 21-mer の高度に修飾されたオリゴヌクレオチドは、ATDBio (英国、サウサンプトン) から購入しました。ストック溶液は、濃度  $1 \mu\text{M}$  (または  $2.34 \mu\text{g/mL}$ ) で脱イオン水中に調製してから、 $10 \mu\text{L}$  を注入しました。これは、21-mer のオリゴヌクレオチドのオンカラムロード 10 ピコモルに相当します。

### LC 条件

LC-MS システム:	ACQUITY Premier と組み合わせた BioAccord LC-MS システム
カラム:	1) ACQUITY Premier OST カラム 1.7 $\mu\text{m}$ 、130 $\text{\AA}$ 、2.1 $\times$ 100 mm (製品番号 186009485) 2) 従来の ACQUITY OST カラム 1.7 $\mu\text{m}$ 、130 $\text{\AA}$ 、2.1 $\times$ 100 mm (製品番号 186003950) 3) ACQUITY Premier OST カラム 1.7 $\mu\text{m}$ 、130 $\text{\AA}$ 、2.1 $\times$ 50 mm (製品番号 186009484)
カラム温度:	60 $^{\circ}\text{C}$
流速:	300 $\mu\text{L}/\text{分}$
移動相:	溶媒 A: 40 mM HFIP (ヘキサフルオロイソプロパノール)、7 mM TEA (トリエチルアミン) 含有脱イオン水 溶媒 B: 20 mM HFIP (ヘキサフルオロイソプロパノール)、3.5 mM TEA (トリエチルアミン) 含有 50% メタノール
サンプル温度:	6 $^{\circ}\text{C}$
サンプルバイアル:	認定済み透明ガラスバイアル (製品番号 : 186000327C)
注入量:	10 $\mu\text{L}$
洗浄溶媒:	ページ溶媒: 50% メタノール サンプルマネージャー洗浄溶媒: 50% メタノール シール洗浄: 20% アセトニトリル含有脱イオン水

## グラジエント

時間 (分)	流速 (mL/分)	溶媒 A の組成 (%)	溶媒 B の組成 (%)	検量線 プロファイル
0.00	0.3	75	25	初期条件
25.00	0.3	65	35	6
30.00	0.3	65	35	6
30.50	0.3	15	85	6
32.50	0.3	15	85	6
33.00	0.3	75	25	6
40.00	0.3	75	25	6

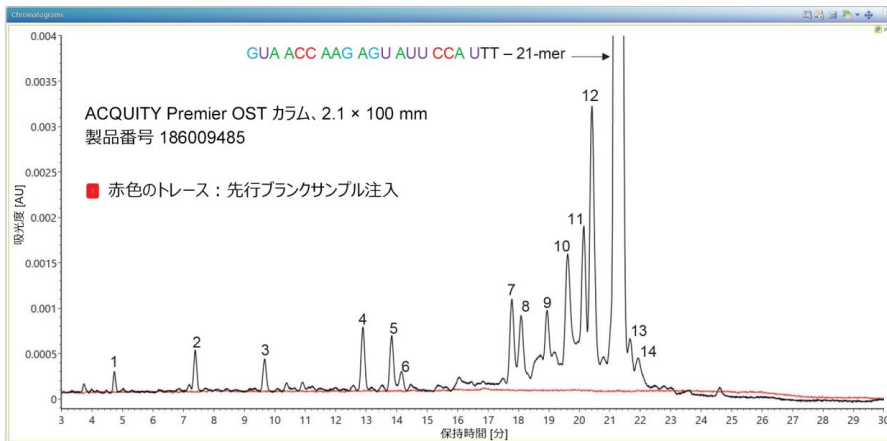
## MS 条件

イオン化モード:	ESI (-)
キャピラリー電圧:	0.8 kV
コーン電圧:	40 V
ソース温度:	120 °C
脱溶媒温度:	400 °C
脱溶媒ガス (N <sub>2</sub> ) 圧力:	6.5 bar
Tof 質量範囲:	400 ~ 5000
取り込み速度:	2 Hz
ロックマス:	waters_connect ロックマス溶液 (製品番号 : 186009298)
データ取り込みソフトウェア:	waters_connect
データ解析ソフトウェア:	waters_connect

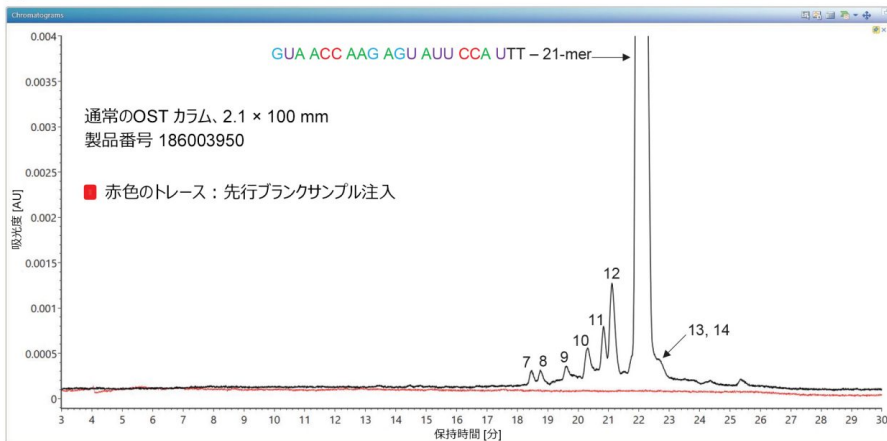
## 結果および考察

さまざまな低レベルのオリゴヌクレオチド不純物が含まれている 21-mer オリゴヌクレオチドを、通常の 2.1 × 100 mm OST カラム（製品番号：186003950 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/columns/186003950-acquity-uplc-oligonucleotide-beh-c18-column-130a-17--m-21-mm-x-1.html>>）および最近導入された ACQUITY Premier 2.1 × 100 mm OST カラム（製品番号：186009485 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/columns/186009485-acquity-premier-oligonucleotide-c18-column-130a-17--m-21-x-100-m.html>>）の 2 種の C<sub>18</sub> カラムで分離しました。21-nt オリゴマーの場合、かなりの部分の分子（19 ヌクレオシド）に修飾核酸塩基が含まれていました（図 2 の実験のセクションに記載されている配列に示されています）。2'-OMe 修飾は、オリゴヌクレオチド配列中に青色でラベル付けされた 3 つのグアノシン（G）、および緑色でラベル付けされた 7 つのアデノシン（A）に行いました。同じ 2'-OMe 官能基がウリジンおよびシチジンに付加されることに加えて、これら 2 種のヌクレオシドの核酸塩基はさらに 5-メチル基を 1 つ付加して修飾され、2'-OMe 5-Me ウリジン 5 つ（U、紫色でラベル付け）と 2'-OMe 5-Me シチジン 4 つ（赤色でラベル付け）が生成されています。修飾されていないヌクレオシドは、21-mer の 3' 末端にある 2 つのデオキシチミジン（TT）のみです。特別に考案された命名法を用いて、全オリゴヌクレオチド修飾の配列は、次記のように要約できます：OMEG OME5mU OMEA OMEA OME5mC OME5mC OMEA OMEA OMEG OMEA OMEG OME5mU OMEA OME5mU OME5mU OME5mC OME5mC OMEA OME5mU dT dT。ACQUITY Premier OST カラムで分析すると、図 2A に示されているように、21-nt オリゴヌクレオチドの分離により、かなり複雑な不純物プロファイルが明らかになります。14 種のオリゴヌクレオチド不純物が分離され、TUV 検出器および MS 検出器の両方で検出されました。同じサンプルを、同じ寸法で同じ固定相（C<sub>18</sub> 1.7 μm 粒子、130 Å ポア）が充填されている従来のカラム（ステンレススチールのケーシング付き）での分析により、図 2B に示されているように同じ不純物の半分（7 種）のみが分離され、初期に溶出する不純物のかなりの部分が完全に欠落しました。最近の発表<sup>7</sup>によれば、未処理のカラムフリットが金属表面への分析種の吸着の主な原因です。図 2B に示されている結果は、従来のカラムのインレットおよびアウトレットのフリットでのオリゴヌクレオチドの吸着効果を考慮すれば説明がつかず、サンプルをカラムのインレットにロードすると、多量のオリゴヌクレオチド成分によってインレットフリットが不動態化され、このフリットに吸着されないオリゴヌクレオチド不純物は少量です。ただし、IP-RP 分離を行った後、オリゴヌクレオチド不純物のほとんどが主要成分の前に溶出するため、アウトレットフリットが完全に不動態化されるまで、この部分にこれらの不純物の一部が保持される可能性が非常に高くなります。図 2B に示す例では、早期に溶出する 7 種の不純物は、アウトレットフリットに吸着されたために検出されなかった可能性が非常に高いです。

A



B



C

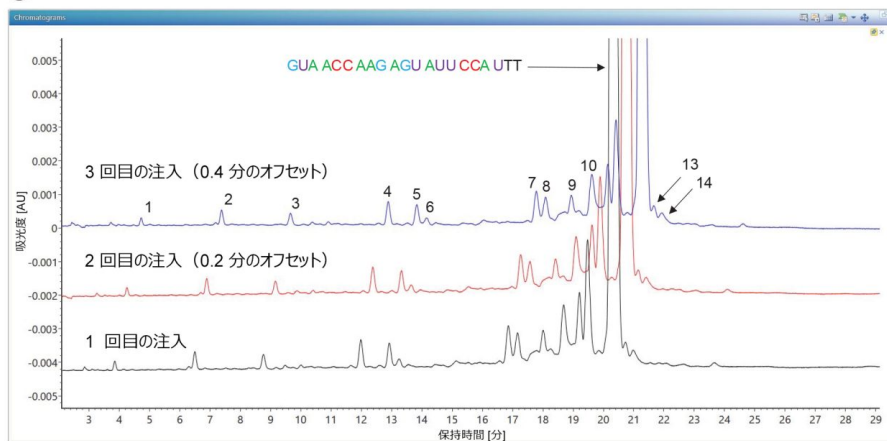


図2. 21-nt サンプルからのオリゴヌクレオチド不純物の分離を示す TUV クロマトグラム: (A) ACQUITY Premier OST カラムで取得した UV クロマトグラム、(B) 徹底的にコンディショニングした従来のカラムで取得した UV クロマトグラム、(C) ACQUITY Premier OST カラムで各回の赤色の Peak-Height Performance の Surface 試験 (PS) 対応カラム (2 μm 以下の粒子を充填) を実用した 3 回の繰り返し注入による分離結果を示す。明確に分離された黒色のトレースは、黒色のストリームの流路に通常存在する金属表面補正剤 (シリカ、チタン、Ni-Co 合金 MP35N など) と相互作用することが知られてい

る、負に帯電したリン酸主鎖が含まれています。これらの相互作用は多くの場合、オリゴヌクレオチドの損失、クロマトグラフィーピーク形状不良、またはデータの再現性低下の原因になります。UPLCの流路およびOSTカラムに沿って展開されたMaxPeak HPSテクノロジーにより、検出される不純物の数と%存在量（UVピーク面積と関連）によって実証されているように、これらの望ましくない相互作用が大幅に低減されます。従来のOSTカラムでは、徹底的に不動態化を行った後でも、不純物の回収率に関してはるかに少ない結果が示されました。3回の繰り返し注入を重ね描きした図2Cに示されているように、ACQUITY Premierカラムで行った分離には高い再現性があります。主要なオリゴヌクレオチド成分のESI-MSスペクトルが図3Aに示されています。ESI-MSスペクトルに基づいて自信を持って同定された、存在量が最も低い不純物（UVデータによると0.18%、表1を参照）は、分子の5'末端から10ヌクレオシドすべてが欠失した11-merオリゴヌクレオチドです。2つの主要なチャージ状態（二価および三価荷電イオン）を示すこの不純物のESI-MSスペクトルが、下部パネルの図3Bに示されています。UVではこの不純物のシグナルが検出されず（図2Bを参照）、両方の実験で同じACQUITY Premier UPLCシステムを使用しているため、予想溶出時間で取得したESI-MSスペクトル（図3Bの上部パネル）により、この不純物が通常のカラムの内側の金属表面（非常に高い可能性としてカラムのアウトレットフリット）にトラップ（不可逆的に吸着）された可能性が高いことが、示されています。今回分析した21-mer中に検出されたオリゴヌクレオチド不純物の完全なリストが、その配列、元素組成、正確な平均質量、およびUVピーク面積を使用して計算したパーセント存在量とともに、表1に示されています。表1に示されているデータを用いて、waters\_connectでのBayesSpray電荷デコンボリューションアルゴリズムを使用する自動解析をセットアップしました。図4に得られた解析結果が示されています。14種のオリゴヌクレオチド不純物はすべて比較的広いダイナミックレンジ（約500倍）にわたって検出され、デコンボリューションした質量精度は15 ppm未満でした。



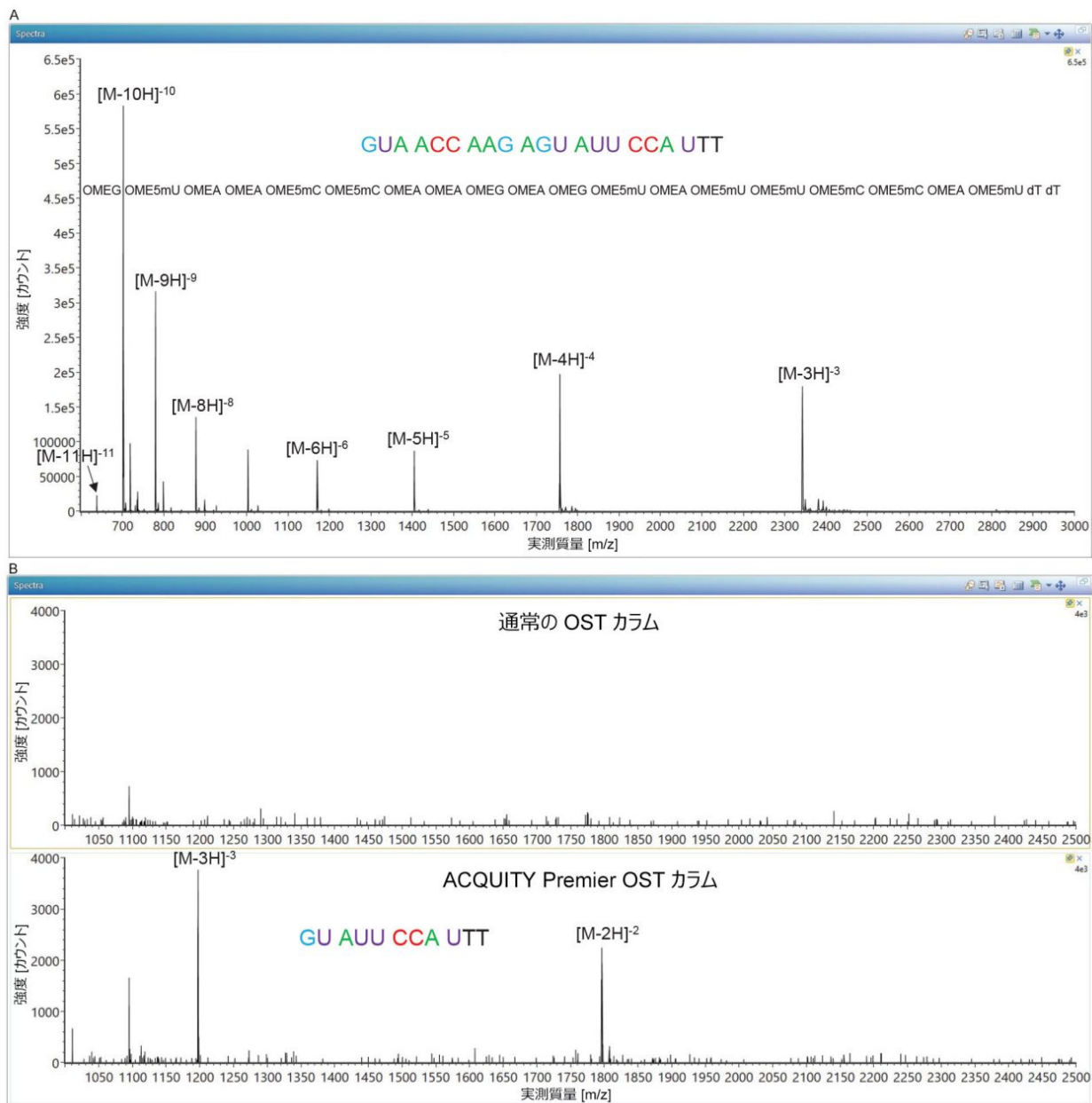


図 3. 次記に対して取得したイオンペア逆相 (IP-RP) ESI-MS スペクトル: (A) 最も存在量の多いサンプル成分である 21-mer の高度に修飾されたオリゴヌクレオチド、(B) 最も存在量の少ないサンプル成分 (UV ピーク面積の測定値により存在量 0.18%) である 11-mer オリゴヌクレオチド不純物 (その配列については表 1 を参照)。すべてのオリゴヌクレオチドの修飾は、特別に設計した命名法を用いて図 3A に示されています。

不純物のラベル	オリゴヌクレオチドの長さ	オリゴヌクレオチドの修飾 (Da)	保持時間 (分)	オリゴヌクレオチド配列	元素組成	最も多く存在するモノイソトピックの質量	チャージ状態	正確な平均分子量
1	11-mer	—	4.73	GU AUU CCA UTT	C119 H161 N33 O77 P10	1795.8464	2	3595.4641
2	12-mer	—	7.39	AGU AUU CCA UTT	C130 H175 N38 O83 P11	1311.2512	3	3938.6967
3	14-mer	—	9.67	AG AGU AUU CCA UTT	C152 H203 N48 O96 P13	1545.2950	3	4641.1611
4	15-mer	—	12.89	AAG AGU AUU CCA UTT	C163 H217 N53 O102 P14	1659.6510	3	4984.3936
5	16-mer	—	13.83	C AAG AGU AUU CCA UTT	C174 H233 N56 O109 P15	1770.6752	3	5317.6280
6	修飾 17-mer	+19 Da	14.15	CC AAG AGU AUU CCA UTT	C184 H261 N59 O116 P16	1881.7307	3	5650.9471
7	18-mer	-10 Da	17.78	ACC AAG AGU AUU CCA UTT	C196 H263 N64 O122 P17	1996.0555	3	5994.0950
8	修飾 21-mer	+19 Da	18.08	GUA ACC AAG AGU AUU CCA UTT	C228 H299 N76 O143 P20	2335.0998	3	7011.7123
9	修飾 21-mer	+19 Da	18.94	GUA ACC AAG AGU AUU CCA UTT	C228 H299 N76 O143 P20	2335.0998	3	7011.7123
10	修飾 20-mer	+343 Da	19.62	UA ACC AAG AGU AUU CCA UTT	C220 H284 N71 O136 P19	2227.0762	3	6687.5045
11	修飾 20-mer	+334 Da	20.15	UA ACC AAG AGU AUU CCA UTT	C220 H293 N71 O136 P19	2230.0997	3	6696.5760
12	修飾 20-mer	+333 Da	20.41	UA ACC AAG AGU AUU CCA UTT	C220 H294 N71 O136 P19	2230.4356	3	6697.5839
メインピーク	21-mer	—	21.25	GUA ACC AAG AGU AUU CCA UTT	C229 H306 N76 O143 P20	2341.4514	3	7030.7786
13	修飾 21-mer	+1 Da	21.65	GUA ACC AAG AGU AUU CCA UTT	C229 H307 N76 O143 P20	2341.7874	3	7031.7865
14	修飾 21-mer	+1 Da	21.93	GUA ACC AAG AGU AUU CCA UTT	C229 H307 N76 O143 P20	2341.7874	3	7031.7865

表 1. 高度に修飾された 21-mer オリゴヌクレオチドで同定された 14 種のオリゴヌクレオチド不純物

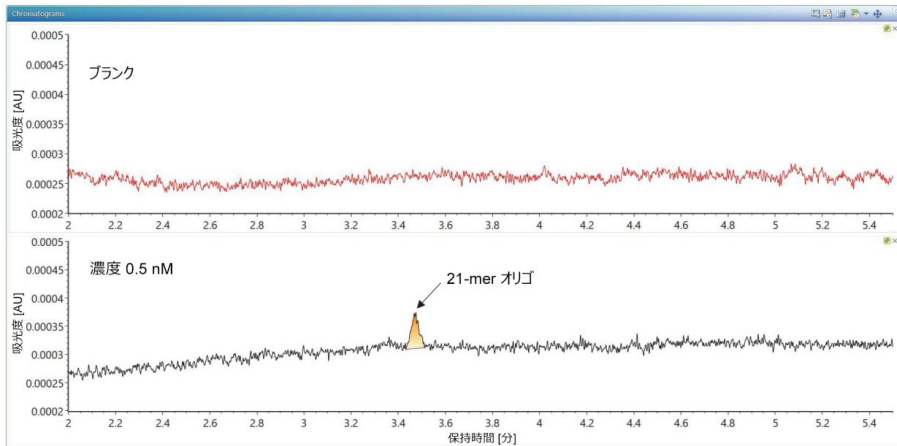
Protein name	Observed mass (Da)	Expected mass (Da)	Mass error (mDa)	Mass error (ppm)	Observed RT (min)	TUV Peak Area	TUV Area Percentage (%)
Peak 1 11-mer oligo	3595.4240	3595.46410	-40.1	-11.1	4.78	1161.31	0.18
Peak 2 12-mer oligo	3938.6446	3938.69670	-52.1	-13.2	7.42	3243.55	0.51
Peak 3 14-mer oligo	4641.1368	4641.16110	-24.3	-5.2	9.67	2888.75	0.45
Peak 4 15-mer oligo	4984.3676	4984.39360	-26.0	-5.2	12.93	5690.73	0.89
Peak 5 16-mer oligo	5317.6013	5317.62800	-26.7	-5.0	13.89	5441.62	0.85
Peak 6 Mod 17-mer oligo	5650.8583	5650.94710	-88.8	-15.7	14.16	2183.12	0.34
Peak 7 18-mer oligo	5994.0855	5994.09500	-9.5	-1.6	17.82	8859.49	1.39
Peak 11 Mod 20-mer oligo	6696.5592	6696.57600	-16.8	-2.5	20.14	16066.20	2.52
Peak 12 Mod 20-mer oligo	6697.5438	6697.58390	-40.1	-6.0	20.41	29405.55	4.61
Peak 8 Mod 21-mer oligo	7011.7480	7011.71230	35.7	5.1	18.13	7615.09	1.19
Peak 9 Mod 21-mer oligo	7011.7467	7011.71230	34.4	4.9	18.95	6534.93	1.02
MAIN PEAK 21-mer oligo	7030.7784	7030.77860	-0.2	0.0	21.28	529488.11	83.03
Peak 13 Mod 21-mer oligo	7031.7655	7031.78650	-21.0	-3.0	21.70	1641.51	0.26
Peak 14 Mod 21-mer oligo	7031.7646	7031.78650	-21.9	-3.1	22.00	2175.47	0.34

図 4. 21-mer の主成分とそのオリゴヌクレオチド不純物 14 種についての ESI-MS スペクトルの BayesSpray 電荷デコンボリューションの後に得られた、waters\_connect での解析結果を示すスクリーンショット。正確な平均質量の測定での質量精度誤差は、すべてのサンプル成分について 15 ppm 未満でした。主要成分に対応する行が青色で強調表示され、純度が 83.03% であることが示されています。一方、最も存在量が少ない分子種（11-mer オリゴ）の存在量は 0.18%（赤色の円で強調表示）でした。

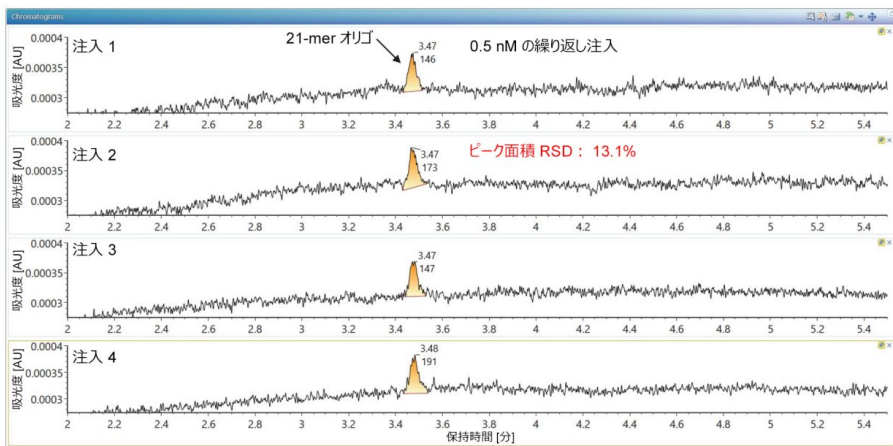
UV 検出器と MS 検出器の両方で低レベルのオリゴヌクレオチド不純物を検出できることが重要ですが、その存在量を正確に測定することは同様に重要です。言い換えれば、これらの不純物が同じダイナミックレンジ（約 500 倍）にわたって、UV で直線レスポンスを示すことが非常に重要です。UV 分析法の直線性を試験するために、21-mer のオリゴヌクレオチドを希釈し、短い ACQUITY Premier カラム（2.1 × 50 mm、製品番号：186009484 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/columns/186009484-acquity-premier-oligonucleotide-c18-column-130a-17--m-21-x-50-mm.html>>）で、より高速（15 分）の LC-MS 分析を用いて分析しました。ストック溶液サンプル（1 μM）の 1:2,000 希釈に対応する最低検出濃度 0.5 nM について得られた UV クロマトグラムが、その前のブランク注入とともに図 5A に示されています。同じ溶液（0.5 nM または 1.17 ng/mL）の 4 回繰り返

し注入では、ピーク面積の RSD が 15% 未満であり、図 5B に強調表示されているように、低レベルのオリゴヌクレオチドを ACQUITY Premier カラムで良い再現性で分析できることが実証されています。図 6 に、21-nt オリゴマーの広範囲の濃度（0.5 nM ~ 1000 nM の範囲の 8 濃度）に対する UV レスポンス（ピーク面積）を示すキャリブレーションプロットが示されています。総合すると、図 5A、B、および図 6 に示されているデータによって、21-mer オリゴヌクレオチドは広いダイナミックレンジ（2,000 倍）にわたって直線性のクロマトグラフィー挙動を示し、最低濃度（0.5 nM、オンカラムロード量 5 フェムトモル（または約 12 ピコグラム）に対応）でもカラム回収率が非常に優れていることが、明確に証明されています。最後に、分析した最高濃度（1  $\mu$ M）のオリゴヌクレオチドの最後の繰り返し注入の直後に、溶媒 A ブランク試料（10  $\mu$ L）を注入することによって、分析法のキャリーオーバーを評価しました。結果は図 5C に示されており、ACQUITY Premier UPLC システムおよびカラムの不活性が強調されています。つまり、大量の 21-mer オリゴヌクレオチド（10 ピコモル）をオンカラム注入した後、このオリゴヌクレオチドの検出可能なシグナルはありません。

A



B



C

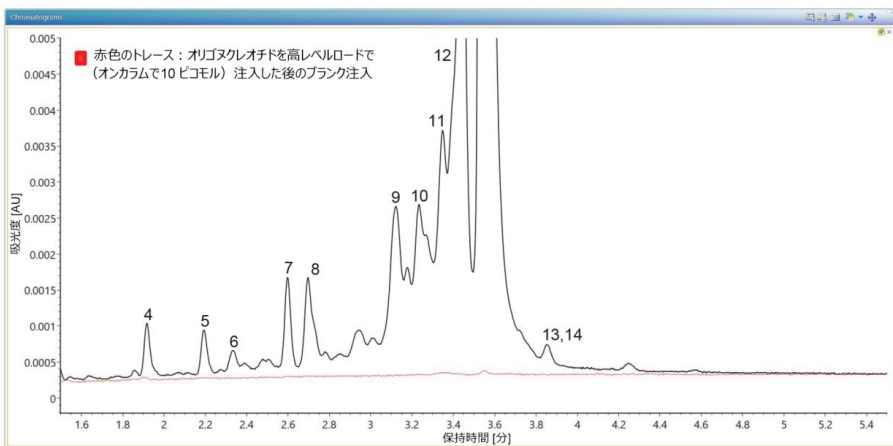


図 5. 21-nt オリゴマーを用いた ACQUITY Premier UPLC システムおよび ACQUITY Premier OST カラムの不活性試験： (A) その前のブランク注入と比較した、最低検出可能濃度 (0.5 nM、またはオンカラムロード量 5 フェモトモルの 21-mer オリゴヌクレオチド) の UV クロマトグラム。 (B) 最低検出可能濃度 (0.5 nM) に対して得られた繰り返し UV クロマトグラム。UV ピーク面積の RSD が 15% 未満であることが示されています。 (C) キャリーオーバー評価。最高サンプル濃度 (1,000 nM またはオンカラムロード量 10 ピコモルのオリゴヌクレオチド) を注入した後のブランク注入の UV クロマトグラム (赤色のトレース)。ブランク試料中の 21-mer からの検出可能なシグナルはありません。このことは、UPLC システムおよびカラムには、流路にあるさまざまな被覆金属表面への非特異的吸着による分析種の保持が発生していないことを示唆しています。

UVピーク面積

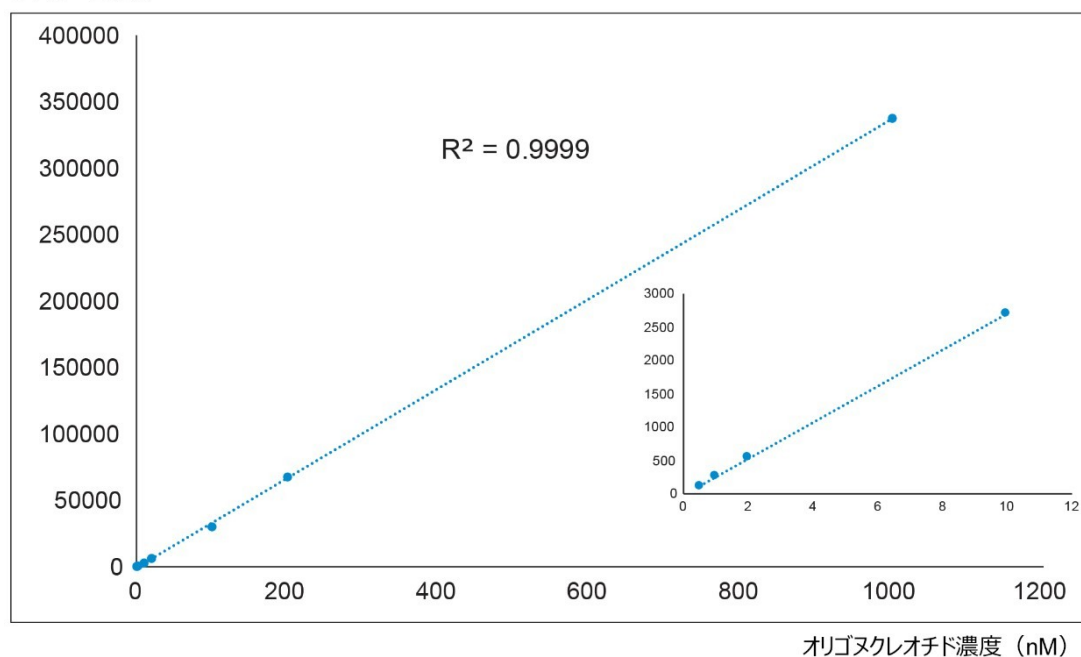


図 6. 3桁以上にわたる直線性を示す 21-mer オリゴヌクレオチドの検量線。TUV 検出器から得られたピーク面積を、広範囲のオリゴヌクレオチド濃度 (0.5、1、5、10、20、100、200、1,000 nM) に対してプロットしました。この分析法に優れたシグナル直線性が得られ、非常に低濃度のオリゴヌクレオチドが、分析種と全く相互作用しない非常に不活性な LC システムから完全に回収できることが示されています。挿入図に、濃度範囲 0.5 ~ 10 nM の検量線が示されています。

結論として、ACQUITY Premier と組み合わせた BioAccord LC-MS システムにより、最低 0.2% の濃度のオリゴヌクレオチド不純物を測定して正確に検出することができ、waters\_connect ソフトウェアを使用する規制対応自動ワークフローにより、インタクト質量確認機能が得られます。

## 結論

- ACQUITY Premier UPLC BSM システムや ACQUITY Premier OST カラムなど、MaxPeak High Performance Surfaces (HPS) を取り入れた製品カテゴリーにより、オリゴヌクレオチド不純物分析に対して重要な利点を提供される
- 規制対応ソフトウェアで動作する ACQUITY Premier と組み合わせた BioAccord LC-MS システムを使用して、低い検出限界およびクロマトグラフィーの再現性の観点から、オリゴヌクレオチド分析の改善を実証
- このオリゴヌクレオチド不純物分析ワークフローにより、オリゴヌクレオチド不純物およびその相対存在量の

質量確認機能が提供されます。この試験結果から、LC-MS プラットホームにより、修飾オリゴヌクレオチドとその不純物のインタクト質量確認で優れた質量精度（15 ppm 未満）が得られ、LC-UV 情報により、すべてのサンプル成分が相対存在量 0.2 % まで測定できることが示されています。

---

## 参考文献

1. Sharma VK, Watts JK Oligonucleotide Therapeutics: Chemistry, Delivery and Clinical Progress, Future Med Chem, 2015, 7(16), 2221–2242.
2. Roberts TK, Langer R, Wood MJA Advances in Oligonucleotide Drug Delivery, Nat Reviews, 2020, 19, 673–694.
3. Catalin E. Doneanu, Jonathan Fox, Emma Harry, Chris Knowles, Ying Qing Yu, Joseph Fredette, Weibin Chen. An Automated Compliance-Ready LC-MS Workflow for Intact Mass Confirmation and Purity Analysis of Oligonucleotides, 2020, Waters Application Note, [720006820EN <https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/an-automated-compliance-ready-lc-ms-workflow-for-intact-mass-confirmation-and-purity-analysis-of-oligonucleotides.html>](https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/an-automated-compliance-ready-lc-ms-workflow-for-intact-mass-confirmation-and-purity-analysis-of-oligonucleotides.html) .
4. Catalin E. Doneanu, Jonathan Fox, Emma Harry, Chris Knowles, Ying Qing Yu, Joseph Fredette, Weibin Chen. Intact Mass Confirmation Analysis on the BioAccord LC-MS システム for a Variety of Extensively Modified Oligonucleotides, 2020, Waters Application Note, [720007028EN <https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/intact-mass-confirmation-analysis-on-the-bioaccord-lc-ms-system-for-a-variety-of-extensively-modified-oligonucleotides.html>](https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/intact-mass-confirmation-analysis-on-the-bioaccord-lc-ms-system-for-a-variety-of-extensively-modified-oligonucleotides.html) .
5. M. Lauber, T. H. Walter, M. Gilar, M. DeLano, C. Boissel, K. Smith, R. Birdsall, P. Rainville, J. Belanger, and K. Wyndham. Low Adsorption HPLC Columns Based on MaxPeak High Performances Surfaces, 2020, Waters White Paper, [720006930EN <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720006930en.pdf>](https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720006930en.pdf) .
6. DeLano M, Walter TH, Lauber MA, Gilar M, Jung MC, Nguyen J, Boissel C, Patel AV, Bates-Harrison A, Wyndham K Using Hybrid Organic-Inorganic Surface Technology to Mitigate Analyte Interactions with Metal Surfaces in UHPLC, Anal Chem, 2021, 93, 5773–5781.
7. Gilar M, DeLano M, Gritti F Mitigation of Analyte Loss on Metal Surfaces in liquid chromatography, J Chrom A, 2021, 1650, 5773–5781.
8. Amit Patel, Jennifer Simeone, Mathew Delano, Jason Dyke, Susan C. Rzewuski, Moon Chul Jung, Stephen J. Shiner. Premier Standards to Investigate the Inertness of Chromatographic Surfaces, 2021, Waters Application Note, [720007105EN <https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-](https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-)

[notes/2021/premier-standards-to-investigate-the-inertness-of-chromatographic-surfaces.html](https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2021/premier-standards-to-investigate-the-inertness-of-chromatographic-surfaces.html) .

9. Kathryn Brennan, Mary Trudeau, Paul D. Rainville. Utilization of the ACQUITY Premier システム and Column for Improved Oligonucleotide Bioanalytical Chromatographic Performance, 2021, Waters Application Note, 720007119EN <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2021/utilization-of-the-acquity-premier-system-and-column-for-improved-oligonucleotide-bioanalytical-chromatographic-performance.html>> .
10. Brooke M. Koshel, Robert E. Birdsall, Ying Qing Yu. Improving Recovery and Quantitation of Oligonucleotide Impurities Using the ACQUITY Premier with MaxPeak HPS Technology, 2021, Waters Application Note, 720007238EN <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2021/improving-recovery-and-quantitation-of-oligonucleotide-impurities-using-acquity-premier-with-maxpeak-technology.html>> .

---

## ソリューション提供製品

ACQUITY Premier システム <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>>

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

ACQUITY RDa 検出器 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077027>>

waters\_connect <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135040165>>

ACQUITY Premier を搭載した BioAccord LC-MS システム <  
<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135087537>>

720007301JA、2021 年 7 月