

CZE-MS 用于抗体药物非还原CE-SDS 峰鉴定

目的

采用 PS2 型中性涂层毛细管, 通过电渗流泵驱动的同轴鞘液 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 用 CZE-MS 方法对单抗药物非还原 CE-SDS 分析中成分峰进行完整分子量鉴定。

背景

重组治疗性单抗的关键质量属性 (CQAs) 包括大小异质性、电荷异质性、氨基酸序列、完整质量(即分子完整性)、翻译后修饰(PTM)等。几十年来, 已经开发了多种分析仪器平台技术, 用于对 CQAs 进行广泛评估。在这些方法中, 基于毛细管电泳法 (CE) 的 CE-SDS 技术已经备受重视并被广泛使用。然而, CE-SDS 检测也有其固有的局限性。目前 CE-SDS 主要使用光学检测器, 无法与质谱兼容进行准确分子量的测定, 缺乏足够的定性能力。如图1所示, 用非还原 CE-SDS 法对单抗进行分析时, 发现在主峰左侧出现一个肩峰*1, 其有效成分未知。因此, 我们用 CZE-MS 对未知肩峰进行了准确分子量鉴定, 解决了 CE-SDS 对未知峰定性的难题。

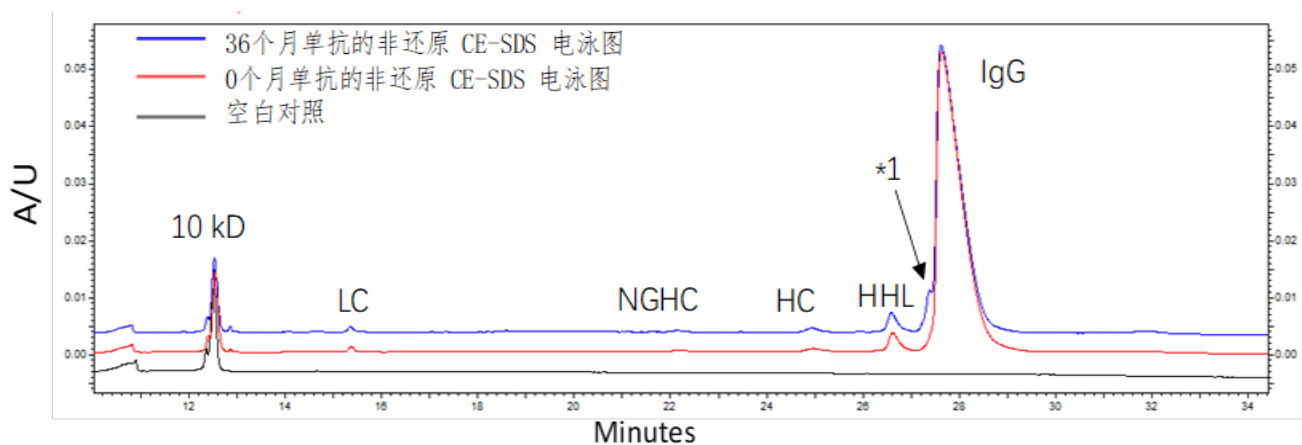


图1. 0个月和36个月单抗的非还原CE-SDS电泳图。

解决方案

仪器试剂:

CMP Scientific ECE-001 型毛细管电泳仪。EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源 (CMP Scientific, P/N:EM3001-A)。100 cm PS2 中性涂层毛细管 (CMP Scientific, P/N: E-SC-PS2-360/150-50-100-B1)。BGE 为 30% 醋酸。SL 为 0.5% 甲酸和 10% 异丙醇。

实验方法:

将 20 μg 的单抗样品加入到 400 μL 的 CZE 样品缓冲液中 (CMP Scientific, P/N SB112), 使用 10kDa 超滤管脱盐2次。进样条件为样品 950 mbar, 20 s; BGE 100 mbar, 5s。分离电压为 30 kV。

质谱参数:

干燥气温度 365°C, 6L/min。
 Fragmentor 电压 380 V, Skimmer 电压 65 V, Vcap 0 V。数据采集范围 1,000-3,200 m/z。

总结

在本方法中, 使用 PS2 型中性涂层毛细管实现了通过 CZE-MS 方法对抗体药物非还原 CE-SDS 成分峰的准确分子量测定。该方法具有通用性, 可以很好地解决生物药用传统 CE-SDS 分析中对未知峰鉴定的难题。

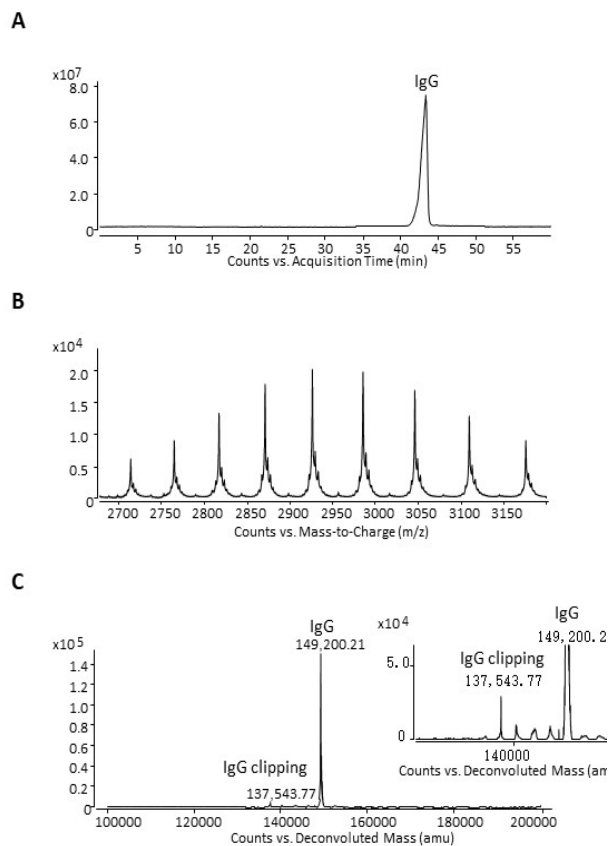


图2. A为非还原单抗 CZE-MS 的提取离子电泳图 (2,000 - 3,200 m/z), B 为非还原单抗质谱图, C 为非还原单抗解卷积结果图, 从质谱图中可以观察到除 IgG 主峰外, 还存在质量相差约 11 kDa 的剪切形式。



扫一扫, 关注永道致远微信

www.evergauge.cn

www.cmpscientific.com

永道致远科学技术有限公司

上海市浦东新区康新公路3399弄26号楼218室