

## 中性涂层毛细管 CE-MS 联用技术用于 抗体药物还原 CE-SDS 峰鉴定

### 目的

采用 PS2 型毛细管, 通过电渗流驱动鞘液 EMASS-II 型 CZE-MS 联用离子源, 建立毛细管区带电泳与高分辨质谱联用 (CZE-MS) 分析方法, 对还原单抗药物中的杂质峰进行分析, 准确鉴定出对应的 CE-SDS 中未知峰。

### 背景

毛细管电泳 (CE) 是一种广泛使用的分离技术, 用于表征完整蛋白的大小、电荷和聚糖分析。随着新的 CE-MS 联用技术被开发出来, 抗体的剪切变体可以通过毛细管区带电泳-质谱 (CZE-MS) 方法直接鉴定。CZE-MS 为传统的 CE-SDS 分析工作提供了强大的补充, 解决了 CE-SDS 由于难以与质谱兼容而导致的未知峰鉴定的难题。在本实验中, 我们通过 CZE-MS 对单抗还原后的亚基进行分析, 借助 CZE 强大的分离能力, 可以发现样本中较低含量的杂质峰, 并利用高分辨质谱完成这些未知峰的鉴定工作。

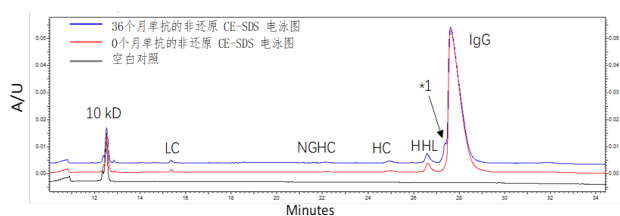


图1. 0个月和 36 个月的单抗非还原 CE-SDS 电泳图的叠加图。

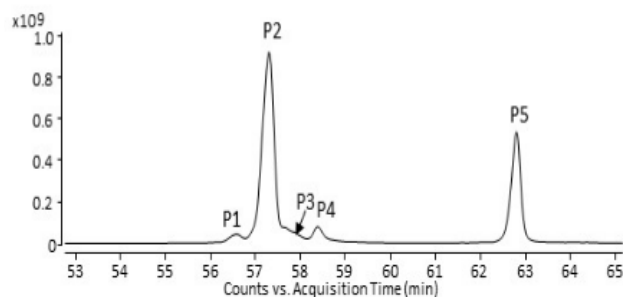
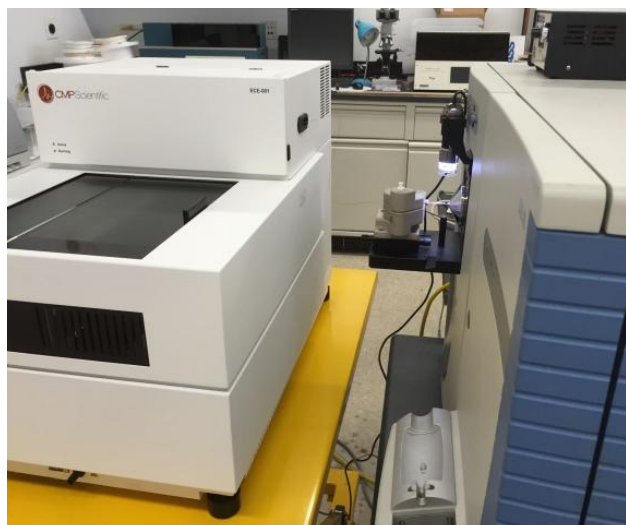


图2. 还原得到的单抗亚基经 CZE 分离后的提取离子电泳图 (m/z 900-1,200)。

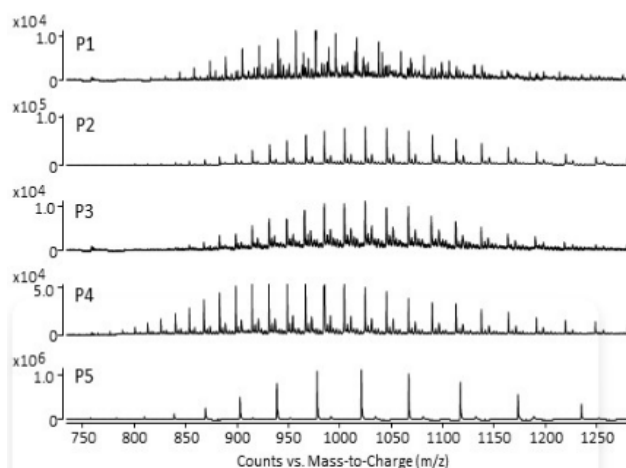


图3. 图2中P1-P5峰对应的质谱图。

## 解决方案

### 仪器试剂:

CMP Scientific ECE-001 型毛细管电泳仪。EMASS-II 离子源 (CMP Scientific, P/N: EM3001-A)。100 cm PS2 型中性涂层毛细管 (CMP Scientific, E-SC-PS2-360/150-50-100-B1)。

### 实验方法:

样品进样 100 mbar, 20 s。质谱数据分析采集范围 1,000-3,200 m/z。分离电压 30 kV。

### 质谱参数:

Vcap 0 V, 干燥气温度 365°C, 6L/min。Fragmentor 电压 380 V。

### 样本制备:

将20 μg 经DTT还原处理的单抗样品加入到400 μL 的CZE样品缓冲液 (P/NSB1121, CMP Scientific) 中, 使用10kDa超滤管脱盐, 样品最终浓度为 0.5mg/mL。

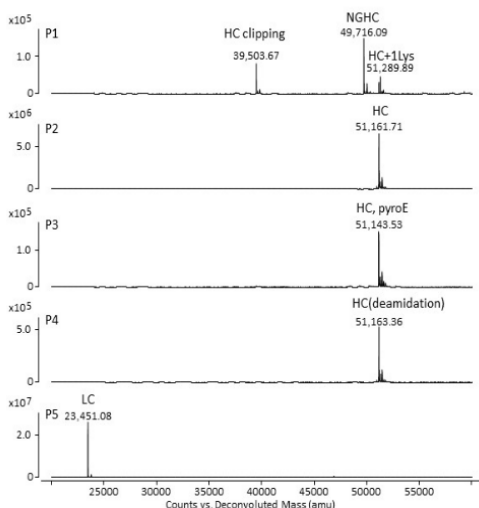


图4. P1-P5 解卷积后得到的分子量结果。

## 结果

图1显示 0 个月和 36 个月的单抗还原 CE-SDS 电泳图的叠加加图, 可以观察到 36 个月的单抗中会出现分子量比重链小的杂质峰 (\*1)。图 2 显示还原得到的单抗亚基通过 PS2 型中性涂层毛细管可以获得良好的分离, 如图所示, 除了 HC 和 LC 两个主峰外 (P2和P5), 在 HC附近存在 3 个相应较弱的信号 (P1、P3 和 P4)。图 3 为 5 个主要电泳峰对应的质谱图。图 4 为解卷积后得到分子量结果, 根据 P1 峰与主峰 P2 之间分子量的差异可知, P1 主要为非糖基化修饰的 HC, 此外, 还存在赖氨酸修饰的 HC, 并且分子量约11 kDa 的断裂也发生在 HC 上 (对应图1中\*1)。同样, 可以判断出 P3 和 P4 分别对应焦谷氨酸环化

## 总结

本实验通过 EMASS-II 型离子源, 采用 CZE-MS 方法对 DTT 还原后得到的抗体轻重链进行了准确的分子量测定, 可以发现重链存在多种翻译后修饰, 并鉴定出 CE-SDS 中出现的未知峰为重链断裂产物。此方法简单、快速、谱图质量高、测定结果准确, 适用于 CE-SDS 未知峰的定性分析。



扫一扫, 关注永道致远微信

[www.evergauge.cn](http://www.evergauge.cn)

[www.cmpscientific.com](http://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