

cIEF-MS 联用方法对 NIST mAb 电荷异质性的在线分析

目的

使用 PS1 型中性涂层分离毛细管, 通过电渗流驱动的同轴鞘液 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 对 NIST mAb 的电荷异质性实现在线的 cIEF-MS 分析。

背景

NIST 单克隆抗体 (NIST mAb) 是由美国国家标准与技术研究院 (NIST) 开发的治疗级标准单克隆抗体。对于 NIST mAb 的分析, 有助于全行业的技术比较和创新分析方法的开发。电荷异质性是抗体的关键质量属性之一, cIEF-MS 联用技术在对抗体电荷异质性研究中有着突出的优势。本方法以 NIST mAb 作为研究对象, 通过 cIEF-MS 对存在的电荷变体进行有效地分离, 并通过高分辨质谱完成相关峰的鉴定工作。

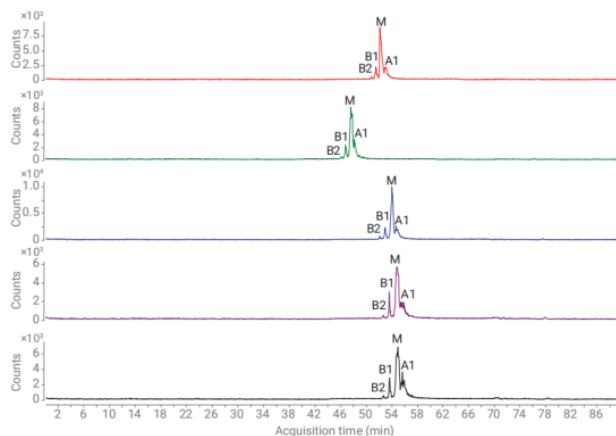


图2. 75 cm 分离毛细管对 NIST mAb 进行5次 cIEF-MS 分析的结果。

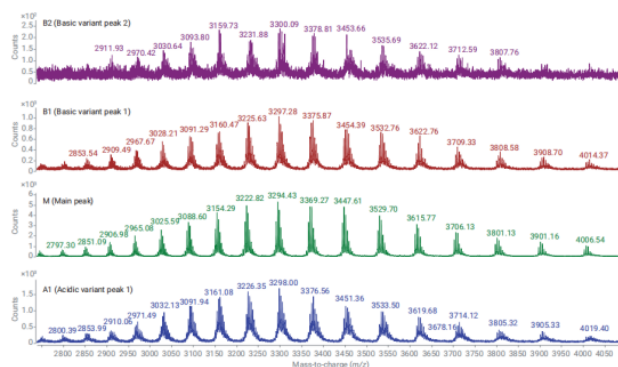


图3. NIST mAb 中各电荷变体的质谱图。

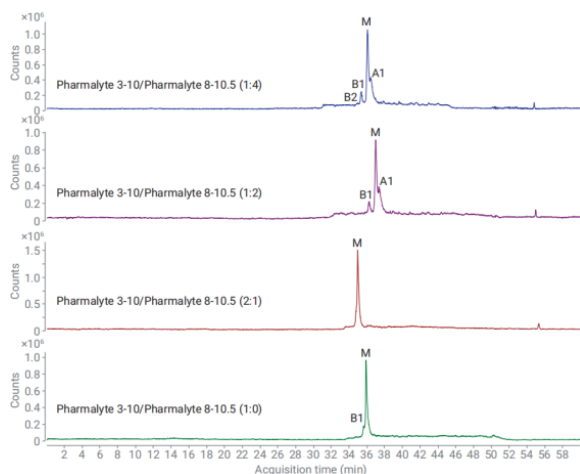


图1. 两性电解质的不同比例组合对 cIEF 分离度的影响。

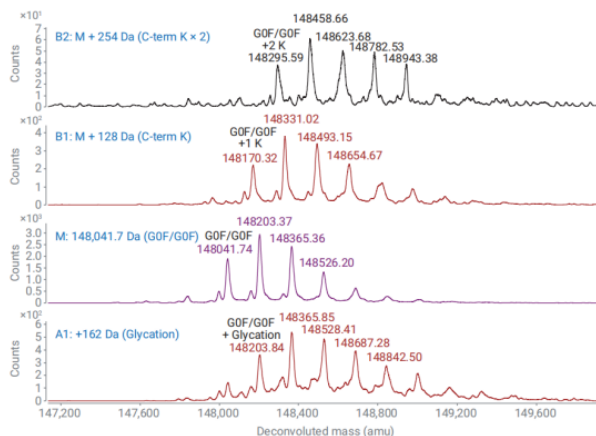


图4. NIST mAb 中各电荷变体解卷积后的质谱图。

解决方案

仪器试剂:

CMP Scientific ECE-001 型毛细管电泳仪。EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源 (CMP Scientific, P/N: EM 3001-A)。75 cm PS1 型中性涂层分离毛细管 (CMP Scientific, P/N: E-SC-PS1-360/150-50-75-B1)。cIEF-MS 试剂盒 CR3520, 两性电解质 (pH 3-10/pH 8-10.5)。

实验方法:

阴极电解液进样 940 mbar, 40 s。样品进样 940 mbar, 40 s。分离电压 +18.8 kV, 5 mbar。外接电源电喷雾电压 2.4 kV。喷针尖端到质谱距离 4 mm, 毛细管尖端到喷针尖端距离 1.1 mm。

质谱参数:

采用 Nanospray shield, 干燥气温度为 365°C, 6 L/min。Fragmentor 电压 380 V, Vcap 0 V, Skimmer 电压 300 V。

样品制备:

NIST mAb 样品直接用 CR3520 试剂盒中的 Buffer C 稀释, 最终浓度为 0.05-0.1 mg/mL。

结果

图1 显示了不同两性电解质组合对 cIEF 方法分离度的影响结果, pH(3-10): pH(8-10.5)=1: 4 的比例下能分离出 NIST mAb 中所有的电荷变异体。图2 是用 75 cm 分离毛细管对 NIST mAb 进行 5 次 cIEF-MS 分析的电泳结果图, 其重现性和稳定性均表现优异。图3 是通过 cIEF-MS 分析得到的 NIST mAb 中不同电荷异质体的质谱图, 从上到下依次对应 图2 中的 B2、B1、M 和 A1。图4 是对 图3 进行解卷积处理的结果, 两个碱峰被鉴定为 C 端赖氨酸异质体 (B2, B1), 酸峰鉴定为赖氨酸糖基化 (A1) 的结果。

总结

在本方法中, 采用 PS1 型中性涂层毛细管和 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 使用 cIEF-MS 试剂盒 CR3520, 对 NIST mAb 的电荷异质性实现快速分析。本方法具有快速高效、鉴定结果准确、分析稳定的优点, 为完整单克隆抗体电荷异质体的分析鉴定提供了新的解决方案。



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