

## 使用四极杆飞行时间质谱仪 LCMS™-9030 确认核酸类药物的分子量和定量性能

### ■ 概述

寡核酸疗法是指合成的寡核苷酸通过与引起各种疾病的靶基因或靶蛋白结合而发挥其药效。截至现在，共有 8 种核酸医药品获得批准，其中大部分链长为 20 个左右碱基。本文中为您介绍使用 Q-TOF 型质谱仪 LCMS-9030 进行分析的事例。核酸类药物使用了 20 个碱基的 2'-MOE 修饰寡核苷酸。通过精密质谱分析，分子量确认误差仅为 3 mDa (0.05 ppm)。在使用 LCMS-9030 的 MRM 模式绘制标准曲线时，证实 1~1000 ng/mL 范围内具有线性。

N. Kato

### ■ 核酸类药物的分析方法

一直以来，核酸类药物的结构是通过质谱分析、NMR、UV 光谱进行确认的，但在近年来，串联质谱具有出色的特异性和通用性，并且可以对原型药物和代谢产物进行同时测定受到了广泛关注。

在 20 个碱基下，核酸类药物的分子量达到 6000 以上，因此，一般使用四极杆飞行时间 (Q-TOF) 型质谱仪等的高精度质谱仪。另一方面，定量分析一般使用动态范围较大的三重四极型质谱仪 (TQ-MS)。



Q-TOF 型质谱仪 LCMS™-9030

### ■ LC-QTOF-MS

LC-QTOF-MS 是高效液相色谱和四极杆质谱仪串联飞行时间质谱仪 (TOF) 联用的高效液相色谱质谱仪。

本公司首款四极杆飞行时间质谱仪 LCMS-9030 继承了 LCMS-8000 系列 TQ 型 LC-MS 的高速性能和高离子聚焦能力，融合了新开发的 TOF 技术。该产品搭载了本公司自主研发的高强度细栅电极 UFgrating™，理想的反射型 iRefTOF™ 和高精度温度控制系统，可始终保持稳定的质谱精度，获取兼顾灵敏度和分辨率的数据。

### ■ 样品

序列：5'-mG-mC\*-mC\*-mU\*-mC\*-dA-dG-dT-dC\*-dT-dG-dC\*-dT-dT-dC\*-mG-mC\*-mA-mC\*-mC\*-3'

(m) 2'-O-(2-甲氧基乙基) 核苷 (2-MOE)

(\*) C 和 U 的 5 位甲基体

(d) 2'-脱氧核苷

Monoisotopic mass: 6431.7239

### ■ 分析条件

HPLC 和 MS 的分析条件如表 1 所示。寡核苷酸的反相分离一般使用离子对试剂，胺类试剂主要使用 TEA<sup>\*1</sup> 等。本文中使用了可进行高灵敏度检测的 HFIP<sup>\*2</sup> 和 DIPEA<sup>\*3</sup> 流动相。

表 1 分析条件

[HPLC 的条件] (Nexera™)	
色谱柱	: Shim-pack Scepter™ C18 (2.0×75, 1.9 μm)
流动相	: A) 50 mmol/L HFIP 与 10 mmol/L DIPEA B) 乙腈
梯度程序	: B 5% (0-0.5 min) – 15% (0.5-6 min)
流速	: 0.2 mL/min
柱温	: 50 °C
进样量	: 5 μL
[MS 的条件] (LCMS-9030)	
离子源	: 负模式
接口电压	: -3 kV
采集模式	: 全扫描 (m/z 500 - 3000) MRM (803.4626 > 94.9358)
雾化气流量	: 3.0 L/min
干燥气流量	: 10.0 L/min
加热气流量	: 10.0 L/min
DL 温度	: 250 °C
加热模块温度	: 400 °C
接口温度	: 350 °C

\*1 三乙胺

\*2 1,1,1,3,3,3-六氟-2-丙醇

\*3 N, N-二异丙基乙胺

## ■ 使用多电荷分析软件进行解卷积

图 1 所示为根据 scan 模式的数据提取的质谱。在质谱中检测到了 m/z1071.6、918.4、803.5 等的多电荷离子。针对上述多电荷离子，使用 LabSolutions Insight Explore™ 软件的选项“ReSpect”算法进行了解卷积。

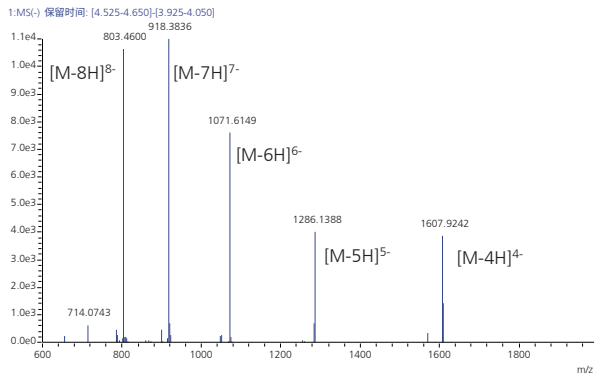


图 1 核酸类药物的质谱

图 2 所示为分子量计算结果。如解卷积谱所示，证实单同位素质量为 6431.72。其质谱误差为 3 mDa (0.05 ppm)。

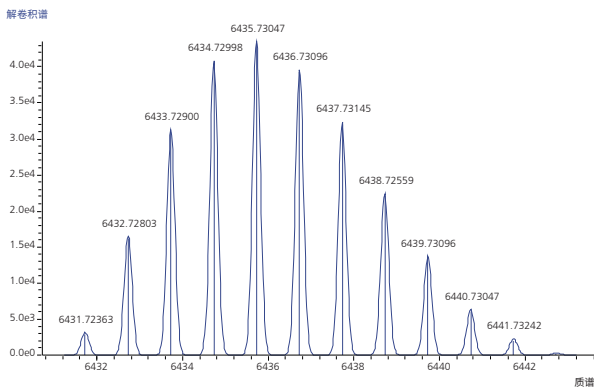


图 2 解卷积谱

## ■ 标准品分析

和三重四级杆质谱仪一样，LCMS-9030 也可以使用 MRM 模式进行高灵敏度定量。前体离子使用 8 电荷离子 m/z803.4626、产物离子使用 m/z 94.9358 (PSO<sub>2</sub>) 作为监控离子。图 3 所示为 MRM 模式下具有代表性的色谱图。

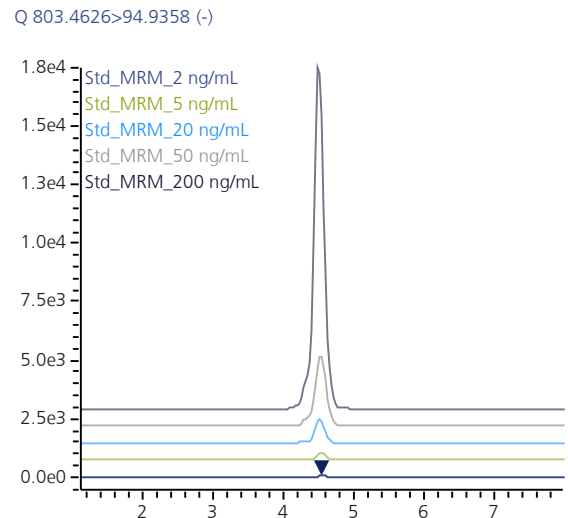


图 3 核酸类药物的MRM色谱图

## ■ 标准曲线

图 4 所示为标准曲线。在 1~1000 ng/mL 的范围内绘制了标准曲线。相关系数 (R<sup>2</sup>) 为 0.996。

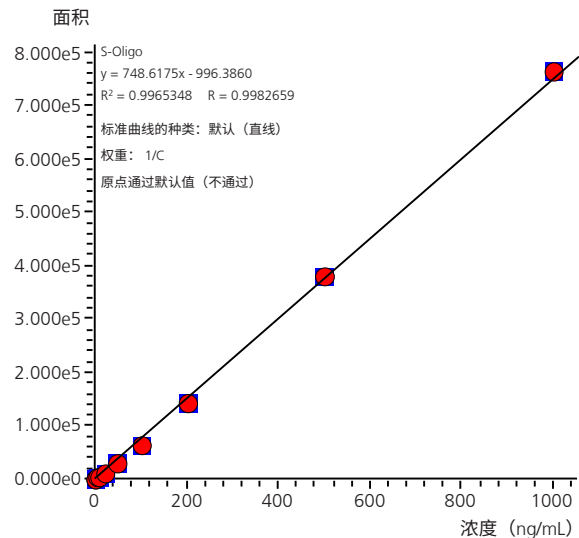


图 4 标准曲线

## ■ 总结

使用 Q-TOF 型质谱仪 LCMS-9030 进行精密质谱分析时，分子量误差仅为 0.05 ppm。另外，可以得到在线性范围在 1~1000 ng/mL 标准曲线。

岛津应用云



LCMS、UFgrating、iRefTOF、Nexera、Shim-pack Scepter、及 LabSolutions Insight Explore 是岛津制作所株式会社在日本和其他国家的商标。



岛津企业管理 (中国) 有限公司  
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439  
400-650-0439

免责声明:

\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;  
\* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。  
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2020 年 6 月