

# バイオ医薬品の飛躍的な進歩を もたらしイノベーション

Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF システム



# より多くの情報に基づいた意思決定を 可能にする究極の柔軟性

## 1 台の LC/Q-TOF で複数のバイオ医薬品ワークフローに対応

ワークフローごとに固有の課題がありますが、Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF システムなら、1 つの装置でさまざまな課題に対応できます。生体分子の前処理、分離、検出、解析から、結果を共有するためのレポートまで、お客様が必要とするすべての技術をアジレントは提供します。

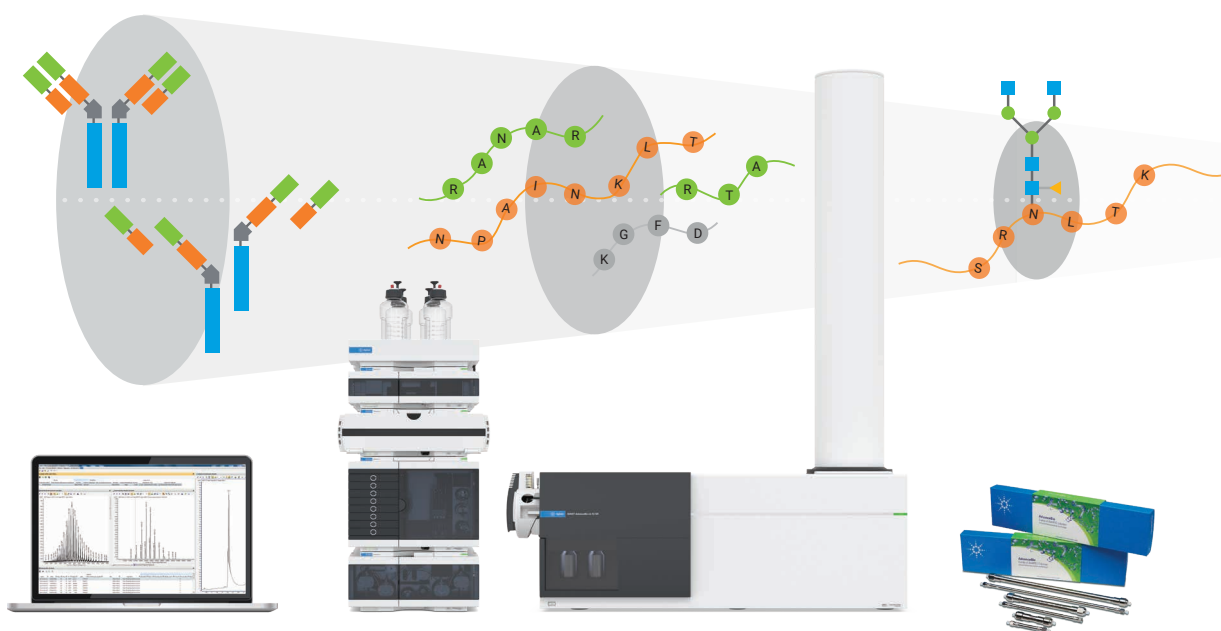
完全な定性解析を行うには、あらゆるレベルでプロテインを分析するワークフローが必要です。プロジェクトを前進させるためには、情報をくまなく得ることが欠かせません。分析するサンプルの検体数に関わらず、6545XT はさまざまな分析に対応しており、迅速に分析を開始できます。

生物製剤の特性解析では、多くの情報を入手するために、複数の手法が必要となります。

### インタクトプロテイン分析

### ペプチドマッピング

### 翻訳後修飾



- インタクトプロテイン  
(ネイティブまたは変性)
- 抗体薬物比 (ADR)
- mAb のサブユニット分析
- ペプチドマッピング

- 翻訳後修飾 (PTM)
- 宿主細胞タンパク質 (HCP) 分析
- 遊離グリカン
- 治療用ペプチド

- オリゴヌクレオチド分析
- 電子捕獲解離 (ECD) による  
トップダウン、ミドルダウン、  
ボトムアップ特性解析

# 包括的な生体分子分析のための パワフルなソリューション

- ⊕ 超高真空 ( $10^{-8}$  Torr) の TOF により、プロテインに対して優れたスペクトル分解能を実現
- ⊕ Agilent SWARM オートチューンにより、ワンクリックで LC/Q-TOF を高分子検出に最適化
- ⊕  $m/z$  30,000 までの可変質量範囲により、非常に分子量の大きな高分子も分析可能
- ⊕ キャピラリの取り外し時に大気開放が不要で、容易なメンテナンス



## Agilent ExD セルによる ペプチドおよびプロテイン分析の強化

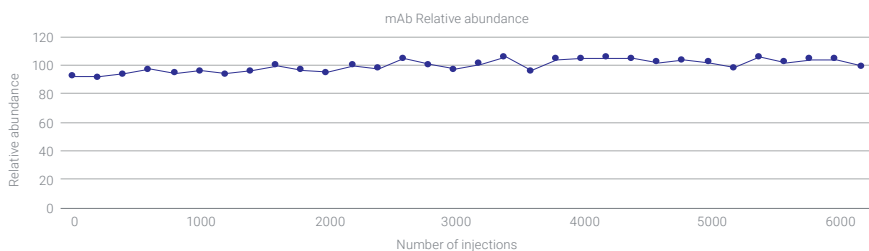
- ⊕ ペプチドおよびペプチドの ECD が可能
- ⊕ ECD の効率向上と簡単な操作を実現した次世代設計
- ⊕ ExDViewer 解析ソフトウェアにより、膨大な ECD スペクトルを確信を持って解釈

## 堅牢性と再現性

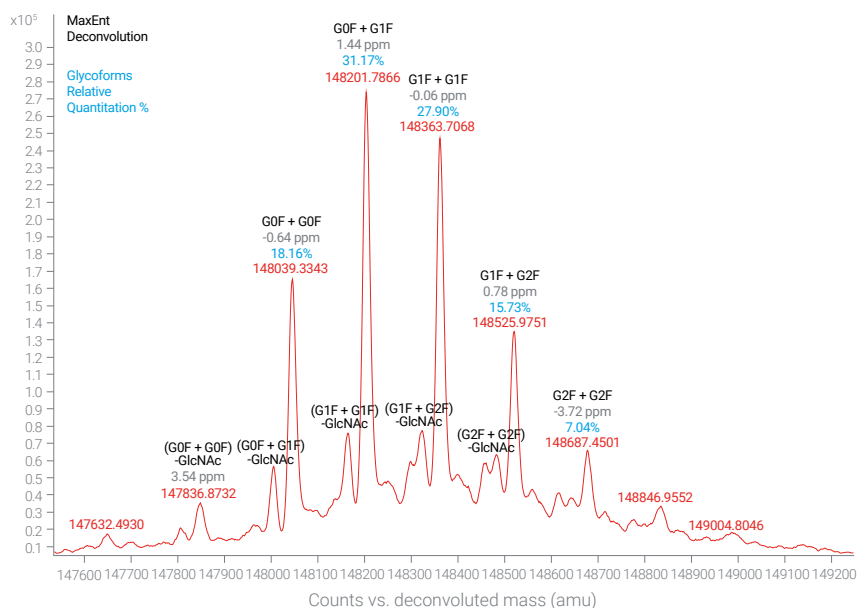
サンプルの再分析や、分析機器ラボのメンテナンスに費やす時間を本来の業務に使うことで、ラボの目標を達成できます。6545XT LC/Q-TOF により、日々の分析において、再現性に優れ、正確なデータの取得を可能にします。

### インタクトプロテイン分析

高分子分析に特化した設計により、6545XT LC/Q-TOF は、低 ppm レベルの精密質量測定を実現します。優れた質量分析計の感度と、非常に詳細な情報を保持するデータ処理により、低濃度のアイソフォームをインタクトレベルで検出およびモニタリングできます。非共有プロテイン複合体の分析が必要な場合でも、6545XT LC/Q-TOF の質量範囲を、最大  $m/z$  30,000 まで拡張することができます。SWARM オートチューンを用いて、簡単にシステムをインタクトプロテインの測定条件で最適化できます。



6,000 回を超える 1 $\mu$ g のトラスツズマブの繰り返し注入でも、レスポンスの低下は見られませんでした。



# Agilent MassHunter BioConfirm : 分析の詳細を一目で把握

Agilent MassHunter BioConfirm ソフトウェアは、ワークフローを簡単に実行し、概要と詳細の両方をすべて表示することができるため、バイオ医薬分析に最適な解析ソフトウェアです。特にペプチドマッピングでは、ペプチドの配列情報や修飾の相対アバンドンスを表示する必要があります。

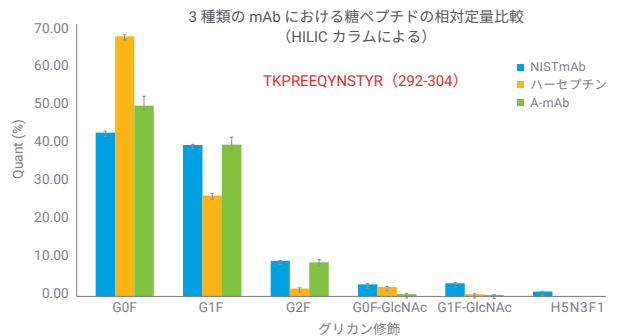


アミノ酸配列を確認するルーチン作業で検出の難しいペプチドという課題に直面している場合でも、6545XT LC/Q-TOF と Agilent MassHunter ソフトウェアが支援します。Agilent MassHunter BioConfirm では、配列のカバー率を迅速に確認できます。また、Agilent MassHunter Walkup ソフトウェアでは、お客様の経験の多少に関わらず、LC/MS プロテインの配列データが得られます。反復 MS/MS や自動配列マッチングなどの有用な測定ツールにより、低濃度のペプチドの特定や検出の難しいペプチドの同定の改善に役に立ち

ます。分子ごとに異なる課題があります。そのような課題に対して柔軟性のある 6545XT は同じ一連のソフトウェアツールで、それぞれの課題へのアプローチに対応します。

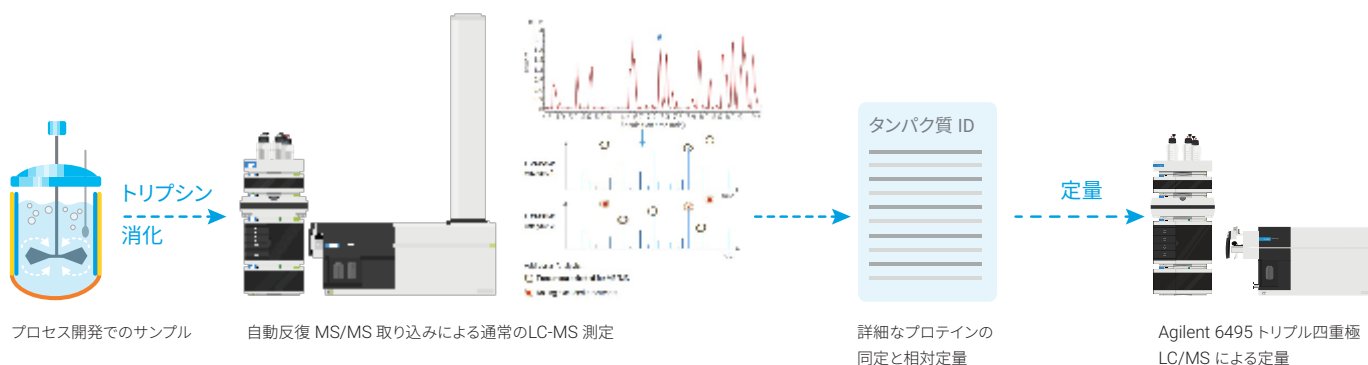
## 翻訳後修飾 (PTM)

プロテインの正確な組成を完全に理解するには、骨格構造を調べるだけでは不十分です。発現中にどのような修飾や変化が発生するかを知る必要があります。6545XT LC/Q-TOF は、酸化度数の特定、脱アミド化部位の特定、グリカン構造のプロファイリングのいずれも行えるように設計されています。簡単に Q-TOF の最適化が行える SWARM オートチューンは、対象が高分子量プロテインであっても、グリカンなどの低分子で不安定な構造であっても、柔軟に最適化してシステムの潜在能力を最大限引き出します。



## 詳細な宿主細胞プロテイン (HCP) 分析

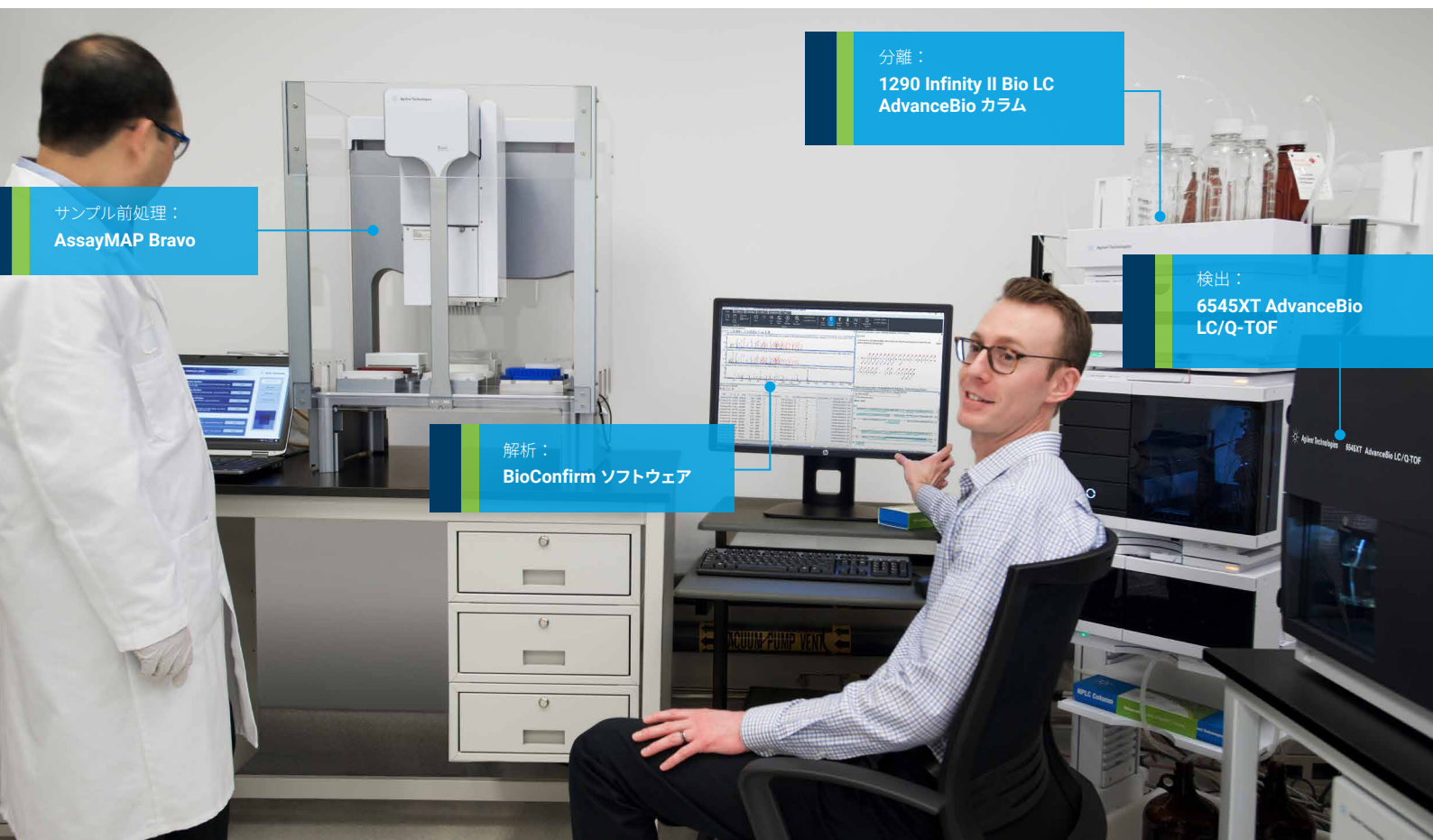
宿主細胞プロテイン分析は、最も困難な分析の1つです。これは、発現システム由来の低濃度のペプチドと、消化後に濃縮されて精製された mAb プロテイン由来の高濃度のペプチドを、同時に検出する必要があるためです。そのためには、スペクトル内ダイナミックレンジが高いことが、きわめて重要な要件となります。6545XT LC/Q-TOF は、この分析に最適なシステムであることが示されています。最低濃度での同定には、反復 MS/MS が使用されます。各 MS/MS の測定後、その測定で選択されたすべてのプリカーサが以降の分析で除外され、追加の分析ごとに分析対象物の濃度がより低くなります。宿主細胞プロテインが同定されると、6545XT LC/Q-TOF で測定あるいはターゲット測定で Agilent トリプル四重極 LC/MS に移管することができます。



HCP-AIMS ワークフローの概略図。

Huang, Y.; Molden, R.; Hu, M.; Qiu, H.; Li, N. Toward unbiased identification and comparative quantification of host cell protein impurities by automated iterative LC-MS/MS (HCP-AIMS) for therapeutic protein development. *JPBA*. **2021**, 200, 114069.

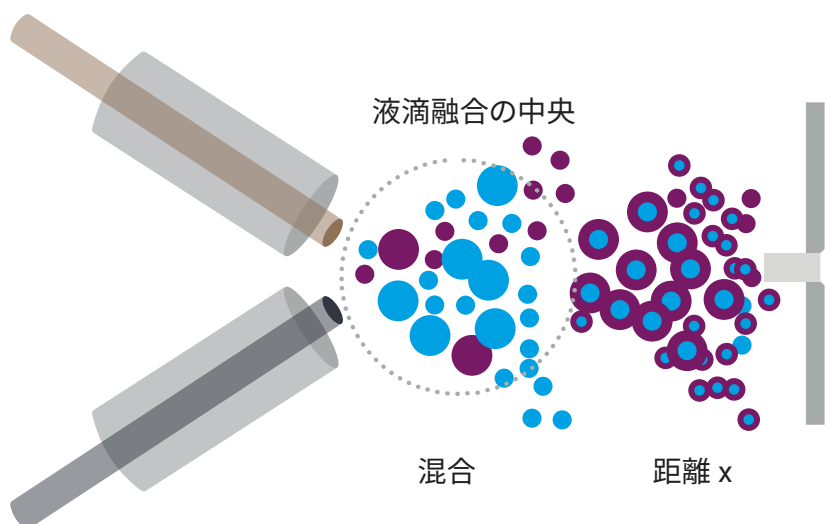
Sook, Y.E.; Hu, Y.; Molden, R.; Qiu, H.; Li, N. Identification and quantification of a problematic host cell protein to support therapeutic protein development. *J. Pharm. Sci* **2023**, 112(3), 673-679.



## ハイスループット分析のためのフラッシュ特性解析

従来、IdeS 酵素消化、還元、酵素的脱グリコシル化による抗体特性解析には、バルク溶液中での長時間のインキュベーション（最低 30 分）が必要でした。近年、微小液滴反応を利用した抗体分析に注目が集まっています。<sup>1</sup>微小液滴反応による分析の利点は、ESI スプレーチャンバで得られる高速の反応速度（マイクロ秒単位）と高い反応収率です。時間の短縮に加えて、特性解析用の酵素と抗体の消費量削減により、分析コストを大幅に抑えることができます。

デュアルスプレーヤーを使用した、アジレント独自のイオン源設計により、リファレンススプレーヤーを反応物の導入スプレーヤーとして使用し、分析スプレーヤーを mAb の導入に使用するだけで、微小液滴反応を実現することができます。



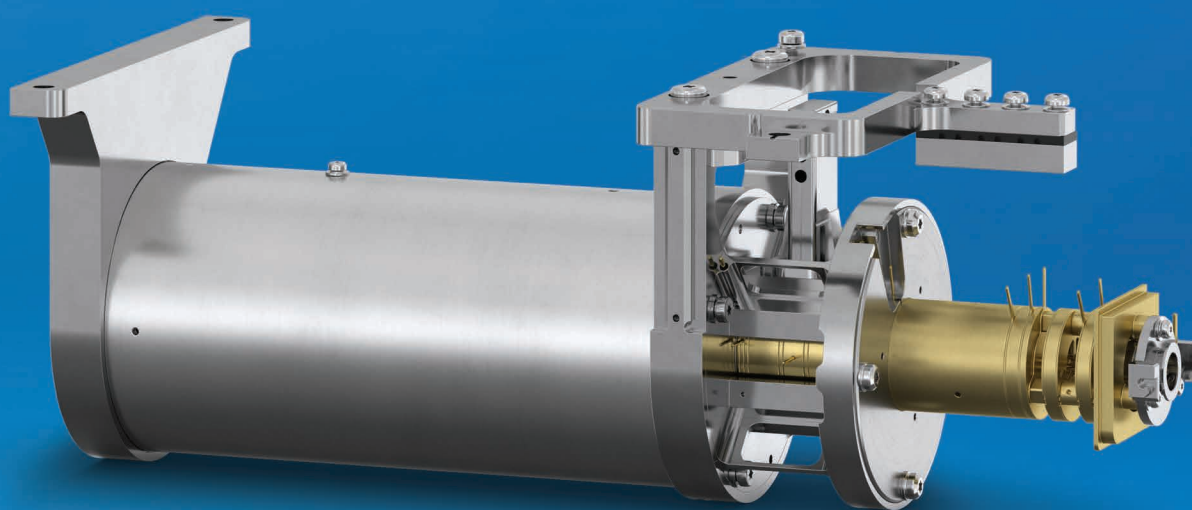
通常のリファレンススプレーヤー条件下ではリファレンスマスが 6 psi で導入されるため、スプレーヤーで導入されるイオンとリファレンスイオンとの間で相互作用は発生しませんが、微小液滴反応では 60 psi の圧力が印加され、相互作用が発生します。

Gunawardena, H.P.; Ai, Y.; Gao, J.; Zare, R.N.; Chen, H. Rapid characterization of antibodies via automated flow injection coupled with online microdroplet reactions and native-pH mass spectrometry *Anal.Chem.* **2023**, 95(6), 3340-3348.

Flash Characterization of Antibodies via Microdroplet Reactions in an Unmodified Jet Stream Source. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-6752EN, **2023**.

# Agilent ExD セルで得られる深い洞察

Agilent ExD セルは、6545XT Q-TOF LC/MS に追加可能なアクセサリで、衝突誘起解離 (CID) とは異なる解離方法である電子捕獲解離 (ECD) を可能にして、ペプチドやプロテインの特性解析のスピードと深度を向上させます。



## 主な特長

### より迅速で、より多くの情報に基づいた意思決定

ECD で CID データを補完して、壊れやすい修飾やアミノ酸異性体の特性解析をおこない、トップダウンでタンパク質を特性解析します。

### 高い ECD の効率により制約を克服

ECD 効率が高いと、低電荷 (> 2<sup>+</sup>) ペプチドへの適用性が高まり、最適な性能を得るための微調整に費やす時間が短縮されます。

### 柔軟なフラグメント化

ECD と CID は独立して制御されており、別々に使用することも、一緒に使用することもできます。

### 導入の障壁を打破：

シンプルな設計の ExD セルは、ECD のさまざまな利点と可能性を利用することができ、特殊な高機能機器と、幅広く利用可能な LC/MS との隔たりを埋めることができます。



**トップダウン分析とミドルダウン分析：**時間を短縮し、化学的アーチファクトを最小限に抑えることで酵素消化とペプチドマッピングに依存しているワークフローよりもデータ解析を簡素化します。

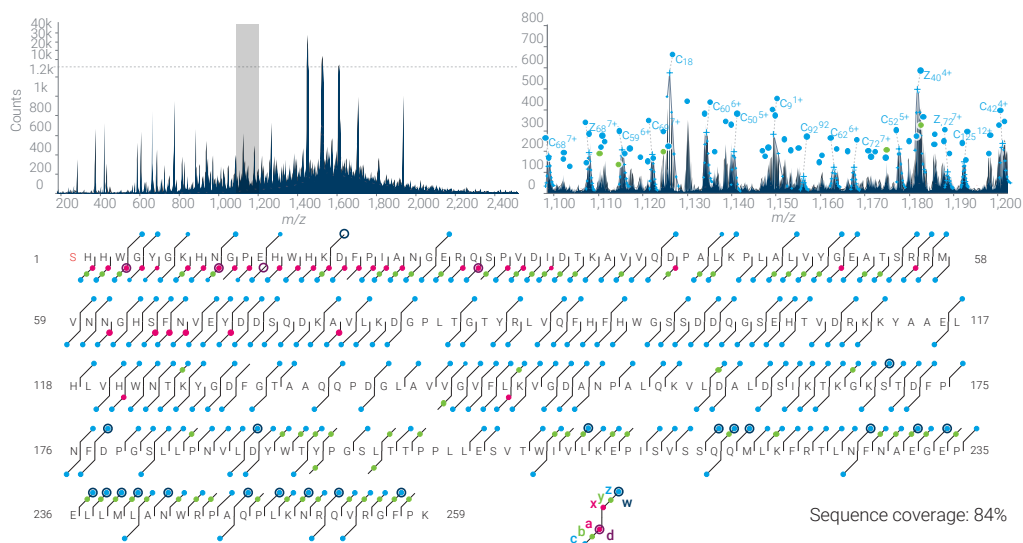


図 1. 29 kDa 炭酸脱水酵素のトップダウン ECD (インフュージョン) 左:  $20^+$  プリカーサ ( $m/z$  1452.2) を単離して、ECD を適用することにより、多くのフラグメントイオンスペクトルが得られました。右:  $m/z$  100 の質量範囲に 100 を超えるフラグメントイオンが存在していますが、S/N 比と同位体比は、Agilent ExDViewerソフトウェアが高い信頼性で一致させるのに十分な堅牢性を備えています。下: トップダウン ECD によるアミノ酸配列のカバー率は 84% でした。実験全体では 10 分かかりませんでした。

**壊れやすい修飾のマッピングと特性解析：**壊れやすい修飾を保持しながら、配列情報が含まれているフラグメントイオンを生成します。

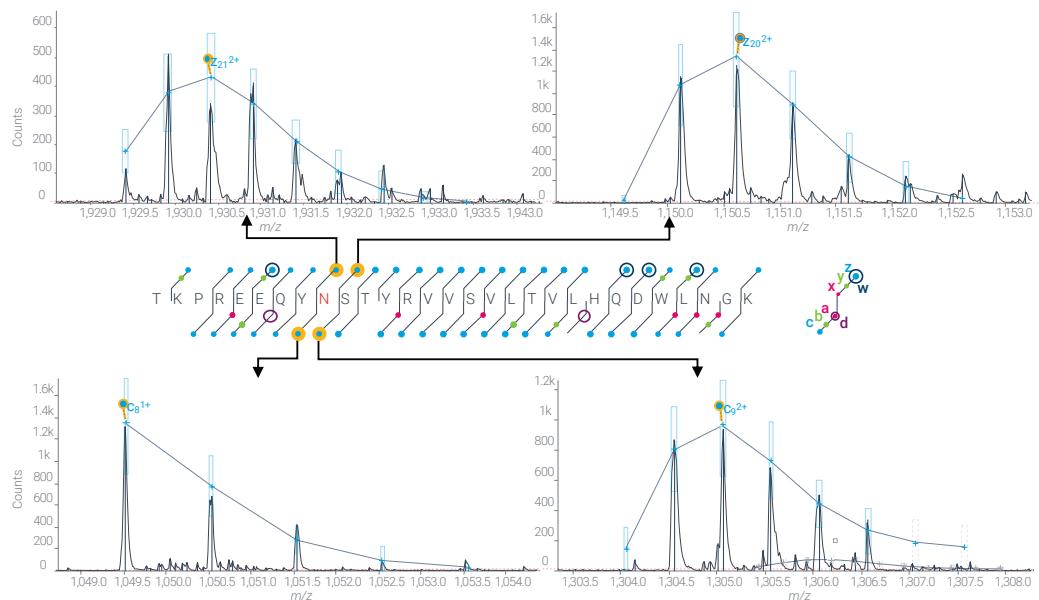


図 2. NISTmAb トリプシン糖ペプチド、 $5^+$  プリカーサ ( $m/z$  1982.2) から、ECD フラグメントイオンを選択します。ECD フラグメントイオン  $Z_{21}^{2+}$ 、 $Z_{20}^{2+}$ 、 $C_8^{1+}$ 、 $C_9^{2+}$  は、グリカン修飾部位の側面に位置しており、壊れやすい修飾自体をフラグメント化しなくても、その位置および GOF としての同一性を確認することができます。

**同重体と異性を区別：**アミノ酸側鎖をフラグメント化して、アスパラギン酸/イソアスパラギン酸、ロイシン/イソロイシンなどの同重体を区別します。

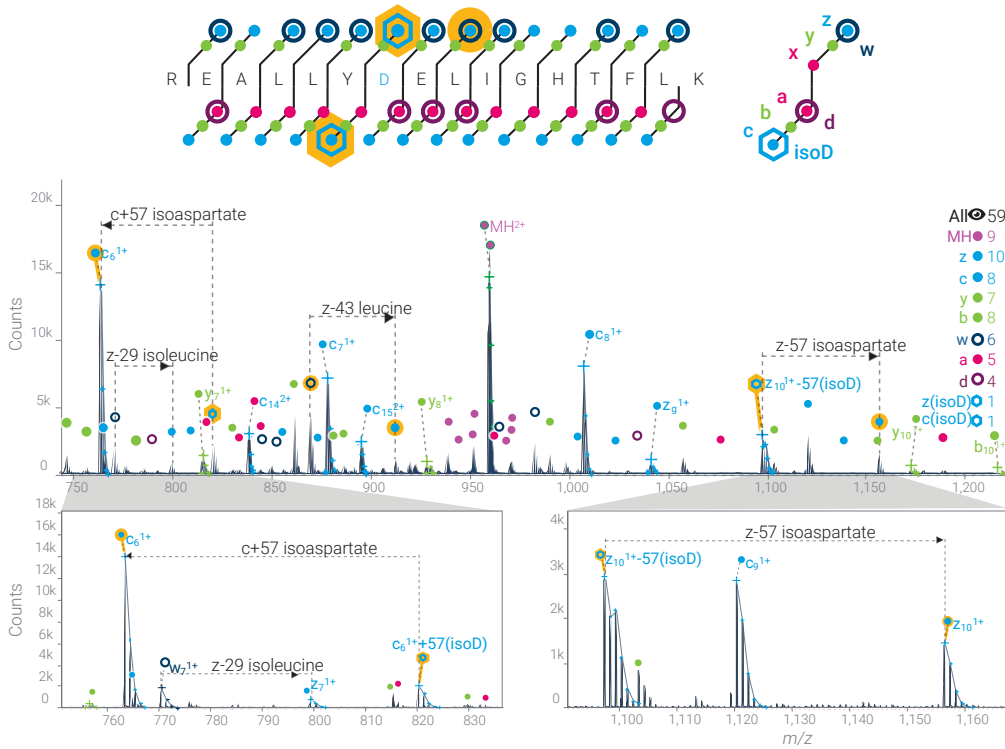


図 3. 上：配列 REALLYDELIGHTFLK のペプチドは、1つのI残基と4つのL残基を持っており、32の異なる異性体があり、同じCIDスペクトルを生成する可能性があります。アスパラギン酸の異性化により、探索空間は64の異性体ペプチドにまで拡大されます。中：ECDは、I残基とL残基を直接区別する側鎖フラグメント（濃い青の丸印）を生成します。下：また、ECDは、イソアスパラギン酸残基とアスパラギン酸残基を区別できるフラグメントイオン（薄い青の六角形）も生成します。

**補完的な構造情報を生成：**低電荷ペプチドでも、高い効率のECDにより、CIDで生成されたフラグメントイオンを補完するフラグメントイオンが得られるため、特に *de novo* ペプチド配列や修飾の特性解析に有用です。

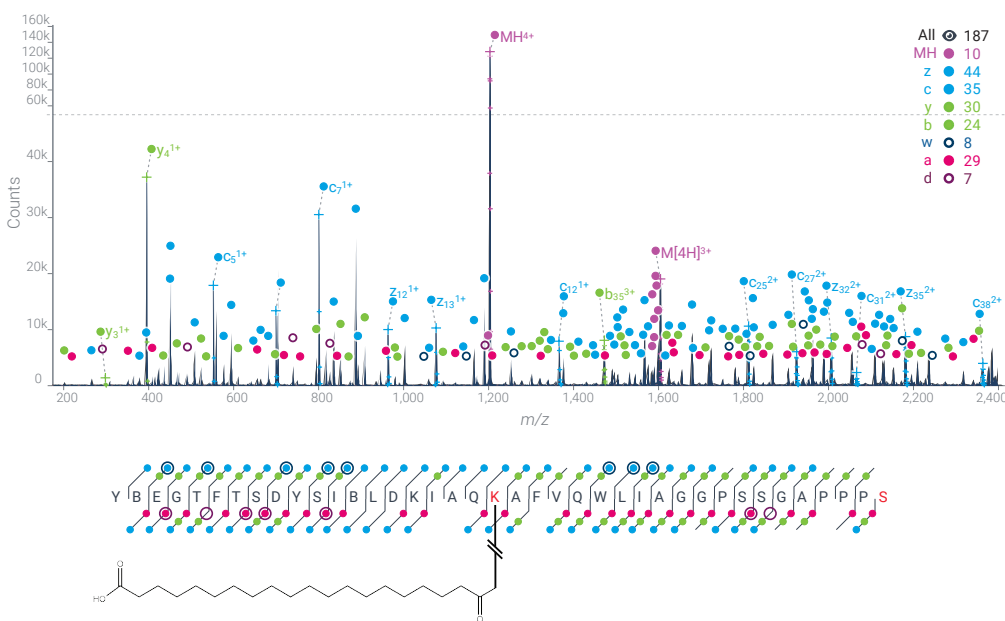


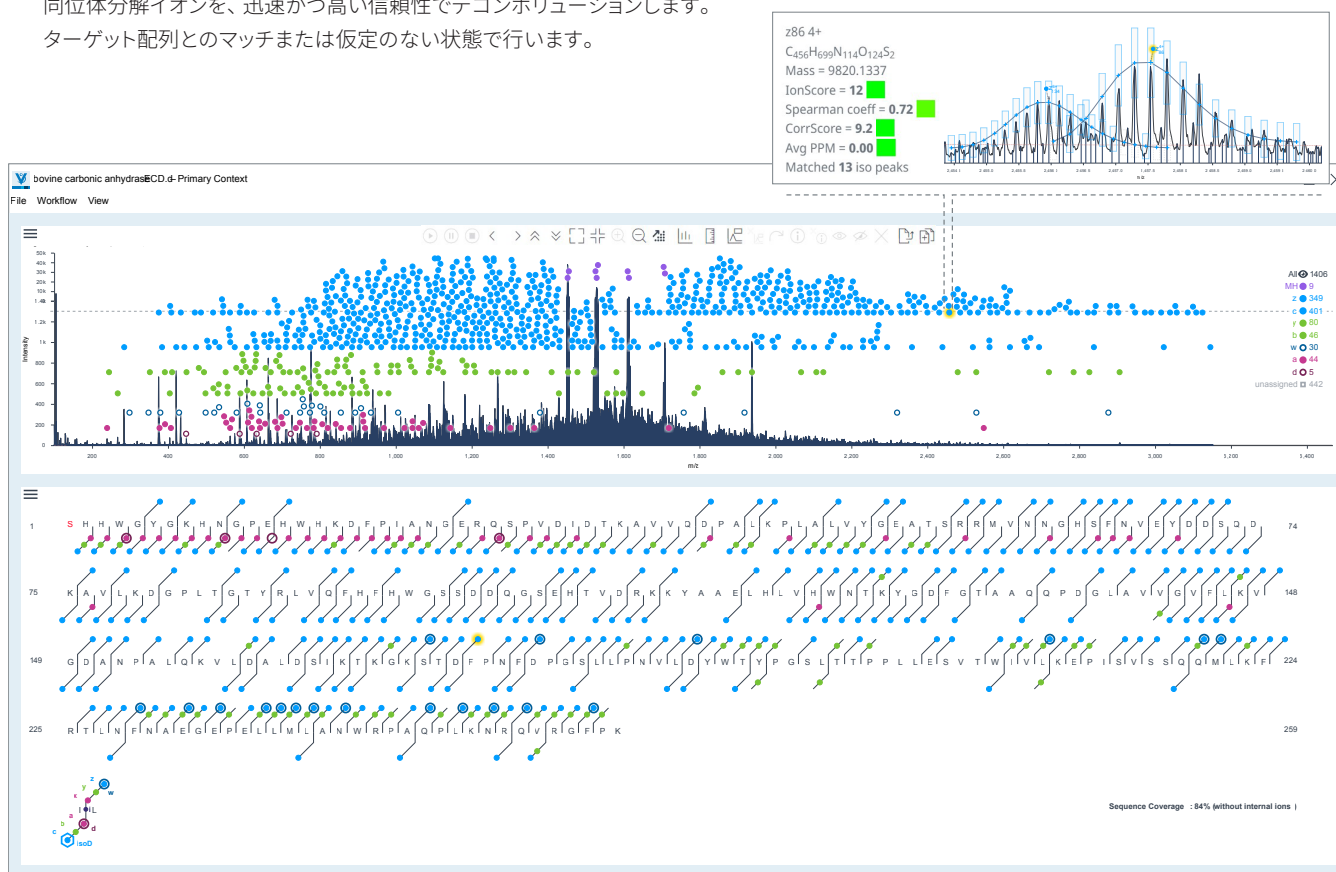
図 4. チルゼパチドのECDスペクトル。リンカーを介してK20に結合した20C脂肪酸鎖を特徴とする、合成ペプチドチルゼパチドの単離4+プリカーサに対してECDを実施した結果、S/N比が1000を超えるECDフラグメントイオン強度が観察されました。ECDイオンはCIDイオンを補完して、配列と修飾を確認することができます。

# ExDViewer によるトップダウン分析の高速化

Agilent ExDViewer 解析ソフトウェアを使用すると、情報量の多いトップダウン MS/MS スペクトルを迅速、正確、かつ直感的に解釈でき、結論の信頼性と伝達の容易が向上します。

## 迅速なデコンボリューションによるスペクトルの簡略化

同位体分解イオンを、迅速かつ高い信頼性でデコンボリューションします。ターゲット配列とのマッチまたは仮定のない状態でを行います。



対話形式で可視化してイオン割り当てのバリデーションを高速化します。ここでは、ウシ炭酸脱水酵素の 286 4<sup>+</sup> イオンが、スペクトルウィンドウと配列カバーマップでハイライト表示されています。表示をカスタマイズして、出版物品質の図を作成できます。

## ECD、CID などの解釈

プロテイン主鎖とサテライトイオンのタイプ (b、y、c、z、a、x、d、w) を割り当てます。

## スペクトルから構造を特定

タンパク質の配列、Fixed modifications および Variable modifications、アミノ酸の構成要素を定義します。Variable modifications 検索により、変異体の証拠を探します。

## コラボレーションが容易

影響力の大きな結果を、これまでになく迅速に共有できます。ラボの同僚に URL リンクを送信して、結果を共有できます。

### 今すぐ開始できます

分析への導入障壁によって、タンパク質特性解析のトップダウンおよびミドルダウン質量分析の利点を実現することができない可能性があります。

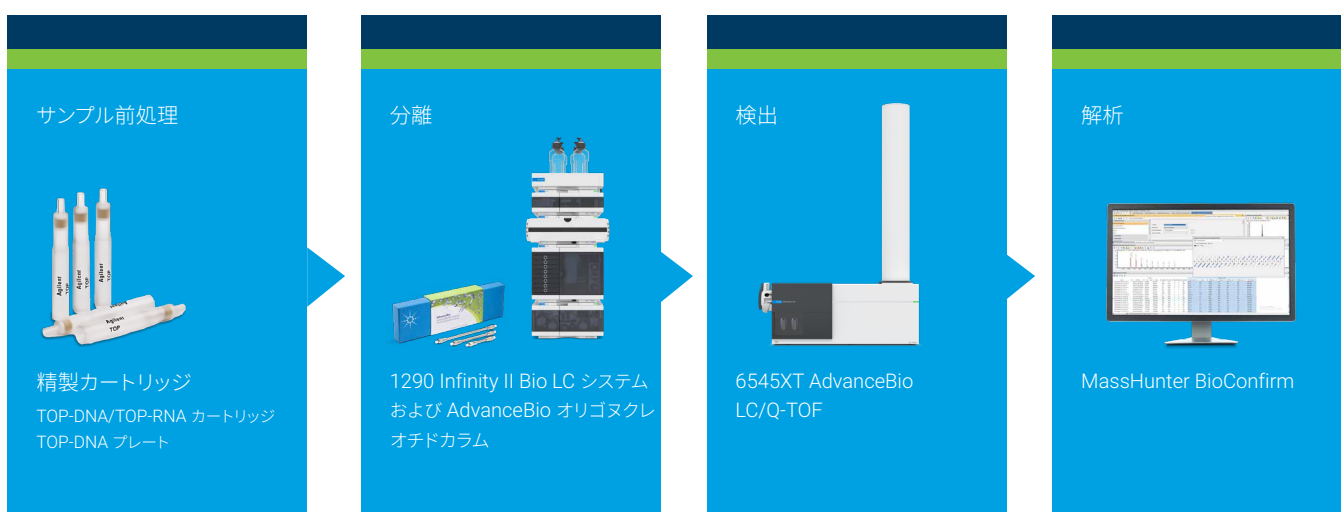
今すぐ無償の ExDViewer にアクセスしてください。

[exdviewer.agilent.com](http://exdviewer.agilent.com) をご覧ください

# 合成オリゴヌクレオチド特性解析のための 包括的なワークフローソリューション

## – オリゴヌクレオチドのターゲットと不純物 (TPI) 分析

ターゲットオリゴヌクレオチドとその不純物の特性解析には、LC/MS 分析などの高度な分析メソッドが不可欠です。不純物が多数存在し、アバンダンスが非常に低く、互いに組み合わせられて存在する場合があります。そのため、高度な手法が必要とされます。不純物の特性解析は困難な場合があります。そのため、不純物のプロファイリングをサポートして、自動化するソフトウェアが非常に役に立ちます。



## – オリゴヌクレオチドの配列確認

配列確認のワークフローでは、Agilent 1290 Infinity II Bio LC システムと Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF を組み合わせて使用します。また、このワークフローでは、オリゴの配列から計算されるフラグメントの期待値に対する同位体パターンを照合することにより、MS2 レベルのフラグメント確認を実施します。この照合機能は、BioConfirm ソフトウェアの新機能です。この機能は、高分解能精密質量システムとターゲット MS/MS データとを組み合わせる能力を実証するものです。このアプローチでは、大幅に修飾された配列を確認し、特定の化学グループの位置を決定することにより、オリゴヌクレオチドを構造的に特性解析します。





## 持続可能性とビジネスの 成功のためのパートナーシップ

持続可能という考え方により、製品、プロセス、サプライチェーンに対する研究者、科学者、メーカーのアプローチが変化しています。しかし、ラボにとって、継続的にワークフローを最適化してコストを抑制しつつ、環境への影響を低減することは容易ではありません。

アジレントは、効率、生産性、持続可能性は相互に関連していると考えています。

持続可能性への取り組みは、アジレントの事業活動と、お客様の課題への対応における不可欠な要素です。生産性を向上して、精度と競争力を維持しつつ、ラボの持続可能性の目標を達成できるようお手伝いいたします。



### My Green Lab とのパートナーシップ

アジレントは My Green Lab と協力し、ACT ラベル（Accountability = 説明責任、Consistency = 整合性、Transparency = 透明性）の取得に向けて、自社の機器の独立監査を受けています。ACT ラベルは、製品とそのパッケージの製造、使用、廃棄による環境への影響に関する情報を提供し、購入者が情報に基づいて持続可能な選択をできるようにするものです。Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF は、Agilent 6230 飛行時間型（TOF）LC/MS、Agilent 6546 LC/Q-TOF、Agilent Revident LC/Q-TOF とともに、広い範囲にわたって評価されており、ACT ラベルを取得しています。

[My Green Lab の詳細はこちら](#)

### アジレントのネットゼロへの取り組み

アジレントは創立以来、消費電力、廃棄物、水、CO<sub>2</sub> 排出の削減に取り組んできました。そして今、さらに歩みを進めようとしています。2050 年までに、温室効果ガスの排出量ネットゼロを達成することを発表します。ネットゼロに向けたアジレントの包括的なアプローチには、パリ協定の気候変動目標、明確に定義された中間目標、Science Based Targets イニシアティブへの取り組みなどがあります。

[詳細はこちら](#)

# トータルソリューション

## 自動タンパク質サンプル前処理

Agilent AssayMAP Bravo Automated Liquid Handling Platform を使用すると、以下のようなワークフローで、ワンクリックでプロテインサンプルの前処理を実行できます。

- アフィニティ精製
- 酵素消化
- 逆相クリーンアップ
- リン酸化ペプチド濃縮
- ペプチド分画



Agilent AssayMAP Bravo プラットフォーム

## Agilent 1290 Infinity II Bio LC システム

**1290 Infinity II Bio LC システム**は、生体適合性材料で構成されたバイナリまたはクォータリ UHPLC であり、バイオ医薬品や、高塩濃度、極端に高いまたは低い pH の条件を伴うアプリケーションで使用します。生体適合性材料を使用することで、生体分子の完全性とシステムの堅牢性が確保されます。1290 Infinity II Bio LC システムは、バイオクロマトグラフィー用として、最高 130 MPa の圧力において、最高の分解能と最小限の拡散を実現しています。



Agilent 1290 Infinity II Bio LC システム

## InfinityLab ソリューションにより、LC/MS の効率が大幅に向上

Agilent InfinityLab LC 機器、カラム、消耗品は、組み合わせて使用することで効率が高められる設計となっており、生産性の増大と運用コストの低減を実現します。

### InfinityLab LC 機器

Agilent InfinityLab LC シリーズでは、HPLC および UHPLC システムを取り揃えており、ルーチン分析から最先端の研究まで、アプリケーションや予算に応じてお選びいただけます。

### InfinityLab LC カラム

Agilent InfinityLab Poroshell 120 LC カラムは 3 種類の粒子サイズと 20 種類の結合相を提供。幅広い選択性のカラムからお選びいただくことができ、メソッド開発が迅速かつ容易になります。

### InfinityLab LC 消耗品

ワークフローの小さな部分が、分析結果の品質に大きな違いをもたらす可能性があります。Agilent InfinityLab 消耗品は、日々の作業を効率化する設計となっています。

Agilent  
**CrossLab**

From Insight to Outcome

### 優れた成果をサポート

Agilent CrossLab は、サービスと消耗品を統合することで、お客様のワークフローをサポートし、生産性や運用効率の向上を実現するためのお手伝いをさせていただきます。あらゆる場面で「見えない価値」を提供し、お客様の目標達成を支援します。

Agilent CrossLab の詳細については、[ホームページ](#)をご覧ください。

## エラーを最小限に抑制し、分析間の再現性を向上

Agilent University は、コスト効率に優れた柔軟なトレーニングオプションによって、ラボリソースの計画、優先度設定、管理に貢献します。チームは、効率を高めてダウンタイムを大幅に低減するための知見も得られます。さらに、対面式、バーチャル、オンラインなど、お客様に最適なトレーニング形式を選択することができます。

詳細については、[Agilent University のホームページ](#)をご覧ください。

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE53510955

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2024  
Printed in Japan, June 28, 2024  
5991-7915JAJP

