

应用纪要

ACQUITY™ Premier和 Arc™ Premier系统之间的 体积排阻色谱方法迁移

Pawel Bigos, Robert E. Birdsall, Ying Qing Yu

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

本应用简报展示了用于单克隆抗体分析的体积排阻色谱(SEC)方法在使用XBridge™ Premier SEC 250Å蛋白分析专用柱和ACQUITY Premier SEC 250Å蛋白分析专用柱的ACQUITY Premier和Arc Premier系统之间的迁移。

优势

- Waters™ MaxPeak™高性能表面(HPS)技术专门针对蛋白质SEC分离而设计，可大幅减少次级相互作用，从而提高SEC结果的一致性

- MaxPeak Premier色谱柱有多种规格和粒径可供选择，有利于在HPLC、UHPLC和UPLC™平台之间的方法迁移

简介

SEC根据流体动力学体积分离生物治疗药物，是一种成熟的技术¹。这些生物治疗药物通常以蛋白质为基础，产生的聚集体和片段杂质会影响产品有效性和安全性，因此需要予以监测。分析这些杂质时所面临的主要挑战是蛋白质与颗粒或硬件表面之间可能发生的离子和疏水次级相互作用。为解决这一问题，沃特世开发出MaxPeak HPS技术应用于SEC颗粒和硬件表面，可减少不需要的次级相互作用，大幅提高回收率和分离度。在该产品中，沃特世将聚环氧乙烷聚合物掺入BEH颗粒表面(BEH-PEO)，并精心设计了色谱柱硬件以加强对分析物的惰性，使SEC的分离效率提升至全新高度²。这些新设计的MaxPeak Premier SEC色谱柱使用户能够分析生物治疗药物，盐或者有机溶剂添加剂的用量很少甚至不需要，只需使用简单的生物相关缓冲液即可对蛋白质大小异构体实现可靠定量。

此外，沃特世还提供各种粒径和规格的MaxPeak Premier SEC色谱柱，使客户能够充分利用MaxPeak Premier SEC色谱柱的性能来支持他们在药物开发和商业化过程中的分析需求。为证明这一点，我们将使用1.7 µm ACQUITY Premier SEC 250Å蛋白分析专用柱在ACQUITY Premier系统上开发的SEC方法迁移至使用2.5 µm XBridge Premier SEC 250Å蛋白分析专用柱的Arc Premier系统。

结果与讨论

在单克隆抗体(mAb)的开发和质量控制中，SEC方法是分离和定量大小异构体的黄金标准。本研究在ACQUITY Premier UPLC系统和Arc Premier UHPLC系统上分析了mAb治疗药物Remicade™和获批的生物类似药Renflexis™（过期后）的大小异构体。SEC方法条件是在ACQUITY Premier系统上开发的：等度梯度、经无菌过滤的1X PBS、pH 7.4和ACQUITY Premier SEC 250Å蛋白分析专用柱(4.6 mm x 300 mm, 1.7 µm)。即便使用等度梯度，流速和进样体积等参数也必须在系统之间进行缩放，使色谱柱载样量和色谱柱体积保持相同，确保色谱性能得到迁移。这些方法条件使用沃特世方法转换计算器2.0版进行缩放，并迁移至配备XBridge Premier SEC 250Å蛋白分析专用柱(7.8 mm x 300 mm, 2.5 µm)的Arc Premier系统。图1和图2显示了原研药和生物类似药mAb的同分离结果。

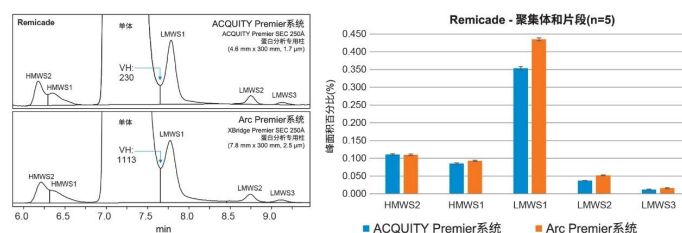


图1.ACQUITY Premier系统和Arc Premier系统之间Remicade的聚集体和片段分析

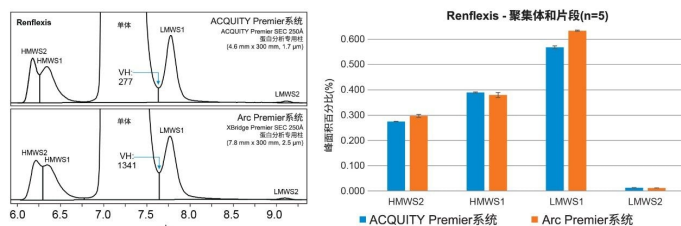


图2.ACQUITY Premier系统和Arc Premier系统之间Renflexis的聚集体和片段分析

计算Remicade和Renflexis五次重复进样的相对峰面积百分比平均值，来比较原始UPLC（ACQUITY Premier系统）和缩放后的UHPLC方法（Arc Premier系统）之间的色谱性能。监测单体和LMWS1之间的分离度，使用Empower CDS中的自定义字段，通过峰高除以峰高与谷高之比来计算重叠峰的谷高(VH)。如两种mAb的相关条形图所示，聚集体和片段的相对峰面积百分比与原始方法的偏差在~0.1%以内。在ACQUITY Premier系统上观察到的峰间VH更小，这是因为使用的色谱柱粒径更小，因此分离度更高。虽然这一观察结果对总峰面积百分比和系统间纯度测定的影响可以忽略不计（Remicade：99.4% vs 99.3%，Renflexis：98.8% vs 98.7%），但也可以纳入其他分析物实验设计(DOE)的考虑因素中。或者，用户可以通过提高流速并匹配在XBridge Premier SEC 250Å 2.5 µm蛋白分析专用柱上获得的分离度来提高SEC分析的通量，从而使ACQUITY Premier SEC 250Å 1.7 µm蛋白分析专用柱的SEC分析时间缩短约20%。总体而言，数据表明MaxPeak Premier SEC色谱柱使用户能够在不同规格的系统 and 色谱柱中可重现地分离大小异构体，使生物制药开发、生产和质量控制组织之间的方法迁移更简单。

结论

SEC是一种功能强大的色谱技术，可用于生物治疗药物的表征、工艺监测和质量控制放行。借助各种采用MaxPeak高性能表面技术的色谱柱和色谱系统，可以将表征过程开发的方法迁移到下游的工艺监测中，同时保持稳定、等效的性能。研究表明，在ACQUITY Premier系统和Arc Premier系统上分析的两种mAb的聚集体、片段和单体的相对峰面积百分比差异只有约0.1%。这种一致性证实，使用沃特世方法转换计算器和MaxPeak Premier HPS赋能的颗粒和硬件表面，SEC方法可以在不同的LC平台之间成功迁移。

参考资料

1. Yang H, Koza SM, Yu YQ.使用MaxPeak Premier SEC蛋白分析专用柱测定流体动力学半径.沃特世应用纪要, [720007625ZH](#) 2022.
2. Kizekai L, Shiner SJ, Lauber MA.Waters ACQUITY和XBridge Premier SEC 250 Å蛋白分析专用柱：惰性SEC色谱柱设计的新基准.沃特世应用纪要, [720007493ZH](#) 2022.

特色产品

[Arc Premier系统](#) <

<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135083359>

>

[ACQUITY Premier系统](#) <

<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>

>

[MaxPeak Premier解决方案](#) <

<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135071970>

>

[Empower色谱数据系统](#) <

<https://www.waters.com/10190669>>

720007836ZH, 2023年1月

© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)