

# GMP体制下でのLC/MS/MSによる 核酸医薬品(オリゴ核酸)の確認試験

核酸医薬品の申請において、設計通りの塩基配列であることを確認することが重要である。東レリサーチセンターでは、LC/MS/MSによるオリゴ核酸の分析がGMP・DI対応で実施可能であり、その例として、デコンボリューション解析によるインタクト質量測定、塩基配列確認を紹介する。

**使用機器**

**GMP・DI対応**

**LC-QTOF-MSシステム**

液体クロマトグラフ:  
ACQUITY Premier  
(Waters)

質量分析計:  
Xevo G2-XS QToF  
(Waters)



**検討内容**

<試料>  
オリゴDNA (15塩基, CACGTTGAGGGGCAT)

<評価手順>

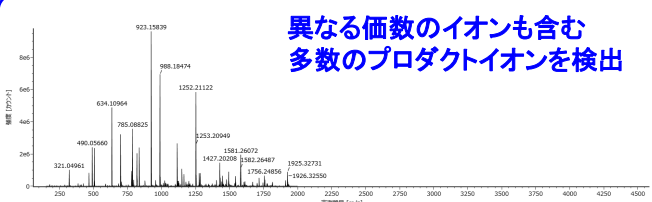
**塩基配列** → LC/MS/MS測定 → デコンボリューション解析 → 塩基配列との照合

**インタクト質量** → LC/MS測定 → デコンボリューション解析 → 塩基配列との照合

**塩基配列**

LC/MS/MS測定 (プリカーサーイオン:  $[M-3H]^{3-}$ )

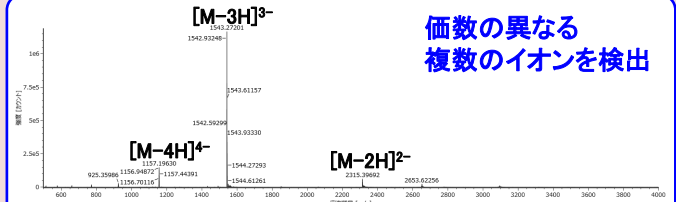
異なる価数のイオンも含む  
多数のプロダクトイオンを検出



**インタクト質量(全長質量)**

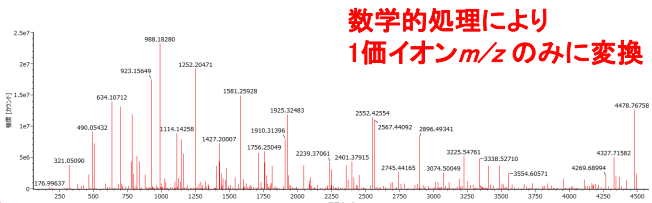
LC/MS測定

価数の異なる  
複数のイオンを検出



デコンボリューション解析 (MaxEnt3)

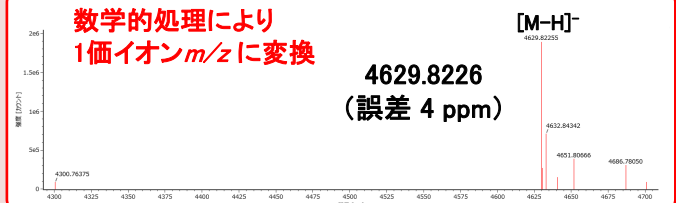
数学的処理により  
1価イオン  $m/z$  のみに変換



デコンボリューション解析 (BayesSpray)

数学的処理により  
1価イオン  $m/z$  に変換

**4629.8226**  
(誤差 4 ppm)



設計した塩基配列との照合: 照合した配列を網羅するプロダクトイオンが検出された

Base	C	A	C	G	T	T	G	A	G	G	G	C	A	T
a-	208.0728	521.1808	810.1767	1139.2292	1443.2752	1747.3212	2076.3737	2389.4313	2718.4837	3047.5362	3376.5887	3705.6412	3994.6876	4307.7451
b-	226.0833	539.1409	828.1872	1157.2397	1461.2857	1765.3317	2094.3842	2407.4418	2736.4943	3065.5468	3394.5993	3723.6518	4012.6981	4325.7557
c,d-H2O-	288.0391	601.0966	890.1430	1219.1955	1523.2415	1827.2875	2156.3400	2469.3976	2798.4501	3127.5026	3456.5550	3785.6075	4074.6539	4387.7115
d-	306.0496	619.1072	908.1536	1237.2060	1541.2521	1845.2981	2174.3505	2487.4081	2816.4606	3145.5131	3474.5656	3803.6181	4092.6644	4405.7220
a-B-	97.0295	386.0758	699.1334	988.1798	1317.2323	1621.2783	1925.3243	2254.3768	2567.4343	2896.4868	3225.5393	3554.5918	3883.6443	4172.6907
w-	-	4420.7217	4107.6641	3818.6178	3409.5653	3185.5193	2881.4733	2552.4208	2239.3632	1910.3107	1581.2582	1252.2057	923.1532	694.1069
x-	-	4402.7111	4089.6535	3800.6072	3471.5547	3167.5087	2863.4627	2534.4102	2221.3526	1892.3001	1563.2476	1234.1951	905.1427	616.0963
y-	-	4340.7554	4027.6978	3738.6514	3409.5989	3105.5529	2801.5069	2472.4544	2159.3969	1830.3444	1501.2919	1172.2394	843.1869	554.1406
z-	-	4322.7448	4009.6872	3720.6409	3391.5894	3087.5424	2783.4964	2454.4439	2141.3863	1812.3338	1483.2813	1154.2288	825.1763	536.1300

4629.8226 (誤差 4 ppm)

配列をもとに算出されたプロダクトイオンの理論  $m/z$

塩基配列 (既知)

緑色: 検出されたイオン (誤差 < 5 ppm)    黄色: 検出されたイオン (誤差 5~10 ppm)

本手法を用いることでオリゴ核酸の塩基配列が確認できた。  
東レリサーチセンターでは、本手法以外にも核酸医薬品に関する様々な分析が実施可能です。