

Application News

No. 01-00662-K

LCMS-2050 Liquid Chromatograph Mass Spectrometer

단일 사중극자 질량분석기를 사용한 합성 DNA의 정성분석

Qualitative Analysis of Synthetic DNA Using a Single Quadrupole Mass Spectrometer

Junna Nakanozo

사용자 활용 포인트

- ◆ Nexera™XS inert UHPLC 시스템과 LCMS-2050 단일 사중극자 질량분석기를 이용해 올리고뉴클레오타이드를 쉽게 분석할 수 있다.
- ◆ 질량 스펙트럼을 Deconvolution하여 올리고뉴클레오타이드의 분자량을 추정할 수 있다.

■ 서론

최근 몇 년간 올리고뉴클레오타이드 치료제는 신약 개발의 새로운 방식으로 주목받고 있다. 이러한 치료제는 주로 화학 합성으로 생산되기 때문에 제품의 품질을 보장하기 위해 합성된 올리고뉴클레오타이드가 예상된 염기서열을 가지고 있는지 확인하는 것이 중요하다. 이러한 경우에 분자량 정보를 제공하는 질량분석기법은 매우 유용한 분석 도구이다. 이 뉴스레터에서는 사용자 친화적인 조작성을 갖춘 inert UHPLC 시스템과 LCMS-2050 단일 사중극자 질량분석기(그림 1)를 사용하여 이론 값과 1 Da 오차 범위 내에서 올리고뉴클레오타이드의 질량을 분석하는 방법을 소개한다.



그림 1. Nexera™ XS inert와 LCMS-2050 시스템

■ 시료

70-mer의 합성 단일 가닥 DNA 10 pmol을 분석하였다.
(서열 :GGTGT CAGGCTCACGGACCACTGCACAACAATCCCAC
GACGTCGCCATTTTCTGCGATCCGGCAAGGCGA)

■ 분석조건

분석 조건은 표 1에 나타냈으며, 샘플 흡착을 줄이기 위해 Nexera XS inert UHPLC 시스템과 Shim-pack Scepter™ Claris C18-120 inert 컬럼을 사용하였다. Shim-pack Scepter Claris 컬럼은 bio-inert 코팅이 된 새롭게 개발한 컬럼 본체에 Scepter 시리즈 고정상을 충전한 inert 컬럼이다. 질량 분석을 위해 LCMS-2050 단일 사중극자 질량분석기를 사용하였다. LCMS-2050은 ESI와 APCI의 장점을 결합한 heated DUIS™ 이온 소스를 갖추고 있어 이온화를 용이하게 한다. m/z 2-2,000까지의 질량범위 분석이 가능하며 큰 분자량(MW)을 가진 올리고뉴클레오타이드 치료제를 분석하는 데 적합하다.

표 1. 분석조건

HPLC Conditions (Nexera XS inert)

Column	: Shim-pack Scepter Claris C18-120 [†] (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μm)
Flow Rate	: 0.3 mL/min
Mobile Phase A	: 95.4 mM HFIP and 7.1 mM TEA in water
Mobile Phase B	: 95.4 mM HFIP and 7.1 mM TEA in methanol
Time Program	: 5% B (0 to 2 min) - 35% B (15 min) - 80% B (16 to 17 min) - 5% B (18 to 25 min)
Column Temp.	: 50 °C
Detection	: PDA at 200 to 400 nm
Injection Volume	: 2.33 μL (10 pmol)

MS Conditions (LCMS-2050)

Ionization	: ESI/APCI (DUIS), negative mode
Interface Voltage	: -2.0 kV
Mode	: Scan (<i>m/z</i> 600 to 2000)
Nebulizing Gas Flow	: 2.0 L/min
Drying Gas Flow	: 5.0 L/min
Heating Gas Flow	: 7.0 L/min
Desolvation Temp.	: 450 °C
DL Temp.	: 200 °C

*1 P/N: 227-31210-02

■ 분석결과

그림 2는 합성 DNA의 UV (260 nm)와 TIC 크로마토그램을 보여준다. 피크는 머무를 시간 약 11분에 검출되었다.

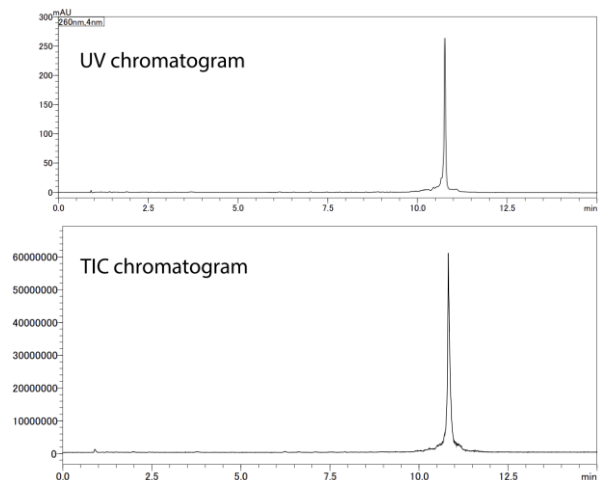


그림 2. 합성 DNA의 UV와 TIC 크로마토그램

그림 3에 머무름 시간 약 11분에 검출된 피크에 대한 질량 스펙트럼을 나타내었다. 17부터 22까지의 전하를 갖는 다중 하전 이온이 검출되었다. 질량 스펙트럼을 Deconvolution하여 분자량을 계산한 결과, 이론 분자량(21465.9)과 1 Da 오차 범위 내인 21465.4로 추정되었다(그림 4).

■ 결론

합성된 단일 가닥 DNA의 분자량을 분석하기 위해 Nexera XS inert UHPLC 시스템과 LCMS-2050 단일 사중극자 질량 분석기를 사용하였다. 일반적으로 Deconvolution 기능을 사용하여 분자량을 얻을 때, 다중 하전 이온을 많이 얻을수록 분자량 추정의 신뢰성이 높아진다. 검출된 피크의 질량 스펙트럼을 Deconvolution한 결과, 이론 값에서 1 Da 오차 범위 내에서 올리고뉴클레오타이드 치료제 주요 성분의 분자량을 추정할 수 있었다.

LCMS-2050은 넓은 질량 범위에서 빠르고 고감도의 분석을 할 수 있으며, LC 시스템과 유사한 사용자 친화적인 조작이 가능하다. 이 시스템은 올리고뉴클레오타이드 치료제의 품질 관리를 위한 유용한 분석 도구를 제공한다.

관련 응용자료

1. Simple Analysis of Impurities in Oligonucleotide Therapeutics Using a Single Quadrupole Mass Spectrometer, Application News No.01-00656-EN
2. An Oligonucleotide Impurity Analysis Workflow Using LabSolutions Insight™ Biologics Software, Application News No.01-00595A-EN

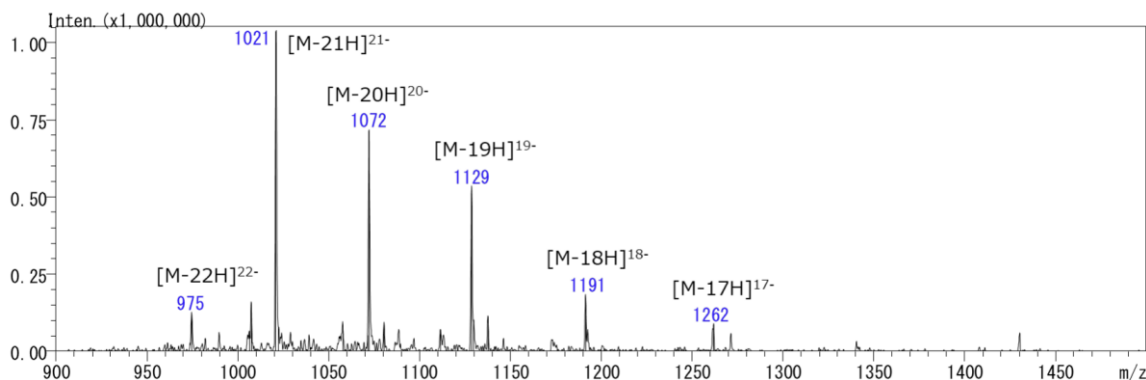


그림 3. 합성 DNA의 Mass Spectrum

	Enable	Detect	m/z	Charge	Actual	Mass	Weight	Intensity
1	<input checked="" type="checkbox"/>	Auto	1261.8500	17	16.9974	21468.57376	0.058	116658
2	<input checked="" type="checkbox"/>	Auto	1191.3500	18	18.0024	21462.43104	0.077	174175
3	<input checked="" type="checkbox"/>	Auto	1128.6500	19	19.0016	21463.48832	0.232	583305
4	<input checked="" type="checkbox"/>	Auto	1072.3500	20	19.9983	21467.14560	0.262	728457
5	<input checked="" type="checkbox"/>	Auto	1021.1500	21	21.0000	21465.30288	0.335	1025763
6	<input checked="" type="checkbox"/>	Auto	974.7500	22	21.9986	21466.66016	0.036	119888

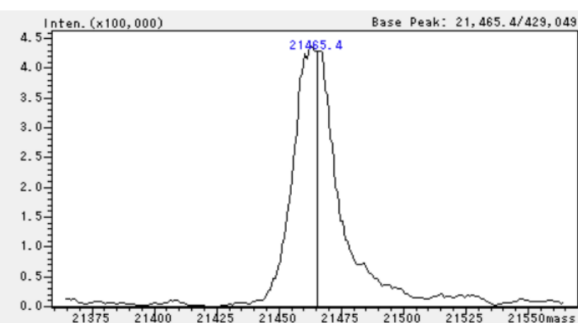


그림 4. Deconvoluted Mass Spectrum



Shimadzu Corporation
www.shimadzu.com/an/

Shimadzu Scientific Korea
www.shimadzu.co.kr

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

This publication may contain references to products that are not available in your country. Please contact us to check the availability of these products in your country.

The content of this publication shall not be reproduced, altered or sold for any commercial purpose without the written approval of Shimadzu. See <http://www.shimadzu.com/about/trademarks/index.html> for details.

Third party trademarks and trade names may be used in this publication to refer to either the entities or their products/services, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®".

Shimadzu disclaims any proprietary interest in trademarks and trade names other than its own.

The information contained herein is provided to you "as is" without warranty of any kind including without limitation warranties as to its accuracy or completeness. Shimadzu does not assume any responsibility or liability for any damage, whether direct or indirect, relating to the use of this publication. This publication is based upon the information available to Shimadzu on or before the date of publication, and subject to change without notice.