

コンプライアンス対応マルチ特性分析（MAM）の合理化されたワークフローによる BioAccord LC-MS システムの機能拡張

Nilini Ranbaduge, Ying Qing Yu

Waters Corporation

本書はアプリケーションブリーフであり、詳細な実験方法のセクションは含まれていません。

要約

ペプチド MAM 分析用の新しい種類のインフォーマティクスと組み合わせた BioAccord LC-MS システムの使用。

アプリケーションのメリット

- ルーチンの MAM ワークフローの実装における課題への対処
- MAM データの再現性および新規ピーク検出機能の実証
- 複数のバイオ医薬品特性解析プラットフォームから MAM 用に特性をインポートするプロセスの詳細な説明

はじめに

近年、臨床材質特性解析、安定性試験、QC 製品リリースなどの、製品ライフサイクルのさまざまな段階についてマルチ特性分析（MAM）を展開するための、製薬業界による協調した取組みが行われてきました。ただし、MAM の導入の成功は、システムレベルでの使いやすさ、分析法の頑健性、および分析用に導入されたシステムの信頼性などの課題によって制限されます。ペプチドの特性追跡、相対的定量、新規ピーク検出法（NPD）などのワークフローのステップも

、厳しいコンプライアンスおよび有用性の要件に適合することが期待されています。このテクノロジーブリーフでは、コンプライアンス対応 waters_connect インフォマティクスプラットフォームで動作する専用のペプチド MAM アプリケーションを装備した、BioAccord LC-MS システムの機能を拡張する新しい MAM ワークフローを紹介します。この新しいワークフローにより、組織では、pCQA（製品重要品質特性）の信頼性の高い相対的定量および潜在的な未知の不純物のペプチドレベルでの検出ができるようになります。統合されたエンドツーエンドのワークフロー設計により、ユーザーエクスペリエンス全体が、合理化された装置の動作および自動 MAM データ処理によって向上し、その一方で規制下ラボでも非規制下ラボでも統合されたデータ取り込み、解析、レポート作成が可能になります。

結果および考察

SmartMS テクノロジーを初めて搭載した製品である BioAccord LC-MS システムは、コンプライアンス対応 waters_connect インフォマティクスプラットフォームで動作します（図 1）。waters_connect プラットホームは、インタクト質量分析から遊離糖鎖プロファイリング、ペプチド特性の解析とモニタリングまで、バイオ医薬品分析用の複数の統合されたアプリケーションワークフローに対応しています。図 1 に、ペプチド MAM 分析のワークフローステップが、LC-MS 分析法開発からペプチド特性のモニタリングおよび定量のための分析の実行まで示されています。ペプチド MAM アプリケーションは、慎重に設計され、システムスータビリティテスト（SST）注入から、ブランク、コントロール/レファレンス、分析サンプルの解析までのデータ解析の課題に対処します。SST により、分析ワークフローを実施するための LC-MS システムの準備状態が確保されます。このアプリケーションにより、さらに対象分析種のペプチド特性が追跡され、各サンプルの標的を定めた pCQA の相対 % 修飾のレベルが報告されます。ユーザーが定義できるスレッショールドをシステムスータビリティテストデータおよびペプチドモニタリングデータの両方に適用することができ、それらの事前定義した限界を超える特性や分析に明確にフラグ付けできます。純度評価では、新規ピーク検出アルゴリズムにより、分析サンプル中で、レファレンスと比較して大幅に変化している新しい種類の不純物やイオンが同定されます。

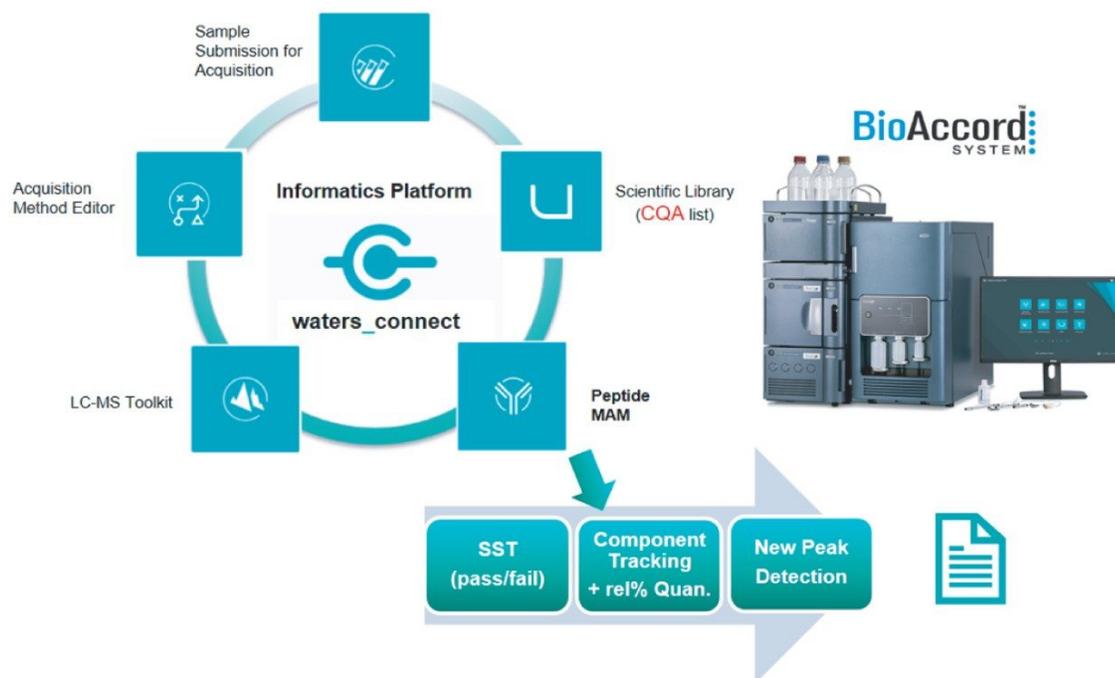


図 1. BioAccord システムは、自動キャリブレーション、チューニング、インテリジェント装置正常性ステータスマonitoringを使用して設計された、設置面積が小さいシステムです。ペプチドマッピングや MAM などのさまざまな分析ワークフローの、試験指示、データ取り込み、解析、レポート作成を自動化するように設計されている複数の内蔵アプリケーションが含まれている、waters_connect インフォマティクスプラットフォームによって制御されます。統合されたシステムにより、展開しやすく、広範囲のユーザーがアクセスできる、エンドツーエンドのコンプライアンス対応ワークフローが提供されます。

MAM プラットホームソリューションの再現性

組織全体に MAM を展開できるかどうかは、システム内だけでなく、異なるオペレーターが操作するシステムにわたって再現可能なデータを生成する能力によって決まります。ペプチド MAM ワークフローの実行に関して、BioAccord システムと waters_connect プラットホームの性能を一緒に評価するために、次の一連のシステムスータビリティペプチドについて分析を行いました：1a) コントロールサンプル（NISTmAb レファレンスのトリプシン消化物）、1b) 定量的なペプチド混合物を添加したコントロールサンプル、2a) 過酷試験を実施したサンプル（熱および pH ストレスをかけた NISTmAb レファレンス標準試料およびトリプシン消化した NISTmAb レファレンス標準試料）、2b) 定量的なペプチド混合物を添加し、過酷試験を実施したサンプル。2つの別個の BioAccord システムで、MAM 分析を2週間～3か月の間を空けて繰り返しました。図 2 に2つのシステムの結果を示しています。モニターした % pCQA に対する相対標準偏差 (% RSD) が 6% 未満というシステム間およびシステム内の再現性が得られており、MAM 試験は複数の

システムわたって全体的に再現できることを示唆しています。

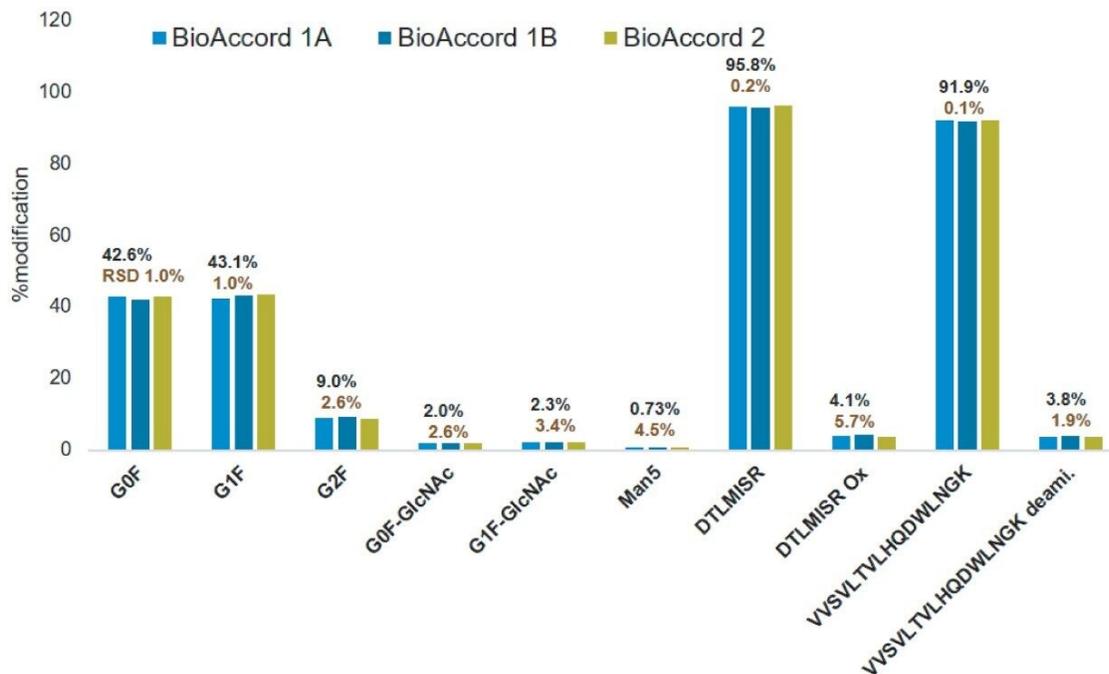


図 2. 過酷試験を実施した *NISTmAb* トリプシン消化物サンプル ($pH\ 8.0$ 、 $40^{\circ}C$ で 8 日間インキュベート) のうち、選択した 10 種のペプチドの % 修飾。データは 2 台の *BioAccord* システム (*BioAccord 1* および 2) で取り込みました。*BioAccord 1A* および 1B のデータセットは、同じシステムで 3 週間の間を空けて収集しました。3 か月後に *MAM* 分析法を *BioAccord 1* から *BioAccord 2* に移管し、同じサンプルを再分析しました。データは *waters_connect* ペプチド *MAM* アプリケーションで別個に解析し、6 種の *N* 結合糖ペプチドの % 修飾レベル、*DTLMISR* の酸化、*VVSVLTVLHQDWLNGK* ペプチドの脱アミド化を測定しました。

新規ピーク検出

バイオ医薬品の純度分析にこの分析法を使用する際、新規ピーク検出 (NPD) はペプチド *MAM* 分析の必要不可欠な部分です。NPD 解析によって、分析サンプル中の、レファレンスと比較して大幅に変化しているまたは変化した新規の不純物にフラグが付けられます。新規ピーク検出の基準は、多くの場合ラボごとや分子ごとで変わります。このため、NPD のデータ解析には、スレッショールドパラメーターを設定するためのユーザー定義設定における柔軟性が必要です。データ解析の後、パラメーターをさらに変更し、新しいピークをフィルター処理して潜在的な偽陽性を除くことができます。新しく導入された % 同位体マッチ基準フィルターにより、これらの偽陽性検出が大幅に低減し、潜在的

な不純物としてフラグ付けされたピークの信頼度が高くなります（図 3）。

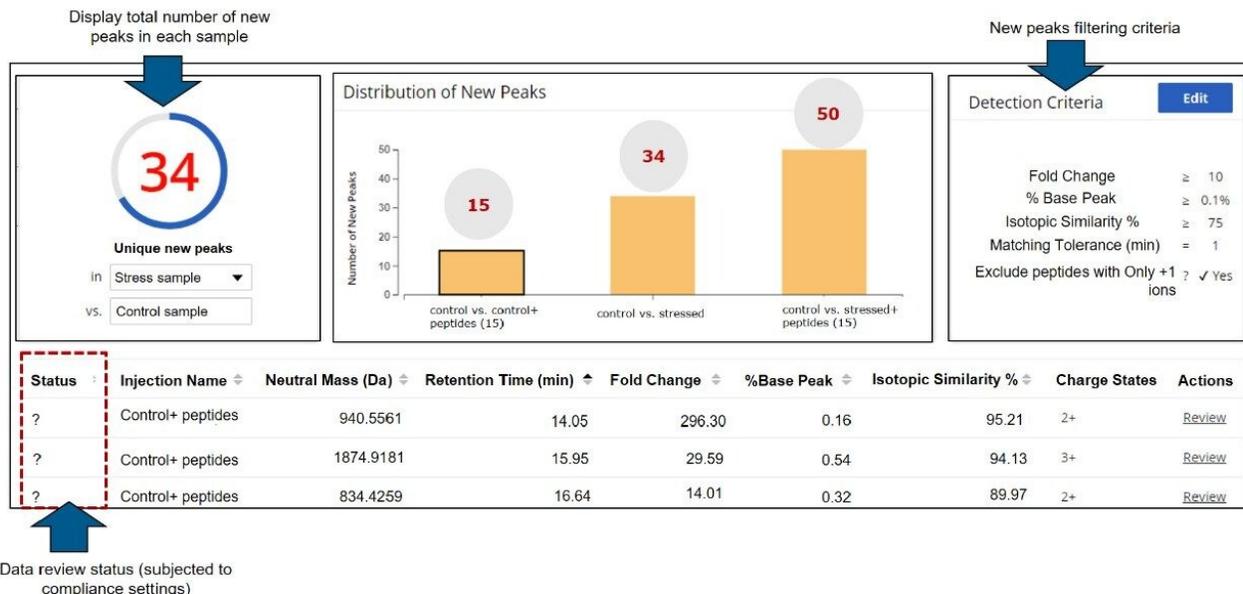


Figure 3. The new peak detection (NPD) results for NISTmAb control (NPD reference), control spiked in with 15 quantitative peptide mix, stressed sample and stressed sample spiked in with and 15 quantitative peptide mix digests are shown here. The detection criteria selected included a fold change of greater than 10-fold, %base peaks at 0.1% level, isotopic similarity at 75% (calculated compared to a theoretical model) with a retention time window of 1 min and excluding +1 charge states. The peptide MAM application allows manual data review capability of new peaks with data review status (accepted ✓, not reviewed?). The accept/reject new peaks is subject to permission-based access set up by the system administrator.

規制および非規制環境での、MAM 分析用ペプチド特性リストの管理

ペプチドマッピング特性解析試験で定義される特性の追跡とモニタリングの pCQA は、「追加」または「インポート」機能によってペプチド MAM 解析法に導入することができます。ペプチドのモニタリングリストを統合する場合、「インポート」機能を用いると、最も合理化されたプロセスになります。それは、pCQA を、特性解析の実行で読み込んだ waters_connect サイエンスライブラリーから MAM 解析法に直接インポートできるためです。この統合されたプロセスは、データのトレーサビリティおよび規制対象の組織からの潜在的な遵守期待事項にも対処します。また、複数のインフォマティクスプラットフォームまたはベンダーシステムからの特性リストのインポートをサポートするために、.csv インポートファイル機能を使用して CQA ライブラリーをサイエンスライブラリーに読み込むこともできます（図 4）。

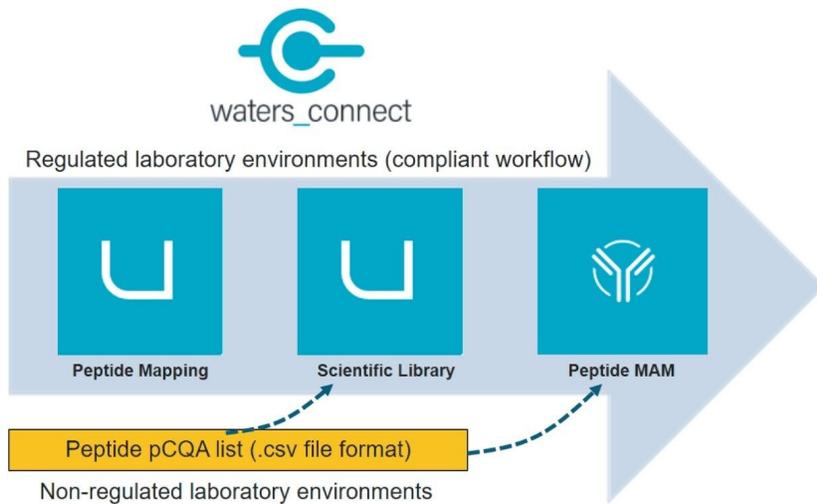


図 4. ペプチド MAM アプリケーションにより、2つのルートでペプチド特性リストを解析メソッドにインポートできます。規制対応ラボ環境でのペプチドマッピング特性解析試験時に特定された pCQA は、waters_connect サイエンスライブラリーに保管・維持され、ファイルを移管することなしにペプチド MAM 分析法に直接インポートできます。非規制ラボ環境では、特性リストを MassLynx からインポートする場合、またはインフォマティクスプラットフォームを他のベンダーからインポートする場合、.CSV を使用してペプチド pCQA をインポートし、MAM 分析法を構築することができます。

結論

新規の waters_connect インフォマティクスプラットフォームと組み合わせた BioAccord LC-MS システムの機能を拡張する新しいペプチド MAM ワークフローの主要な要素を説明しました。特性解析およびモニタリング用の複数のアプリケーションが統合されている革新的なプラットフォーム設計により、SmartMS を使用する BioAccord 装置システムの有用性が補完されます。このワークフローにより、結果の処理時間がさらに短縮され、より迅速で適切な意思決定のための高度の情報内容へのより広いアクセスが可能になります。

ソリューション提供製品

コンプライアンス対応マルチ特性分析 (MAM) の合理化されたワークフローによる BioAccord LC-MS システムの機能拡張

バイオ医薬品のための BioAccord LC-MS システム <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135005818>>

720006963JA、2020年7月



© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[利用規約](#) [プライバシー](#) [商標](#) [サイトマップ](#) [キャリア](#) [クッキー](#) [クッキー環境設定](#)