

## 애질런트 고분해능 LC/(Q-)TOF 질량 분석기를 통한 올리고뉴클레오타이드 및 불순물 분석의 통합 워크플로

표적 올리고뉴클레오타이드와 제품 관련 불순물의 분리, 특성 규명 및 상대 정량

### 저자

David L. Wong, Peter Rye  
Agilent Technologies, Inc.



### 서론

올리고뉴클레오타이드(siRNA, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 압타머 및 CRISPR 가이드 포함)는 최근 몇 년 사이에 빠른 성장세를 보이고 있습니다. 이러한 후보 물질의 개발에 따라, 이것의 특성을 규명하기 위한 견고한 분석법과 사용하기 쉬운 데이터 분석 워크플로에 대한 필요성이 증가하고 있습니다. 또한 제품 관련 불순물의 특성 규명은 새로운 바이오 치료제 개발에서 중요한 과제입니다. 일반적인 불순물에는 phosphorothioate에서 phosphodiester로의 전환, 절단, 확장 및 염기가 소실된 올리고뉴클레오타이드가 포함됩니다.<sup>1,2</sup>

종종 수없이 많으면서도 매우 낮은 존재비로 존재하며, 서로 결합되어 발견되는 불순물과 표적 올리고뉴클레오타이드의 특성 규명을 위해 LC/MS 분석과 같은 첨단 분석법의 도입은 필수적입니다. 따라서 이러한 프로파일링 작업을 지원하고 자동화하는 소프트웨어는 매우 큰 가치를 갖습니다.

몇몇 장애물을 극복하고 표적 및 그것의 불순물 식별에 활용할 수 있도록 애질런트는 FBF(Find-by-Formula) 및 최대 엔트로피 알고리즘을 지원하는 새롭고 자동화된 Agilent **MassHunter BioConfirm** 소프트웨어 버전 12.0을 개발했습니다. 그림 2에 표적 및 불순물(TPI) 데이터 분석 워크플로의 세부 사항이 나와 있습니다.

## 실험

### 재료 및 분석법

Triethylamine(TEA) 및 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol(HFIP)은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입했습니다. 메탄올(InfinityLab Ultrapure LC/MS 등급, 품번 5191-4497)은 Agilent Technologies에서 구입했습니다.

올리고뉴클레오타이드(DNA) 래더 표준물질(품번 5190-9029), 올리고뉴클레오타이드(RNA) 분리 표준물질(품번 5190-9028) 및 RNA 표준물질(100-mer)은 모두 애질런트에서 구입했습니다.

21-mer(CAG TCG ATT GTA CTG TAC TTA) 및 40-mer(CCA CGA CCA AGT GAC AGC AAT GAA TCG AGT CGA GAT CCA T) 올리고뉴클레오타이드는 표준 탈염 정제 상태로 Integrated DNA Technologies, Inc. (Coralville, IA, USA)에서 구입했습니다.

### 시료 전처리

- 올리고뉴클레오타이드 래더 표준물질(DNA)과 분리 표준물질(RNA) 모두 사용 전에 1mL의 탈이온수에 용해했습니다. 각각의 최종 농도는 2pmol/μL였습니다
- 100-mer RNA 표준 시료의 농도는 0.4mg/mL였습니다
- 21-mer 및 40-mer 올리고뉴클레오타이드 시료도 추가 정제 없이 1mL의 탈이온수로 용해했습니다. 이어서 시료를 원액에서 0.50mg/mL로 희석했습니다



그림 1. 올리고뉴클레오타이드 분석 구성요소 - 표적 및 불순물(TPI) 워크플로.

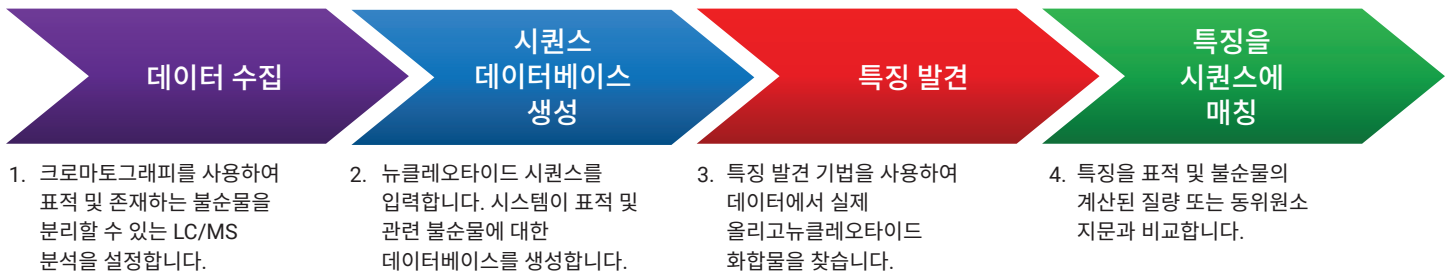


그림 2. Agilent MassHunter BioConfirm 소프트웨어 버전 12.0에서의 표적 및 불순물(TPI) 데이터 분석 워크플로.

## 기기

- 다음 구성의 Agilent 1290 Infinity II LC:
  - Agilent 1290 Infinity II 고속 펌프 (G7120A)
  - Agilent 1290 Infinity II Multisampler(G7167B) 및 Agilent Infinity II 샘플 쿨러(옵션 #100)
  - Agilent 1290 Infinity II 다중 컬럼 온도 조절 장치(G7116B)
- Agilent **6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF**

## LC/MS 분석

Dual Agilent Jet Stream 소스를 장착한 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF 시스템을 Agilent 1290 Infinity II LC 시스템과 함께 사용하여 LC/MS 분석을 진행했습니다. Agilent MassHunter Acquisition Workstation 소프트웨어(버전 11.0)가 사용되었으며, 규제 준수 기능이 활성화되었습니다. LC 분리는 Agilent AdvanceBio Oligonucleotide 컬럼 (2.1 × 50mm, 2.7µm, 품번 659750-702)을 사용하여 수행했습니다.

표 1과 2에 사용한 LC/MS 파라미터가 정리되어 있습니다.

## 데이터 처리

올리고뉴클레오타이드 표준물질과 합성 올리고뉴클레오타이드 시료의 모든 LC/MS 데이터 파일은 Agilent MassHunter BioConfirm 소프트웨어 버전 12.0을 사용하여 처리했습니다.

표 1. 액체 크로마토그래피 파라미터.

Agilent 1290 Infinity II LC	
컬럼	AdvanceBio Oligonucleotide, 2.1 × 50mm, 2.7µm(품번 659750-702)
온도 조절 장치	4°C
용매 A	15mM TEA 및 400mM HFIP 수용액
용매 B	메탄올
그라디언트	0 ~ 1분, 10% B 1 ~ 10분, 10 ~ 40% B 10 ~ 11분, 40 ~ 95% B
컬럼 온도	65°C
유속	0.5mL/분
주입량	5.0µL

표 2. MS 데이터 수집 파라미터.

Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF 시스템	
파라미터	설정
소스	Dual AJS
극성	음이온화
가스 온도	275°C
가스 유속	12L/분
Nebulizer	35psi
Sheath 가스 온도	350°C
Sheath 가스 유속	12L/분
VCap	3,500V
노즐 전압	2,000V
Fragmentor	175V
Skimmer	65V
수집 모드	HiRes(4GHz)
질량 범위	300~3,200m/z
수집 속도	4스펙트럼/초

## 결과 및 토의

올리고뉴클레오타이드 시료에 대한 특성 규명을 포괄적으로 수행하는 과정은 표적 올리고뉴클레오타이드를 프로파일링하는 것 뿐만 아니라 관련된 모든 불순물(유연물질)을 식별하고 상대 정량도 수행해야 하기 때문에 매우 어렵고 시간이 많이 소요될 수 있습니다.

### 다양한 올리고뉴클레오타이드 표준물질의 HPLC 분리

연구를 시작하기 위해 우수한 크로마토그래피 분리능과 고분해능 accurate-mass(HRAM) 검출 기능을 갖춘 LC/MS 기반 분석법을 최적화했습니다. 그림 3은 애질런트의 두 가지

올리고뉴클레오타이드 표준물질, 즉 DNA 래더 표준물질 및 RNA 분리 표준물질에 대한 LC/MS 분석을 보여줍니다. 이온 쌍 역상 크로마토그래피를 사용하여 뛰어난 크로마토그래피 분리를 달성했습니다. 불순물(작은 피크) 또한 주요 피크로부터 분리 및 검출해 냈습니다.

### 합성 올리고뉴클레오타이드의 LC/MS 분석

동일한 분석법을 사용하여 매우 높은 감도의 질량 분해 MS 데이터를 생성했습니다. 그림 4는 합성 올리고뉴클레오타이드 (40-mer) 시료의 LC/MS 결과를 보여줍니다. 0.5mL/분의 유속으로 11분 그레디언트를 사용하여 약 2.5µg의 시료를 컬럼에 주입했습니다. 40-mer

올리고뉴클레오타이드의 전하 상태 분포는  $m/z$  600 ~ 3,000(-5 ~ -19)의 질량 범위에 있었습니다. 그림 4B에 삽입되어 있는 확대 보기는 -13가 전하 상태의 올리고뉴클레오타이드에 대한 우수한 MS 동위원소 분해능을 보여줍니다.

Q-TOF 소스 조건이 최적화되어 질량 오차가 낮은(3.6ppm) 우수한 품질의 MS 스펙트럼이 얻어졌습니다(표 3). 또한, 낮은 존재비의 절단 화학종(~12,000Da) 및 확장 화학종(~12,600Da)이 검출되었습니다(그림 4C).

그림 5에 나타낸 바와 같이 100-mer RNA 표준 시료에서 유사한 고품질 MS 결과를 얻었습니다. 마찬가지로, 우수한 질량 정확도(9.96ppm)가 관측되었습니다.

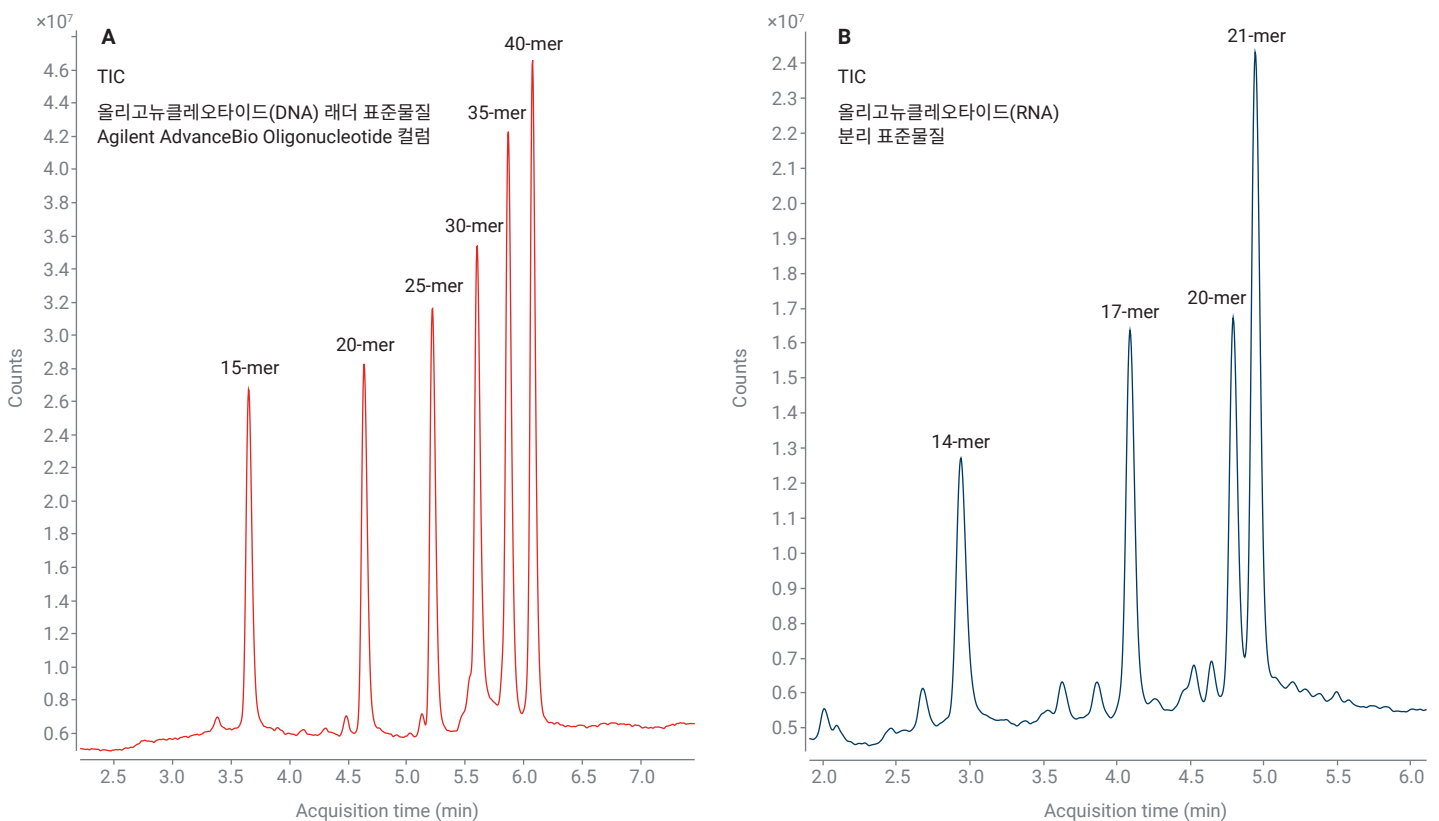


그림 3. 애질런트 올리고뉴클레오타이드 래더 표준물질(DNA) 및 애질런트 분리 표준물질(RNA)의 LC/MS 분석.

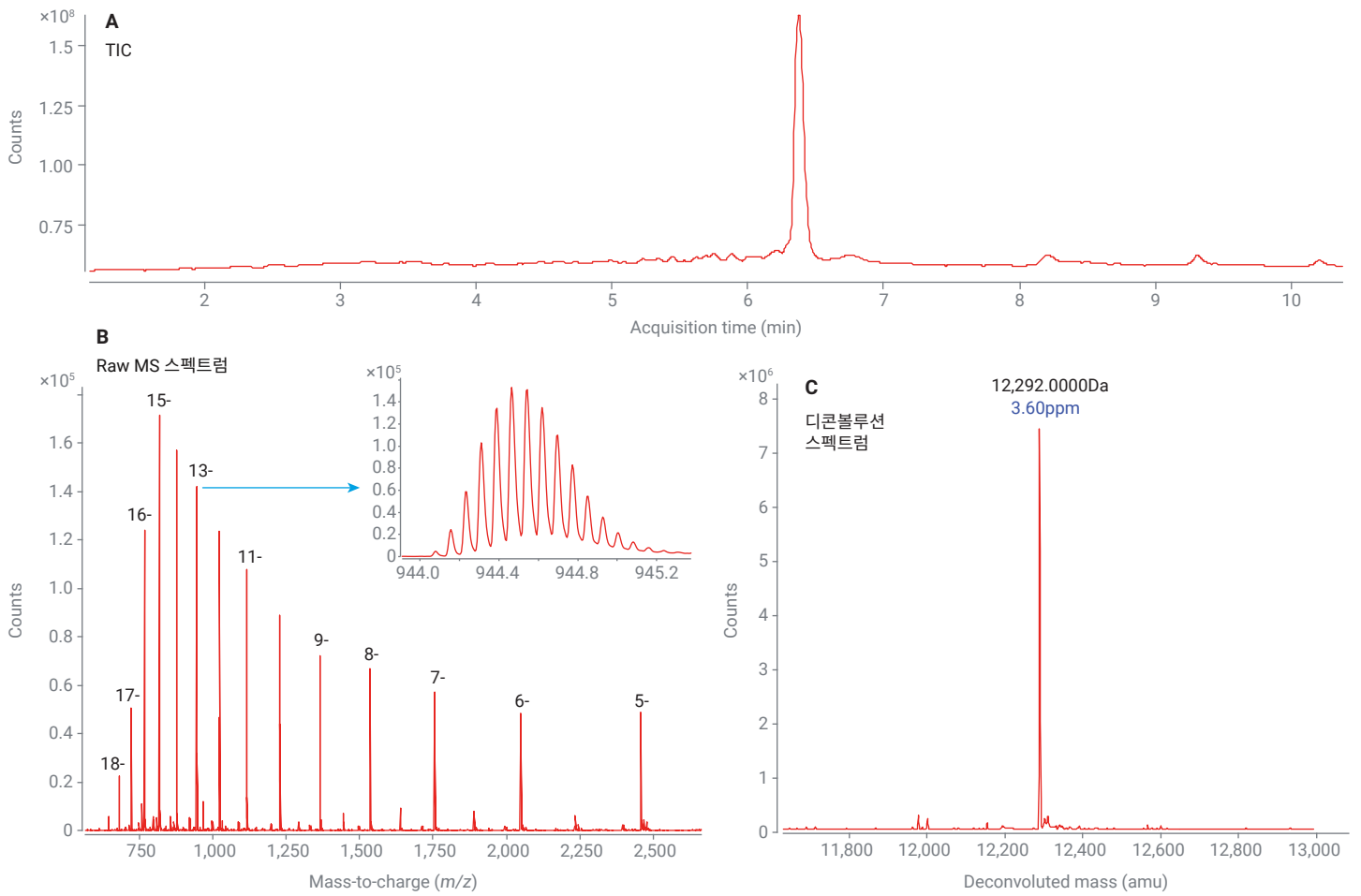


그림 4. 합성 올리고뉴클레오타이드(40-mer)의 LC/MS 분석. (A) 40-mer 올리고뉴클레오타이드의 총 이온 크로마토그래피(TIC). (B) 40-mer의 Raw MS 스펙트럼. (C) 40-mer의 디콘볼루션 MS 스펙트럼.

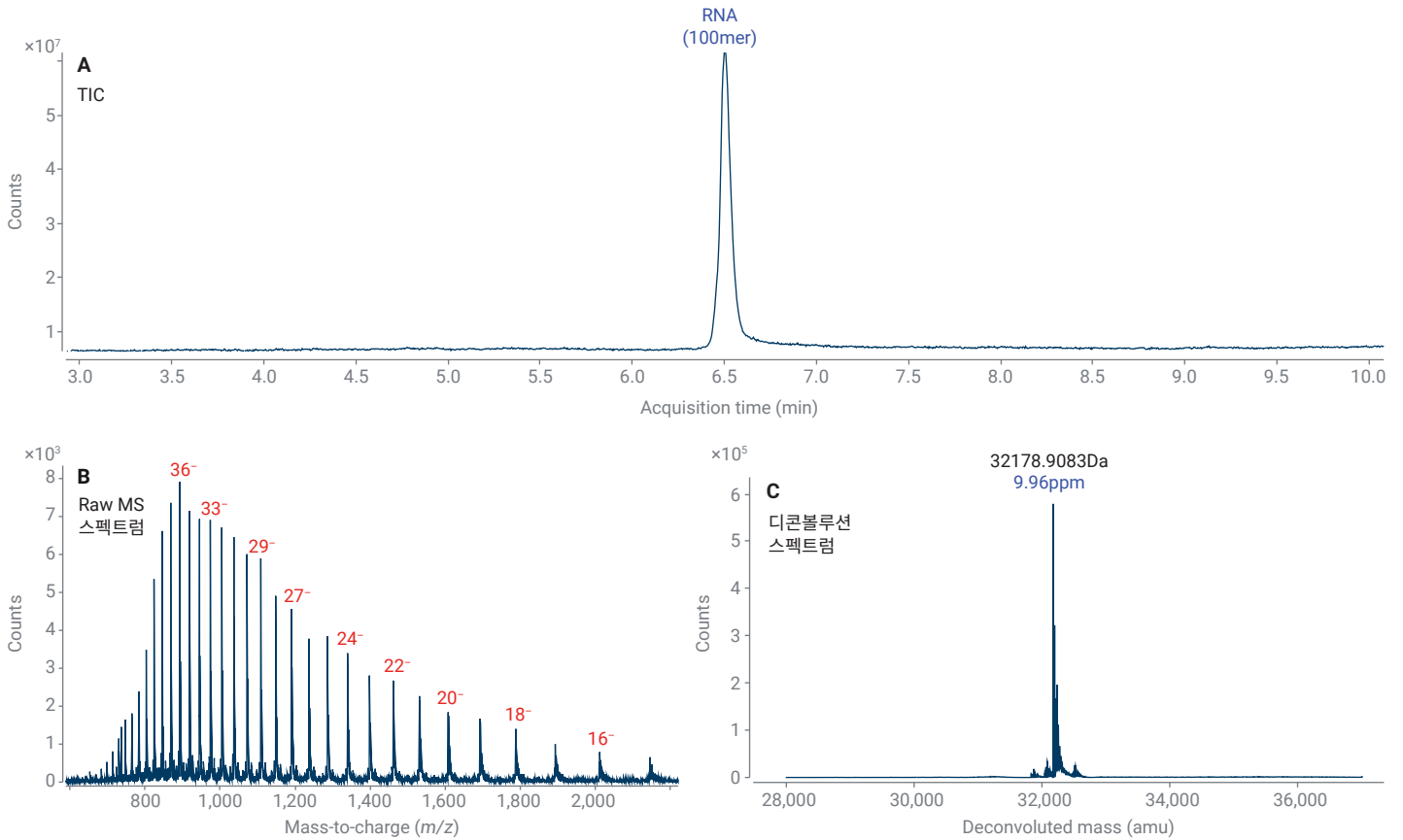


그림 5. 합성 올리고뉴클레오타이드(RNA, 100-mer)의 LC/MS 분석.

표 3. 분석된 올리고뉴클레오타이드 목록. 녹색으로 표시한 계산된 질량은 단일 동위원소 질량(FBF를 사용한 매칭)이고, 파란색으로 표시된 숫자는 평균 질량(최대 엔트로피 디콘볼루션을 사용한 매칭)입니다. 전반적으로, 분석된 모든 올리고뉴클레오타이드 시료에서 우수한 질량 정확도가 얻어졌습니다.

올리고뉴클레오타이드	올리고 길이	시퀀스	계산된 질량(Da)	측정된 질량(Da)	질량 정확도 (ppm)
올리고뉴클레오타이드 (DNA) 래더 표준물질	15	TTTTT TTTTT TTTTT	4,498.7348	4,498.7319	-0.64
	20	TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT	6,018.9650	6,018.9635	-0.25
	25	TTTTT TTTTT TTTTTTTTTT TTTTT	7,539.1952	7,539.1989	0.50
	30	TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT	9,063.8431	9,063.7988	-4.89
	35	TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT	10,584.8111	10,584.8065	-0.43
	40	TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT TTTTT	12,105.7790	12,105.8295	4.17
올리고뉴클레오타이드 (RNA) 분리 표준물질	14	rCrArCrUrGrArArUrArCrCrArArU	4,395.6479	4,395.6429	-1.14
	17	rUrCrArCrArCrUrGrArArUrArCrCrArArU	5,335.7670	5,335.7623	-0.88
	20	rUrCrArUrCrArCrArCrUrGrArArUrArCrCrArArU	6,275.8861	6,275.8800	-0.97
	21	rGrUrCrArUrCrArCrArCrUrGrArArUrArCrCrArArU	6,620.9335	6,620.9263	-1.09
DNA-21	21	CAGTCGATTGACTGTACTTA	6,408.0961	6,408.0952	-0.14
DNA-40	40	CCACGACCAAGTGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT	12,291.9558	12,292.0000	3.60
RNA 표준물질(Long)	100	AACACCACCAUACAGUGCAGGUUUUAGAGCUAGAAAUA GCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAA AAGUGGCACCGAGUCGGUGUUU	32,178.5878	32,178.9083	9.96

## 표적 및 불순물(TPI) 데이터 분석 워크플로

좋은 MS 결과를 얻는 것도 중요하지만 결과를 해석하는 강력한 소프트웨어 프로그램을 갖추는 것 또한 마찬가지로 필수적입니다. 애질런트는 존재하는 화학종의 식별을 위해 Find-by-Formula 및 최대 엔트로피 알고리즘을 모두 지원하는, 새롭고 자동화된 MassHunter BioConfirm 12.0 소프트웨어를 개발했습니다. 이러한 표적 및 불순물(TPI) 워크플로는 MS/MS 데이터를 사용하는 시퀀스 확인 워크플로와 함께 BioConfirm 12.0에서 개발되었습니다. 이 응용 자료는 TPI 워크플로의 고유한 특징을 보여줍니다. 시퀀싱 워크플로는 별도의 응용 자료에 설명되어 있습니다.

BioConfirm 12.0의 TPI 워크플로는 올리고뉴클레오타이드 MS 데이터를 사용하여 표적 올리고뉴클레오타이드 및 관련 불순물을 프로파일링(즉, 식별 및 상대 정량)합니다. 그림 6에 나타난 TPI 워크플로의 사용자 인터페이스에서 사용자는 데이터 처리를 위한 표적 올리고 시퀀스, 잠재적 변형 및 매칭 규칙(5' 또는 3' 절단, 삭제 또는 분할)을 정의합니다. 식별된 표적 및 해당 올리고뉴클레오타이드 불순물을 포함한 상세 결과는 복수의 창/표 형식으로 나타낼 수 있습니다.

### TPI 워크플로의 두 가지 옵션

TPI 워크플로는 FBF(표적화된 접근 방식) 또는 최대 엔트로피 디콘볼루션(비표적화된 접근 방식)을 사용하여 실행할 수 있으며, Workflow Transition Mass 함수에 의해 각 시료에 사용할 알고리즘이 결정됩니다.

시료 시퀀스의 질량이 Workflow Transition Mass보다 작으면 FBF가 실행됩니다. 시료 시퀀스의 질량이 Workflow Transition Mass보다 크거나 같으면 최대 엔트로피 디콘볼루션이 실행됩니다. 이 사용자 정의 값은 MS 기기의 분해능, 표적 및 불순물의 질량, 표적 분석과 비표적 분석에 대한 선호도, 질량 정확도 요구사항을 비롯한 여러 요인을 고려하여 결정할 수 있습니다.

표 3은 다양한 원형(intact) 올리고뉴클레오타이드 시료의 LC/MS 분석 요약으로, 측정된 질량 및 질량 정확도를 함께 보여줍니다. 30-mer보다 짧은 올리고뉴클레오타이드 시퀀스의 대부분이 FBF 알고리즘을 사용하여 sub-ppm의 질량 정확도를 얻었습니다. 더 큰 올리고 시료의 경우에도 최대 엔트로피 알고리즘 실행을 통해 낮은 ppm 수준의 질량 오차를 얻었습니다.

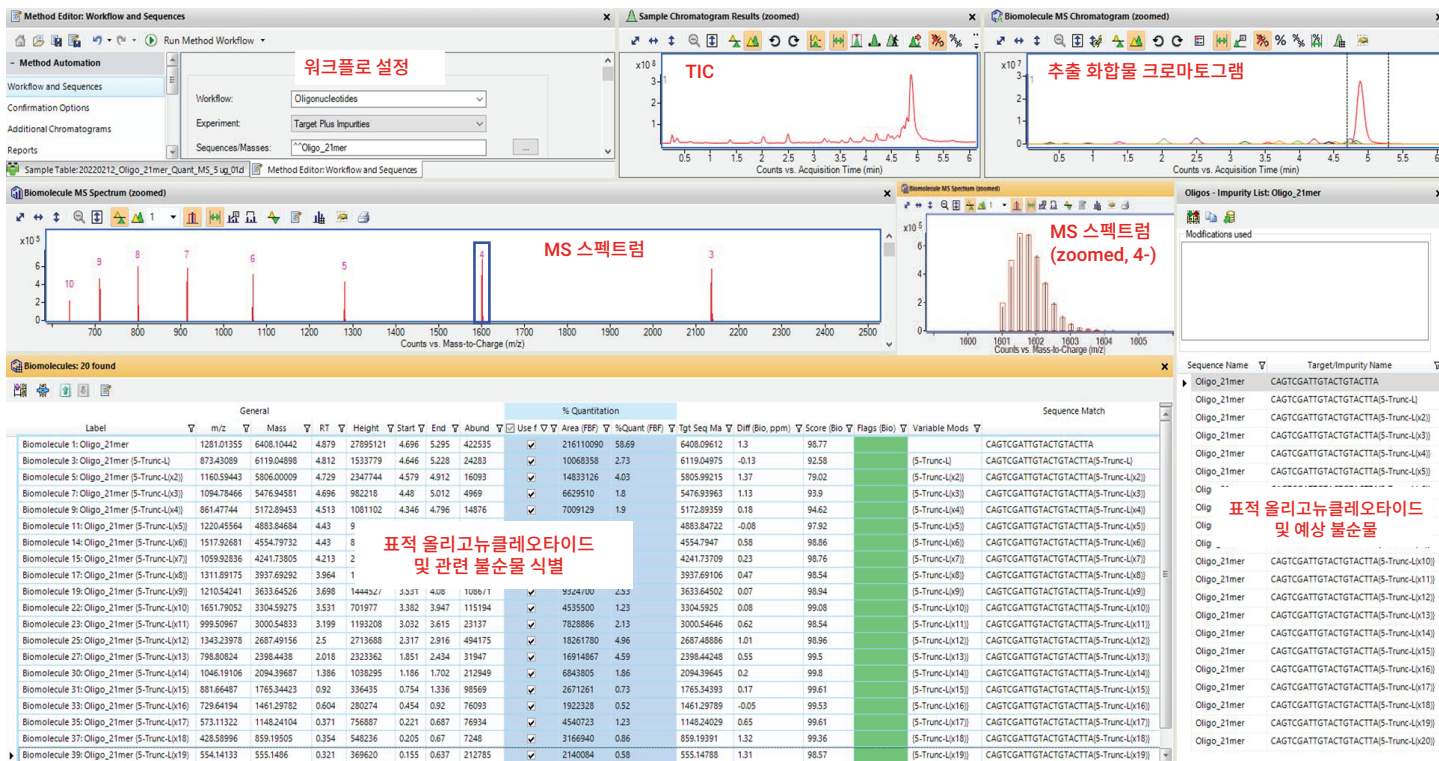


그림 6. Agilent BioConfirm 소프트웨어 버전 12.0 개요, 표적 및 불순물(TPI) 워크플로 사용 시.

## 올리고뉴클레오타이드 불순물 분석

올리고뉴클레오타이드 불순물 분석은 합성 올리고뉴클레오타이드의 제품 관련 불순물 특성을 규명하기 위한 중요한 작업입니다. 올리고뉴클레오타이드 합성 시 불안정한 화학적 커플링 효율성으로 인해 절단, 추가 및 염기 소실 올리고뉴클레오타이드와 같은 많은 유형의 불순물이 보고되어 왔습니다.<sup>2</sup> 모든 제품 관련 불순물에 대한 포괄적인 프로파일을 유지하는 데는 분석적 어려움이 따릅니다. 낮은 농도의 불순물을 검출하려면 크로마토그래피적 분리와 우수한 MS 감도가 요구됩니다.

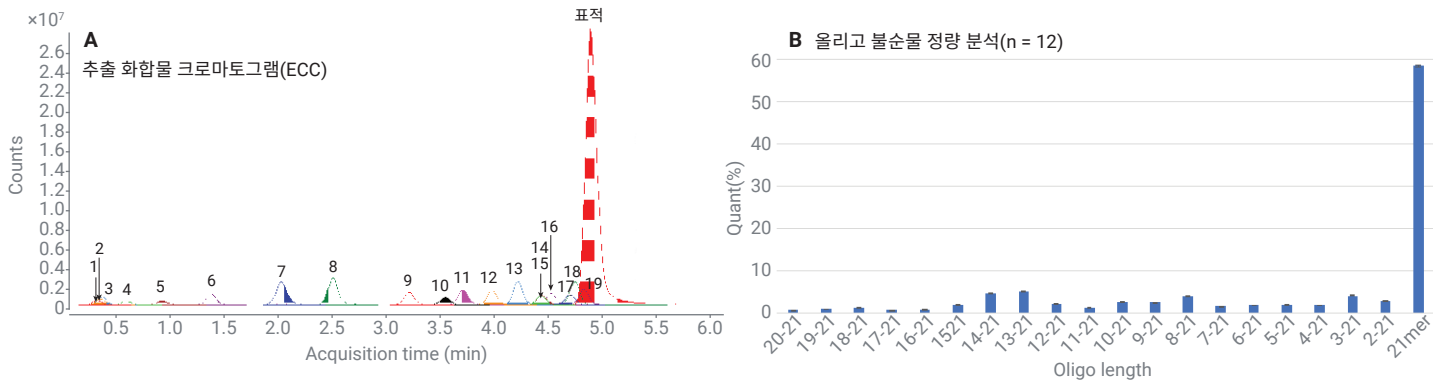
이 연구에서는 전체 길이의 올리고뉴클레오타이드 표적과 그 불순물의 특성을 규명하기 위한 신속한 LC/MS 분석법을 개발했습니다. 그림 7은 FBF를 사용하여 결정된 21-mer 합성 올리고뉴클레오타이드 및 관련 불순물 세트에 대한 LC/MS 프로파일을 보여줍니다.

이 21-mer의 5'-절단 불순물 대부분이 11분의 짧은 LC 그레디언트로 잘 분리되었습니다. 실제로, 이들 불순물과 표적은 6분 이내에 용리되었습니다(그림 7A). BioConfirm 12.0 Find-by-Formula 알고리즘을 사용한 데이터 분석은 그림 7B와 같이 정확한 단일 동위원소 질량과 모든 표적 불순물에 대한 상대 정량 결과를 제공했습니다. 이 21-mer 합성 올리고뉴클레오타이드 시료는 초기 탈염 처리 후 더 이상 정제하지 않았지만, 표적 올리고뉴클레오타이드의 거의 모든 가능한 5'-절단 불순물이 상대 정량에서 0.5% 미만까지 확인되었습니다.

표 4에는 검출 표적이 된 모든 19개 올리고뉴클레오타이드 불순물이 우수한 디콘볼루션 질량 정확도(대부분 sub-ppm 수준)와 상대 정량 재현성을 보인 결과를 요약했습니다. 링커와 연결된 5'-절단 또는 링커가 있거나 없는 3'-절단과 같은 다른 많은 유형의 표적 관련 불순물 또한 매우 낮은 존재비 수준으로 검출되었습니다(데이터는 표시되지 않음).

40-mer 올리고뉴클레오타이드에서 일련의 5' 절단을 식별하기 위해 최대 엔트로피 디콘볼루션이 사용되었습니다. 40-mer 올리고뉴클레오타이드 시료의 5'-절단 불순물 대다수가 확인되었으며, 상위 10개 불순물(및 40-mer 표적)이 그림 8에 나타나 있습니다. 최대 엔트로피 접근 방법을 이용한 상대 정량 분석의 상세 정보는 표 5에 정리되어 있습니다.

FBF 결과와 유사하게, 더 큰 올리고뉴클레오타이드 분자(40-mer)에 대해서 높은 질량 정확도와 정확한 상대 정량 결과가 얻어졌습니다. 해당 결과는 또한 낮은 농도의 올리고뉴클레오타이드 불순물 검출에서의 탁월한 감도를 보여줍니다. 40-mer 올리고뉴클레오타이드 시료의 상위 15개 불순물 사이에서 0.65%까지 낮은 상대 정량 결과를 얻었습니다(표 5). 그림에 나타난 바와 같이, 다른 많은 유형의 표적 관련 불순물도 매우 낮은 존재비 수준으로 검출되었습니다(데이터는 표시되지 않음).



**그림 7.** Agilent BioConfirm 소프트웨어의 Find-by-Formula 알고리즘에 의한 합성 올리고뉴클레오타이드(21-mer) 및 표적 불순물의 상대 정량 분석. (A) 21-mer 올리고뉴클레오타이드 및 그 불순물의 추출 화합물 크로마토그래피. (B) 21-mer 올리고뉴클레오타이드 및 그 불순물의 상대 정량 분석 결과. 총 12번의 시료 주입에 걸쳐 매우 낮은 RSD(<3%)와 탁월한 재현성을 달성했습니다.

**표 4.** 21-mer 합성 올리고뉴클레오타이드의 19가지 올리고뉴클레오타이드 불순물에 대한 불순물 분석 요약(n=12).

불순물 피크	올리고 길이	RT (분)	계산된 단일 질량	측정된 질량	평균 질량 정확도 (ppm)(n = 12)	평균 % 정량 (n = 12)	표준 편차	RSD (%)	시퀀스
1	20-21	0.321	555.1479	555.1486	1.21	0.57	0.01	2.39	TpA
2	19-21	0.354	859.1939	859.1950	1.09	0.89	0.02	1.76	TrTpA
3	18-21	0.371	1,148.2403	1,148.2410	0.81	1.28	0.02	1.44	CpTrTpA
4	17-21	0.604	1,461.2979	1,461.2978	0.15	0.53	0.01	1.18	ApCpTrTpA
5	16-21	0.920	1,765.3439	1,765.3442	0.57	0.72	0.01	1.72	TrApCpTrTpA
6	15-21	1.386	2,094.3964	2,094.3969	0.65	1.86	0.01	0.66	GpTrApCpTrTpA
7	14-21	2.018	2,398.4425	2,398.4438	0.69	4.61	0.04	0.91	TrGpTrApCpTrTpA
8	13-21	2.500	2,687.4889	2,687.4916	0.73	4.98	0.04	0.72	CpTrGpTrApCpTrTpA
9	12-21	3.199	3,000.5465	3,000.5483	0.33	2.14	0.02	0.75	ApCpTrGpTrApCpTrTpA
10	11-21	3.531	3,304.5925	3,304.5928	0.04	1.23	0.01	1.05	TrApCpTrGpTrApCpTrTpA
11	10-21	3.698	3,633.6450	3,633.6453	0.21	2.55	0.02	0.93	GpTrApCpTrGpTrApCpTrTpA
12	9-21	3.964	3,937.6911	3,937.6929	0.15	2.45	0.02	0.76	TrGpTrApCpTrGpTrApCpTrTpA
13	8-21	4.213	4,241.7371	4,241.7380	0.47	3.97	0.03	0.70	TrTpGpTrApCpTrGpTrApCpTrTpA
14	7-21	4.430	4,554.7947	4,554.7973	0.33	1.49	0.01	0.97	ApTrTpGpTrApCpTrGpTrApCpTrTpA
15	6-21	4.430	4,883.8472	4,883.8468	-0.23	1.74	0.01	0.85	GpApTrTpGpTrApCpTrGpTrApCpTrTpA
16	5-21	4.513	5,172.8936	5,172.8945	0.05	1.91	0.02	0.80	CpGpApTrTpGpTrApCpTrGpTrApCpTrTpA
17	4-21	4.696	5,476.9396	5,476.9458	1.22	1.81	0.01	0.79	TrCpGpApTrTpGpTrApCpTrGpTrApCpTrTpA
18	3-21	4.729	5,805.9921	5,806.0001	1.51	4.04	0.04	0.99	GpTrCpGpApTrTpGpTrApCpTrGpTrApCpTrTpA
19	2-21	4.812	6,119.0498	6,119.0490	-0.32	2.75	0.05	1.92	ApGpTrCpGpApTrTpGpTrApCpTrGpTrApCpTrTpA
표적	21-mer	4.879	6,408.0961	6,408.1044	1.29	58.49	0.20	0.34	CpApGpTrCpGpApTrTpGpTrApCpTrGpTrApCpTrTpA

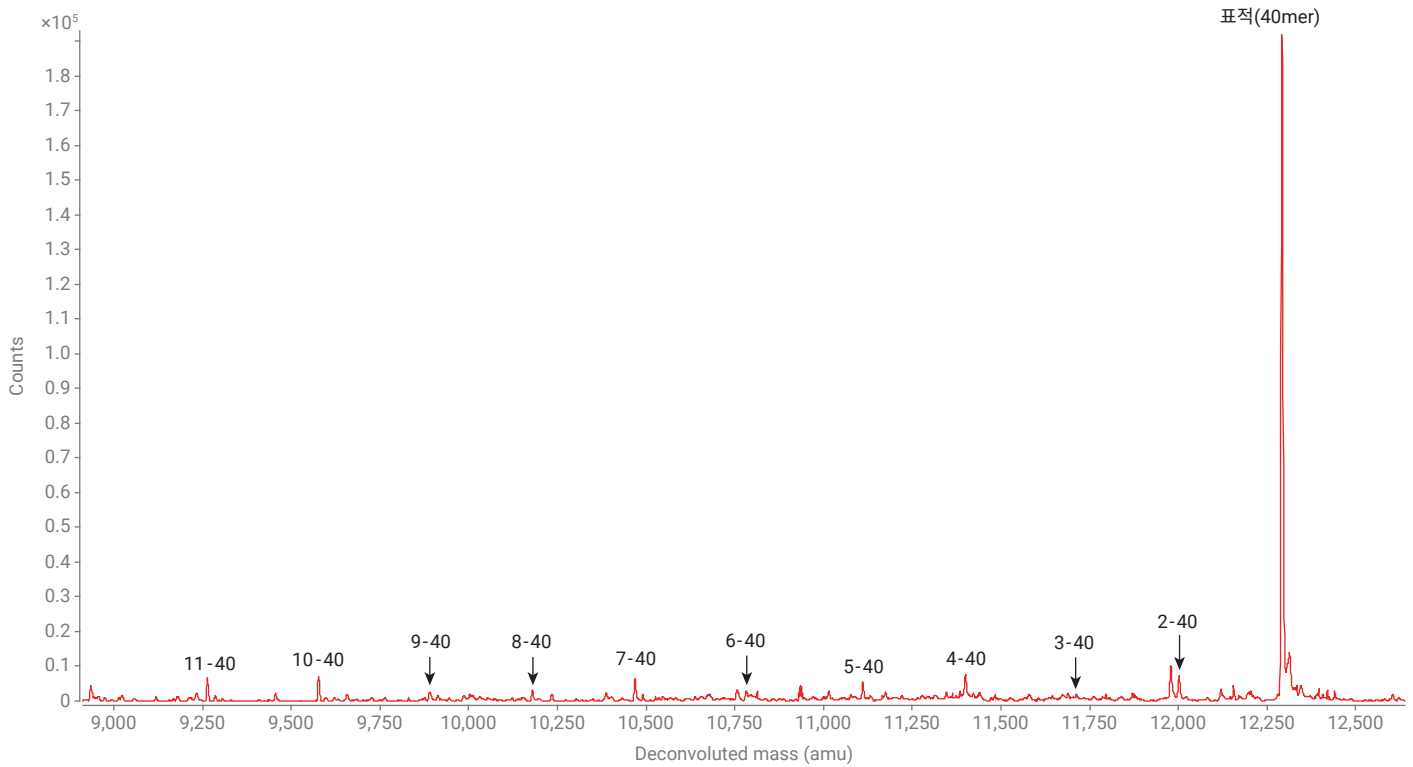


그림 8. 최대 엔트로피 MS 디콘볼루션 접근 방법을 사용한 40-mer 및 그 5' 절단(2-40 ~ 11-40)의 상대 정량.

표 5. 40-mer 합성 올리고뉴클레오타이드의 상위 15가지 올리고뉴클레오타이드 불순물에 대한 불순물 분석 요약.

올리고 길이	RT (분)	측정된 질량	%정량	시퀀스
16-40	5.861	7,699.0915	2.08	AGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
15-40	5.878	7,988.2299	2.26	CAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
14-40	5.994	8,301.3760	1.24	ACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
13-40	5.990	8,631.0440	1.35	GACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
12-40	6.048	8,935.0245	1.60	TGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
11-40	6.073	9,263.8039	2.39	GTGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
10-40	6.148	9,577.3536	2.54	AGTGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
9-40	6.193	9,891.1191	0.94	AAGTGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
8-40	6.185	10,179.5068	1.18	CAAGTGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
7-40	6.214	10,468.9206	2.36	CCAAGTGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
6-40	6.289	10,782.0017	1.08	ACCAAGTGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
5-40	6.276	11,111.0793	2.03	GACCAAGTGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
4-40	6.280	11,400.2121	2.82	CGACCAAGTGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
3-40	6.334	11,712.5835	0.65	ACGACCAAGTGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
2-40	6.339	12,002.3602	2.68	CACGACCAAGTGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT
표적	6.384	12,292.1749	72.80	CCACGACCAAGTGACAGCAATGAATCGAGTCGAGATCCAT

## 결론

HRAM MS 데이터를 사용하여 표적 올리고뉴클레오타이드 및 관련 불순물의 특성 규명을 위해 두 가지의 새롭고 자동화된 통합 올리고뉴클레오타이드 데이터 분석 접근 방법이 개발되었습니다. 분석 결과를 통해, 예상되는 올리고뉴클레오타이드에 대한 우수한 크로마토그래피 분리 및 질량 정확도(sub-ppm)가 얻어졌음을 입증했습니다. LC/MS 결과는 또한 관찰된 올리고뉴클레오타이드와 관련 불순물의 정확한 상대 정량값을 높은 재현성으로 보여줍니다. 새롭게 개발된 Agilent MassHunter BioConfirm 소프트웨어 (버전 12.0)를 이용해 고처리량 방식으로 TPI 데이터를 자동으로 처리함으로써 데이터 분석 시간을 크게 줄일 수 있었습니다.

## 참고 문헌

1. Capaldi, D. *et al.* Impurities in Oligonucleotide Drug Substances and Drug Products. *Nucleic Acid Ther.* **2017**, *27*, 309-322.
2. Okafo, G.; Elder, D.; Webb, M. Analysis of Oligonucleotides and Their Related Substances. *ILM Publications* **2012**.

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

DE29613125

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2022  
2022년 5월 13일 한국에서 인쇄  
5994-4817KO

한국에질런트테크놀로지스(주)  
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,  
A+ 에셋타워 9층, 06621  
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)  
팩스: 82-2-3452-2451  
이메일: [korea-inquiry\\_lsca@agilent.com](mailto:korea-inquiry_lsca@agilent.com)