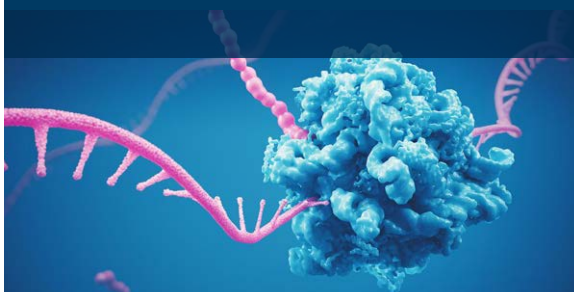


寡核苷酸工作流程资源指南



用于寡核苷酸分析的端到端光谱 工作流程解决方案

从研发到生产 QA/QC



合成寡核苷酸广泛用于研究和基因检测。这类短链核酸聚合物包括小干扰 RNA、反义寡核苷酸、适配体和 CRISPR 向导。这些大分子的普及，意味着对使用稳定分析方法和简便易用的数据分析工作流程开展表征工作的需求日益增加。常见的目标属性包括特定杂质的质量、序列、纯度和相对含量。此外，根据 FDA 指南，原辅料（或起始材料）和最终产品鉴定、（痕量）元素杂质分析和残留溶剂分析在样品验证和质量控制 (QC) 中同样重要。

通过拉曼、FTIR 和 LC/UV 分析进行原辅料鉴定（仓库或实验室解决方案）

原辅料或起始材料鉴定是一项重要的质量保证或安全控制分析措施，广泛用于多种应用，尤其是药品。确认收到的原料身份，有助于建立质量标准，并在生产前避免原辅料污染、假冒及标签错误。

安捷伦开发了几种用于原辅料鉴定的工作流程解决方案（图 1）。包括：1) 使用 Agilent Vaya 拉曼原辅料鉴别验证系统的仓库解决方案；和 2) 使用 Agilent Cary 630 FTIR 或 Agilent 1290 Infinity II 生物液相色谱系统的实验室解决方案。

Vaya 是一种手持式拉曼光谱仪，是在 cGMP 生产环境中穿透透明和不透明容器鉴定或区分生物药物原辅料（如寡核苷酸合成中使用的亚磷酸胺）的有效解决方案。

FTIR 也广泛用于原辅料鉴定研究。Cary 630 FTIR 光谱仪与 Agilent MicroLab 软件的组合可用于对不同样品类型执行快速、简单且可靠的原辅料鉴定。可选的 MicroLab Pharma 软件为在 GMP 环境中工作的用户提供安全的数据存储和用户/访问权限管理。安捷伦还利用 1290 Infinity II 生物液相色谱系统和 Agilent OpenLab ChemStation 软件开发了基于 HPLC 的工作流程解决方案，可为原辅料或起始材料鉴定提供出色的样品分离和灵敏的检测。



基于仓库的解决方案：

基于拉曼的工作流程
解决方案：



Vaya



Vaya 软件

基于实验室的解决方案：

基于 FTIR 的工作流程
解决方案：



Cary 630 (FTIR)



MicroLab

基于 LC 的工作流程
解决方案：



1290 Infinity II 生物液相色谱系统



OpenLab ChemStation

工作流程 1：原辅料鉴定：基于仓库（拉曼光谱）或基于实验室（FTIR 或 HPLC）的解决方案

通过 UV-Vis 分析（使用 Cary 3500 UV-Vis）鉴定成品

紫外-可见分光光度计被广泛用于核酸定量和 QC。通过测量 260 nm 处的紫外吸光度和确定的吸收系数可以轻松计算核酸的浓度。紫外-可见分光光度法还用于测量双链核酸的解链温度 (Tm)，该值可以准确指示样品中的碱基组成。

Agilent Cary 3500 多区控温紫外-可见分光光度计使用集成的比色皿内温度探头，在热解链实验期间以快速升温速率精确控制溶液的温度。Agilent Cary UV Workstation 软件内置 DNA 解链温度计算（平滑和导数）函数，可快速提供可操作的结果（图 2）。



工作流程 2：通过 UV-Vis 分析（使用 Agilent Cary 3500 UV-Vis）鉴定成品

通过 ICP-MS 分析痕量元素杂质

药品中的痕量元素杂质可能有毒，会影响药物稳定性或有效期，并可能引发不必要的副作用。因此，当前的 USP 和 ICH 章节要求在比之前更低的浓度下监测更多元素，并建议采用现代分析流程来测定元素杂质的浓度。制造商必须能够证明他们的最终生物药物制剂符合所列元素的限值规定。

图 3 显示了通过 ICP-MS 进行痕量元素杂质分析的安捷伦工作流程。证明了 Agilent 7850 ICP-MS 是测定药物成分中痕量元素杂质的理想选择。对于所有受监管的元素，7850 ICP-MS 在灵敏度、稳定性、可靠性、回收率和检测限方面均得到出色的结果。



工作流程 3：通过 ICP-MS 分析痕量元素杂质

通过 GC 或 GC/MS 进行残留有机溶剂分析

同样，药品中的残留溶剂并不能增强产品的功效，所以必须尽可能多地将其去除以满足产品规格要求和药品生产质量管理规范。

安捷伦为通过气相色谱 (GC) 或气质联用系统 (GC/MS) 进行的残留溶剂分析提供了最全面、灵活、可靠的解决方

案。无论您正在进行何种残留溶剂分析（常规、高通量或未知分析物），配备 Agilent 8697 顶空进样器和惰性三通的 Agilent 8890 气相色谱系统都能为 USP <467> 规定的所有相关残留溶剂的分离、鉴定和定量分析提供十分出色的方法。



工作流程 4: 展示通过 GC 或 GC/MS 进行残留溶剂分析的安捷伦工作流程

参考文献

通过拉曼、FTIR 和 HPLC 分析进行原辅料鉴定

- 1) Neo, A.; Welsby, C. 使用 Agilent Vaya 手持式拉曼光谱仪穿透棕色瓶快速测试溶剂, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5994-5929ZHCN](#), 2023
- 2) Pulliere, F.; Welsby, C. 穿透容器直接鉴定市售寡核苷酸原料, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5994-4239ZHCN](#), 2021
- 3) Pulliere, F.; Welsby, C. 利用空间位移拉曼光谱鉴别生物制药原辅料, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5994-3534ZHCN](#), 2021
- 4) Pulliere, F.; Welsby, C. 穿透棕色瓶直接快速鉴定聚山梨酯 20 和 80, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5994-3459ZHCN](#), 2021
- 5) Pulliere, F. 快速鉴定包装内的原辅料, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5994-2936ZHCN](#), 2023
- 6) 访谈: 评估寡核苷酸的创新鉴定分析策略, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5994-5144ZHCN](#), 2022
- 7) **视频**: 10 分钟内完成 UV-Vis 热解链实验
- 8) Alwan, W.; Zieschang, F. 用于原辅料鉴定的 Agilent Cary 630 FTIR 光谱仪, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5994-4992ZHCN](#), 2022

通过 UV-Vis 分析 (使用 Cary 3500 UV-Vis) 鉴定成品

- 1) 使用 Cary 3500 紫外-可见分光光度计进行核酸热稳定性测量的最佳操作规程, 安捷伦科技公司白皮书, 出版号 [5994-4028ZHCN](#), 2022
- 2) Alwan, W.; Rault, M. 使用紫外-可见光谱法快速测定双链核酸的解链温度, 安捷伦科技公司白皮书, 出版号 [5994-0384ZHCN](#), 2022
- 3) **视频**: 10 分钟内完成 UV-Vis 热解链实验 ()
- 4) GMP 设施的数据可靠性选项 — 用于 Agilent Cary 3500 紫外-可见分光光度计, 安捷伦科技公司宣传网页, 出版号 [5994-0740ZHCN](#), 2022

采用 ICP-MS 分析痕量元素杂质


- 1) Analysis of Elemental Impurities in Synthetic Oligonucleotides by ICP-MS (使用 ICP-MS 对合成寡核苷酸中的元素杂质进行分析), 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5994-6470EN](#), 2023
- 2) Data Integrity Options for GxP facilities: For Agilent ICP-MS and ICP-QQ spectrometers (GxP 设施的数据可靠性选项: 用于安捷伦 ICP-MS 和 ICP-QQ 光谱仪), 安捷伦科技公司宣传网页, 出版号 [5994-4746EN](#), 2022
- 3) Sanderson, J.; Whitecotton, L. Analysis of Artificial Tear Eye Drops for Elemental Impurities (人工泪液元素杂质分析), 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5994-1561EN](#), 2022
- 4) Whitecotton, L.; McCurdy, E.; Jones, C.; Liba, A. Validating performance of an Agilent ICP-MS for USP <232>/<233> & ICH Q3D(R2)/Q2(R1) (按照 USP <232>/<233> 和 ICH Q3D(R2)/Q2(R1) 验证安捷伦 ICP-MS 的性能), 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5991-8335EN](#), 2022
- 5) USP <232>/<233> and ICH Q3D Elemental Impurities Analysis: The Agilent ICP-MS Solution (USP <232>/<233> 和 ICH Q3D 元素杂质分析: 安捷伦 ICP-MS 解决方案), 安捷伦科技公司白皮书, 出版号 [5991-8149EN](#), 2021
- 6) 测定制药材料中的元素杂质, 安捷伦科技公司产品样本, 出版号 [5991-8140ZHCN](#), 2022
- 7) Dhuria, R. S.; Jain, V.; Kapadnis, G.; Vyas, S. 使用 ICP-MS 测定药物成分中的元素杂质, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5991-7674CHCN](#), 2021
- 8) Jing, M.; Ni, Y.; Wang, Y.; Zhang, Z. Determination of Chromium in Gelatin Capsules Using ICP-MS (使用 ICP-MS 测定明胶胶囊中的铬), 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5991-1531EN](#), 2021

通过 GC 或 GC/MS 进行残留有机溶剂分析

- 1) Sanderson, J. Residual Solvent Analysis in Hemp Consumer Products Using Headspace Gas Chromatography and Mass Spectrometry (使用顶空气相色谱和质谱分析大麻消费品中的残留溶剂), 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5994-5237EN](#), 2022
- 2) Zhang, Y.; Na, S. 使用 Agilent 8890 GC/FID/5977B MSD 系统分析 USP <467> 1 类、2 类和 3 类残留溶剂, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5994-1488ZHCN](#), 2019
- 3) Wieder, L.; Pan, J.; Veeneman, R. 采用 Agilent 8890 气相色谱系统进行 USP 方法 <467> 残留溶剂分析, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5994-0442ZHCN](#), 2019
- 4) 使用 Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统进行残留溶剂分析, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 [5991-9029ZHCN](#), 2018

工作流程 1

通过拉曼、FTIR 和 LC/UV 分析进行原辅料/起始材料鉴定（仓库或实验室解决方案）

套装	Vaya (基于仓库)	FTIR (基于实验室)	LC/UV (基于实验室)
仪器	 <p>Vaya (G6915A)</p>	 <p>Cary 630 FTIR 光谱仪 G8043AA 或 G8044AA (带 PC) 建议: #200 和 #320 PIKE-162-5450</p>	 <p>BIO 1290 Infinity II 生物液相色谱 G7131A 或 G7132A、G7137A 和 G7116B、G7114B (VWD) 或 G7117B (DAD)</p>
软件	 <p>Vaya 软件</p>	 <p>MicroLab MicroLab Pharma 软件 G4984AA</p>	 <p>OpenLab ChemStation M8301AA M8510AA (用于安捷伦液相色谱仪的仪器驱动程序) M8360AA — 3D UV (PDA) 插件 (可选)</p>

工作流程 2

通过 UV-Vis (Cary 3500) 分析进行成品鉴定

套装	UV-Vis
仪器	 <p>Cary 3500 多池紫外-可见分光光度计 G9874A 与 G9874A #001 选项: G9874A #002: 吹扫套件</p>
软件	 <p>Cary UV Workstation 软件 G5194AA: Cary UV Workstation Plus 或 G5195AA: Cary UV Workstation Plus, 带 PC 或 G6894AA: Cary 紫外网络化工作站软件, 不带 PC 或 G6896AA: Cary 紫外网络化工作站软件, 带 PC</p>




工作流程 3

通过 ICP-MS 分析痕量元素杂质

套装	ICP-MS	
样品前处理	 <p>安捷伦集成自动进样器(I-AS) (G3160C)</p>	 <p>SPS4 自动进样器 (G8415A)</p>
标准品	<p>USP 标准品 (ICH Q3D 和 USP 232) 溶液试剂盒 (5190-9771) (5 种标准品: 5190-9766、5190-9767、5190-9768、5190-9769 和 5190-9770)</p>	
仪器	 <p>7850 ICP-MS (G8422AA) 选项: 7900 ICP-MS (G8403AA)</p>	
软件	 <p>Agilent ICP-MS MassHunter 软件 G7201D</p>	

工作流程 4A、4B、4C

通过 GC 或 GC/MS 进行残留有机溶剂分析

套装	4A — GC (常规分析)	4B — GC (HT 分析)	4C — GC/MS (未知物分析)
校准	<p>USP 467 1 类: 部件号 5190-0490 USP 467 2A 类: 部件号 5190-0492 USP 467 2C 类: 部件号 5190-0493</p>		
气相色谱柱	<p>顶空进样: Agilent DB-624 60 m × 0.25 mm, 1.4 μm (部件号: 122-1364) 液体进样: Agilent DB-wax UI 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号: 122-7032UI)</p>		
仪器	 <p>8697 顶空进样器/ 8890 气相色谱系统 8697 HS (G4511A) 8890 GC (G3540A) 选项: 8860 GC (G2790A)</p>	 <p>8697-XL Tray (G4512A) Intuvo 9000 GC (G3950A) 选项: 8890 GC (G3540A)</p>	 <p>8697 HS/8890 GC/ 5977C GC/MSD 8697 HS (G4511A) 8890 GC (G3540A) 选项: 8697-XL Tray (G4512A)/8890 GC/5977C MSD</p> <hr/> <p>5977C GC/MSD Inert Plus 系统 (G7077CA)</p>
软件	 <p>OpenLab CDS Workstation Plus (M8410AA) 或: OpenLab CDS AIC (M8420AA) OpenLab CDS 仪器连接 (M8431AA)</p>		

了解更多信息：

www.agilent.com/oligonucleotides

如需获取技术问题的答案和安捷伦社区的资源，
请访问：

community.agilent.com

安捷伦客户服务中心：

免费专线：800-820-3278

400-820-3278（手机用户）

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

DE71227509

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2023
2023年10月19日，中国出版
5994-6549ZHCN

