

赞助方

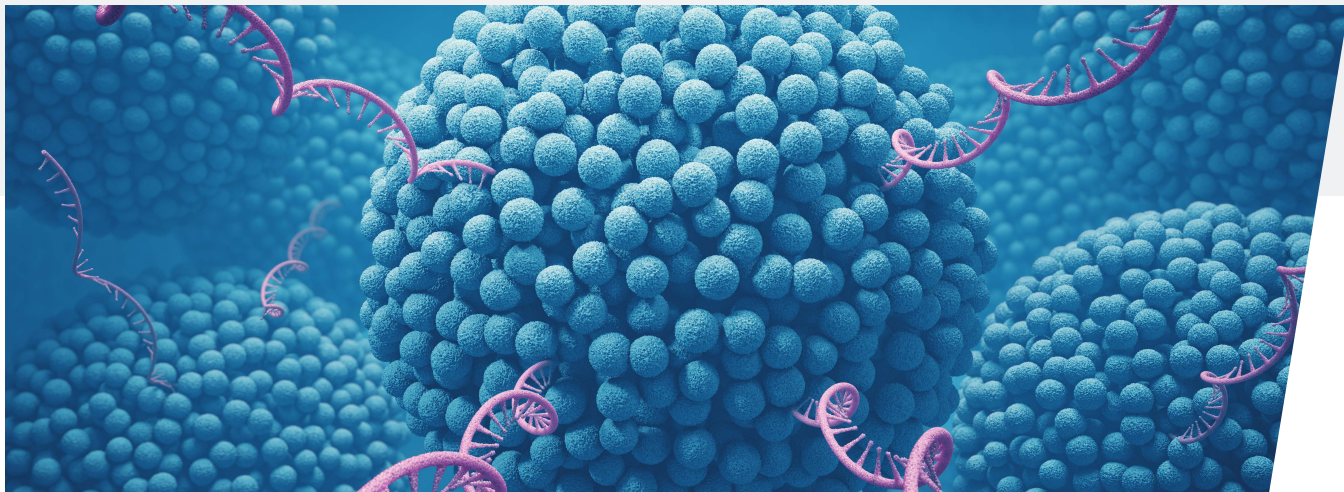


推动寡核苷酸治疗领域的发展

用于寡核苷酸表征、纯化和生产的 先进解决方案

LabX

- / 第 1 章: 寡核苷酸治疗药物简介
- / 第 2 章: 寡核苷酸合成和生产面临的挑战
- / 第 3 章: 寡核苷酸分析和纯化解决方案
- / 第 4 章: 寡核苷酸序列和鉴别确认解决方案
- / 第 5 章: 从分析到纯化的过渡
- / 第 6 章: 寡核苷酸 API 生产
- / 第 7 章: 支持寡核苷酸开发流程的解决方案



图片 © 安捷伦科技（中国）有限公司，2024

前言

寡核苷酸的研发代表了新型重要治疗药物发现的一种革命性方法。然而，在寡核苷酸的合成、纯化以及大规模生产过程中，仍存在许多挑战。只有克服这些挑战，才能充分发挥寡核苷酸的治疗潜力。

在研发过程中，分析检测解决方案对于可靠鉴定和验证新的治疗候选药物至关重要。这些解决方案包括寡核苷酸合成原辅料/起始材料分析、寡核苷酸纯度分析、序列确认和纯化技术，旨在为下游应用的验证和质量控制提供支持。此外，制备型解决方案对于寡核苷酸的制备及规模化生产也是不可或缺的。

本电子书深入探讨了寡核苷酸合成的复杂性，并介绍了一系列旨在简化和推进寡核苷酸表征、纯化及规模化生产的技术。



第 1 章：寡核苷酸治疗药物简介

寡核苷酸是通过天然或合成途径获得的短单链或双链核酸聚合物。生物活性寡核苷酸能够通过其互补序列与目标 RNA 或 DNA 上的互补序列相互作用，引发多种生物反应，这些反应可表现为基因沉默、基因激活、剪接调控或其他功能。其中，某些被称为适配体的生物活性寡核苷酸（图 1 最右侧）可以通过二级结构相互作用影响蛋白质靶标^[1]。

治疗性寡核苷酸能够通过多种机制调控基因表达，对多种适应症具有潜在的治疗价值。根据已知的治疗靶标序列，可以合理设计出高特异性的先导化合物。此外，治疗性寡核苷酸可以精准靶向独特的遗传元件，如单核苷酸多态性 (SNPs) 和扩增重复序列，而无需沉默野生型 RNA 或 DNA^[1]。因此，治疗性寡核苷酸有望实现罕见病的精准、个体化治疗^[2]。

目前已研发出多少种寡核苷酸治疗药物？

迄今为止，共有 18 种合成寡核苷酸治疗药物获得 FDA 批准，其中一种目前正处于预注册阶段^[3]。此外，目前还有超过 130 个相关项目正在进行人体临床试验，涉及 80 种寡核苷酸。这些寡核苷酸治疗药物覆盖了 100 多种适应症，涵盖 14 个治疗领域，并针对 66 种不同的基因。

寡核苷酸治疗药物的疾病适应症有哪些？

已获批的寡核苷酸治疗药物主要采用反义寡核苷酸 (ASO)、剪接转换寡核苷酸 (SSO)、小干扰 RNAs (siRNAs)、microRNAs (miRNAs) 和适配体等技术。目前，这些药物已用于治疗多种疾病，包括家族性纯合子高胆固醇血症、脊髓型肌肉萎缩症、杜氏肌营养不良症、遗传性转甲状腺素蛋白介导的淀粉样变性、家族性乳糜微粒血症综合征、急性肝卟啉病和原发性高草酸尿症。

此外，新型寡核苷酸治疗药物也正在开发之中，覆盖更广泛的疾病领域，包括癌症、神经系统疾病、代谢性疾病、肌肉骨骼疾病、感官疾病以及心血管疾病等，并且已有大量研发项目进入临床开发的后期阶段^[4]。

第 1 章：寡核苷酸治疗药物简介

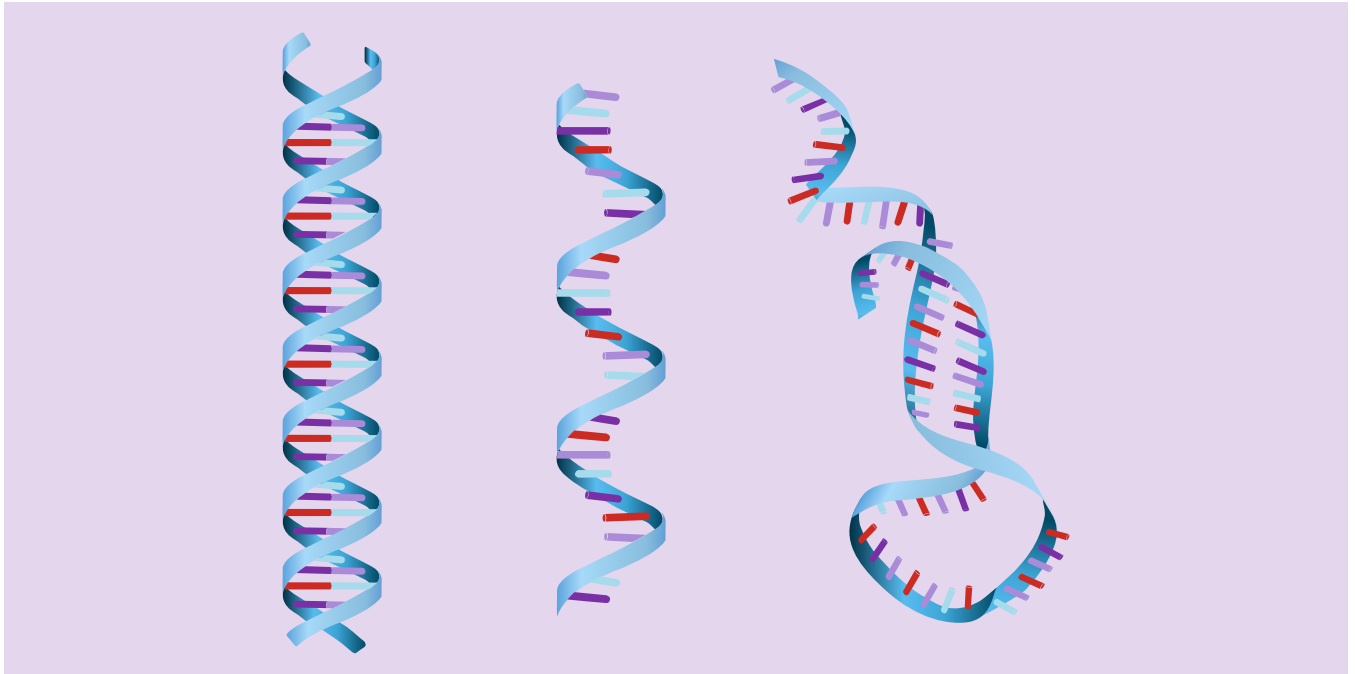


图 1. 双链、单链和适配体寡核苷酸结构

最常见的寡核苷酸作用机制是什么？

目前获批的治疗药物大部分属于反义寡核苷酸，根据其作用机制可分为两类：基因表达抑制剂和剪接调节剂^[4]（图 2）。基因表达抑制剂通过靶向 RNA 发挥作用，可进一步分为空间阻断和酶募集两种方式（分别对应图 2 左和右）。在空间阻断机制中，寡核苷酸药物与互补 mRNA 结合，阻止该 mRNA 片段被进一步加工。在酶募集机制中，寡核苷酸与 mRNA 结合并募集 RNA 酶 H 来降解 mRNA，或者与 RNA 诱导的沉默复合体 (RISC) 结合并引导其降解靶标 mRNA。

合成寡核苷酸面临着哪些生产方面的挑战？

大多数小分子寡核苷酸（如 ASO、siRNA、miRNA 等）均通过固相亚磷酰胺化学法合成，采用四步循环工艺来延长寡核苷酸链。生产批次中除了目标序列外，还包含一些与其密切相关的失败序列。这些失败序列包括：

- **短链序列** — 寡核苷酸丢失了一个或多个核苷酸
- **长链序列** — 寡核苷酸中的核苷酸超过预期数量
- **丢失保护基团** — 缺少用于降低反应性和增加稳定性的保护基团

第 1 章：寡核苷酸治疗药物简介

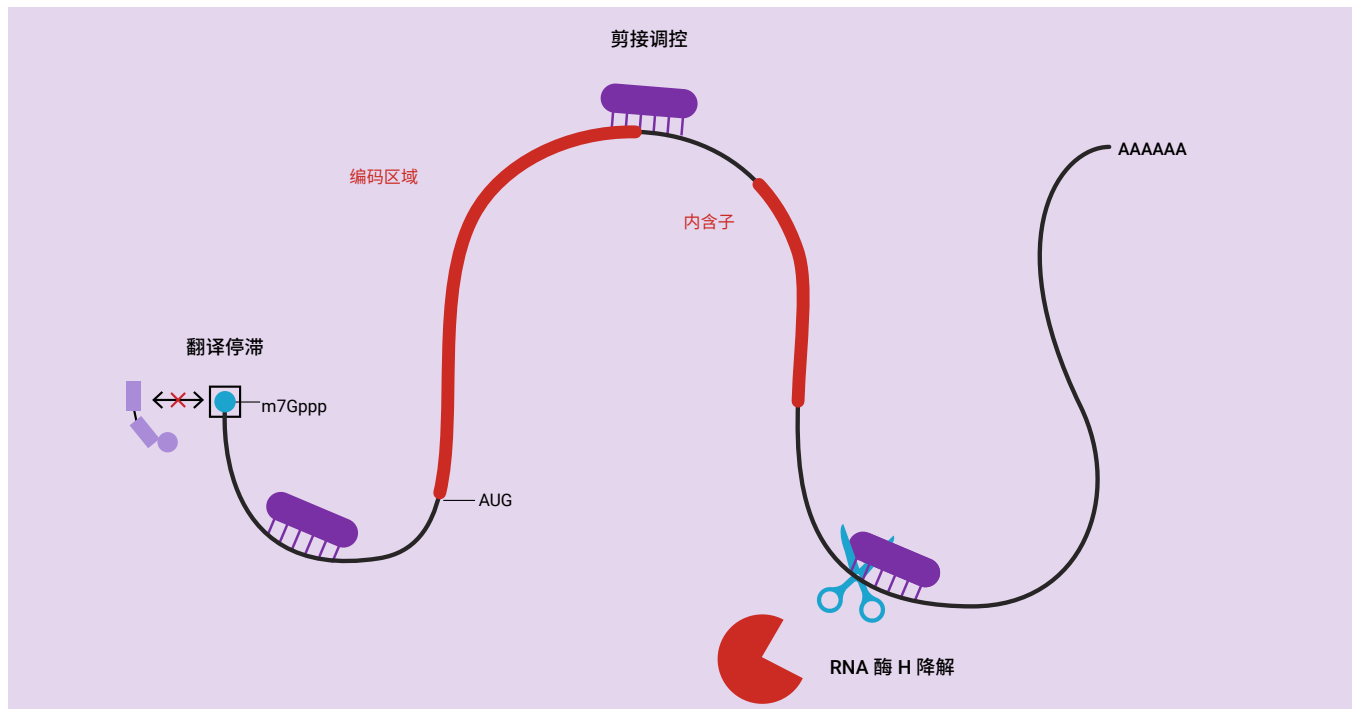


图 2. 三种生物活性寡核苷酸的作用机制。翻译起始位点的空间阻断或剪接调控可导致基因表达读取错误或完全丢失。通过酶募集或与 RNA 诱导沉默复合体结合可导致 mRNA 转录本降解，最终导致基因表达丢失

此外，其他与产物相关的杂质还包括磷酸二酯类似物、脱嘌呤序列、部分去保护序列以及聚集序列。

寡核苷酸表征为何重要？

生产不含杂质的高保真寡核苷酸制剂对于后续的化学修饰至关重要，这有助于确保其稳定性以及良好的药代动力学和药效学特性^[1]。硫代磷酸酯和其他修饰可直接影响寡核苷酸的亲和力、核酸酶抗性、化学和机械稳定性，同时还能调节其水合作用及蛋白质结合能力^[1]。

然而，ASOs 及寡核苷酸药物普遍面临的挑战主要是细胞渗透性差且缺乏组织特异性。为此，目前业界正在开发多种技术，以提升细胞摄取效率并实现组织特异性靶向递送。例如，通过添加糖基（如结合 GalNAc，图 3 右）进行合成后修饰，已成功实现了对肝脏的靶向递送，而脂质纳米颗粒 (LNPs)（图 3 左）也表现出了作为递送载体的强大潜力^[3]。安捷伦已开发出用于检测 LNP 的系统及色谱柱，旨在助力这项技术的发展^[5]。

第 1 章：寡核苷酸治疗药物简介

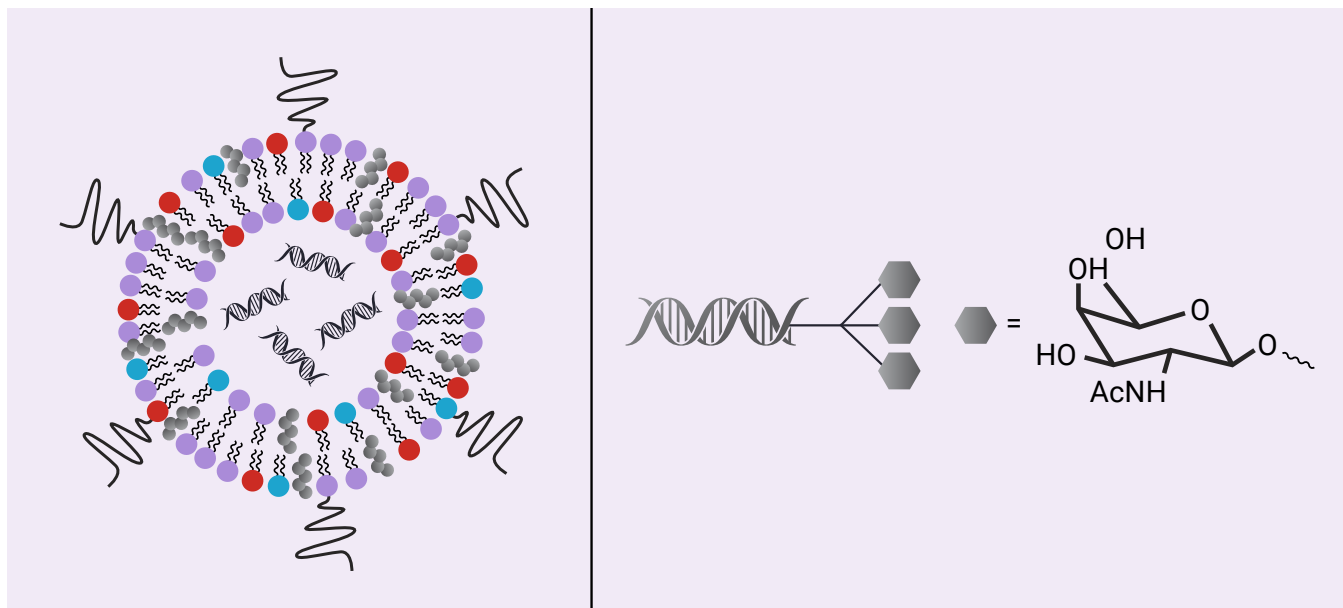


图 3. 提高寡核苷酸治疗药物靶向特异性和有效性的两种方法。装载治疗性生物活性寡核苷酸的脂质纳米颗粒 (LNPs) (左图) 有助于实现组织和细胞的靶向递送。GalNAc 糖基与治疗性寡核苷酸 (右) 直接结合, 可增强靶细胞渗透性

在寡核苷酸的生产过程中, 高性能的合成和纯化技术对于确保生产出适用于后续修饰、递送和测试的高质量寡核苷酸至关重要。此外, 从分析规模扩大到制备规模时, 必须充分考虑各种因素, 以保持功能性寡核苷酸的高收率。

在合成寡核苷酸的监管方面需要注意些什么?

目前, 尚无专门针对寡核苷酸药物质量标准的 ICH 或 FDA 监管指南。尽管合成寡核苷酸药物的分子量较大, 但由于它们通过化学方法合成与生产, 因此与生物制剂相比, 它们与小分子 (SM) 药物的相似度更高。

此外, 关于杂质的鉴定和定性阈值尚未达成共识。大多数合成寡核苷酸药物均包含密切相关的杂质成分; 其中一些杂质是完整的母体寡核苷酸与另一分子母体寡核苷酸交联的产物。

有哪些解决方案可以应对这些监管挑战?

针对这些监管挑战, 寡核苷酸安全工作组已制定了一个框架, 主要涉及杂质的安全性评估和控制以及相关的报告、鉴定及定性阈值。但这些标准尚未由 FDA 或欧洲药品管理局 (EMA) 统一制定, 因此需要根据具体情况进行个案评估。

此外, ICH Q3C(R6)^[6] 和 ICH Q3D(R1)^[7] 指南分别涵盖了针对残留溶剂和杂质元素的相关要求, 这些指南同样适用于寡核苷酸产品。

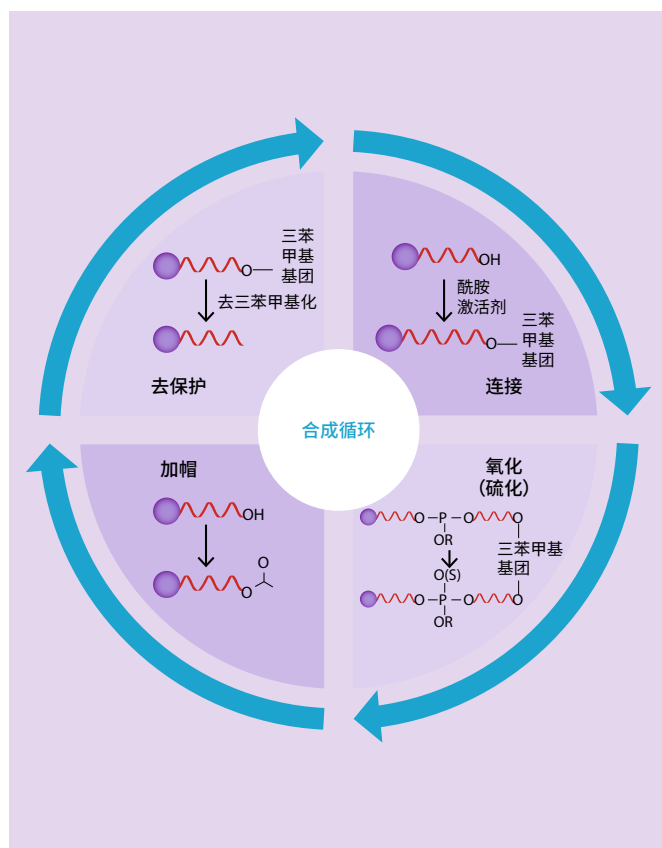


第 2 章：寡核苷酸合成和生产面临的挑战

亚磷酰胺法寡核苷酸合成技术诞生于 20 世纪 80 年代，随后通过引入固相载体及自动化技术进行了优化，现已成为 DNA 合成及规模化生产的首选方法。该合成过程主要包括四个步骤^[8,9,10]。

1. 第一步是去保护和去三苯甲基化，去除与固相载体连接的核苷的 5'-DMT (4,4'-二甲氧基三苯甲基) 保护基团
2. 第二步是通过与固相载体核苷的 5'-OH 基团发生反应，将下一个核苷偶联到链上
3. 第三步中，通过氧化反应将两个核苷间不稳定的亚磷酸三酯键转化为更稳定的磷酸三酯键
4. 在最后一步中，对未反应的固相载体核苷进行封闭，以防止其在后续循环中参与反应

上述过程不断重复，不断加入核苷，直到获得所需的寡核苷酸序列。合成结束时，将寡核苷酸从固相载体上裂解下来，留下游离的 3'-OH 基团。随后，将寡核苷酸置于浓氨水中加热，去除碱基和磷酸酯上的保护基团。



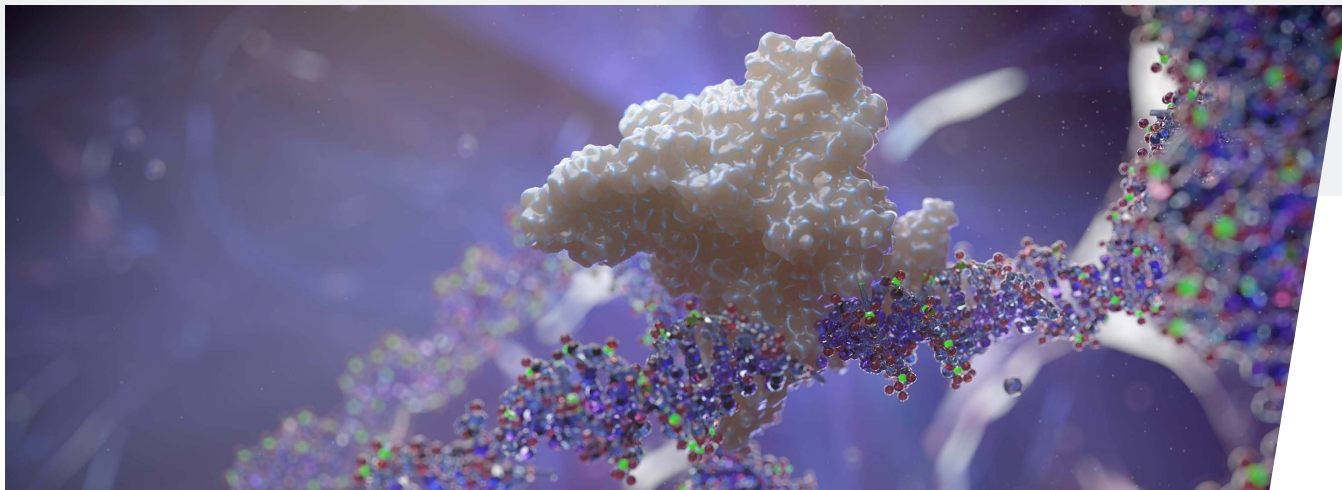
第 2 章：寡核苷酸合成和生产面临的挑战

寡核苷酸的合成收率受合成过程中多个步骤的影响，其中影响最显著的是偶联效率。去保护、裂解和纯化也会不同程度地影响收率。在 95% 的偶联效率下，整体反应收率随着循环次数的增加而降低，经过 20 个循环后（即 20 mer 寡核苷酸）后，收率降至 36% 以下。优化合成步骤和反应收率对于提高生产效率十分关键。

在寡核苷酸合成、测试和生产的整个流程中，多个阶段都面临挑战且需要相应的解决方案。

- 需要对原辅料（或起始材料）进行分析以鉴定其中的污染物，并确保化学原料纯度足够高，从而避免带入相关杂质
- 必须对合成过程进行优化，以尽可能减少副反应杂质并提高收率
- 必须进行寡核苷酸纯度分析，以确认目标寡核苷酸的纯度、相关产物的收率，并检测合成过程中可能引入的杂质
- 必须进行验证，以确保寡核苷酸产物的序列、分子量及其他关键特性符合要求
- 必须进行结构表征，以确保其功能特性
- 将寡核苷酸生产从分析规模放大到制备规模时需考虑多个因素

在验证目标产物以及分离（和去除）杂质时，需要准确而灵敏的分析解决方案。



第 3 章：寡核苷酸分析和纯化 解决方案

为应对寡核苷酸合成和生产面临的挑战，可以使用寡核苷酸分析表征和制备分离端到端解决方案。这些解决方案利用基于光谱、色谱和质谱的工具、消耗品及软件，确保实现可靠的寡核苷酸分析。

例如，在寡核苷酸合成过程中，纯度分析往往面临挑战，必须有效解决这一问题，才能尽可能提高目标寡核苷酸的有效性和收率。在合成优化过程中，需要检测并鉴定包括截短序列、不完全硫醇化和碱基缺失序列在内的各类杂质，并建立有效的方法将这些杂质从最终样品中去除。纯度分析对于尽可能提高寡核苷酸生物活性和临床有效性至关重要，同时也能确保下游应用的安全性。

- 使用拉曼光谱、FTIR 和 HPLC/UHPLC 进行原辅料鉴定
- 使用 LC 和 LC/MS 进行纯度分析
- 使用 LC/MS 进行目标物与杂质分析
- 使用 LC/MS/MS 进行序列确认
- 使用 UV-Vis 进行鉴别确认
- 使用 ICP/MS 进行痕量杂质元素分析
- 使用 GC 和 GC/MS 进行残留溶剂分析

第 3 章：寡核苷酸分析和纯化解决方案

原辅料分析

优化寡核苷酸合成或大规模生产的第一步，是使用优质原辅料（或起始材料）。可以使用多种分析技术对原辅料进行质量检测，包括检测其中的杂质，具体选择哪种技术取决于待测分析物的类型、检测规模和所处位置。可以选择的分析技术包括：

- 拉曼光谱
- FTIR 光谱
- 液相色谱 (HPLC/UHPLC)

拉曼光谱是一种无损检测技术，可用于对仓库中的原辅料进行直接检测。它能够穿透不透明的有色包装及容器直接进行分析，从而省去了取样和样品处理步骤。这种方法不仅有助于保护内容物、降低成本，还支持在仓库、收货点等现场环境进行检测，而不仅限于送样至实验室进行检测。此外，拉曼光谱技术还能保持原辅料的无菌状态，防止交叉污染，并有助于大大延长空气敏感型原辅料的保质期，同时通过避免操作人员直接接触高活性试剂和活性药物成分 (APIs)，增强了安全保障。

寡核苷酸合成前原辅料鉴定和评估的工作流程解决方案



第 3 章：寡核苷酸分析和纯化解决方案



Vaya 手持式拉曼光谱仪

穿透透明和有色的包装和容器（包括白色或彩色桶、FIBCs、纸袋和棕色瓶）进行原辅料鉴定。该系统简单易用，可提供：

- 专用的原辅料鉴定工作流程
- 明确的合格/不合格分析结果
- 直观的方法开发向导
- 仅需极少培训即可操作

[了解更多信息](#)



Cary 630 台式 FTIR 光谱仪

用于在实验室中进行原辅料鉴定。这是一种适用于少量样品的快速检测方法，模块化设计提高了应用灵活性，可用于固体、液体、粉末和气体样品分析。Cary 630 FTIR 光谱仪采用直观易用的设计，配合 Agilent MicroLab 软件套装，为用户提供了清晰的操作流程：

- 连接所需的采样附件
- 按照图片式向导软件的指导进行操作并上样
- 即刻获得彩色标记的有指导意义的结果

[了解更多信息](#)



1290 Infinity II 生物 UHPLC 系统

利用生物兼容性材料、溶剂和样品流路，尽可能减少表面相互作用，确保生物分子的完整性。

- 系统耐受高盐和极端 pH 条件
- 在 1300 bar 高压下实现高分离度和极低的扩散
- 提供多种生物兼容性流路池，用于高灵敏度紫外检测

[了解更多信息](#)



AdvanceBio 寡核苷酸色谱柱

实现高质量、高分离度的离子对反相 (IP-RP) 分离。这款色谱柱通过出色的纯化性能支持分析表征，并且能够无缝地放大方法。

- 高效的填料颗粒可提高目标产物与密切相关杂质 (n+1) 的分离度 (2.7 和 4.0 μm Poroshell)
- 色谱柱化学填料可在高 pH 和高温下保持稳定，在变性条件下可提供更出色的分离性能
- 制备柱可提高目标产物的收率和纯度 (4 μm Poroshell)

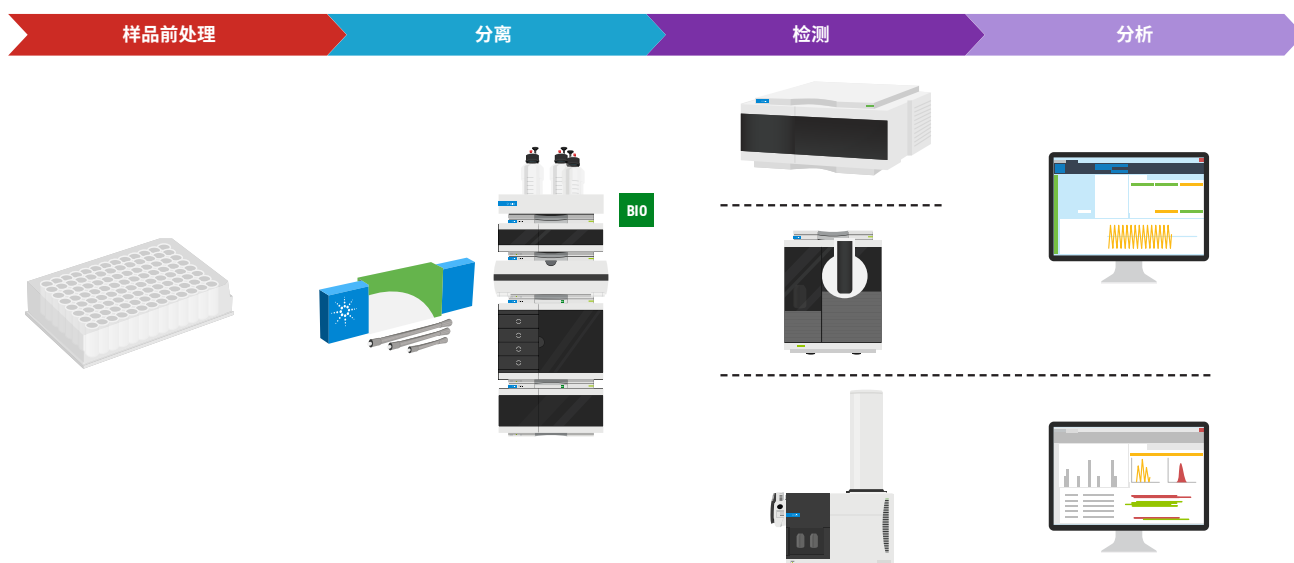
[了解更多信息](#)

第 3 章：寡核苷酸分析和纯化解决方案

寡核苷酸纯度分析

合成寡核苷酸的纯度分析可以通过单一技术或串联使用多种技术来实现。样品前处理色谱柱可以在色谱分离之前去除酸和盐。HPLC 或 UHPLC 系统可以使用专为寡核苷酸分离设计的高性能色谱柱，并与紫外检测和/或质谱结合，实现高灵敏度纯度评估。解卷积软件可以识别存在的杂质以及全长寡核苷酸产物的相对浓度。

寡核苷酸纯度评估的工作流程解决方案



- 寡核苷酸纯度分析首先通过**强阴离子交换 (SAX) 或离子对反相 (IP-RP)** 色谱进行富集
- 然后使用 LC/UV 或 LC/MS 方法分析样品的寡核苷酸纯度
- 使用 [1290 Infinity II 生物 LC/UV](#) 或 [SQ MS](#) 系统搭配 [OpenLab CDS](#) 软件进行初步寡核苷酸纯度分析
- [6230B TOF LC/MS 系统](#) 与 [1290 Infinity II 生物液相色谱](#) 的联用系统搭配 [MassHunter BioConfirm 12.0](#) 软件，用于数据解卷积和深入的纯度数据分析

正交纯度分析

可以使用正交工具来评估寡核苷酸（最多 60 mer）、确认其身份并检测潜在杂质。使用正交方法可以增强检测能力，有助于发现仅采用单一技术时可能无法检测到的污染物。

[Agilent Oligo Pro II 系统](#) 使用紫外检测和平行毛细管电泳，可实现单核苷酸分辨率和寡核苷酸纯度的直接评估。

第 3 章：寡核苷酸分析和纯化解决方案

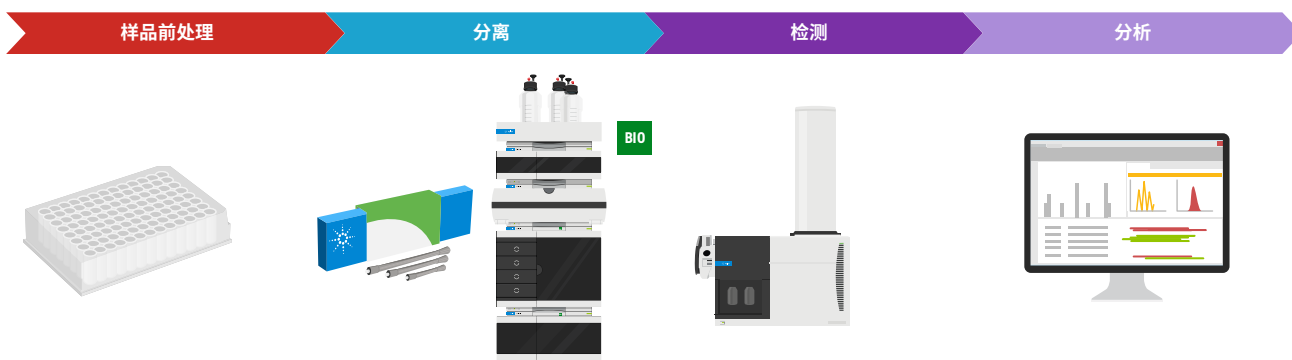
- 高分辨率分离可实现 ssDNA 和 ssRNA 的直接检测
- 通过 12 毛细管、24 毛细管或 96 毛细管阵列快速满足不同需求
- 软件可自动完成毛细管活化、进样、电泳分离和数据处理

产物相关杂质分析

寡核苷酸合成反应过程中可能会产生产物相关杂质。这些杂质包括：

- 短链序列 (N-1) — 寡核苷酸丢失了一个或多个核苷酸
- 长链序列 (N+1) — 寡核苷酸中的核苷酸超过预期数量
- 丢失保护基团（即对现有功能基团进行修饰后形成的衍生物，可降低反应活性并提高稳定性）
- 其他产物相关杂质，包括磷酸二酯类似物、脱嘌呤序列、部分去保护序列和聚集序列

产物相关寡核苷酸杂质表征的工作流程解决方案



- 使用 [1290 Infinity II 生物液相色谱](#) 联用 [6230B TOF LC/MS](#) 系统，对产物相关杂质进行分析
- [MassHunter BioConfirm 12.0](#) 数据分析软件支持使用自定义的结构单元、连接子和修饰来快速设置杂质分析和序列确认工作流程
- 在多种工作流程中，也可使用 [6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF](#) 进行高分辨率分析

工艺相关杂质分析

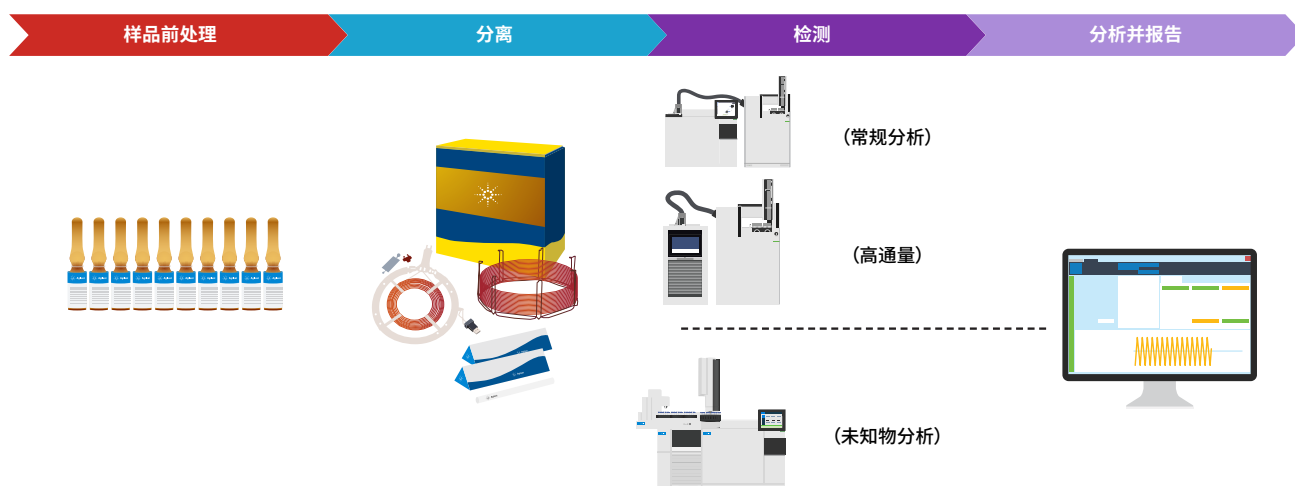
残留溶剂等工艺相关杂质是寡核苷酸生产和药品制造过程中普遍存在的问题。在化学合成过程中，通常需要将工艺相关溶剂替换为挥发性更高的溶剂。然而，在许多工艺中，这种做法可能并不可行，因为它可能对溶解度和收率造成负面影响。此外，溶剂可能是合成过程中的一个关键参数。

第 3 章：寡核苷酸分析和纯化解决方案

残留溶剂的检测和定量是放行测试流程中的关键环节，ICH、USP 和 EP 指南明确规定了药物制剂中残留溶剂的安全量和最低允许含量^[4]。

气相色谱法 (GC) 或气质联用法 (GC/MS) 可用于残留溶剂分析。GC/MS 尤其适用于鉴定已知和未知的溶剂，其适用性取决于样品的性质和合成工艺。在进行定量分析时，需要使用高质量校准品。

GC 和 GC/MS 残留溶剂分析的工作流程解决方案



- 残留溶剂分析 workflows 的第一步，是使用兼容的**气相色谱校准标准品**和**气相色谱柱**
- 根据对气相色谱分析的通量需求，可以使用配备 **8697 顶空进样器**的 **8890 气相色谱**进行常规气相色谱分析。配备 8697-XL Tray 的 **Intuvo 9000 气相色谱**则是高通量样品分析需求的理想选择
- 对于 GC/MS 应用，**8697HS/8890 气相色谱**与 **5977 GC/MSD** 的联用系统可实现出色的未知残留溶剂分析
- **OpenLab CDS 软件**可用于数据解卷积和分析
- 所有仪器均符合 USP/ICH 法规要求

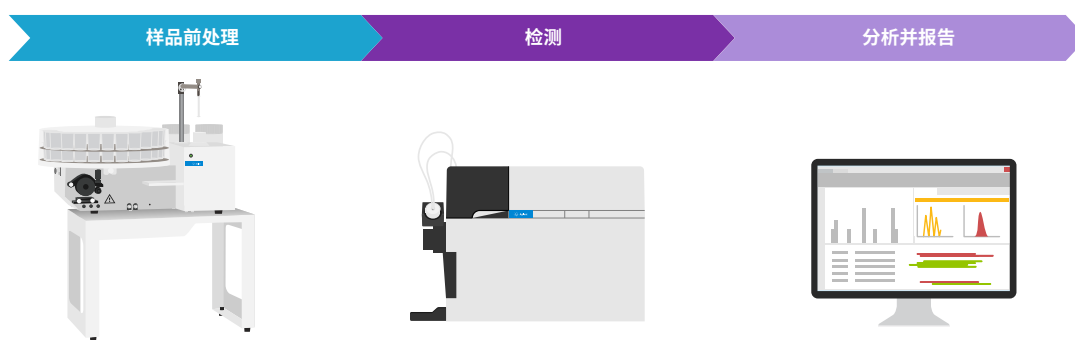
寡核苷酸工艺相关痕量杂质元素分析

在寡核苷酸合成过程中，杂质元素的来源可能多种多样。这些杂质可能来自合成过程中使用的催化剂，也可能来自整个合成过程中反应物或产物与反应容器之间的相互作用^[6]。这些杂质元素会影响寡核苷酸的活性，并导致其保质期缩短或引发意外的副作用。尤其是重金属等部分污染物本身就具有危害性。因此，需对这类杂质进行严格监控，以确保寡核苷酸在下游应用中的活性符合预期。

第 3 章：寡核苷酸分析和纯化解决方案

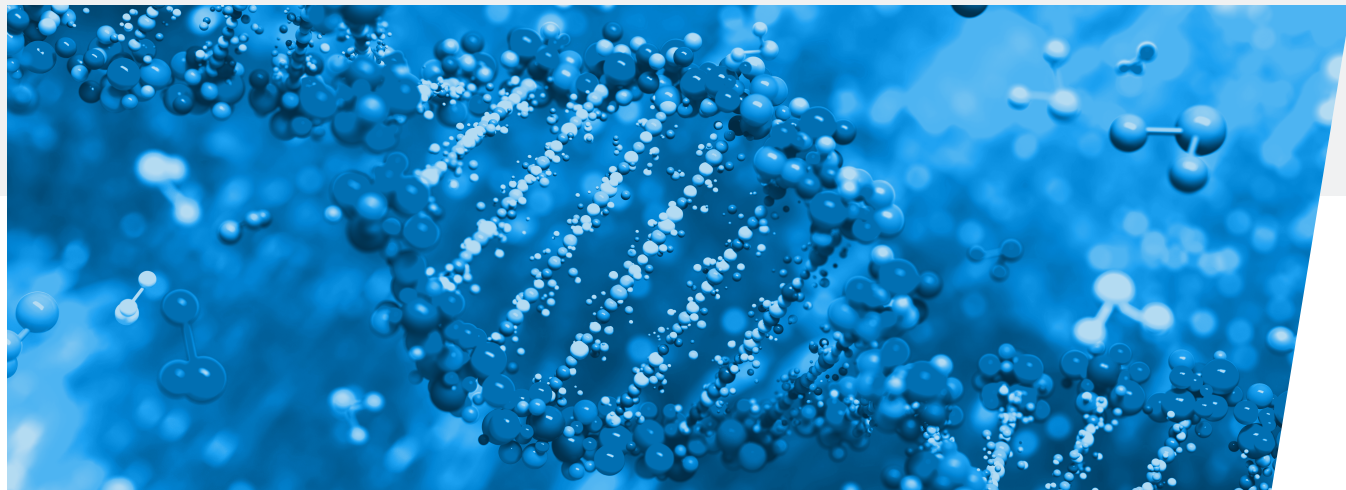
ICP-MS 是定量分析杂质元素的首选方法，即使在痕量水平下也能实现准确检测。在生产过程中，对包括镉、铅、砷、汞以及 USP/ICH 中规定的其他元素在内的 24 种元素杂质进行检测，是放行测试中的一项关键要求。

ICP-MS 痕量杂质元素分析的工作流程解决方案



Agilent 7850 和 7900 ICP-MS 仪器均能满足 USP/ICH 的元素杂质分析要求。

- **Agilent 7850** 支持快速设置和简化分析，可在常规应用中提供出色结果。该系统性价比高，运行稳定可靠，具有良好的基质耐受性、稳定性并能实现对常见干扰的有效控制
- **Agilent 7900** 性能出色、应用灵活，能够应对各种高要求应用，同时也是先进的单颗粒/单细胞应用的理想之选

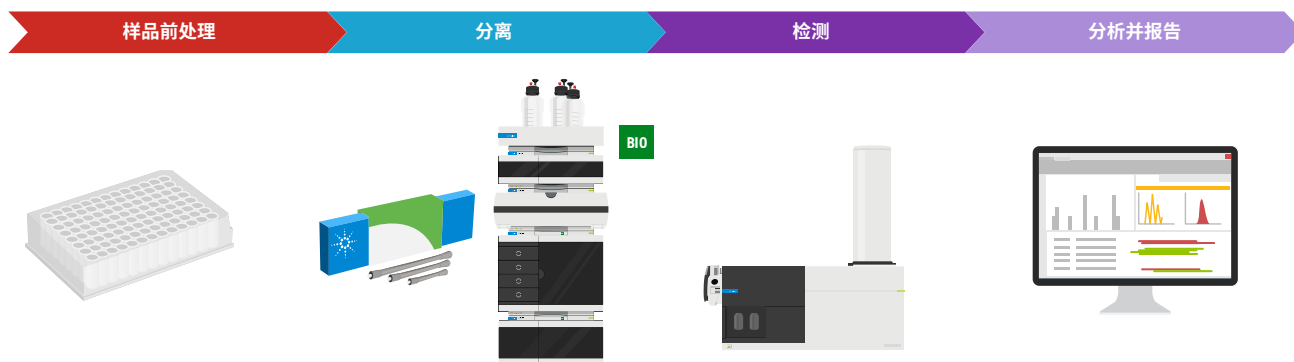


第 4 章：寡核苷酸序列和鉴别确认解决方案

序列验证是寡核苷酸合成过程中的一个重要环节。明确结构特征和特定化学基团的位置，对于下游修饰及相关活性非常重要。目前，有多种分析解决方案可用于序列验证和变异体识别，包括体积排阻分析、熔点分析和基于质谱的分子量测定。

合成寡核苷酸鉴别工作流程解决方案：序列和变异体测定

测定寡核苷酸序列面临的挑战在于识别高度相似的序列之间细微的质量差异。在某些情况下，需要同位素分辨技术才能将目标寡核苷酸序列与高度相关的杂质区分开来。

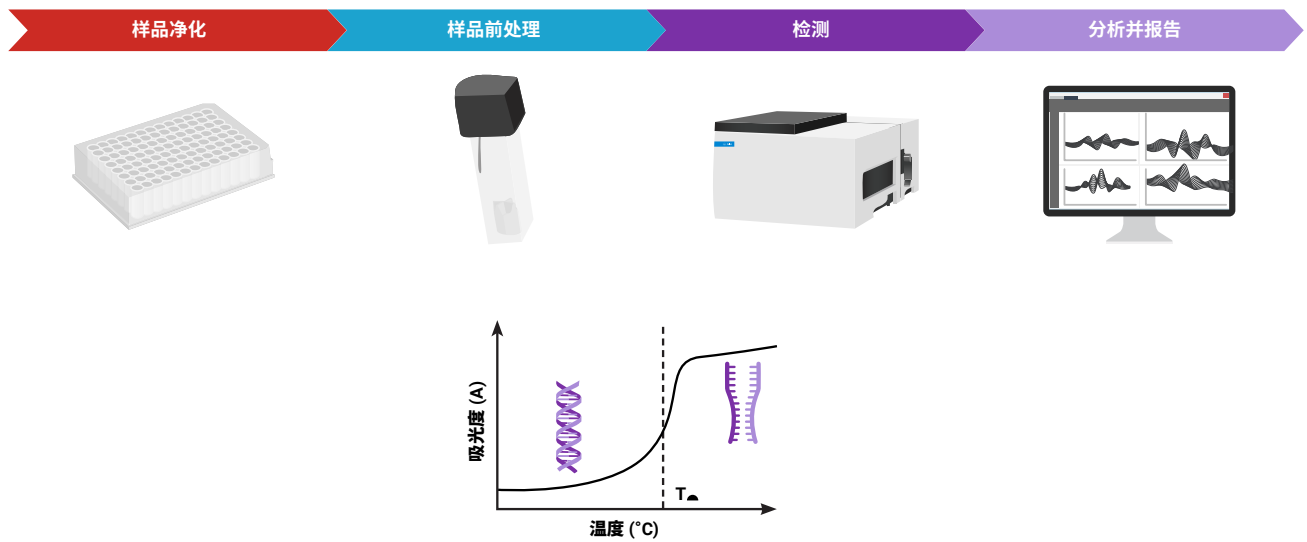


高性能 LC 和 LC/Q-TOF 系统（例如 [Agilent 1290 Infinity II 生物液相色谱](#)和 [Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF](#)）可用于高准确度和高精度评估全长产物和杂质。[MassHunter BioConfirm 软件](#)是寡核苷酸目标物与杂质分析工作流程的重要组成部分。

第 4 章：寡核苷酸序列和鉴别确认解决方案

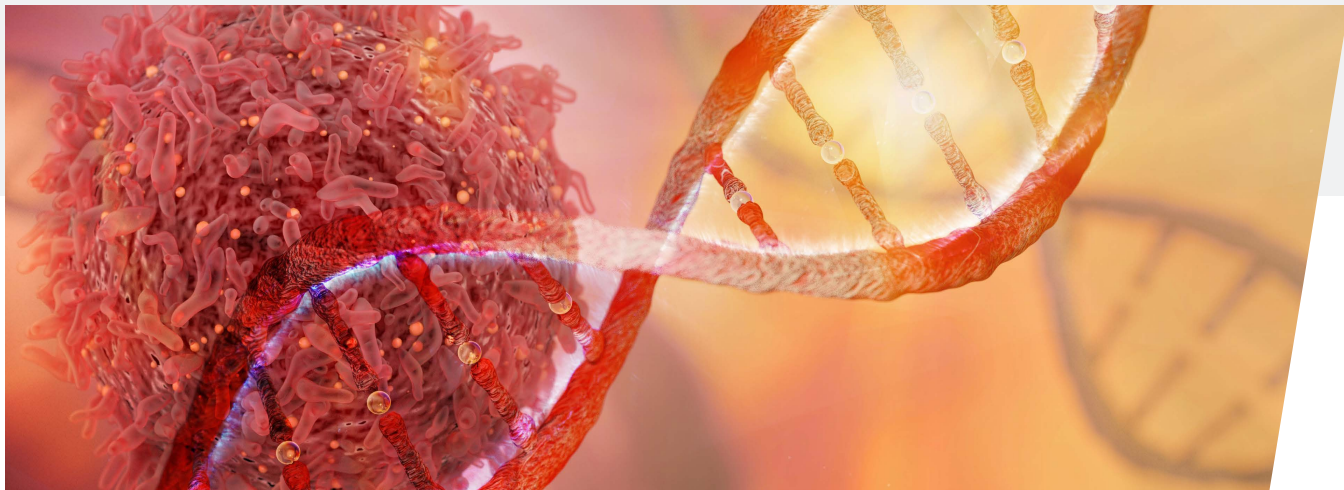
合成寡核苷酸鉴别确认工作流程解决方案：熔点分析

熔点分析是一种用于揭示寡核苷酸的核苷酸组成及其二级结构的方法。通过观察熔点的变化，可以判断是否存在特定的序列变化，进而影响了核苷酸样品内的高阶结构相互作用。这些变化可能反映了制备过程中的均一性或合成寡核苷酸稳定性的改变。在寡核苷酸纯化过程中，常见的一种修饰是产物之间的交联。



Cary 3500 UV/Vis 分光光度计是一款简单易用的系统，具有集成式风冷帕尔贴温控系统，非常适合熔点分析。

- 永久光学对准、没有移动部件，减少了维护需求
- 可以 30 °C 的增量快速准确地测量 0–100 °C 之间的温度



第 5 章：从分析到纯化的过渡

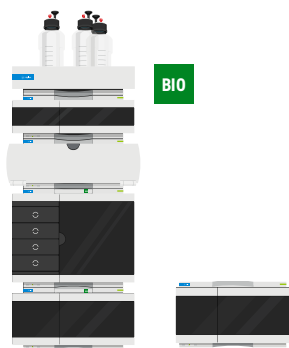
在治疗性寡核苷酸的开发中，纯化目标寡核苷酸是众多目标之一。对寡核苷酸进行鉴定和表征后，工作流程就可以过渡到制备规模进行纯化。这一过渡的关键在于，在扩大规模和提高通量的同时，满足性能和收率的基准要求。

然而，从分析规模转向制备规模的寡核苷酸纯化也伴随着诸多挑战。在制备规模工作流程中，需要在多个关键阶段进行分析采样，以确保满足高质量纯化标准。这涉及目标物确认、纯度分析和纯化样品筛选等。相关重要步骤包括：

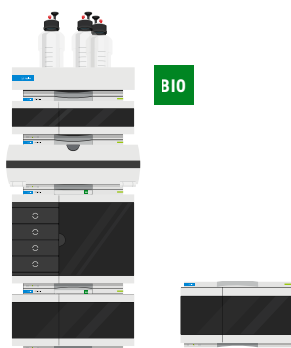
- 验证样品配方中的溶剂、浓度和添加剂
- 根据寡核苷酸类型确认液相色谱方法的兼容性
- 验证理想的液相色谱柱流动相、分离、分离度和最大载样量
- 确定制备柱尺寸和载样量
 - ◇ 对此，您可以使用[制备型液相色谱放大计算器](#)，这是一种高效工具，可用于放大分析方法，同时减少所需的手动计算量
- 将分析条件放大到制备柱，并确认与仪器设备的兼容性
- 纯化目标化合物，确保达到纯度和收率目标

多功能寡核苷酸纯化解决方案包括从分析型到全制备型的多款液相色谱系统，可满足不同规模的纯化和生产需求。

第 5 章：从分析到纯化的过渡



配备馏分收集器的
1260 Infinity II 生物
惰性分析型液相色谱
系统

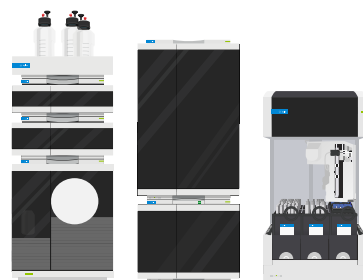


1290 Infinity II 生物液相色谱系统
(制备型)

AdvanceBio 寡核苷酸色谱柱
(21.2 × 150 mm, 4 μm, 120 Å)

色谱柱选项：
PLRP-S 制备柱
(25 × 150 mm, 6 μm, 100 Å)

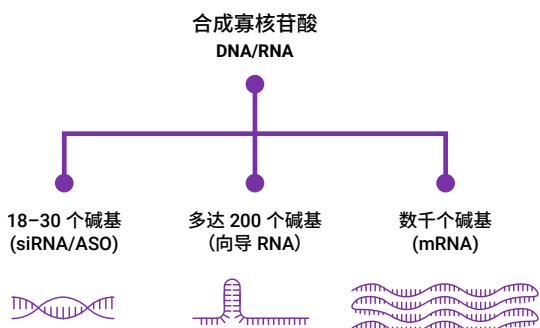
或



1290 InfinityLab LC/MSD XT 系统
(制备型)

OpenLab ChemStation

寡核苷酸色谱柱采用经优化的化学填料和孔径，可满足不同长度寡核苷酸以及不同规模的纯化需求。这些色谱柱可实现出色的分离性能，并提供多种规格，适用于不同规模的纯化。



✓ 反相

✓ 阴离子交换

	小分子合成寡核苷酸 (siRNA/ASO/适配体/ miRNA)	向导 RNA (100-200 bp)	mRNA
AdvanceBio 寡核苷酸	✓	✓	
PLRP-S	✓	✓	✓
Bio-SAX	✓	✓	
PL-SAX	✓	✓	

第 5 章：从分析到纯化的过渡

离子对反相 (IP-RP) 与阴离子交换分析的考虑因素：

寡核苷酸长度

- 较长的寡核苷酸难以在温和条件下从阴离子交换填料中洗脱出来，这会导致回收率较低
- IP-RP 更适合长度 > 200 个核苷的寡核苷酸

检测方法

- 通常用于阴离子交换的缓冲液和高盐浓度不适用于 MS 分析
- IP-RP 更适合用于 MS 检测

成本以及环境、健康和安全

- 离子对试剂和有机溶剂的成本可能过高，这可能会使阴离子交换更具优势
- 在制备规模下，有机溶剂的消耗量较高
- 挥发性离子对试剂不太环保

AdvanceBio 寡核苷酸色谱柱采用高效、高分离度的表面多孔颗粒填料。

- 提供 2.7 和 4 μm 两种粒径，孔径为 120 \AA
- 完全可扩展的色谱柱填料平台，提供从分析级到 21.2 mm 内径制备规模的多种规格

Agilent PLRP-S 离子对反相色谱柱使用有机溶剂和挥发性离子对剂，与 UV 和 LC/MS 兼容。

- 离子对反相填料
- 四种孔径：100、300、1000 和 4000 \AA
- 六种粒径：3、5、8、10、20 和 30 μm
- 大分子寡核苷酸（如 mRNA）以及大规模纯化的理想选择

Agilent PL-SAX 聚合物阴离子交换柱利用与化学性质稳定的全多孔聚合物共价连接的强阴离子交换官能团，扩展了操作 pH 范围和温度范围。

- 出众的聚合物阴离子交换填料
- 两种孔径：1000 和 4000 \AA

第 5 章：从分析到纯化的过渡

- 四种粒径：5、8、10 和 30 μm
- 适用于从小分子合成寡核苷酸到向导 RNA 的各种纯化需求
- 无需质谱检测时的理想选择
- 可扩展并提供制备型规格

Bio SAX 色谱柱采用非多孔颗粒填料，与全多孔颗粒相比，提高了传质性能。

- 适用于分析规模的高分离度分离
- 适合紫外分析
- 四种粒径：1.7、3、5 和 10 μm
- 提供多种 PEEK 硬件尺寸供选择，粒径为 5 和 10 μm



第 6 章：寡核苷酸 API 生产

安捷伦提供用于后期阶段及商业化应用的寡核苷酸生产服务，以及用于支持早期研发工作的全面测试。这些寡核苷酸的生产均遵循 ICH 制定的现行药品生产质量管理规范 (cGMP)，确保提供优质的活性药物成分 (APIs)。凭借两个生产基地及各种合成与纯化设备，安捷伦具备充足的能力和产能，可满足毒理学研究、临床前研究以及后期临床试验和商业化生产的全方位需求。

目前提供的产品包括：



早期临床开发

安捷伦可为您的整个临床试验开发项目提供材料。



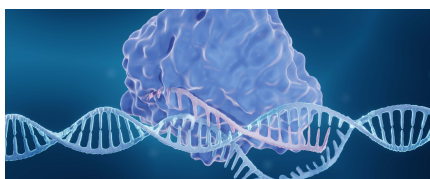
分析与化学品开发

从试验性新药 (IND) 到新药申请 (NDA) 和生物制品许可申请 (BLA)，由安捷伦专家负责分析方法的转移、开发、确认和验证。安捷伦致力于可靠地鉴定杂质，并使用定量质谱法对关键杂质进行分析。



后期和商业化开发

安捷伦可为后期和商业 APIs 的开发和生产提供帮助。



用于人体治疗药物的 ClinGuide CRISPR sgRNA

Agilent ClinGuide CRISPR sgRNA 为您提供所需的高质量，满足人类临床试验的严格要求。为实现稳定、可扩展、高效、安全的 sgRNA 生产，安捷伦遵守严格的 cGMP 规范，例如文档、可追溯性和质量标准。



图片 © 安捷伦科技（中国）有限公司，2024

第 7 章：支持寡核苷酸开发流程的解决方案

安捷伦提供基于寡核苷酸工作流程的套装，其中提供了针对寡核苷酸生产流程中不同阶段的仪器和消耗品，涵盖纯度分析、杂质检测、鉴别和序列确认以及分析级和制备级分离。

样品前处理、仪器、消耗品、软件、服务和财务选项

安捷伦为实验室提供所需的一切，助力实验室建立并运行当前的方法

- 样品前处理相关专业知识，并与前沿供应商合作
- 高性能、易用的仪器和软件
- 完整的安装、调试和确认服务
- 预设方法定义了设置和报告工具，帮助实验室快速投入运行
- 杂质元素 SOP/启动文档，用于指导实验室完成方法设置
- 备件和溶液，包括用于制备 USP/ICH 校准标样的 CRM 储备液
- 一系列合规软件选项，满足任何规模和类型的实验室的需求
- 全球行业和技术专家团队，为您提供培训和支持

安捷伦提供的仪器融资分期服务可帮助您大大提高投资回报并降低总使用维护成本。

- 灵活的支付计划可帮助您获得最新技术，同时允许您在使用仪器时逐步支付费用，无需一次性大额资本支出
- 通过定期和持续的仪器更新和改进来保持性能
- 保留缩减的资金预算以满足其他关键业务需求

第 7 章：支持寡核苷酸开发流程的解决方案

- 对于紧急项目或预算有限的情况，可以使用分期付款计划
- 提供合并选项，可将硬件、软件、服务和消耗品的费用合并分摊到每月支付一笔款项

Agilent CrossLab 时刻准备好为您量身定制实验室仪器融资分期解决方案，以契合您的分析与业务需求。

[了解更多信息](#)

安捷伦提供的认证翻新仪器经过原厂翻新和严格测试，可提供出色的可靠性。

- 为提升您的分析效率，安捷伦的认证翻新色谱、光谱系统和模块提供安装和培训选项
- 翻新仪器提供为期一年的工厂保修服务（与新仪器质保完全相同），并通过了全面的操作确认与性能验证，确保您实验室性能的零风险

[认证翻新色谱和质谱仪器](#)

安捷伦二手 GC、GC/MS、LC 和 LC/MS 仪器 — 专业翻新，性能如新。

[认证翻新光谱仪和生命科学仪器](#)

通过经认证的翻新光谱仪和生命科学仪器获取创新技术

安捷伦提供实验室仪器换购和回购计划，您可以用过时仪器以旧换新，从而升级为最新技术。

- 出售旧的闲置色谱仪、质谱仪、细胞分析仪和电泳仪等仪器或以旧换新
- 将旧仪器的价值转移到新仪器，充分释放实验室潜力
- 实现环保处置，助力可持续发展目标

[了解更多信息](#)

总结

治疗性寡核苷酸领域正在迅速发展，许多独特的候选药物正处于开发阶段。新型寡核苷酸的鉴定、表征和合成面临诸多挑战，必须克服这些挑战以确保纯化效果，并维持寡核苷酸在下游应用中的活性。扩大寡核苷酸的纯化和生产规模时，还需考虑更多因素以确保临床有效性和生产合规性。

安捷伦提供从仪器和消耗品到服务和支持的广泛解决方案，旨在应对寡核苷酸合成面临的挑战，并推动寡核苷酸治疗药物的开发。

第 7 章：支持寡核苷酸开发流程的解决方案

参考文献

1. [Roberts, T.C., Langer, R., Wood, M.J.A. \(2020\). Advances in oligonucleotide drug delivery. Nature Reviews Drug Discovery, 19, 673-694](#)
2. [Crooke, S.T. \(2017\). Molecular Mechanisms of Antisense Oligonucleotides. Nucleic Acid Therapeutics. 27\(2\), 70-77](#)
3. [Egli, M., Manoharan, M. \(2023\). Chemistry, structure, and function of approved oligonucleotide therapeutics. Nucleic Acids Research, 19\(6\), 2529-2573](#)
4. [Analysis of Lipid Nanoparticle Composition: Quarternary method development for highest resolution with evaporative light scattering detection. Application Note. Agilent Biopharma](#)
5. [Moumne, L., Marie, A., Crouvezier, N. \(2022\) Oligonucleotide Therapeutics: From Discovery and Development to Patentability. Pharmaceutics, 14\(2\), 260](#)
6. [Impurities: Guidelines for Residual Solvents Q3C\(R6\) \(2016\). International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use](#)
7. [Guideline for Elemental Impurities Q3D\(R1\) \(2019\). International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use](#)
8. [Beaucage, S.L., Caruthers, M.H. \(1981\) Deoxynucleoside phosphoramidites – A new class of key intermediates for deoxypolynucleotide synthesis. Tetrahedron Letters, 22\(20\), 1859-1862](#)
9. [Gait, M.J., Sheppard, R.C. \(1977\) Rapid synthesis of oligodeoxyribonucleotides: a new solid-phase method. Nucleic Acids Research, 4\(4\), 1135-1158](#)
10. [Matteucci, M.D., Caruthers, M.H. \(1981\) Synthesis of deoxyoligonucleotides on a polymer support. J. Am. Chem. Soc., 103\(11\) 3185-3191](#)

寡核苷酸分析关键应用简报

纯度和杂质分析

- [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](#)
- [穿透容器直接鉴定市售寡核苷酸原料](#)
- [分析寡核苷酸合成原辅料](#)
- [通过安捷伦高分辨 LC/Q-TOF 质谱分析寡核苷酸及其杂质的一体化工作流程](#)
- [使用 Agilent 1290 Infinity II ELSD 分析脂质纳米颗粒组分](#)

鉴别和结构表征

- [使用安捷伦高分辨 LC/Q-TOF 进行寡核苷酸序列确认的全面、一体化工作流程](#)
- [合成寡核苷酸的快速与高分离度反相色谱分离](#)
- [合成寡核苷酸的高通量质谱分析](#)
- [四种不同的液相色谱系统分析核苷酸的可比性研究](#)
- [用于寡核苷酸 LC/UV 和 LC/MS 分析的不同离子对试剂的评估](#)
- [使用 Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF 对抗体-siRNA 偶联物进行质谱表征](#)
- [使用高分辨 LC/MS 快速分析 mRNA 5' 端加帽](#)
- [使用高分辨 LC/MS 分析 mRNA Poly-A 序列变异体](#)

第 7 章：支持寡核苷酸开发流程的解决方案

- [使用 Agilent 7100 毛细管电泳系统通过毛细管凝胶电泳分析寡核苷酸](#)
- [使用荧光 BioMelt 套装对淬灭剂 \(DABCYL\) 标记的 PNA 探针和荧光素标记的 DNA 之间的杂交进行荧光测量](#)
- [Agilent RapidFire 联用四极杆飞行时间质谱仪对寡核苷酸进行无需离子对试剂的高通量 HILIC 分析](#)
- [使用离子对反相色谱和 Agilent 1260 Infinity II Prime 液相色谱仪进行寡核苷酸分析](#)
- [使用离子交换色谱和 Agilent Infinity II UHPLC 分析寡核苷酸](#)
- [使用紫外-可见光谱法快速测定双链核酸的解链温度](#)

纯化

- [使用高效液相色谱纯化单链 RNA 寡核苷酸](#)
- [无需手动纯化直接分析合成的寡核苷酸](#)
- [使用制备型 HPLC/MS 和软件支持快速选择性纯化寡核苷酸](#)

更多应用简报、产品样本、色谱柱选择工具以及自选网络研讨会的资源页面：

- <https://www.agilent.com/about/newsroom/media-room/oligonucleotides.html>
- <https://www.agilent.com/en/solutions/biopharma-pharma/synthetic-oligonucleotide-therapeutics>
- <https://www.agilent.com/en/product/biopharma-hplc-analysis/oligonucleotide-analysis/oligonucleotide>



如需了解有关本电子书中产品的更多信息，请访问：

www.agilent.com/oligonucleotides