Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

UPLC 肽分析方案

UPLC® 肽分析方案

- ACQUITY UPLC® 系统
- 肽分离技术，130Å 或 300Å
- 灵活的检测能力，配备 TUV，PDA 或 MS 检测器
- 强大的数据处理与管理软件

应对肽图谱法中的色谱挑战

肽图谱法是生物制药产品综合表征的重要技术。在肽图中，每个肽段必须完全分离为一个单峰，由于蛋白酶解产物很复杂，因此，这就成为一个非常重要的色谱挑战。

除了蛋白质酶解所产生的大量肽段外，还有许多变化的肽结构(翻译后修饰，氧化等)。得到肽图中合适的分离度是一个耗时的过程。有些方法较好，但分析用时较长，而且往往达不到所要求的重现性。

现在，您可以轻松地获得您实验室所需的分离度。利用沃特世(Waters®) UPLC® 肽分析解决方案，是以 UltraPerformance LC® 技术为保证的“性能保证解决方案”(APS)系列产品之一，完美整合了分析设备与化学品。这种优化的综合性系统解决方案能够提供给您所需要的明确信息，这样您将尽可能多地了解您的蛋白质样品。

性能保证解决方案

沃特世“性能保证解决方案”(APS)，是一个产品系列，集成了行业领先技术——仪器、化学品、软件、定性分析工具及服务——针对特殊应用性能进行了优化。这一方案由科研人员为科研人员设计，是满足您应用需求的最佳方案。

您无论从事制药、蛋白组学、化学分析或其它领域的研究，在不断创新的应用发展中，无论遇到什么挑战，沃特世都能以其独特的技术与经验助您一臂之力。

不断扩展延伸：分离度、重现性及灵敏度

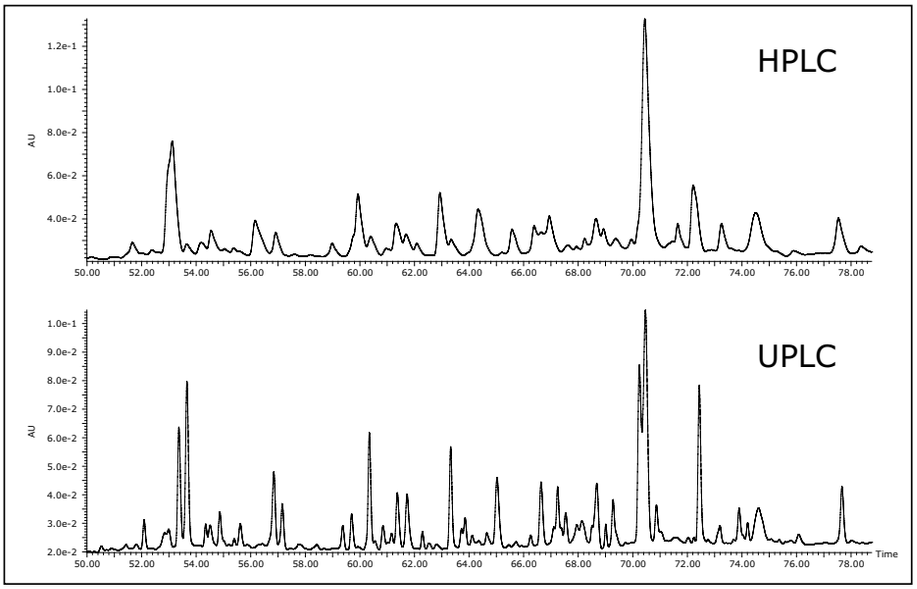
UPLC 肽分析解决方案具有更高的分离度和灵敏度，有助于进行更加全面的蛋白质表征。

更高的分离度

与 HPLC 相比，UPLC 具有更强的肽图分析能力。超高的分离度是由于采用了 UPLC 小颗粒填料而得到超窄的色谱峰。同样，肽分离技术所采用的填充材料的表面化学特性使图谱具有极佳的峰形，广泛适用于各类肽结构分析。

利用优化的设备 ACQUITY UPLC 系统，可实现极佳的色谱柱性能，该系统可降低系统体积，最小化检测器谱带展宽，加快数据采集速度，确保高效分离，同时还可最大限度提高系统灵敏度。

肽图分离能力的提高



乙醇脱氢酶的胰蛋白酶解产物，用 UPLC 分离，更多的小峰被分离开。

智能化设计，实现最佳性能

沃特世研发人员关注肽分析的各个方面——从化学品、设备、软件及方法到可使用性、文档记录、应用支持、远程服务等，由此创建完整的应用解决方案。

UPLC 肽分析解决方案，是基于获奖的 ACQUITY UPLC 系统分析技术以及新型肽分离技术色谱柱创建的，具有极佳的色谱分离性能。除此之外，系统还具有灵活的检测选项——如TUV、PDA、MS，这些都针对 UPLC 系统进行了优化。

重现性

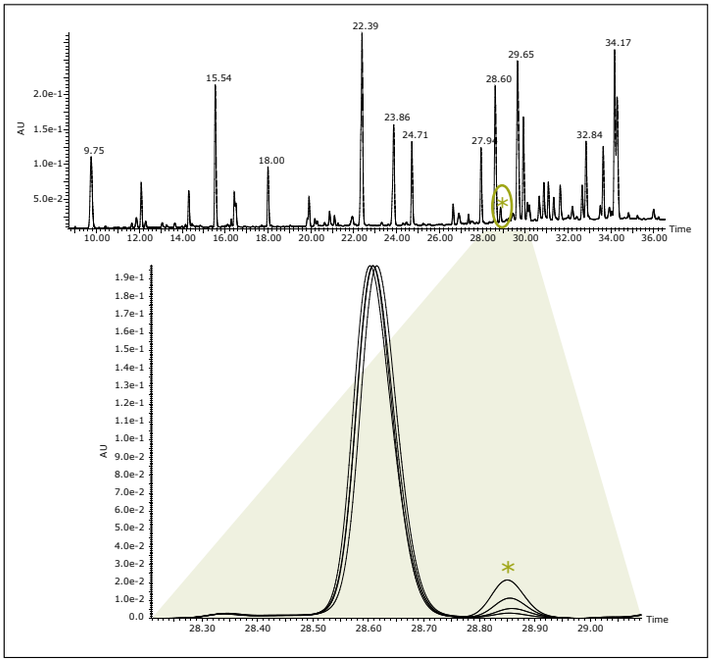
对流速和梯度方法的高级控制技术，结合稳定的色谱柱，可以获得重现性良好的图谱。由于色谱柱是利用肽图进行质量控制，因此长期稳定性试验也能确保完成。

各种肽的定性与定量分析

UPLC 肽分析方案的所有组件对于痕量肽的定量与定性分析起到了至关重要的作用。通过这样的集成，可以对各种蛋白进行检测与分析。

- 高分离性能的 UPLC 的流路性能，可确保保留时间的重现性。
- UPLC 可同时分离大峰和小峰并准确积分。
- 肽分离技术填料颗粒可在极限摩尔比条件下，进行色谱分离，并保证峰不会扭曲变形。
- 系统先进的光学及质量检测技术具有很宽的动态范围，在极限摩尔比条件下，可确保检测到肽，甚至是在最低的定量限。

稳定的痕量肽定量检测



蛋白质酶解产物(含有一种痕量肽)，用肽分离色谱柱进行分离。如图所示，可对最低检测量达 0.2% 的痕量肽进行检测和定量分析。为了实现该定量分析，并确保灵敏度和分离度，峰形必须在较宽的上样量范围内保持。

利用结果进行更多的分析

沃特世软件有助于您对 UPLC 分析结果加以充分利用。沃特世实验室信息系统套件(Waters Laboratory Informatics Suite)包括信息管理方案，该方案将所有实验室资源无缝集成在一个应用环境中，具备高度一致性和可扩展性。

Empower 软件对 ACQUITY UPLC 系统进行控制，包括数据获取、处理和报告功能。所有操作流程均基于市场领先的色谱数据软件(CDS)平台进行。Empower 软件可以从单个工作站向企业级 CDS 方案进行扩展，为方法开发、报告、定制计算方法提供更高级的功能。同时，还可为数据管理和自动化方法验证管理提供“企业级选项”。

MassLynx™ 软件，适用于高级质谱应用，有助于研发人员获取信息、分析信息、管理信息和发布信息。MassLynx 软件还可对复杂的设备配置进行灵活控制，并有相应的应用工具包(如 BiopharmaLynx™)满足您的特殊 MS 分析需求。

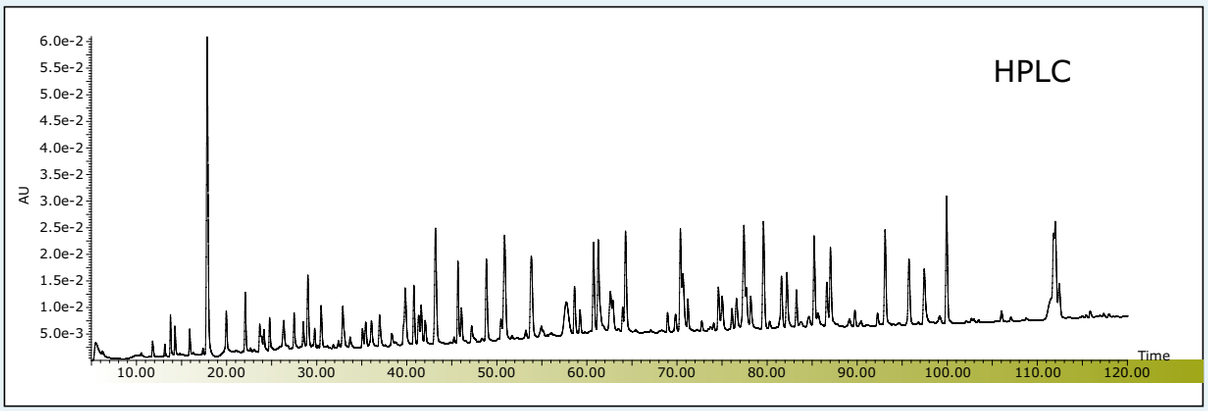
您还可以利用 NuCenesis® SDMS 对信息进行管理。SDMS 是一个科学信息管理平台，可对数据进行自动化获取与存储。利用 SDMS 平台，更便于进行信息访问，提高法规的依从能力，有助于知识资产管理。SDMS 能够将科学结果转化成可访问的、有价值的企业信息。

将 UPLC 应用于肽图分析

UPLC 肽分析解决方案可按您的需求灵活运用。

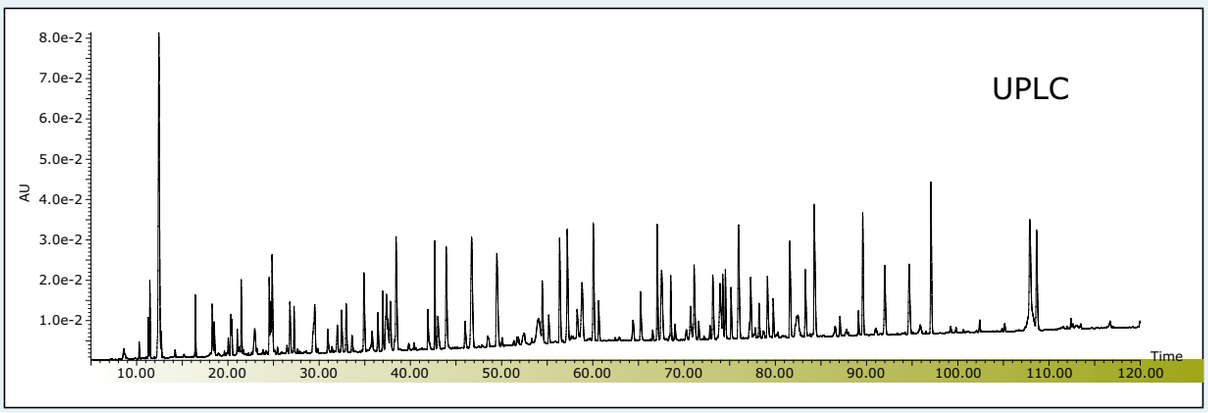
提高肽图分析能力中所具有的灵活性

肽图谱法是蛋白质表征过程中常采用的重要技术。对于多数实验室来说，如何改善实验能力则是他们各自的追求目标，然而，对于如何改善肽图分析能力，所采用的标准则不完全相同。无论您需要更高的分离度，更大的通量，还是要求对蛋白质的某些特征进行分析，采用 UPLC 多肽分析方案后，无需进行修改变更，便可以按照您所选方式来改善肽图质量。



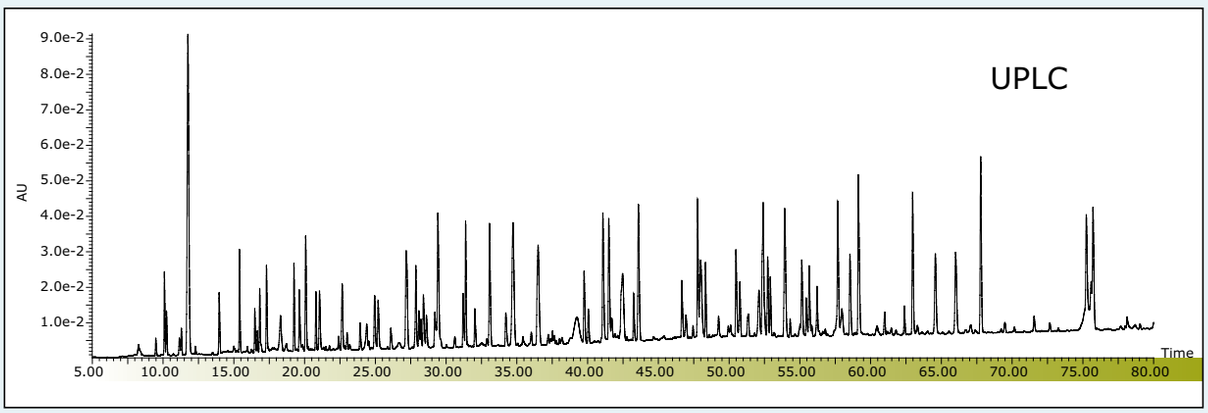
常规肽图

磷酸化酶 b 的胰蛋白酶解产物的 HPLC 分离图谱。



更高的分离度 – 相同时间

磷酸化酶 b 的胰蛋白酶解产物 UPLC 分离图谱。相同梯度和分析时间——提高分离度同时不延长分析时间。

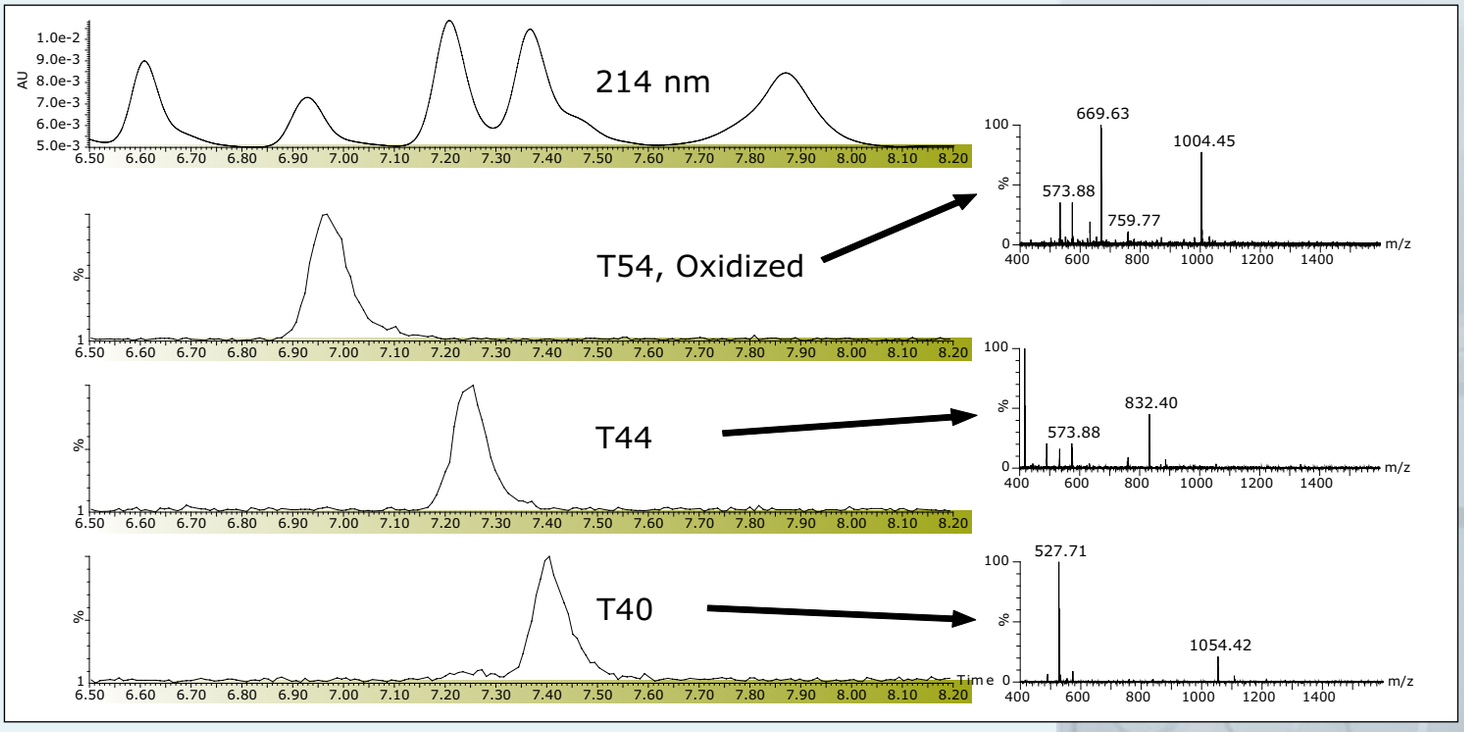


相似的分离度 – 更短时间

磷酸化酶 b 的胰蛋白酶解产物的 UPLC 分离图谱。较短色谱柱及按比例变化的梯度，可缩短分析时间，同时保持分离度。

重点检测

对于修饰的肽，需要与原肽分离开来进行定量分析。利用UPLC进行有重点的检测，可缩短分析用时，且不会降低分离度或丢失修饰后肽的定量分析信息和数据。



重点检测12.5 -16% B，7.67 分钟，50 mm,34 °C，总用时 14.33 分钟。

沃特世“肽分离色谱柱”是 UPLC 肽分析解决方案的组成部分。由于具有特殊的表面化学特性，因此对各种分子特性的肽均可得到超常的峰形。

增强的 MS 检测器

对于质谱来说，经 UPLC 分离的样品是理想的。基于小颗粒填料的分离技术使分离效果提高，从而使生成的质谱易于解析。小颗粒填料导致图谱峰值较小，这样可很好地提高信噪比。从而，更易于检测和识别肽段中的痕量组份。

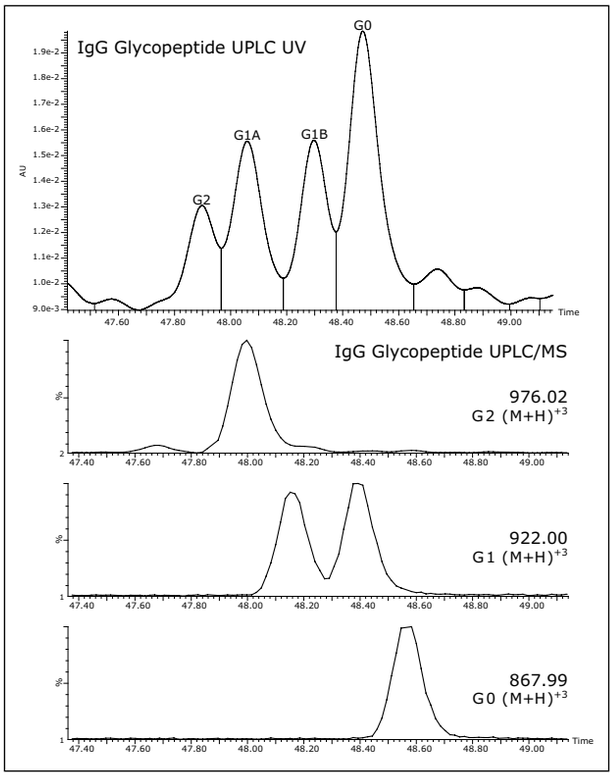
改善糖肽的肽图质量

通常情况下，糖肽色谱分析产生的峰较宽且有重叠，因此，要对位置特异性的糖基化产物进行分析就较为困难。“肽分离技术色谱柱”表面化学特性可得到更窄且更对称的峰，这样就可以简化分析过程。当色谱分离技术与质谱仪结合使用时，就可以获得糖肽的结构信息指纹图谱。

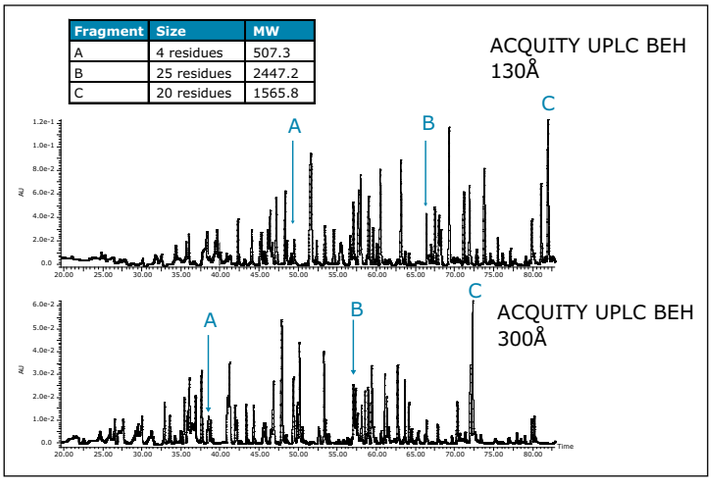
用“肽分离技术化学品”，进行方法开发的选择

色谱柱孔径分别为130 和 300 Å，并针对添加三氟乙酸(TFA)和甲酸(FA)的流动相进行了优化。所有“肽分离色谱柱”均利用肽段进行了质量控制检测和认证，以确保重现性。

糖型的成功分离实例



两种孔径适于灵活的方法开发实例



Fragment	Size	MW
A	4 residues	507.3
B	25 residues	2447.2
C	20 residues	1565.8

ACQUITY UPLC BEH130 与 BEH300 1.7μm 肽分离色谱柱比较(磷酸化酶 b 的胰蛋白酶解产物的分离)。

采用“肽分离色谱柱”对鼠 IgG 胰蛋白酶解产物进行分离。糖型通过 UV 和 MS 检测。提取离子的色谱图，可对糖型进行确认，表明两种 Gl 位置异构体已被分离。

“我们利用沃特世 ACQUITY UPLC 系统对抗体的一级结构、糖基化及其它次级修饰进行检测。即使当检测物很少时，UPLC 分离技术获得的色谱峰仍然非常尖锐。”

DINCYI WEN，博士，Biogen Idee 首席科学家

温博士利用内肽酶对抗体候选物进行酶解，然后使用 UPLC 进行分离，最后利用 MS 对肽检测，她认为，HPLC 系统不能提供研究所需求的分离度和灵敏度，用其进行分离会导致原料损失。

新技术带来新业务

要实现既定目标，实验室就必须处于最佳运行状态，必须平衡对长期目标和短期财务效果。一方面要满足前所未有的产品高要求，另一方面还要满足产品与服务的交付时间。这就要求从产品开发到投入生产的周期要短。沃特世 UPLC 肽分析解决方案能够同时满足实验室生产效率和分析质量的需求。

加快蛋白质特征分析速度

对于蛋白质来说，具有较高的结构特异性，这就需要对蛋白质的各种变体和降解物进行识别和分离。利用肽色谱分析技术，对蛋白质特异性进行描述，是有效发现和重点开发过程的关键性支持工具。沃特世技术能够帮助您对蛋白质进行全面、高效的表征，从而加速了申报过程。

风险管理

在整个开发过程中，是否关注过产品质量记录？这种需求十分严格，而且始终贯穿于产品的整个生命周期。沃特世将设备、分析仪器与软件集成到一个性能保证方案中，确保分析结果的一致性，符合验证分析的规则要求。科研人员对蛋白质十分了解，您对产品应当充满信心，保证在审查过程中不会出现未知问题。

质量确认

您的目标就是体现过程的一致性。然而，我们必须认识到，产品具有特异性，所采用的分析方法常常较为复杂。同时，还有许多生产计划需要完成，任何时间延迟都会导致费用增加，成本上升。 UPLC 肽分析方案能够提供您所需要的灵活性，有助于实施更为有效的开发方法。您完全可以依靠沃特世方案来创建符合验证规则的产品一致性。分析流程结束后，还可利用沃特世信息方案对结果进行归档，以便将来使用。

避免再检测所带来的高额成本

分析未果会带来何种影响？制造流程出现问题会带来巨大损失。可能会完全废弃整个流程。更为严重的是，可能会导致针对制造流程的不必要检查。您所需要的是一种稳定、可靠的分析方法。利用 ACQUITY UPLC 系统对分离技术进行检测，采用同样的规则对您的系统进行认证。沃特世可确保系统的重现性和可靠性。除此之外，还可获取产品的最佳信息，以便于满足批量生产的需求。

沃特世科技（上海）有限公司

地址：上海市浦东新区张东路
1387号41栋01室

邮编：201203

电话：021-6879 5888

传真：021-6879 4588

北京分公司

地址：北京市朝阳区八里庄西里98号
住邦2000商务中心3号楼22层

邮编：100025

电话：010-8586 8899

传真：010-8586 7099

广州分公司

地址：广东省广州市流花路
中国大酒店商业大厦406-407室

邮编：510015

电话：020-8626 6678

传真：020-8668 6217

沃特斯中国有限公司

地址：香港九龙柯士甸道102号901室

电话：852-2964 1800

传真：852-2549 6802

www.waters.com
www.waterschina.com

全国免费售后服务热线：

800（400）820 2676

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Waters, ACQUITY, ACQUITY UPLC, UltraPerformance LC, UPLC, 和 NuGenesis 是沃特世公司的注册商标。 BiopharmaLynx, Empower, MassLynx, 和 The Science of What's Possible 是沃特世公司的商标。所有其他商标属于各自的所有者。

©2009 沃特世公司 中国印刷

2009 年 3 月 720001836ZH LB-CP