

2D-LC およびネイティブ MS による抗体薬物複合体の特性解析

著者

David L. Wong and
Sarah M. Stow
Agilent Technologies, Inc.

概要

小分子医薬品を合成リンカーでモノクローナル抗体（mAb）に結合させて構成する抗体薬物複合体（ADC）は、有効な生物製剤として近年急成長を遂げている分野です。結合された薬物と mAb との比（薬物抗体比または DAR）は、有効性と安全性に影響を与えるため、ADC 開発の重要品質特性（CQA）の 1 つです。ADC 分子の特性解析には通常、2D-LC/MS が使用されています。このアプローチでは、疎水性相互作用クロマトグラフィー（HIC）カラムと逆相（RP）カラムが質量分析計と組み合わせて使用されます。しかし、多くの ADC 製品は、有機溶媒および酸性溶媒の条件下で分解されます。

このアプリケーションノートでは、この障壁を克服する新しい 2D-LC アプローチについて説明します。このメソッドでは、HIC、マルチハートカット（MHC）、その後のサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）による脱塩および分離をオンラインでネイティブ MS 分析とともに使用します。このワークフローでは、Agilent 1290 Infinity II 2D-LC システム、Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF、Agilent MassHunter ワークステーション 11.0 ソフトウェアおよび Agilent MassHunter BioConfirm 11.0 ソフトウェアを使用します。

はじめに

ADC は、がん治療において有望な結果をもたらす新しい分野の生物製剤とみなされています。ヒト治療薬の従来の mAb とは異なり、ADC は抗原特有の選択性および効率性において優れた結果を示します。なぜなら、これらの ADC が、生理活性細胞傷害性小分子医薬品が化学的に結合されているモノクローナル抗体であるためです¹。最初の優れた ADC の 2 つの結合のタイプは mAb のリジン側鎖（カドサイラ、T-DM1）と システイン残基（ブレutzキシマブベドチン、商品名はアドセトリス、武田薬品製）です。アドセトリスは、システイン残基の遊離チオール基を介して小分子医薬品（モノメチルオーリスチン E、MMAE）と結合された部分的に還元された mAb です。通常、1 つの抗体あたり、0、2、4、6、8 個の医薬品が入り混ざって観察されます（図 1）。mAb と結合される医薬品の平均数（DAR）は、安全性および効率性に直接影響を与えるため、ADC の最も重要な品質特性の 1 つです。

ADC の特性解析や DAR 値の決定は複雑ではなく分析可能にみえますが、「結合していない」mAb および小分子医薬品のいずれと比べても、本質的により複雑です。この複雑さは結合された化学リンカーと結合部位の不均質な分布に起因します。このため、ADC の特性解析と安定性（または DAR 値）のモニタリングが困難になる可能性があります。

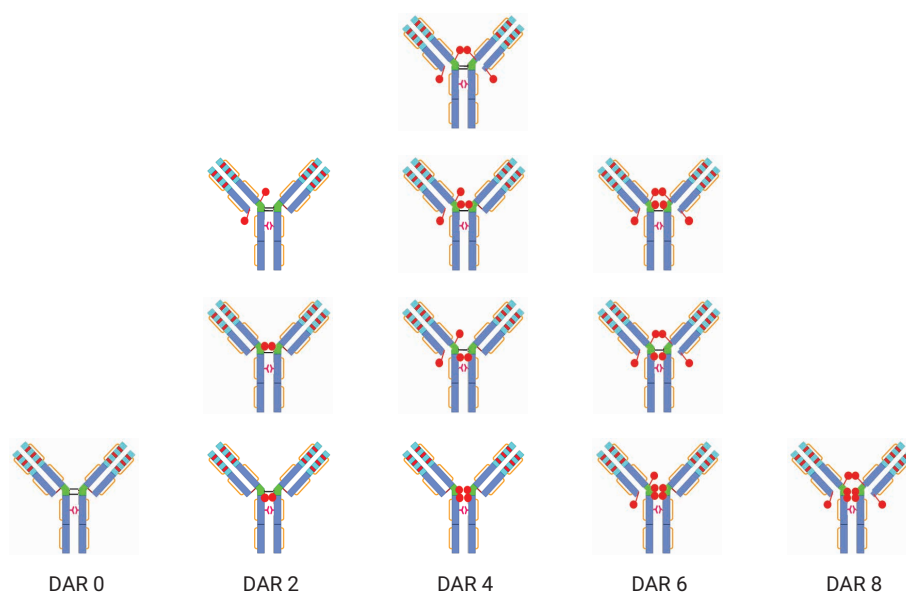


図 1. システイン結合された ADC（ブレutzキシマブベドチン）でのさまざまな医薬品分布

ADC の分析で、化学的安定性の問題を特性解析したり DAR 値を決定する場合は通常、UV-Vis、蛍光、DSC および、SEC 後の MALS 検出などのさまざまな分析方法があります。最近では、HIC が、システイン結合した ADC の DAR 値を確認するための重要な技術となっています²。多くの場合、抗体に化学的に結合された小分子医薬品は疎水性です。したがって、DAR 値が大きくなるほど ADC の全体的な疎水性が高まり、HIC は DAR のモニタリングに最適なツールとなっています。HIC では、高濃度の非揮発性塩緩衝液を分析することによってタンパク質を分離するため、この塩緩衝液はその後の MS 分析には使用で

きません。この分析上の課題を解決するために、二次元目に RP カラムを使用した 2D-LC ソリューションを開発しました。このオンライン 2D-LC/MSでは、MHC モードまたは高分離能モードを使用して一次元目の HIC 分離から目的のタンパク質（さまざまな DAR 値の ADC）のピークを選択できます。その後の脱塩と分離は MS 分析前に二次元目の RP カラムで行われます。

新しい MassHunter ワークステーション 11.0 ソフトウェアでは現在、2D-LC と MS の両方を同じソフトウェアで制御します。1 つの包括的ソフトウェアにより、クロマトグラフィーによ

る分離と MS 検出前の後続の脱塩を用いた ADC の分析などの多次元分析を、より容易に実行できます。Agilent ChemStation ソフトウェアのほとんどの 2D-LC 取り込み機能は、時間ベースとピークベース両方の 2D-LC だけでなく、MHC およびコンプリヘンシブ 2D-LC を含めて MassHunter で可能です。このソフトウェアリリースには、高分離能サンプリング付きの新しいマルチ注入メソッド、および MHC ワークフロー用の取り込み後ファイル分割などのいくつかの新しい機能が含まれています。マルチ注入メソッドでは、一次元目による広いピーク全体で複数の分画を収集でき、高分離能メソッドのように各分画を個別に注入するのではなく、単一の二次元目分析として分画をすべて一緒に注入できます。マルチ注入メソッドは、ハードウェアを変更することなく一次元目から二次元目に移すことができるサンプル量を増やし、二次元目に必要な分析回数の低減により総分析時間を短縮します。2D-LC と MS が同じソフトウェアから制御されるようになったため、1 つの Agilent

MassHunter .d データファイルだけが生成されます。MHC 分析では、このデータファイルは、取り込まれた順に個々の二次元目の分析をすべて 1 列に並べます。新しいファイルスプリッタユーティリティは、このデータファイルを個々の二次元目の LC/MS .d ファイルに分割し、一次元目の LC でカットが実行された順に基づいて名前を付けます。ファイルは、取り込みが完了した直後に分割されるため、ユーザはプロセスを合理化できます。現在、2D-LC データファイルは 1D-LC/MS データファイルに基本的に分割されるため、多くのデータ解析ワークフローが可能です。

2D-LC (HIC + RP) 分析がさまざまな ADC の分離および後続の脱塩において適切に実行される一方で、薬品ペイロードでの主要な分解 (MMAD) および mAb の変性が観察されました。ADC の分解は、二次元目の RP クロマトグラフィーで有機溶媒および酸性溶媒が主に使用されることによって生じることが確認されています。

本研究では、ネイティブなインタクトプレソキシマブベドチンの特性解析と DAR 値の正確な決定のために新しいネイティブ 2D-LC/MS 分析メソッドを開発しました。このワークフローは、サンプル分離のためのさまざまな Agilent AdvanceBio カラム (AdvanceBio HIC および AdvanceBio SEC) を用いた 1290 Infinity II 2D-LC システム、ネイティブ MS 分析のための巨大分子 SWARM オートチューン機能および m/z 30,000 までの拡張質量範囲を持つ 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF の使用を特徴とします (図 2)。

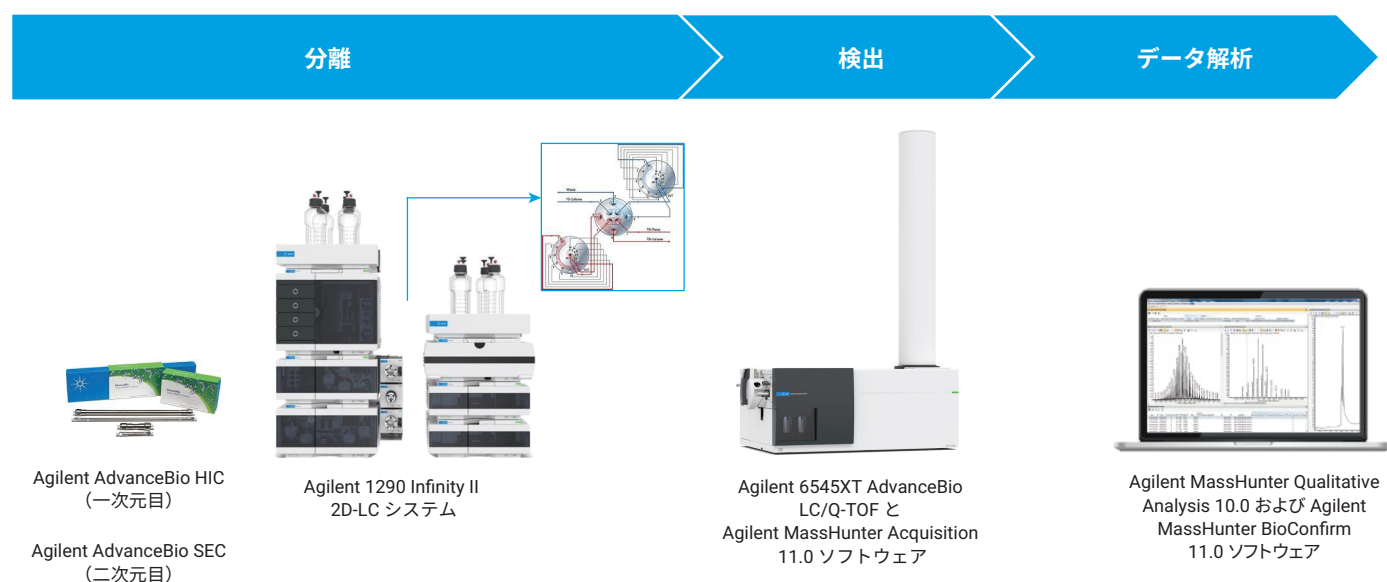


図 2. 2D-LC およびネイティブ MS タンパク質の分析ワークフローのための分析コンポーネント

実験方法

試薬と実験方法

硫酸アンモニウム、リン酸二水素ナトリウム一水和物、リン酸水素二ナトリウム七水和物、および酢酸アンモニウムは、Sigma-Aldrich 社（米国、ミズーリ州、セントルイス）からすべて購入しました。

ADC サンプル

凍結乾燥済みのプレントキシマブベドチンを溶媒 A に 50 g/mL となるように溶解しました。約 10 ~ 20 μ L のサンプルを 2D-LC/MS 分析ごとに注入しました。

注：処方されたアドセトリスには多くの補助剤が含まれているため、この濃度は純粋なタンパク質濃度および ADC 濃度ではありませんむしろ、ADC 医薬品サンプル中のすべての成分の総濃度を示します。

一次元目の (HIC) 緩衝液の調製

- **緩衝液 A：**100 mM リン酸緩衝液 pH 7 中に 2 M 硫酸アンモニウム
- **緩衝液 B：**100 mM リン酸緩衝液 pH 7 + 25 % イソプロパノール

2 L の 100 mM リン酸緩衝液を pH 7 で作成するために、11.68 g のリン酸二水素ナトリウム一水和物と 30.94 g のリン酸水素二ナトリウム七水和物を使用しました。総量が 2 L になるように脱イオン水を追加して、溶液を pH 7 に調整しました。緩衝液 A の場合、264.28 g の硫酸アンモニウムを 1 L ボトルに追加し、100 mM のリン酸緩衝液を追加して総量が 1 L となるようにします。緩衝液 B の作成には、250 mL のイソプロパノールと 750 mL のリン酸緩衝液を使用しました。

装置構成

Agilent 1290 Infinity II 2D-LC は次の装置で構成されています。

- 2 台の Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II マルチサンプラ (G7167B)、Agilent Infinity II サンプル冷却システム (オプション #100) を搭載
- Agilent 1290 Infinity II マルチカラム サーモスタット (G7116B)
- Agilent 1290 Infinity II DAD (G7117A)
- Agilent 1290 Infinity II DAD (G7117B)
- Agilent 1290 Infinity バルブドライブ (G1170A)、Agilent InfinityLab 2D-LC ASM バルブ 130 Mpa (部品番号 5067-4266) を搭載
- 2 台の Agilent 1290 Infinity バルブドライブ (G1170A)、40 μ L ループ付き Agilent マルチハートカットバルブ (G4242-64000) を搭載
- Agilent 1290 Infinity バルブドライブ (G1170A)、ダイバータバルブ 2 ポジション/6 ポートの 120 MPa 超高圧バルブヘッド (部品番号 5067-4241) を搭載
- Agilent 6545XT AdvanceBio LC/QTOF システム、Agilent Dual Jet Stream ESI イオン源を搭載

カラム

- 一次元目：Agilent AdvanceBio HIC、 4.6×100 mm、3.5 μ m (部品番号 685975-908)
- 二次元目 (変性条件)：Agilent PLRP-S 1000 Å、 2.1×50 mm、5 μ m (部品番号 PL1912-1502)
- 二次元目 (ネイティブ条件)：Agilent AdvanceBio SEC 200 Å、 4.6×300 mm、1.9 μ m (部品番号 PL1580-5201)

2D-LC/MS 分析

2D-LC/MS 分析は、1290 Infinity II 2D-LC システムと、Jet Stream ESI イオン源を搭載した Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF を組み合わせて実行しました。LC/TOF および LC/Q-TOF 用 MassHunter ワークステーションバージョン 11.0 ソフトウェアを、2D-LC の新機能（マルチ注入メソッドやファイルスプリッタユーティリティなど）および巨大分子 SWARM オートチューン機能と組み合わせて使用しました。

一次元目の LC から収集された HIC ピーク分画が二次元目の LC/MS 分析に注入され、分析されました。通常、変性条件下でのインタクト mAb やインタクト ADC の LC/MS 分析は、従来の RP HPLC メソッドを使用して実行されます。有機溶媒としてアセトニトリルと 0.1 % ギ酸を組み合わせて、PLRP-S カラムを使用しました。

ネイティブ LC/MS 条件下の ADC サンプルの特性解析は、AdvanceBio SEC カラムを二次元目で用いて 100 mM 酢酸アンモニウム溶媒を使用し 14 分間のイソクラティック分離を実行して得られました。

二次元目の AdvanceBio SEC カラムでは、分析の最初ではなく終わりに塩を溶出して、ダイバータバルブを後方に接続しました。これにより、二次元目の LC 分析の最初の 7 分間は MS に送られ、分析の終わりは（塩をともなって）廃液へ移動されます。この構成により、ダイバータバルブを使用しない場合に比べて、MS に移動する塩が少なくなります。

表 1 と表 2 に、使用した LC/MS の詳細なパラメータを示します。

データ処理

変性された ADC やインタクト ADC のすべての LC/MS データファイルは、MassHunter Qualitative Analysis 10.0 および BioConfirm 11.0 ソフトウェアを使用して処理されました。

表 1. 液体クロマトグラフィーのパラメータ

一次元目	
カラム	Agilent AdvanceBio HIC, 4.6 × 100 mm, 3.5 μm (部品番号 685975-908)
サーモスタット	4 °C
溶媒 A	100 mM リン酸ナトリウム緩衝液 pH 7.0 中の 2 M 硫酸アンモニウム
溶媒 B	100 mM リン酸ナトリウム緩衝液 pH 7.0 + 25 % IPA
グラジエント	0 ~ 17 分, 30 ~ 100 % B 17 ~ 27 分, 100 % B
カラム温度	室温
流量	0.4 mL/min
注入量	20 μL の 20 ~ 50 mg/mL プレンツキシマブドリン
UV 検出器	280 nm, 10 Hz
変性条件下の二次元目	
カラム	Agilent PLRP-S 1000 Å, 2.1 × 50 mm, 5 μm (部品番号 PL1912-1502)
サーモスタット	4 °C
溶媒 A	0.1 % ギ酸脱イオン水溶液
溶媒 B	0.1 % ギ酸 100 % アセトニトリル溶液
グラジエント	0 ~ 1 分, 0 ~ 20 % B 1 ~ 3 分, 20 ~ 50 % B 3 ~ 4 分, 50 ~ 70 % B
カラム温度	60 °C
流量	0.5 mL/min
ネイティブ条件下の二次元目	
カラム	Agilent AdvanceBio SEC 200 Å, 4.6 × 300 mm, 1.9 μm (部品番号 PL1580-5201)
サーモスタット	4 °C
溶媒 A	100 mM 酢酸アンモニウム緩衝液 pH 7.0
イソクラティック溶出	0 ~ 14 分, 100 % A
カラム温度	室温
流量	0.4 mL/min

表 2. 変性およびネイティブの MS データ取り込みパラメータ

Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF システム		
サンプルの種類	ADC (変性)	ADC (ネイティブ MS)
イオン源	Agilent Jet Stream ESI	Agilent Jet Stream ESI
乾燥ガス温度	350 °C	365 °C
乾燥ガス流量	12 L/min	12 L/min
ネブライザ	60 psig	35 psig
シースガス温度	400 °C	300 °C
シースガス流量	11 L/min	12 L/min
キャピラリー電圧	5,500 V	5,500 V
ノズル電圧	2,000 V	2,000 V
フラグメンタ	380 V	300 V
スキマ電圧	140 V	220 V
四重極 amu	m/z 500	m/z 3,000
質量範囲	m/z 100 ~ 10,000	m/z 3,000 ~ 10,000
取り込みレート	1.0 スペクトル/秒	1.0 スペクトル/秒
取り込みモード	ポジティブ、拡張 (m/z 10,000) 質量範囲	ポジティブ、拡張 (m/z 10,000) 質量範囲

結果と考察

ADC

本研究では、目的の ADC としてプレントキシマブベドチンを使用し、その物理的および化学的安定性を調べました。この ADC は、マレイミド-チオール結合によるシステインベースのもので、リガンド媒体薬物伝達システムに幅広く使用されています。また、その DAR の値の決定および特異的分解も詳細に調査されています。プレントキシマブベドチン結合内で、さまざまな小分子医薬品（モノメチルオーリスチン E、MMAE）はプロテアーゼ切断可能リンカーを介して IgG1 mAb 中のシステイン残基の遊離チオール基に部位特異的に結合されます。包括的な医薬品分布の範囲は、1 つの mAb あたり 0、2、4、6、または 8 つの医薬品分子です。

DAR の決定

HIC は、高塩濃度から低塩濃度までグラジエントを用いてタンパク質を分離する一般的な分析技法です。分析条件が穏やかなため（中性 pH）、ネイティブインタクト ADC の構造が保持される可能性があります。抗体に結合する医薬品分子が多くなると、ADC 分子の相対疎水性が高くなります。このため、HIC 法は、さまざまな ADC を分離して DAR 値を決定するための最適なツールです。

図 3 に、HIC（一次元目）における 25 分間の LC グラジエントによって得られた、さまざまな ADC（D0 ~ D8）の良好な分離を示します。少量の有機溶媒（25 % イソプロパノール）を溶媒 B に加えて D8 分子を効率的に溶出しました。HIC の結果から DAR 値を直接決定することができました。異なる DAR 変異体のピーク面積を積分することによって、総 DAR は約 3.7 になりました（図 3、挿入表）。この値はプレントキシマブベドチンに対する期待値と一致しています³。

mAb 医薬品複合体の特性解析のための新しい 2D-LC/MS システム

主な 2D-LC/MS の特長：

- MassHunter ワークステーション 11.0 ソフトウェアが、2D-LC と MS の両方を制御します（図 4）。
- 2D-LC 取り込みプログラムには、マルチハートカットモードとコンプリヘンシブモードの両方が含まれます。
- マルチ注入メソッドにより、一次元目による広いピーク全体で複数の分画を収集でき、すべての分画を一緒に二次元分析として注入できます。
- 新しいファイルスプリッタユーティリティでは、単一のデータファイルストリングを個々の二次元目の LC/MS .d ファイルに分割し、一次元目でカットが実行された時間に基づいて名前が付けられます（図 5）。

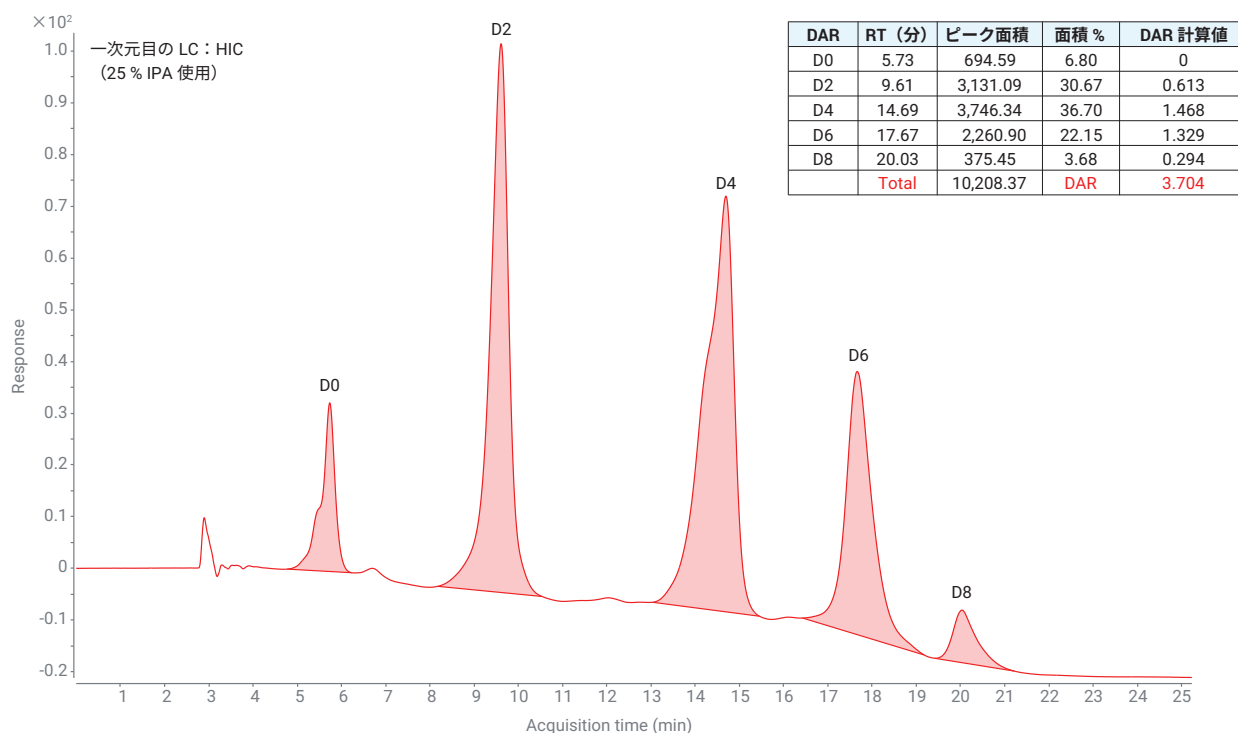


図 3. Agilent 1290 Infinity II 2D-LC システムでのプレントキシマブベドチンの HIC 分離および DAR 決定。D0 ~ D8 は mAb に結合された医薬品の数

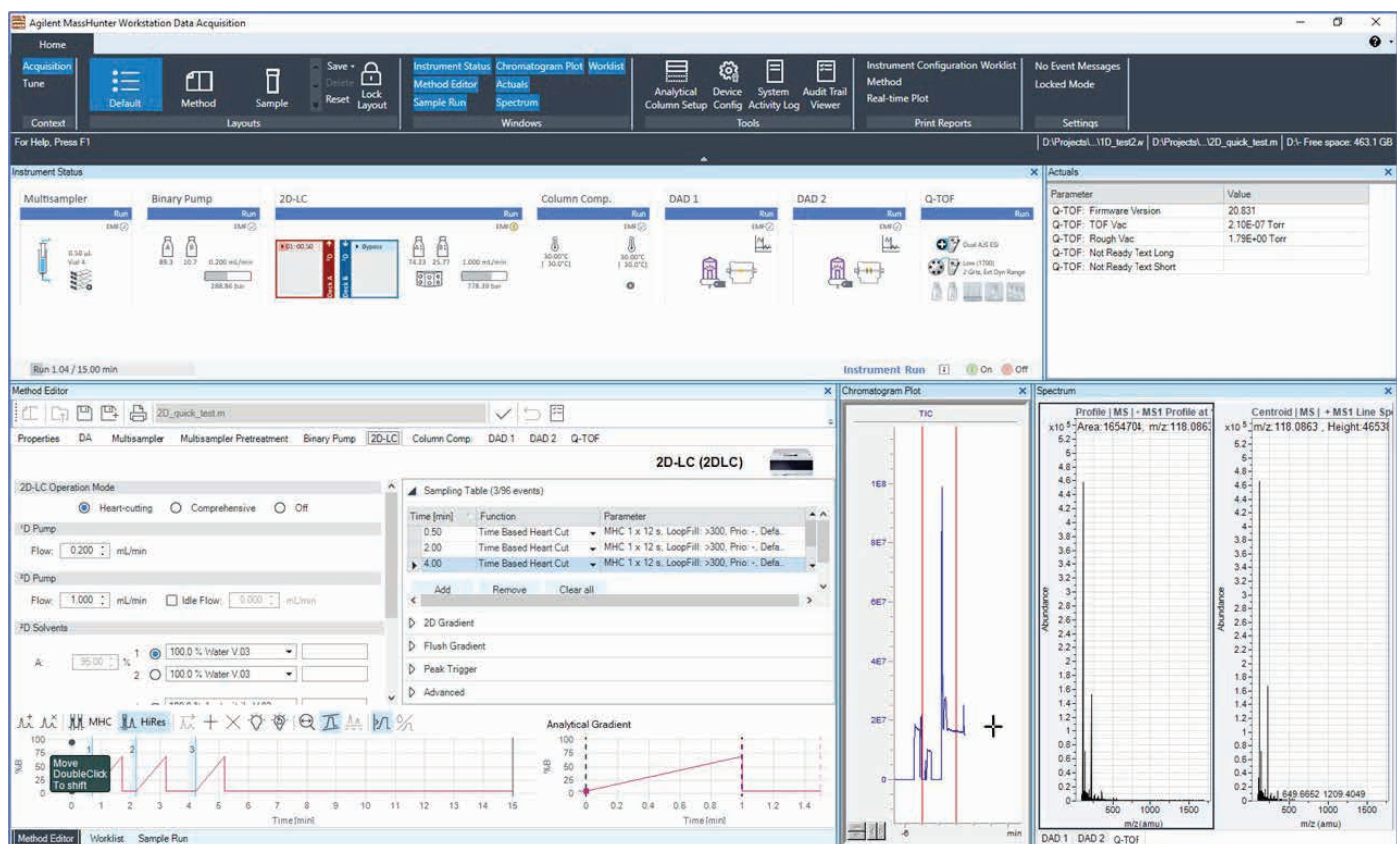


図 4. Agilent MassHunter ワークステーション 11.0 ソフトウェアのスクリーンキャプチャ。サンプル分析中に 2D-LC システムと MS システムの両方を制御する単一ソフトウェアプラットフォームを例示しています。

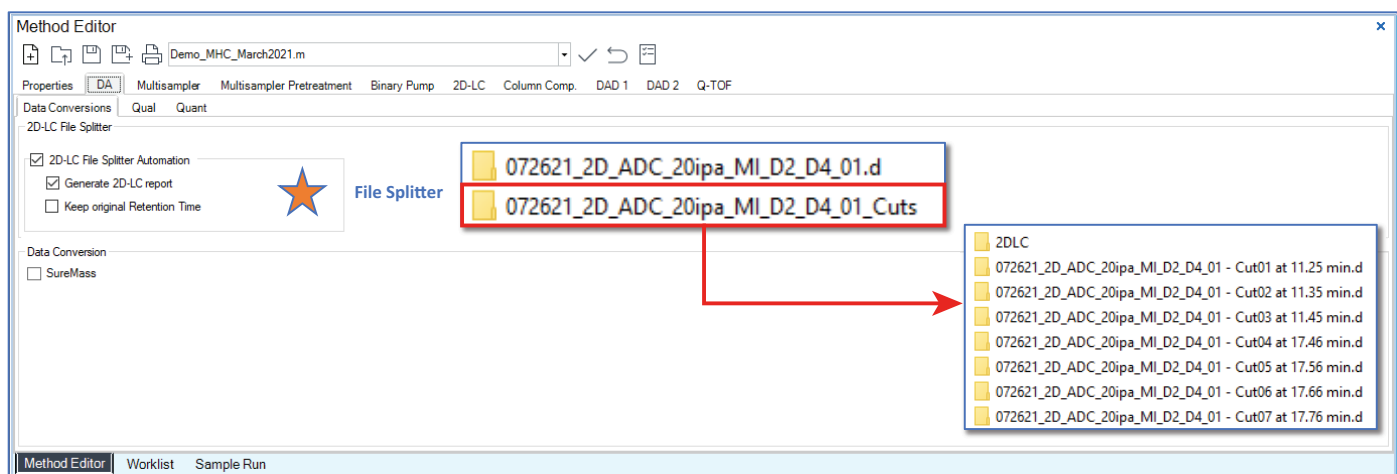


図 5. ファイルスプリッターユーティリティにより、単一のフルデータファイルが、個々の二次元目 LC/MS データファイルに分割され、一次元目の LC カットが作成された時間に基づいて名前が付けられます。分割された一次元目の LC/MS データファイルにより、多くのデータ解析ワークフローが可能になります。

変性条件下におけるインタクト mAb 医薬品複合体の 2D-LC/MS 分析

インタクト ADC をさらに調査して特性解析するために、一次元目の HIC 分析による各 DAR 変異体ピークを MHC モードまたは高分離能モードで収集しました。これらの分画は後で、二次元目の RP LC/MS 分析で分析されました。PLRP-S カラムを、8 分間のグラジエント、0.5 mL/min の流量で使用しました。

図 6 に、DAR 値が 6 (D6) のインタクト ADC の LC/MS プロファイルを示します。RP 条件 (有機溶媒と酸性溶媒) 下で、このインタクト ADC は、UV クロマトグラムの複数のピークで示されるように、変性されました (図 6、左)。ピーク 1 とピーク 2 について、mAb と小分子医薬品に対する、MS データのデコン

ポリューションおよび質量のマッチングは、20 ~ 160 kDa の MS デコンポリュート質量範囲を使用して行いました。この広い質量範囲により、mAb 軽鎖から DAR が 8 のインタクト ADC までをカバーできます。図 6 (右) のように、MS デコンポリューションの結果は、多くの分解/還元された mAb または ADC が検出され同定されました。これらの分解された分子には、1 つの医薬品と mAb 軽鎖、2 つの医薬品と半分の mAb 軽鎖、半分の mAb + 重鎖 + 1 つの医薬品、3 つの医薬品と mAb 重鎖などがあります。同様に、他の RP ピークで多くの分解された ADC が検出されました。これらの結果より、変性 LC/MS 条件下でほとんどの ADC が解離されたことが分かります。システイン結合された ADC では、小分子

医薬品は部分的に還元されたジスルフィド結合によって mAb と結合されます。このため、それまで強力だったジスルフィド結合のリンケージが破壊され、弱い静電相互作用によって一緒に保持された新しい ADC 構造が不安定となり、より有機/酸に不安定な分子となります。このように、これらのインタクト ADC 分子を特性解析するには、ネイティブ LC/MS 分析が必要です。

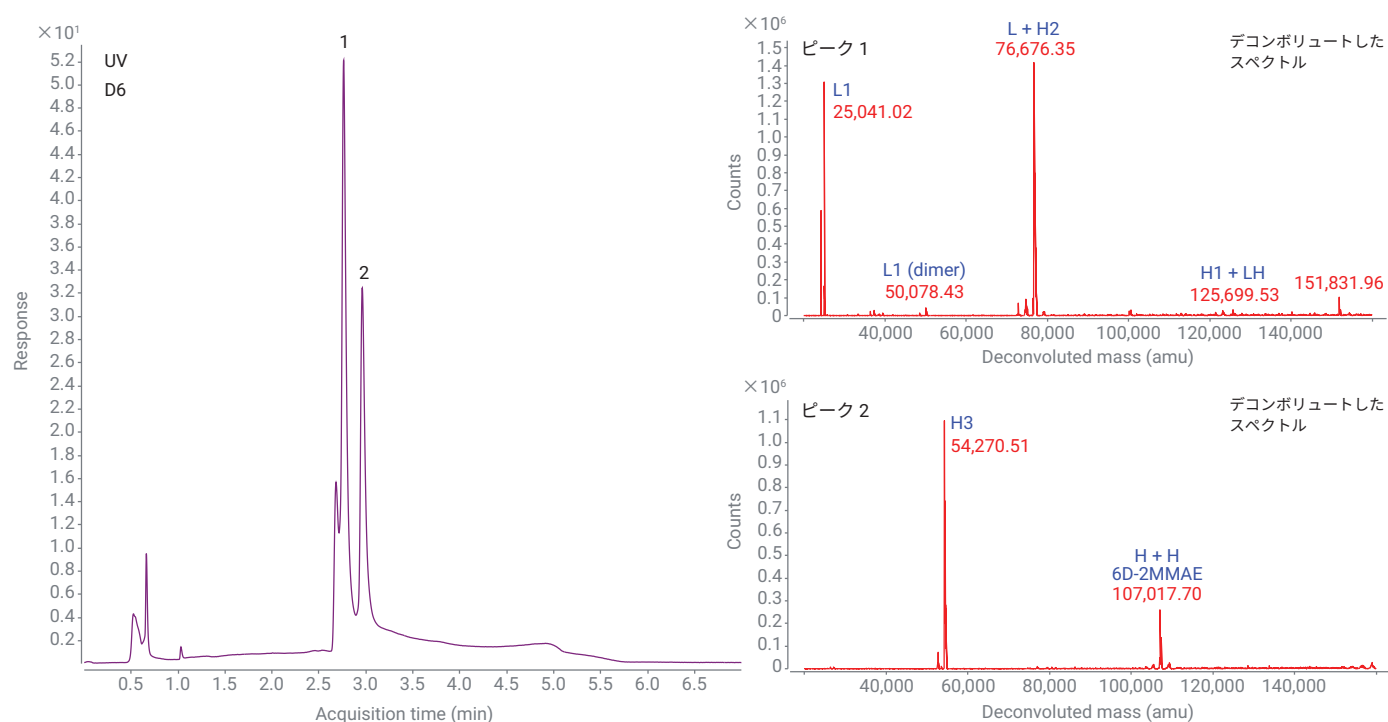


図 6. 二次元目の液体クロマトグラム (Agilent PLRP-S、UV) と HIC 分離された ADC サンプル (D6) のデコンポリュートした MS スペクトル。
変性 MS 条件下で LC/MS 分析が実行されました。分解されたさまざまな ADC 分子が検出されました。L1: 1 つの医薬品と mAb 軽鎖、L + H2: 2 つの医薬品と半分の mAb、H1 + LH: 半分の mAb + 重鎖 + 1 つの医薬品、H3: 3 つの医薬品と mAb 重鎖、H + H + 6D-2MMAE: 6 個の医薬品と 2 本の重鎖、ただし、2 個の MMAE 分子を損失

インタクト mAb 医薬品複合体のネイティブ 2D-LC/MS 分析

ネイティブ MS は、タンパク質-タンパク質相互作用、非共有結合タンパク質複合体の構造、タンパク質-リガンド結合、タンパク質折り畳み、抗体薬物複合体などの多くのタンパク質ベースのアプリケーションに広く使用されている技術です。LC/MS 分析では有機溶媒および酸を使用しないため、タンパク質の分解はあまり観察されず、非共有結合した無傷のタンパク質-タンパク質複合体が保持されます^{4, 5}。しかし、主として LC/MS 分析での中性 pH 溶媒（100 mM 酢酸アンモニウム、pH 7）の使用に起因する、より高い m/z 範囲でのより低いアバンダンス MS シグナルや 1 分子あたりのより低い電荷といった、重大な MS 分析の課題が観察されました。

本研究では、一次元目の HIC 分離から収集されたさまざまな ADC サンプルを分析するために、高感度ネイティブ MS の方法を開発しました。このワークフローでは、AdvanceBio SEC カラムを二次元目のオンラインサンプル分離で使います。

図 7 に、ADC (DAR 2) サンプルのネイティブ LC/MS 分析での SEC カラム分離を示します。このサンプルは、一次元目の HIC から分離されたものです。したがって、二次元目の AdvanceBio SEC カラムでは単一の LC ピークのみが得られました。図 7A は、インタクト DAR 2 サンプルの未処理 MS スペクトルを、 m/z 5,500 から 10,000 (16+ ~ 27+) の範囲の MS 電荷エンベロップで示しています。デコンボリュートしたスペクトル (図 7B) は、このサンプル中に ADC DAR 2 しかないことを示しています。拡大されたスペクトル (図 7B の挿入図) は、ネイティブ LC/MS

条件下で分離された全部で 3 つの主要なグリコフォームおよび優れた MS 精度 (~ 10 ppm、 $\Delta m = 1.6$ Da) により、6545XT システムが優れた MS 分解能を持つことを示しています。

同様に、図 8 に示すように、DAR 0 ~ DAR 6 サンプルのすべてにおいて優れた MS スペクトルの品質と検出感度が得られました。これらの MS データの MS デコンボリューション分析が、優れた MS 精度によって DAR 値を正確に割り当てることを確認しました (図 9)。

より高い IPA 含有量の下、DAR 8 サンプルはアバンダンスが低くサンプルが分解しているために、その MS データはネイティブ LC/MS 分析下では収集されませんでした。

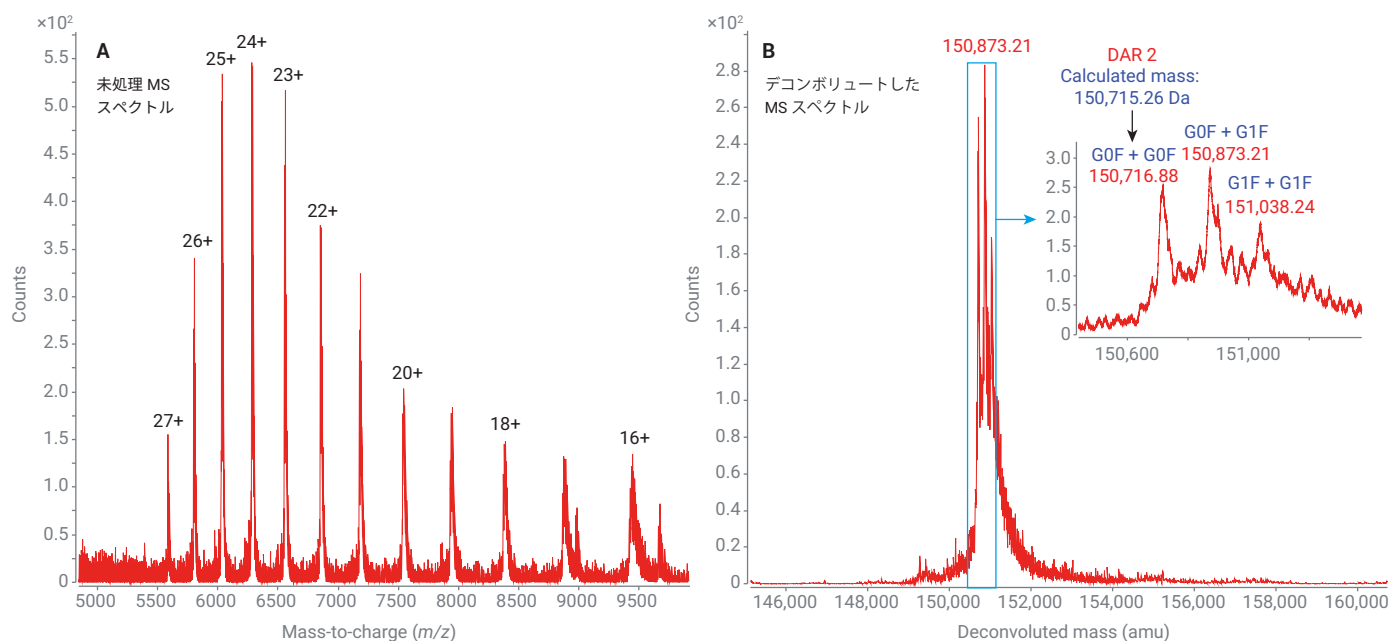


図 7. ADC (DAR 2) のネイティブ LC/MS 分析。(A) ネイティブ MS 条件下におけるインタクト ADC DAR 2 の未処理 MS スペクトル。(B) DAR 2 のインタクト ADC のデコンボリュートした MS スペクトル

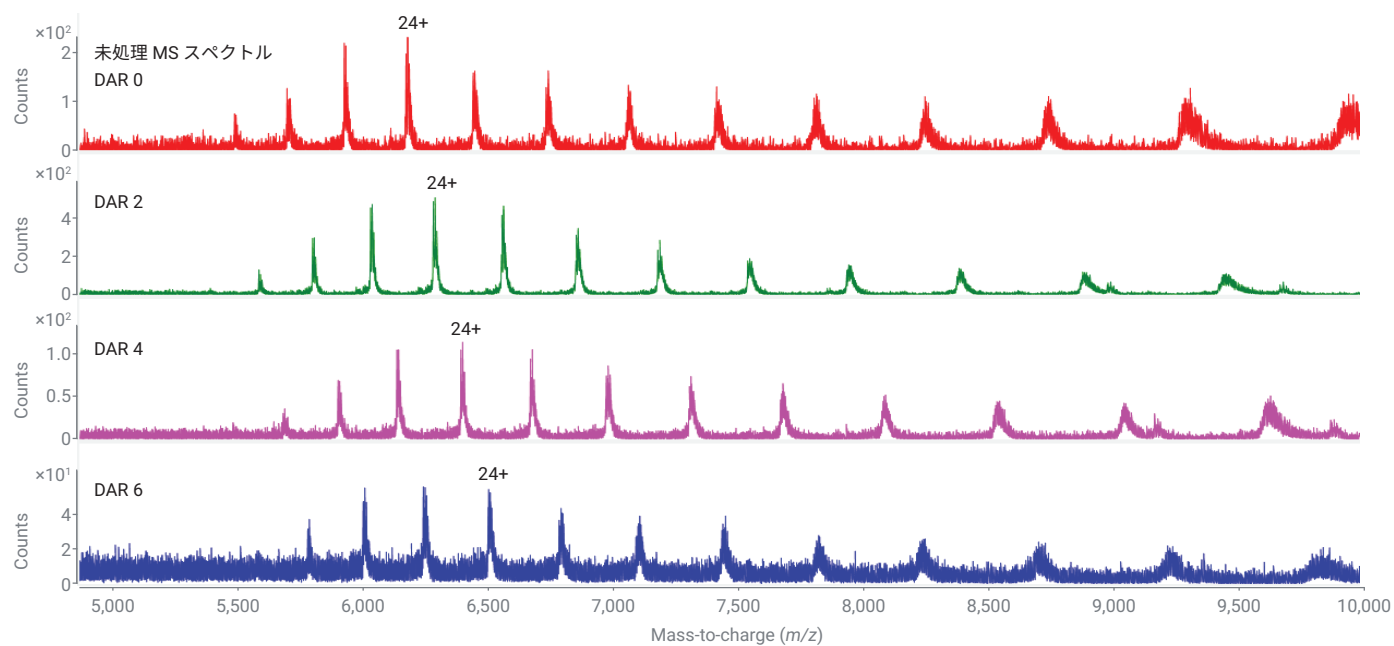


図 8. さまざまな ADC DAR (DAR 0 ～ DAR 6) のネイティブ SEC LC/MS 分析の未処理 MS スペクトル

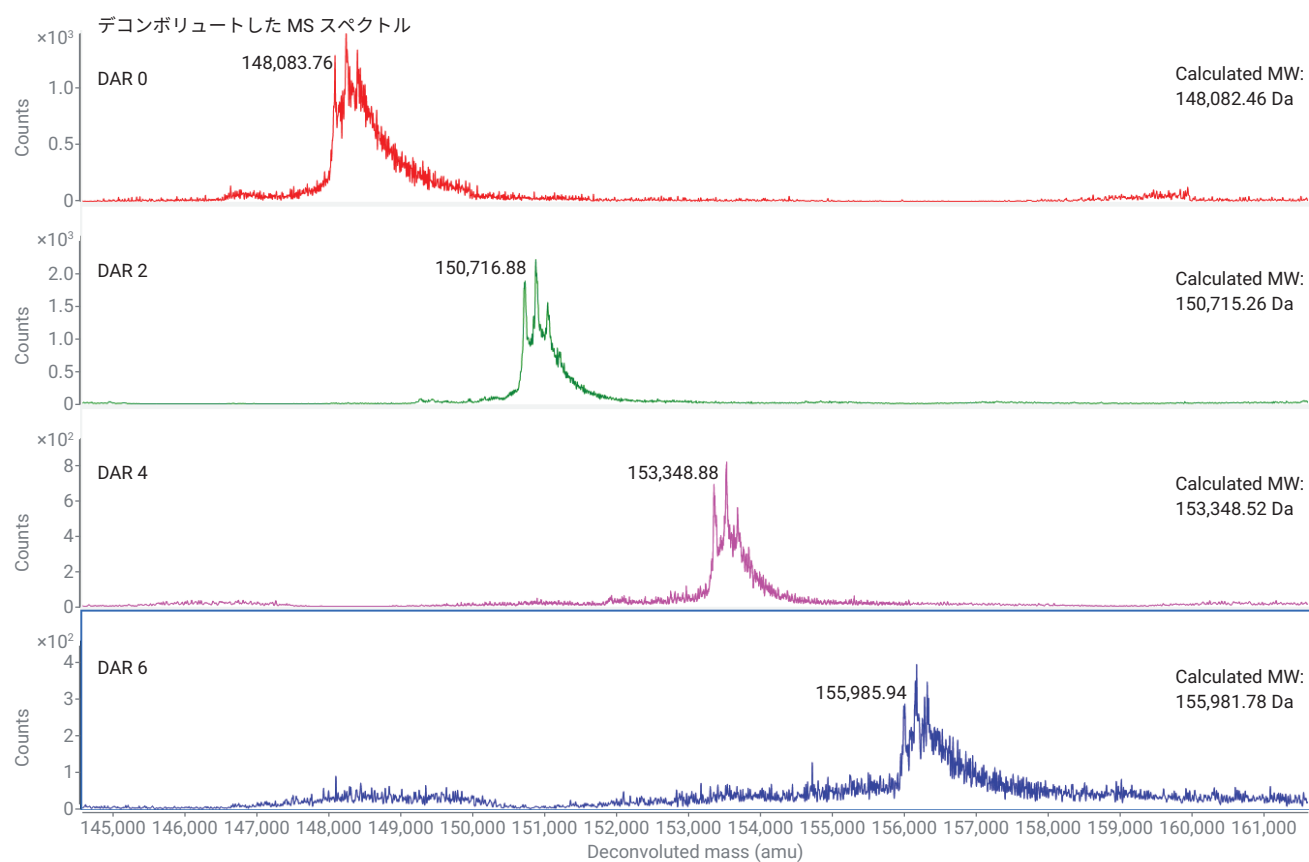


図 9. さまざまな ADC DAR (DAR 0 ～ DAR 6) のネイティブ SEC LC/MS 分析のデコンボリュートした MS スペクトル

結論

アジレントは、ネイティブ LC/MS 条件下でさまざまなインタクト DAR を特性解析する、斬新な 2D-LC/MS メソッドを開発しました。最適化されたこのワークフローでは、Agilent 1290 Infinity II 2D-LC を、Agilent AdvanceBio HIC カラム、Agilent AdvanceBio SEC カラム、質量範囲を最大 m/z 30,000 に拡張した Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF と組み合わせて使用しました。データの取り込みと解析には、LC/TOF および LC/Q-TOF 用 Agilent MassHunter ワークステーション 11.0 と Agilent MassHunter BioConfirm 11.0 ソフトウェアを使用しました。

このネイティブ MS 分析メソッドを使用すると、ADC サンプルに対して高精度の平均 DAR 値が得られるだけでなく、クロマトグラフィーによる優れた分離を実現でき、インタクトネイティブ構造が保持され、さまざまな DAR のすべての ADC に対して高い精度のインタクト質量決定を実行できます。

参考文献

1. Ross, P. L. *et al.* Physical and Chemical Stability of Antibody Drug Conjugates: Current Status. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2016**, 105, 391–397.
2. Schneider, S. High Salt—High Reproducibility: Analysis of antibody drug conjugates using hydrophobic interaction chromatography with the Agilent 1290 Infinity II Bio LC System. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-2691EN, **2020**.
3. Van de Donk, N. W. C. J.; Dhimolea, E. Brentuximab Vedotin. *mAbs* **2012**, 4(4), 458–465.
4. Wong, D. Sensitive Native Mass Spectrometry of Macromolecules Using Standard Flow LC/MS. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-1739EN, **2020**.
5. Wong, D. Mass Spectrometric Characterization of Antibody-siRNA Conjugates using the Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-2155EN, **2020**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE44508.299525463

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2021

Printed in Japan, November 30, 2021

5994-4328JAJP