

Agilent 1290 Infinity II Bio LC と Altura ウルトラライナー HPLC カラムによる GLP-1 受容体作動薬の分析



著者

Suresh Babu C. V.
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーション概要では、Agilent 1290 Infinity II Bio LC とウルトラライナートecnロジーを採用した Altura ペプチドプラスカラムを用いたグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) 受容体作動薬の分析について説明します。

はじめに

グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) 受容体作動薬は、重要な治療効果を持つ合成ペプチドの一種であり、GLP-1 ホルモンを模倣して血糖を調節します。¹ これらの合成ペプチドに関連する不純物は、最終的な治療薬の安全性や有効性に影響を及ぼす可能性があります。これらのペプチドは一般的に、約 30 種類のアミノ酸と化学的に結合した脂肪酸鎖で構成されており、わずかな構造の違いにより化学的特性が大きく変わります。GLP-1 作動薬には疎水性があり、その不純物分離には主に逆相液体クロマトグラフィー (RPLC) が使用されます。GLP-1 作動薬の RPLC における主な課題は非特異的相互作用です。これらのペプチドは標準的な LC システムで金属表面と結合しやすいためです。これによりクロマトグラフィー性能が低下し、ピークテーリングや分析対象物の回収率低下につながります。このため適切なシステムを選択するには、特にバイオコンパチブルな LC システムとイナートカラムハードウェアを組み合わせて十分に最適化した流路が必要です。これは正確で信頼性の高い分析のために重要です。Agilent 1290 Infinity II Bio LC システムと Altura ウルトライナート HPLC カラムの組み合わせは、分析対象物表面の相互作用を効果的に最小化する、合成ペプチドの分析に最適なプラットフォームです。このアプリケーション概要では、アジレントの生体分離ワークフローソリューションを用いてチルゼバチドペプチドとレタトルチドペプチドの LC/UV 分析を実行し、これが GLP-1 作動薬の分析に適していることを実証します。

実験方法

表 1. 機器およびサンプル条件

液体クロマトグラフィー	Agilent 1290 Infinity II Bio LC システム
カラム	Altura ペプチドプラス、2.1 × 150 mm、2.7 µm (部品番号 227215-903)
サンプル	チルゼバチドとレタトルチド (1 mg/mL) 熱ストレス : 85 °C で 3 時間
移動相 A	0.1 % ギ酸
移動相 B	0.1 % ギ酸 ACN 溶液
グラジェント	時間 (分) %A %B 0.00 80 20 1.00 80 20 20.00 40 60 25.00 10 90 25.10 80 20 30.00 80 20
カラム温度	55 °C
流量	0.4 mL/min
UV	214 nm, 220 nm, 280 nm
質量分析	Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF
イオンモード	ポジティブイオンモード、デュアル AJS ESI
乾燥ガス温度	325 °C
乾燥ガス流量	13 L/min
シースガス温度	350 °C
シースガス流量	12 L/min
ネプライザガス流量	35 psi
キャピラリ電圧	4000 V
ノズル電圧	1000 V
フラグメンタ電圧	175 V
スキマー電圧	65 V
Oct RF Vpp	750 V
リファレンス質量	922.009798
MS 範囲	100 ~ 1700 m/z
MS 取り込みレート	2 スペクトル/秒

結果と考察

生体分子の分析用に最適化された LC 機器構成（カラムを含む）は、合成ペプチドの分析における非常に重要な要素です。Agilent 1290 Infinity II Bio LC システムはバイオコンパチブルな流路で構成されているため、分析中にペプチドの完全性を確保できます。Altura カラムはステンレス製ハードウェアに不活性コーティングを施したもので、非特異的相互作用を防ぐことができます。図 1 に、2.7 μm の Altura ペプチドプラスカラムでのチルゼバチドペプチドとレタトルチドペプチドのクロマトグラムを示します。ピークが明確で幅が狭く、効率的に分離できています。ピーク面積の RSD は 0.69 ~ 1.22 %、テーリングファクターは 0.9 ~ 0.83 % (n = 5) でした。

図 2 は、チルゼバチドとレタトルチドについて、対照群と熱ストレスを加えたサンプルを比較したものです。Altura ペプチドプラスカラムの分離効率と分解能は非常に優れており、API のメインピークから複数の不純物のピークが優れたピーク形状で明確に分離されています。熱ストレスを加えると、分解生成物の明確に分離された低強度のピークが現れ、いずれのペプチドも著しく分解されたことがわかります。つまりこのカラムには、わずかな組成変化を検出できる優れた感度と分離性能があるということです。

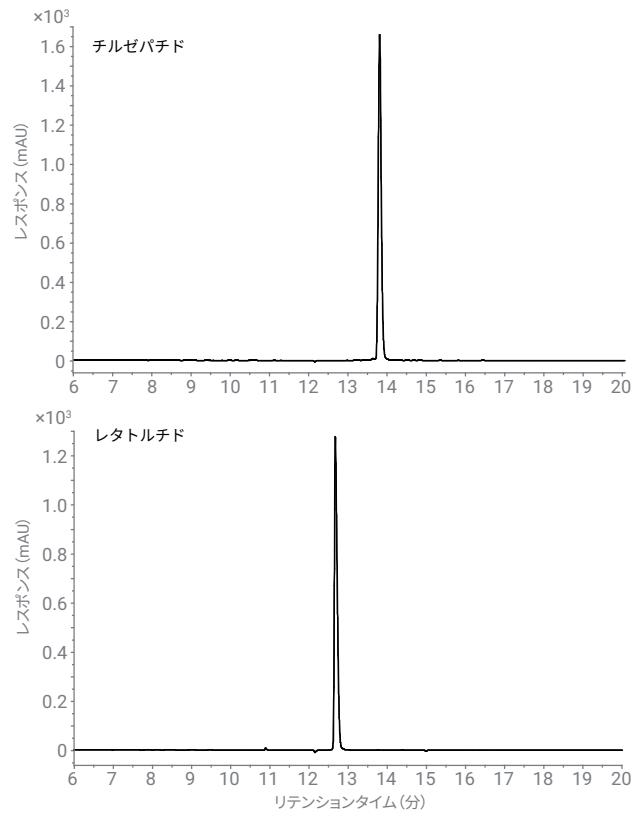


図 1. チルゼバチドとレタトルチドの LC-UV クロマトグラム

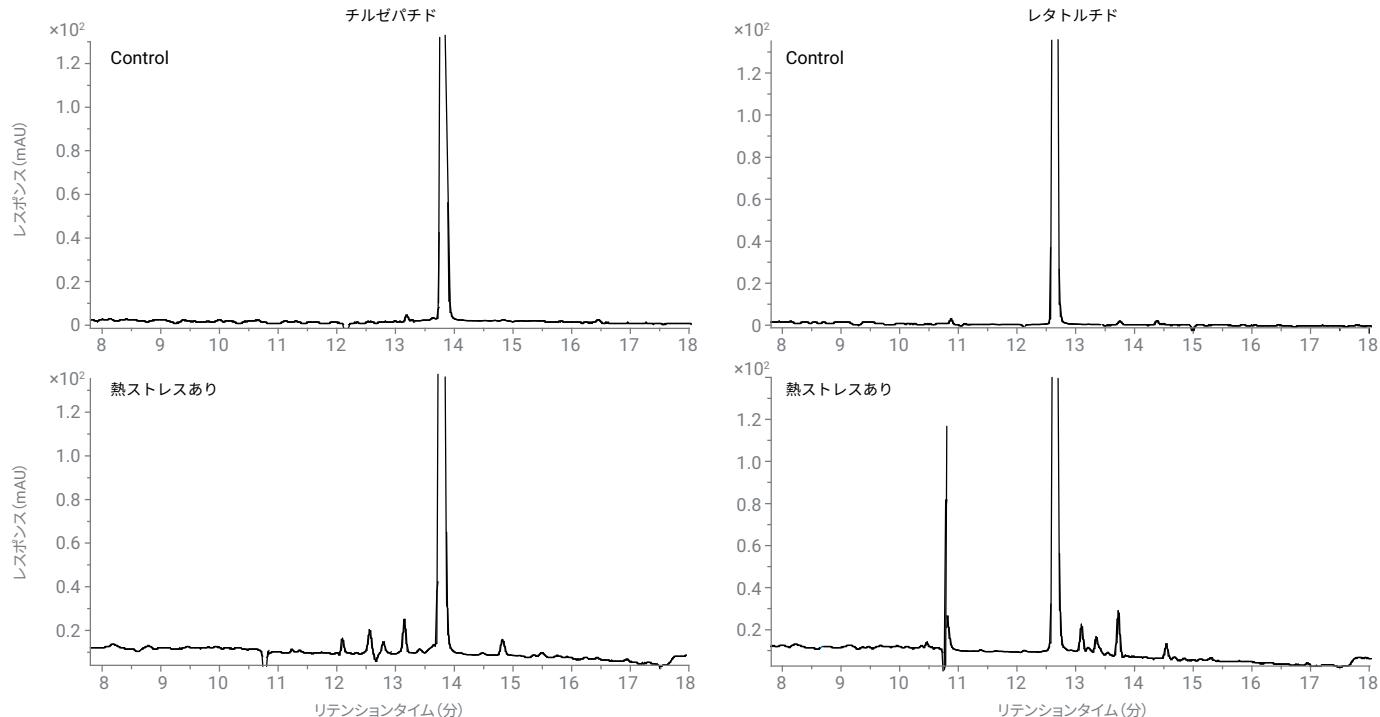


図 2. チルゼバチドとレタトルチドについて、対照群と熱ストレスを加えたサンプルを比較した LC-UV クロマトグラム

Altura ペプチドプラスカラムでチルゼパチドとレタルチドの LC/MS 分析を実施し、同定しました。チルゼパチドとレタルチドの TIC クロマトグラムには、メインピークだけでなく、微量不純物に対応する信号も明確に表示されています。ピークがシャープで高強度（チルゼパチドは 4813.68 Da、レタルチドは 4731.54 Da）であることから、このカラムの効率性と分解能が高いことがわかります。低強度のピークは、ペプチドに含まれる不純物と異性体変異体によるものです。

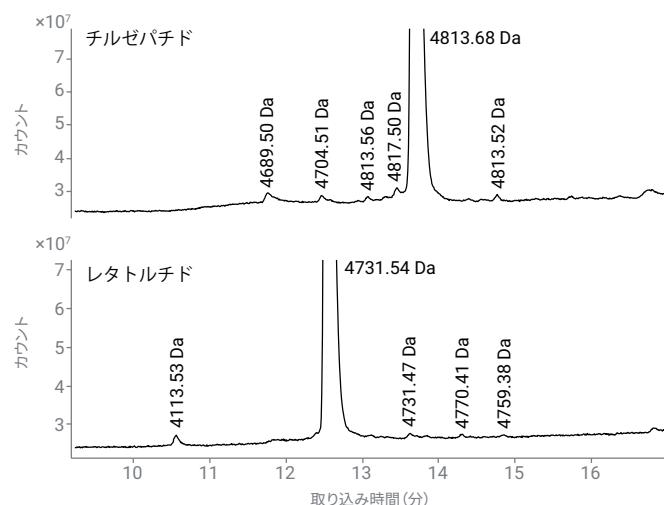


図 3. 質量をデコンボリューションしたチルゼパチドとレタルチドの TIC

結論

以上の結果から、Agilent 1290 Infinity II Bio LC システムと Altura ペプチドプラスカラムの組み合わせが、合成ペプチドの分析に適していることがわかります。LC システムのバイオコンパチブルな流路と、ウルトラライナートecnologyを採用した Altura カラムを組み合わせると、最適なクロマトグラフィー性能を実現できます。ペプチドのメインピークから不純物と分解生成物を効率的に分離できるため、チルゼパチドとレタルチドの品質管理と強制分解の研究に最適です。

参考文献

1. Müller, T. D.; et al. Glucagon-Like Peptide 1 (GLP-1). *Mol. Metab.* **2019**, (30), 72–130.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カストマーコンタクトセンタ

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。

DE-010986

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2025

Printed in Japan, November 26, 2025

5994-8837JAJP