

OpenLab CDS のカスタム計算ツールの 高度な利用法：オリゴヌクレオチドの例

はじめに

OpenLab CDS のカスタム計算機能を利用することにより、基本の結果情報に関数を組み込むことができます。これらの関数を使用して、アプリケーション固有の結果や、品質管理の統計を生成できます。カスタム計算を使用すると、システムにより生成された既存の結果に対する数学的および非数学的関数に基づいて、新しい値を算出できます（図 1）。関数はサンプル内のピーク別に行することも、複数回の注入全体に対して実行することもでき、複雑な多変量解析にも対応しています。カスタム計算を解析メソッドに組み込むための操作は、マウスを 1 回クリックするだけです。

カスタム計算は、ラボにとって強力なツールとなります。ただし、高度なワークフロー向けのカスタム計算を用いるメソッドの作成は、非常に困難な作業になる場合があります。この技術概要では、オリゴヌクレオチド最終製品でのピーク面積の計算（かなりの計算が必要）およびオリゴヌクレオチドの取り込みおよび分析メソッド設定のレポート作成における OpenLab CDS のカスタム計算の使用法について説明します。

オリゴマー分析は、製造および保管段階でさまざまな分子修飾が発生するため複雑になります。これには、LCMS とソフトウェアワークフローによる純度分析において対応する必要があります。出現する種は、始めは 1 つのターゲット化合物にすぎませんが、分析時にはさまざまな付加物（ナトリウム、カリウムなど）として発生する場合があります。工程内不純物および分解物も存在しており、FLP（全長生成物）より短くなる場合も長くなる場合があります。これらは、1 つ以上の核酸塩基からさらに多い種までの長さになり、データ解析時に考慮する必要があります。実装されているカスタム計算ワークフローは、採取したデータを、FLP、ショートマー、ロングマー、脱プリン、酸化 FLP といった群別に 1 つの % 面積レポートに有意にグループ化するのに有用であると同時に、手作業による前処理操作を低減して長い作業時間を短縮します。

100 チャネル以上の質量スペクトルデータに対して、元のソフトウェアでの手作業ワークフローの代わりにカスタム計算を使用して達成された時間短縮と、このカスタム計算の実行時にラボと作業者に与えられる役割を比較します。これにより、OpenLab CDS のカスタム計算とこの工程で生成されるレポートを使用した自動化純度ワークフローを成功させるために、ラボの体制をどのようにするかを示します。

著者

Jarod N Grossman, Niels Van Herck, and Frederick Thibaut
Agilent Technologies, Inc.

Willy Verluyten, Anja Deckers,
Jean-Paul Boon, and Mario Hellings
Janssen Pharmaceutical
Companies of Johnson & Johnson

メソッドの作成と利用

合成オリゴヌクレオチドサンプルには、多数の共溶出クロマトグラフィー不純物が含まれています。これらの不純物を定量するための特定のクロマトグラフィーメソッドを、遊離および安定性評価の目的で使用するようにしておく必要があります。標準的に、このようなメソッドは UV および MS 検出をベースにしており、安定性について評価する必要があります。クロマトグラフィー選択性と MS 選択性を組み合わせることにより、正確な純度データセットが生成されます。これを実現するには、特定のすべての m/z チャンネルの抽出と、事前定義済みタイムウィンドウ内での解析を組み合わせます。次に、最大 120 種類の MS 不純物すべてのリストに対して、生成されたすべての面積を集約し、最終的に 1 つの % 面積レポートにまとめます。さらに、この分析手順を正確なものにして QC への負担を少なくし、さらに関連する処理ステップの作業負担を可能な限り低く抑える必要があります。

Agilent MSD XT シングル四重極機器での MS フルスキャンチャンネルの抽出、事前定義済みタイムウィンドウ内での解析、およびすべてのデータを 1 つの % 面積レポートに集約するというレポート作成用に、カスタム計算を使用した自動化ツールを開発しました。

図 2 に、手作業および自動化の両方の観点からメソッドを作成するためのワークフローを示します。図 3 に、カスタム計算を使用した 1 日あたり数時間の短縮について示します。アジレントが推奨する最低限の要件を備えたワークステーション PC では、最大限の労力で手動解析メソッドに入力した際には、最低 30 ~ 45 分の手作業時間を要しますが、複雑なサンプルセットの場合には最大数時間を要することがあります。この時間は、シーケンスで使用する解析メソッドごとに必要になります。

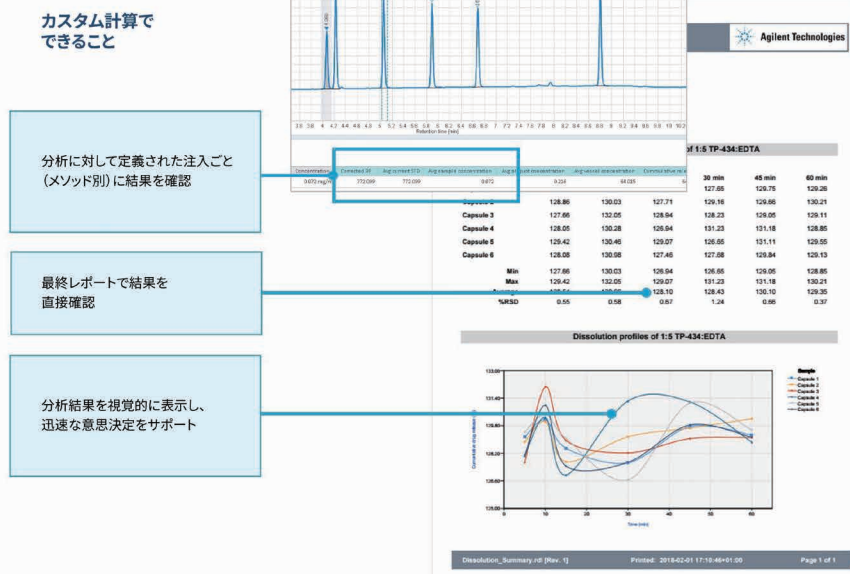


図 1. OpenLab CDS のカスタム計算の概要

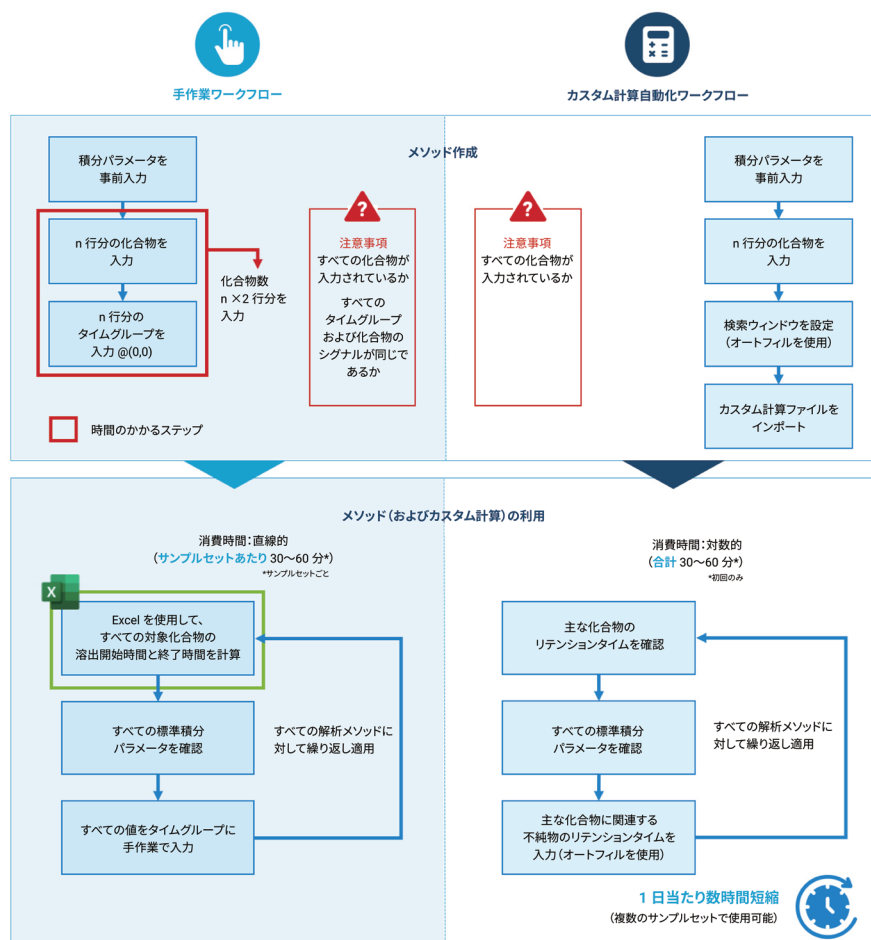


図 2. 手作業および自動化メソッドワークフロー作成の比較。カスタム計算自動化ワークフローでは、手作業によるメソッドと比較して、時間を大幅に短縮できます。

平均では、手動解析には最低 30 分を要しますが、サンプルセットあたり最大 2 時間を要する場合もあります。一方、自動解析メソッドは作成に 15 分を要し（簡単なメソッドの場合）、その後機器メソッドが有効な限り使用できます。自動化メソッドでは、コンピュータがデータを入力するのに 2 分を要します。実験的基準で自動計算が使用できる場合、コンピュータは作業の大部分を実行できます。これは、手作業が必要ない場合の時間で、自動化メソッドの一部です。大幅なピークシフトが存在する場合は、繰り返し処理が必要になることがあります。図 3 に示すように、分析対象のサンプル数が増大した際には、カスタム計算自動化ワークフローの作成および利用の効率を改善することが重要になります。

特定のオリゴプロジェクトにおいて、カスタム計算ツールをプログラミングしたら、ツールの実行時間に追加されるのは、その分析シーケンスにおける特定のリテンションタイムのみです。カスタム計算は、多数のサンプルが含まれるシーケンスの場合でも、即座に抽出と解析を実施して、% 面積 MS 純度データのレポートを正確に作成できます。

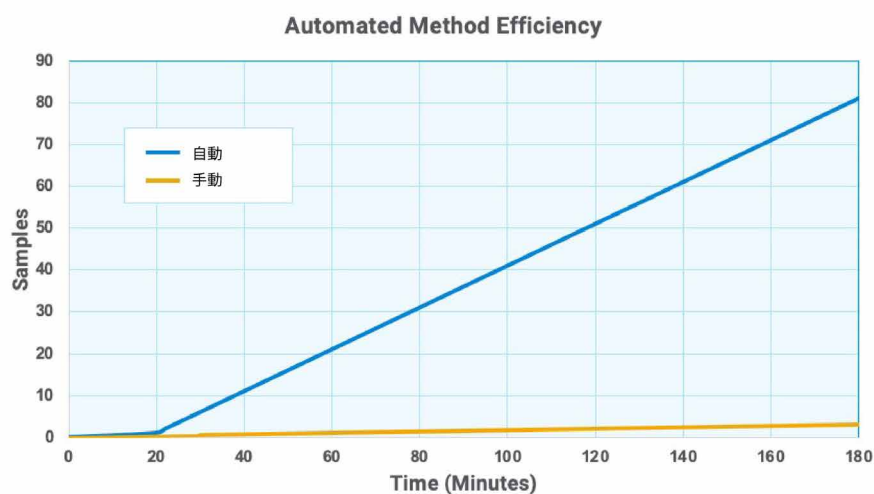


図 3. 時間を大幅に短縮して、サンプル結果の解析/レポート作成のスループットを向上させるには、カスタム計算自動化メソッドを作成して利用します。

ワークフローと役割

図 4 に、カスタム計算が OpenLab CDS メソッドと連動して、化合物の詳細情報についてやり取りする方法の技術的詳細を示します。さらに、このカスタム計算の能力を利用するために、ラボのメンバーが実施すべきシンプルなステップ、およびプログラムを実行し続けるために、ラボの分析者と管理者に課される役割についても示します。

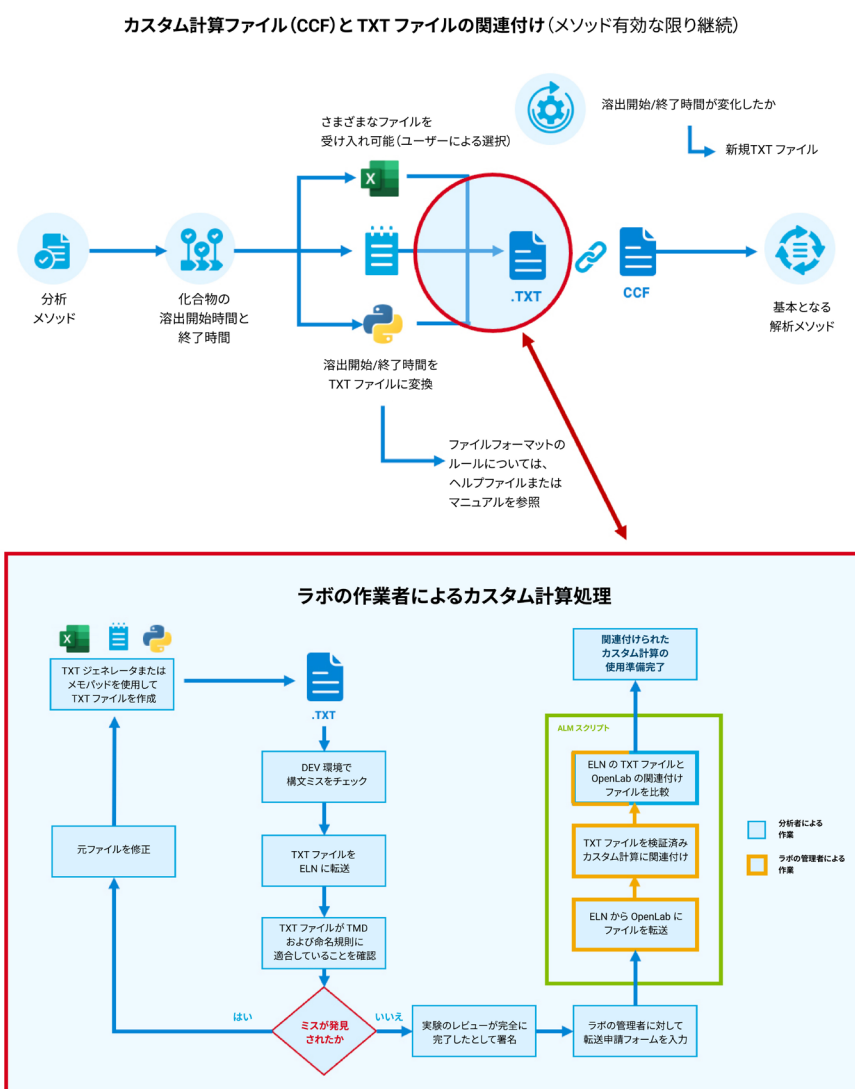


図 4. この図は、カスタム計算が OpenLab CDS メソッドと連動して、化合物の詳細情報についてやり取りする方法の技術的詳細について示しています。さらに、このカスタム計算の能力を利用するために、ラボのメンバーの役割が明確に規定されたシンプルなステップ、およびプログラムを実行し続けるために、ラボの分析者と管理者に課される役割についても焦点を当てています。

レポート生成

この特定のカスタム計算メソッドの全体的な目標は、オリゴヌクレオチドおよびそのサンプル中のすべての不純物に対して、1 つの MS % 面積レポートを生成することです。次に示すのは、ラボの作業者、管理者、および電子ラボノート（ELN）で使用するために、このカスタム計算の工程全体から出力された、高度にカスタマイズ可能な実際の（未編集の）レポートです。

結論

ラボは、このようなカスタム計算ワークフローを一度設定すると、オリゴヌクレオチド注入のサンプルセットあたりの手作業時間を数時間短縮して、すべてのオリゴ分析ステップにおいて人為的ミスをなくし、手動による計算をせずに純度の詳細に関するレポートを自動的に作成できるようになります。このソフトウェアを利用することにより、毎日のラボの作業時間を短縮し、ラボの分析者と管理者にとって以前は必要であった、手間と時間のかかる手作業によるステップをなくすことができます。

アジレントは、OpenLab をお客様のワークフローに組み込むためのカスタムソリューション、およびコンサルタント関連アプローチ/サービスを提供しています。詳細な情報が必要な場合、またはお客様の作業独自の関数を利用するためのサポートが必要な場合は、アジレントまでお問い合わせください。

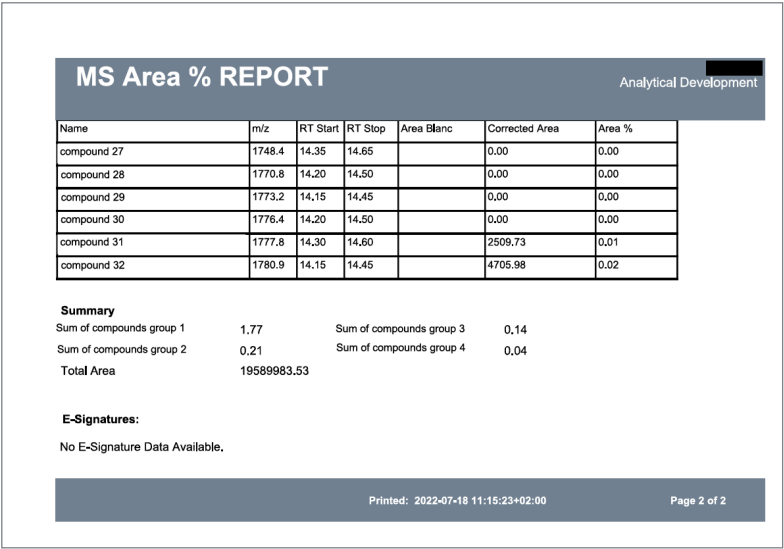
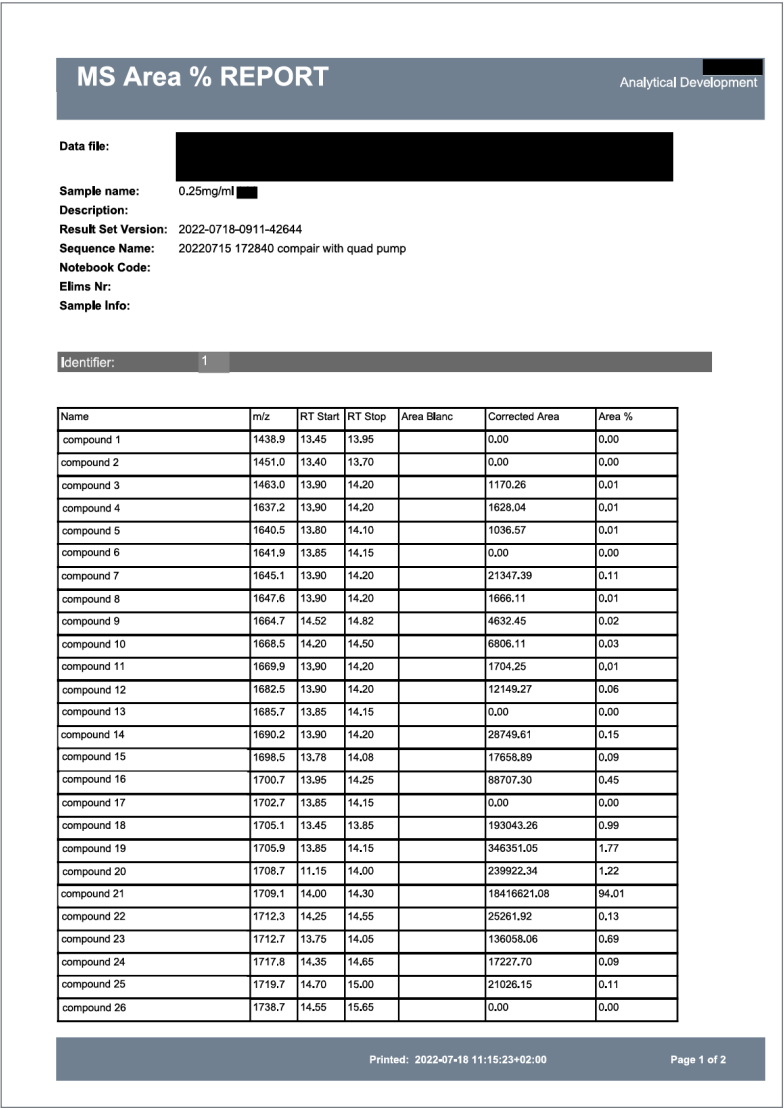


図 5. この自動解析により生成される最終レポートの例

カスタム計算で実行できる処理の詳細については、
次のサイトをご覧ください。

www.agilent.com/chem/openlab-custom-calculator

OpenLab CDS の詳細については、次のサイトをご覧ください。

[OpenLab ソフトウェアのホームページ](#)

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。

DE49522774

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2023
Printed in Japan, February 1, 2023
5994-5654JAJP