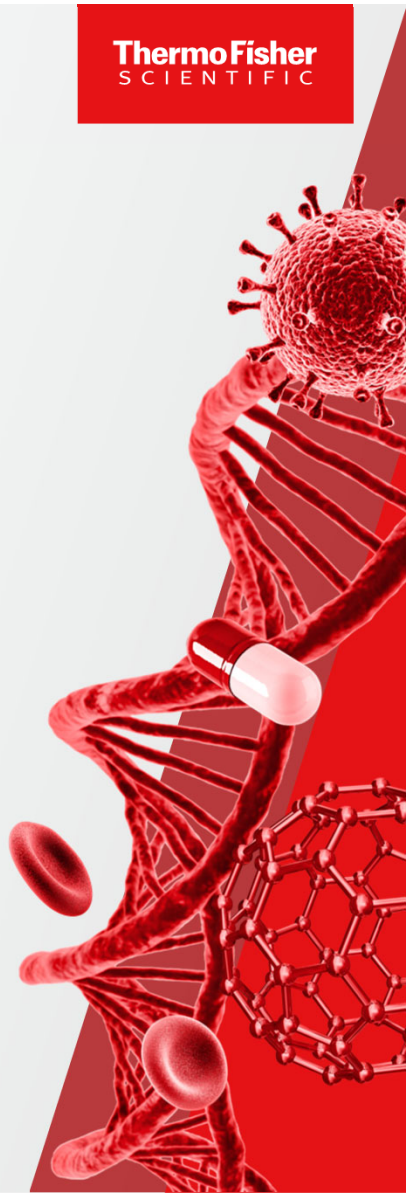
icIEF介绍

郭傲玮
CMD 市场拓展经理



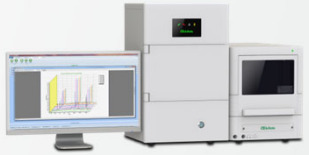
The world leader in serving science

CE简介

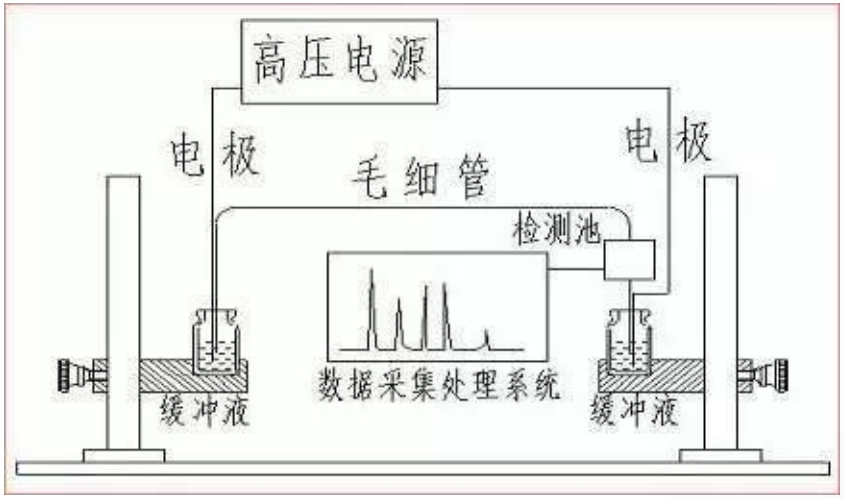
Proteinsimple
Maurice Flex

Sciex PA 800 Plus

Agilent 7100 CE

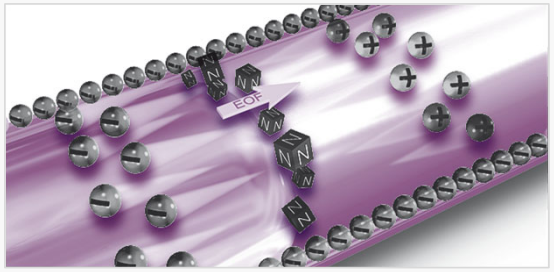


CE Infinite（ThermoFisher）



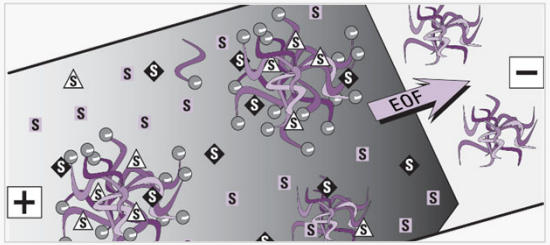
- CE
  - CGE毛细管凝胶电泳
  - MEKC胶束电动色谱
  - CEC毛细管电色谱
  - CZE毛细管区带电泳
  - CITP毛细管等速电泳
  - (i)cIEF
    (全柱成像)毛细管等电聚焦电泳

CE简介



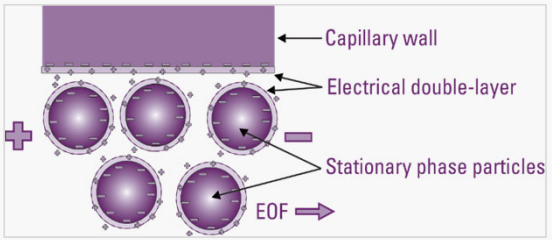
毛细管区带电泳 (CZE)

CZE 是最简单的毛细管电泳形式。在 CZE 中，毛细管内充满电解质（运行缓冲液），样品会于进样口引入，并施加电场。



胶束电动色谱 (MEKC)

MEKC 为电泳和色谱的混合模式，是生物药物和小分子分析中广泛使用的毛细管电泳模式。它是唯一一种可以用于分离中性分析物以及带电荷分析物的电泳技术。



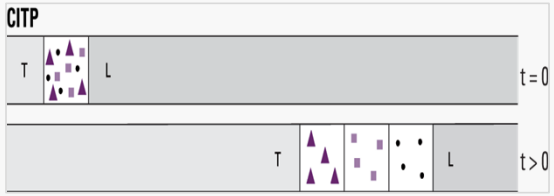
毛细管电色谱 (CEC)

CEC 是一种微型化的液相色谱形式，使用电场将液体通过 EOF 驱动通过填充色谱柱，具有极高的塔板数。

CE简介

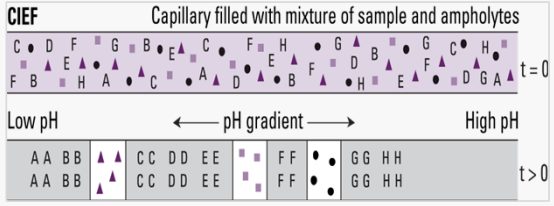
毛细管凝胶电泳 (CGE)

CGE 非常适用于对大分子（蛋白质、核酸）进行基于分子大小的分离。当带电荷的溶质在聚合物网状结构中迁移时，它们将受到阻碍，大分子溶质比小分子溶质受到的阻碍更大。如果没有凝胶，DNA 和 SDS 结合蛋白将不能分离，因为其质荷比没有区别。



毛细管等速电泳 (CITP)

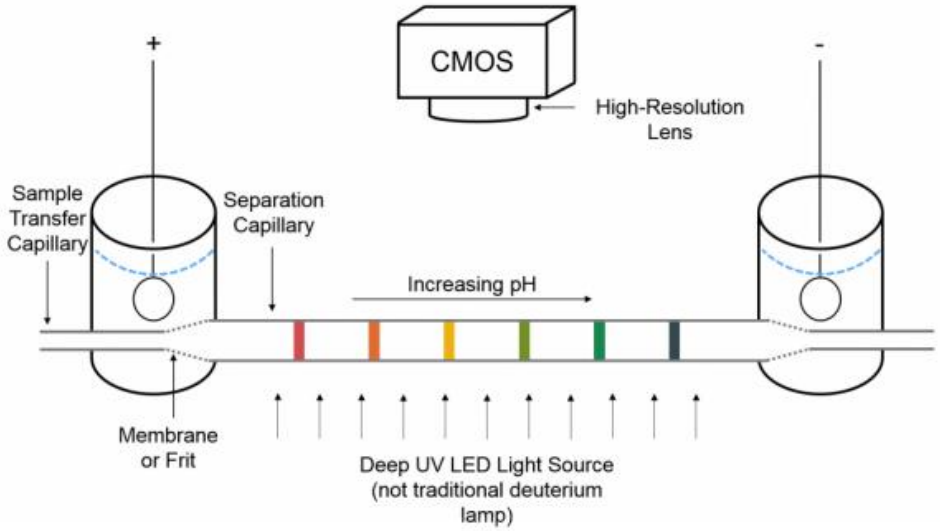
CITP 是一种“移动边界”电泳技术，该技术中采用两种缓冲液系统的组合，以使分析物以相同速度以相互分离但又相互连接的条带进行移动。这些区带夹在先导和后继电解质之间。此方法可分析阳离子或阴离子。

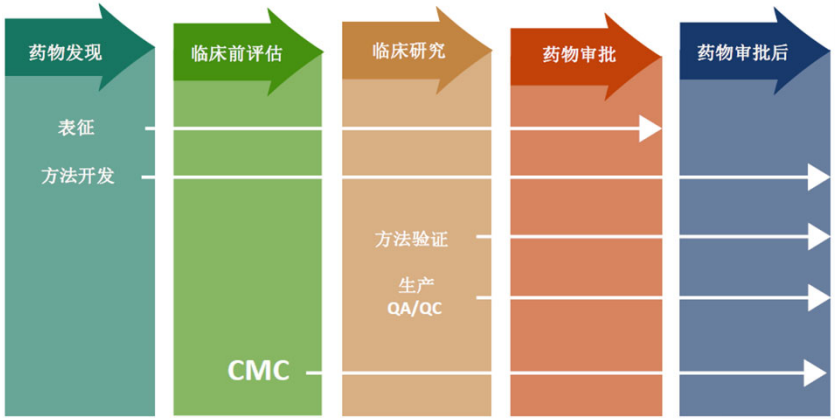


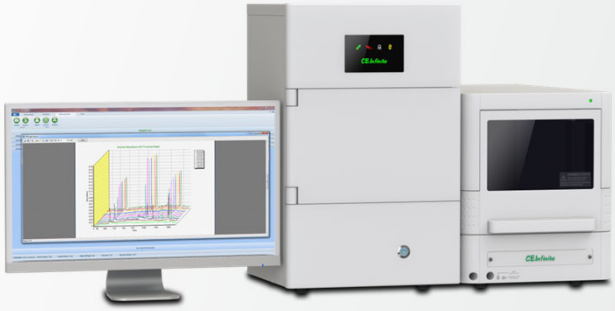
毛细管等电聚焦 (CIEF)

CIEF 是一项“高分离度”电泳技术，用于基于等电点 (pI) 的多肽和蛋白质分离。

icIEF（全柱成像毛细管等电聚焦电泳）简介







VS cIEF（传统毛细管等电聚焦电泳）

- ✓ 方法开发更快（每个样品仅需10~15min）
- ✓ 灵敏度更高
- ✓ pI值相近的电荷变异体分离更好（分离精度0.01pI）
- ✓ 平台稳定性好
- ✓ 高分析通量

icIEF应用方向

高效全柱成像毛细管等电聚焦电泳
- Orbitrap高分辨质谱在线联用

全柱成像毛细管等电聚焦电泳离线制备

LC-Orbitrap高分辨质谱表征、鉴定

3129　单抗电荷变异体测定法

本法系采用全柱成像毛细管等电聚焦电泳（icIEF），依据不同电荷变异体的等电点（pI）特征，按毛细管电泳法（通则 0542）将其分离，测定单抗产品各电荷变异体的等电点并计算相对百分含量。

全柱成像毛细管等电聚焦电泳系统

（1）检测器　紫外检测器，波长为 280nm。

（2）毛细管　涂层石英毛细管。

3.1.1.2　糖基化修饰

应对糖基化修饰进行全面的分析和确定，如糖基化修饰与制品半衰期和生物学活性相关，则应确定糖的含量（如中性糖、氨基糖和唾液酸）。糖型结构可能与不良反应相关（如非人类的糖型结构或其残基），应尽可能对糖链的结构、糖型以及多肽链的糖基化位点进行深入分析。必要时应进一步就电荷异质性进行检测分析。

3.2.2　电荷变异体

采用适宜的方法检测供试品电荷变异体，如 cIEF、IEX-HPLC、疏水高效液相色谱（HIC-HPLC）、反相高效液相色谱（RP-HPLC）等方法，应尽可能对不同电荷变异体组分进行鉴别，并规定相应的可接受标准。供试品测定结果应在规定的范围内。

3.1.4.1　制品相关物质/杂质

制品相关物质/杂质主要源于生物技术制品异质性和降解产物。末端氨基酸异质性、电荷异质性、分子大小变异体以及包括糖基化在内的各类翻译后修饰等异质性（如 C 端加工、N 端焦谷氨酸化、脱酰胺化、氧化、异构化、片段化、二硫键错配、*N*-连接和 *O*-连接的寡糖、糖基化、聚集）可能导致其组成中存在几种分子或变异体，应对目标制品的各种分子变异体进行分离、鉴别和分析，如变异体的活性与目标制品一致时，可不作为杂质。但应考虑在生产和（或）贮存期间产品降解产物是否显著增加及其与免疫原性的相关性。

单、双抗

基因&细胞治疗

慢病毒载体

mRNA

纳米脂质体

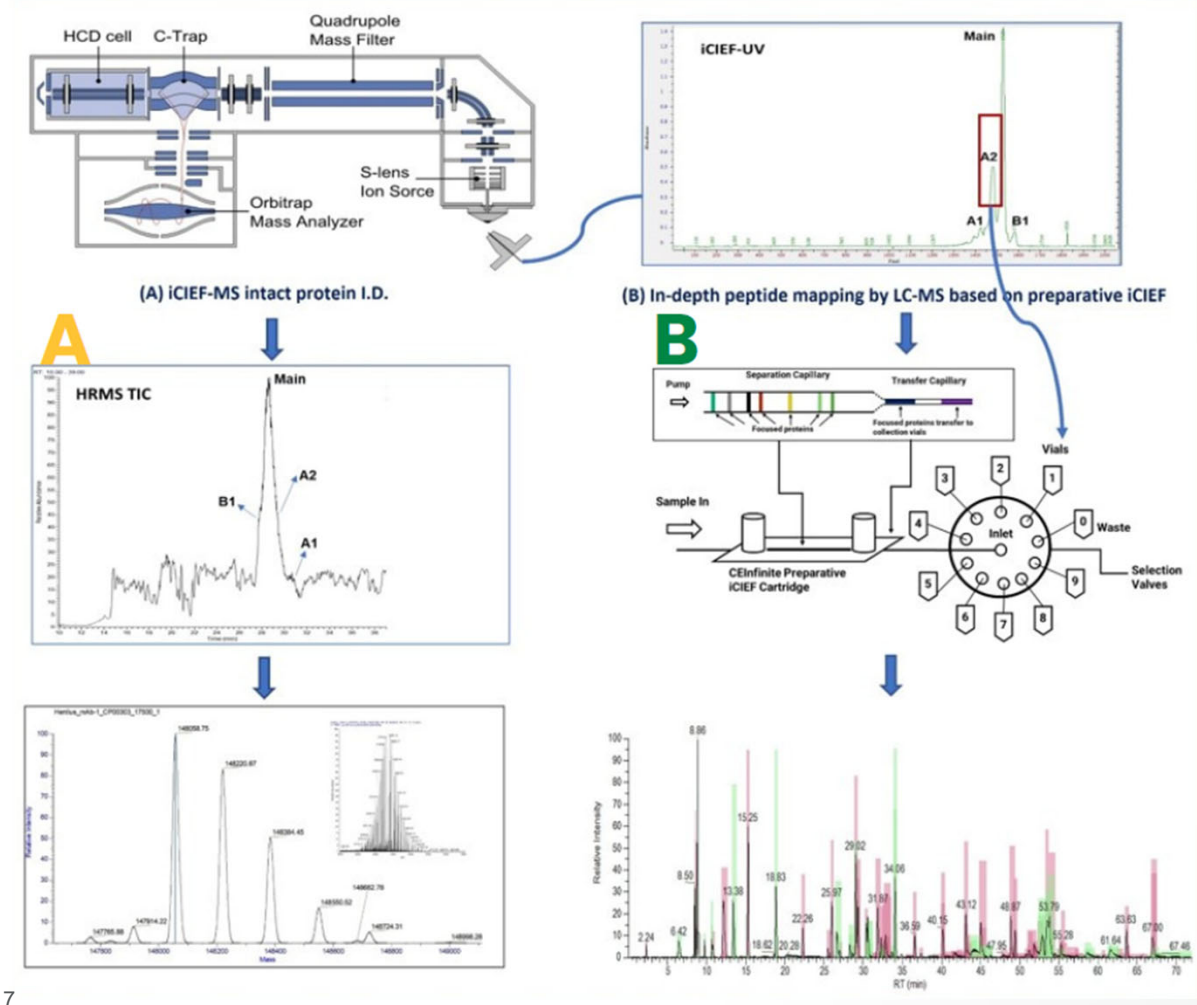
酶类

AAV

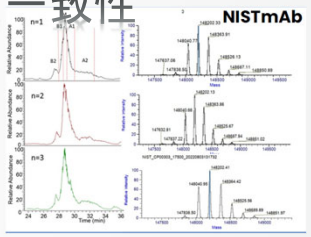
ADC

融合蛋白

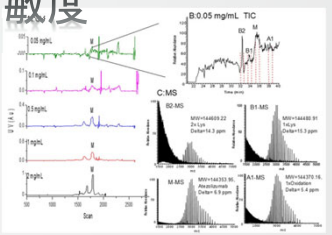
icIEF-Orbitrap联用方案



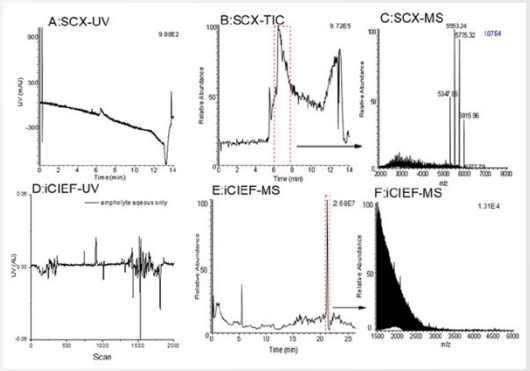
高一致性



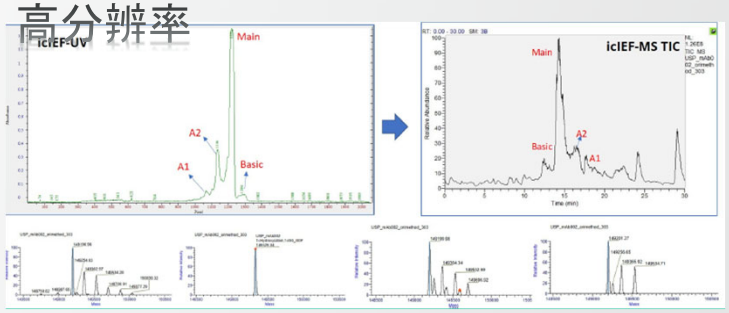
高灵敏度



极低残留和源污染

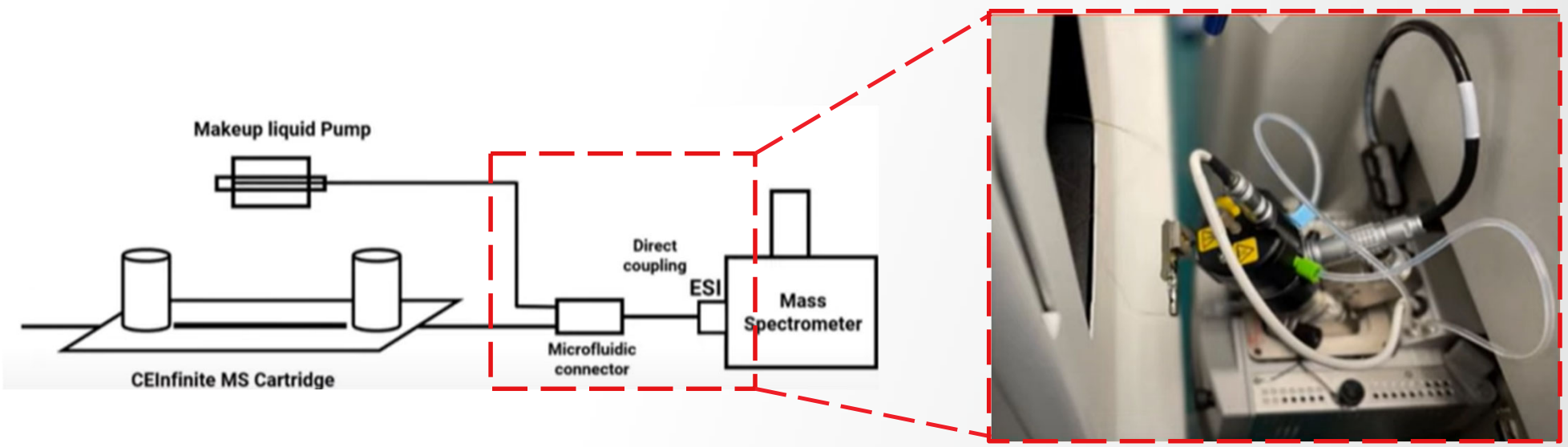


高分辨率

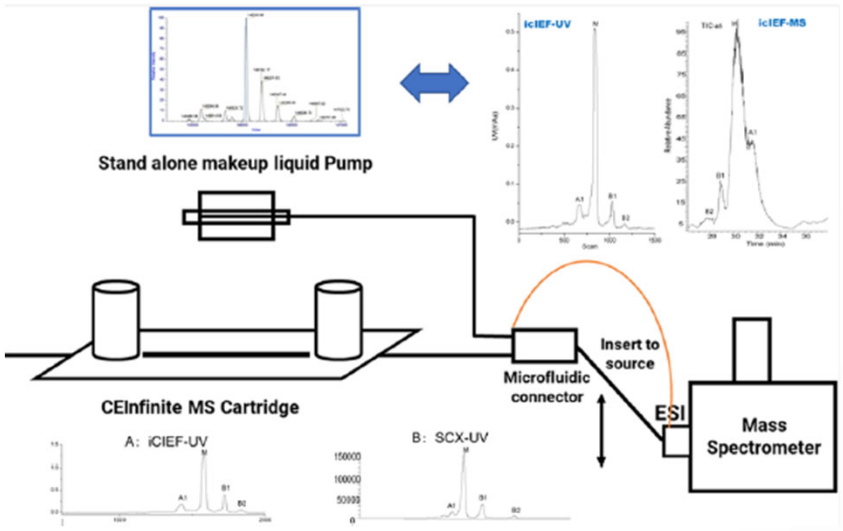


icIEF-Orbitrap联用分析方案

- 赛默飞联合AES CE Infinite，打造世界首款icIEF-MS直接联用方案，完美的呈现在蛋白质水平上的电荷异质体表征



icIEF-Orbitrap联用分析案例1：
基于质谱联用icIEF和离子交换色谱的单抗电荷异质性表征

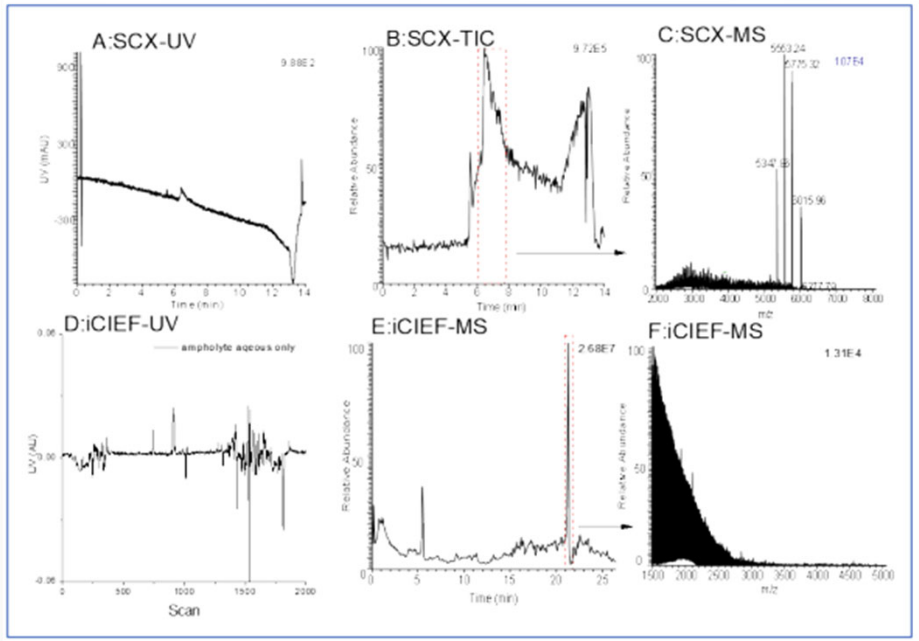


analytical chemistry

pubs.acs.org/ac Article

Mass Spectrometry-Based Charge Heterogeneity Characterization of Therapeutic mAbs with Imaged Capillary Isoelectric Focusing and Ion-Exchange Chromatography as Separation Techniques

Gang Wu,† Chuanfei Yu,† Wenbo Wang, Jialiang Du, Zhihao Fu, Gangling Xu, Meng Li, and Lan Wang*



Comparing carryover effect of icIEF-MS and SCX-MS. Water (SCX) and aqueous carrier ampholyte (icIEF) were analyzed directly following the separation of atezolizumab to assess carryover. SCX-MS (A-C) shows signal from residual atezolizumab whereas icIEF-MS (D-F) shows no residual analyte signal.

icIEF-Orbitrap联用分析案例2：
icIEF串联Orbitrap用于蛋白药物的电荷异质性研究

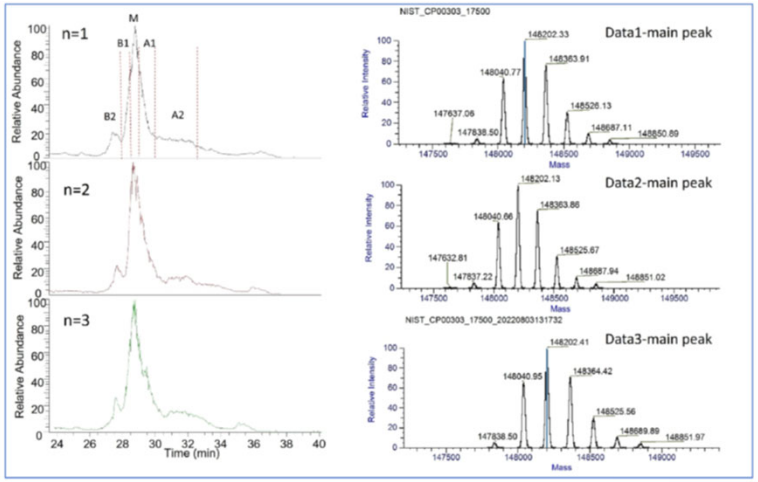
ELSEVIER

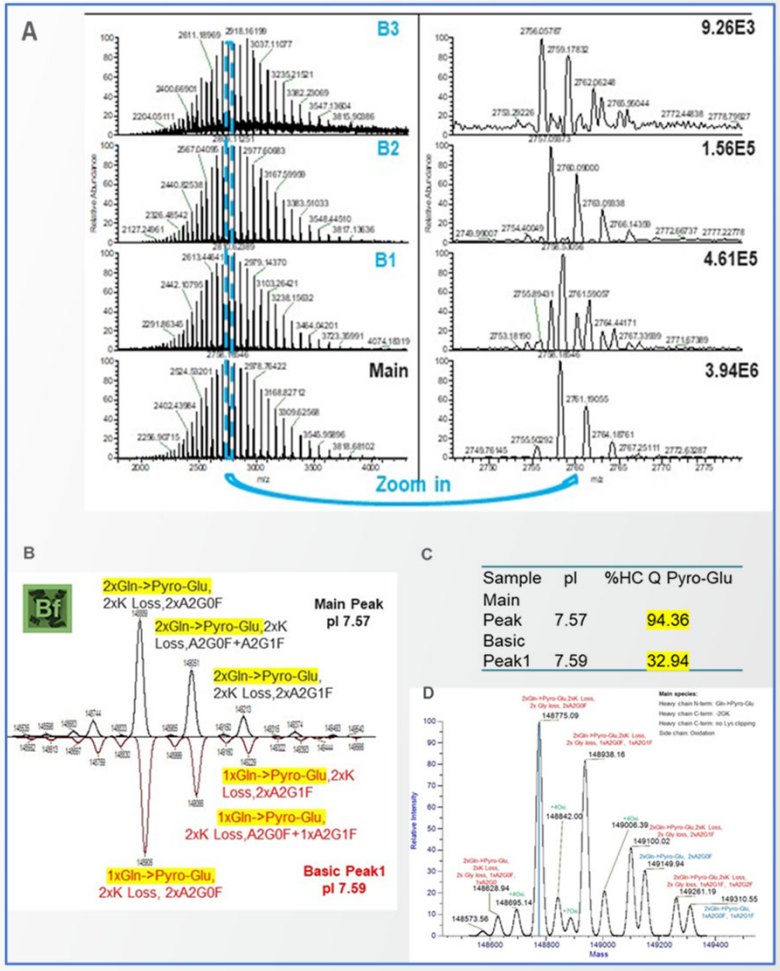
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis

Volume 224, 5 February 2023, 115178

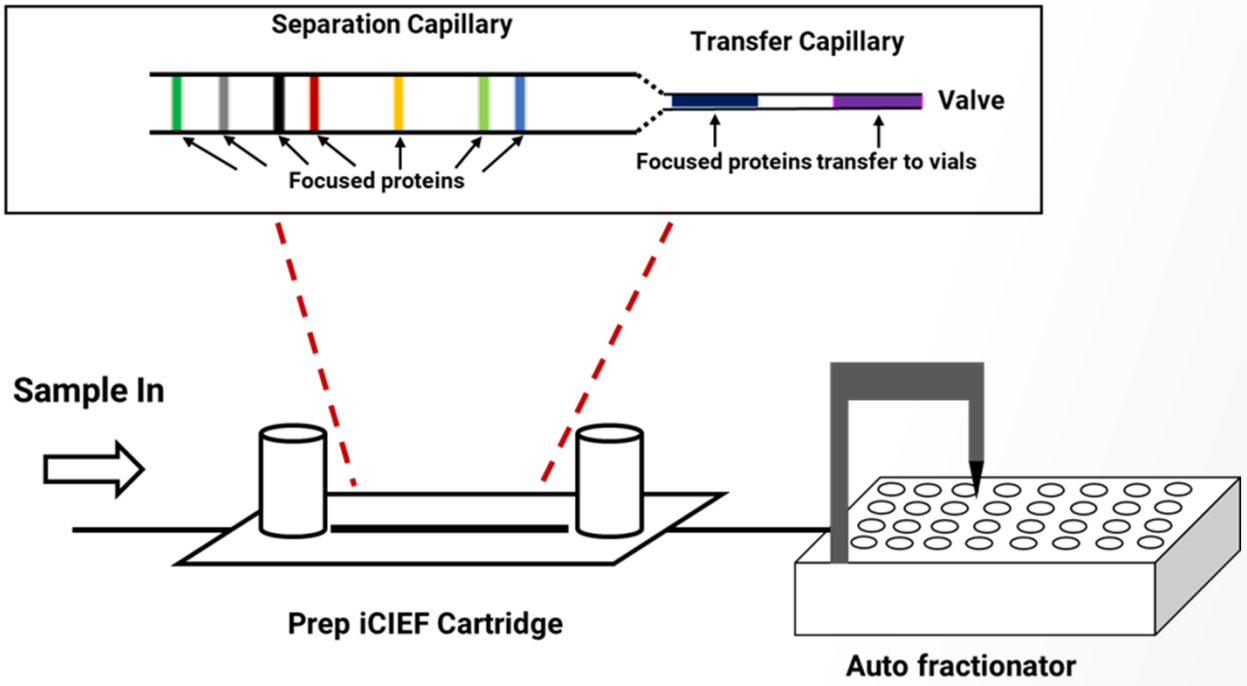
Imaged capillary isoelectric focusing (icIEF) tandem high resolution mass spectrometry for charged heterogeneity of protein drugs in biopharmaceutical discovery

Xiaoxi Zhang [a], Teresa Kwok [b], Mike Zhou [b], Min Du [c], Victor Li [b], Tao Bo [b], Tiemin Huang [b], Tong Chen [b]





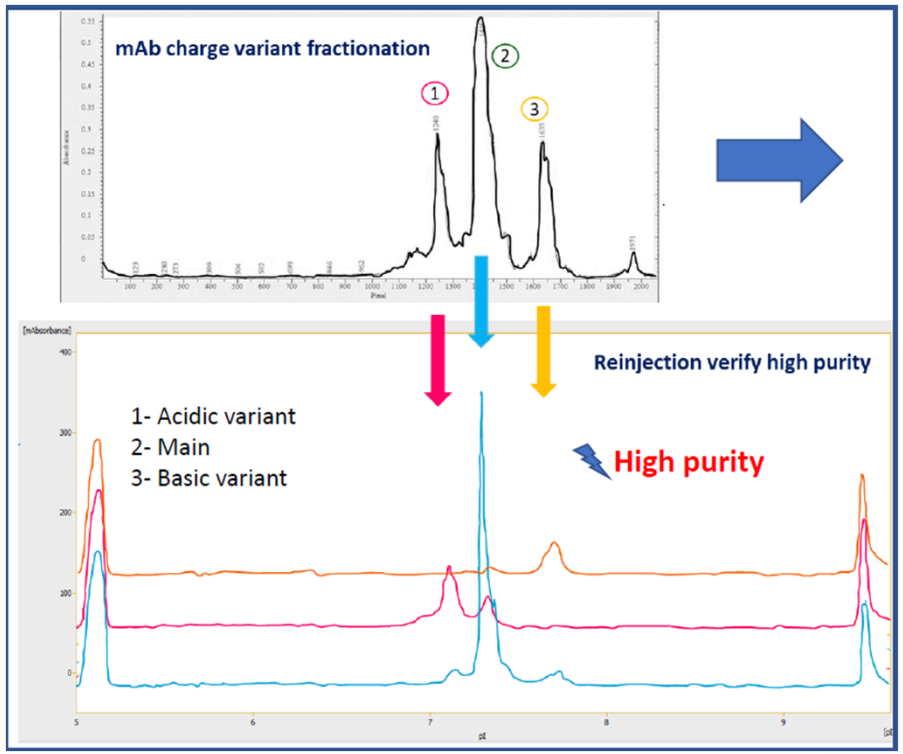
icIEF-Orbitrap联用制备方案

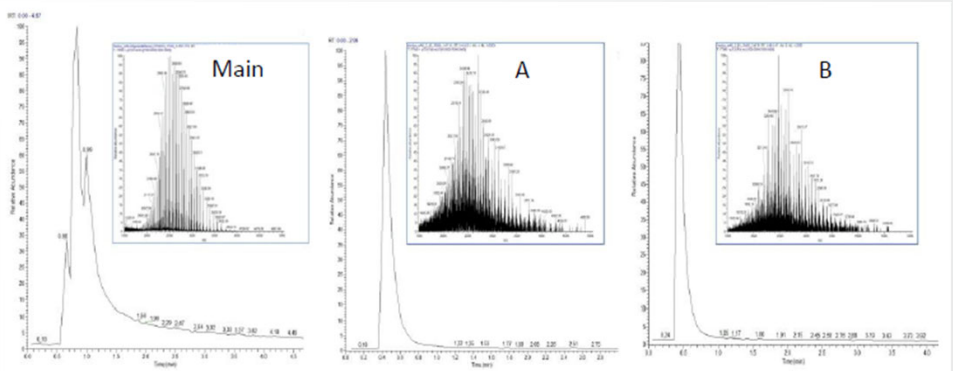


- A536 uN的分辨率；
- 高达 >5* 制备纯度；单次分析的蛋白异质体制备量达 = »l；
- 每天的制备总量高达¥655 »l；
- 严格的温控和全自动体系； 每次分析高达 >；馏分收集能力；
- 方法建立简单快速。

- 肽段序列分析
- 氨基酸序列分析
- 完整蛋白 & PTM 鉴定

icIEF-Orbitrap联用制备案例1：
单抗电荷异质体的制备和馏分的HPLC-MS鉴定





LC-MS for intact protein ID

Analytical Methods

ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY

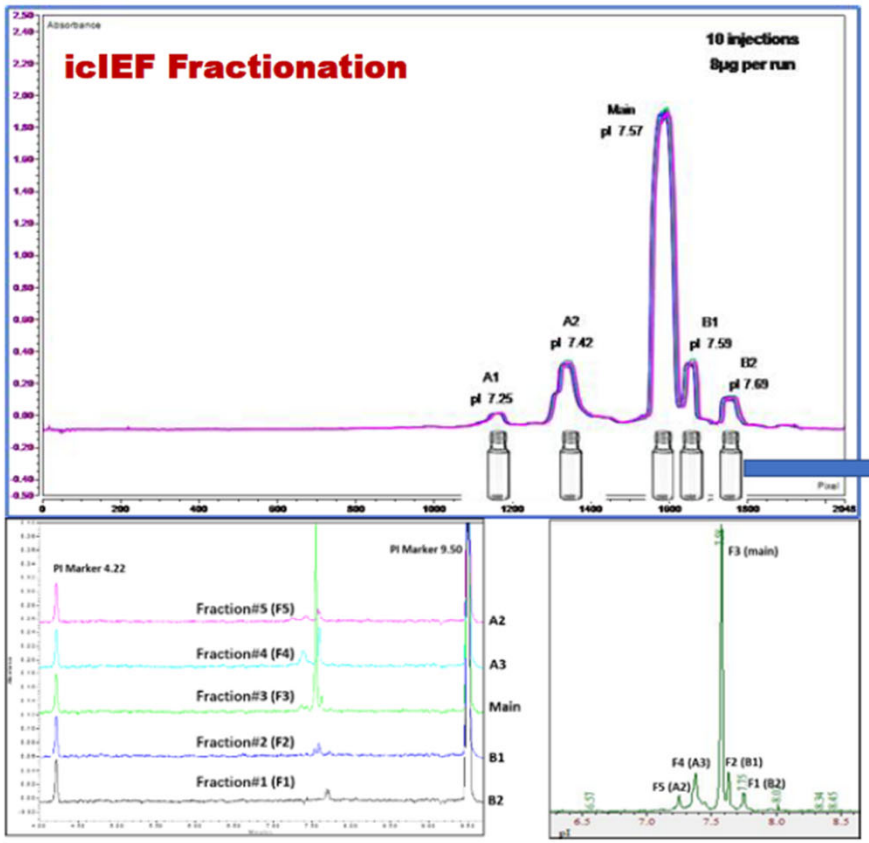
PAPER

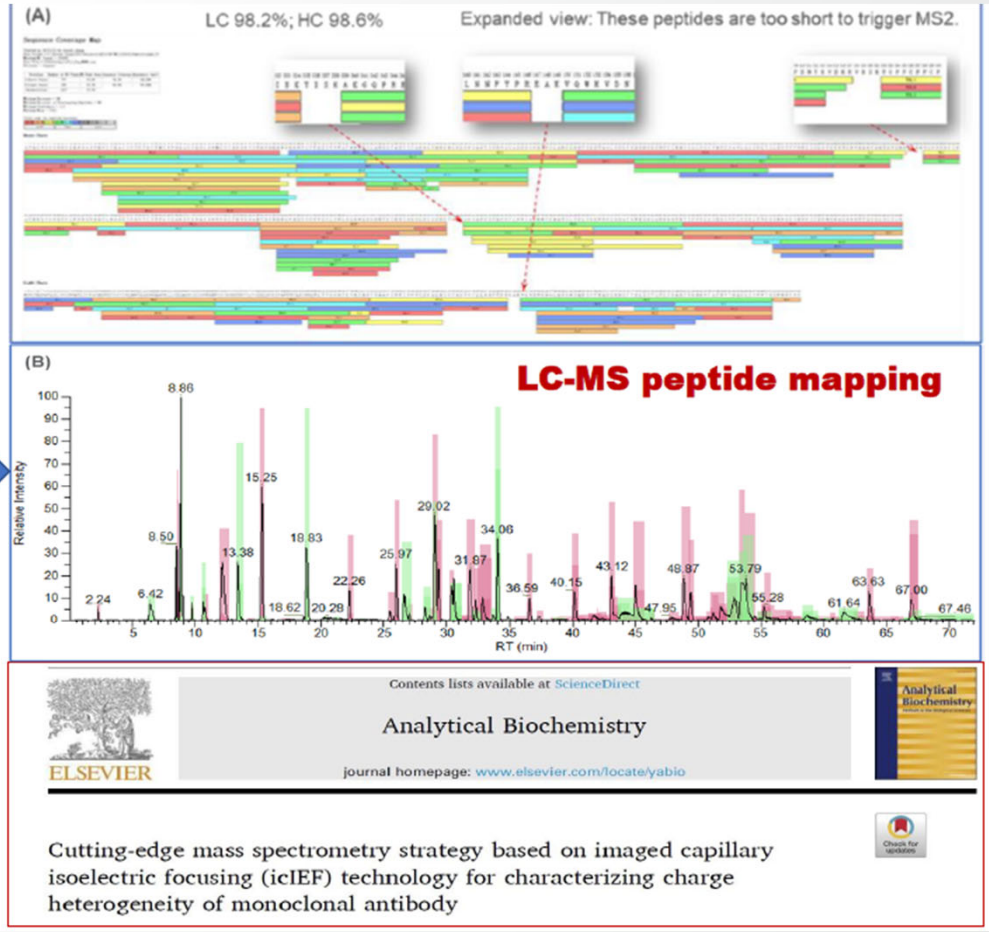
Check for updates

Cite this: *Anal. Methods*, 2023, 15, 411

Fractionation and online mass spectrometry based on imaged capillary isoelectric focusing (icIEF) for characterizing charge heterogeneity of therapeutic antibody

icIEF-Orbitrap联用制备案例2：
单抗电荷异质体的制备和馏分的质谱肽段序列鉴定





更多客户案例：

Charge Variant Characterization of Therapeutic Proteins using Preparative iCIEF and Mass Spectrometry

Qi Wang, Yiting Zhang, Jennifer Atsma, Mahalia Serrano, Yan Yin, Jeff Beckman, and Richard Ludwig

Bristol-Myers Squibb, Biologics Development

Received: 30 November 2022 | Revised: 3 January 2023 | Accepted: 30 January 2023
DOI: 10.1002/rcm.9484

RESEARCH ARTICLE

Rapid Communications in Mass Spectrometry WILEY

Integrating ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry and imaged capillary isoelectric focusing for in-depth characterization of complex fusion proteins

Wenhong Fan[1] | Xiang Li[1] | Zhen Long[2] | Dening Pei[1] | Xinchang Shi[1] | Guangyu Wang[1] | Ying Guo[1] | Tao Bo[3] | Yong Zhou[1] | Tong Chen[3]

Analytical Biochemistry 660 (2023) 114961

Contents lists available at ScienceDirect

Analytical Biochemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/yabio

Cutting-edge mass spectrometry strategy based on imaged capillary isoelectric focusing (icIEF) technology for characterizing charge heterogeneity of monoclonal antibody

Xiaoxi Zhang[a], Tong Chen[b,*], Victor Li[b], Tao Bo[b], Min Du[c,**], Tiemin Huang[b]

[a] Thermo Fisher Scientific, Shanghai, China
[b] Advanced Electrophoresis Solution Ltd., Cambridge, Canada
[c] Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA

Thank you

赛默飞市场拓展经理 郭傲玮
Aowei.Guo@thermofisher.com
电话/微信：15922279607