

애질런트 사례 연구

단백질 치료제를 평가하는 더 스마트한 방법 - 신속하고 신뢰할 수 있는 의약품 개발

의약품 발견 과정은 수년에 걸쳐 지속적으로 개선되고 있습니다. 그러나 많은 기술 발전에도 불구하고 기본적인 접근 방식은 크게 변하지 않은 채로 남아 있습니다. 그래서 일각에서는 “신약 개발에 접근하는 방식을 근본적으로 바꿔야 할 때가 아닌가?” 라는 질문이 나오고 있습니다.

미시간 대학교(University of Michigan) 화학과 교수인 Brandon Ruotolo가 이끄는 팀은 이 말에 공감하며, 자신들의 새로운 Agilent 6560C Ion Mobility LC/Q-TOF가 이를 실현시킬 적합한 도구라고 생각합니다. Ruotolo와 그의 팀은 애질런트 과학자들과의 협력을 통해 해당 플랫폼의 능력을 확장하여 단백질 특성을 보다 심층적으로 규명할 수 있게 하였으며, 이는 바이오제약 분야의 단백질 기반 치료제 개발 과정에 혁신을 일으킬 잠재력을 가지고 있습니다.

오늘날 의약품 발견의 현주소

평균적인 의약품 개발에는 수십억 달러의 비용이 들어가며 개발 기간도 10년에 달합니다. 하나의 승인된 치료제를 찾기 위해 수십만 개의 후보 물질을 선별해야 하는 경우도 적지 않습니다. Ruotolo는 의약품 발견 과정을 “눈을 가린 채 달에 착륙하는 것과 비슷한” 극도로 복잡한 작업이라고 설명합니다.

사실 많은 획기적 의약품이 우연히 발견된 반면, 또 다른 많은 약물이 잘 갖추어진 파이프라인을 통해 개발됩니다. 이 파이프라인은 잘 알려진 기술과 도구를 사용하여 효소 억제제로 광범위하게 분류될 수 있는 저분자 의약품으로 이어지는 경우가 많습니다. 역사적으로, 대부분의 사람들이 약에 대해 생각할 때 떠올리는 의약품이 이것이라고 보면 됩니다.



Brandon Ruotolo 박사

미국
미시간 대학교
화학과 교수

미래의 약물을 위한 많은 표적 화합물은 우리에게 익숙한, 고전적인 저분자 효소 억제제는 아닐 것입니다. 오늘날 발견되는 질병은 더욱 복잡하기에 단백질-단백질 상호작용 또는 특정 방식의 단백질 펼침(unfolding)과 같은 제약 메커니즘에 의존하게 될 것입니다. 이러한 도전에 대처하기 위해서는 새로운 기술과 새로운 아이디어가 필요합니다. 의약품 발견 파이프라인을 발전시켜야 하는 이유가 여기에 있으며, Ruotolo와 그의 팀이 하려는 일이 바로 이것입니다.

충돌 유도 펼침(collision induced unfolding)의 도입 - 단백질 치료제를 평가하는 더 스마트한 방법

충돌 유도 펼침(CIU)은 단백질 치료제 또는 표적물질의 안정성을 빠르게 평가할 수 있는 방법입니다. 안정성은 제약 파이프라인에서 단백질과 그 역할에 대해 우리가 알아야 하는 거의 모든 부분과 서로 얽혀 있습니다. 일반적으로, 단백질 기반 치료제는 효능과 안전성을 유지하기 위해 가능한 한 안정적이어야 합니다.

CIU의 주된 이점은 다량의 정제된 단백질을 생성하지 않아도 안정성 정보를 얻을 수 있게 해준다는 것입니다. CIU를 사용하면 혼합물 내에서 안정성을 평가할 수 있으며, 기존 기술과 비교했을 때 그 속도가 훨씬 빠릅니다. 수천 개의 단백질 기반 약물 후보 물질을 쉽게 선별하여 풍부한 정보가 담긴 데이터를 제공함으로써 제약 파이프라인을 개선하고 촉진할 수 있습니다.

Ruotolo가 CIU에서 잠재력을 처음 발견한 것은 약 7년 전의 일입니다. 그러나 그 당시에는 몇 가지 분명한 한계가 있었습니다. 기기 내부에서 펼칠 수 있는 질량 범위가 매우 작아서 상대적으로 작은 단백질과 핵산에 대해서만 효용이 있었습니다. Ruotolo는 CIU를 다음 단계로 끌어올리기 위해 이 질량 범위를 크게 확장하기를 원했습니다.

단백질 특성 규명을 발전시키려는 열망으로 맺어진 파트너십

애질런트 과학자들 또한 CIU에서 원형(intact) 단백질과 단백질 복합체를 평가할 수 있는 가능성을 발견했지만 이 분야에서 성장하려면 해당 분야의 전문가가 필요했습니다. 이에 따라 애질런트는 거대 단백질에 대한 MS 기반 분석을 개선하기 위해 Ruotolo와의 대화를 시작했습니다. “학술적 연구와 그것이 기기 제조 및 설계 개념에 가져올 수 있는 효과에 이토록 깊은 관심을 가지고 있는 회사는 찾기 어려울 것입니다. 이러한 점에서 애질런트는 저희에게 훌륭한 파트너였습니다.”라고 Ruotolo는 말했습니다.

지난 5년 동안 이어온 파트너십에서 중점을 둔 부분은 6560 플랫폼에서 CIU의 질량 범위를 확장하는 일이었습니다. 그들은 이온이 훨씬 가파른 전위 에너지 표면에 노출될 수 있도록 기기 전면에 배치할 새로운 이온 광학 장치를 설계했습니다. 그들은 또한 더 무거운 가스인 SF₆를 기기의 앞부분에 도입했습니다. 이제 각 충돌의 영향 범위가 넓어졌으며, 활성화 영역의 전체 길이에 걸쳐 이온에 더 많은 에너지를 공급할 수 있는 출력을 확보하게 되었습니다.

이러한 조합을 통해 펼쳐내고자 하는 전체 질량 범위를 손 안에 넣을 수 있었습니다. 초기에 출간한 간행물 중 하나는 800kDa의 원형 단백질 복합체의 펼침에 관한 것이었습니다. “이 정도 규모를 펼칠 수 있다면 이 시스템으로 분석하려는 거의 모든 생체분자를 펼칠 수 있을 만큼 시스템의 유연성이 충분한 것입니다.”라고 Ruotolo는 설명했습니다.

새로운 6560C Ion Mobility LC/Q-TOF의 탄생, 그리고 Ruotolo교수 연구의 획기적 변화

Ruotolo와 그의 팀은 보다 큰 다중 단백질 복합체를 분석하며 6560C의 지평을 계속해서 넓혀갔습니다. CIU 측정을 위해서는 높은 정밀도와 정확도가 필요했고 6560C는 그 요구를 충족시켰습니다. 교차 플랫폼 비교 또한 성공적으로 수행했습니다. CIU가 제약 파이프라인에서 분석법으로 승인되고 검증을 받으려면 이러한 모든 측면들이 매우 중요합니다.

CIU 실험은 계속되었고 Ruotolo는 초기 데이터를 단백질의 구조적 “지문”이라고 설명했습니다. 그는 “초반에는 대부분의 데이터를 특정한 구조적 특징에 연결시킬 수 없었습니다. 그저 실험 내내 내부 온도 변화로 인해 단백질의 크기가 증가한다는 사실을 알게 되었을 뿐이었습니다.”라고 말했습니다. 이어 그는 “하지만 지금은 일부 구조적 정보를 파악할 수 있습니다.”고 말했습니다.

“저희는 인가된 에너지의 함수로서 구조적 변화 패턴을 기록합니다. 그런 다음 세포 스트레스를 겪었거나 리간드와 결합된 다른 시료와 비교하여 두 시료 사이의 데이터가 어떻게 변하는지 확인합니다.”라고 그는 설명했습니다. “CIU 데이터 분석은 종종 시료 간의 많은 참조를 수반합니다. 미지 물질로부터 확실한 결론을 도출하려면 표준 단백질에 대한 데이터의 재현성이 매우 높아야 하는데, 6560C는 이 부분에서 탁월합니다.”

6560C는 광범위한 질량 및 구조적 상태에 걸쳐 다양한 단백질 및 단백질 복합체를 살펴볼 수 있는 강력한 플랫폼으로 입증되었습니다. CIU 분석은 이황화 결합, 펼침 및 공유 결합의 변화를 바탕으로 바이오시밀러와 단백질을 매우 민감하게 구별합니다. 이황화 결합이 서로 다른 IgG 서브 클래스(아강) 내의 어디에 위치하는지를 높은 신뢰도로 구별할 수 있습니다. IgG는 바이오의약품 단백질을 구축하기 위한 골격 역할을 하므로 의약품 개발에 도움이 될 것입니다.

CIU의 성공에도 멈추지 않는 혁신, 통찰력을 더욱 높여줄 데이터를 위한 미래 기술 탐구는 진행중

“펼쳐진 단백질 영역을 더 잘 이해하기 위해 CIU와 전자 포획 해리(ECD)를 결합하는 아이디어를 시험하고 있습니다.”라고 Ruotolo는 말했습니다. CIU는 단백질 또는 단백질 복합체를 펼치는 데 사용할 수 있습니다. 그런 다음 ECD가 펼쳐진 영역의 공유 결합을 끊을 수 있습니다. 조각들을 기록한 다음 CIU의 전이에 구조적으로 주석을 달 수 있습니다. 또한 CIU와 ECD의 조합은 원형 단백질 복합체에 대한 서열 커버리지도 상당히 증가시켜 잠재적으로 이 구성에 대해 알아야 할 모든 궁금증을 해결할 수 있습니다. Ruotolo는 “이 기술이 가져다 줄 가능성과 이로부터 실현될 가치를 생각하면 흥분되지 않을 수 없습니다.”라고 말했습니다. 그는 이어 “앞으로 단백질 공학과 바이오의약품 개발을 위한 매우 강력한 조합이 될 것으로 예상됩니다.”라고 덧붙였습니다.

처리량도 Ruotolo와 그의 팀이 조사 중인 개선 사항 중 하나입니다. 정보가 풍부한 MS 스크리닝 기능뿐만 아니라 빠른 속도도 중요하기 때문입니다. 그들은 Agilent RapidFire가 해결책이 될 수 있다고 생각합니다. RapidFire는 고처리량 MS를 위한 초고속 시료 클린업 목적의 통합 자동 시료 주입기입니다. RapidFire는 지금까지 저분자 분석에 사용되어 왔지만 Ruotolo는 이를 수정하여 고분자에도 적합하게 만들려는 목표를 가지고 있습니다. “크기 배제 카트리지와 같은 구성품이 MS 도입 전에 단백질을 탈염하는 빠른 수단을 제공할 수 있습니다.”라고 Ruotolo는 말했습니다.

재현성 있는 고처리량 분석, 의약품 발견 파이프라인을 진정으로 가속화

단백질의 분자량과 단백질이 취한 구조 또는 상태, 표적과 약물 사이의 결합 상태 수, 그리고 이러한 부분들과 관련된 모든 안정성을 알려줄 수 있는 하나의 MS 기반 분석이 현실화된다면 획기적인 전환점이 될 것입니다. “신약 개발 과정의 초기 단계에서 이러한 정보를 얻을 수 있다면 화합물이 표적에 대해 메커니즘적으로 어떤 작용을 일으킬지에 대해 더 많이 알게 될 것입니다.”라고 Ruotolo는 말했습니다. “그러므로 더 나은 결정을 내릴 수 있습니다. 가능성이 적은 약물을 조기에 포기하거나, 유망해 보이고 잠재적인 효능을 뒷받침하는 정확한 정보가 있는 약물은 개발을 더 적극적으로 추진할 수 있습니다.

“이 기술로 중요한 기회의 문들이 활짝 열리게 될 것입니다.”라고 Ruotolo는 힘주어 말합니다. 그는 “이러한 도구의 도움으로 더 스마트하고, 더 빠른 바이오의약품 스크리닝, 저분자 의약품 발견 및 다중 단백질 복합체 구조 분석이 가능해질 것입니다. 이러한 도구를 함께 사용하면 신약 개발 파이프라인을 더욱 촉진시킬 수 있습니다.”라고 덧붙였습니다.

기존 6560 플랫폼은 이미 뛰어난 정밀성과 정확성을 가지고 있었습니다. 현재는 Agilent 6560C Ion Mobility LC/Q-TOF에 소스 내 활성화 구현으로 응용 분야가 크게 확대되어 거대 단백질의 CIU가 현실이 되었습니다. CIU가 포함된 6560C는 단백질 특성 규명에 대한 더 깊이 있는 정보를 제공하여 신약 개발 연구를 진정으로 새롭게 바꿀 잠재력을 가지고 있는 바이오제약의 중대한 발전입니다.

www.agilent.com

DE89492781

본 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
2021년 11월 22일, 한국에서 발행
5994-4272KO

한국에질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com

 **Agilent**
Trusted Answers