

安捷伦案例研究

## 更智能的蛋白质治疗药物评估方式 — 快速而可靠的药物开发

多年来，药物发现过程一直在不断完善。然而，尽管技术上取得了诸多进步，基本方法大体上却没有改变。因此，科学家们思考着：“是否应该从根本上革新我们的新药开发方式了？”

密歇根大学化学教授 Brandon Ruotolo 带领的团队认为答案是肯定的。而且他们认为自己拥有适合开展这项工作的工具：新型 Agilent 6560C 离子淌度 LC/Q-TOF。Ruotolo 及团队与安捷伦科学家合作，拓展了该平台深入表征蛋白质的能力，这有可能彻底改变生物制药领域中蛋白质治疗药物的开发过程。

### 我们首先了解一下药物发现的当前情况

通常情况下，开发一种药物化合物的成本达数十亿美元，且需投入十年左右的时间。往往要筛选数十万种候选药物，才能有一种治疗药物获批。Ruotolo 认为药物发现过程极为复杂 — “难度相当于蒙上眼睛登月。”

事实上，许多变革性的药物化合物是偶然发现的，但还有许多则是通过成熟的流程发现的。该流程利用已充分掌握的技术和工具，得到的往往是小分子药物，它们大致都可归类为酶抑制剂。过去，提到药物，大多数人想到的都是这类药物化合物。

未来，许多药物研发目标都将不再是人们熟知的这类经典的小分子酶抑制剂。如今，各种疾病愈加复杂，疾病治疗将依赖于蛋白质间相互作用、蛋白质在某种方式下去折叠等药物机制。我们需要新的技术和想法来应对这些挑战。我们需要革新药物发现管线，这也正是 Ruotolo 及其团队目前努力的方向。



Brandon Ruotolo 博士

化学教授  
密歇根大学  
美国

## 碰撞诱导的去折叠简介 — 更智能的蛋白质治疗药物评估方式

碰撞诱导的去折叠（或 CIU）是一种快速评估蛋白质治疗药物或靶点稳定性的方法。我们需要了解的关于蛋白质的几乎所有信息，以及蛋白质在药物管线中的作用都与稳定性息息相关。一般说来，蛋白质类治疗药物应尽可能稳定，以保持有效性和安全性。

CIU 的一项主要优点是无需大量纯化蛋白质即可获得稳定性信息。可以利用 CIU 在混合物内评估稳定性，且速度比传统技术快若干个数量级。轻轻松松即可筛选数以千计的蛋白质候选药物，得到信息丰富的数据，进而改善并加快药物研发管线。

大约七年前，Ruotolo 第一次注意到 CIU 的潜力。然而，CIU 也存在某些明显局限。仪器能够去折叠的质量范围非常小，因此只适用于较小的蛋白质和核酸。Ruotolo 希望大幅扩展该质量范围，将 CIU 推向新高度。

## 推动蛋白质表征技术的共同愿景下诞生的合作关系

安捷伦科学家也注意到了 CIU 在检测完整蛋白质和蛋白质复合物方面的潜力，但需要一位该领域的专家共同探索。因此，安捷伦开始与 Ruotolo 沟通探讨，改进大分子蛋白质的质谱分析方法。“很少有公司对学术研究及其可能对仪器制造和设计理念产生的影响给予如此高度的重视。安捷伦在这方面一直是很棒的合作伙伴，” Ruotolo 表示。

过去五年，双方的合作重点是扩展 6560 平台内 CIU 的质量范围。他们在仪器前部设计了新的离子光学元件，提供更陡峭的势能面，使离子更易相互碰撞。此外，还在仪器前部区域引入了一种更重的气体 — SF<sub>6</sub>。这样一来，每次碰撞更加剧烈，能够产生更大的推力让离子在整个活化区内获得更多能量。

这种组合使他们能够在所期望的整个质量范围内实现去折叠。双方最先发表的成果之一是 800 kDa 完整蛋白质复合物的去折叠。Ruotolo 解释道：“如果在如此大的量级上都能实现去折叠，那么这套系统就足够灵活，能对几乎任何生物分子进行去折叠。”

## 新型 6560C 离子淌度 LC/Q-TOF 彻底变革 Ruotolo 的研究

Ruotolo 及其团队还在分析更大的多蛋白复合物，继续测试 6560C 的能力。他们对 CIU 测量的精确度和准确度要求甚高，而 6560C 做到了。他们还成功进行了跨平台比较。要使 CIU 成为药物管线中一种广受认可、经得起验证的分析方法，所有这些特性都至关重要。

CIU 实验仍在继续，Ruotolo 将早期获得的数据称作蛋白质结构的“指纹”。他表示：“在以前，大多数数据无法与具体的结构特征联系起来。我们只是知道，在实验过程中，由于内部温度的变化，蛋白质尺寸增大了。”他继续讲道：“但是，我们现在可以识别出一些结构信息了。”

“我们记录了分子结构随作用其上的能量而变化的模式。然后将其与另一份接受细胞应力或与配体结合的样品进行比较，观察两者间数据的变化，”他讲解道。“分析 CIU 数据往往需要样品之间的大量对比。标准蛋白质的数据必须具有高度重现性，这样才能确保未知物相关结论的可靠性，而 6560C 在这方面表现非常出色。”

6560C 已被证明是研究具有不同质量和结构状态的各种蛋白质及蛋白质复合物的强大平台。CIU 分析非常灵敏，可以根据二硫键、去折叠以及共价键变化分辨生物仿制药和蛋白质。它还能非常可靠地分辨各种 IgG 亚类中二硫键的位置。这对药物开发很有帮助，因为 IgG 常被用作构筑生物治疗蛋白质的框架。

## 创新没有随 CIU 的成功而停止，新技术正在研发中，只为得到更深入的数据

“我们正在尝试将电子捕获解离，也就是 ECD，与 CIU 结合，更好地研究蛋白质的去折叠区域，” Ruotolo 表示。可以使用 CIU 对蛋白质或蛋白质复合物进行去折叠。然后，通过 ECD 使去折叠区域内的共价键断裂。这些片段可以被记录下来，使研究人员得以从结构的角度去解释 CIU 中发生的变化。这两种技术的结合也显著提高了完整蛋白质复合体的序列覆盖率，或许能帮助我们获取所有想要了解的关于蛋白质复合体组成的信息。Ruotolo 表示：“我们迫不及待地想要知道这项技术的发展潜力和使用价值。”他补充道：“我认为未来它将成为蛋白质工程和生物治疗药物开发领域中一项十分强大的组合技术。”

Ruotolo 及团队正在努力改进的另一个方面是分析通量。他们追求的不仅是信息丰富的质谱筛选能力，还有更快的分析速度。他们认为，Agilent RapidFire 可以帮助他们实现目标。RapidFire 是一款用于高通量质谱样品超快速净化的集成自动进样器。过去，RapidFire 通

常用于小分子分析，但 Ruotolo 希望对其进行改造，使其能更好地用于大分子分析。“比如体积排阻柱可以在蛋白质引入质谱前快速对其进行脱盐，” Ruotolo 表示。

## 一种可以真正加速药物发现管线的高通量、高重现性分析方法

如果有一种质谱检测方法可以获取蛋白质的分子量、结构或状态、靶点与药物间结合态的数量，以及所有与之相关的稳定性信息，那么这一定会是一种变革性方法。“如果能在研发流程的早期获得这些信息，就能更好地了解化合物对靶点的作用机制，” Ruotolo 表示。“由此可以做出更好的决策，更早地淘汰效果不佳的药物，或是努力推进有希望且有正确信息预示其存在潜在疗效的药物。”

Ruotolo 认为：“许多重要的研究成果将随这项技术而诞生。”他补充道：“这些工具将使生物治疗药物筛选、小分子药物发现和多蛋白复合物结构分析更加智能、更加快速。这些工具将共同推动新药研发管线向前发展。”

现有的 6560 平台已经具有出色的精确度和准确度。现在，Agilent 6560C 离子淌度 LC/Q-TOF 上采用的源内活化大幅拓展了其应用范围，使大分子蛋白质的 CIU 成为可能。具有 CIU 功能的 6560C 能更深入地表征蛋白质，有可能真正改变药物研发方式，是生物制药领域的一项重大进展。

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE89492781

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2021  
2021 年 11 月 22 日, 中国出版  
5994-4272ZHCN