

# BiopharmaLynx软件在蛋白质肽图分析中的应用

周春喜

沃特世科技（上海）有限公司实验中心

在新药研发中，蛋白质药物正在占据越来越大的比重，而蛋白质分子结构的复杂性又要求对蛋白质药物必须进行全面的表征，以满足新药报批、工艺改进和专利保护的要求。目前蛋白质药物的研发和表征还面临很多挑战，尤其是在重组蛋白的序列确证、微量杂质蛋白的检测和定量、不同批次间产品的比较和质量控制等方面。质谱在蛋白质的表征方面发挥着至关重要的作用，它不仅测定蛋白质药物的分子量和产品的异质性，还可以通过肽图分析确证蛋白质分子的一级结构，包括氨基酸序列、突变和修饰、二硫键定位等信息。

但如果如果没有功能强大的软件帮助，质谱数据的分析、比较、注释、有效信息的提取和分析报告的产生将是一个十分费时耗力的复杂过程。如果进行人工分析，即使是经验丰富的分析人员也会感到很头疼，而且在如此复杂的分析过程中很难保证不出差错，而一旦出现差错，不仅会严重影响研发的进程，有些错误的判断还有可能导致整个项目的失败。因此，分析软件是必不可少的。理想的软件不仅可以按照标准的流程，自动地完成分析过程，还可以允许分析人员根据经验和知识对分析结果进行检查并修正错误的结果。沃特世公司的BiopharmaLynx™软件就是这样的理想工具，它不仅自动地完成蛋白质分子量和肽图的分析，比较不同批次间的样品并确认有无差异，还具有以下特点：

## 一、肽图分析覆盖率高

肽图分析可以确证蛋白质分子的一级结构，包括氨基酸序列、突变和修饰、二硫键定位等。由于酶解后的样品中同时存在着蛋白质的完全酶切肽段、不完全酶切肽段、非特异酶切肽段、修饰肽段和杂蛋白肽段，因此肽图是非常复杂的。通过全信息串联质谱技术（MS<sup>E</sup>），可以同时记录样品中所有的母离子及其碎片离子信息。在全面信息的基础上，BiopharmaLynx软件将可以自动进行保留时间的对齐、强度归一化、痕量杂质分析、序列确证等工作。图1为BiopharmaLynx软件对两种干扰素产品肽图分析的鉴定覆盖率分析结果，及其序列对比界面。

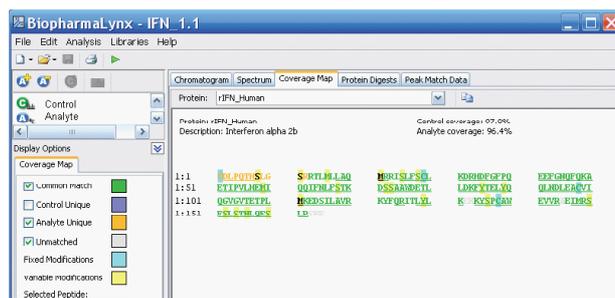


图1. 不同干扰素产品肽图分析结果对比界面。

## 二、BiopharmaLynx具有多种酶切功能

在计算理论肽图时，BiopharmaLynx可以进行多种方式的理论酶切，包括半酶切、多酶联合酶切、非特异性酶切，以及自编酶切等。全面满足实验中的各种酶切分析需求。

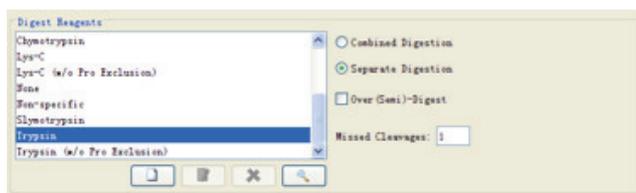


图2. BiopharmaLynx软件酶切分析设置界面。

## 三、BiopharmaLynx具有多种翻译后修饰可选

在计算理论肽图时，BiopharmaLynx还可以考虑各种翻译后修饰。在内置90种常见修饰可供选择外，分析人员还可自行编辑其需要的特殊修饰方式用于分析。

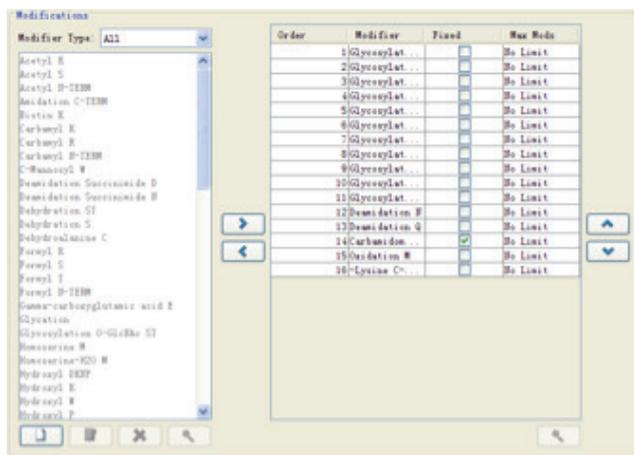


图3. BiopharmaLynx软件修饰分析设置界面。

#### 四、修饰的肽段在不同样品间含量对比

BiopharmaLynx软件可以比较不同样品间某种肽段（包括突变肽段和特定修饰肽段）的含量差异，发现样品间的细微差别，并用直观的方式显示出来。

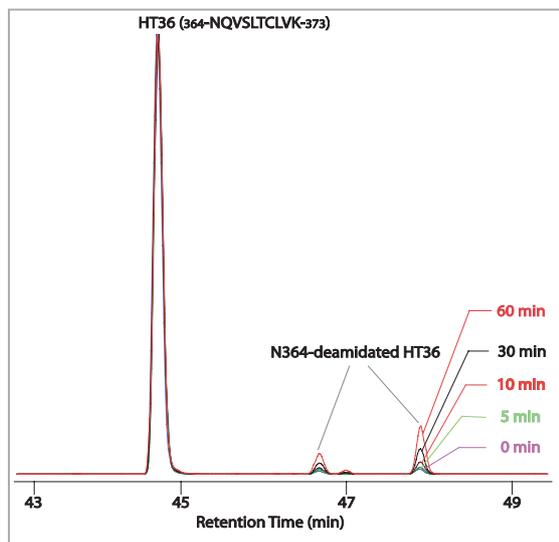


图4. 不同样品间NQVSLTCLVK肽段及其脱酰胺化产物的含量比较。

#### 五、BiopharmaLynx的样品间肽图对比

BiopharmaLynx软件这可以自动地将各个批次样品的肽图与参照样品的肽图进行对比，帮助我们快速而敏锐地发现不同批次的样品间有无细微差别。

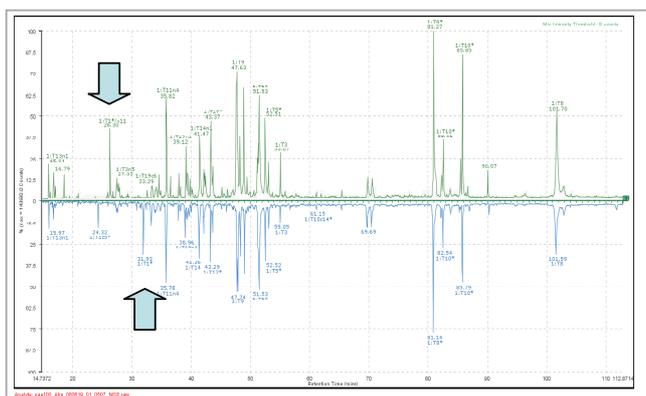


图5. BiopharmaLynx对两个干扰素样品的肽图比较及N-末端肽段差异的发现。

#### 六、二硫键的定位

二硫键对于蛋白质高级结构的形成和功能的维持具有重要的作用，二硫键的定位也是蛋白质结构分析的重要方面。但是二硫键的定位一直很耗时且非常具有挑战性的事情，尤其是对于含有多对二硫键的蛋白质，如免疫球蛋白等。沃特世公司的肽图分析完整解决方案通过独特的UPLC/MS<sup>E</sup>数据采集方式和功能强大的BiopharmaLynx软件，可以快速地自动完成二硫键的定位分析（见图6）。

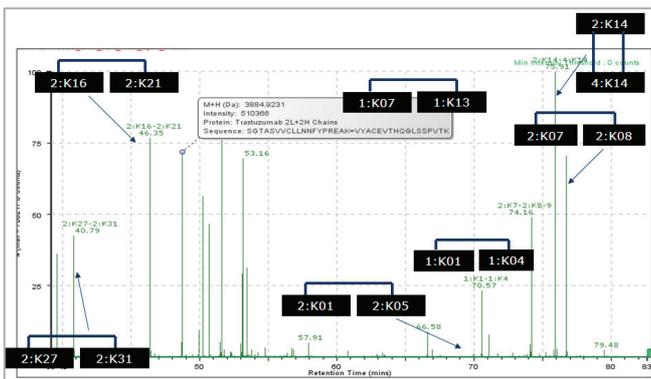


图6. IgG1中二硫键的定位。

在生物药领域，BiopharmaLynx软件作为液质数据分析最为专业的软件已经被广泛使用。目前，全球前十大生物药企业都已成为沃特世生物制药解决方案的使用者。