

## 使用先进的TripleTOF<sup>®</sup>高分辨质谱平台进行完整蛋白分析

Zoe Zhang<sup>1</sup>, Sibylle Heidelberger<sup>2</sup>

<sup>1</sup> SCIEX, USA, <sup>2</sup> SCIEX, Canada

### 前言

对于药物研究机构的研究人员来说，他们总是希望能在最短的时间内获得尽可能全面的产品质量属性方面的信息。在生物制药领域，蛋白质药物分子量的测定是监控产品质量属性的关键步骤，从生物药早期的开发一直到生产阶段的QC放行，快速、准确的测定蛋白质药物的分子量就显得至关重要。对于生物大分子分析，飞行时间质谱的优势在于质荷比范围宽，理论上没有上限，除此之外能提供高分辨率以及非常宽的动态范围，因此飞行时间高分辨质谱是生物药分析的不二之选。在本文中我们将展示SCIEX TripleTOF<sup>®</sup> 6600高分辨质谱平台在完整蛋白分析方面的优势。

在选择质谱平台进行完整蛋白分子量测定的时候，其中一个最重要的指标就是单次扫描谱图内的动态范围。SCIEX TripleTOF<sup>®</sup>飞行时间高分辨质谱在维持高分辨率的同时并不会损失动态范围，单次扫描仍能获得4-5个数量级的动态范围，在完整蛋白分子量测定的时候，除了主要的蛋白变体之外，同时能检测到低丰度的蛋白质的修饰变体，不会丢失任何有价值的信息。



### TripleTOF<sup>®</sup>高分辨质谱在完整蛋白分析方面的优势：

- TripleTOF<sup>®</sup>高分辨质谱的动态范围宽，单次扫描能同时检测蛋白质的高丰度和低丰度的变体
- BioPharmaView™ 数据处理软件功能强大，操作简便，对于所有的实验人员都能快速获得蛋白分子量分析的结果
- 数据处理参数可扩展，针对不同的蛋白质分子，用户可以优化数据处理参数以获得最佳的实验结果
- 数据展示更直观，便于用户快速获得准确的实验结果

### 蛋白去卷积和分子量测定

对于蛋白大分子来说，同位素峰的重心会向高质量端偏移，分子量越大，单同位素峰的丰度越低，对于蛋白质药物来说，分子量通常在150000以上，这时候单同位素峰已经检测不到，因此蛋白

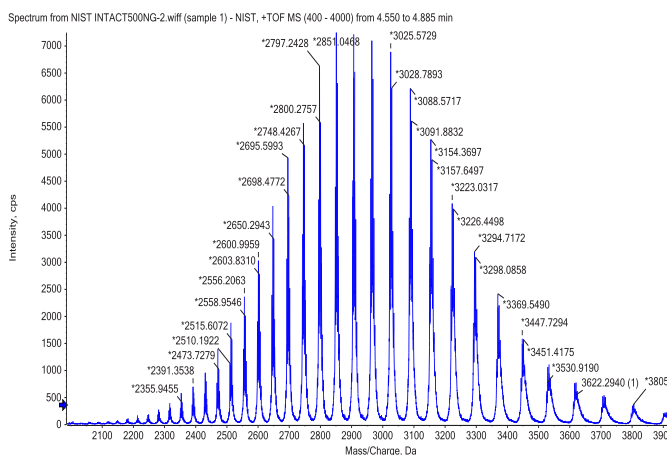


图1. NIST单抗完整蛋白电喷雾离子化原始质谱图，完整蛋白呈现多电荷态，跨越非常宽的质荷比范围，难以人工计算蛋白的分子量。

分子量测定最终结果报告的都是平均分子量。目前所有的去卷积的软件都是通过迭代的方法测定蛋白的分子量，可以通过对比最终结果和原始谱图蛋白的峰型确定最佳的迭代次数。蛋白去卷积参数设置会最终影响实验结果，通常来说，对原始数据进行平滑、扣除背景噪音以及增加迭代次数等操作会使最终结果变的简单，方便实验人员快速锁定高分度的蛋白变体，但是潜在的风险是会掩盖一些低丰度蛋白变体的信息，造成部分有价值的信息的遗漏。在本应用文档中，我们将展示SCIEX TripleTOF® 6600高分辨质谱平台同时获得高丰度和低丰度蛋白质变体的能力，用户无需再进行过多的去卷积参数的优化和重复分析。

图1和图2展示的是一个分子量在148000左右的单克隆抗体完整蛋白分子量测定的结果，图1显示抗体在质谱图上呈现多电荷的状态，跨越了非常宽的质荷比的范围。图2显示的是未经任何处理的原始谱图的放大图，从蛋白单个电荷态原始谱图中，可以同时检测到蛋白高丰度和低丰度的蛋白的变体，可以通过峰面积基峰计算每一种蛋白变体的相对含量。

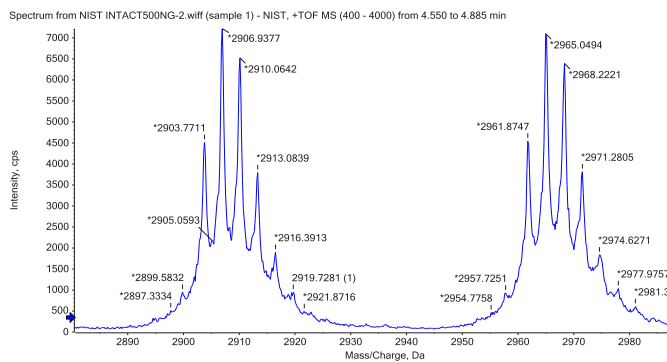


图2. NIST单抗完整蛋白分子量测定放大图，在未经处理的原始谱图中能同时检测到低丰度和高丰度的蛋白变体。

图3展示的是将原始数据进行基线扣除和高斯平滑后的结果，原始数据经过度处理后变的简单，所有的峰都达到了基线分离，但是会丢失一些低丰度的蛋白变体的信息。尽管原始谱图经过度处理前后都能获得一致的平均分子量的测定结果，但是对于SCIEX TripleTOF® 6600的用户来说，无需对原始谱图进行任何处理就可以得到准确、全面的分析结果。SCIEX TripleTOF® 6600高分辨质谱平台有非常宽动态范围，可以帮助实验人员在完整蛋白水平上深度、全面的检测可能的蛋白变体，特别是一些低丰度的翻译后修饰，不需要使用耗时耗力的肽图分析技术。完整蛋白分子量测定时质谱可以与多种色谱分离模式联用（反相、体积排阻、亲水作

用等），配合BioPharmaView™数据处理软件，可以确保快速、准确、重复的获得蛋白高丰度和低丰度翻译后修饰方面的信息。

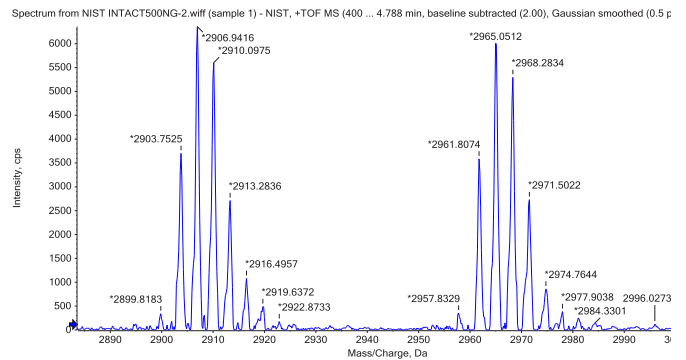


图3. NIST单抗原始谱图经过度处理后的结果，经处理后实现了主要的蛋白变体，峰的分度有明显提高。这种数据处理方法能简化数据，但是会改变蛋白组分的相对丰度，在出具报告的时候需谨慎。

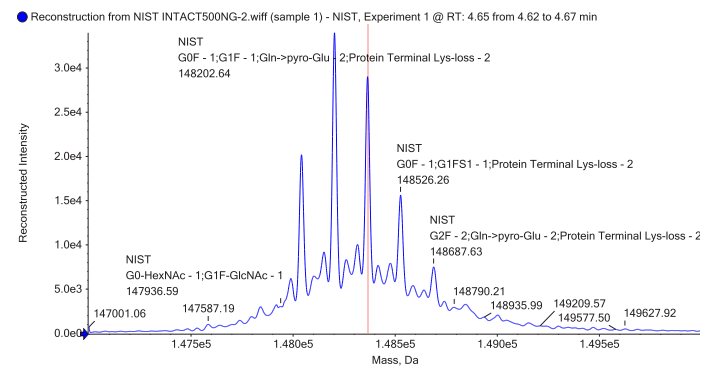


图4. NIST抗体原始谱图未经处理的去卷积结果，数据结果展示了主要的蛋白变体的分子量，低丰度蛋白变体也清晰可见。

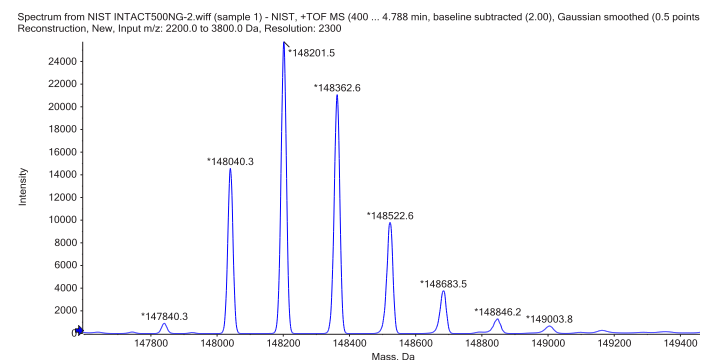


图5. NIST抗体原始谱图处理后的去卷积结果，原始谱图经过度处理（图3），显示主要的蛋白变体的平均分子量。注意：原始谱图过度处理会掩盖低丰度的蛋白变体，丢失部分有价值的信息。

## 结论

完整蛋白分子量的测定是生物药表征和质量控制的第一步，在SCIEX TripleTOF® 6600高分辨质谱平台能同时获得高分辨率、高灵敏度和4-5个数量级的动态范围，可以确保实验人员在获得主要的蛋白变体的分子量信息的同时检测到低丰度的蛋白翻译后修饰，获得全面的生物药的质量属性方面的信息。先进的质谱平台配合BioPharmaView™数据处理软件可以确保实验人员快速、可重现的获得准确的实验结果。

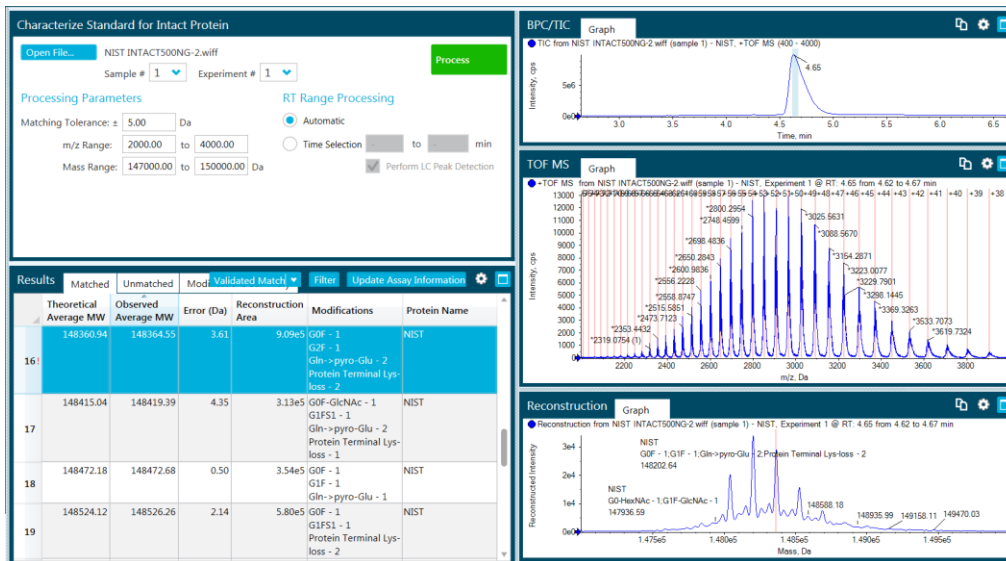


图6. 使用BioPharmaView™软件对未经处理的原始谱图去卷积的分子量测定结果，软件可以全自动的进行样品批处理和可视化比对，节省数据分析时间。

For Research Use Only. Not for use in Diagnostics Procedures.

AB Sciex is operating as SCIEX.

© 2019. AB Sciex. The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license.

RUO-MKT-02-6928-ZH-B



### SCIEX中国公司

北京分公司  
地址：北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话：010-5808 1388  
传真：010-5808 1390  
全国免费垂询电话：800 820 3488, 400 821 3897

上海公司及亚太区应用支持中心  
地址：上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话：021-2419 7200  
传真：021-2419 7333  
网址：www.sciex.com.cn

广州分公司  
地址：广州市天河区珠江江西路15号  
珠江城1907室  
电话：020-8510 0200  
传真：020-3876 0835  
微博：@SCIEX