

# 利用单一软件多属性方法（MAM）评估生物制药产品质量属性

## BioPharmaView™ 3.0 软件在精简的MAM流程中的应用

Zoe Zhang<sup>2</sup>, Fan Zhang<sup>2</sup>, Sean McCarthy<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SCIEX Framingham, MA (USA), <sup>2</sup> SCIEX Redwood City, CA (USA)

生物制药的开发和生产过程非常复杂，即使是微量杂质，或诸如糖基化及电荷异质性等属性的变化，也会对最终产品的安全性和功效产生重要的影响。传统方法通常需要多种分析技术来评估生物制药产品的所有属性，但其必然带来更多时间和资源的支出。

多属性方法学（MAM）是一种基于肽图分离与高分辨率质谱联用的正交方法，正迅速成为表征和监测生物制药属性的有力工具。利用此方法可对广泛的属性范围进行监测。MAM可用于评估，跟踪和提供肽段水平上多种特定生物产品质量属性的详细数据（图1）。除了跟踪剂分子本身之外，MAM还可用于检测与生物制剂生产相关的已知杂质，以及样品中未知的、不存在相应标准的杂质（新峰）。

MAM工作流程成功实现的关键是可对工作流程所有方面进行管理的软件，包括：产品质量属性（PQA）定义，跟踪和量化；检测已知和未知杂质，以及产出报告。本文描述了SCIEX BioPharmaView™ 3.0软件在MAM工作流程管理中的应用。BioPharmaView™软件可以在一个项目中管理MAM工作流程的所有方面，消除了使多个软件包带来的不必要的复杂性。

## 主要特点

- 除传统的核心表征工作流程外，BioPharmaView™软件还为MAM工作流程提供单一软件解决方案，例如完整质量分析，亚基分析和肽谱分析
- 可在单个平台上创建简单方法
- 强大的产品表征，属性定义和跟踪及定量能力
- 根据特定用户需求，灵活地进行属性评估的自定义计算
- 可靠地检测和监测指定和未指定的杂质
- 诊断目标属性产出简明的审查和报告

生物制剂PQA评价	LC-MS MAM流程	SEC	CEX	CE-SDS	HILIC	ELISA
脱酰胺化	■	■	■	■	■	■
糖化	■	■	■	■	■	■
高甘露糖型	■	■	■	■	■	■
单肽段	■	■	■	■	■	■
糖基化	■	■	■	■	■	■
CDR色氨酸降解	■	■	■	■	■	■
C-端赖氨酸缺失	■	■	■	■	■	■
错误插入	■	■	■	■	■	■
C端酰胺化	■	■	■	■	■	■
岩藻糖基化	■	■	■	■	■	■
残余蛋白A	■	■	■	■	■	■
宿主细胞蛋白	■	■	■	■	■	■
聚集	■	■	■	■	■	■
半胱氨酸加合物评价	■	■	■	■	■	■

图1. 传统测定与精确质量LC-MS MAM测定对一组选定的生物治疗属性的比较。

## 方法创建

在BioPharmaView™软件中创建多属性分析非常简便。MAM分析从目标蛋白质序列的定义开始。如果目标蛋白具有多个链，则需如图2所示单独定义。添加已知的二硫键和可能存在的任何修饰，将其定位于序列内的特定氨基酸上。未包含在BioPharmaView™软件中的修饰可在设置中轻松自定义添加，并应用于所有BioPharmaView™项目中。

除了目标蛋白质序列之外，也可输入任何已知的杂质序列可作为靶向肽或蛋白质序列。使用为目标蛋白定义参数，在计算机模拟消化时可将杂质序列进行相同的处理。在整个工作流程中，杂质序列也会被搜索和呈现，以便于与目标蛋白区分。

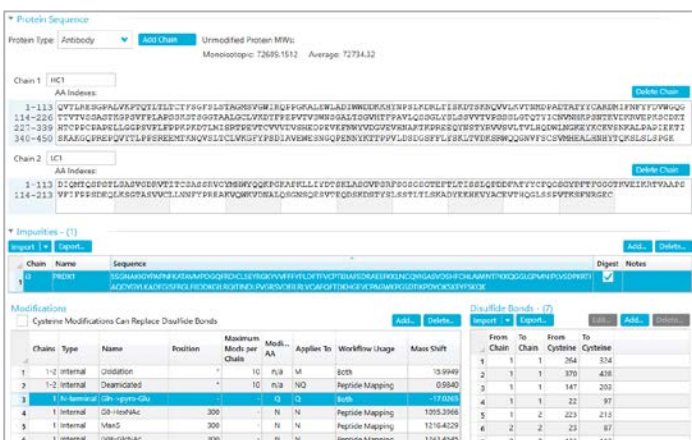


图2. BioPharmaView™软件中蛋白质序列，二硫键和修饰的定义。

进一步完成分析信息（Assay information）需要设置一系列内置的半胱氨酸烷基化试剂和消化酶等消化参数，以及在数据中搜索时的最大修饰数目和漏切数目，如图3所示。

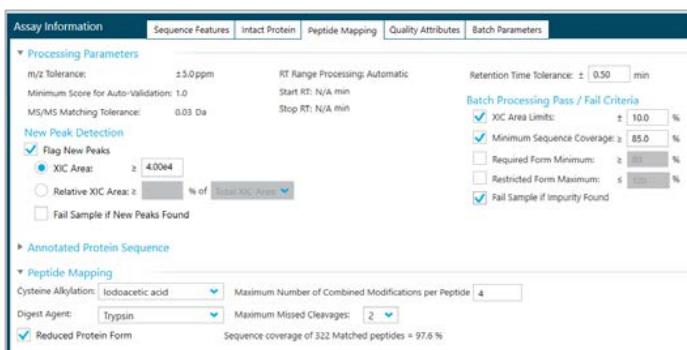


图3. 搜索参数的定义和批量分析中新峰检测标准的定义。

## 描述

使用以上所定义的分析信息，提交质谱产出的数据进行处理，BioPharmaView™软件即可自动对样品进行表征。基于已定义的搜索参数，通过MS和MS/MS数据的关联进行肽段的匹配。处理完成后即可在单一界面轻松查看肽图结果。为了加快结果分析，可以使用各种可用的过滤条件轻松地对结果进行排序。

已定义的肽段修饰在肽图结果中可自动注释，并且在结果分析中可方便地进行筛选。在修饰无自动定位的情况下，可根据处理的数据中预填充评分结果来指导修饰位置的分配。修改完成后，定位信息将用于正在进行的研发中。表征完成后，更新的分析信息可用于批量分析。

## 属性定义

在BioPharmaView™软件中可以轻松定义目标属性，如图4所示。在表征中使用相同的过滤标准，可以在肽集中编译目标属性。每个属性都在其所在的肽集中捕获，该肽集包含与定义的过滤条件匹配的所有数据。属性肽集可被命名，并可在项目内和项目之间共享。共享肽集可减少定义分析所需的总时间，并可减少定义肽集时的变异性。

使用定义的肽集，可根据高度灵活的自定义计算引擎计算属性水平。自定义计算可使用户能够自行确定每个属性级别，如图4所示。定义每个属性后，计算值将添加分析中，展示在同一个表内。可定义或监测的属性数量没有实际限制，提供了同时监测大量属性的灵活性。

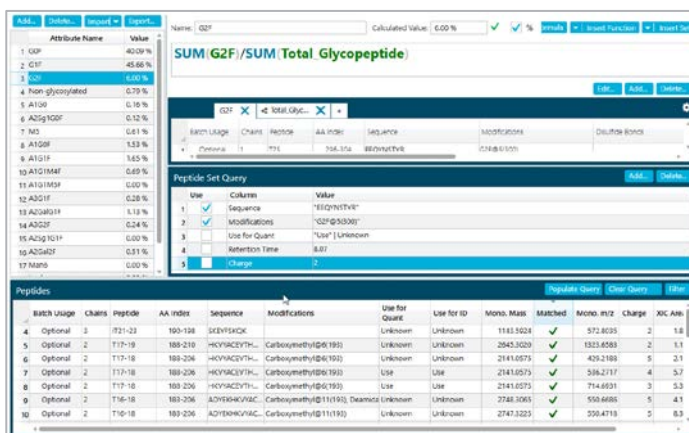


图4. BioPharmaView™软件中质量属性和自定义计算的定义。

对于分析中定义的每个属性，接受标准同样也被定义了。每个计算出的属性响应的可接受值范围都是独立定义的。此范围可基于与定义值的百分比偏差来设置，或者根据需要设置为大于/小于特定值，定义的范围用于确定其相应属性的总体处于通过/未通过状态。

## 属性量化

在BioPharmaView™软件中提交批量处理，可跟踪提交的一组样品中所定义的属性。批量处理可以对TOF-MS数据或SWATH®采集数据进行分析。通过为每个样品中所有可检测的组分生成MS和MS/MS数据，SWATH®采集模式可提供更多细节。SWATH®采集模式提供的更多的二级数据，可以对检测到的新组分进行识别，而无需重新分析。

处理一批包括两个或更多数据文件可以对同批处理的样品进行比较。对于分析中的每个选定属性，将在“Attribute”选项卡中显示简明摘要。此选项卡概述了每个样本中计算出的属性水平，通过/失败标识以及属性是否通过的范围（图5）。

每个属性可以被单独选择以查看每次计算中应用的基础数据。在肽段结果中选择鉴定的肽段可显示相关的MS和MS/MS（如果采集到）的视图。匹配到但没有包括在属性方法中的肽段数据显示在“Matched”选项卡中。通过此功能可单独对多个样品或对两个甚至更多个样品之间的比较进行分析研究。

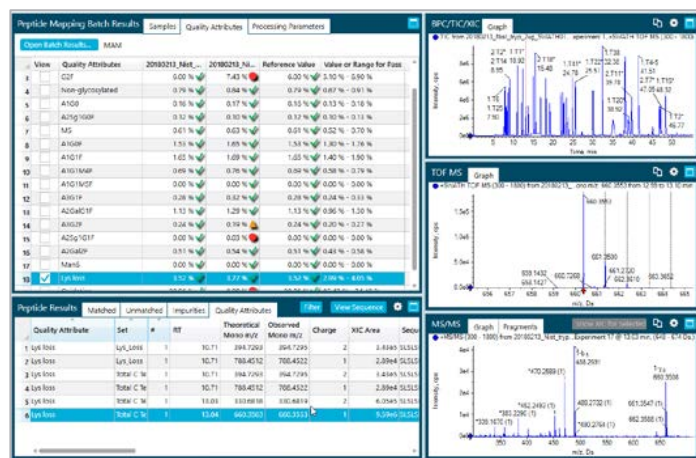


图5. 在BioPharmaView™软件中查看批量分析结果。已定义属性的结果显示在页面中，包括通过/失败标识以及接受范围。可以在同一窗口中轻松访问质谱数据。

## 监测已知杂质

若在分析中进行了定义，已知的杂质结果将会呈现在肽图结果的“Impurities”选项卡中（图6），与定义的目标蛋白是分开的。每种杂质都清楚地用不同的命名法表示，并指出哪些肽段被鉴定了出来。

## 新峰检测

如果在分析中选择了此功能，BioPharmaView™软件即可在批量分析时进行新峰（未知杂质）检测。新峰检测是通过将每个样品与对照进行比较进行的。重要的是，对照和样品应在同一研究中进行制备和分析，以解释样品制备中的变异性。新峰检测应根据当前表征工作的指导来定义检测阈值，阈值可以根据绝对或相对信号强度来定义（图3）。如果检测到新峰，即使所有其他属性参数都通过，样本也可能会自动认定为失败。

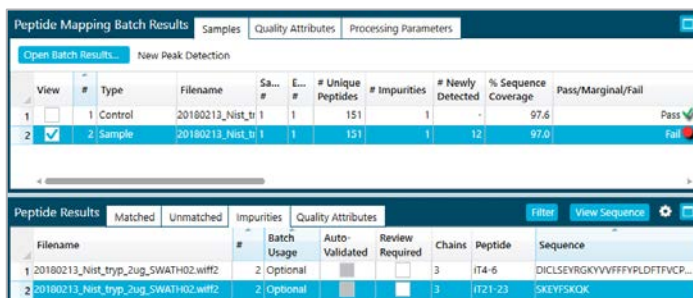


图6. 检测定义的杂质。杂质信息显示在单独的选项卡中，并清楚地标记为杂质。

在批量处理分析中执行新峰检测时，必须将其中一个数据文件定义为对照，对照样品用作其他样品进行比较时的基准。通常对照样品是先前已经被表征并且充分了解样品。

新峰检测的结果在批量处理结果中进行了简明摘要显示。如图7所示，结果中列出了每个样品的肽段总数，以及检测到的杂质，还提供了检测到的新峰数量。

如果需要进一步研究新峰，则可以方便地过滤肽段结果，仅显示标记为新检测到的组分。有关新峰的详细信息，可以选中每个峰，并查看其相应的MS和MS/MS谱图。如果是在之前的表征工作中已检测到的新峰，或者不是特定关注的峰，则可轻松地改变其标注。更改新峰的状态需要提供更改的理由，该理由也被作为分析的一部分。检测到新峰也会导致样品自动失败，显示为红点，如图7所示。

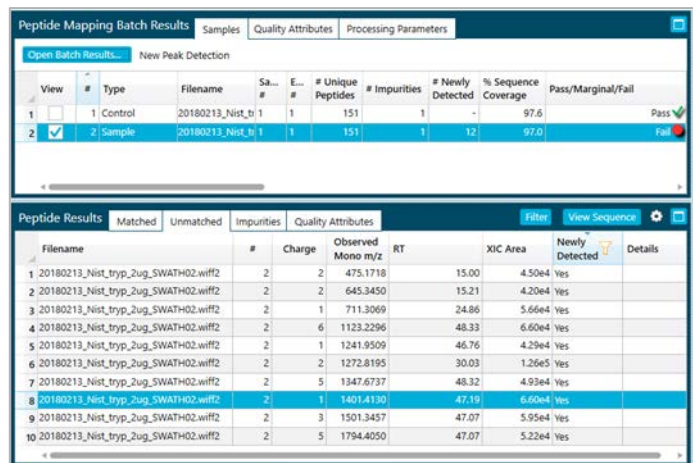


图7. BioPharmaView™软件中新峰检测的结果。可轻松显示新峰的数量及其质谱数据。

## 报告

批量分析的结果可汇总成简明的报告，其中包括分析信息，处理参数以及分析中定义的属性汇总表。报告模板是软件中的标准模板。在报告中，每个属性都被标记为通过或失败，还展示了检测到的杂质和新峰的数量。对于每个样本，也提供了整体通过/未通过的标识以加快审查。

## 结论

BioPharmaView™软件提供了单一软件包，用于实现自动化的、完整的MAM工作流程，包括：表征，属性定义，自定义计算，已知杂质检测，未知杂质（新峰）检测和报告。利用此单软件解决方案完成整个MAM工作流程，很大程度上减少了工作量，并消除了使用多个软件解决方案时潜在的转换错误。总而言之，BioPharmaView™软件为MAM分析的开发和执行提供了卓越的解决方案。

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-02-7507-ZH-A



### 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