

应用 MALDI-8030 表征蛋白质类药物的多聚体现象

MALDI-042

摘要： 本文应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 (MALDI-TOF) 对蛋白质类药物的分子量进行检测，在 m/z 10000-100000 范围内，除了样品的双电荷离子峰、单电荷离子峰外，成功检测到该蛋白质药物的二聚体、三聚体、四聚体离子峰。结果表明 MALDI-TOF 适用于蛋白质类药物及其聚集体分子量表征，分析过程具有无需样品前处理、分析速度快、分析成本低的特点。

关键词： 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-TOF 蛋白质及其聚集体 分子量检测

技术特点：

- ❖ MALDI-TOF 可提供蛋白质多电荷和多聚体等丰富质谱信号。
- ❖ 蛋白质类药物无需样品前处理即可直接上机检测，上机后仅需 4-8 秒即可出结果。

蛋白质聚集 (protein aggregation) 是一种由于蛋白质错误折叠、构象改变因而形成多聚体的生物学过程，广泛存在于蛋白类制品生产的各个流程，例如蛋白类药物的发酵、纯化、制剂、储存等过程。在生物制药领域，多聚体的产生可能导致蛋白失活、增加免疫原性，严重影响蛋白的质量指标和生产应用，是药物研发和生产过程中的重要挑战。因此，监测不同条件下蛋白质聚集体的形成，对于药物的质量控制非常重要。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 (MALDI-

TOF) 是蛋白质、多肽等生物大分子分析的有力工具，常用于检测目标蛋白或多肽是否存在，有无多聚体存在，以及进行纯度情况的大体评估。MALDI-8030 是岛津 MALDI 家族最新型号台式机，极性双全，正负离子模式快速切换。本文展示了利用 MALDI-8030 检测蛋白质类药物及其聚集体的方法。检测结果显示，在正离子模式下成功检测到蛋白质二聚体、三聚体、四聚体离子峰。结果表明 MALDI-TOF 适用于蛋白质及其多聚体分子量检测。

■ 实验部分

1.1 仪器

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 MALDI-8030

1.2 分析条件

基 质：芥子酸 (SA)。

样 品：商品酶干粉 (蛋白质类药物)，理论分子量约为 23K。

1.3 分析条件

分析模式：线性正离子

扫描范围： m/z 10000-100000

激 光 器：355 nm 固态激光器

激 光 能 量：80-90

扫描速率：200 Hz

■ 样品前处理

将商品酶干粉用去离子水配制成 5 mg/mL 的溶液，作为样品工作液。用含 0.1% 三氟乙酸的乙腈水溶液 (ACN/water: 50/50) 将 SA 基质 (芥子酸) 配制成 20 mg/mL 的基质溶液。将上述 1 μ L 样品工作液点到靶板上。待自然干燥后再覆盖 1 μ L 基质溶液。待自然干燥后，将靶板送入质谱分析。

■ 结果与讨论

以芥子酸 (SA) 为基质，商品酶样品工作液 (浓度为 5 mg/mL) 在正离子模式下进行 m/z 10000-100000 的质谱数据采集。商品酶样品工作液质谱检测结果如图 1 所示，在 m/z 10000-100000 范围内，检测到 5 个离子峰 m/z 11539/23085/46293/69284/92351，根据分子量推测，分别对应该蛋白质样品的双电荷离子峰 (m/z 11539)、单电荷离子峰 (m/z 23085)、二聚体离子峰 (m/z 46293)、三聚体离子峰 (m/z 69284)、四聚体离子峰 (m/z 92351)。

分析结果显示，除了样品的双电荷离子峰、单电荷离子峰外，成功检测到蛋白质二聚体离子峰、三聚体离子峰、四聚体离子峰，结果表明该商品酶样品发生了二聚体、三聚体和四聚体的多聚现象，这种现象可能导致蛋白失活、增加免疫原性等，对该药物的产品质量、药效和安全性产生影响。本研究表明 MALDI-8030 适用于蛋白质类药物及其多聚体分子量检测，为监测不同条件下蛋白质聚集体的形成，以及对药物的质量控制提供方法参考。

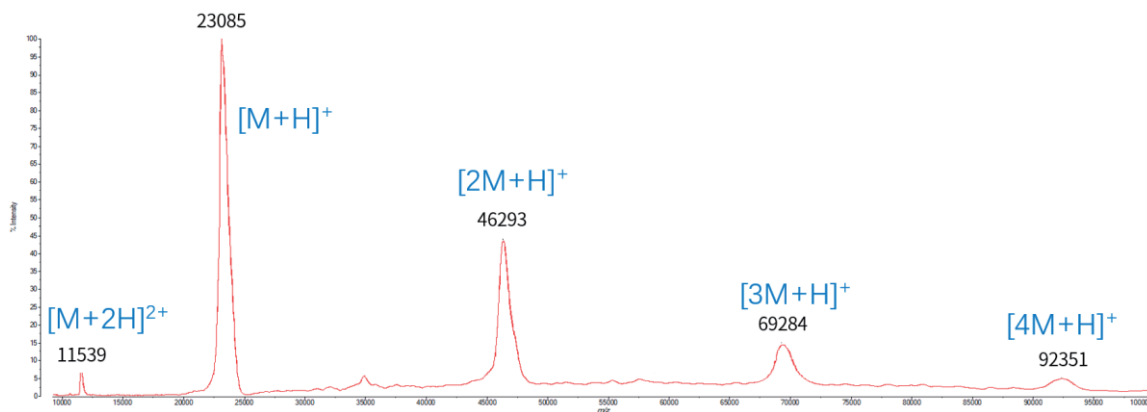


图 1 商品酶样品质谱图 (m/z 10000-100000)

■ 结论

本文应用岛津 MALDI-TOF 对蛋白质及其多聚体进行分子量检测，获得了蛋白质样品的分子量信息和聚集情况信息。该方法具有前处理简便、分析速度快、成本低的特点，为蛋白质药物开发和应用蛋白质的各种类型研究中蛋白质分子量的表征、蛋白质多聚体的形成和聚集情况的相关检测提供参考。

岛津应用云

