

CE-MS 技术对蛋白类药物稳定性的体外研究

目的

采用 CC1 型阳离子涂层分离毛细管和 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 通过 CE-MS 技术对蛋白药物在体外的稳定性进行研究。

背景

生物药治疗是现今公认治疗癌症和自身免疫性疾病的常用治疗方法, 但在许多疾病中的应用仍存在限制。以蛋白类药物为例, 其具有的复杂蛋白结构, 给药物开发中的纯度分析、配方开发、ADME 特性及稳定性研究方面带来了新挑战。因此, 需要开发新的方法对新一代生物药物进行全面的表征分析。一般流程是先进行体外方法开发, 验证生物药分子的体外稳定性, 找出其在生物基质中可能遇到的干扰问题, 后续再进行体内实验。本方法采用 CE 分离技术和高分辨率质谱联用, 对治疗性Fc融合蛋白的体外稳定性进行研究。

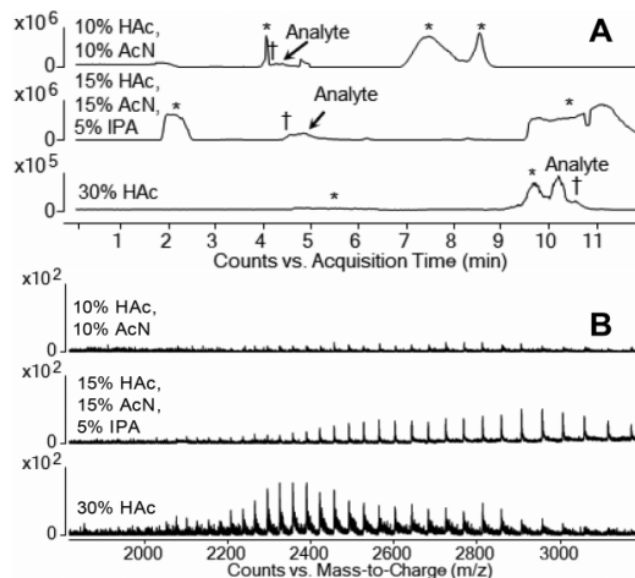


图1. 不同BGE条件对电泳分离度的影响。

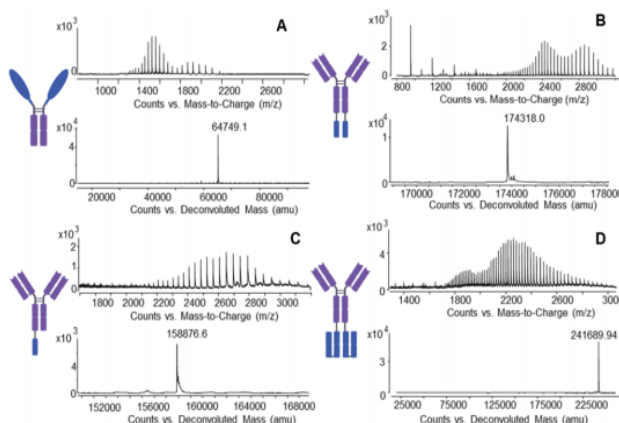


图2. 对小鼠血清中不同类型生物药的分析。

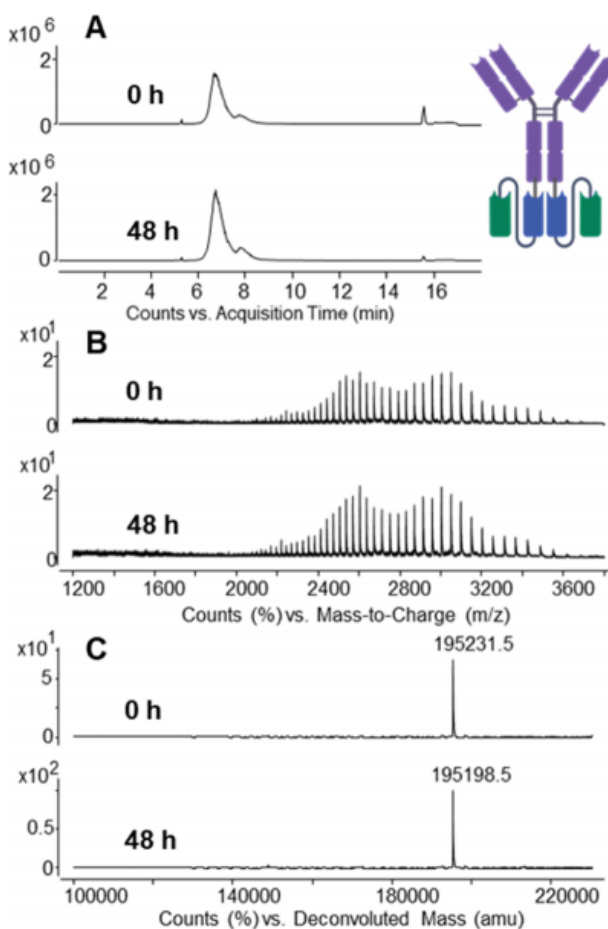


图3. mAb-ScFv 的体外稳定性研究结果。

解决方案

仪器试剂:

CMP Scientific ECE-001 型毛细管电泳仪。EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源 (CMP Scientific, P/N: EM3001-A)。70 cm CC1 型阳离子涂层分离毛细管 (CMP Scientific, P/N: E-SC-CC1-360/150-50-70-B1)。BGE 为 30% 的乙酸, SL 为 0.5% 甲酸和 10% 异丙醇。

实验方法:

样品进样 930 mbar, 10 s。分离电离电压 -30 kV。外接电源电喷雾电压 1.9-2.2 kV。喷嘴尖端到质谱距离 3.5-5 mm。

质谱参数:

采集范围 800-3,200 m/z
或 800-4,000m/z。干燥气温度为 350°C, 4L/min。Fragmentor 电压 325-400V, Skimmer电压65 V, Vcap 0 V。

结果

图1显示了对 BGE 条件的优化结果, 结果表明 BGE 为 30% 醋酸时才有较好的分离效果。图2 是不同类型的生物药在非还原条件下得到质谱图, 质谱图背景干净, 解卷积数据准确可靠。图3 是对 0 小时和 48 小时 Fc 融合蛋白进行 CE-MS 分析的结果, 解卷积后发现 48 小时的 Fc 融合蛋白质量损失 33 Da, 推测为 N-末端可能发生了焦谷氨酸环化。

总结

在本方法中, 使用 CC1 型阳离子涂层分离毛细管, 通过 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 成功开发了与质谱联用的 CE-MS 分析平台。实现了对 Fc 融合蛋白药物的体外稳定性分析方法的开发, 具有快速高效、灵敏度高、分离度好、稳定可靠的优势。本方法用于生物药的体外稳定性研究, 可有效评价药物质量、有效性和安全性。



扫一扫, 关注永道致远微信

www.evergauge.cn

www.cmpscientific.com

永道致远科学技术有限公司

上海市浦东新区康新公路3399弄26号楼218室