

基于机械偶联的新型蛋白质药物改良技术

杨 朋 陈 弓*

(南开大学化学学院 元素有机化学国家重点实验室 天津 300371)

New Strategy for Improving Protein Therapeutics by Mechano-bioconjugation

Yang, Peng Chen, Gong*

(State Key Laboratory of Elemento-organic Chemistry, College of Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071)

抗体、酶和细胞因子等蛋白质类药物在疾病的治疗中具有亲和力高和选择性高的优点。然而,蛋白质药物在体内往往会被快速清除,显示出较差的药代动力学性质^[1],同时内在的不稳定性使其在储存过程中容易发生聚集或者纤维化。对蛋白质药物使用聚合物如聚乙二醇(PEG)或羟乙基纤维素(HES)等进行化学共价修饰,能够显著延长蛋白质药物的半衰期^[2-3]。这些传统策略通常存在生产工艺复杂、反应收率较低或纯化困难等问题。此外,聚乙二醇偶联物会激活抗体免疫,加速蛋白质药物在血浆中的清除速度^[4]。因此,现阶段迫切需要新的生物偶联策略用于降低蛋白质药物的聚集倾向,降低其给药频率,提高其稳定性和效价。

索烃是一类由两个或多个大环通过机械键相连而成的机械互锁分子,在超分子领域中受到了广泛的关注。研究表明,蛋白质索烃独特的机械偶联结构一般能显著增强蛋白质的稳定性^[5],为生物偶联提供了一种

新的模式。基于组装-反应协同的策略,北京大学化学与分子工程学院张文彬课题组发展了蛋白质索烃的生物合成方法,利用基因编码技术能够在胞内实现蛋白质索烃的高效制备^[6]。近日,该课题组和中国科学院过程工程研究所魏炜课题组合作,利用 p53dim 结构域的二聚缠绕特性,使具有抗病毒抗肿瘤作用的干扰素(IFN)与白蛋白结合结构域(ABD)之间形成机械偶联,制备了蛋白质异质索烃 cat-IFN-ABD,其相比于野生型 IFN 以及相应对照表现出更好的代谢稳定性、抗肿瘤活性和抗聚集能力(图 1)^[7]。

来源于肿瘤抑制因子 p53 的 p53dim 结构域能够指导分子链的相互缠结,是形成异质索烃的关键元素之一。该工作将指导分子链缠结的同质 p53dim 二聚体替换为理性改造所得的异质二聚突变体,进一步提高了异质索烃的合成效率(图 2)。为了探究拓扑蛋白质药物的构效关系,作者分别设计了线型和环状的 IFN-ABD 融

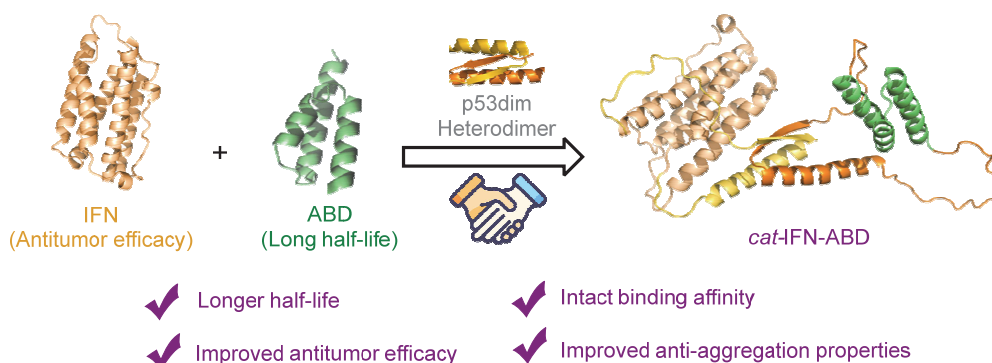


图 1 机械偶联策略构筑蛋白质索烃

Figure 1 Construction of protein catenation by mechano-bioconjugation

* Corresponding author. E-mail: gongchen@nankai.edu.cn. Published online November 10, 2022.

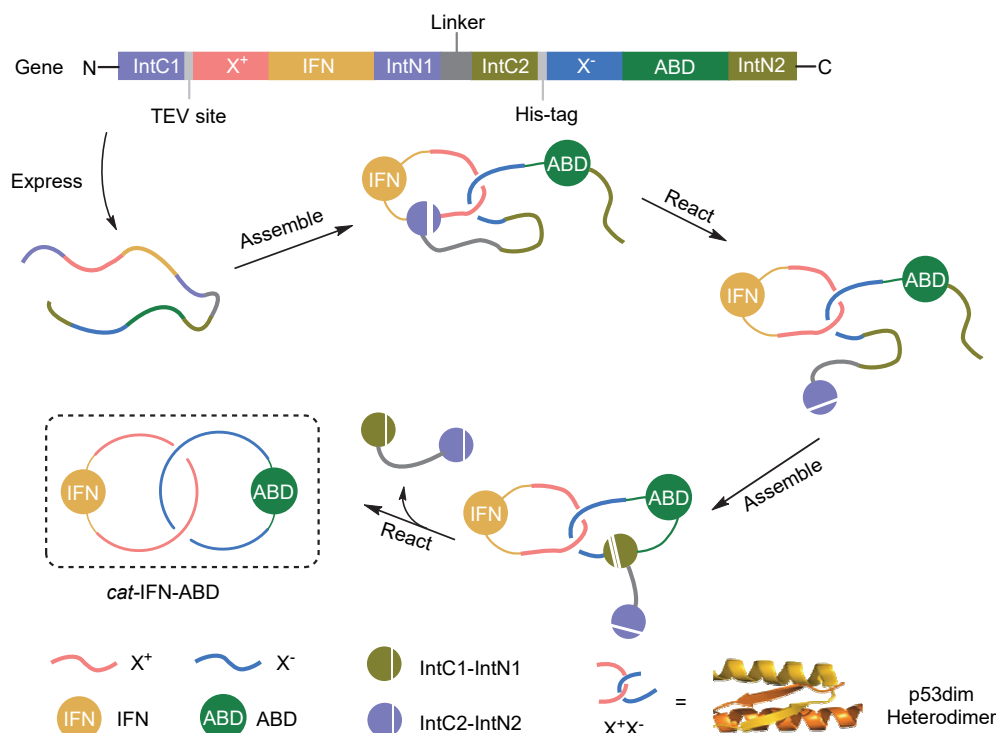


图2 *cat*-IFN-ABD 的生物机械偶联过程
Figure 2 Mechano-bioconjugation of *cat*-IFN-ABD

合蛋白质作为蛋白质异质索烃 *cat*-IFN-ABD 的对照样品。野生型 IFN、线型和环状 IFN-ABD 融合蛋白质以及蛋白质异质索烃 *cat*-IFN-ABD 都是通过大肠杆菌 *Escherichia coli* BL21(DE3)感受态细胞进行表达。对野生型 IFN 和三种 IFN-ABD 融合蛋白质进行加热, *cat*-IFN-ABD 在不同温度下都表现出良好的抗聚集能力, 而其他三种对照组随着温度的升高均表现出不同程度的聚集。

在亲和力实验中发现, 索烃拓扑结构并不会影响 IFN 和 ABD 对各自蛋白质受体的结合。作者随后进行了药代动力学相关实验, 三种 IFN-ABD 融合蛋白质在进入血液系统后, 由于 ABD 的存在, 会迅速地和人血清白蛋白进行结合, 有效延长了 IFN 在体内的循环时间, 其中 *cat*-IFN-ABD 的半衰期最长, 高达 11.8 h。由于靶标亲和力的保持和半衰期的延长, 在生物分布实验中, *cat*-IFN-ABD 表现出最为明显的肿瘤富集。在小鼠肿瘤模型中比较野生型 IFN 和三种 IFN-ABD 融合蛋白质的体内抑瘤效果, *cat*-IFN-ABD 具有最为优异的抗肿

瘤活性。安全性评价也证实了蛋白质索烃对小鼠体重和重要脏器几乎不产生影响。该工作表明, 机械生物偶联模式得到的蛋白质异质索烃, 在实现功能集成的同时, 能够显著提高蛋白质药物的抗聚集能力, 在抗肿瘤活性和代谢稳定性方面也会有所提升。该策略为蛋白质类药物的改性增效提供了一种崭新的思路。

References

- [1] Butreddy, A.; Janga, K. Y.; Ajjarapu, S.; Sarabu, S.; Dudhipala, N. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, 167, 309.
- [2] Jevševar, S.; Kunstelj, M.; Porekar, V. G. *Biotechnol. J.* **2010**, 5, 113.
- [3] Liebner, R.; Mathaes, R.; Meyer, M.; Hey, T.; Winter, G.; Besheer, A. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2014**, 87, 378.
- [4] Zhang, P.; Sun, F.; Liu, S.; Jiang, S. *J. Controlled Release* **2016**, 244, 184.
- [5] Boutz, D. R.; Cascio, D.; Whitelegge, J.; Perry, L. J.; Yeates, T. O. *J. Mol. Biol.* **2007**, 368, 1332.
- [6] Wang, X. W.; Zhang, W. B. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2016**, 55, 3442.
- [7] Liu, Y. J.; Bai, X. L.; Lyu, C. L.; Fang, J.; Zhang, F.; Wu, W. H.; Wei, W.; Zhang, W. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, 144, 18387.

(Zhao, C.)