

使用 Gilson GX-281 液样平台 自动化逐滴式环化多肽的应用



APPLICATION NOTE

MC GSA747CN

优势

- 左右双向震荡管架
- 耐腐蚀样品针

收益

- 帮助高负荷实验室进行可用的逐滴式反应
- 提升多肽的产率和质量

M. SMITH | Global Applications Team

翻译编辑 | GILSON CNSST

引言

在过去十多年的药物研发领域中，在能获得更好和更合适的候选药物的过程中，多肽已经走到了研究的前沿。基于多肽的药物可以抑制蛋白质与蛋白质之间的相互作用，由于其分子较大，相比小分子化合物更有效。这使得药物在其目标使用中更有针对性，通常意味着较少的副作用或不必要的结果。

早期的多肽药物是基于生物分离的天然激素，如 20 世纪初的胰岛素，随后进一步发现了具有治疗用途的激素肽，在 20 世纪研发出了第一个以激素为基础的合成多肽-催产素。

多肽药物已广泛应用于泌尿外科、呼吸、疼痛、肿瘤，代谢，心血管和抗菌应用。

随着进入 21 世纪，多肽化学技术得以进步，受益于新的生产，修饰，还有分析技术可以创建更多的定制多肽类药物，不再是简单的激素模仿或只有天然氨基酸的合成。

在获得设计多肽并将其应用于治疗的能力后，焦点转向了环肽。环肽的高强度结构增加了结合亲和力和对目标分子的选择性，提高了抗水解能力以及具备潜在的更好的膜通透性。设计环肽的能力包括确定连接方法，端到端，端到侧链或者侧链到侧链，范围和潜力进一步提高(图 1)。

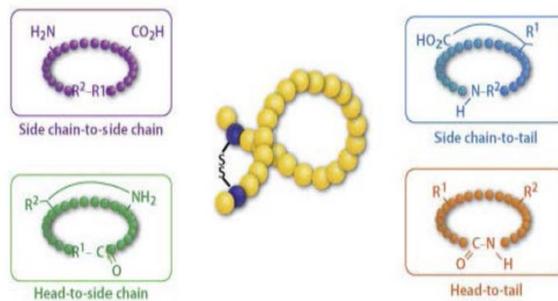


图 1

环肽结构示意图 (图片来源 www.biosyn.com)

在实验室中，多肽通常被合成，纯化，然后进行环化，最后必要时再纯化。纯化合成的多肽是通过高效液相色谱的制备色谱法完成，例如使用 Gilson VERITY® HPLC 制备型高效液相色谱系统，系统允许充分对不同多肽完成一次性自动纯化。而通常，环化步骤为手动处理。手动环化步骤非常耗时并且很容易成为整个工作流程的效率受限的步骤，从而导致多肽生产的延迟。

手动环化也可能使工作人员暴露于用于环化过程的尤其是那些不友好的化学物质。此外，手动完成此步骤无法达到和自动化处理对等的优化级别。这个阶段的产品产率和最终纯度常常通过逐步连续添加试剂搅拌或混合来提高的，但在手动过程中，这个阶段因为为了更快地完成工作而被省略。

自动化逐滴环化过程使用具有高容量管架并结合自动震荡管架的液样处理平台是理想的针对 workflow 瓶颈的解决方案。本应用展示了 Gilson GX-281 液样平台(图 2)结合震荡功能模块如何从容应对这项工作。



图 2
Gilson GX-281 液样处理平台

材料与amp;方法

使用以下自动液样处理系统进行多肽样品的逐滴式环化。

GX-281 液样处理平台：

Gilson GX-281 是单通道液样处理平台，搭载可清洗金属样品针。它是基于液体填充的流体系统，配备由传统的注射泵或 Gilson 特有的溶剂系统泵的系统清洗解决方案。溶剂系统泵是一台连续流体泵，可提供无体积限制范围的溶剂，同时能保持适和典型实验室规模液样处理程序的精度。泵连续流动特性允许增加清洗速度，这样可减少整体的样品处理时间。

GX 系列液样处理平台家族中 GX-281 液样处理平台具有更大的空间尺寸，能容纳更大的管架并在单次运行流程中放置更多数量的样品。

本应用使用一台搭载溶剂系统泵的 Gilson GX-281 液样处理平台，175mm 高度的洗针站，以及 1.5mm 外径的非穿刺型样品针。

震荡功能模块：

为了使环化反应顺利进行，需要将环化试剂添加后与纯化的多肽充分混合。Gilson 的解决方案是在系统中使用一套震荡功能模块。实验室可根据容量要求购买此套系统，选择单管架震荡功能模块版本或双管架震荡功能模块版本。也可以选择适配液样处理平台左边或右边的两个不同版本的震荡功能模块（左手运动版本和右手运动版本）。

管架：

GX-281 液样处理平台可选配大量不同的管架，因此可以支持放置不同的试管，样品瓶，试剂瓶和微孔板。在一个典型的多肽合成实验室中，多肽从制备色谱系统中收集至 50 mL 离心管，可放置于 Gilson

Code 222 管架。使用两套双管架震荡功能模块时，系统可放置 4 个管架，提供每次运行 108 个多肽的系统容量。

GX-281 剩余的两个管架位置可用于放置试剂和收集需要后续分析的环肽样品的分析瓶。GX-281 的托盘布局示例如图 3 所示。从离心管中将环肽样品转移至分析样品瓶中的步骤可以根据需求编辑一个单独的程序或者包含于连续的整体方法中。在本应用中提到的示例配置中，分析小瓶是标准 2ml 玻璃瓶，常用于 HPLC 和 GC。GX-281 的单个管架可以放置 96 个这种样品瓶，所以多肽环化然后转移样品至分析样品瓶的连续方法将被限制为 96 个多肽，托盘上将剩余 12 个空置的多肽反应管。

平台可以选择不同的管架，例如，如果使用深孔微孔板进行分析，那么可以使用 Code 205 管架，放置 2 块 96 孔板，可以完成 108 个多肽的取样至分析板的完成流程。

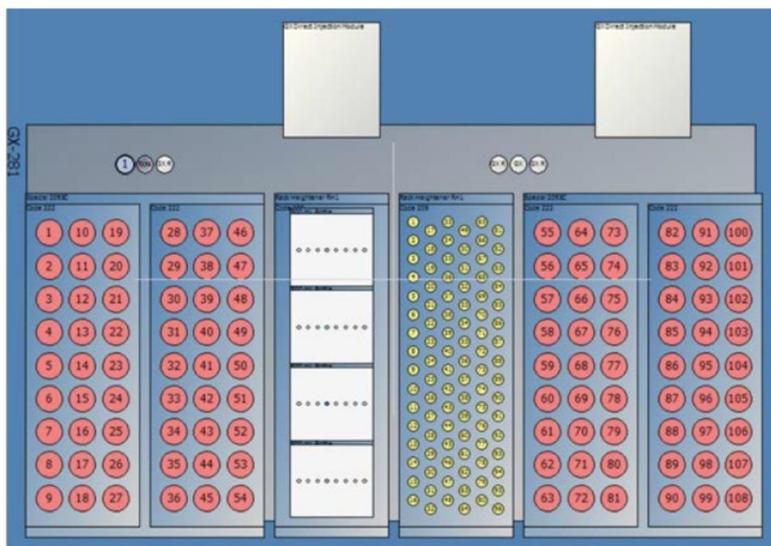


图 3
Gilson GX-281 液样处理平台托盘布局示意图

软件:

GX 液样处理平台采用 Gilson TRILUTION® LH v4 软件控制。该软件可以灵活地完整控制液样处理平台，溶剂系统泵和震荡功能模块。软件可以创建包含控制试剂分配体积，分配速度以及震荡转速等参数在内的方法。

方法:

TRILUTION® LH 软件允许从液样处理命令 (task) 列表中“拖拽式”设置方法。这些命令是软件内置并作为软件整体的一部分提供。如果需要，可以额外的“自定义”命令，进一步优化方法，不过这不是常见的需求。对于本应用之前所述，控制震荡功能模块需要特定的命令。可以通过联系 Gilson (cnSST@gilson.com) 获取这些命令的更多细节。

使用标准 TRILUTION® LH 和震荡功能模块命令，可以编写一个复制实验室科学家如何完成这个过程的运行方法。除此之外，还可以将自动化平台的优势最大化，并以更少的单次试剂添加和更频繁的混合来执行环化过程。这可以帮助获得比典型的手工方式更好的环肽产率。

此外，TRILUTION® LH 软件允许多肽环化步骤以批处理或者顺序处理模式执行。这使得实验室能够以这种方式将系统融入他们的整体工作流程中并专注于最期望的优先级工作，无论是通量、产率亦或是快速完成急需样品。

结论

对于任何合成大量多肽然后进行纯化和环化的多肽实验室，本应用中的 GX-281 逐滴式环化系统是非常有价值的。有了 GX-281 系统，就可能实现多肽环化的自动化，实验室人员也将有更多的时间去聚焦其他更值得他们关注的任务。

本系统还有助于提高实验室环境的安全性，工作人员可以更少地接触化学物质，也能减少从因潜在如溢出和玻璃器皿破裂等事故造成的暴露风险。

最后，通过自动化系统提供的附加控制，多肽环化过程可以被更好的优化。日常工作和项目都能获得更好的最终产率和更好的样品一致性的潜力。

本应用中主要的主机¹以及配件货号（另需软件及配件请咨询吉尔森或授权人员）：

GX-281 自动化逐滴式多肽环化平台		
货号	描述	数量
261030	GX-281 LH,PREP,NO BARCODE,110-220	1
26037751	KIT,GX-281 SAFETY SHIELD	1
2504628	RACK,CODE 228 4 500/700ML REAGENT BOT	1
SPL-2093C-HDW	ORBITAL SHAKER,2 WIDE RIGHT HAND	1
SPL-2541-HDW	ORBITAL SHAKER,2 WIDE LEFT HAND	1
SPL-2759-HDW	RACK,215 2 WIDE CODE 222 54 50mL TUBES	2

1. 主机必须配合相应的软件和配件完成工作。

注册商标

所有产品和公司名称均为各自持有人的商标™或注册商标®。本文使用的商标不表示对与任何商标持有人的关联或背书。

注意：

本应用是根据出版时可用的信息制作和编辑的。本应用如有修订，恕不另行通知。