

Application News

No. B67

MALDI-TOF 質量分析法

核酸医薬品の合成確認 -MALDI-TOF MS による迅速簡易配列確認-

遺伝情報の担い手である DNA や RNA のような核酸を医薬品として利用したものを「核酸医薬品」と呼びます。この核酸医薬品は、従来の低分子医薬品や抗体医薬品では対象と出来ない mRNA (messengerRNA) や microRNA をターゲットとすることが可能なため、これまで治療が困難であった遺伝性疾患などに対する次世代の革新的治療薬として期待されています。

核酸医薬品には、mRNA に結合してタンパク合成を制御する機能を持つ siRNA や microRNA の機能補強のための miRNA などから、タンパク質に結合することでタンパク質の機能を阻害するアプタマー、さらにリボザイムのように標的 RNA を直接切断する機能をもつものなど様々な種類がありますが、その基本的な構造は、DNA や RNA を構成するアデニン、チミン、グアニン、シトシン、ウラシルといった（デオキシ）ヌクレオチドが数十個繋がった鎖状になっています。

この核酸医薬品は、抗体医薬品のように培養細胞などで合成する必要は無く、化学合成を行うことが可能ですが、得られる分子は質量が数千～数万の中程度の大きさの分子となります。合成した核酸医薬品が、想定した塩基配列を正しく踏襲しているのか否かを確認することは、医薬品の機能を担保する上で重要な品質特性となります。

本稿では、合成核酸の分子量確認と塩基配列確認を MALDI-TOF MS で実施した例を報告します。

S. Nakaya

■ 合成核酸の前処理

1N 塩酸で活性化して水で洗浄した約 200 μ L スラリーのカチオン交換樹脂 (Dowex 50w 100-200 mesh, Dow chemical) を、Empty microspin column (BioRad) に加え、軽く遠心して溶液を除去しました。

その後、10 μ L のサンプル水溶液（塩基配列：5'-CTGAGACACTGAAGGTAGGA-3'、100 pmol/ μ L）をカラムにアプライし、遠心してカチオン交換樹脂を素通りしたサンプル溶液を回収しました。

回収した溶液の内、1 μ L を MALDI ターゲットプレートに搭載し、マトリックス溶液 (0.5 μ L) を重層して乾燥させて測定を行いました。

■ MALDI-TOF 質量分析計

分析には卓上型 MALDI-TOF MS “MALDI-8020” (図 1) を用いました。この装置は従来の AXIMA Assurance の性能を引き継ぎつつ、小型化を実現した装置です。イオン化レーザーに 200 Hz 固体レーザーを採用、全自動イオン源洗浄機構を搭載した他、オイルフリーのダイヤフラムポンプを採用しました。



図 1 卓上型 MALDI-TOF MS “MALDI-8020” 外観

■ 質量分析

サンプルの MS 測定を行った結果、図 2 に示すように、 m/z 6214.5 に 1 価イオンが検出されました。

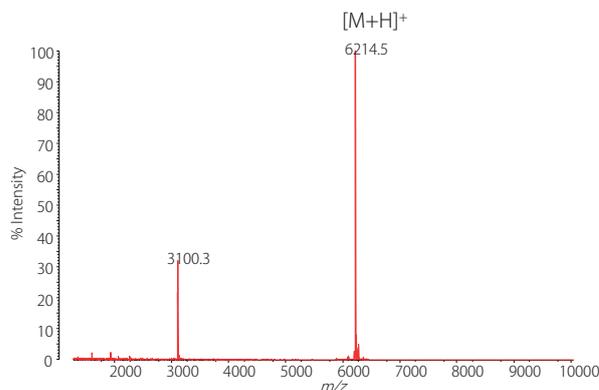


図 2 合成核酸の MALDI-TOF マスペクトル
測定モード：Positive Linear

次に、サンプルの ISD (In source decay) 測定を行った結果、図 3 に示すように合成核酸の ISD スペクトルが得られました。核酸のポジティブイオンモード測定における ISD では、図 4 に示すように w シリーズの開裂が優先的に生じるため、非常にシンプルなスペクトルを得ることができます。

この ISD スペクトルのフラグメントイオンを帰属することで、核酸の配列情報を容易に得ることが可能です。

このようにポジティブイオンモード専用卓上 MALDI-TOF MS “MALDI-8020” を用いることで、合成核酸の分子量確認や配列確認を容易に行うことが可能となります。

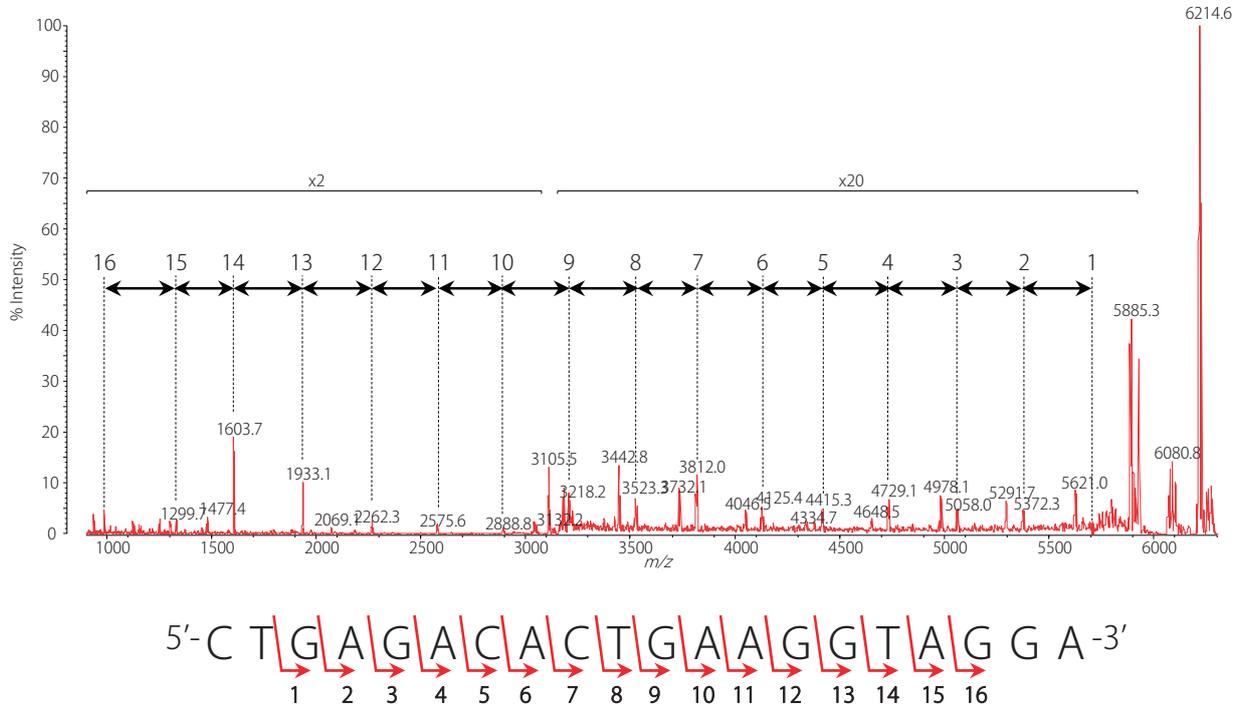


図 3 合成核酸の MALDI-ISD-TOF マススペクトルと帰属された開裂イオン
測定モード：Positive Linear

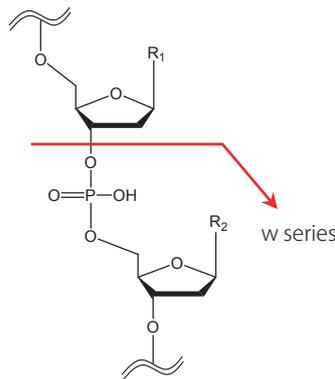


図 4 合成核酸のポジティブモード ISD における開裂部位

関連製品

一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



> MALDI-8020

マトリックス支援レーザー脱離イオン化
飛行時間型質量分析計

関連分野

> 医薬・バイオ医薬品

> バイオ医薬品

> 核酸・mRNA医薬品

> 核酸医薬品

> 分子量測定・配列確
認

> ライフサイエンス

> 価格お問い合わせ

> 製品お問い合わせ

> 技術お問い合わせ

> その他お問い合わせ