

Application News

紫外可視分光光度計 UV-1900i/UV-2600i/UV-2700i

新しいTm解析システムを用いた核酸医薬品の熱安定性解析

後東 あかり

ユーザーベネフィット

- ◆ 二本鎖核酸の50%が一本鎖に解離する温度（Tm値）が簡便に求められます。
- ◆ アニーリング（前処理）からTm値の解析（中線法、微分法）まで全て自動で行うことができます。
- ◆ LabSolutions™ DB/CSシステムと連携させることで、業界最高水準のデータインテグリティをサポートします。

■はじめに

「核酸医薬品」とは、核酸あるいは修飾核酸が十数～数十塩基連結したオリゴ核酸で構成され、化学合成により製造される医薬品の総称です。核酸医薬品は、従来の低分子医薬品や抗体医薬品では狙えないmRNAなどの分子を創薬ターゲットにすることができるため、次世代の革新的治療薬として近年盛んに開発が進められています。

核酸医薬品開発および品質管理においては、熱安定性の指標となる融解温度（Tm値）が中心的な役割を果たしています。Tm値とは二本鎖の核酸の50%が一本鎖に解離する温度であり、一般にこの温度が高いほど熱的に安定と言えます。

今回、紫外可視分光光度計UV-2600iと新しいTm解析システムを用いて、核酸の熱安定性解析（Tm解析）を行いました。本システムを用いることにより、核酸のTm値を簡便に算出できます。

■Tm解析システム

Tm解析システムは図1に示す紫外可視分光光度計*1、および8連電子冷却式セルホルダTMSPC™-8iと、図2に示す測定解析ソフトウェアLabSolutions UV-Vis Tmから構成されます。Tm解析は、核酸の温度を上昇させて吸光度変化（融解曲線）を測定し、Tm値を求める解析方法です。このTm値を求めるためには、図3に示す通り『吸収スペクトル確認→アニーリング→融解曲線測定→解析作業』といった手順が必要ですが、本システムでは、アニーリング（②）から解析（④）までの作業を同一ソフトウェア上で自動化することが可能なため、大幅に時間や手間を削減することができます。また、取得した吸収スペクトル（①）と共に、融解曲線（③）やアニーリング（②）および解析条件（④）は、一つのファイルとして保存されるためデータ管理が容易です。なお、本システムと島津LabSolutions DB/CSシステムと連携させることで、データインテグリティを強力にサポートします。

*1：図1は紫外可視分光光度計UV-2600iとTMSPC-8iですが、紫外可視分光光度計UV-1900i/2700iとも組み合わせ可能です。



図1 UV-2600iと8連電子冷却式セルホルダTMSPC™-8i

LabSolutions UV-Vis のランチャー画面

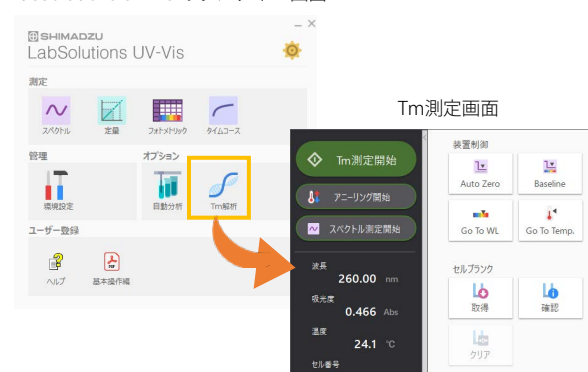


図2 測定解析ソフトウェアLabSolutions™ UV-Vis Tm



図3 Tm測定の手順

■分析方法

今回は、核酸の一種であるM13プライマーについて、緩衝液（17 mM NaCl、10 mMリン酸緩衝液）を用いて12 μMに調製した溶液を測定試料としました。なお、高温での測定時に気泡が生じないように、事前に試料溶液の脱気を行いました。

測定に使用した8連マイクロセルは、試料の吸光度（濃度）に応じて光路長が10 mmと1 mmの2種類ありますが、今回は光路長1 mmのセルを使用し、表1の条件で測定しました。

表1 測定条件

装置	: UV-2600i TMSPC-8i
測定波長	: 260 nm
測定波長（校正用）	: 320 nm
スリット幅	: 2.0 nm
温度範囲	: 15 - 90 °C
温度間隔	: 1 °C
昇温速度	: 1 °C/分

パラメータの設定画面を図4に示します。アニーリングを自動で行う場合は①から温度設定を行います。また、②の温度プログラムの「設定」ボタンをクリックし、温度プログラム画面上で開始・終了温度や待機時間などのパラメータを入力することができます(図5参照)。なお、この画面では、温度プログラムのシミュレーションと所要時間が確認できます。測定後にTm値を自動解析する場合は③から解析方法を設定できます。解析方法は、融解曲線に対して接線の中線との交点からTm値を求める中線法、および一次微分の最大値からTm値を求める微分法が選択可能です。

なお、ここで設定したすべての条件はテンプレートとして一括保存できるため、次回以降、条件設定の手間を省くことができます。

パラメータを設定後、「Tm測定開始」ボタンをクリックすると、アニーリングから測定・解析まで自動で行うことが可能となります。

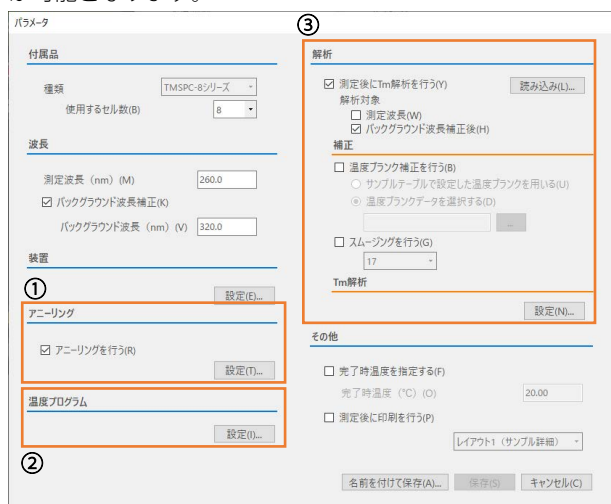


図4 パラメータの設定画面

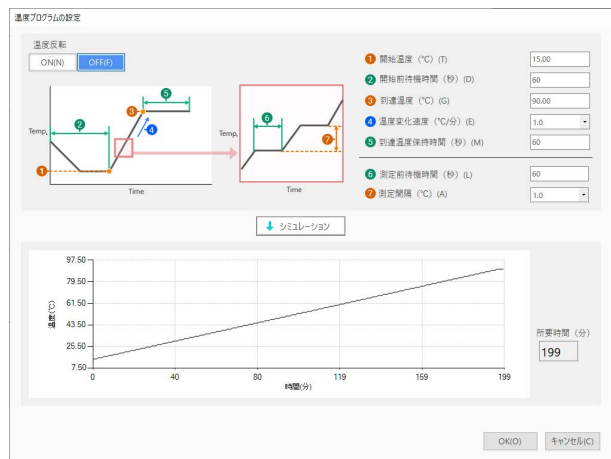


図5 温度プログラムの設定画面

■測定および解析結果

図6に測定試料の吸収スペクトルを示します。タブ切替(図6の④)により吸収スペクトルデータと融解曲線の両方を切り替えて確認することができます。

図7には、中線法と微分法の2種類の方法で解析した溶解曲線を示し、表2には各々の解析方法で算出したTm値を示します。

LabSolutions およびTMSPCIは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

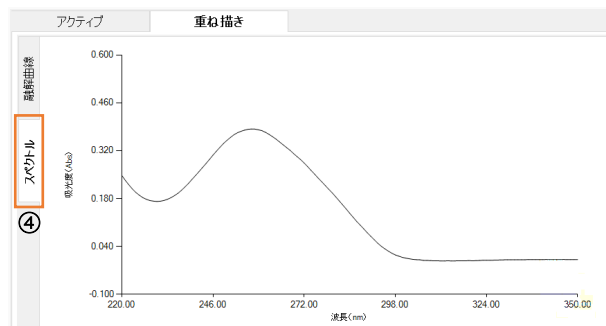


図6 試料の吸収スペクトル

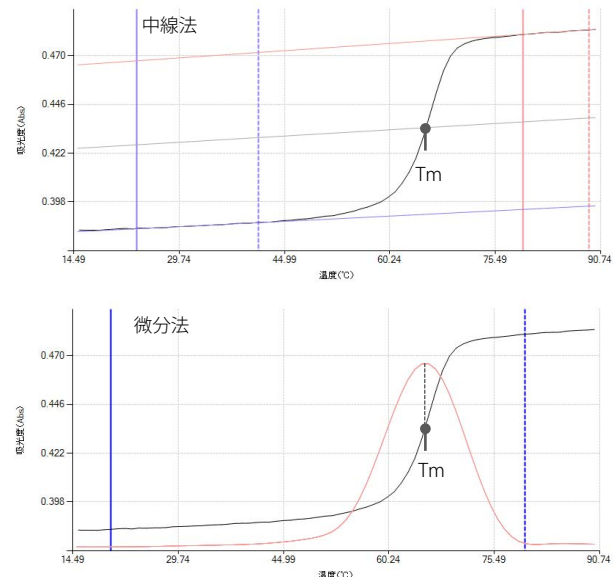


図7 融解曲線

表2 試料の測定結果

解析方法	Tm値 (°C)
中線法	65.47
微分法	65.98

表2に示したように、中線法で求めたTm値は65.47°C、微分法で求めたTm値は65.98°Cとなり、両方法でのTm値は非常に類似した値となりました。

■まとめ

今回、紫外可視分光光度計UV-2600iとTm解析システムを用いて核酸の熱安定性解析(Tm解析)を行いました。本システムでは、アニーリングから解析までを自動でおこなうことができるため、核酸医薬品のTm値を効率的・簡便に算出できます。

このように、Tm値を求めるための手順を効率化した本システムを活用することで、核酸医薬品開発を飛躍的に加速させることが期待できます。

＞ アンケート

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。



＞ UV-2600i/2700i
紫外可視分光光度計



＞ UV-2600i
Plus/UV-2700i Plus
紫外可視分光光度計

関連分野

＞ 核酸医薬品

＞ 熱安定の評価

＞ 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