

Application News

マイクロチップ電気泳動装置MultiNA™

マイクロチップ電気泳動装置MultiNAを用いたmRNAの品質評価

曾我部 有司

ユーザーベネフィット

- ◆ 電気泳動の操作をほぼ全自動で実施することができます。
- ◆ 1分析当たり約100秒で電気泳動が完了します。
- ◆ mRNAの分解物や目的外RNAなどの不純物を確認することができます。

■はじめに

mRNAワクチン・医薬品は転写による合成、Cap構造の付加、精製などの工程を経て調製されます。精製工程においてその純度や収量を簡便に確認する方法が求められ、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）や電気泳動が一般的に用いられます。マイクロチップ電気泳動はキャピラリー電気泳動と比べると分離長が短いので、分離能では劣りますが、簡便かつ短時間で電気泳動の結果を得ることができます。ここでは、マイクロチップ電気泳動装置MultiNA（図1a）を用いてmRNAの劣化や純度の確認に適用可能であるかを検討した結果を紹介いたします。

■試料と分析条件

RNA試料の調製

劣化評価の検討にはCleanCap FLuc mRNA (TriLink BioTechnologies)を用いました。試料濃度を100 ng/μLに調製し、90℃で0 min、10 min、20 min、30 min、40 min、50 min、60 minで熱変性を行い分析用試料としました。

純度評価の検討にはCleanCap® Cas9 mRNA、CleanCap® EPO mRNA (TriLink BioTechnologies)を用いました。EPO mRNAを1 ng/μL、5 ng/μL、10 ng/μL、25 ng/μLに調製し、それぞれにCas9 mRNAを100 ng/μL添加し分析用試料としました。

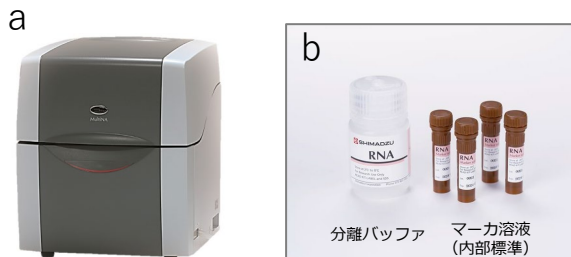


図1 マイクロチップ電気泳動装置MultiNA™ (a)とRNA試薬キット (b)

表1 mRNAの分析条件

System	: MultiNA
プロジェクト	: mRNA
キット	: RNA キット (島津製作所)
蛍光色素	: SYBR Green II (Thermo Fisher Scientific)
ラダー	: DNA6000 Ladder (Thermo Fisher Scientific)

MultiNAによる電気泳動

mRNAの分析はMultiNAのmRNA分析用プロジェクトで行いました（表1）。試料はMultiNA用RNAキット(図1b)に付属しているマーカ溶液（移動度補正のための内部標準物質）と1：1になるよう混合しました。RNAのサイズスタンダードとしてRNA 6000 Ladder(Thermo Fisher Scientific)を用いました。RNA 6000 Ladderを6倍に希釈後、試料と同様にMultiNA用RNAキットに付属しているマーカと1：1になるよう混合しました。マーカと混合した分析用試料とラダーは65℃で5分間、加熱した後に4℃で5分間静置しました。熱処理後、分離バッファとともに装置にセットして分析しました（図2）。

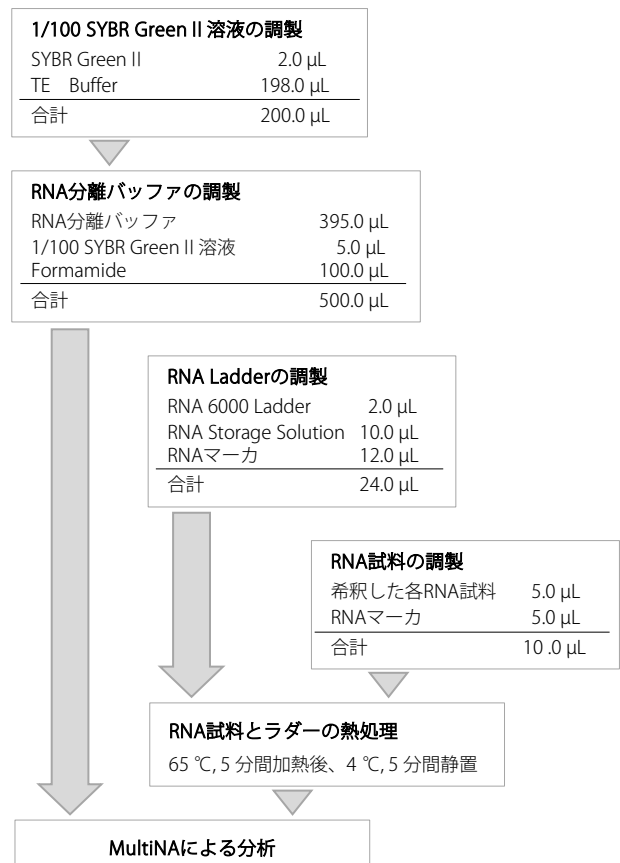


図2 MultiNAによるRNAの分析手順（分析数6の場合）

■ 分析結果

劣化評価の検討

FLuc mRNAを90 °Cで10 min、20 min、30 min、40 min、50 min、60 minと加熱時間を変えて劣化の程度をMultiNAで測定しました。加熱時間が長くなるにつれてFLuc mRNAの1922 ntのメインピークの減少が確認できました。また、メインピークの低分子側にmRNA分解物由来ピークの面積が増えていく様子も確認することができました(図3)。ゲルイメージでは、加熱時間が長くなるにつれてFLuc mRNAの1922 ntのバンドに対して低分子側に分解物が多くなっていく様子がスメアバンドの濃さにより確認できました(図4)。

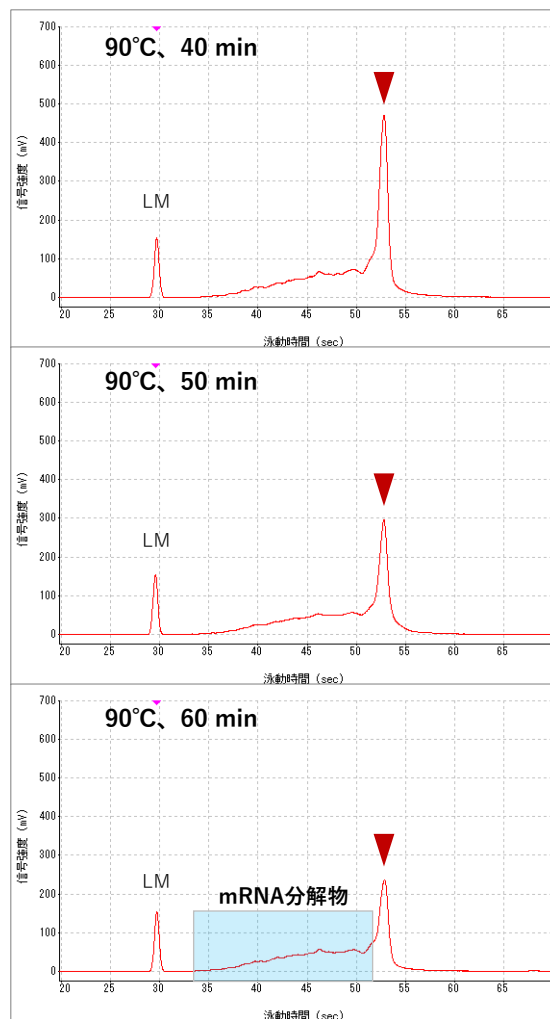
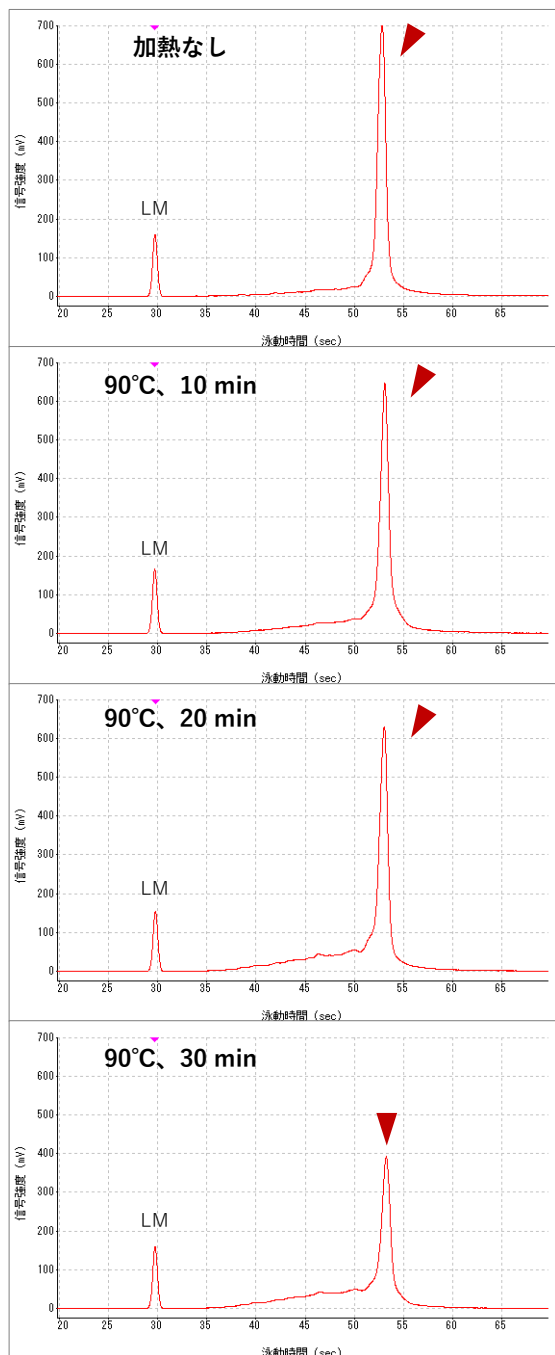


図3 MultiNAによる劣化評価の検討結果 (エレクトロフェログラム)

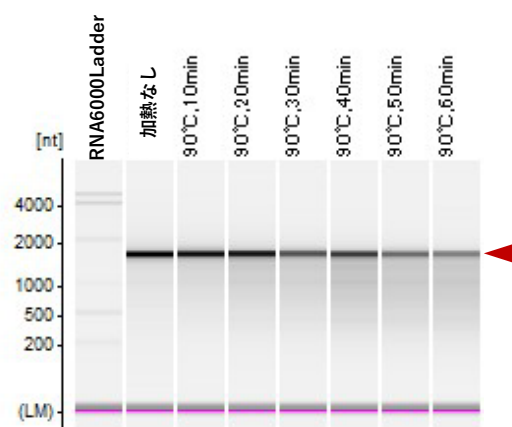


図4 MultiNAによる劣化評価の検討結果 (ゲルイメージ)

▼ FLuc mRNA (1922 nt)
LM : Lower Marker

純度評価の検討

Cas9 mRNA (4522 nt)を100 ng/μLの濃度で固定して、EPO mRNA (859 nt)を濃度比で100:1、20:1、10:1、4:1になるように混合しMultiNAで分析しました。いずれもピークとして明瞭に検出することができました(図5)。特に100:1で混合した試料においては、EPO mRNAの濃度が1 ng/μLの濃度であるにもかかわらずピークとして検出することができ、ゲルイメージにおいてもバンドとして明瞭に確認することができました(図6)。

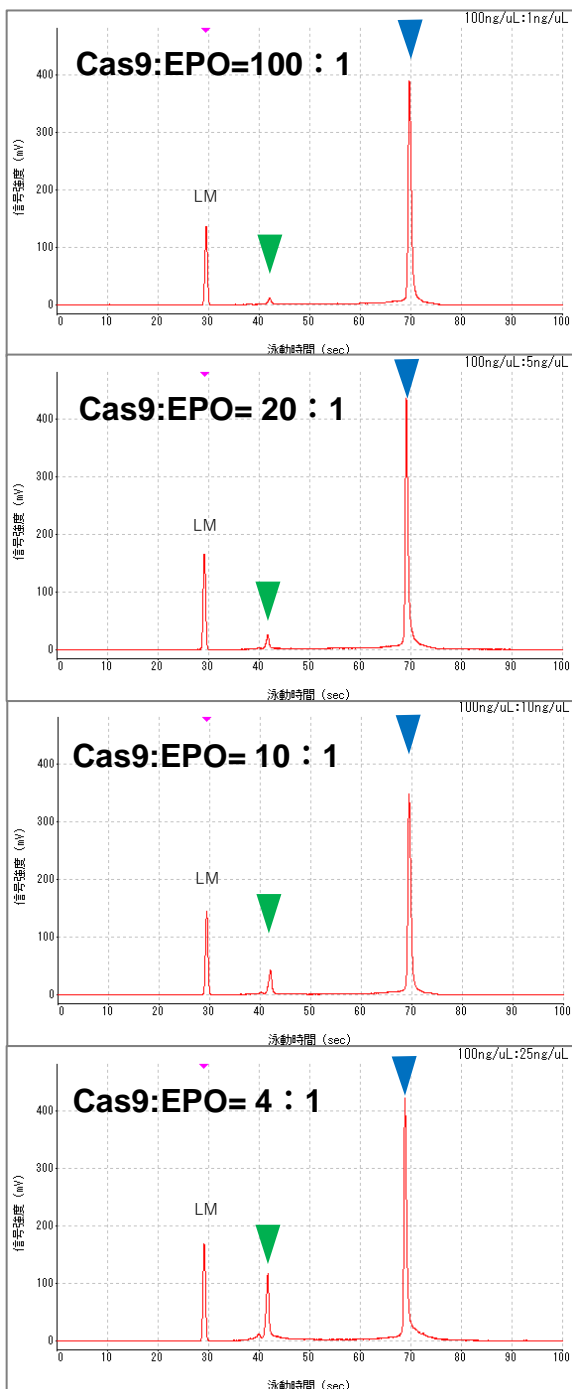


図5 MultiNAによる純度評価の検討結果(エレクトロフェログラム)

MultiNA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。

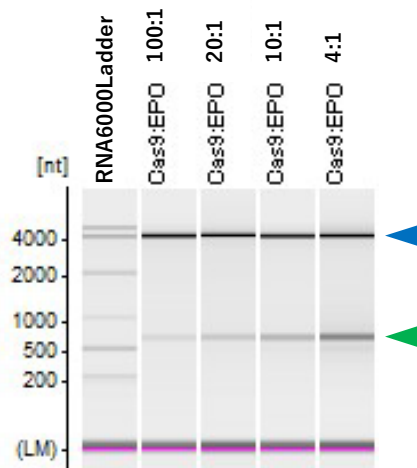
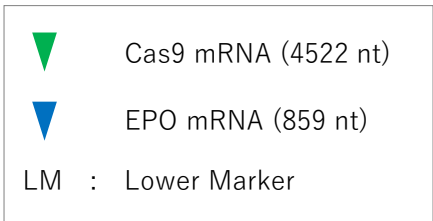


図6 MultiNAによる純度評価の検討結果(ゲルイメージ)



■まとめ

これらの結果により、mRNAの劣化および純度評価にマイクロチップ電気泳動装置MultiNAを用いることが有効な手法であることが示されました。

マイクロチップ電気泳動はキャピラリー電気泳動と比較すると分解能や精度に劣ります。しかしながら、MultiNAの分析時間は1分析がおよそ100秒で完了し、迅速・簡便に結果を得られることから、合成mRNAの製造における工程管理への利用が期待できます。

＞ 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。



＞ MultiNA (マルチナ)
DNA/RNA分析用マイクロチップ電気泳動装置



＞ MultiNA II MCE-301
マイクロチップ電気泳動システム

関連分野

＞ ライフサイエンス

＞ ゲノミクス

＞ 医薬・バイオ医薬品

＞ mRNA医薬品・ワクチン

＞ mRNA医薬品・ワクチン・分離分析

＞ 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