

マイクロチップ電気泳動システムMultiNA II によるLNPに内包されたmRNAの分析

前島 希

ユーザーベネフィット

- ◆ 核酸電気泳動のゲル作成、サンプルアプライ、データ取り込みを自動化します。
- ◆ 多検体でも迅速・簡便に測定することが可能です。
- ◆ 高感度なmRNA分析が可能です。

はじめに

近年、メッセンジャーRNA (mRNA) を利用した医療技術は急速に発展し、感染症ワクチンのほか、がんワクチンや遺伝性疾患の治療分野で注目を集めています。mRNAは負に帯電した巨大な分子であり細胞膜透過性が乏しいことから、細胞内に効率的に送達させるためにはデリバリー技術が不可欠です。現在は、mRNAのドラッグデリバリーシステム (DDS) として主に脂質ナノ粒子 (Lipid Nanoparticles; LNPs) が用いられています。この技術により、細胞外では分解されやすいmRNAを保護し、効率的に細胞内へ運搬することが可能となります。

mRNAを内部に封入したLNP製剤 (LNP-mRNA) は様々な疾患に対する治療法として期待されていますが、製造および保管において、品質管理は非常に重要な課題となっています。LNP-mRNA製剤の品質は、その安全性、有効性、および安定性に直接影響を及ぼします。そのため、製剤の品質評価における適切な分析手法の開発は、製品の信頼性向上および規制基準への適合において必要不可欠です。

mRNAの純度を確認する方法としては、アガロースゲル電気泳動やキャピラリー電気泳動が挙げられますが、準備や分析に時間がかかることや、分離や感度が不足しているなどの不便な点があります。一方、マイクロチップ電気泳動システムMultiNA II (図1) はゲル作成からサンプルアプライ、データ解析までを全自動で実施することができ、1サンプルの泳動時間も約100秒と迅速な分析が可能です。本アプリケーションでは、MultiNA IIを用いてLNPに内包されているmRNAとLNPから抽出したmRNAを簡便かつ迅速に分析し、得られたデータを比較・評価しました。



図1 マイクロチップ電気泳動システム MultiNA™ II MCE-301

■ サンプルと前処理

泳動用の試薬はRNAキット (P/N: 292-27913-91) を使用しました。サンプルは、RNAキットに含まれるRNAマーカ溶液を等量添加し混合後、米国薬局方 (USP) が発行する

ドラフトガイドライン (Analytical Procedures for Quality of mRNA Vaccines and Therapeutics, Draft Guidelines: 3rd Edition)¹⁾ を参考に、70℃で5分間加熱後、4℃で5分間冷却しました。分析手順を図2に、分析条件を表1に示します。

蛍光色素にはSYBR Green II (Thermo Fisher Scientific社製、P/N: S-7564)、サイズスタンダード (サイズマーカ) にはRNA 6000 Ladder (Thermo Fisher Scientific社製、P/N: AM7152) を使用しました。サイズスタンダードはTHE RNA Storage Solution (Thermo Fisher Scientific社製、P/N: AM7001) で6倍希釈後、サンプルと同様にRNAキットに含まれるRNAマーカ溶液を等量添加し混合後、70℃で5分間加熱後、4℃で5分間冷却しました。

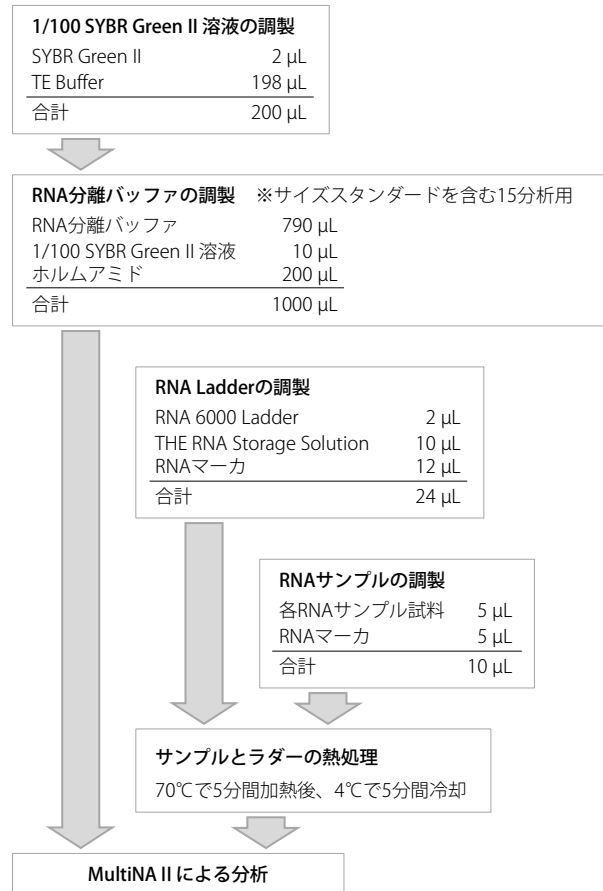


図2 MultiNA IIを用いたmRNA-LNPの分析手順

表1 mRNAの分析条件

システム	: MultiNA II
試薬キット	: RNAキット (P/N: 292-27913-91)
蛍光色素	: SYBR Green II (Thermo Fisher Scientific社製、P/N: S-7564)
サイズスタンダード (サイズマーカ)	: RNA 6000 Ladder (Thermo Fisher Scientific社製、P/N: AM7152)
希釈溶媒	: THE RNA Storage Solution (Thermo Fisher Scientific社製、P/N: AM7001)

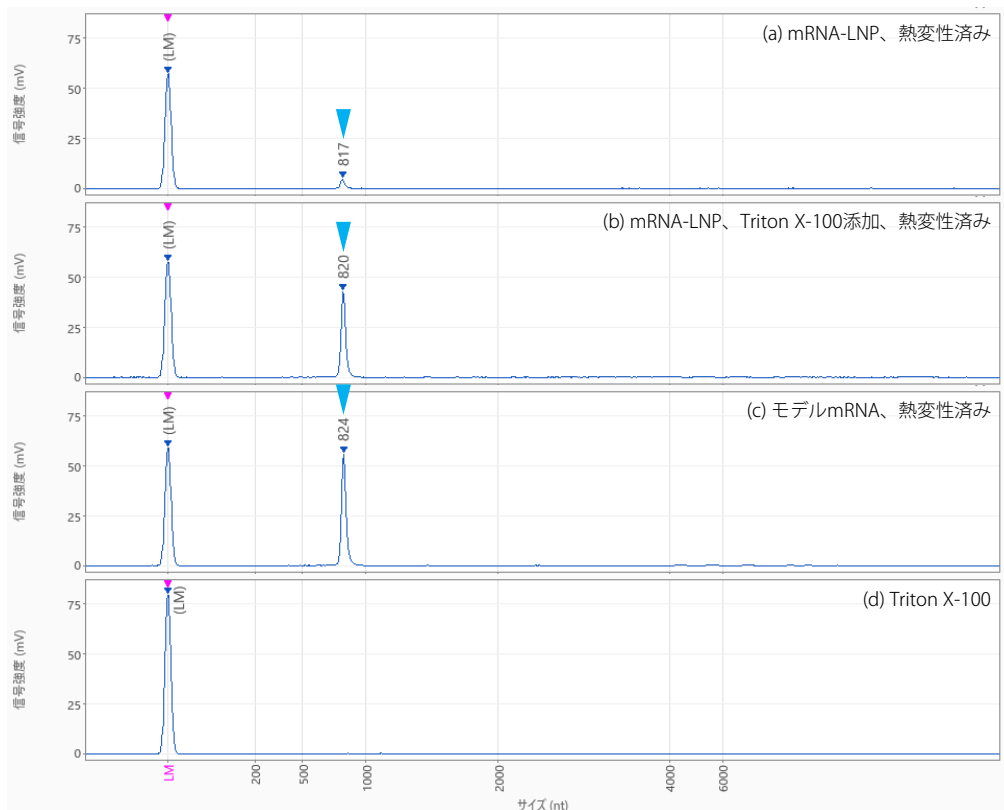


図3 mRNA-LNPのマイクロチップ電気泳動結果

■ MultiNA II を用いた電気泳動結果

mRNAサンプルおよびLNPに内包されたmRNA (mRNA-LNP) についてマイクロチップ電気泳動を行いました。エレクトロフェログラム (波形データ) を図3に示します。図中の青三角はmRNAを示します。上から、(a) mRNA-LNP溶液に熱処理 (70℃、5分間) を加えたサンプル、(b) mRNA-LNP溶液にTriton X-100 (終濃度0.1%) を加えたのち熱処理を加えたサンプル、(c) mRNAサンプル溶液、(d) 0.1% Triton X-100溶液を分析した結果になります。(a) ~ (c) のmRNAの濃度は10 ng/μLとなるよう調製しました。

界面活性剤を含まないmRNA-LNP溶液 (a) はごくわずかにピークが現れるのみで、濃度の確認などは困難でした。熱変性を行うだけではmRNA-LNPはLNPからほぼ放出されないことが確認できました。そこでUSPが発行するmRNAの品質評価に関するドラフトガイドラインを参考にTriton X-100を添加し、熱変性後、電気泳動を行いました (b)。その結果、RNA断片を明確に確認することができ、そのサイズ推定値はモデルmRNAサンプルと同等でした。また、分解物と思われる短いRNA断片は検出されませんでした。

■ まとめ

本アプリケーションでは、マイクロチップ電気泳動システムMultiNA II を用いてmRNA-LNPのサイズや濃度を簡便かつ迅速に分析した例を紹介しました。MultiNA II はmRNAサンプルの分析においても、ゲル作成からサンプルアプライ、データ解析までを全自動で行うことが可能です。USPが発行するガイドラインを参考に界面活性剤としてTriton X-100を添加し、熱処理を加えることでMultiNA II を用いてmRNA-LNPの検出が可能であることを確認しました。本手法を用いることで、mRNA-LNPを簡便・迅速に評価することが可能となり、mRNA医薬の開発効率向上に貢献できることが期待されます。

<謝辞>

データ採取にあたり、サンプル提供を含めAGC株式会社様に多大なご協力をいただきました。深く感謝申し上げます。

<参考文献>

- 1) Analytical Procedures for Quality of mRNA Vaccines and Therapeutics, Draft Guidelines: 3rd Edition

MultiNAは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
<https://www.an.shimadzu.co.jp/>

01-00840-JP 初版発行：2025年2月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文書に記載されている製品は、医薬品医療機器法に基づく医療機器、体外診断用医薬品として承認・認証を受けておりません。本文書に記載されている分析手法を治療診断目的およびその手続き上で使用することはできません。

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。本文中に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

▶ 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 II MCE-301
マイクロチップ電気泳動システム

関連分野

▶ 医薬・バイオ医薬品

▶ 核酸・mRNA医薬品

▶ 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