

オリゴ核酸一斉分析

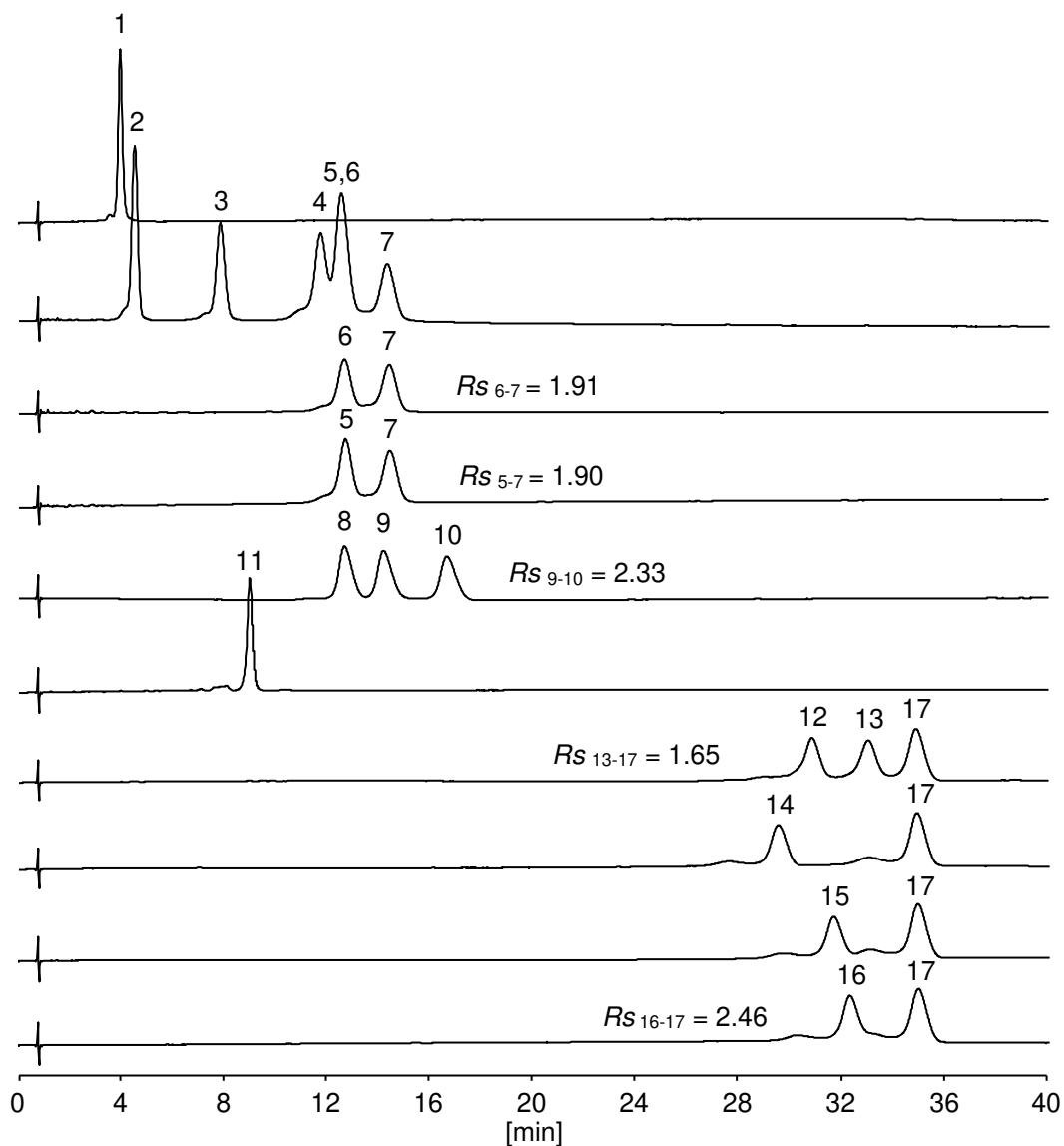
Simultaneous analysis of Oligonucleotides

オリゴ核酸の同時分析の一例として、ここではホスホロチオエート化（S 化）した RNA（21 mer）とその異性体、S 化した DNA であるオリゴチミジン（15 mer）とその異性体及び S 化した核酸医薬品であるヌシネルセンと同配列の合成核酸（18 mer）とその異性体を、CAPCELL PAK C₁₈ KG S3（2.1 mm i.d. x 150 mm）を用いてイオンペア逆相（IP-RP）で分析した例を示します。

一般的に核酸医薬品の純度試験（類縁物質）では検出器として LC-UV が使用されることが多いため、各異性体間の分離度が重視されます。そこで分離度の向上を目的として、それぞれのオリゴ核酸とペアになるアミンに比較的分子サイズの大きいジブチルアミンを選択し、アミンを活性化するために添加する酸としてギ酸を用いています。

Sample	Sequence (5' -> 3')
1. RNA 21 mer (All PO体)	GUCAUCACACUGAAUACCAAU
2. RNA 14 mer (All PS体)	C^A^C^U^G^A^A^U^A^C^C^A^A^U
3. RNA 17 mer (All PS体)	U^C^A^C^A^C^U^G^A^A^U^A^C^C^A^A^U
4. RNA 21 mer (2PO体)	G^U^C^A^U^C^A^C^A^C^U^G^A^A^U^A^C^C^AAU
5. RNA 21 mer (1PO体)	G^U^C^A^U^C^A^C^A^C^U^G^A^A^U^A^C^C^A^AU
6. RNA 20 mer (All PS体)	U^C^A^U^C^A^C^A^C^U^G^A^A^U^A^C^C^A^A^U
7. RNA 21 mer (All PS体, FLP)	G^U^C^A^U^C^A^C^A^C^U^G^A^A^U^A^C^C^A^A^U
8. Oligothymidine 15 mer (2PO体)	t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t
9. Oligothymidine 15 mer (1PO体)	t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t
10. Oligothymidine 15 mer (All PS体, FLP)	t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t^t
11. Nusinersen 18 mer (All PO体)	T(m)5(m)A(m)5(m)T(m)T(m)5(m)A(m)T(m)A(m)A(m)T(m)G(m)5(m)T(m)G(m)G(m)
12. Nusinersen 18 mer (2PO体)	T(m)^5(m)^A(m)^5(m)^T(m)^T(m)^5(m)^A(m)^T(m)^A(m)^A(m)^T(m)^G(m)^5(m)^T(m)G(m)G(m)
13. Nusinersen 18 mer (1PO体)	T(m)^5(m)^A(m)^5(m)^T(m)^T(m)^5(m)^A(m)^T(m)^A(m)^A(m)^T(m)^G(m)^5(m)^T(m)G(m)^G(m)
14. Nusinersen 17 mer (5'-end 欠損体)	5(m)^A(m)^5(m)^T(m)^T(m)^5(m)^A(m)^T(m)^A(m)^A(m)^T(m)^G(m)^5(m)^T(m)^G(m)^G(m)
15. Nusinersen 17 mer (center 欠損体)	T(m)^5(m)^A(m)^5(m)^T(m)^T(m)^5(m)^T(m)^A(m)^A(m)^T(m)^G(m)^5(m)^T(m)^G(m)^G(m)
16. Nusinersen 17 mer (3'-end 欠損体)	T(m)^5(m)^A(m)^5(m)^T(m)^T(m)^5(m)^A(m)^T(m)^A(m)^A(m)^T(m)^G(m)^5(m)^T(m)^G(m)
17. Nusinersen 18 mer (All PS体, FLP)	T(m)^5(m)^A(m)^5(m)^T(m)^T(m)^5(m)^A(m)^T(m)^A(m)^A(m)^T(m)^G(m)^5(m)^T(m)^G(m)^G(m)

n : DNA, N : RNA, ^ : Phosphorothioated, m : 2'-MOE-RNA



【HPLC Conditions】

Column : CAPCELL PAK C₁₈ KG S3 ; 2.1 mm i.d. x 150 mm
 Mobile phase : A) H₂O / DBA* / HCOOH / HFIP** = 1000 / 8.5 / 1.5 / 3.2
 B) H₂O / CH₃CN / DBA / HCOOH / HFIP = 500 / 500 / 8.5 / 1.5 / 3.2
 B 59 % (0 min) -> 72 % (40 min) Gradient
 Flow rate : 0.4 mL/min
 Temperature : 60 °C
 Detection : UV 260 nm
 Inj. vol. : 2 µL (100 µg/mL each)
 Sample dissolved in : Tris-HCl (pH 8.0)

*DBA : Dibutylamine

**HFIP : 1,1,1,3,3,3,-Hexafluoro-2-propanol