

## キャピラリーゲル電気泳動 (CGE) を用いたオリゴ核酸の分析事例の紹介

エーザイ株式会社

ファーマシューティカルサイエンス&テクノロジーユニット 分析研究部

山下 太郎

キャピラリーゲル電気泳動(CGE)は、キャピラリー内にポリマー溶液を封入し、電気泳動を行う分析法である。ポリマー中での分子ふるい効果により、みかけの分子サイズによってオリゴ核酸を分離することができるため、オリゴ核酸中の不純物に対して、有用な分析手法の一つである。本発表では、CGE を用いたオリゴ核酸の分析事例として、①核酸ジステレオマーの分離、及び、②CGE/MS を用いたショートマー分析の二例を紹介する。

### ① CGE を用いた核酸ジステレオマーの分離

オリゴ核酸の医薬品研究において、ホスホロチオエート (PS) による化学修飾により、生体内での安定性が向上することが知られている。しかし、PS 結合の導入では、その結合数 ( $n$ ) に応じて  $2^n$  個のジステレオマーが生じる。ジステレオマーの立体構造の違いは、有効性や安全性に影響すると考えられており、その立体構造の違いを識別できる高分解能の分析法開発が求められている。その分析法の一つとして、ポリビニルピロリドン (PVP) をポリマー溶液とした CGE がジステレオマーの分離手法として報告されている[1]。本研究では、CE によるジステレオマーの分離メカニズムを考察する為、2'-置換基が異なる種々のオリゴ核酸を PVP 1,300,000 をポリマー溶液として評価した[2]。2'-置換基として、2'-H (DNA)、2'-OH (RNA)、2'-*O*-methyl (2'-OMe)、2',4'-locked nucleic acid (2',4'-LNA)、および、2'-*O*-methoxy ethyl (2'-MOE) の 5 種を用いた。その結果、2'-置換基の違いにより、各ジステレオマーのピーク形状や分離挙動が異なる事を見出した。例えば、立体構造が固定化された 6 mer PS3-LNA よりも、6 mer PS3-DNA の方が良好なピーク分離を示した。三次元構造計算により、溶媒接触表面積が分離の重要因子の一つと示唆された。さらに、我々は 6 mer PS4-DNA で 16 本のジステレオマーのピークトップ分離、6 mer PS4-RNA で 15 本のジステレオマーの完全分離を達成した。

### ② CGE/MS を用いたショートマーの分析

CGE/MS では、CGE で分離した各ピークに対して質量情報を得ることができる[3]。我々は、既報文献[3]を参考に、ポリエチレングリコール (PEG) 35,000 をポリマー溶液とした CGE/MS を用いて、T20mer 中に含まれるショートマーの分析を試みた。その結果、T20mer 中に含まれる T19mer のマススペクトルを得ることができた。

[1] Gilar M et al. Electrophoresis 21:2999-3009 (2000)

[2] Yamashita T et al. J. Chromatogr. A 1725:464945 (2024)

[3] von Brocke A et al. J. Chromatogr. A 991:129-141 (2003)

[謝辞]

CGE/MS の測定では、アジレント・テクノロジー株式会社 野上知花様の御協力を頂きました。心より感謝申し上げます。