

# 高性能質量分析計 (Kingdon Trap) による核酸分析 - プロダクトイオンによる配列解析 -

COVID-19に対するワクチンなどで注目を集める核酸医薬に対して、特性解析の一環として配列解析のニーズが高まっている。東レリサーチセンターでは、高性能質量分析計を用いて核酸の配列解析を検討し、配列カバレッジ100%を達成した。修飾を含むアンチセンス核酸などへの適用が可能である。

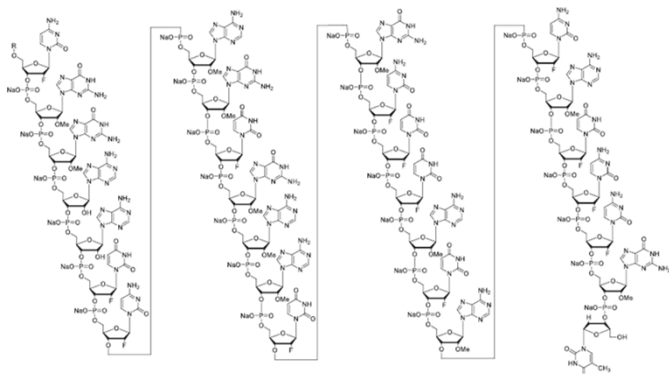
## 検討の目的と方法

### 目的

アンチセンスオリゴ核酸 (~20 mer) よりも長い核酸で、MS/MSによる配列カバレッジ100%が得られるか検討。

### 方法

抗VEGF阻害薬である、27 merのMacugen(Pfizer)から5'末端修飾を除いた配列を合成。



2'F基、2'OMe基が導入され、3'末端にinverted dTが付加された構造

マクジェン®硝子体内注射用キット0.3 mg添付文書より転載

### LC条件

移動相A : HFIP/TEA

移動相B : HFIP/TEA/MeOH

注入量 : 0.1 µg/injection

初期条件 : 20%B

グラジエント溶出

### MS条件

MS1

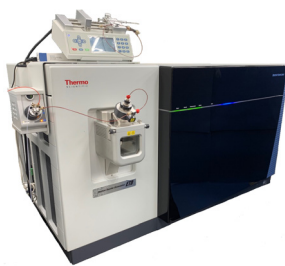
Resolution : 120,000

Scan range : m/z 550-3,000

MS2

Activation type : HCD

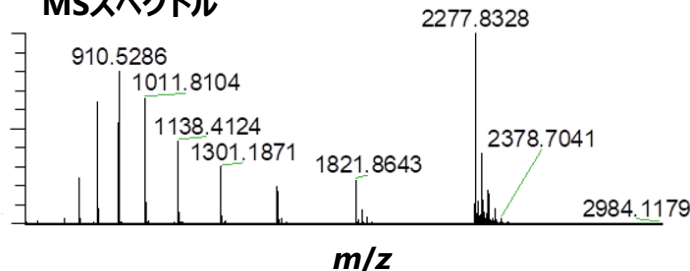
Orbitrap Fusion Lumos  
(Thermo Fisher Scientific)



MS1, MS2にかかわるパラメータを検討

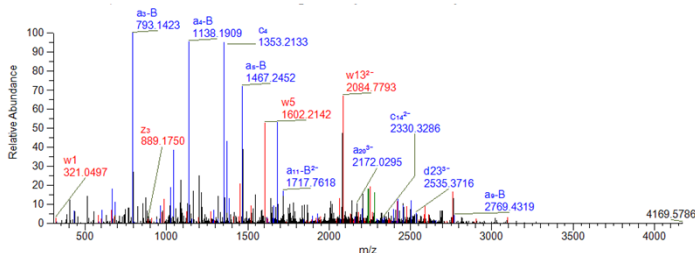
## 結果

### MSスペクトル



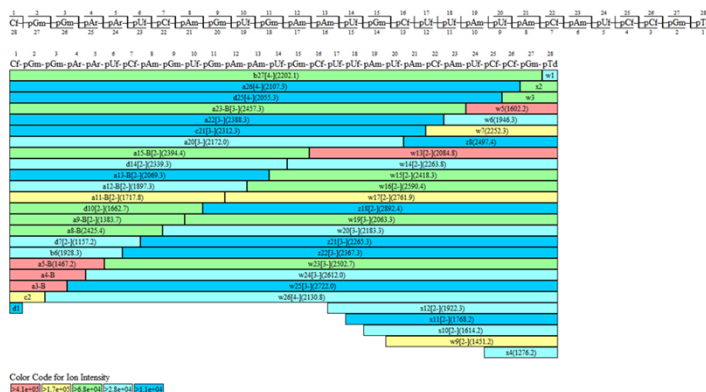
BioPharma Finder 5.0 (Thermo Fisher Scientific) によりMS/MSスペクトルの帰属を実施

### MS/MSスペクトル



### Fragment Coverage Map

Average Structural Resolution = 1.0 residues



適切な測定パラメータを設定することで、配列カバレッジが100%に到達した。

本研究は AMED 次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業「核酸医薬品の製造・精製・分析基盤技術の開発」プロジェクト (代表: 小比賀聡) による支援の成果である。

- ◆ MSスペクトルから正確かつ高精度に分子量を測定することも可能です。
- ◆ 一般的な修飾が導入されている核酸でも、高いカバー率で配列解析が可能です。
- ◆ 基礎研究から申請資料の信頼性の基準に従った試験まで対応可能です。