

ホスホチオアート（PS）オリゴ核酸の分析 -アリカフォルセン-

Analysis of phosphorothioate oligonucleotides such as alicaforsen

近年、医薬品業界では低分子医薬や抗体医薬に続く新たなモダリティとして核酸医薬が注目されています。疾病の原因となるような遺伝子の作用をメッセンジャーRNAによる翻訳段階で抑制できるアンチセンス核酸は一本鎖で構成され、その多くは生体内におけるヌクレアーゼ耐性を向上させるためホスホチオアート（PS）を含みます。今回は逆相イオン対（IP-RP）HPLCにより、アリカフォルセンと同じ配列である合成PSオリゴ核酸（以下、ALIと記載、詳細はTableを参照）を分析しました。L-column3 C18 2 μmと1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール（HFIP）を用いたメソッドを用いて、ALIは、n - 1欠損体から20分以内に分離されました。

Key words : IP-RP HPLC, Phosphorothioate oligonucleotide, alicaforsen
Column : L-column3 C18 (USP category: L1)

[Analytical conditions]

Column : L-column3 C18 (2 μm, 12 nm); 2.1 mm I.D. × 50 mm L.; Cat. No. 813140
Eluent : A: 400 mmolL⁻¹ HFIP, 15 mmolL⁻¹ triethylamine in H₂O
B: 400 mmolL⁻¹ HFIP, 15 mmolL⁻¹ triethylamine in {H₂O/CH₃OH (50/50)}
A/B, 86/14-46/54 (0-20 min)
Flow rate : 0.2 mL/min
Temperature : 60°C
Detection : UV 265 nm
Injection volume : 0.2 μL
System : NEXERA XR (SHIMADZU CORPORATION)
Mixer volume : 180 μL
Sample : ALI, ALI (n - 1) each 10 μmolL⁻¹ in H₂O

Table Sequences of PS oligonucleotides

Sample	Sequences (5'-3')
ALI	g [^] c [^] c [^] c [^] a [^] a [^] g [^] c [^] t [^] g [^] g [^] c [^] a [^] t [^] c [^] c [^] g [^] t [^] c [^] a [^]
ALI (n - 1)	g [^] c [^] c [^] c [^] a [^] a [^] g [^] c [^] t [^] g [^] g [^] c [^] a [^] t [^] c [^] c [^] g [^] t [^] c [^]

Lower-case letters indicate 2'-H DNA nucleotides. “^”: PS linkage, n - 1: 3'- n - 1 truncated sequence.

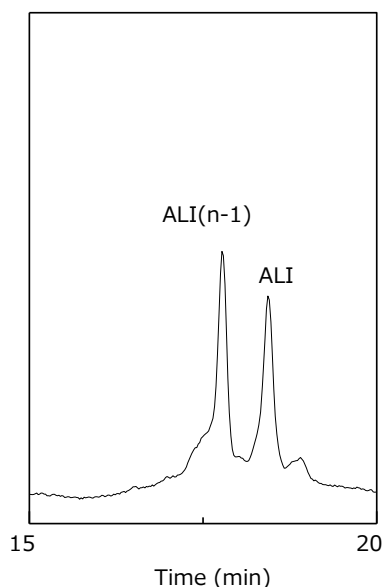


Fig. Chromatogram of ALI and ALI (n - 1)

HFIPを用いるメソッドはPSオリゴ核酸のピークをシャープにします。ALIはn - 1欠損体から良好に分離されました。