

## ホスホチオアート (PS) オリゴ核酸の分析 -ボラネソルセン-

### Analysis of phosphorothioate oligonucleotides such as volanesorsen

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、ボラネソルセンと同じ配列及び修飾である合成PSオリゴ核酸 (以下、VOLと記載、詳細はTableを参照) を分析しました。L-column3 C18 2  $\mu\text{m}$  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、VOL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, volanesorsen  
Column : L-column3 C18 (USP category: L1)

#### [ Analytical conditions ]

Column : L-column3 C18 (2  $\mu\text{m}$ , 12 nm); 2.1 mm I.D.  $\times$  50 mm L.; Cat. No. 813140  
Eluent : A: 400 mmolL<sup>-1</sup> HFIP, 15 mmolL<sup>-1</sup> triethylamine in H<sub>2</sub>O  
B: 400 mmolL<sup>-1</sup> HFIP, 15 mmolL<sup>-1</sup> triethylamine in {H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH (50/50)}  
A/B, 55/45-35/65 (0-20 min)  
Flow rate : 0.2 mL/min  
Temperature : 60°C  
Detection : UV 265 nm  
Injection volume : 0.2  $\mu\text{L}$   
System : NEXERA XR (SHIMADZU CORPORATION)  
Mixer volume : 180  $\mu\text{L}$   
Sample : VOL, VOL (n - 1) each 10  $\mu\text{molL}^{-1}$  in H<sub>2</sub>O

Table Sequences and modification of PS oligonucleotides

Sample	Sequences (5'-3')
VOL	A <sup>^</sup> G <sup>^</sup> C <sup>^</sup> U <sup>^</sup> U <sup>^</sup> Me <sup>c</sup> t <sup>^</sup> t <sup>^</sup> g <sup>^</sup> t <sup>^</sup> Me <sup>c</sup> Me <sup>c</sup> a <sup>^</sup> g <sup>^</sup> Me <sup>c</sup> U <sup>^</sup> U <sup>^</sup> U <sup>^</sup> A <sup>^</sup> U <sup>^</sup>
VOL (n - 1)	A <sup>^</sup> G <sup>^</sup> C <sup>^</sup> U <sup>^</sup> U <sup>^</sup> Me <sup>c</sup> t <sup>^</sup> t <sup>^</sup> g <sup>^</sup> t <sup>^</sup> Me <sup>c</sup> Me <sup>c</sup> a <sup>^</sup> g <sup>^</sup> Me <sup>c</sup> U <sup>^</sup> U <sup>^</sup> U <sup>^</sup> A <sup>^</sup>

Upper- and lower-case letters indicate 2'-OH RNA and 2'-H DNA nucleotides, respectively.  
“^”: PS linkage, under lines: O-methoxyethyl nucleotides, MeC: 5-methyl cytosine, MeU: 5-methyl uracil, n - 1: 3' (n - 1) truncated sequence.

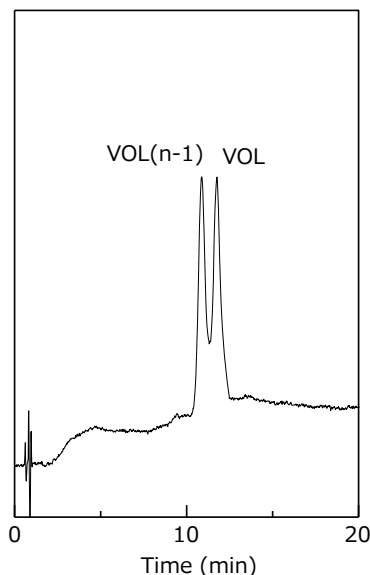


Fig. Chromatogram of VOL and VOL (n - 1)

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。

両側5塩基をO-メトキシエチル (2'-MOE) 基により置換されたギャップマー型のVOLはn - 1欠損体から部分的に分離されました。

2024.9 Oba