

サイズ排除クロマトグラフィーによる一本鎖 RNA (ssRNA) の分離

Separation of single strand RNA by Size Exclusion Chromatography.

新型コロナウイルスの感染予防に多用されている mRNA ワクチンは、従来の不活化ウイルスワクチンと異なり、病原体などの感染因子を含まず、安全性に優れています。また、核酸配列を変えるだけで、様々な抗原たんぱく質に対応できるため、ウイルス変異への迅速な対応や、がんの個別化医療への応用も期待されています。ワクチンに使用される mRNA は、細胞培養等で製造、精製された DNA を鋳型として転写・翻訳、精製されます。その製造工程において生じる RNA フラグメントの分離・分析には、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) が有効です。本報では、親水性ビニルポリマーを基材とする水溶性高分子測定用の SEC カラム TSKgel PW_{XL} シリーズを鎖長が異なる一本鎖 RNA (ssRNA) の分離に適用し、分析条件が分離に与える影響を検討したので、その結果について報告します。

試料には BioLabs 社製の Low Range ssRNA Ladder (N0364S, 50-1000 bases ssRNA) を使用

し、充填剤の粒子径、または細孔特性が異なる 4 種類のカラムで分離を行った結果、平均細孔径 50 nm の TSKgel G4000PW_{XL} が最も良好な分離を示しました。結果を図 1 に示します。

次に TSKgel G4000PW_{XL} を用いてカラム温度、流速、カラム本数が分離に与える影響を調べました (図 2~4)。カラム温度の上昇により分離が向上することが確認されました。これは、高温下で同一鎖内の相補的な塩基対 (A と U、G と C) によって形成される二次構造が崩れやすくなり、鎖長に基づく SEC での分離が向上するためと考えられます。また、低流速が分離に有利であり、さらにカラム本数を増やすことで分離が改善されることも確認されました。特に、カラムを 2 本使用して流速 0.5 mL/min とした場合、カラム 1 本 (流速 0.15 mL/min) の条件と同等の分離をより短時間で達成できることがわかりました (表 1 参照)。

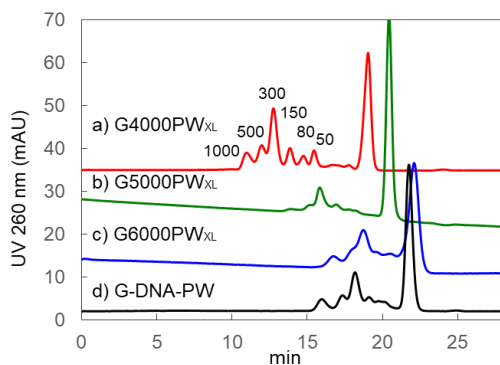


図 1 カラムによる ssRNA の分離の比較

Conditions:

Column : 図に記載
 Eluent : 20 mmol/L リン酸塩緩衝液 pH 7.0
 Flow rate : 0.5 mL/min
 Detection : UV (260 nm)
 Temperature : 80 °C
 Inj. vol. : 2 µL
 Samples : 50, 80, 150, 300, 500, 1000 bases ssRNA

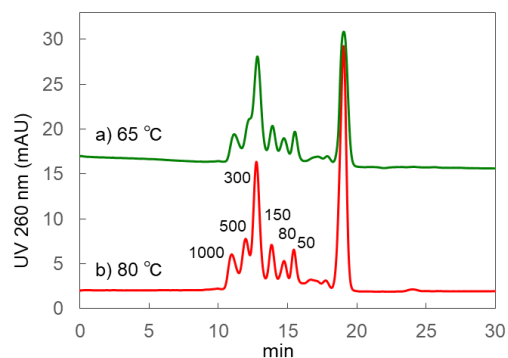


図 2 カラム温度が ssRNA の分離に与える影響

Conditions:

Column : TSKgel G4000PW_{XL} (7.8 mm I.D. x 30 cm)
 Eluent : 20 mmol/L リン酸塩緩衝液 pH 7.0
 Flow rate : 0.5 mL/min
 Detection : UV (260 nm)
 Temperature : 図に記載
 Inj. vol. : 2 µL
 Samples : 50, 80, 150, 300, 500, 1000 bases ssRNA

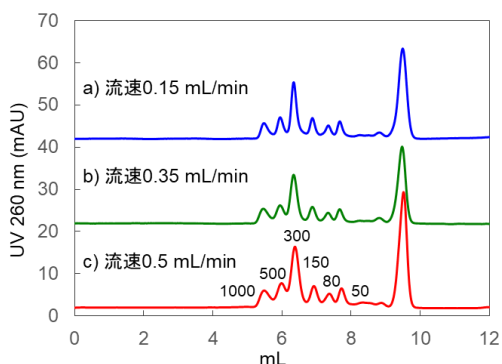


図3 流速が ssRNA 分離に与える影響

Conditions:

Column : TSKgel G4000PW_{XL} (7.8 mm I.D. x 30 cm)
 Eluent : 20 mmol/L リン酸塩緩衝液 pH 7.0
 Flow rate : 図に記載
 Detection : UV (260 nm)
 Temperature : 80 °C
 Inj.vol. : 2 μL
 Samples : 50,80,150,300,500,1000 bases ssRNA

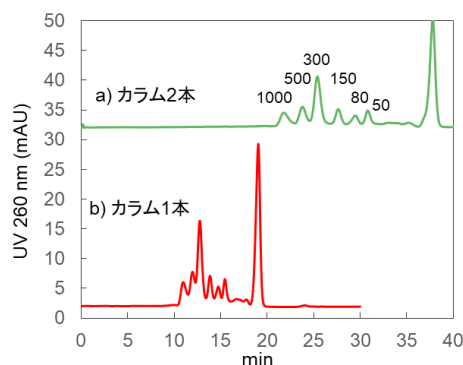


図4 カラム本数が ssRNA に与える影響

Conditions:

Column : TSKgel G4000PW_{XL} (7.8 mm I.D. x 30 cm)
 Eluent : 20 mmol/L リン酸塩緩衝液 pH 7.0
 Flow rate : 0.5 mL/min
 Detection : UV (260 nm)
 Temperature : 80 °C
 Inj.vol. : 2 μL
 Samples : 50,80,150,300,500,1000 bases ssRNA

表1 流速及びカラム本数を変えた場合の各ピーク間の分離度

流速 (mL/min)	カラム本数	分析時間 (min)	$R_{1000, 500}$	$R_{500, 300}$	$R_{300, 150}$	$R_{150, 80}$	$R_{80, 50}$
0.15	1本	70	1.229	1.177	1.789	1.496	1.089
0.35	1本	30	0.940	0.855	1.347	1.117	0.841
0.50	1本	20	0.760	0.657	1.178	0.905	0.736
0.50	2本	40	1.253	1.160	1.814	1.495	1.153

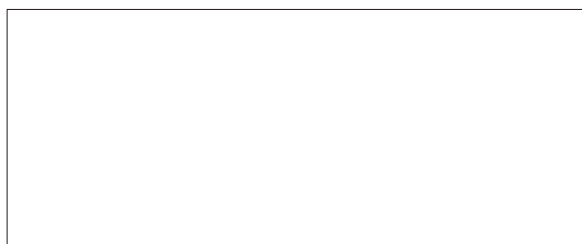
品番	品名	粒子径	カラムサイズ
0008022	TSKgel G4000PW _{XL}	10 μm	7.8 mm I.D. × 30 cm
0008023	TSKgel G5000PW _{XL}	10 μm	7.8 mm I.D. × 30 cm
0008024	TSKgel G6000PW _{XL}	13 μm	7.8 mm I.D. × 30 cm
0008032	TSKgel G-DNA-PW	10 μm	7.8 mm I.D. × 30 cm



※ “TSKgel” は日本、米国、欧州共同体、中国等における東ソー株式会社の登録商標です。
 ※ 掲載のデータ等は、その数値を保証するものではありません。お客様の使用環境・条件・判断基準に合わせてご確認ください。

東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部

東京本社 営業部 ☎ (03) 6636-3733 〒104-0028 東京都中央区八重洲2-2-1
 大阪支店 営業部 ☎ (06) 6209-1948 〒541-0043 大阪市中央区高麗橋4-4-9
 名古屋支店 営業部 ☎ (052) 211-5730 〒460-0008 名古屋市中区栄1-2-7
 福岡支店 ☎ (092) 710-6694 〒812-0011 福岡市博多区博多駅前3-8-10
 仙台支店 ☎ (022) 266-2341 〒980-0014 仙台市青葉区本町1-11-1
 カスタマーサポートセンター ☎ (0467) 76-5384 〒252-1123 神奈川県綾瀬市早川2743-1



お問い合わせe-mail tskgel@tosoh.co.jp
 バイオサイエンス事業部ホームページ <https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/>