

中性涂层毛细管结合RNA9000 Kit进行RNA分析的稳定性研究

Study on the stability of RNA Analysis by neutral capillary combined with RNA9000 Kit

唐红梅, 张晓霞, 陈泓序, 罗继, 郭立海

Hongmei Tang, Xiaoxia Zhang, Hongxu Chen, Ji Luo, Lihai Guo

SCIEX, 中国;

SCIEX, China;

Keywords: RNA, RNA 9000 Kit, Neutral capillary

1 前言

mRNA疫苗的研发及生产过程中, 涉及对mRNA原料药特性、纯度、稳定性、完整性和安全性等多方面的质量评估, 其中对mRNA完整性及稳定性的评估是至关重要也是必须的步骤。毛细管凝胶电泳法结合激光诱导荧光检测器 (CGE-LIF) 可提供有效并且可靠的工作流程用于RNA的稳定性分析; SCIEX 公司分别提供了自行配置的PVP胶的方案^[1]和RNA 9000 Purity & Integrity 试剂盒来进行mRNA的完整性分析^[2]。这些方法均使用熔融石英毛细管进行RNA分析, 根据分离时毛细管的温度不同, 其使用寿命大概在100-150次左右;

本文使用SCIEX中性涂层毛细管结合RNA 9000 试剂盒对RNA分析的稳定性进行了研究, 其中中性涂层毛细管使用寿命可达240次以上。并且将中性涂层毛细管按照说明书放置2个月后依然可以保持很高的分离度, 具有很好的稳定性。

2 试剂及样品

2.1 试剂

RNA 9000 Kit试剂盒 (PN C48231); SLS溶剂 (PN 608282); 二次去离子水 (Millipore)。

2.2 样品前处理

样品: Thermo RNA 9000 ladder (AM7150), 片段范围0.5-

9 kb; 样品初始浓度约为0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 。ssRNA Ladder, 片段范围在0.05-9 kb; 样品初始浓度约为0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 。

用SLS溶剂将RNA 9000 ladder 以及ssRNA Ladder均稀释至2 ng/ μL 左右, 取100 μL 加入样品管中, 待检测。

3 仪器及方法

采用SCIEX PA 800 Plus药物分析系统, LIF检测器, 采集频率: 4 Hz, LIF检测器 (激发波长488 nm, 发射波长520 nm); 毛细管: 中性涂层毛细管 (PN 477441), 50 μm 内径, 20/30.2 cm (有效/总长度); 毛细管温度: 30 $^{\circ}\text{C}$; 样品室温度: 8 $^{\circ}\text{C}$; 进样条件: 电压进样, -1 kV, 3 s; 分离条件: -6 kV, 30 min。

毛细管预处理: 新毛细管在使用前先用去离子水在50 psi压力下冲洗3 min, 在20 psi 压力下冲洗2 min; 然后用背景缓冲溶液在50 psi压力下冲洗10 min, 毛细管针尖在预分离前在去离子水中沾洗两次; 然后在恒定电压-6 kV下, 分离20 min; 在分离20 min时在去离子水中沾洗一次; 在分离20.01 min时结束采集数据;

4 实验及结果

4.1 中性涂层毛细管连续运行寿命考察

使用RNA9000 Ladder考察中性涂层毛细管连续运行寿命, 当中性涂层毛细管在连续运行至240个分离时, RNA9000 Ladder样品的10个峰依然能够保持较高的分离度, 具体谱图见图1。由于后续没有继续考察RNA9000 Ladder样品的分离, 因此中性涂层毛细管运行寿命可以至少连续运行240针依然保持很好的分离度。

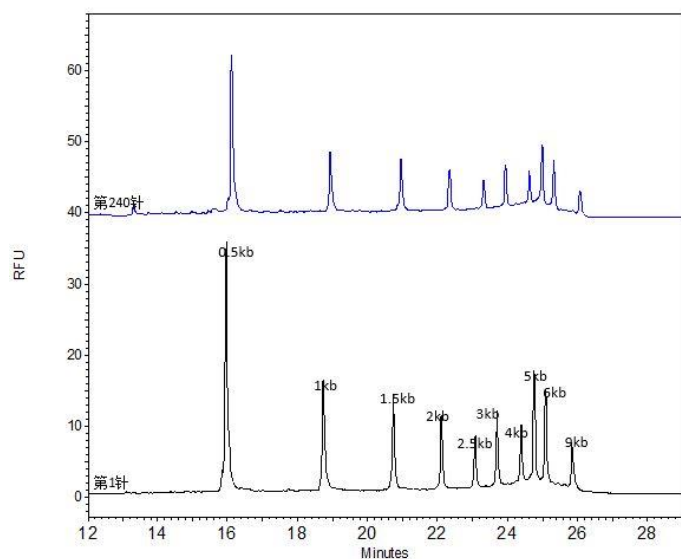


图1. CGE-LIF方法中使用中性涂层石英毛细管分析Thermo RNA 9000 ladder的电泳图（下）第1针；（上）第240针。

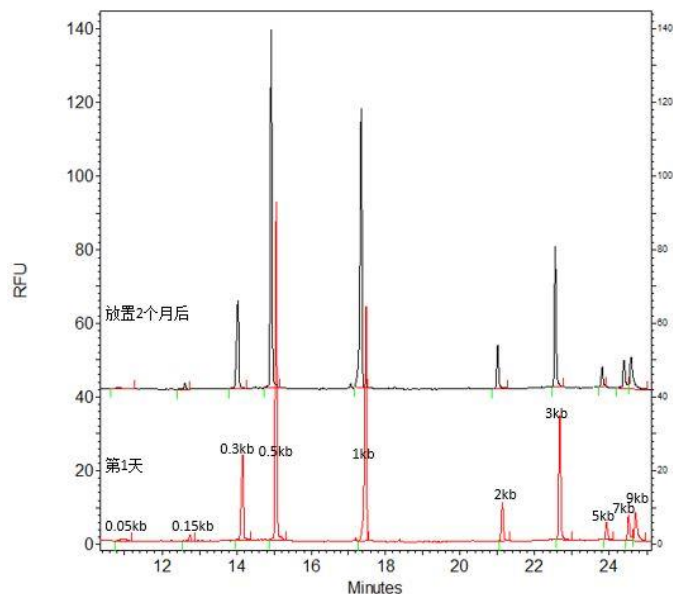


图2. CGE-LIF方法中使用中性涂层石英毛细管分析ssRNA ladder 的电泳图（下）第1天（上）放置2个月后。

4.2 中性涂层毛细管储存条件的考察

使用ssRNA Ladder样品考察毛细管的储存条件。我们将毛细管两端插入到装有去离子水中的试剂瓶中，然后放入到毛细管储存盒中，将毛细管储存盒直立放置在冰箱中，在4℃中保存2个月；毛细管使用上述保存方式放置2个月使用ssRNA Ladder进行分析，ssRNA Ladder样品的10个峰依然保持较高的分离度，并且分离结果正常，具体分离谱图见下图2；实验证明中性涂层毛细管按照说明书储存方式放置2个月后并不会影响样品的分离度。

5 结论

本文通过使用中性涂层毛细管以及RNA9000 Kit试剂盒对mRNA ladder进行分离，验证了中性涂层毛细管的使用寿命可达240次以上，并且中性涂层毛细管放置2个月对样品的分离度没有影响。

6 参考文献

1. 高铁等，TN: CGE-LIF方法对mRNA疫苗的纯度分析；
2. SCIEX, RNA 9000 Purity & Integrity 试剂盒说明书；

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15644-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808-1388
传真：010-5808-1390
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419-7201
传真：021-2419-7333
官网：sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话：020-8842-4017

官方微信：SCIEX-China