

CGE-LIF方法对较长（4000 nt以上）环状RNA的纯度分析

Purity analysis of longer (above 4000 nt) CircRNA by the CGE-LIF method

刘冬科¹, 李响², 陈泓序¹, 刘冰洁¹

Liu Dongke¹, Xiang Li², Chen Hongxu¹, Liu Bingjie¹

¹ SCIEX, 中国; ² 中国食品药品检定研究院重组药物室, 北京

¹ SCIEX, China; ² NIFDC, China

Key words: 毛细管凝胶电泳; 激光诱导荧光检测器; 环状RNA

1. 前言

与mRNA相比, 环状RNA (CircRNA) 具有独特性质且具有潜在治疗应用价值, 在基因传递、蛋白表达和疫苗开发方面展现出了巨大的应用潜力, 已成为一种颇具前景的替代mRNA的选择, 受到了广泛关注。为确保CircRNA产品的安全性和有效性, 纯度为质量控制中需要密切监测的关键质量属性。

毛细管凝胶电泳匹配激光诱导荧光检测器 (CGE-LIF) 在核酸分析中具有独特的优势, SCIEX RNA 9000 kit可实现4000nt以下的CircRNA及产品相关杂质Precursor RNA、Nicked RNA的有效分离^[1]。但对于长度为4000 nt以上的CircRNA, 峰型展宽比较严重, 不利于准确积分, 本文通过优化dsDNA 1000 kit的凝胶及分离条件实现了4000 nt以上CircRNA的良好分离并准确的纯度定量。CGE-LIF方法有望为CircRNA产品的质量控制和技术评估提供指导, 推动高质量CircRNA产品的开发。

2. 仪器和试剂

2.1 试剂及样品

dsDNA 1000 Gel Buffer (lyophilized, PN477628); DNA 毛细管, 65 cm, 100 μ m ID (PN 477628); SYBR Gold Nucleic Acid (Invitrogen S11494); 10 $\times$ TBE溶液 (Sigma Aldrich, PNT4323); Sample Loading Solution (SLS) (PN 608082); 尿素 (分析纯, Amresco, PN 0568)。背景电解质配置:

- 1、向dsDNA 1000 Gel Buffer瓶中加入20 mL 8M尿素溶液, 室温下搅拌24 h, 充分溶解。命名为Gel Buffer-1。
- 2、将SLS: 10 $\times$ TBE=9:1混合, 然后此溶液: Gel Buffer-1=1:1混合均匀, 命名为Gel Buffer-2。
- 3、按照每10 mL Gel Buffer-2: 1 μ L SYBR Gold nucleic acid 的比例向缓冲溶液中加入染料, 充分混合均匀, 并超声去除气泡。此溶液作为本实验的背景电解质。

CircRNA样品由某疫苗企业提供, 均使用SLS试剂稀释至10 ng/ μ L左右。

2.2 仪器及方法

SCIEX PA 800 Plus药物分析系统, 匹配激光诱导荧光检测器 (LIF)。DNA涂层毛细管: 30/40.2 cm (有效/总长度), 100 μ m 内径; LIF检测器激发波长: 488 nm, 发射波长: 520 nm。样品室温度: 10 $^{\circ}$ C; 毛细管温度: 20 $^{\circ}$ C; 分离时间程序见图1。样品进样前、采集分析完成后可使用0.1 M盐酸、水清洗毛细管。

3. 结果

通过在dsDNA 1000 Kit的凝胶基础上进行优化, 可实现4000 nt以上的CircRNA的有效分离及准确的纯度定量, Nicked RNA与Precursor RNA因长度太长分辨率受限, 因此合并积分, 结果见图2, 4750 nt、6600 nt、9680 nt的CircRNA样品纯度分别为48.55%, 42.78%, 38.01%。另外, 由图2可看出, 无论是CircRNA, 还是Nicked RNA与Precursor RNA, 长度越长, 出峰时间越慢, 这与4000 nt以下CircRNA的实验发现一致^[2]。

	Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary
1		Rinse - Pressure	20.0 psi	5.00 min	B1:B1	B0:B1	forward
2		Wait		0.00 min	B1:D1	B0:D1	
3		Inject - Pressure	0.5 psi	10.0 sec	S1:A1	B0:B1	Override, forward
4		Inject - Pressure	0.5 psi	5.0 sec	B1:B1	B0:B1	No override, forward
5		Wait		0.00 min	B1:E1	B0:E1	
6	0.00	Separate - Voltage	7.8 KV	60.00 min	B1:C1	B0:C1	1.00 Min ramp, reverse polarity, both
7	1.00	Autozero					
8	60.00	End					
9							

图1. CGE-LIF分析4000 nt以上CircRNA的分离时间程序

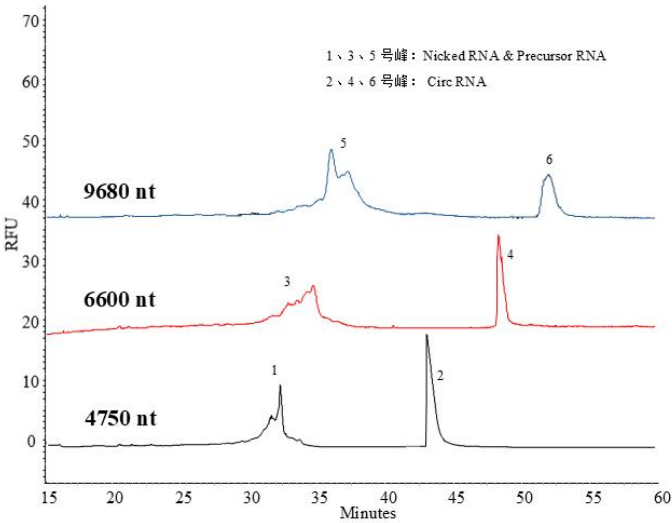


图2. CGE-LIF方法分析4000 nt以上的 CircRNA及产品相关杂质

4. 结论

本文通过调整dsDNA 1000 kit的凝胶及分离条件实现了4000 nt以上的CircRNA的良好分离和纯度分析。CGE-LIF方法有望为CircRNA 疫苗的质量控制和技术评估提供指导，从而推动高质量CircRNA 疫苗的开发。

5. 参考文献

- [1] SCIEX Tech Note: CGE-LIF方法对环状RNA疫苗的纯度分析 (RUO-MKT-02-15386-ZH-B)
- [2] SCIEX Tech Note: BioPhase 8800 系统进行不同长度环状RNA疫苗的高通量纯度分析 (RUO-MKT-02-15467-ZH-B)

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。

© 2025 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. MKT-35107-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市昌平区生命科学园科学园路
18号院A座一层
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](https://www.sciex.com.cn)