

GMP対応 遺伝子治療用製品の塩基配列分析

遺伝子治療用製品の品質試験は、従来の医薬品同様、GMP対応が求められる。ここでは、製品モデルとして市販のプラスミドDNAを用い、GMP体制下でDNAシーケンサーによる塩基配列分析を実施し、取得したデータのアライメント解析により、リファレンス配列と一致することを確認したので紹介する。

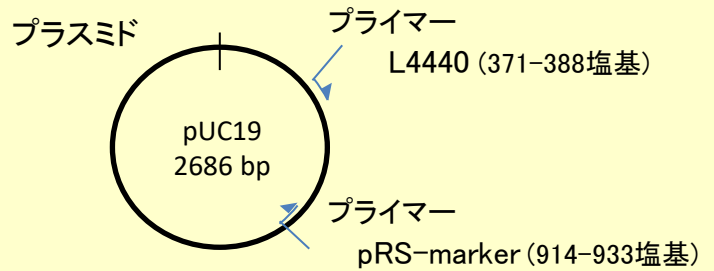
測定機器および試験環境



SeqStudio Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific)

- CSV (Computerized System Validation)
 - ユーザー管理、データ管理
- DI (Data Integrity) への対応
 - ソフトのユーザー権限、データへのアクセス権限
- 関連するSOP (Standard Operating Procedures)
 - 測定機器 (NME14070)、データ管理 (NME18820)、アクセス権限 (NME00200)

プラスミドDNAの塩基配列分析



測定手順

プラスミドDNAのシーケンス反応

サンプルの精製

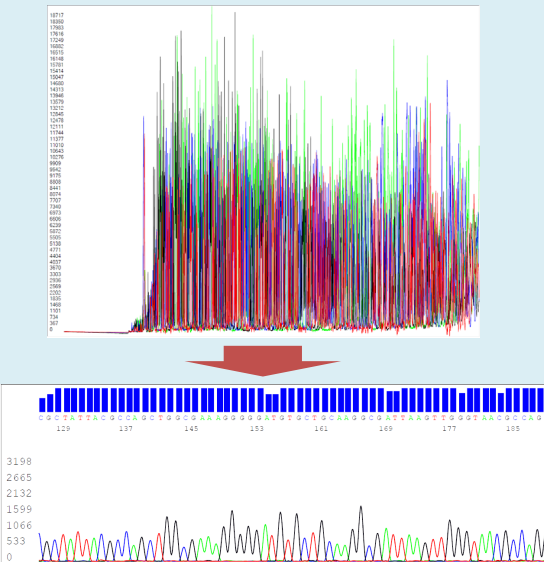
キャピラリー電気泳動

使用試薬

BigDye Terminator v3.1 (Thermo Fisher Scientific)
アライメント解析ソフト
SeqScape 4 (Thermo Fisher Scientific)

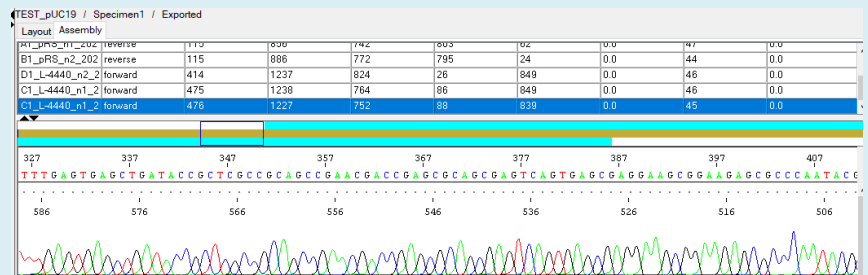
塩基配列データ取得

キャピラリー電気泳動後のRAWデータ



RAWデータを補正したエレクトロフェログラムから測定サンプルの塩基配列を取得

取得した塩基配列とリファレンス配列のアライメント解析



結果出力

上段の塩基配列: リファレンス配列

TTT C G C C A G C T G G C G T A A T A G C G A A G A G G C C C G C A C C G A T C G C C C T T C C C A A C A G T T G C G C A
TTT C G C C A G C T G G C G T A A T A G C G A A G A G G C C C G C A C C G A T C G C C C T T C C C A A C A G T T G C G C A

下段の塩基配列: データ取得した塩基配列

アライメント解析により、測定サンプルから取得した塩基配列データとリファレンス配列が完全に一致することを確認した。

遺伝子治療用製品の品質試験項目には、確認試験として塩基配列分析が設定される。東レリサーチセンターでは、GMPへの対応が整ったので、受託を開始した。