

2019年度冬季全学自由研究ゼミナール  
**現代質量分析学入門**  
 ～環境動態解析から生命科学まで～

**第6回**  
**「ライフサイエンス分野での質量分析」**

アイソトープ総合センター  
 先端科学技術研究センター

川村 猛

5限(16:50-18:35)

1

**アイソトープ総合センターの役割**

**【従来の役割】**

大学内の管理区域における放射性同位元素を使った教育や研究の支援

- ①低線量、長時間の放射性セシウム被ばくによる健康影響のメカニズムを研究し、
- ②環境中放射性同位元素の挙動を最新の分析法によって測定し、
- ③それらの知見や他部局の技術・情報を用いて余分な被ばくからの“防護”に役立てる。

**①放射性影響の総合的オミックス解析とα線医薬品開発**  
 シーケンサー K4me3, K27me3, K36me3  
 質素分析  
 遺伝子発現  
 自動化装置開発 α線医薬品開発

**②環境中RIの捕捉・動態解析**  
 空間線量・食品土壌・個人被ばく  
 農業復興

**③自治体における放射線からの“防護”**  
 産業振興

**今回の内容**

- 同位体(アイソトープについて)
- 生命科学分野での質量分析  
 – ESI LC-MSとMALDI TOF-MS
- オミックス解析と質量分析  
 – プロテオーム、メタボローム、グライコーム、リポドーム、メタローム(タンパク質、代謝物、糖質、脂質、金属)
- プロテオミクスと質量分析計
- プロテオミクスによる放射線影響解析
- 質量分析と医薬品開発

4

Isotope Science Center, The University of Tokyo  
 〒113-0032 東京都文京区弥生 2-11-16  
 TEL: 03-6841-2881

東京大学アイソトープ総合センター

東京大学アイソトープ総合センターは、アイソトープ(同位元素)にかかわる先端的な研究開発並びに、放射線災害地域に対する支援、学内及び学外の放射線取扱者の教育訓練を行っています。

LSBM

CONTACT ACCESS ENGLISH

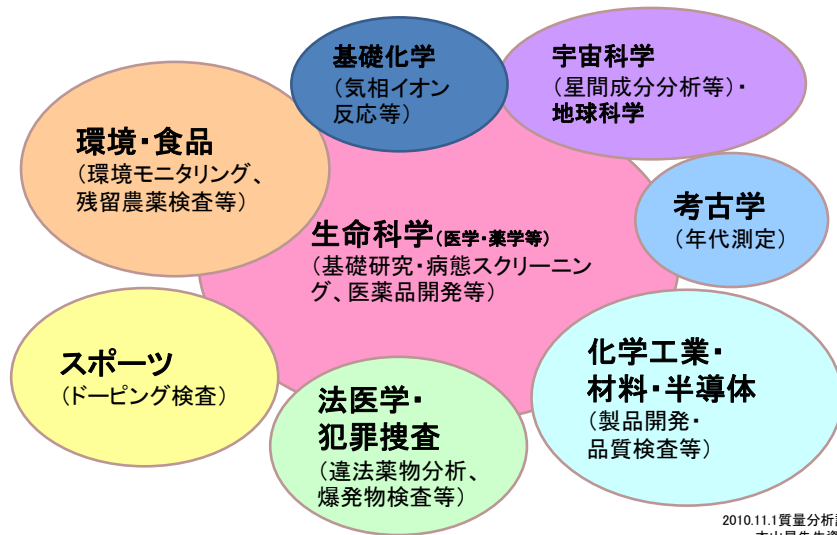
ABOUT US TOPICS GROUPS PROJECTS PUBLICATION LECTURE SEMINAR

人間のシステムを解き明かす

システムを解き明かす(システマトックス)とは、生命・社会・環境の相互作用を統合的に解析する手法を指し、最新の技術を用いて、複雑なシステムを解き明かすことを目指しています。

2

# 質量分析法の主な応用分野



2010.11.1 質量分析講習会  
本山晃先生資料より  
5

# 同位体 (アイソトープについて)

## 元素を分析する質量分析計

ICP-MS (誘導結合プラズマ質量分析計)



<http://www.chem-agilent.com>

## 放射性物質とは

放射性核種 = 放射性同位体 = 不安定原子核

を含む原子からできている物質

質量数  $A = Z + N$



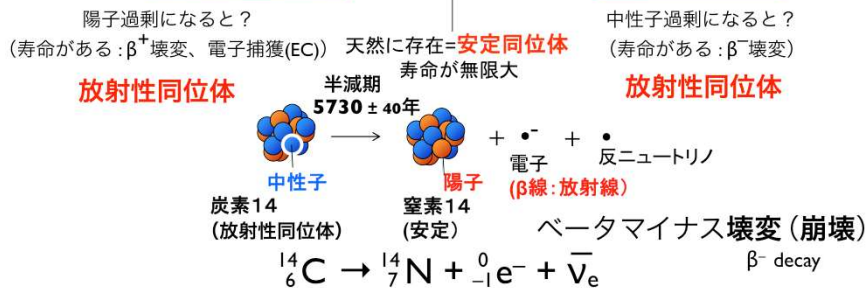
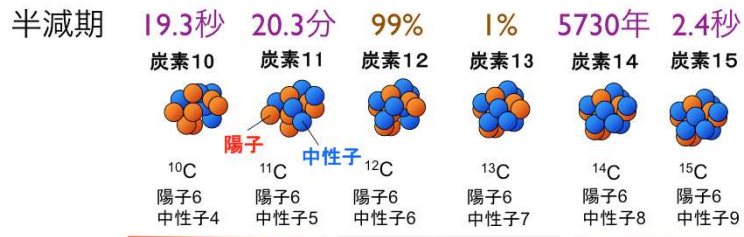
陽子数  $Z$  が同じなら化学的には同じ元素  
中性子数  $N$  が違う原子核が多種存在する

炭素原子核の例

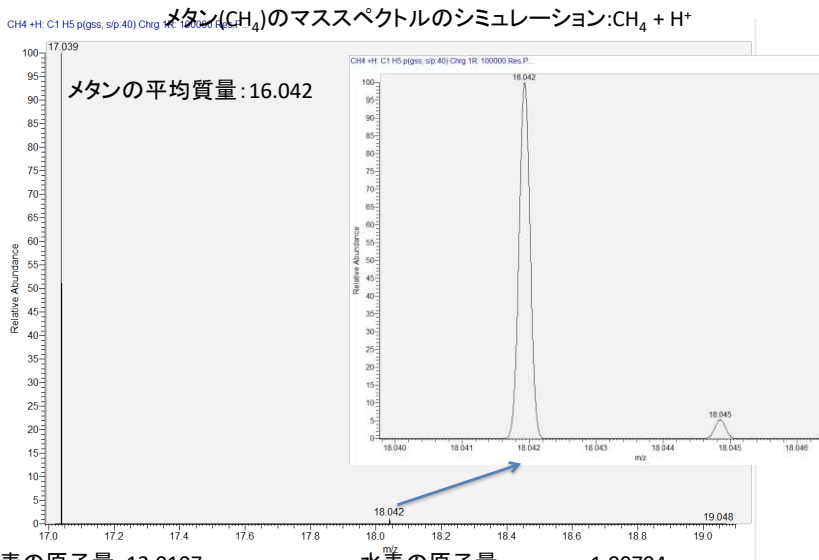
炭素10	炭素11	炭素12	炭素13	炭素14	炭素15
${}^{10}C$	${}^{11}C$	${}^{12}C$	${}^{13}C$	${}^{14}C$	${}^{15}C$
陽子6 中性子4	陽子6 中性子5	陽子6 中性子6	陽子6 中性子7	陽子6 中性子8	陽子6 中性子9
放射性同位体 (不安定)	安定同位体 (寿命無限大)	安定同位体 (寿命無限大)	安定同位体 (寿命無限大)	放射性同位体 (不安定)	放射性同位体 (不安定)

# 同位体

(原子番号(=陽子数)は同じで中性子数が異なる**原子核**)  
同位体間では化学的性質は同じ



## 安定同位体とは



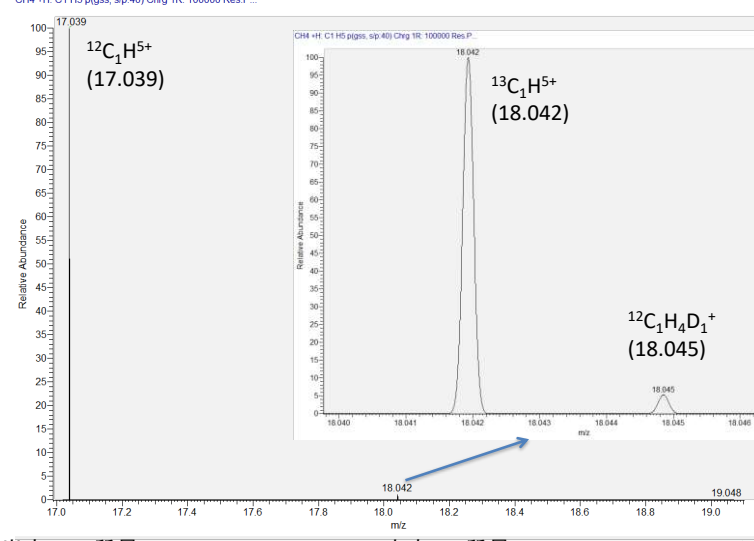
炭素の原子量: 12.0107	水素の原子量: 1.00794
炭素12の質量: 12.000000	水素1の質量: 1.007825
炭素13の質量: 13.003355	水素2(重水素)の質量: 2.014102

# 質量分析計(Mass Spectrometer)は質量を測定する

↓

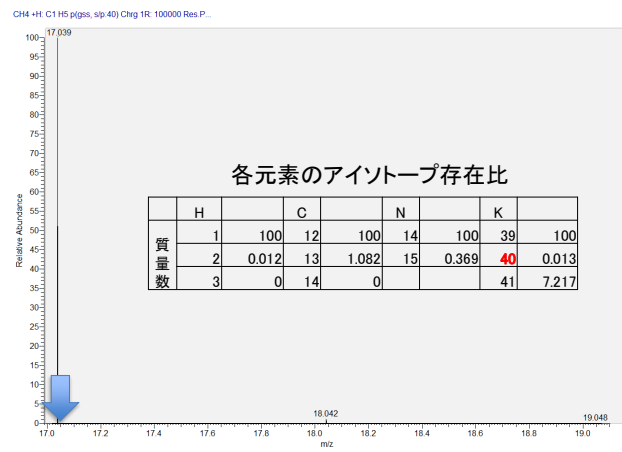
## アイソトープの違いを質量で識別できる

## メタン(CH<sub>4</sub>)のマススペクトルのシミュレーション:CH<sub>4</sub> + H<sup>+</sup>



炭素12の質量:12.000000	水素1の質量: 1.007825
炭素13の質量:13.003355	水素2(重水素)の質量: 2.014102
メタンのモノアイソトピック質量(アイソトープを1種類しか含まない質量):16.0313	

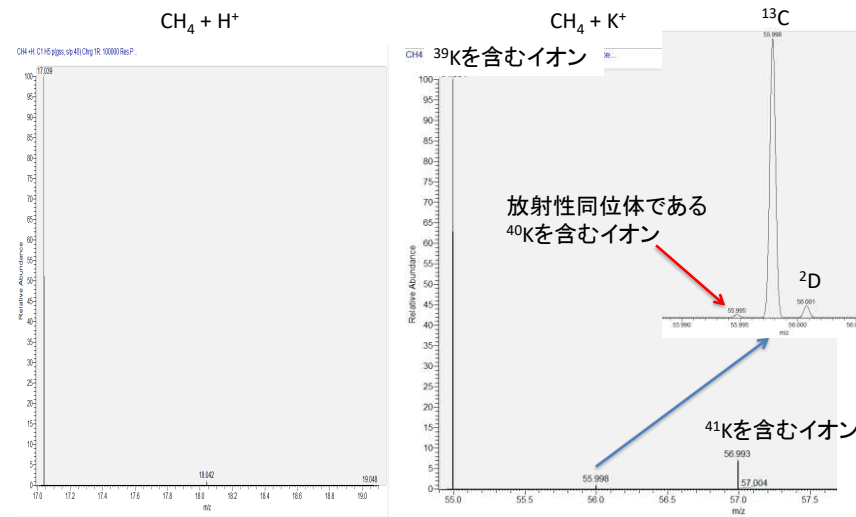
メタンのモノアイソトピック質量(アイソトープを1種類しか含まない質量): 16.0313  
 メタンの平均質量: 16.042



天然のカリウムは約0.01%、放射性同位体である<sup>41</sup>Kを含む

13

メタンのプロトン付加イオンとカリウム付加イオン(シミュレーション)



同位体存在比が多い元素を含む物質のマススペクトルは特徴的なパターンを示す

14

## 核種と体内の集積部位および影響

核種	集積部位	影響
<sup>3</sup> H, <sup>14</sup> C, <sup>40</sup> K	全身	突然変異など
<sup>32</sup> P, <sup>45</sup> Ca, <sup>90</sup> Sr, <sup>222</sup> Ra, <sup>241</sup> Am	骨	白血病、骨腫瘍
<sup>59</sup> Fe	骨髄	白血病
<sup>60</sup> Co	肝、脾、下部消化管	肝がん
<sup>65</sup> Zn	肝、骨	肝がん、骨腫瘍
<sup>131</sup> I	甲状腺	甲状腺がん、甲状腺機能低下
<sup>137</sup> Cs	筋肉、全身	白血病、不妊
<sup>222</sup> Rn	肺	肺がん
<sup>232</sup> Th, <sup>239</sup> Pu	肝、骨、肺	肝がん、骨腫瘍、肺がん、白血病
<sup>238</sup> U	腎、骨、肺	骨腫瘍、肺がん、白血病

### カリウム-40(<sup>40</sup>K) 放射能ミニ知識

半減期 12.8億年

崩壊方式 β-線を放出してカルシウム-40(<sup>40</sup>Ca)となる(89.3%)。また、軌道電子を捕獲してアルゴン-40(<sup>40</sup>Ar)にもなり、この時にガンマ線が放出される(10.7%)。

存在と生成 天然に存在する代表的な放射能で、太陽系がつけられた時から存在している。同位体存在比は0.0117%で、カリウム1gに放射能強度が30.4ベクレルのカリウム-40が入っている。カリウム-40が人工的につくられることはほとんどなく、同位体存在比の高いカリウム-40は同位体濃縮によって得られる。カリウムは岩石中に多量に含まれ、玄武岩、花こう岩および石灰岩の含有量は、それぞれ0.83、3.34および0.31%である(玄武岩1kg中の放射能強度は262ベクレルに相当する)。土壌の含有量は0.008~3.7%の範囲にあり、平均値は1.4%である。食品中の濃度はかなり高く、白米、大根、ほうれん草、りんご、鶏むね肉およびかつお1kgに含まれるカリウムの重量は、それぞれ1.1、2.4、7.4、1.1、1.9および4.4gである(白米1kg中の放射能強度は33ベクレルに相当する)。外洋海水1リットルには、0.400g(12.1ベクレル)が含まれる。

化学的、生物学的性質 カリウムはナトリウムと似た性質をもち、化合物は水に溶けやすい。体内に入ると、全身に広く分布する。カリウムは必須元素の一つである。成人の体内にある量は140g(放射能強度、4,000ベクレル)で、1日の摂取量は3.3gである。生物学的半減期は30日とされている。

生体に対する影響 天然に存在する放射能として、内部被曝による線量が大いもの一つと考えられる(「ラドン-222」を参照)。内部被曝が重要で、10,000ベクレルを経口摂取した時の実効線量は0.062ミリシーベルトである。体内に常に同じ量が存在するので、線量は計算しやすい。生殖腺や他の柔組織に対する年間線量は0.18ミリシーベルト、骨に対しては0.14ミリシーベルトである。ガンマ線による外部被曝も無視はできない。1kgのカリウムから1mの距離における年間線量は0.0055ミリシーベルトであり、ふつうの場所での年間線量は0.01ミリシーベルトに達することもある。

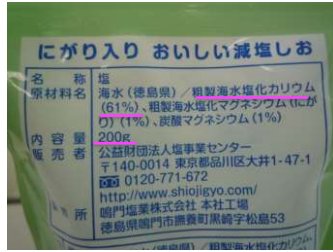
放射能の測定 半減期は長く、同位体存在比が小さいので、カリウム1gあたりの放射能強度は低い。必ずしも放射能測定をおこなう必要はなく、試料中のカリウムの重量を決定すればカリウム-40の量がわかる。化学分析の技術を活用すればよい。しかし、放射能測定が役立つこともある。ゲルマニウム半導体検出器でガンマ線を測定すれば、岩石、土壌、食品などの中のウランとトリウムの量を決定できる。その時に、カリウム-40の量が決定できる。全身カウンターを用いれば、体内の他の放射能とともにカリウム-40の量も決定できる。



成人体内のカリウム量  
約2g/kg



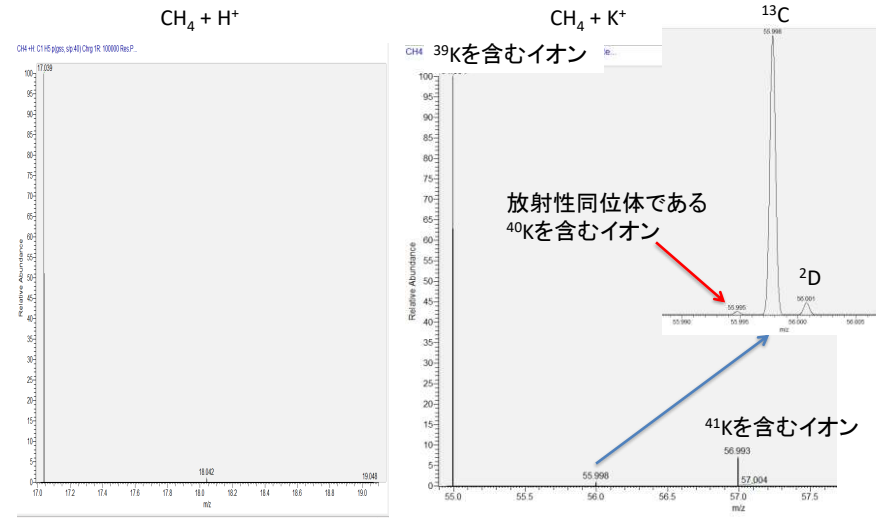
KCl (分子量74.5)



体重60kgの人体内の量に相当するカリウム

17

メタンのプロトン付加イオンとカリウム付加イオン(シミュレーション)

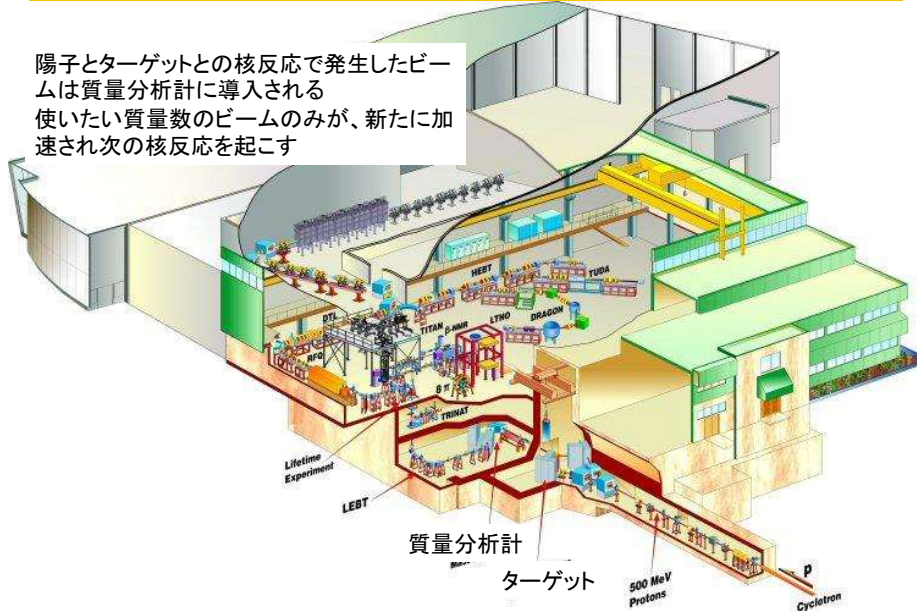


同位体存在比が多い元素を含む物質のマススペクトルは特徴的なパターンを示す

18

## The TRIUMF Isotope Separation and Acceleration

陽子とターゲットとの核反応で発生したビームは質量分析計に導入される  
使いたい質量数のビームのみが、新たに加速され次の核反応を起こす



## 生命科学分野での質量分析 ~ESI LC-MSとMALDI TOF-MS~

Electrospray ionization liquid chromatography mass spectrometry  
Matrix assisted laser desorption ionization mass spectrometry

20

## 質量分析とは?

Mass Spectrometry (MS) : 質量分析法

原子や分子から生じた「イオン」を「真空中」で飛行あるいは運動させることにより、電場や磁場を用いて  $m/z$  値に応じて分離し、検出する分析法である。

この分析を行う装置の総称を質量分析計 (Mass Spectrometer) という。



$$m/z = \text{質量/電荷数}$$

2010.11.11 質量分析講習会  
高橋利枝先生資料より

21 21

質量分析で分子の何がわかるか?

- ・質量の測定 → 分子量の決定
- ・既知物質との比較 → 化合物の定性分析
- ・標品濃度との比較 → 化合物の定量分析
- ・精密質量の測定 → 化学組成式の推定
- ・未知化合物の構造解析

2010.11.11 質量分析講習会  
高橋利枝先生資料より

28 22

## 質量分析装置の構成

— 質量分析装置は一種類じゃない!! —



あなたはどの組み合わせを選ぶ?  
「質量分析装置」の選択が重要!

日本質量分析学会 第29回質量分析講習会テキストより

23

## 質量分析の特異性

- ・ 分析計が試料の多様性に直接対応しなくてはならない
- ↓
- ・ 動作原理そのものが異なる多様な質量分析計が並立している
- ・ 万能の質量分析計は存在しない
- ・ 分析の目的に応じて、適切な方式の質量分析計を使い分ける必要がある (適材適所)

日本質量分析学会 第29回質量分析講習会テキストより

# ソフトイオン化法を用いた新しい質量分析計が生命科学に革命をもたらした

• Barbar (1981) :  
fast atom bombardment  
ionization: FAB(高速粒子衝撃イオン化法)

2 Nobel laureates in  
Chemistry, 2002



Shimadzu Corp.  
Kyoto, Japan

• Koichi Tanaka et al. (1987),  
Hillenkamp & Karas (1988):  
matrix-assisted laser  
desorption / ionization: MALDI  
(マトリックス支援レーザーイオン化法)



Virginia Commonwealth University  
Richmond, VA, USA

• John B. Fenn et al. (1989) :  
electrospray ionization: ESI  
(エレクトロスプレーイオン化法)

## マトリックス支援レーザーイオン化法(MALDI)の原理

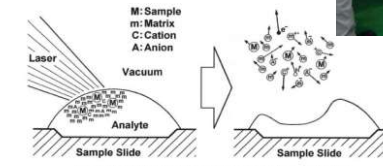
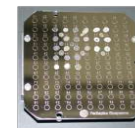
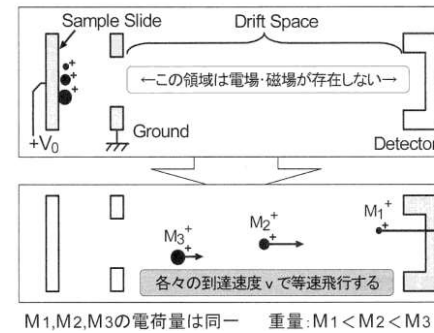
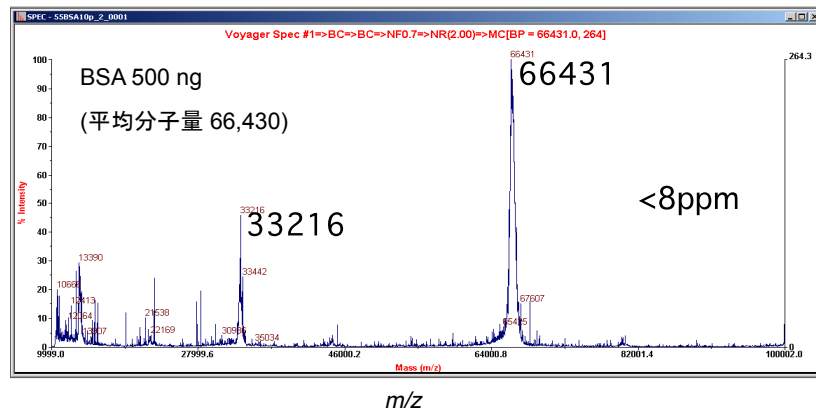


図9. 有機化合物系マトリックスを用いたMALDI法における原理過程

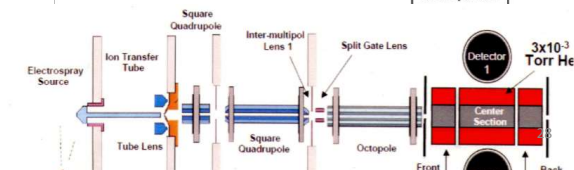
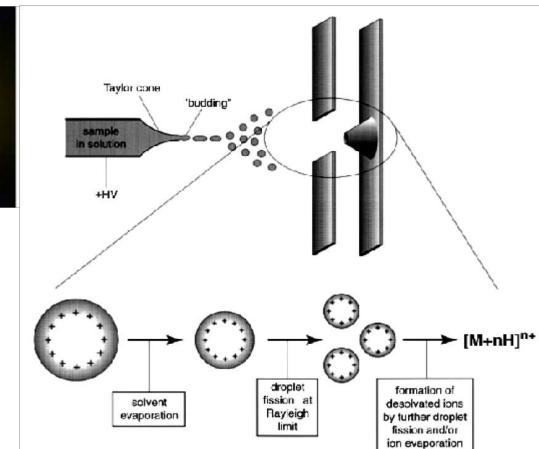
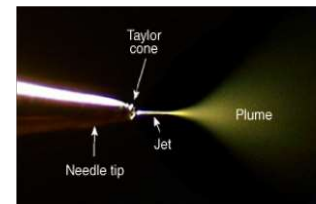


## ウシアルブミンのMSスペクトル(MALDI TOF)



質量分析計はイオンを計る  
MW=1,000  
[M+H]<sup>1+</sup> = (1,000+1)/1=1,001  
[M+2H]<sup>2+</sup> = (1,000+2)/2=501

## エレクトロスプレーイオン化法(ESI)の原理

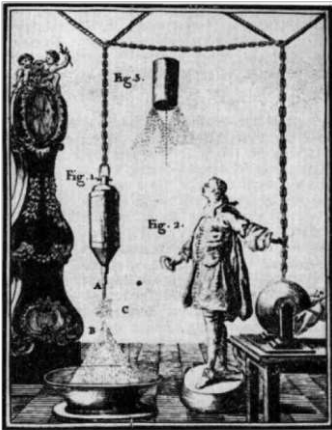




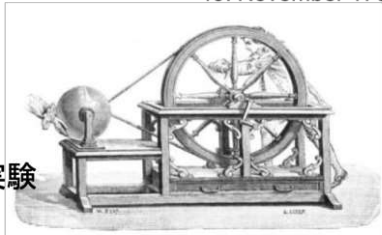
# Jean-Antoine Nollet



聖職者・実験物理学者  
 パリ科学アカデミーの主要メンバー  
 パリ大学初の実験物理学教授  
 1748年 天然膜の浸透現象を発見  
 19. November 1700 - 25. April 1770



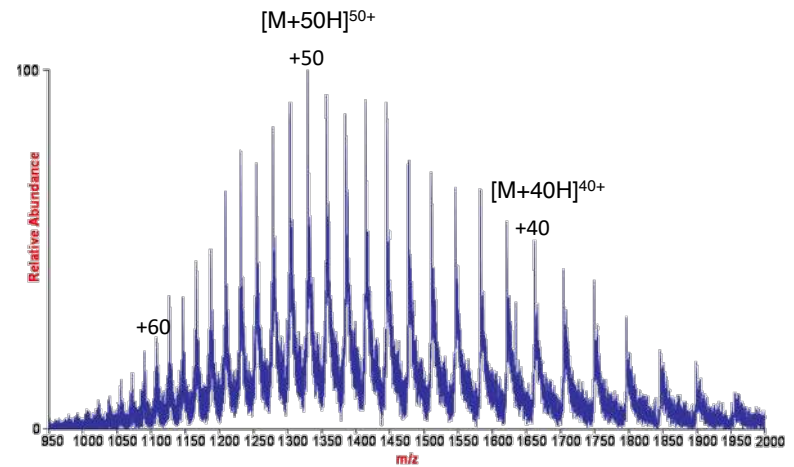
エレクトロスプレーの実験  
 1750年初め頃



理化学研究所セミナー 東京医科歯科大学笠間健嗣先生より

2015/6/30

# ウシアルブミンのMSスペクトル(ESI MS)



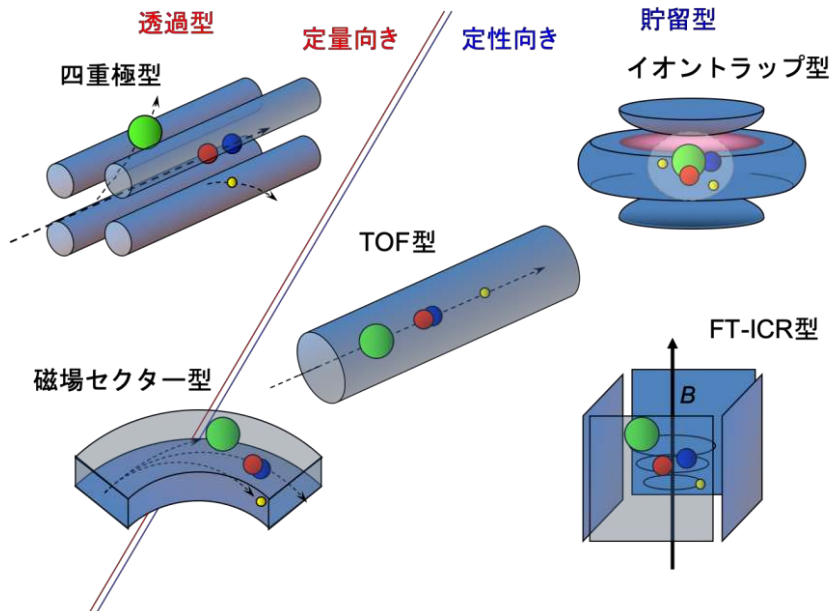
Sample: 1pmol/μL BSA (50% methanol, 0.1M acetic acid)  
 Instrument: Thermo Finnigan hybrid LTQ-FT-MS



2010/04/23(東京)

第27回 質量分析講習会「質量分析の基礎とLC/MS」

19



資料提供: (株)資生堂 本山様

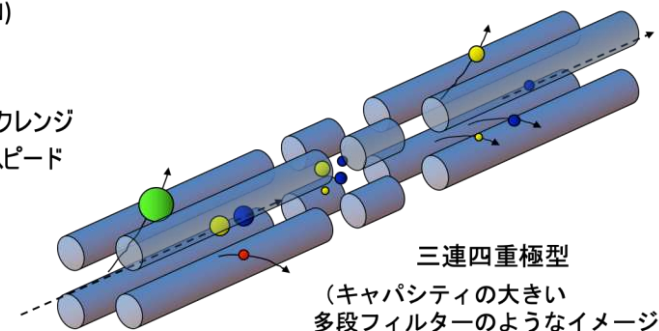
2010/11/12(東京)

第29回 質量分析講習会「質量分析の基礎とLC/MS」

## 四重極型はなぜ定量に強いのか？

• 定量に必要な特性(下記)を兼ね備え、各種クロマトグラフィーとの相性も良いため

- 感度(S/N)
- 再現性
- 特異性
- ダイナミックレンジ
- スキャンスピード

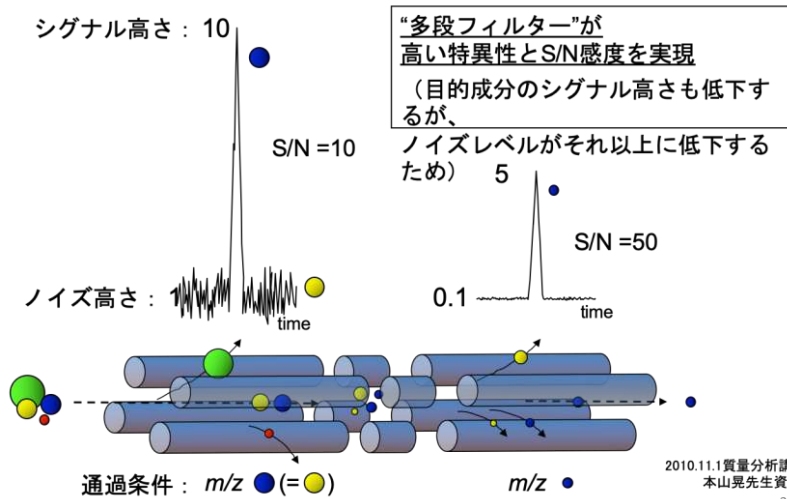


2010.11.1 質量分析講習会  
 本山先生資料より



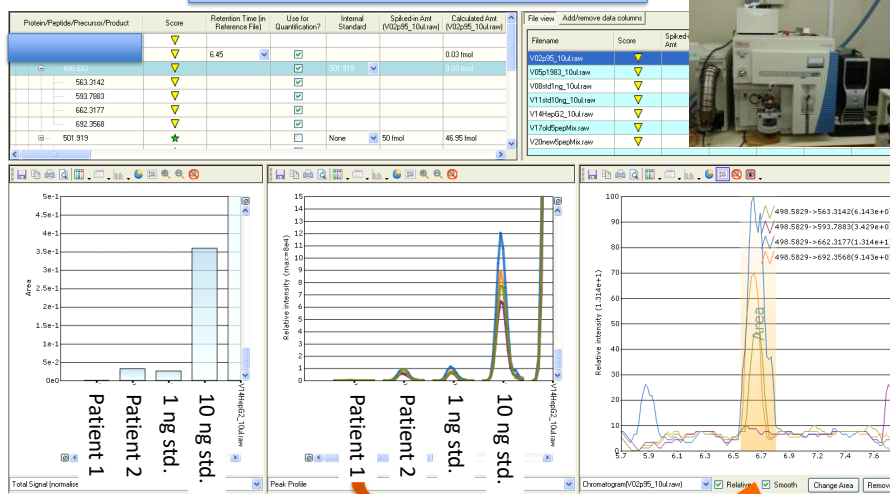
## 特異性と感度(S/N)について

(S/N: signal-to-noise ratio)



## LC-MS(Triple-Q MS)の使用例

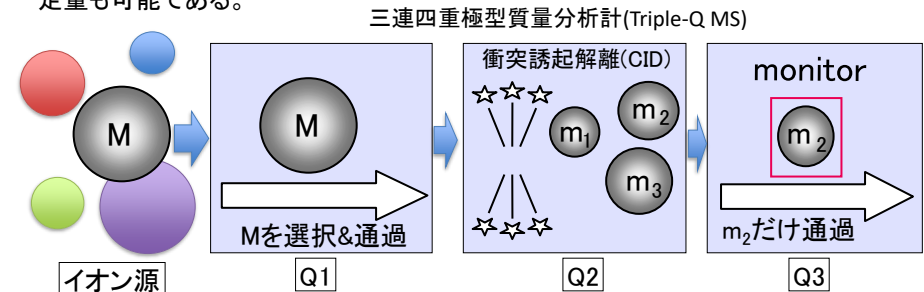
IP-SRMによる血清バイオマーカーの絶対定量



## ライフサイエンスでの応用例

SRMを用いたバイオマーカー等の高感度定量

これまでプロテオミクスではラベル法、ノンラベル法によらず比較定量法が主流であったが、近年タンパク質の定量にもnanoLCと組み合わせたSRM(Selected reaction Monitoring、選択反応モニタリング)が用いられてきている。SRMを行えば複雑なタンパク質・ペプチド混合物の中から300種類以上のタンパク質を1測定で定量可能。安定同位体標識の内部標準ペプチドを用いれば絶対定量も可能である。

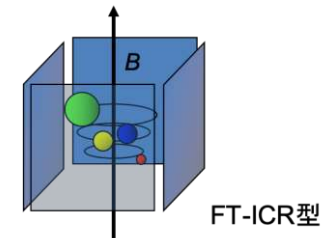


※多チャンネル検出の場合SRMはMRM(multiple reaction monitoring、多チャンネルの選択反応モニタリング)とも呼ばれる。

## FT-ICR型はなぜ定性に強いのか？

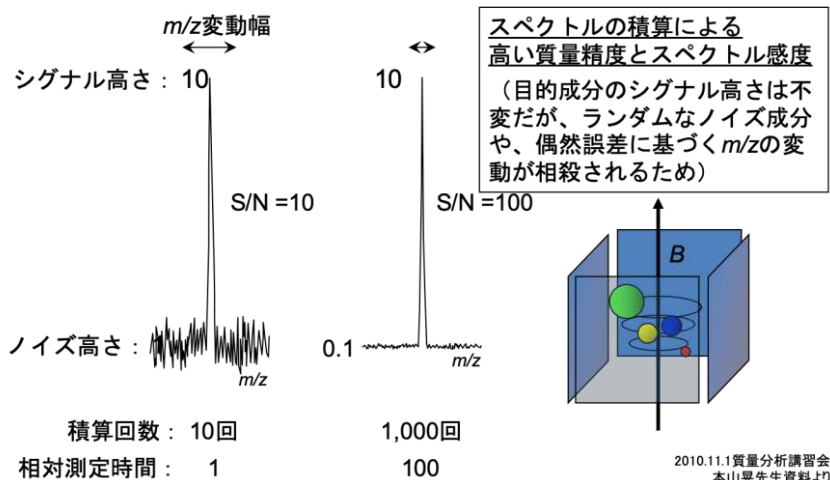
・ イオンを貯留し、サイクロトロン周波数を計測することにより、定性に必要な下記の特徴を高レベルで兼ね備えるため

- 感度(スペクトル)
- 分解能
- 質量精度
- 断片化

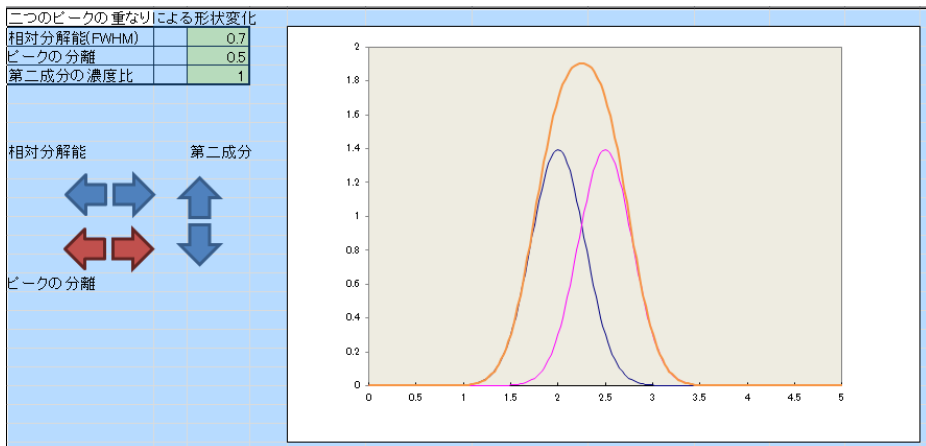


(イオンを閉じ込める箱のようなイメージ)

# 質量精度と感度(スペクトル)について

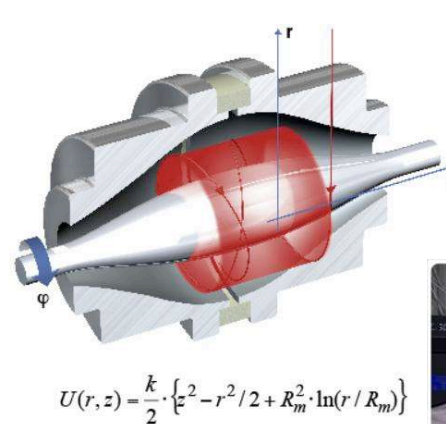


質量分解能が高いほど複雑な成分を分離出来る  
 質量精度が高いほど正確な同定出来る



## 電場型フーリエ変換質量分析計(オービトラップ)

Orbitrap Analyzer – Electrostatic Field



Copyright: Thermo Fisher Scientific

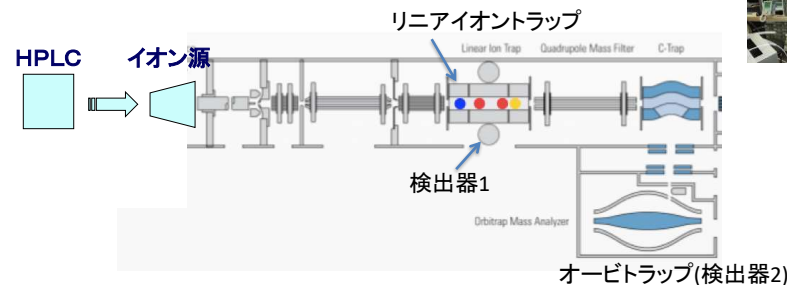
m/z  
 ごとに  
 イオンを分ける  
 (質量精度: 1ppm)  
 質量分解能50万



## ライフサイエンスでの応用例

なるべく多くのタンパク質を同定したい  
 ...バイオマーカー探索など

オービトラップ型質量分析計: イオンをトラップに溜めて測定する。  
 (スキャンは遅くなるが一度に多数のイオンを検出できる。)







## タンパク質の解析に用いる質量分析計 (Mass Spectrometer: MS)

(ハイブリッド質量分析計)



(MALDI-TOF MS)



(三連四重極MS)



(ハイブリッド質量分析計)



## 研究室の紹介

川村研究室



アイソトープ総合センター  
プロテオミクス研究室  
(浅野キャンパス)

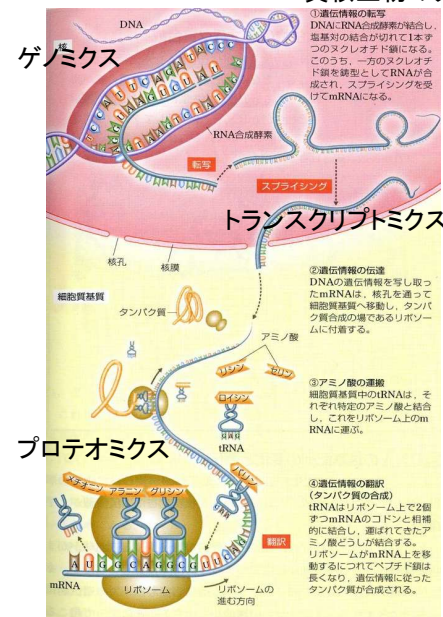


先端科学技術研究センター  
駒場オープンラボ  
(駒場リサーチキャンパス)



## オミックス解析

-真核生物のタンパク質合成-



遺伝子、mRNA、タンパク質の網羅的解析はそれぞれゲノミクス、トランスクリプトミクス、プロテオミクスと呼ばれるが、生命現象は古典的なDNA→mRNA→タンパク質への情報の単純な流れだけでは説明出来ない。

遺伝子の発現自体が、細胞外からのシグナル伝達による核内受容体の活性化、DNAが巻き付いているヒストンの修飾状態の変化、タンパク質に翻訳されないRNAなど様々な要因で制御されている。

それらを統合して解析する手法をオミックス解析という

オミックス解析と質量分析  
プロテオーム、メタボローム、グライコーム、  
リピドーム、メタローム、  
(タンパク質、代謝物、糖質、脂質、金属)



# ~ミクスとは

- ゲノム(Genome) : gene + ome = 遺伝子全体
- ↓
- プロテオーム(Proteome) : タンパク質全体

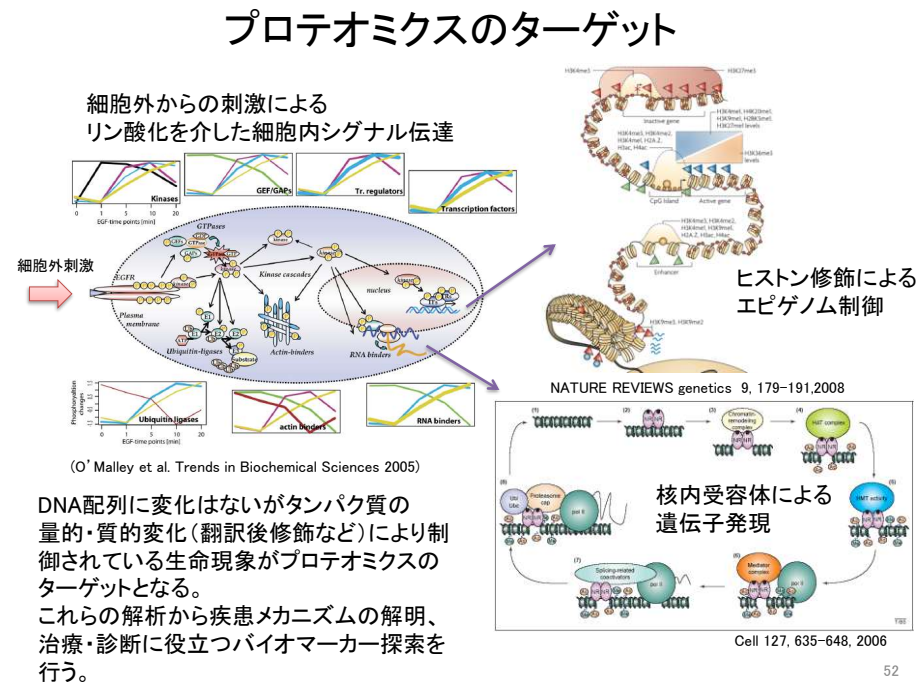
## プロテオミクス

ゲノム情報から翻訳されたタンパク質を網羅的に解析することによって、その構造・機能に迫り生命活動を解き明かすことを目的とする学問

## 各種オミックス解析用のツール等

49

## プロテオミクスと質量分析計



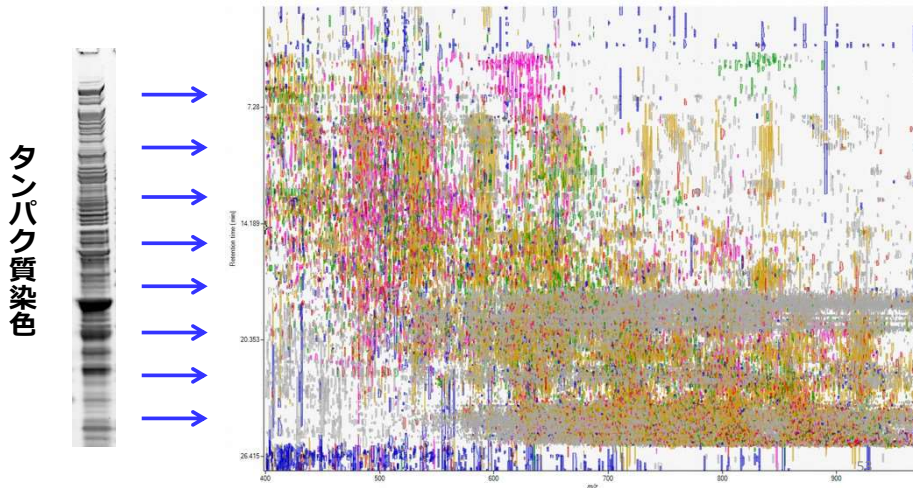
51

52

# プロテオミクス Proteomics

## プロテ「オミクス」 Prote"omics"

プロテオミクス... 網羅的同一・定量



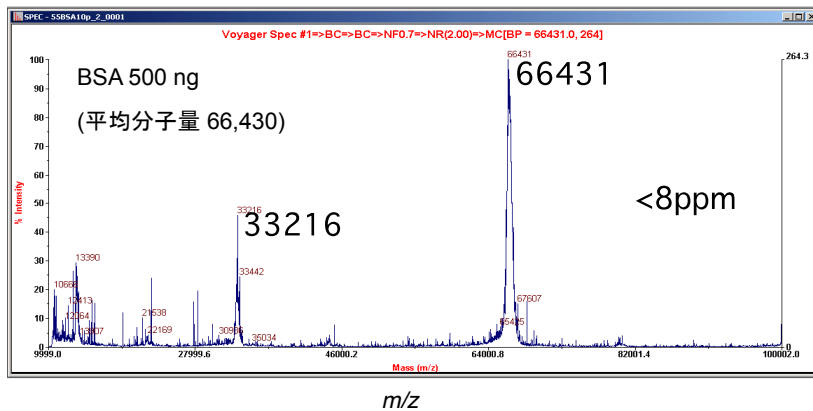
# タンパク質は固有の分子量を持つ

Calibrants	平均分子量	[M+H] <sup>+</sup>	[M+2H] <sup>2+</sup>
Angiotensin II human	1046.192	1047.200	-
Substance P	1347.728	1348.736	-
ACTH(18-39)	2465.720	2466.728	-
Insulin Bovine	5733.549	5734.557	2867.728
Ubiquitin	8564.835	8565.843	4283.425
Cytochrome C horse	12360.080	12361.088	6181.048
Myoglobin horse	16951.457	16952.465	8476.736
Trypsin bovine	23311.53	23312.54	11656.77
BSA	66430	66431	33216
BSA-dimer	132858	132859	66430

ゲノムシーケンス情報の蓄積により主要な生物の遺伝子から翻訳されたタンパク質のアミノ酸配列はデータベース化されている。アミノ酸配列が分かれば分子量が計算可能

54

## アルブミンのMSスペクトル(MALDI)



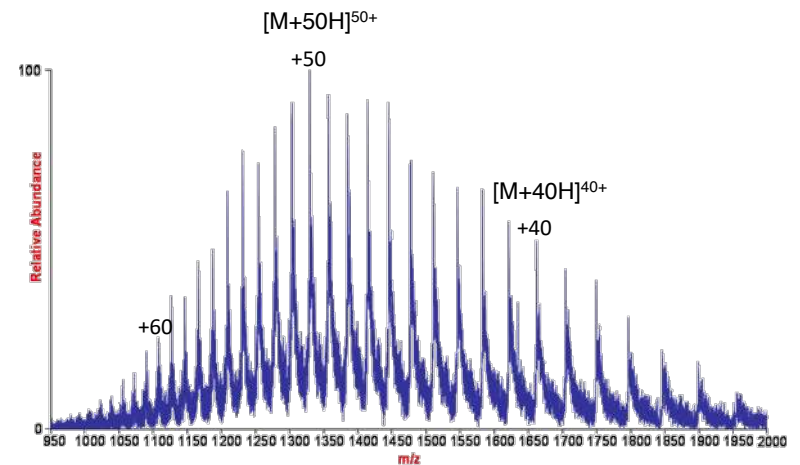
質量分析計はイオンを計る

MW=1,000

$[M+H]^+ = (1,000+1)/1=1,001$

$[M+2H]^{2+} = (1,000+2)/2=501$

## アルブミンのMSスペクトル(ESI)



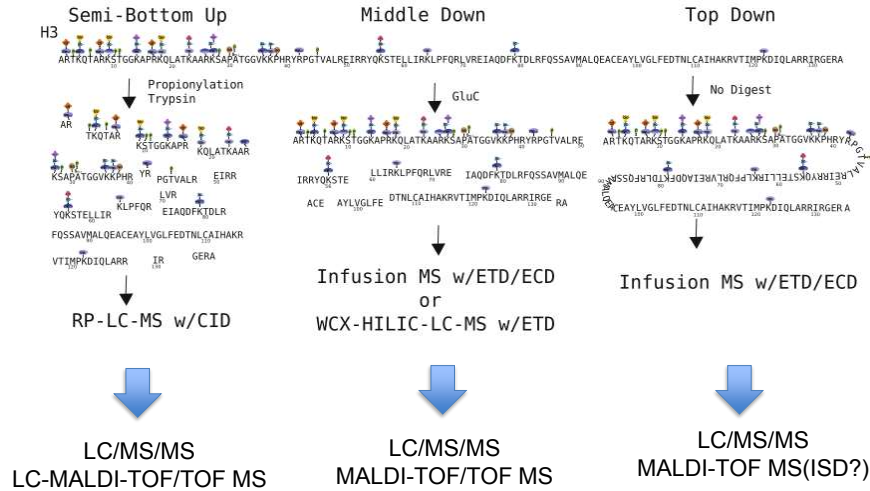
Sample: 1pmol/μL BSA (50% methanol, 0.1M acetic acid)

Instrument: Thermo Finnigan hybrid LTQ-FT-MS

# プロテオミクスによるアプローチ

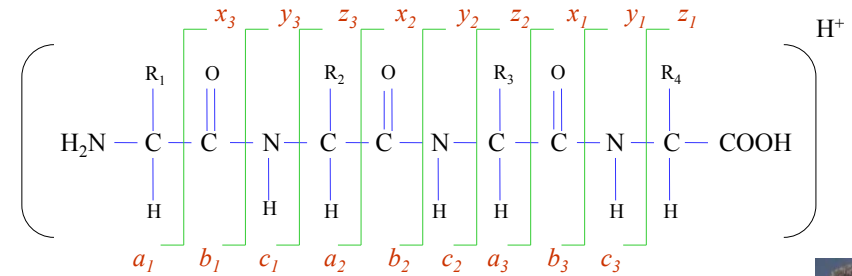
N. L. Young et al.  
Cell. Mol. Life Sci. (2010)

(ヒストン解析)



57

# ペプチドのフラグメンテーション



(Roepstorff&Fohlman 1984:  
Biemann 1988)



MS/MSにより特徴的なペプチド結合の開裂が起こる。主鎖のペプチド結合の開裂のN末端由来のイオンをa, b, cシリーズ、C末端由来のイオンをx, y, zシリーズと呼ぶ。これ以外のイオンも出ることがあり、どのシリーズが出るかは解離手法の違いによる。

58

# タンパク質の同定法(Peptide Mass Fingerprinting: PMF)

## Alpha-1-acid glycoprotein

1 MALLWALAVL SHLPLLDQAQ PECANLMTVA PITNATMDLL SGKWFYIGSA  
51 FRNPEYINKSA RAIQAFFYL EPRHAEDKLI TREYQTIEDK CVYNCSFIKI  
101 YRQNGTLSKV ESDREHFVDL LLSKHFRTFM LAASWNGTKN VGVSFYADKP  
151 EVTQEQKKEF LDVIKIGIQ ESEIIYTDEK KDACGPLEKQ HEEERKETE  
201 AS

トリプシンによる消化(K, Rで切断)によって得られる理論断片

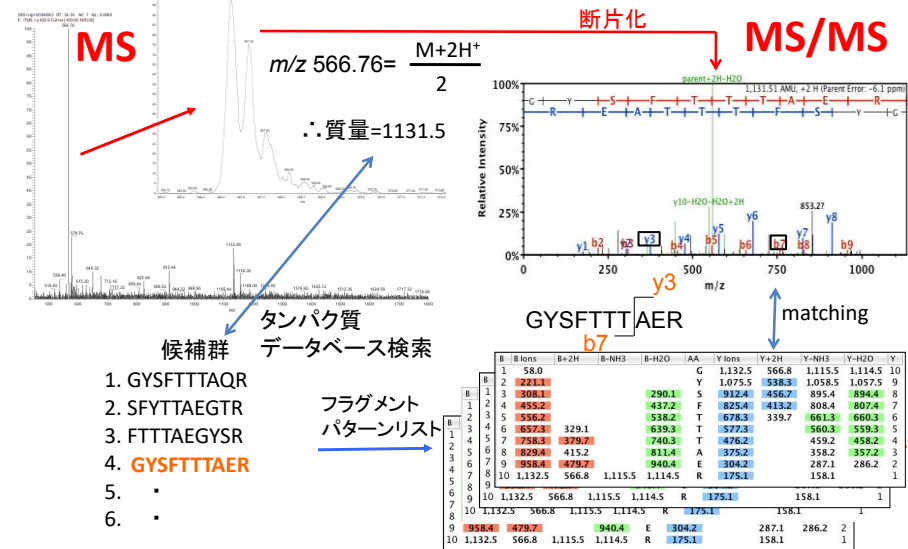
Start	End	Mass (calc)	Sequence
1	1	149.2	M
2	43	4462.2	ALLWALAVLSHLPLLDQAQPECANLMTVAPITNATMDLLSGK
44	52	※1146.2	WFYIGSAFR
53	58	763.7	NPEYNK
59	61	332.3	SAR
62	73	※1425.6	AIQAFFYLEPR
74	78	598.6	HAEDK
79	82	501.6	ITR
83	90	1025.0	EQYTIEDK
91	99	※1192.3	CVYNCSFIK
100	102	450.5	IYR
103	109	746.8	QNGTLSK
110	114	604.6	VESDR
115	124	※1200.3	EHFVDDLLSK
125	127	458.5	HFR
128	139	※1326.5	TFMLAASWNGTK
140	157	※2039.2	NVGVSFYADKPEVTQEOK
158	158	146.1	K
159	165	863.0	EFLDVIK
166	190	※1798.9	CIGIQESEIIYTDEK
181	181	146.1	K
182	189	889.9	DACGPLEK
190	195	826.8	HEEER
196	196	146.1	K
197	197	146.1	K
198	202	535.5	ETEAS

$m/z$  1147.2, 1426.6, 1193.3, 1201.3, 1327.5, 2040.2, 1799.9  
のイオンを検出  
↓  
ゲノム情報と比較  
↓  
Alpha-1-acid glycoproteinとの理論フラグメントと一致

PMF法ではタンパク質を酵素で消化した際に得られる計算質量と質量分析計から得られた実測値を比較して最も一致するタンパク質を同定タンパク質とする。  
(※LC/MS/MS ではさらにフラグメントイオン情報も利用)

59

# MS(/MS)でのタンパク質の同定



MSでペプチドの質量を決めて、MS/MSで配列を決定する。MS/MSで修飾部位も決定出来る

60



## LC/MS/MSのためのタンパク質消化法

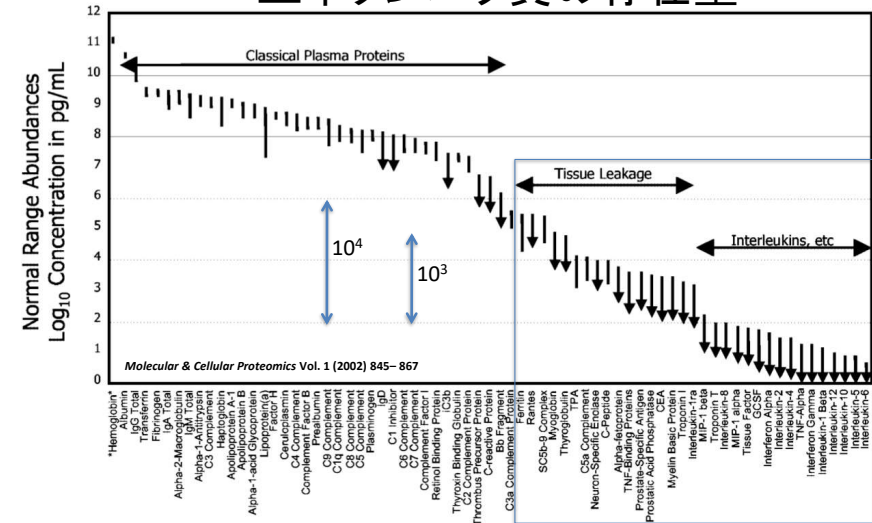
Enzymes					
Title	Sense	Cleave at	Restrict	Independent	Semispecific
Trypsin	C-Term	KR	P	no	no
Arg-C	C-Term	R	P	no	no
Asp-N	N-Term	BD		no	no
Asp-N_ambic	N-Term	DE		no	no
Chymotrypsin	C-Term	FLWY	P	no	no
CNBr	C-Term	M		no	no
CNBr+Trypsin	C-Term	M		no	no
Formic_acid	C-Term	D		no	no
Lys-C	C-Term	K	P	no	no
Lys-C/P	C-Term	K		no	no
PepsinA	C-Term	FL		no	no
Tryp-CNBr	C-Term	KMR	P	no	no
TrypChymo	C-Term	FKLRWY	P	no	no
Trypsin/P	C-Term	KR		no	no
V8-DE	C-Term	BDEZ	P	no	no
V8-E	C-Term	EZ	P	no	no
semiTrypsin	C-Term	KR	P	no	yes
LysC+AspN	N-Term	BD		no	
LysC+AspN	C-Term	K	P	no	no



消化で得られるペプチドのサイズ(質量)とC末に塩基性のLys, Argをもちポジティブイオンモードでの測定に適していることからトリプシンがよく用いられるが、必要に応じて複数の切断法の組み合わせも使用する。特定のタンパク質の翻訳後修飾解析などを行う場合はあらかじめ標的的部位を含む適当な長さのペプチドが得られる切断法を選ぶ必要がある。

61

## 血中タンパク質の存在量

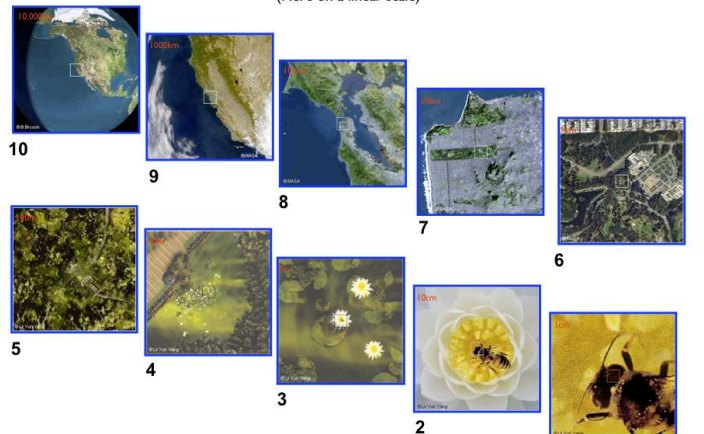


バイオマーカーとなり得る組織由来成分やインターロイキンなどを血中から検出出来れば患者への負担が少なく効率もよい。しかし質量分析計の10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup>程度のダイナミックレンジでは血中タンパク質全てを一度にはカバーできない。どこまで疾患バイオマーカーとなるタンパク質に近づけるか？

62

## 10<sup>10</sup> Really Is Wide Dynamic Range

(Here on a linear scale)

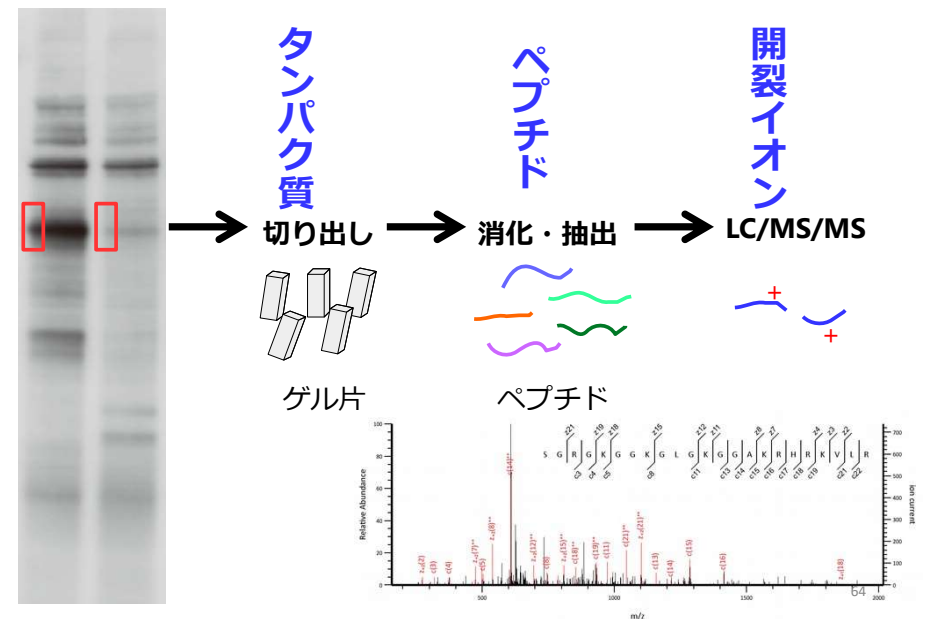


Slide courtesy Bruno Domon, ETH Zurich

PPI  
Leigh Anderson, Ph.D.  
Plasma Proteome Institute

63

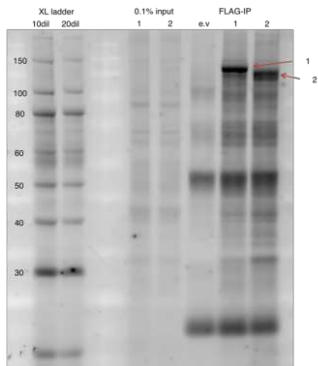
## 質量分析でターゲットを同定する





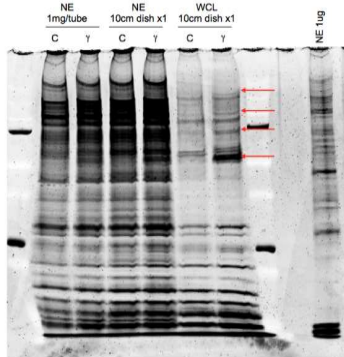
# 免疫沈降法

強制発現-tag精製



強制発現系ではIgGがリークしても検出は可能

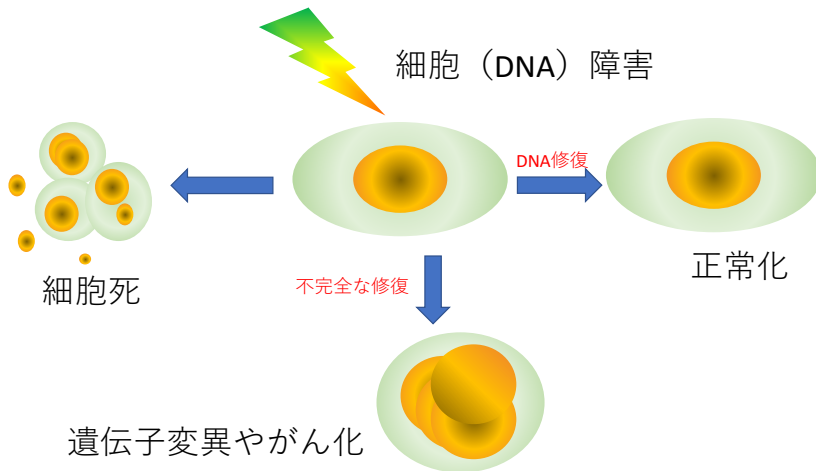
内在製タンパク-特異的抗体精製



内在性核内受容体をIP出来る、いい抗体でも試料調製条件で非特異結合は大きく変わる。

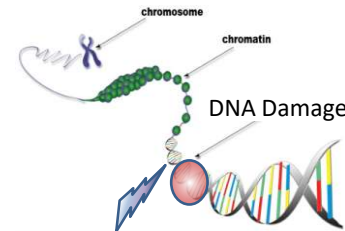
# プロテオミクスによる放射線影響解析

## 放射線を被ばくした細胞に起こる現象

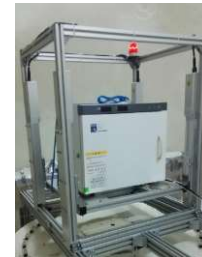
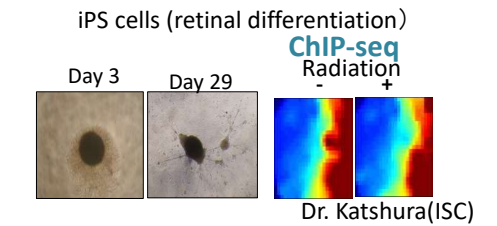


DNA損傷とDNA修復とのバランスで細胞の運命が決まる

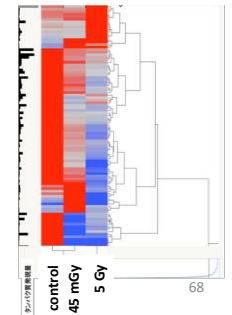
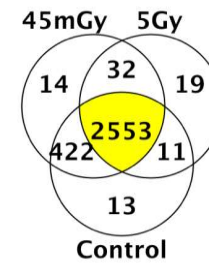
## iPS細胞分化と放射線の影響



Effect of irradiation on gene expression:



Radiation exposure system



# 質量分析と医薬品開発

ISSN 0951-4198 Vol.32 (8) April 3 (2018)

**Rapid Communications in Mass Spectrometry**

DOI: 10.1002/rcmi.4003

RESEARCH ARTICLE

**Obi, N (NISSHA)**

Fukuda, T. (Biosys)

**Development of drug discovery screening system by molecular interaction kinetics-mass spectrometry**

Naoko Obi<sup>1</sup> | Tetsuya Fukuda<sup>2,3</sup> | Noboru Nakayama<sup>2,3</sup> | John Ervin<sup>4</sup> | Yasuhiko Bando<sup>2</sup> | Toshihide Nishimura<sup>2,3</sup> | Satoru Nagatohi<sup>5</sup> | Kouhei Tsumoto<sup>6</sup> | Takeshi Kawamura<sup>7,8</sup>

**Rationale:** Drug discovery studies invariably require qualitative and quantitative analyses of target compounds at every stage of drug discovery. We have developed a system combining molecular interaction analysis and mass spectrometry (LC-MS) using the principle of nanoscale optical interferometry (nPOI) called molecular interaction kinetics-mass spectrometry (MIK-MS). Since nPOI has high binding capacity, the bound-dissociated compound can be directly detected using LC-MS. In this study, we use carbonic anhydrase II (CAII) as a ligand and apply six small compounds as analytes and report the affinity analysis using MIK-MS.

**Methods:** CAII was immobilized onto a COOH sensor chip using standard amine coupling. A reference surface was prepared by activating and subsequently blocking the surface under identical conditions. An amount of 50 µL of milk solution was injected over the reference channel and amide channel for CAII immobilization. The solutions eluting from the sensor chip were collected from the waste-line of the SFC Pro system every 30 s. Reconstructed elution samples were then injected into the LC-MS/MS system.

**Results:** A mixture containing furosemide, acetazolamide, 4-sulfamoylbenzoic acid, 3-dimethylamino-1-naphthalene sulfonamide (DNSA), sulfamylamide and sulfide (15 µM each) was injected into the CAII-immobilized sensor chip, and the fractions eluted from the SFC Pro system were collected and subjected to selected reaction monitoring LC-MS characterization. Specific results were obtained for acetazolamide, DNSA, furosemide and sulfide. The results suggest that the association-dissociation curve of a mixed sample can be obtained by one-time MS/MS analysis.

**Conclusions:** Six small-molecule binders of CAII were analyzed quantitatively using nPOI and MIK-MS, and the results were compared to published surface plasmon resonance (SPR) results. The nPOI and SPR results show good agreement, confirming the reliability of the analysis. Time-dispersed binding results may be obtained by using MS serogram apparatus that meet medical needs in a short period are required; this nPOI-LC-MS system is considered an important tool for rapid drug discovery.

WILEY

69

NISSHA, Biosys

東京大学 THE UNIVERSITY OF TOKYO

地方独立行政法人神奈川県立病院機構 神奈川県立がんセンター

BrightPath Biotherapeutics

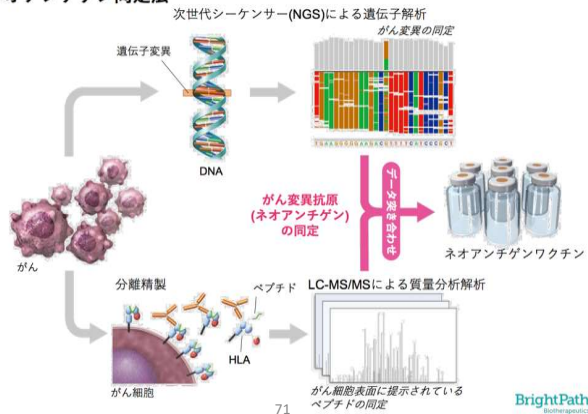
平成 30 年 1 月 25 日

各位

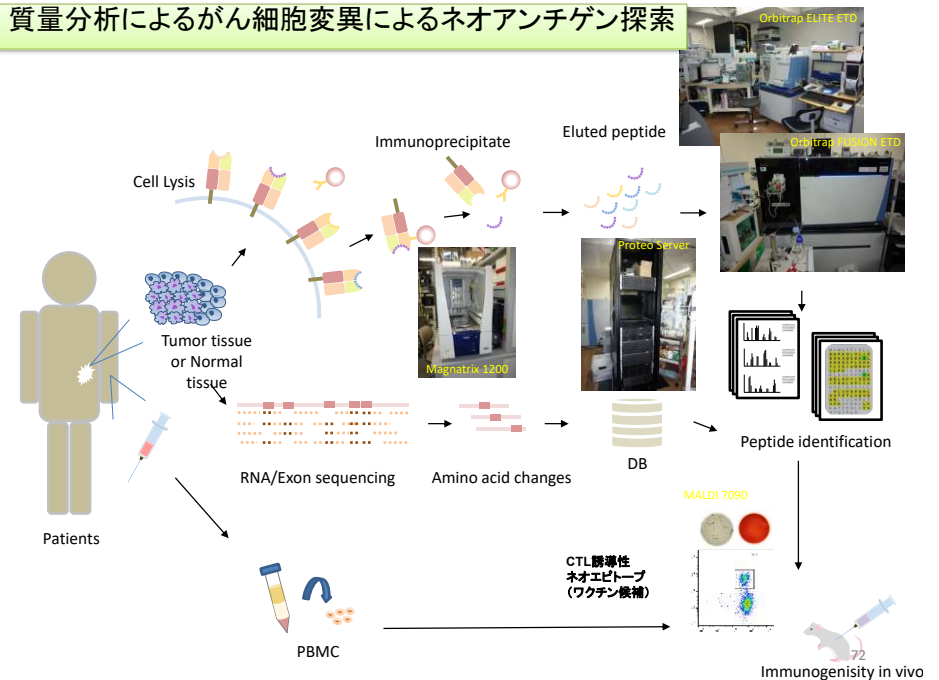
国立大学法人東京大学  
地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立がんセンター  
ブライトパス・バイオ株式会社

東京大学と神奈川県立がんセンターとブライトパス、  
完全個別化がんワクチン療法に用いる  
ネオアンチゲン同定法に関する共同研究を開始

## ネオアンチゲン同定法

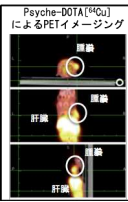
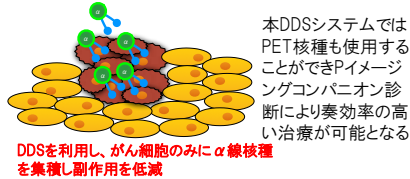
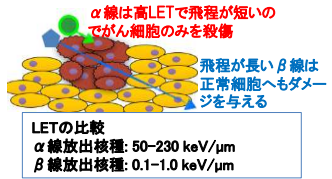


## 質量分析によるがん細胞変異によるネオアンチゲン探索



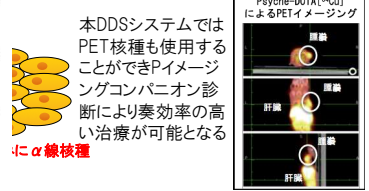
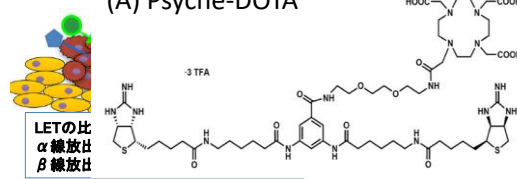
**放射線の医療への応用:細胞殺傷力が高いα線での副作用の少ないがん治療法開発**

東京大学が開発中のがん細胞を認識する分子を利用し薬剤をがん細胞のみに送達する技術(ドラッグデリバリーシステム;DDS)を利用し、がん細胞のみにα線の影響を与えるがん治療法の臨床応用へ向けた研究開発を福島県立医科大学と共同で実施中



**放射線の医療への応用:細胞殺傷力が高いα線での副作用の少ないがん治療法開発**

東京大学が開発中のがん細胞を認識する分子を利用し薬剤をがん細胞のみに送達する技術(ドラッグデリバリーシステム;DDS)を利用し、がん細胞のみにα線の影響を与えるがん治療法の臨床応用へ向けた



**アスタチン 211(211At)による治療法開発**

福島県立医科大学と東京大学の共同プロジェクト(AMED 革新的がん医療実用化研究事業)

ドラッグデリバリーシステムを使用してα線放出各種<sup>211</sup>At(半減期7.2時間)をがん細胞へ集めがん細胞のみを殺傷する副作用の少ない治療法開発を進めている。

国内で医療専用で且つ、<sup>211</sup>Atを定常的に製造できる施設は福島県立医科大学のみであり、同大学では臨床応用を見据えた研究開発が可能である。

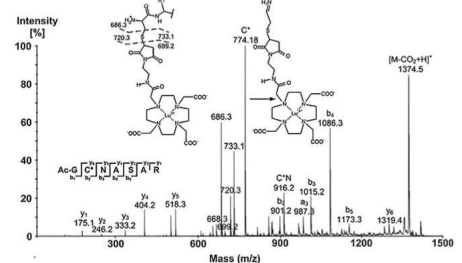
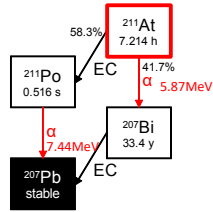


Figure 5. CID-MS/MS spectrum of metal-maleimido-DOTA-labelled peptide S31 with the sequence-specific fragment assignments. Signal at  $m/z = 1374.48$ ; loss of  $\text{CO}_2$ . The signal at  $m/z 774.18$  represents the immonium ion (structure at the upper right) of the labelled cysteine. Signals at  $m/z 733.15$ ,  $32$ ,  $720.31$ , and  $699.16$  are formed by fragmentation at the sulphur, illustrated in the structure at the top right.

AMED 革新的がん医療実用化研究事業)  
がん細胞へ集めがん細胞のみ  
大学のみであり、同大学では臨



**解説書**



秀潤社 羊土社

**実験書**



秀潤社 羊土社