

「第五回 生物系研究者のための質量分析に関する教育セミナー」報告

日時：2010年5月13日(木) 15:00~16:40

場所：生物科学研究棟 3階大セミナー室(S311)

講師：日本ウォーターズ(株) 佐藤 大 氏

- 内容： 1) プロテオーム解析の流れ  
2) 質量分析計のタイプ  
3) 新しいプロテオーム解析の手法とその応用例

セミナー参加者：25名

基幹研究所：3 研究室、4 チーム、1 ユニット

脳科学総合研究センター：1 チーム、1 ユニット

今回は多くの方が全て参加されている方ばかりで、内容を良く理解されたと思います。  
内容はたんぱく質同定における新しい技術として、ラベル・フリー相対定量測定や高いガス圧中で測定するIMS (Ion Mobility Spectrometry) の紹介などがあり、有意義なセミナーでした。

以上

# ケミカルバイオロジー 研究基盤施設教育セミナー

## 第五回 生物系研究者のための 質量分析に関する教育セミナー

質量分析について、初歩から学ぶ教育セミナーを開催いたします。

日時 2010年5月13日(木) 15:00~16:30  
場所 生物科学研究棟 3階大セミナー室(S311)  
講師 日本ウォーターズ(株)  
佐藤 太 氏  
内容 1)プロテオーム解析の流れ  
2)質量分析計のタイプ  
3)新しいプロテオーム解析の手法とその応用例  
主催 ケミカルバイオロジー研究基盤施設  
バイオ解析チーム  
連絡先 バイオ解析チーム  
渡辺 ([kowashi@riken.jp](mailto:kowashi@riken.jp))

\* 参加に当たり事前予約が必要となりますので、  
連絡先(渡辺)までご連絡ください。

今後の教育セミナーの予定

- 第六回 2010年6月10日(木) マトリックスサイエンス(株)  
第七回 2010年7月 未定 アジレント・テクノロジー(株)  
第八回 2010年8月 未定 マトリックスサイエンス(株)



バイオ解析チームHPへの  
リンクはココをクリック

著作権はRIKENにあります。  
無断複製・転載を禁止します。

他の教育セミナーへの  
リンクはココをクリック

# 第5回生物系研究者のための 質量分析に関する教育セミナー

日本ウォーターズ

- プロテオーム解析の流れ
  - 試料の収集、前処理、測定、データベース検索
  - 各工程において様々な難しさがあり、適切な手法で行うことが重要
- 質量分析計のタイプ
  - 分離の原理やイオン化の方法が異なる様々なタイプがある
  - それぞれの特徴を理解し、目的に応じた選択が必要
  - プレカーサーとフラグメントイオンのどちらも精密質量で測定すると特異性が高まる
- 新しいプロテオーム解析の手法とその応用例
  - プロテオームの網羅的な同定と発現差異解析を正しく行うことは簡単ではない
  - LC/MS<sup>E</sup>法は測定の網羅性と再現性を高める測定手法であり、実試料でもその能力が示されている
  - イオンモビリティ分離(IMS)と質量分析(MS)を組み合わせることにより、高分子から低分子の相互作用に関連する情報が得られる

# Proteomics Workflow

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

適切な試料収集

試料数  
臨床背景

Cell Line

Clinical Sample

Sample Preparation

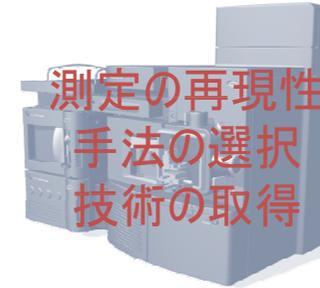


前処理の再現性  
手法の選択  
技術の取得



LC/MS Analysis

測定の再現性  
手法の選択  
技術の取得



Diagnostic Marker

tumor tissue control tissue

複数手法を用いた  
検証

36 4

データベースの適切な  
選択擬陽性の排除

Drug Discovery Target



Results Interpretation

Database Search

# 質量分離の原理

## ①電場や磁場の中で

$$\text{電場 } \vec{F} = q_0 \vec{E}$$

$$\text{磁場 } \vec{F} = q_0 \vec{V} \times \vec{B}$$

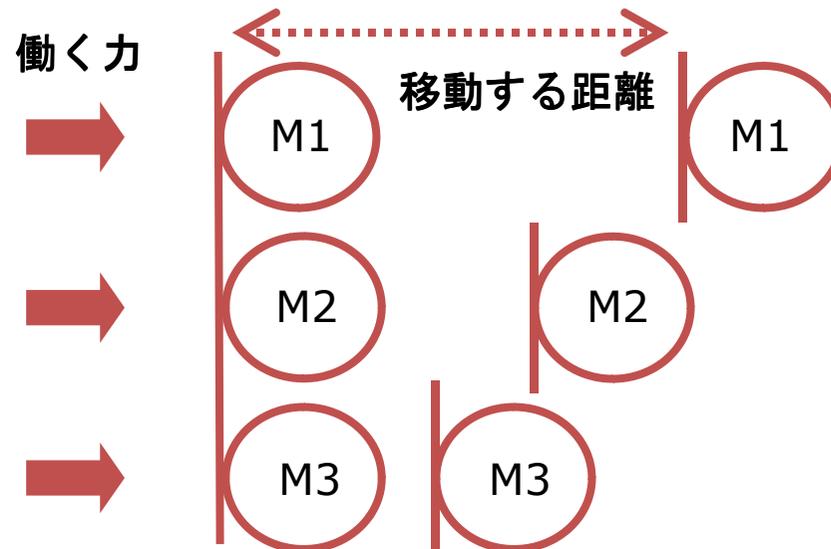
イオンに働く力は  
電荷に比例

=

電荷が同じなら  
働く力も同じ

## ②異なる $m/z$ を持つイオンが示す挙動の違いを

$m/z$ が $M_1 < M_2 < M_3$ の1価のイオン



## ③様々な方法で増幅して分離する

1、向きを変えたり(磁場型)

2、振動させたり(四重極、IT)



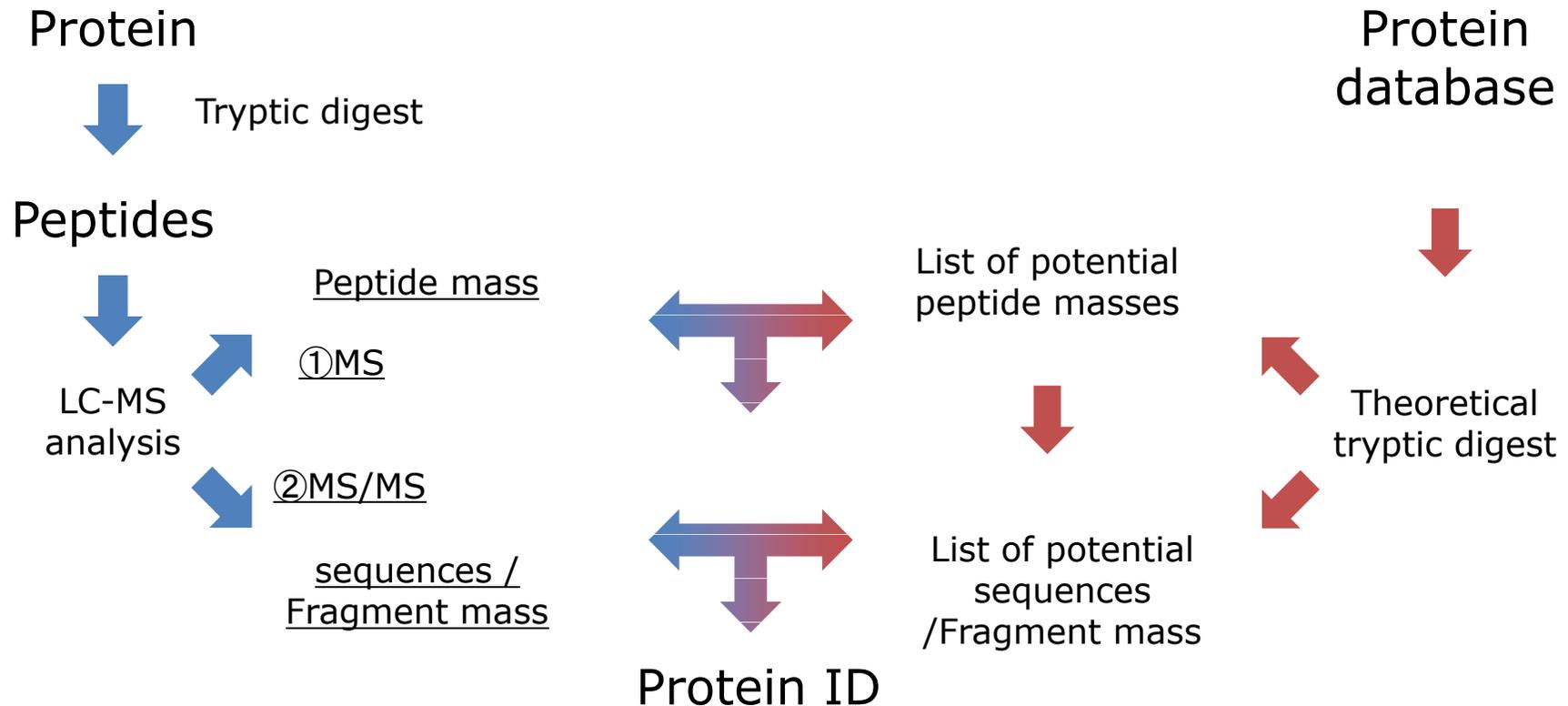
3、長い距離を飛ばしたり(TOF)



4、回転運動させたり(FT)



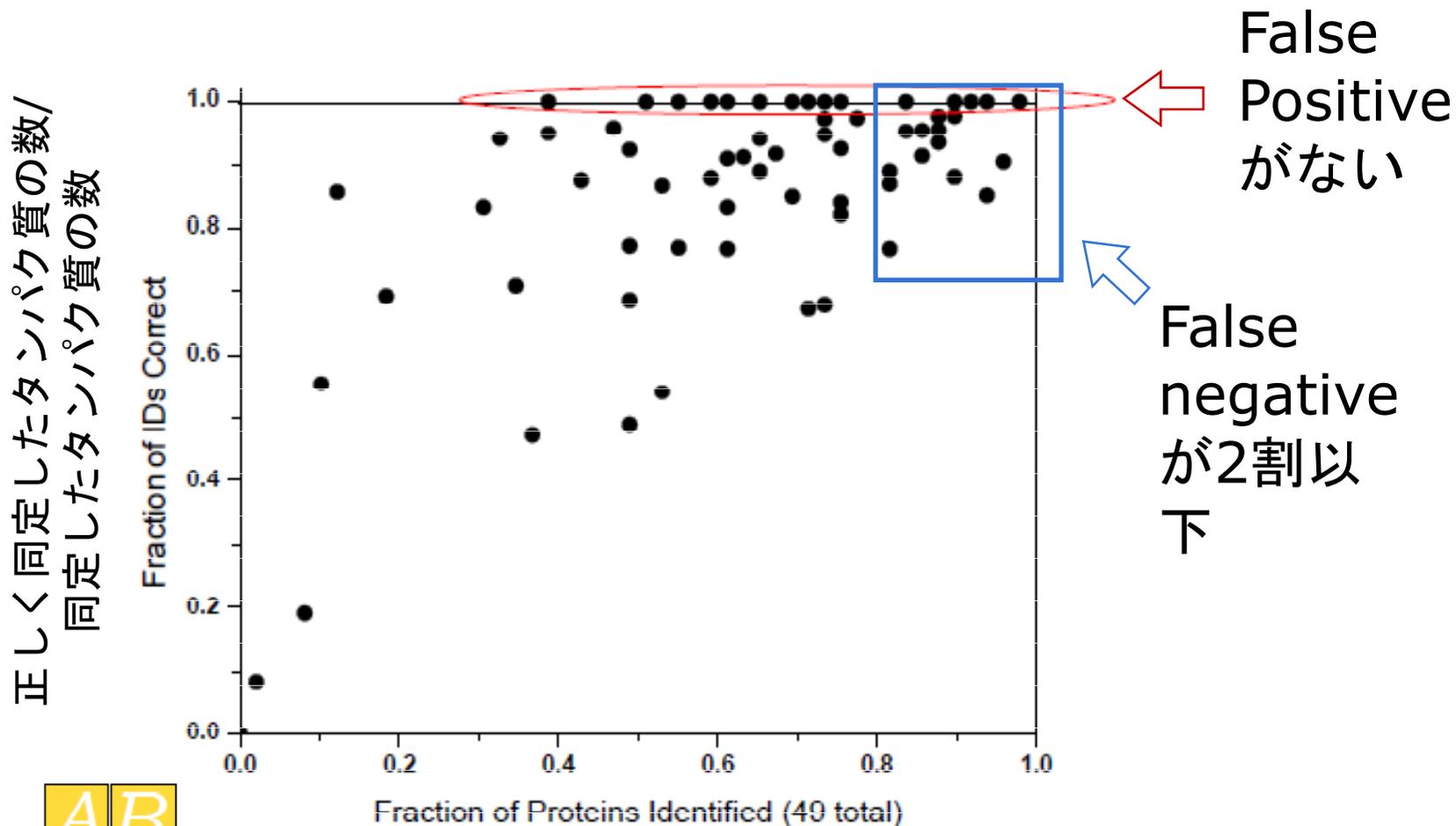
# プロテオミクスにおける質量分析計の役割



①MSスキャンでペプチドの $m/z$ を記録(質量精度、分解能、取り込み速度)

②MS/MSスキャンでフラグメントの $m/z$ を記録(質量精度、分解能、取り込み速度)

# プロテオミクスにおける課題 実例: ABRF-sPRG2006 Study



正しく同定したタンパク質の数/49

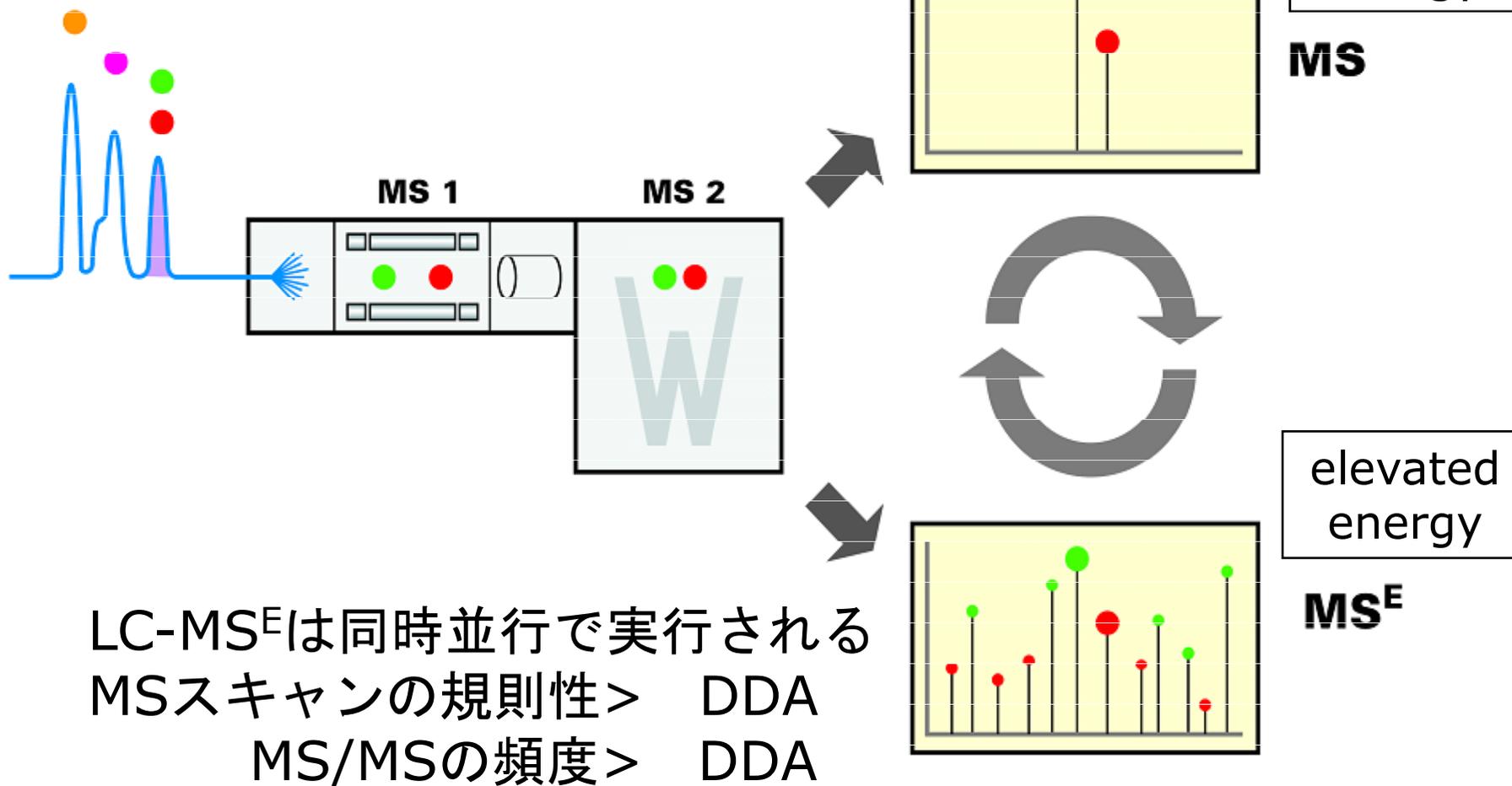
# Elevated Energy MS (LC-MS<sup>E</sup>)

取り込み/2つの条件を規則的に切り替えて測定

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

イオントラップと異なり、定量性が高い  
Q-TOFタイプの特徴を生かした定量法

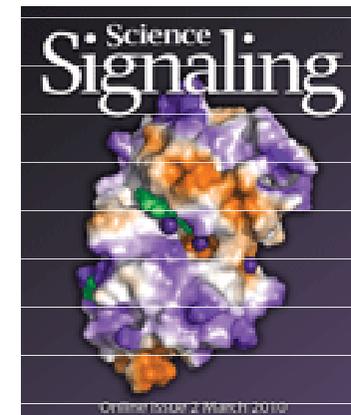


LC-MS<sup>E</sup>は同時並行で実行される  
MSスキンの規則性 > DDA  
MS/MSの頻度 > DDA

## **Polycomb Group Proteins as Epigenetic Mediators of Neuroprotection in Ischemic Tolerance**

**Martha Stapels<sup>1\*</sup>, Chelsea Piper<sup>2\*</sup>, Tao Yang<sup>2</sup>, Minghua Li<sup>2</sup>, Cheri Stowell<sup>2,3</sup>, Zhi-gang Xiong<sup>2</sup>, Julie Saugstad<sup>2</sup>, Roger P. Simon<sup>2</sup>, Scott Geromanos<sup>1</sup>, James Langridge<sup>4</sup>, Jing-quan Lan<sup>2</sup>, and An Zhou<sup>2</sup>**

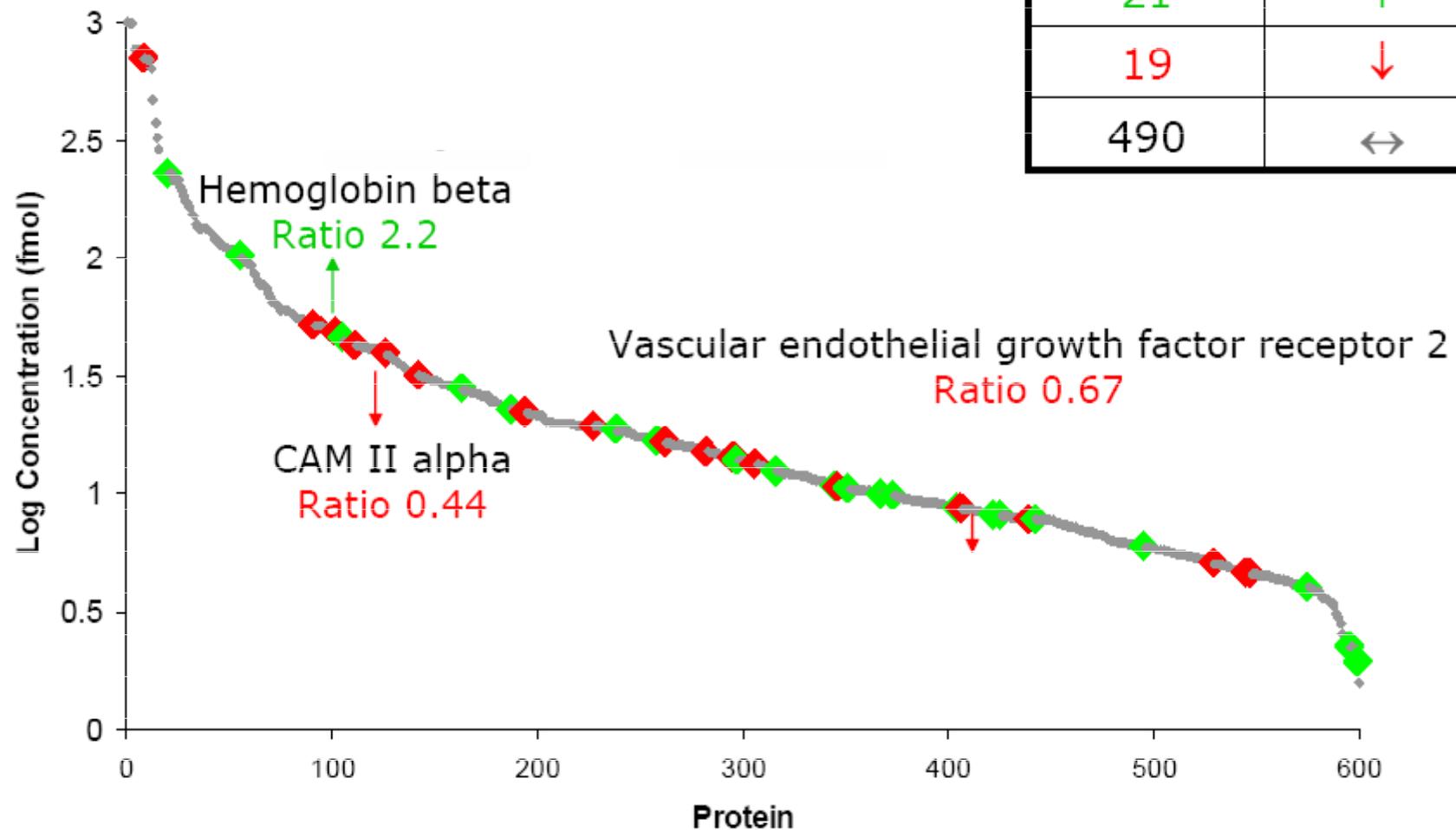
***Sci. Signal.*, 2 March 2010  
Vol. 3, Issue 111, p. ra15**



# Absolute & relative quantification

## Tolerant vs preconditioned

Proteins	Direction
21	↑
19	↓
490	↔

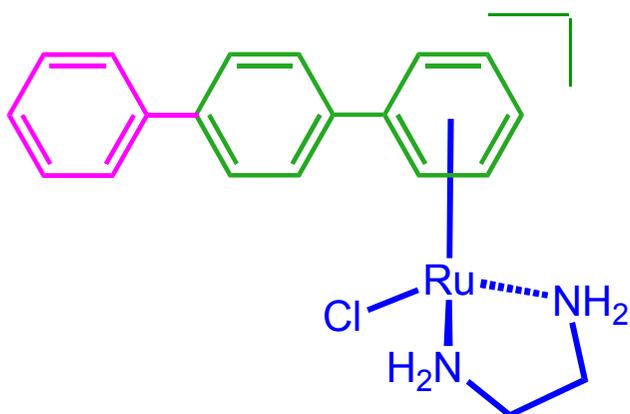


Ratios had to be significant (95% t-test) and more than 1.3-fold.

# Isomeric RuII complexes

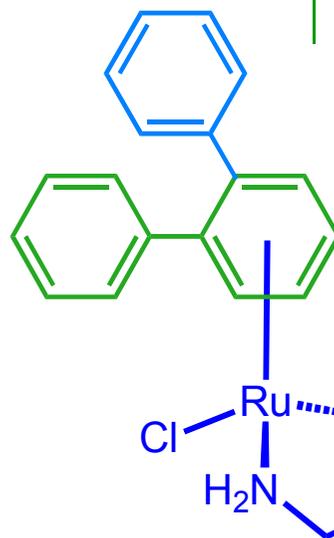
bind in a non-intercalative mode **not active**

p- terphenyl  
TB45



IC<sub>50</sub> (A2780)= **5 μM**  
binding to DNA:  
**planar intercalator**  
**active**

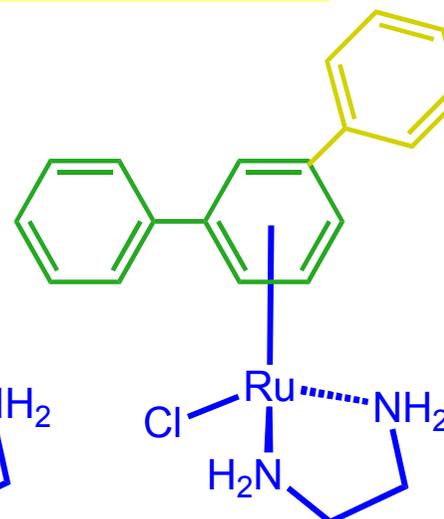
o- terphenyl  
AH115



**28 μM**

Isomer Separation and Gas-Phase  
Configurations of Organoruthenium  
Anticancer Complexes: Ion Mobility Mass  
Spectrometry and Modeling

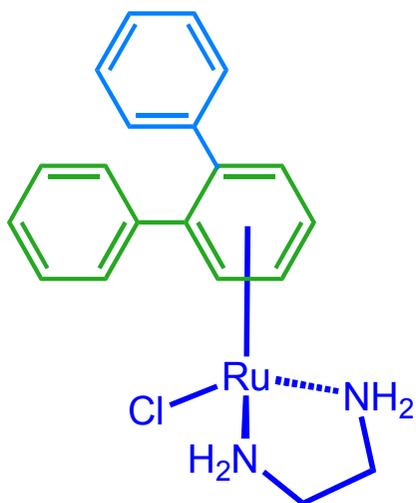
m- terphenyl  
+ TB33



**43 μM**

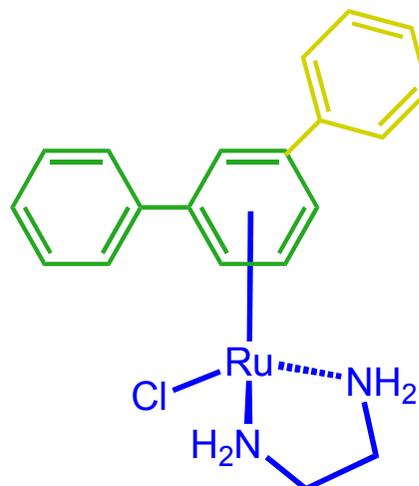
# T-Wave Derived $\Omega$ Values for Isomeric Ru<sup>II</sup> complexes

o- terphenyl  
AH115



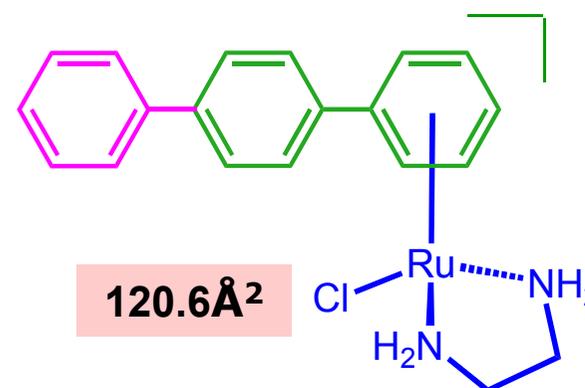
113.3Å<sup>2</sup>

m- terphenyl  
TB33

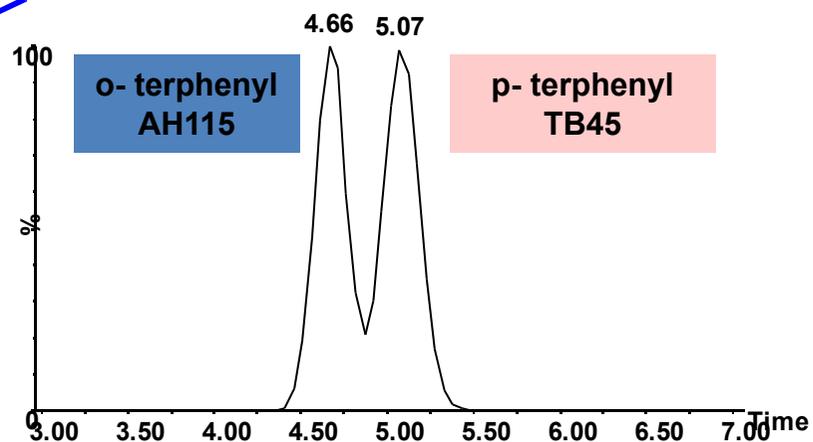


114.3Å<sup>2</sup>

p- terphenyl  
TB45



120.6Å<sup>2</sup>



- 質量分析計を用いたタンパク質の発現変動解析、翻訳後修飾解析、及び立体構造解析は、生体内における様々な現象を理解するうえでの、多くの有用な情報をもたらす。
- しかしながら、正確な測定結果を得るためには、質量分析計だけでなく、試料の前処理から、タンパク質及びペプチドの分離、データベース検索などのすべての工程が重要となる。
- 質量分析計による網羅的なペプチドの測定において、LC/MS<sup>E</sup>法は従来法の持つ限界を超える再現性の高い同定、及び、濃度範囲の広い発現差異解析結果を得られる可能性がある。
- IMS-MS法は、タンパク質等の生体高分子から医薬品などの低分子までの立体構造に関する情報を迅速に得られる新しい手法であり、生体内における様々な相互作用の解析に多くの可能性をもたらす。