

# 抗体不要！質量分析によるタンパク質の定量

東レリサーチセンターでは、安定同位体標識ペプチドを標品としたLC/MS/MSによるタンパク質の定量及び解析を受託している。抗体を用いた定量とは異なるアプローチにより、ELISA用のタンパク質標品等の定量値に対する信頼性が向上し、標準品の規格設定にも利用できる。

## 本手法の特徴

- ・抗体が不要
- ・安定同位体標識ペプチド標品の合成もワンストップで受託可能
- ・信頼性基準等のレギュレーションに対応
- ・高い選択性により、複数種類のタンパク質を網羅的に高感度定量が可能
- ・複雑なマトリックス試料でも分析可能

## 本手法の適用分野・事例

- ・製薬、食品、体外診断薬等の開発
- ・抗体を使用できないタンパク質の定量  
(変性した試料や類似配列のアイソタイプが多い場合、等)
- ・目的タンパク質の定量値設定
- ・特定の翻訳後修飾の定量

## MSによる定量分析の流れ

### ①定量対象ペプチドの選定

- ・試料の前処理
- ・LC/MS/MS (DDA)
- ・ペプチド同定計量一覧の出力

### ②安定同位体標識ペプチドの設計と合成

- ・標識アミノ酸残基の選択
- ・アミノ酸組成分析によるペプチド絶対定量

### ③定量分析

- ・LC/MS/MS (PRM)
  - 測定条件の最適化
  - 検量線の作成

分析結果のまとめ  
報告内容のQC

### ①定量対象ペプチドの選定

前処理、酵素消化



LC/MS/MS(DDA)  
目的タンパク質内の  
ペプチドを網羅的に検出



検出強度、配列特異性を考慮し定量に適した配列を選択



高性能質量分析計  
(Thermo Scientific)

### ②安定同位体標識ペプチドの設計と合成

- ・最適な標識位置を選択しペプチド設計・合成
- ・適切な条件でのペプチドの分注・保存
- ・酵素消化効率の評価

ペプチドの合成例

N末端 P-E-P-T-I-D\*<sup>←安定同位体標識位置</sup>-E-S-E-Q C末端

濃度:XXX μM (アミノ酸分析で絶対定量)

### ③定量分析

濃度既知の安定同位体標識ペプチドと試料を混合



前処理、酵素消化



LC/MS/MS測定  
PRM(並列反応モニタリング)法

標品と試料の検出エリアから試料タンパク質の存在量を計算

