

## CONTENTS

### ● 巻頭言

LC-MS を用いたプロテオーム解析の進歩

新潟大学大学院医歯学総合研究科 教授 松本 雅記

### ● 業務紹介

メタルハライドランプ式耐候性試験機の紹介

計量標準・計測分野の知的基盤整備計画について

LC/MS<sup>3</sup> を用いた脂質解析

核酸医薬品のオフターゲット効果の評価試験の紹介

四重極・飛行時間型質量分析計を用いた医薬品原体中のニトロソアミン不純物分析

### ● 技術情報

L-column シリーズのオミクス解析への適用

### ● 本機構の活動から

第 26 回化学物質評価研究機構研究発表会報告

CERI チャンネルの開設

「ここからはじめる！化学物質管理」ウェブサイトのご案内

令和 3 年度 CERI 賞表彰報告

・日本ゴム協会 CERI 若手奨励賞及び CERI 最優秀発表論文賞

・日本環境毒性学会 CERI 学会賞

### ● お知らせ

令和 3 年度 CERI 寄付講座 前期終了・後期開講

JASIS2021・JASIS WebExpo2021-2022 出展

ケミカルマテリアル Japan2021-ONLINE- 第 7 回化学物質管理ミーティング出展

令和 4 年度 CERI 公募型研究助成の募集

### ● 編集後記

### LC-MS を用いたプロテオーム解析の進歩

新潟大学大学院  
医歯学総合研究科 教授  
松本 雅記



近年、基礎生物学から医学・創薬の幅広い分野において生体構成物質の網羅的解析法、いわゆるオミクス解析は欠かすことができない研究手法となっています。DNA・RNAなどの核酸は次世代シーケンサーの登場で一気に網羅的かつハイスループットな解析が可能になりました。一方、タンパク質の網羅的解析法であるプロテオーム解析に関しては、90年代後半に液体クロマトグラフィーとタンデム質量分析計をオンラインで連結したいわゆる LC-MS/MS の利用が提案されて以来、標準的なプロテオーム解析法として普及してきました。実際、質量分析計でタンパク質を同定する場合、タンパク質をトリプシンなどの酵素で消化して得られるペプチドを LC-MS/MS で分析するショットガンプロテオミクスと呼ばれる手法が主に使われています。この LC-MS/MS を用いたショットガンプロテオミクスでは、タンパク質の同定はもちろん定量までも可能です。また、ここ数年で網羅性に関しても、格段に良くなっており、ヒトなどの複雑なプロテオームであっても数千種類のタンパク質を同定・定量することができます。このような、飛躍的なプロテオーム解析技術の向上は、質量分析計の感度やデータ取得速度などの寄与は確かに大きいですが、その相方である液体クロマトグラフィーの分離能の向上も相当な貢献をしています。特に、2  $\mu\text{m}$  程度の微小な充填剤の普及や、エンドキャッピング処理による残存シラノール基の低減などは極めて複雑なペプチド試料を分離する上で大きな役割を担っています。

さて、プロテオーム解析において今後求められている性能はどのようなもののでしょうか。医学や創薬などの領域では、多数の検体を対象に分析を実施する必要があります。このような多検体を計測する場合は、最も簡単なのは1分析にかかる時間を短くすることですが、ショットガンプロテオミクスで一般的に使われている data-dependent acquisition (DDA) と呼ばれる測定モードでは同定数が激減してしまいます。DDA では MS スペクトル上で観測されるイオンを強度順に自動選択し、開裂させて MS/MS スペクトルを取得します。したがって、分析時間を短くすると、スペクトル取得サイクルが追いつかないため、クロマトグラフィーから溶出されるペプチドを逃してしまうわけです。そこで、最近では data-independent acquisition (DIA) と呼ばれる手法が注目されています。DIA ではある一定幅（例えば 25unit）の質量ウインドウを設けて、それを通過したペプチドイオンを丸ごと MS/MS 解析する手法です。ウインドウをずらしながら連続的に MS/MS を取得していきますので、原理的にはすべてのペプチドの MS/MS 情報が取得可能になります。問題は、得られる MS/MS スペクトルが多数のペプチドに由来する混合スペクトルであるという点ですが、あるペプチドに由来するフラグメントイオンは液体クロマトグラフィーで共溶出するという原理を利用して、特定ペプチドのクロマトグラフィーを描出することができます。このような解析手法の性能を向上させるには、液体クロマトグラフィーによるペプチド分離能が極めて重要な因子となることは自明です。今後、より高分解能なカラム担体の開発がなされることで、プロテオミクスの可能性がますます広がっていくことが大いに期待されます。

## 業務紹介

### メタルハライドランプ式耐候性試験機の紹介

東京事業所高分子技術部 狩野 真貴子

#### 1. はじめに

材料・製品の劣化因子となる光・熱（温度）・水（湿度・雨・結露）に対する耐性は「耐候性」と呼ばれ、その耐候性を評価する試験が「耐候性試験」です。耐候性試験には、屋外で太陽光に暴露される「実暴露試験（屋外暴露試験）」と太陽光を再現した実験室光源に暴露する「促進耐候性試験」に大別されます。促進耐候性試験機は、材料・製品の劣化を短時間で検証することが可能であり、光源にはカーボンやキセノンランプ、紫外線蛍光ランプなどが用いられています。本機構では6種の促進耐候性試験機を所有しており、メタルハライドランプを光源とする耐候性試験機については「超促進型」と「全昼光型」の2タイプを揃えています。今回、各試験機のそれぞれの特徴を比較しながら紹介します。

#### 2. 試験機外観及び内観

##### 2.1 超促進型メタルハライドランプ式耐候性試験機（以下、超促進型）

1980年代後半に日本で独自に開発され、国内需要の多い耐候性試験機です。



外観



槽内

図1 超促進型メタルハライドランプ式耐候性試験機

##### 2.2 全昼光型メタルハライドランプ式耐候性試験機（以下、全昼光型）

海外で開発された太陽光シミュレーションシステムであり、海外向けの材料・製品を評価するために使用されることの多い耐候性試験機です。



外観



槽内

図2 全昼光型メタルハライドランプ式耐候性試験機

### 3. 仕様

表1 メタルハライドランプ式耐候性試験機の仕様

| 項目         | 超促進型                                                                      | 全昼光型                                                                 |
|------------|---------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 試験モード      | 1. 連続光照<br>2. 光→休止サイクル<br>3. 光→結露サイクル<br>4. 光→結露→休止サイクル<br>5. 光→休止→結露サイクル | 定値運転 又は サイクル運転                                                       |
| 放射照度       | 750 ～ 1500 W/m <sup>2</sup> (300 ～ 400 nm) * <sup>1</sup>                 | 800 ～ 1200 W/m <sup>2</sup> (280 ～ 3000 nm)                          |
| 温度制御       | ブラックパネル温度 (BPT)                                                           | 槽内温度 又は ブラックスタンダード温度 (BST)                                           |
| 温度範囲       | 50 ～ 85 ℃ (照射時)<br>35 ～ 75 ℃ (休止時)                                        | - 20 ～ 120 ℃ (照射時)* <sup>2</sup><br>- 40 ～ 100 ℃ (暗黒時)* <sup>2</sup> |
| 湿度範囲       | 40 ～ 70%RH (照射時、BPT63 ℃)<br>50 ～ 90%RH (休止時、BPT50 ℃)                      | 20 ～ 80%RH (照射時)<br>30 ～ 95%RH (暗黒時)                                 |
| 水スプレー      | 可                                                                         | 不可                                                                   |
| 有効照射面積     | 422 mm × 190 mm (約 800 cm <sup>2</sup> )                                  | 500 mm × 600 mm (約 3000 cm <sup>2</sup> )                            |
| 試料設置方式     | 固定式 (20°)                                                                 | 固定式 (0°)                                                             |
| 想定環境       | 屋外                                                                        | 屋外 又は 屋内                                                             |
| 光源～試料表面の距離 | 240 mm                                                                    | 任意 (放射照度による)                                                         |
| 型式         | アイ スーパー UV テスター<br>SUV-W161-T05                                           | Solar Simulation Environmental<br>Chambers SEC600                    |
| メーカー       | 岩崎電気株式会社                                                                  | ATRAS 社                                                              |

\*<sup>1</sup> 照度計 UVP-365-03A (新型) による

\*<sup>2</sup> 槽内温度の場合

### 4. 光の分光分布

図3に「超促進型」の分光分布を示します。「超促進型」は、その名の通り、促進性が極めて高く、紫外線量は太陽光の約20～30倍、促進倍率は約100倍とされています。なお、太陽光にはない290nm未満の短波長域の紫外線 (UV-C 及び一部 UV-B) は、フィルタでカットされるため放射されません<sup>1)</sup>。一方、「全昼光型」は、図4に示す通り、紫外線だけでなく可視光線や赤外線の波長範囲においても太陽光に近似した分光分布を有しています。そのため、高い演色性 (自然光が当たった時の色の再現性) を有するだけでなく、赤外線領域の光による輻射熱が劣化へ与える影響も考慮されます。以上のように、メタルハライドランプであっても「超促進型」と「全昼光型」とでは試料に照射される光の強さ・波長が大きく異なります。また、「超促進型」は国内の複数メーカーが展開している試験機ですが、各メーカーのランプによっても光の分光分布が異なるため、注意が必要です。光の照射方式は、いずれの試験機も槽内上部から試料表面に向けて光を照射します。

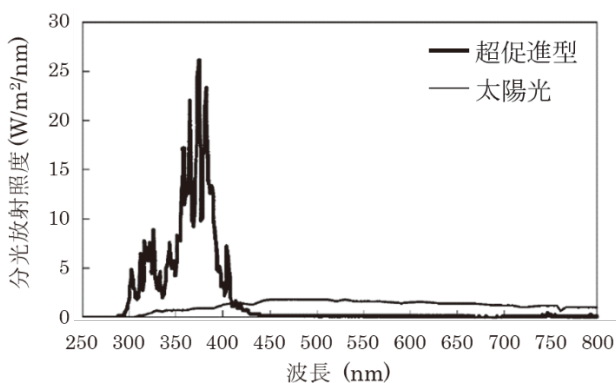


図3 「超促進型」の分光分布

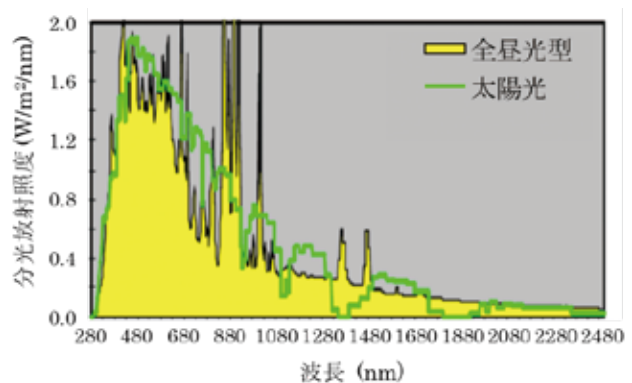


図4 「全昼光型」の分光分布



## 5. 試験条件・試験規格

「超促進型」は、国内で開発された試験機のため国際的な認知度は低く、国内向け材料・製品の耐候性評価で多く使用されている試験機です。紫外線領域（300～400 nm）における照度はキセノンランプ式耐候性試験機の約 25 倍にもなり、紫外線による材料の劣化促進性を高めています。そのため評価時間は大幅に短縮され、材料の配合を変えて耐候性を比較したり、現行製品と新規開発品とを比較したりするためのスクリーニング試験に多く用いられています。他の促進耐候性試験機と比べて歴史も浅く、現時点では ISO や JIS などの産業規格に規定されていません。試験条件は様々で、同じ業界でも全く異なる条件で試験されることもあります。表 1 に記載した試験条件の中でも「光照射→休止サイクル」や「光照射→結露サイクル」が多く採用されています。また、水スプレーはサイクルモード移行時に数～数十秒間行うといった他の耐候性試験機とは異なる短時間のスプレー方法です。

一方、「全昼光型」は海外で広く使用されている耐候性試験機です。「超促進型」とは対照的に、水スプレーの機能は搭載されていないため、前述のように温湿度制御によって試料にストレスを与えます。また、多くの耐候性試験機は光源と試料表面との距離が一定であるのに対して、「全昼光型」は可変であるためランプ出力だけでなく光源から試料表面の高さを調整することでも放射照度を制御可能です。主に海外の自動車メーカー各社の社内規格や DIN 75 220、MIL STD810G といった国家規格に規定されています。ボディやハンドル等の自動車本体だけでなく、アクセサリとして搭載されるカーナビゲーションシステムの液晶フィルムなどにも適用されています。DIN 75 220 では一定条件で暴露を行う定値試験のほか、明暗や温湿度サイクルを繰り返す 25 日間の試験が規定されています。このサイクル試験は、最も過酷な放射照度と温湿度の条件とされており、亜熱帯及び砂漠地帯をベンチマークとしています。

## 6. 最後に

近年 SDGs（Sustainable Development Goals（持続可能な開発目標））が注目される中、耐候性は建築材料（橋梁用ゴム、窓枠用パッキン等）、自動車部品（タイヤ、塗料等）など多くの分野で求められる特性です。材料・部品の寿命評価や長寿命化に向けた開発において、目的や用途に合わせた条件で耐候性試験を実施することが望まれます。これまでに培った物性評価及び分析評価に関する技術や豊富なバックデータによる劣化評価や試験前後の比較評価も可能です。ご不明な点は、お気軽にお問い合わせください。

## 参考文献

- 1) 森一郎, 促進耐候性試験の現状, IWASAKI 技報, 9 (2004) 17.

# 計量標準・計測分野の知的基盤整備計画について

東京事業所化学標準部 上原 伸二

## 1. はじめに

我が国の国際競争力の維持・強化、企業活動の信頼性向上、促進及び活性化、安全・安心な社会の構築、基幹的な産業である製造業の発展のため、計量標準、微生物遺伝資源、地質情報の「知的基盤」は、国の公共財として、国民生活や経済社会活動を支えています。

また、多くの企業においてデジタル化が課題となっている現状において、「知的基盤」は、新しい社会変容への対応だけでなく、利便性が高く体系的なデジタル化への対応を含め、科学技術による社会課題の解決を一刻も早く導くために、整備を計画的に行い、幅広く利活用される必要があります。

このため、経済産業省産業構造審議会知的基盤整備特別小委員会・日本産業標準調査会基本政策部会知的基盤整備専門委員会の合同会議では、平成30年度より、これからの知的基盤の整備と普及について長期的ビジョンに基づいて戦略的計画的に推進をするための検討を進めてきました。この検討の結果、第2期知的基盤整備計画が概ね役割を終える令和2年度末頃を目途に新たな知的基盤整備計画を整備すべきとの結論に達し、第3期知的基盤整備計画が策定されました。

この整備計画は計量標準・計測分野、微生物遺伝資源分野及び地質情報分野の3分野についてそれぞれまとめられています。計画の実行は、経済産業省及び国立研究開発法人産業技術総合研究所（AIST）が中心になって行われ、本機構化学標準部も計量標準について協力しています。今回は化学標準部に関わりの大きい、計量標準・計測分野（物理標準及び標準物質）に関連する計画を中心にご紹介します。

## 2. これまでの整備計画

第1期知的基盤整備計画においては、欧米並みの計量標準整備を目指し、2010年度までに物理標準250種、標準物質250種の整備を行う数値目標を立て、量的整備が推進されました。その結果、物理標準、標準物質ともに目標値を上回る整備が達成され、基本となる計量標準は欧米と遜色ないレベルに到達しました。また、計量法トレーサビリティ制度（JCSS）等の供給体制が構築され、JCSS登録事業者の数及び校正証明書の発行件数も着実に増加しました。

第2期知的基盤整備計画においては、第1期を踏まえ、量から質へという整備方針の下、ユーザーへのニーズ調査に基づき、整備計画の定期的な見直しを行い、効果的な計量標準整備が実施されました。その結果2020年度までに、物理標準95、標準物質235の整備が達成されました。また、整備方針の一つであった普及啓発については、AISTと事業者が連携して標準供給体制の拡充、ウェブサイト、講演会、セミナー等により、計量標準の広報普及活動が実施されました。

## 3. 計量標準・計測分野に関する現状

### 3.1 計量標準の重要性

計量標準の開発・維持・供給は、社会秩序の維持や国際通商での信頼性確保の根幹をなすものであり、さらに国際競争力の維持・強化及び安全・安心な国民生活の実現にも不可欠です。

また、産業のサプライチェーンが拡がり、企業活動がグローバル化する中で、計測の信頼性を確保するには、国際同等性の確保、トレーサビリティ体系の構築が不可欠となっています。

そして国家計量標準は、計測器や標準物質を介して、国民生活、企業の事業活動、大学等研究開発活動において様々な分野、用途で幅広く利用されています。

### 3.2 国際単位系 (SI)

国際単位系 (SI) は、7つの基本単位と組立単位、接頭語で構成されています。2018年に、7つの基本単位のうち、キログラム (kg)、アンペア (A)、ケルビン (K) 及びモル (mol) の定義が改定され、2019年5月20日 (世界計量記念日) に施行されました。新たな SI 単位の定義は、7つの定義定数を用いて確立され、単位系全体が、これらの定義定数の値から導かれています。そして7つの基本単位の中で唯一、キログラム原器という人工物によって定義されていたキログラムが、定義定数の一つであるプランク定数を使って定義されたことで、基本単位は全て普遍的な定数に基づき定義されることになりました。標準物質に関連する SI 単位のモルは、アボガドロ定数  $N_A$  ( $6.02214076 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ ) を定義定数として定義されています。

### 3.3 国家計量標準の国際同等性

国際度量衡委員会 (CIPM) において締結された CIPM 相互承認協定 (CIPM MRA) により、経済活動や取引の基本である計測・計量について、国家計量標準機関を頂点とする各国の計量標準トレーサビリティ体系を相互に信頼し、他国の国家計量標準の校正データを自国でもそのまま同等と認め、その校正証明書をそのまま自国でも受け入れる仕組み (ワンストップテストティング) が構築されています。

### 3.4 国内計量標準の供給体制

JCSS は、産業に必要な信頼性の高い各種の計量標準供給に対する需要に対して、一次標準を国又は公的機関 (指定校正機関) が維持・管理し、ユーザーが使用する実用標準の供給については民間事業者 (登録事業者) の力を活用するという制度です。対象は、計量法関係法令で規定する 25 の登録区分に対応した「計量器等の種類」であり、現在計 200 種類以上の計量器等が対象となっています。

## 4. 計量標準・計測分野における新たな整備計画の策定方針

これまでの整備・供給実績、ユーザーのニーズ調査やヒアリングを踏まえ、円滑な標準供給の促進を図るために、①「官民学の連携による効果的かつ効率的な整備・供給の推進」及び②「計量標準・計測の活用シーンの拡大」という方針で新たな整備計画を策定しました。①の重要な点としては、産業・社会ニーズへの迅速かつ適切な対応、基幹標準の維持・供給及び国際整合性の確保及び国内外計量関係機関・他省庁機関・企業との連携強化・技術移転が挙げられます。また、②の重要な点は、社会課題解決への寄与、国際情勢変化への対応及び産業競争力の強化や安全・安心な社会の実現が挙げられます。

## 5. 新たな知的基盤整備計画

企業及び関係する協会、団体等と意見交換及びニーズ調査が行われました。分野ごと及び分野に横断的な社会課題について整備計画は策定されました。その一部を抜粋して紹介します。

表 計量標準・計測分野における分野ごとの整備計画（抜粋）

| 分野         | 整備計画                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 長寿・健康      | <ul style="list-style-type: none"> <li>放射線治療装置や診断装置の高度化に追隨してこれらの装置の信頼性を確保するため、必要となる計量標準や計測技術の開発</li> <li>生体高分子や生体試料等の新たな計測技術を開発し、医薬品や医療機器等の品質評価技術又は標準物質の供給</li> </ul>                                                                                                                     |
| 食・文化       | <ul style="list-style-type: none"> <li>食品の付加価値を高めるための計測技術の開発</li> <li>国内における法規制や監視項目に対応し、食品や水道水を含む飲料水中の有害物質を計測するために必要な校正用標準物質、組成標準物質等の充実</li> </ul>                                                                                                                                       |
| 環境         | <ul style="list-style-type: none"> <li>自動車等に利用される蓄電デバイスの劣化評価の計測技術を開発し、温室効果ガスの削減に貢献</li> <li>地球環境保全に必要な標準ガスの開発・供給</li> </ul>                                                                                                                                                               |
| 資源・エネルギー   | <ul style="list-style-type: none"> <li>水素取引に必要な計量標準及び関連した産業標準の整備</li> <li>熱物性標準物質の整備を推進することで、熱エネルギーの有効利用に貢献</li> </ul>                                                                                                                                                                    |
| 防災・セキュリティ  | <ul style="list-style-type: none"> <li>地震・火山・津波といった自然現象のモニタリング技術確立するため、微気圧計やマイクログホン、加速度センサの評価・信頼性向上に資する技術の開発</li> </ul>                                                                                                                                                                   |
| 共通基盤       | <ul style="list-style-type: none"> <li>広い質量範囲における高精度な計量標準の供給が原理的に可能となったことによる、微小質量の高精度測定技術の開発</li> <li>水道法関連の陰イオン界面活性剤混合標準液の開発</li> <li>資源評価に必要な希土類元素標準液の開発</li> <li>医薬品中の元素不純物の評価に資する貴金属元素標準液の開発</li> </ul>                                                                               |
| 各分野に横断的な課題 | <ul style="list-style-type: none"> <li>中小・中堅企業・地域への技術支援</li> <li>データベースに関わる情報システムの高度化や活用促進</li> <li>学協会・工業会活動を通じた人材育成・普及啓発への取組</li> <li>省庁連携・国内関係機関との連携による計量標準の利用促進への取組</li> <li>計量標準の利用促進のための規格化、技術文書作成への取組</li> <li>計量標準の国際同等性確保のための国際相互承認の推進</li> <li>計量標準・計測分野における国際標準化の推進</li> </ul> |

## 6. まとめ

計量標準・計測分野において、「オールジャパンでの効果的かつ効率的な整備・供給の推進」及び「計量標準・計測の活用シーンの拡大」を軸に、健康・長寿、食・文化、環境、資源・エネルギー、防災・セキュリティの各分野及び共通基盤について、新たな整備計画が策定されました。また、各分野に横断的な課題として、中小・中堅企業と地域、デジタル対応、人材育成・普及啓発、省庁連携・国内連携及び国際連携を整備計画に加えました。第3期知的基盤整備計画の期間は、2021年度～2030年度の10年間で、第3期の期間中においても、継続的にニーズを把握し、定期的な整備計画への反映、計画の見直しを実施することが予定されています。

## 参考文献

- 1) 知的基盤整備計画（令和3年5月31日）
- 2) 第3期知的基盤整備計画の概要

上記の資料は2021年9月1日現在、以下のURLからダウンロードできます。

<https://www.meti.go.jp/press/2021/05/20210531004/20210531004.html>



## LC/MS<sup>3</sup>を用いた脂質解析

東京事業所環境技術部 深水 大樹

### 1. はじめに

脂質は、生体膜の構成成分、エネルギー源、シグナル伝達など多様な役割を担っている生体分子です。脂質は、単純脂質、複合脂質及び誘導脂質の3つに大きく分類され、さらに構造的な特性により、トリアシルグリセロール (TAG)、ホスファチジルコリン (PC)、スフィンゴミエリン (SM) などに分類されます。それらは脂質クラスと呼ばれ、数百以上の脂質クラスが存在しています。例えば、脂質クラスの1種であるPCはグリセロール骨格、極性基及び2つの脂肪酸で構成されており、その脂肪酸の組み合わせが多数存在するため、多種の分子が存在します。他の脂質クラスにおいても同様であり、その結果、脂質として数万以上の数多くの物質が存在します。

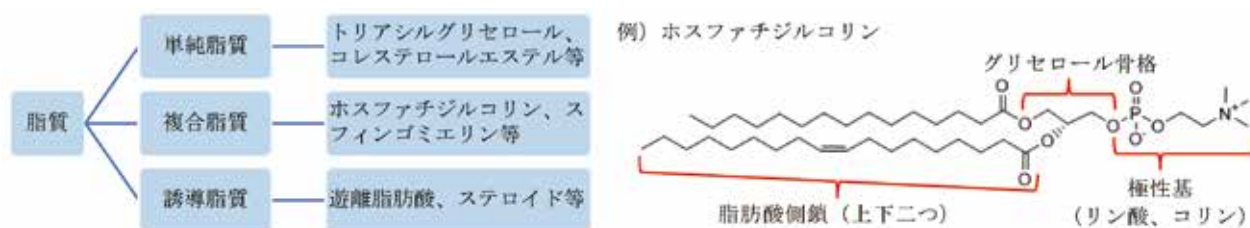


図1 脂質の分類 (左) 及びホスファチジルコリンの構造例 (右)

これら脂質の分析は生命現象を理解する上で重要であり、脂質分子を網羅的に解析する学問はリピドミクスとも呼ばれています。近年、この脂質解析では液体クロマトグラフィー (LC) 又は超臨界流体クロマトグラフィー (SFC) にエレクトロスプレーイオン化タンデム型質量分析 (ESI-MS/MS) を組み合わせた手法が用いられ、そこで得られたプリカーサーイオン (脂質分子がイオン化されたもの; MS) 及びプロダクトイオン (プリカーサーイオンを解離させて生じるイオン; MS/MS) の情報を基に脂質分子の同定が広く行われています<sup>1)</sup>。その一方で、スフィンゴミエリン等の一部の脂質クラスにおいては、MS/MSの情報だけでは詳細な構造情報が得られず、脂質分子の同定が困難でした。そのような脂質クラスに対しては、多段階質量分析 (MS<sup>n</sup>) が有効な場合があります。本機構では、多段階質量分析 (MS<sup>n</sup>) が実施可能なりニアイオントラップ-フーリエ変換ハイブリッド型質量分析計 (LIT-FT-MS) を用いて脂質解析を実施し、本稿では、この LC/MS<sup>3</sup> を用いた脂質解析について紹介します。

### 2. 前処理及び分析

脂質を分析するためには、試料から目的の脂質を抽出する前処理操作が必要となります。本機構で実施している前処理フローの一例を図2に示します。

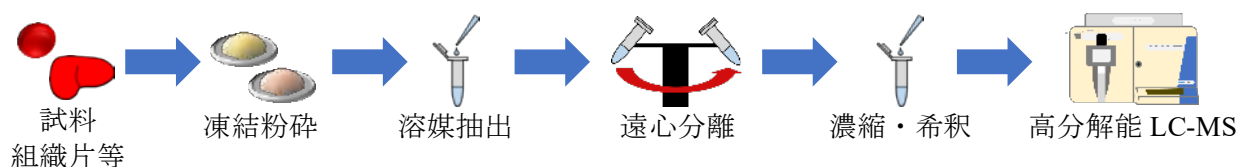


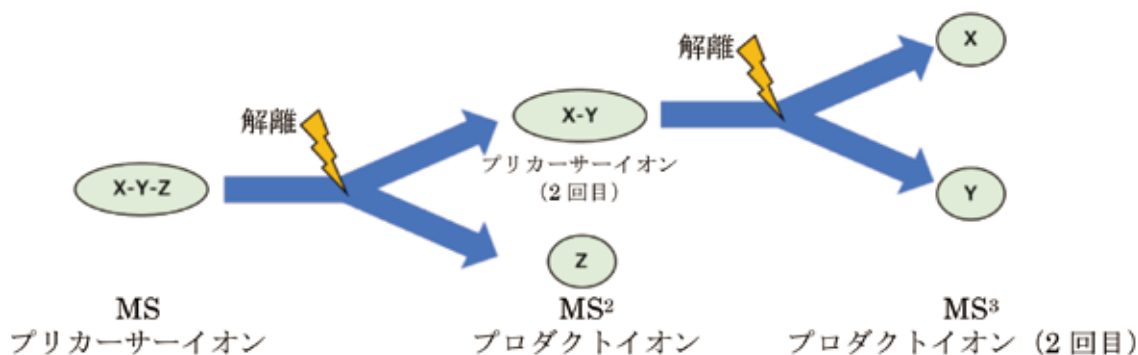
図2 前処理フローの一例

LC 用カラムとして本機構のクロマト技術部で開発した L-column2 ODS メタルフリーカラム (粒子径 3  $\mu\text{m}$ 、内径 2 mm、長さ 50 mm) を使用しました。このカラムは、ガラスライニングステンレス管に非金属系フリットを装着したハードウェアと、基材シリカゲルの金属不純物が少なく、エンドキャ

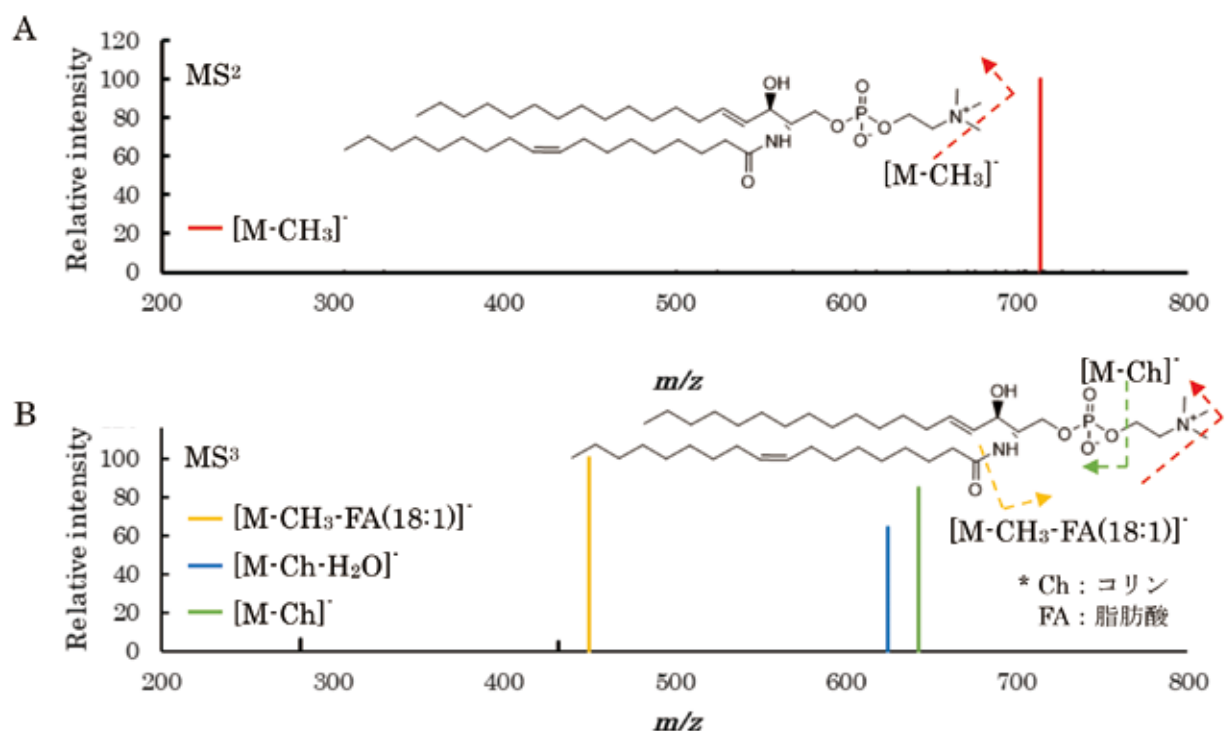
ッピングの表面被覆が高密度な L-column2 シリーズの充填剤を充填したメタルフリーカラムで、金属の影響を受けやすい脂質の分析に適しています。

### 3. LC/MS<sup>3</sup>を用いる利点

例としてスフィンゴミエリン 1 種 (SM (d18:1/18:1)) とホスファチジルコリン 1 種 (PC (15:0/18:1)) の LC/MS<sup>2</sup> と LC/MS<sup>3</sup> の比較を示します。ここで、MS<sup>2</sup> は、プリカーサーイオンの解離とプロダクトイオンの分析という操作を 1 回、MS<sup>3</sup> は、プリカーサーイオンの解離とプロダクトイオンの分析という操作を 2 回行う多段階質量分析を表します (図 3)。



SM (d18:1/18:1) の LC-MS による構造解析において、MS<sup>2</sup> では主に  $[M-CH_3]^+$  が検出されるものの、脂肪酸側鎖由来等のプロダクトイオンは検出されず、詳細な構造情報は得られません (図 4A)。一方で、MS<sup>3</sup> では  $[M-CH_3]^+$  をプリカーサーイオンとして解離させた結果、図 4B に示す構造特異的なプロダクトイオンが検出され、詳細な構造情報を得られるため、脂質分子を同定することができます。



また、PC (15:0/18:1) については、MS<sup>2</sup>では構造特異的なプロダクトイオン ([FA (15:0) -H]<sup>-</sup> 及び [FA (18:0) -H]<sup>-</sup>) が得られているものの、測定感度が十分ではありませんでした (図 5A)。MS<sup>3</sup>では図 5B に示す構造特異的なプロダクトイオンが顕著に検出され、MS<sup>2</sup> と比べ MS<sup>3</sup> ではより正確に脂質分子を同定することができます。

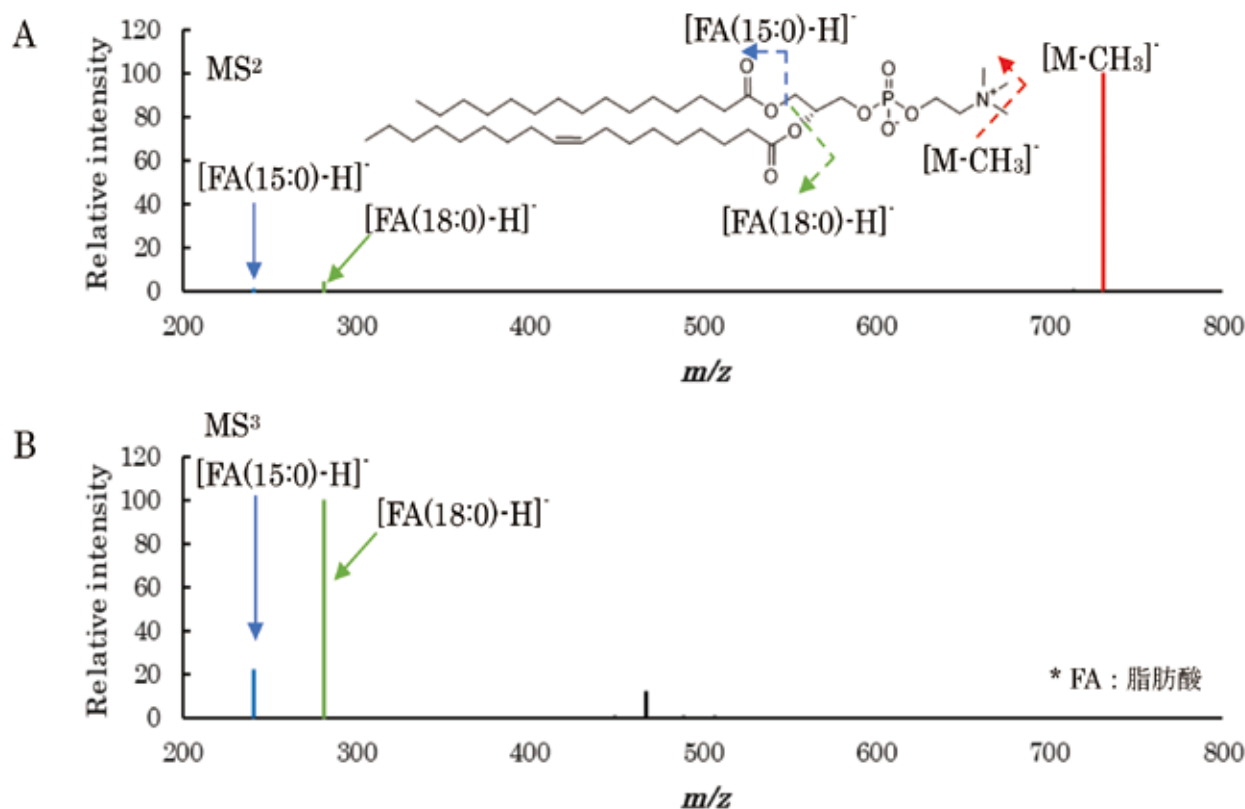


図5 PC (15:0/18:1) のプロダクトイオン (A: MS<sup>2</sup>, B: MS<sup>3</sup>) 及びフラグメントパターン

以上のように、MS<sup>3</sup>を用いることで、一部の脂質においてはMS<sup>2</sup>と比べ、より詳細な構造情報が得られます。その情報を用いることで、より正確な脂質分子の同定が可能となります。

#### 4. おわりに

本稿では、LC/MS<sup>3</sup>を用いた脂質解析の分析例を紹介しましたが、本機構では、LC/MS<sup>3</sup>を用いた脂質網羅解析も実施しています。また、脂質網羅解析に加えて、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) による、PC、ホスファチジルエタノールアミンなど測定対象を絞ったターゲット分析 (定量分析) も実施しています。試験の目的に応じて様々なご提案が可能ですので、お気軽にご相談ください。

#### 参考文献

- 1) 和泉自泰, 馬場健史, 生物工学会誌, 98, 490 (2020)
- 2) Hama, K *et al.*, *Lipids*, 52, 789 (2017)

# 核酸医薬品のオフターゲット効果の評価試験の紹介

安全性評価技術研究所 石田 和也

## 1. はじめに

核酸医薬品は DNA、RNA 及びそれらの誘導体を主骨格に持ち、従来の低分子医薬品及び抗体医薬品では標的とすることが困難であった DNA、RNA 等を創薬ターゲットとした医薬品です。核酸医薬品には複数の種類があり、例えば mRNA、pre-mRNA、microRNA 等を標的とするアンチセンス核酸（Antisense Oligonucleotide: ASO）、mRNA を標的とする siRNA、miRNA mimic 等があります。その中でも ASO 及び siRNA は標的である RNA の相補的塩基配列に結合（ハイブリダイゼーション）することで、標的とする RNA の分解、スプライシング制御等による薬理作用（オンターゲット作用）を発現します。一方、核酸医薬品に限らず、医薬品にはオンターゲット作用以外の意図しない影響（オフターゲット毒性）がありますが、核酸医薬品には核酸特有のハイブリダイズに起因する「オフターゲット効果」によって生じるオフターゲット毒性もあり、これら进行评估することが推奨されています<sup>1)</sup>。本稿では、このオフターゲット効果について *in silico* 解析による評価及びマイクロアレイ解析を活用した *in vitro* 評価について紹介し、本機構で受託しているこれらの試験の特徴についても紹介します。

## 2. オフターゲット効果の評価方法について

核酸医薬品の非臨床安全性評価については、令和2年3月に「核酸医薬品の非臨床安全性評価に関するガイドラインについて（以下、ガイドラインという）<sup>1)</sup>」により、オフターゲット効果により生ずるオフターゲット毒性の評価が推奨されており、国内で承認されている核酸医薬品においてもこれらの評価が行われています。このオフターゲット毒性の原因となるオフターゲット効果进行评估する方法として、ガイドラインでは、『ヒトのゲノム DNA や RNA 情報を用いた *in silico* 解析、あるいはヒト細胞を用いた *in vitro* 遺伝子発現

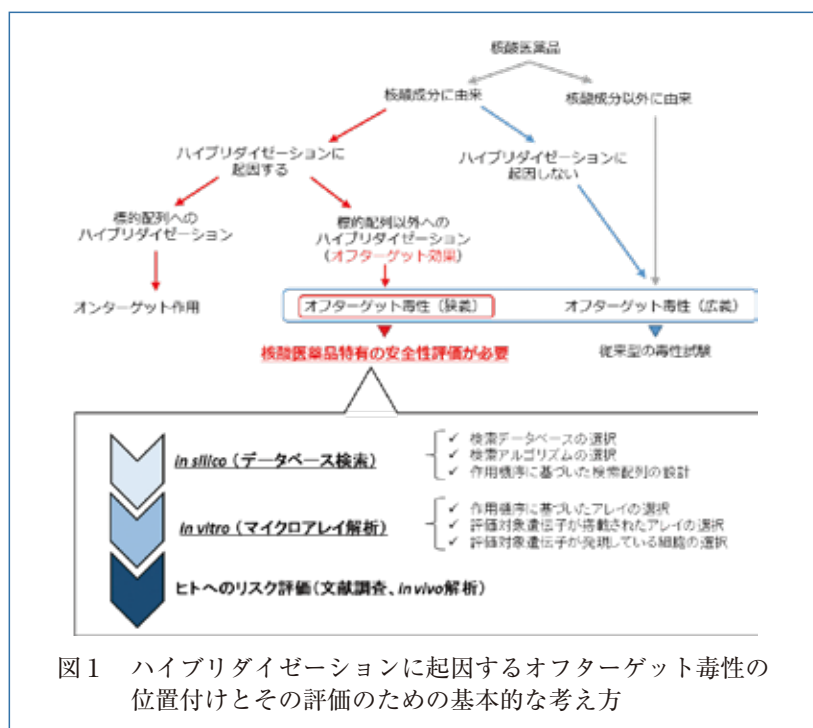


図1 ハイブリダイゼーションに起因するオフターゲット毒性の位置付けとその評価のための基本的な考え方

解析などを用いて評価することが推奨<sup>2)</sup>されています（図1）。この *in vitro* 遺伝子発現解析の際にマイクロアレイを用いることで、*in silico* 解析により選定されたオフターゲット候補遺伝子の中からヒトへのリスクを評価すべき遺伝子の絞り込みができるとともに、下流の遺伝子発現変動も併せて評価することが可能であり、これらの情報をヒトへのリスク評価に活用することが期待できます。

## 3. *in silico* 解析

*in silico* 解析は、核酸医薬品の配列を検索クエリとして、最新のゲノム DNA、pre-mRNA 又は mRNA の配列情報等を使用して GGenome、BLAST、Bowtie 等の検索アルゴリズムによりオフタ



ターゲット候補遺伝子の検索が行われています。核酸医薬品のハイブリダイゼーションは完全に配列が一致する配列のみならず、複数の配列不一致（ミスマッチ）、欠落（ギャップ）又は挿入（インサート）があっても起きることがあります。しかし、核酸医薬品のような 20 塩基前後の短い塩基配列のミスマッチ、ギャップ及びインサートを考慮した検索において検索アルゴリズムを比較した事例では、検索配列の内部に複数のミスマッチ、ギャップ及び又はインサートがある場合に BLAST 及び Bowtie では検索漏れが生じるケースもあり<sup>2)</sup>、検索に漏れないようにアルゴリズムを選択する必要があります。なお、核酸医薬品のような短い配列について、複数のミスマッチ、ギャップ及びインサートを考慮した検索には GGGenome が最も漏れが少ない方法といわれています<sup>2)</sup>。

本機構で実施している *in silico* 解析では、秘匿性の高いオフライン環境下で GGGenome を使用した検索を実施できる体制を整備しています。一般に検索で使用するデータベースは定期的に更新されており、できる限り最新のものを使用することが望ましいため、常にオフラインで利用可能な最新のものを用意しております。また、検索の結果得られたオフターゲット候補遺伝子について、既知の疾患情報の調査等にも対応しています。

#### 4. *in vitro* 遺伝子発現解析

*in vitro* 遺伝子発現解析でのオフターゲット効果の評価では、ヒト由来の培養細胞等に核酸医薬品をばく露し、*in silico* 解析で得られたオフターゲット候補遺伝子の遺伝子発現量変化を評価します。遺伝子発現量の測定方法には様々な方法がありますが、*in silico* 解析でヒットする配列数は核酸医薬品の配列の長さ及び又は許容するミスマッチ、ギャップ及びインサートの数によっては数百～数万にのぼることがあり、それらに該当した遺伝子を網羅的に定量評価する方法としてマイクロアレイ解析が注目されています<sup>3)</sup>。マイクロアレイ解析ではオフターゲット候補遺伝子以外の遺伝子についての情報も得られるため、必要な場合には核酸医薬品の遺伝子発現変化に起因する下流の遺伝子の発現変動も併せて評価可能です。一方、マイクロアレイ解析を行う場合には、オフターゲット候補遺伝子が搭載されたマイクロアレイを選択しているか等に注意する必要があります。

本機構で実施している *in vitro* 遺伝子発現解析では核酸医薬品の細胞へのばく露、細胞からの RNA 抽出、遺伝子発現解析（qPCR 又はマイクロアレイ解析）に対応しています。細胞へのばく露実験は、ばく露濃度決定のための予備試験から対応可能です。マイクロアレイ解析では市販のマイクロアレイによる測定の他、ご要望に応じてオフターゲット候補遺伝子搭載の有無の確認及び搭載遺伝子のカスタマイズ（カスタムアレイの設計）にも対応しています。また、発現変動したオフターゲット遺伝子の既知の疾患情報の調査にも対応しています。

#### 5. おわりに

本機構は核酸医薬品のオフターゲット効果の評価において、*in silico* 解析及び *in vitro* 解析共に複数の企業様からのご依頼に基づく解析実績があります。試験設計段階からの相談にも対応しておりますので、ご興味がありましたらお気軽にお問い合わせください。

#### 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬・生活衛生局 医薬品審査管理課「核酸医薬品の非臨床安全性評価に関するガイドライン（令和 2 年 3 月 30 日、薬生薬審発 0330 第 1 号）」
- 2) 内藤雄樹（2019）, 核酸医薬のオフターゲット効果をインシリコに予測する, 井上貴雄 / 企画 “なぜ、いま核酸医薬なのか”, 実験医学（羊土社）, 37, 47-53.
- 3) ICH S6 対応研究班（2015）, 核酸医薬品のオフターゲット作用の評価, PMDRS, 46（10）, 681-686.

## 四重極 - 飛行時間型質量分析計を用いた医薬品原体中のニトロソアミン不純物分析

日田事業所 山下 京介

### 1. はじめに

近年、バルサルタン製剤に代表されるサルタン系医薬品、ラニチジン製剤及びメトホルミン製剤からヒトに対しておそらく発がん性がある（国際がん研究機関の発がん性分類でグループ 2A に分類されている）*N*-ニトロソジメチルアミン（NDMA）及び*N*-ニトロソジエチルアミン（NDEA）が検出され、各製剤の回収等が世界的に発生しています<sup>1, 2)</sup>。これらのニトロソアミン類は、医薬品原体の製造過程で使用されるアミン化合物と、亜硝酸ナトリウム等の亜硝酸塩が反応して生成され、不純物として製剤に混入すると考えられています<sup>3)</sup>。これを受けて我が国では、2018 年に厚生労働省により医薬品規制調和国際会議（ICH）の M7 ガイドライン<sup>4)</sup>に従って医薬品に含まれるニトロソアミン不純物の管理基準が設定されました<sup>5)</sup>。さらに、2020 年に米国食品医薬品局（FDA）により NDMA 及び NDEA を含む各製剤に混入する可能性のある 7 種のニトロソアミン不純物の暫定摂取許容限度値が設定され（表 1）、各製剤の用法、用量において摂取されうるニトロソアミン不純物量が暫定摂取許容限度値を超えないような管理が必要となりました<sup>3)</sup>。例えば、一日最大摂取量が 320 mg/day<sup>1, 2)</sup>のバルサルタンでは、暫定摂取許容限度値が 26.5 ng/day のニトロソアミン類の混入量は医薬品原体量に対して 0.08 ppm 以下であることを確認する必要があります。このようなごく微量のニトロソアミン不純物を分析するために、各国規制当局ではその定量限界を医薬品原体量に対して 0.03 ppm と設定しており<sup>2, 3)</sup>、ng/mL レベルの低濃度でも定量できる高感度分析が要求されることとなりました。

本稿では、表 1 のニトロソアミン類のうち、橙色で示した NMBA、NIPEA 及び NDIPA について、高速液体クロマトグラフ - 四重極 - 飛行時間型質量分析計（LC-QToF/MS）を用いて定量限界が医薬品原体量に対して 0.03 ppm となる分析法を確立しましたので、紹介します。

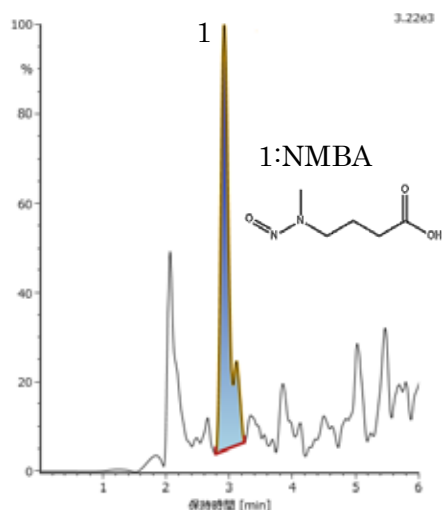
表 1 ニトロソアミン不純物の暫定摂取許容限度値

| 化合物名                                          | 暫定摂取許容限度値<br>(ng/day) |
|-----------------------------------------------|-----------------------|
| <i>N</i> -ニトロソジメチルアミン（NDMA）                   | 96.0                  |
| <i>N</i> -ニトロソジエチルアミン（NDEA）                   | 26.5                  |
| <i>N</i> -ニトロソ- <i>N</i> -メチル-4-アミノブタン酸（NMBA） | 96.0                  |
| <i>N</i> -ニトロソエチルイソプロピルアミン（NIPEA）             | 26.5                  |
| <i>N</i> -ニトロソジイソプロピルアミン（NDIPA）               | 26.5                  |
| <i>N</i> -ニトロソメチルフェニルアミン（NMPA）                | 26.5                  |
| <i>N</i> -ニトロソジブチルアミン（NDBA）                   | 26.5                  |

### 2. ニトロソアミン不純物の分析結果

#### 2.1 *N*-ニトロソ-*N*-メチル-4-アミノブタン酸（NMBA）

図 1 に、NMBA をエレクトロスプレーイオン化法（ESI 法）で分析したクロマトグラム（原体量に対して 0.03 ppm、溶液濃度：1.2 ng/mL）及び分析条件を示します。定量限界を 0.03 ppm としたとき、本分析条件における直線性、再現性等は表 2 のとおりであり、良好な結果が得られました。



## 【分析条件】

カラム：Kinetex 2.6  $\mu\text{m}$  F5 100Å100 x 2.1 mm

移動相：A：5 mmol/L ギ酸溶液

B：メタノール

0 分 (B 10%) → 1.5 分 (B 10%) → 4 分 (B 90%)

→ 4.01 分 (B 10%) → 8 分 (B 10%)

流量：0.2 mL/min

注入量：10  $\mu\text{L}$ 

カラム温度：40℃

イオン化モード：ESI

極性：Negative

測定モード：Scan ( $m/z$  145.0619)

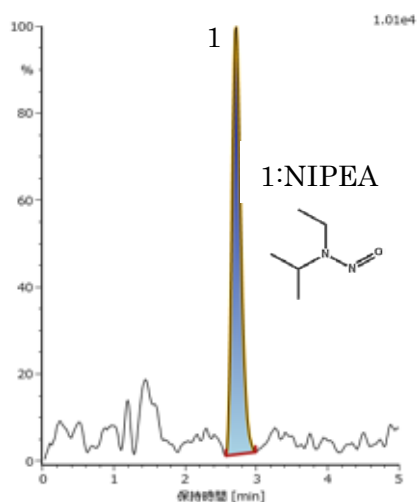
図1 NMBA のクロマトグラム（溶液濃度：1.2 ng/mL）及び分析条件

表2 NMBA 分析のバリデーション結果

| バリデーション項目                              | 算出結果  |
|----------------------------------------|-------|
| 相関係数<br>(溶液濃度範囲：1.2 ng/mL から 10 ng/mL) | 0.999 |
| 6 回繰り返しの相対標準偏差 (%)<br>(溶液濃度：1.2 ng/mL) | 7.6   |
| シグナルノイズ比 (S/N)<br>(溶液濃度：1.2 ng/mL)     | 59    |
| 添加回収率 (n=3 平均) (%)                     | 86.9  |

## 2.2 N-ニトロソエチルイソプロピルアミン (NIPEA) 及び N-ニトロソジイソプロピルアミン (NDIPA)

図2にNIPEA及びNDIPAを大気圧化学イオン化法（APCI法）で分析したクロマトグラム（原体量に対して0.03 ppm、溶液濃度：0.15 ng/mL）及び分析条件を示します。定量限界を0.03 ppmとしたとき、本分析条件における直線性、再現性等は表3のとおりであり、良好な結果が得られました。



## 【分析条件】

カラム：Kinetex 2.6  $\mu\text{m}$  F5 100Å100 x 2.1 mm

移動相：A：5 mmol/L ギ酸水溶液

B：メタノール

0 分 (B 40%) → 4 分 (B 40%) → 9.0 分 (B 90%)

→ 11.0 分 (B 90%) → 11.01 分 (B 40%) → 15.0 分 (B 40%)

流量：0.2 mL/min

注入量：20  $\mu\text{L}$ 

カラム温度：40℃

イオン化モード：APCI

極性：Positive

測定モード：MRM

トランジション：NIPEA： $m/z$  117.1022 →  $m/z$  75.1000NDIPA： $m/z$  131.1179 →  $m/z$  89.1150

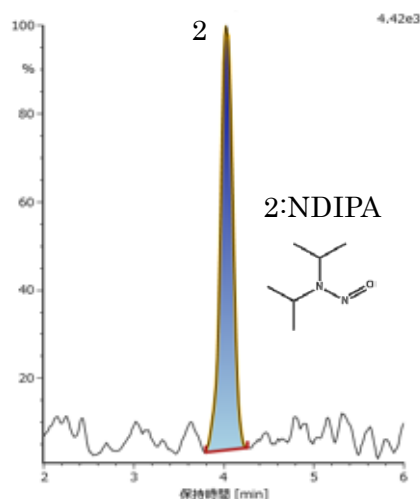


図2 NIPEA 及び NDIPA のクロマトグラム（溶液濃度：0.15 ng/mL）及び分析条件

表3 NIPEA 及び NDIPA 分析のバリデーション結果

| バリデーション項目                                | 算出結果  |       |
|------------------------------------------|-------|-------|
|                                          | NIPEA | NDIPA |
| 相関係数<br>(溶液濃度範囲：0.15 ng/mL から 3.0 ng/mL) | 0.999 | 0.999 |
| 6 回繰り返しの相対標準偏差 (%)<br>(溶液濃度：0.15 ng/mL)  | 3.8   | 4.0   |
| シグナルノイズ比 (S/N)<br>(溶液濃度：0.15 ng/mL)      | 220   | 163   |
| 添加回収率 (n=3 平均) (%)                       | 106.7 | 110.3 |

### 3. まとめ

暫定摂取許容限度値が設定されているニトロソアミン不純物のうち、NMBA、NIPEA 及び NDIPA について LC-QToF/MS を用いることで医薬品原体量に対して 0.03 ppm の定量限界を達成し、高感度かつ良好な定量性を有する分析法を確立しました。日田事業所では、GMP に準拠した医薬品原体中のニトロソアミン不純物分析の実施体制を整えていますので、是非お気軽にお問い合わせください。

### 参考文献

- 1) <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/recalls-angiotensin-ii-receptor-blockers-arbs-including-valsartan-losartan-and-irbesartan>（閲覧日：2021 年 8 月 26 日）
- 2) EMA Assessment report：Angiotensin-ii-receptor-antagonists-sartans-article-31-referral-chmp-assessment-report
- 3) FDA guidance document：Control of Nitrosamine Impurities in Human Drugs
- 4) ICH M7 (R1) Guideline: Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk
- 5) 厚生労働省医薬品審査管理課 「NDMA 及び NDEA の管理指標の設定について」



## 技術情報

*L-column* シリーズのオミクス解析への適用

東京事業所クロマト技術部 緒方 伸也

## 1. はじめに

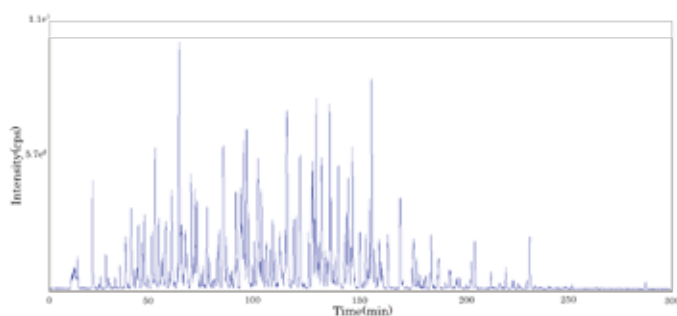
*L-column* シリーズの歴史は 1990 年の *L-column ODS* の開発にさかのぼります。一般的な C18 カラムはトルエンなどの液相中で行うエンドキャッピング処理が主流であるのに対し、*L-column* は高温気相反応によるエンドキャッピング技術を開発し、これまでになかった低吸着性のカラムを実現しました。2007 年には、これまでのエンドキャッピング技術を改良し、より高耐久性かつ低吸着性な *L-column2* を開発しました。さらに、2017 年には化学的耐久性を飛躍的に向上させた *L-column3* を開発し、さまざまな分析の場面に普及しています。

分析機器の感度・精度の向上により、プロテオミクス、メタボロミクス、リポドミクス、ゲノミクスといったオミクス解析技術が発展し、医学・薬学の進歩に大きく貢献しています。また、プロテオミクスやメタボロミクスにおいて、液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS、LC-MS/MS) は高感度で網羅性の高い分析機器として汎用されています。プロテオミクスでは、多くのタンパク質から酵素消化されたペプチドを分離するために、通常のカラムより長いカラムが使用されます。リポドミクスでは、近年、リン脂質が注目を集めています。さらに、ゲノミクスの対象となる遺伝疾患の分野では、治療薬としてオリゴヌクレオチドを基本骨格に持つ核酸医薬品が注目を浴びています。そこで本稿では、これらのオミクス解析に関連した *L-column* シリーズの適用例を紹介します。

## 2. 長さ 500 mm のロングカラムを用いたペプチド分析

プロテオミクスでは細胞や組織に発現しているタンパク質の動態を把握し、それらのタンパク質が及ぼす作用を解析することが求められています。また、LC-MS/MS においては、タンパク質を酵素消化した複雑なペプチドを分離し、高感度で検出することが必要とされています。そのため、高感度・高分離のため、カラムを細く、長くします。本機構で供給している内径 0.1 mm のマイクロカラムは汎用サイズの内径 4.6 mm のカラムと比較し、断面積が 2000 分の 1 と小さいため、最適流量が 1  $\mu$ L/min 以下と非常に少なく、溶離液によるサンプルの希釈が減少し、検出感度が増加します。さらに、長さ 500 mm のロングカラムでペプチドを最大限分離することが可能となります。ここでは *L-column2* ODS 3  $\mu$ m (内径 0.1 mm、長さ 500 mm) のロングカラムを使用して 4 種のタンパク質を酵素消化したペプチドの分析を行いました。注入する試料の脱塩及び濃縮のためトラップカラムに 100 fmol のタンパク質のトリプシン消化物の混合物を注入し、2 分後にバックフラッシュで溶出させています。

グラジエント条件を最適化した結果、長さ 150 mm のカラムは 120 分の分析時間で、201 のピークキャパシティーと 100 のピークが分離検出され、分析時間を長くしてもピーク数は増加しません。それに対して、長さ 500 mm のロングカラムは 300 分の分析時間において、301 のピークキャパシティーと 144 のピークが分離検出されました (図 1)。さらに、マトリックス効果の低減により、ピーク強度が平均で 25% 改善しました。このように 500 mm のロングカラムを組み合わせることで、多くのペプチドを高感度に分離することができ、最高レベルのプロテオミクス解析が可能となります。



#### 【分析条件】

カラム：*L-column2 ODS*, 3  $\mu\text{m}$   
 サイズ：0.1 mm I.D.  $\times$  500 mm L. Cat. No. 711810  
 溶離液：A：アセトニトリル（0.1% ぎ酸含有）  
           B：0.1% ぎ酸  
           A/B：5/95-5/95-40/60（0-2-300 min）  
 温度：40℃  
 流速：0.3  $\mu\text{L}/\text{min}$   
 注入量：1  $\mu\text{L}$   
 検出：Nano ESI-MS  
 試料：ADH、グリコーゲンホスホリラーゼ、  
       BSA、エノラーゼのトリプシン消化物  
 トラップカラム：*L-column2 ODS*, 5  $\mu\text{m}$   
 サイズ：0.3 mm I.D.  $\times$  5 mm L. Cat. No. 752450

図1 混合タンパク質のトリプシン消化物の分離例

### 3. メタルフリーカラムを用いたリン脂質のリピドミクス解析

リピドミクスはメタボロミクスの中でも脂質にフォーカスした代謝物解析です。生体内における脂質成分は脂溶性が高く、特に、リン脂質には金属成分と相互作用を起こしやすい分子種があり、メタルフリーなシステムを用いることで吸着を抑えることができます。*L-column2* メタルフリーカラムは、ステンレス製のクロマトグラフィー管の内側をガラスでコーティングし、カラムの入口と出口には、ポリマー製のフリットを装着したカラムです。今回はこのメタルフリーカラムを使用して、2型糖尿病マウスのリピドミクス解析を行いました。

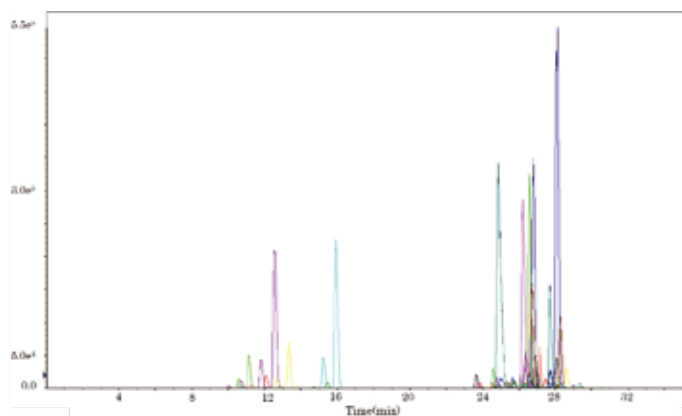


表1 リン脂質の検出数 (n=3)

| Criteria     | 脂肪 | 脳  | 血漿 | 腎臓  | 肝臓 |
|--------------|----|----|----|-----|----|
| S/N>3        | 92 | 93 | 84 | 100 | 99 |
| C.V.<15%     | 62 | 78 | 66 | 80  | 86 |
| t 検定 (<0.05) | 0  | 2  | 4  | 29  | 37 |

図2 マウス肝臓のリン脂質の抽出イオンクロマトグラム

マウスの組織からリン脂質を抽出し、LC-MS/MSで分析した結果、各組織から80成分以上のリン脂質が検出されました（図2、表1）。コントロールと2型糖尿病マウスそれぞれ3個体をt検定により比較したところ、腎臓及び肝臓で有意差のある分子が多数見つかりました。さらに解析を進めると、主にオレイン酸を含む分子種が増加し、リノール酸を含む分子種が減少していました。詳細は今後の検討が必要ですが、このような比較解析が高精度に実施できます。また、今回の移動相には揮発性のアセチルアセトンを追加することにより、吸着の起こりやすいホスファチジン酸とホスファチジルセリンの感度をそれぞれ7倍、5倍と向上させ、このシステムの高感度化の一翼を担っていました。さらに金属に吸着しやすいリン脂質の分析では*L-column2* メタルフリーカラムを用いることで高感度かつ再現よく分析することが可能です。実際に肝臓から検出することの難しい、3種のホスファチジン酸とホスファチジルセリンを検出することができました。

#### 4. オリゴヌクレオチドの分析例

DNA や RNA は、ヌクレオチド及びその誘導体により構成されています。これらを基本骨格とする医薬品を核酸医薬品と称し、mRNA などを標的にできることから、これまで治療が困難であった遺伝性疾患、がん治療、ウイルス性感染症の治療などへの効果が期待されます。核酸医薬品はヌクレオチド及び修飾型ヌクレオチドを化学合成により直鎖状に結合していきます。合成の過程で不純物としての  $n - 1$  欠損体が生じ、目的成分を得るためにはこの欠損体の分離が重要課題として挙げられています。また、オリゴヌクレオチドは負に解離することから正の電荷を持つイオン対試薬を用いて分析します。今回は、化学的耐久性の高い *L-column3* を用いてオリゴヌクレオチド混合物を分析しました。

##### 【分析条件】

カラム：*L-column3 C18*, 2  $\mu$ m

サイズ：2.1 mm I.D.  $\times$  50 mm L. Cat. No. 813140

溶離液：A：100 mmol/L Triethylamine acetate buffer (TEAA) (pH 7.0) / アセトニトリル (80/20)

B：100 mmol/L TEAA (pH 7.0)

A/B Gradient elution

温度：60℃、50℃、40℃

流速：0.5 mL/min

注入量：1  $\mu$ L

試料：Waters MassPREP OST Standard

\* 耐久性試験

溶離液：A：アセトニトリル

B：100 mmol/L TEAA (pH 7.0)

A/B Gradient elution

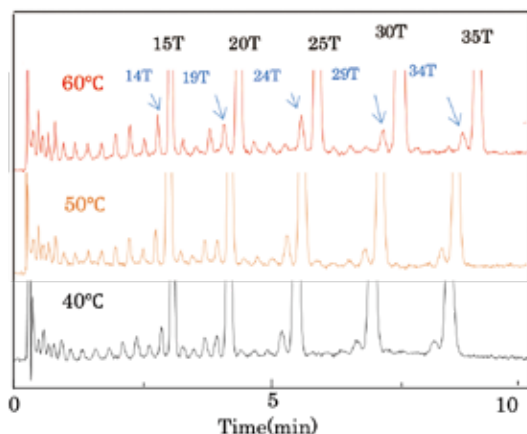


図3 各温度におけるオリゴヌクレチド分析

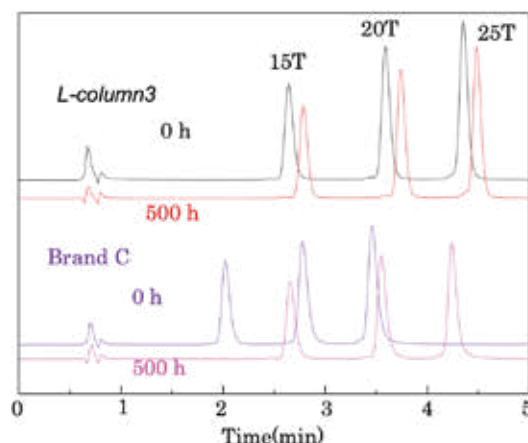


図4 耐久性試験

カラム温度を高くすることで、シャープなピークを得ることができ、 $n - 1$  欠損体との分離を改善することができました (図3)。カラム温度は一般的には室温から 40℃ に設定することが多いのですが、分子量の大きいペプチドやオリゴヌクレオチドはカラム内での拡散速度が上昇するため、ピークがシャープになります。しかし、カラム温度が高くなるとカラムの劣化が促進されます。一般的にオリゴヌクレオチドの分析で使用される pH 7 の 100 mmol/L トリエチルアミン - 酢酸 (TEAA) で長時間分析すると、カラムの劣化が進行し保持時間が遅延します。しかし、*L-column3* は PCS シリカと耐久型高度エンドキャッピングにより、基材の溶解を抑えられており、500 時間使用後も保持時間の遅延が少なく、長時間にわたり安定した分析が可能です (図4)。

#### 5. まとめ

*L-column* シリーズは、低吸着性と高耐久性を兼ね備えたカラムです。オミクス解析においても、堅牢な分析メソッドを提供できます。*L-column* シリーズが皆様のお役に立てるよう今後も様々な技術情報を提供していきます。

### 第 26 回化学物質評価研究機構研究発表会開催報告

本機構は、これまでに取り組んできた研究開発事業の研究成果を公表し、試験・評価方法の研究、開発及び科学技術の発展の推進に寄与することが重要と考え、平成8年から経済産業省のご後援のもと、研究発表会を開催しています。令和3年度の第26回研究発表会は、新型コロナウイルス感染予防の観点から、従来のような会場での発表ではなく、本機構のウェブサイトでプレゼンテーション動画として公開する形となりました。今回は、「AIを用いた高性能な魚類急性毒性予測モデルの構築」等の研究発表3題及び技術報告6題のプレゼンテーション動画及び要旨を、令和3年6月1日（火）から6月30日（水）の間で掲載しました。期間中は、多くの皆様にご覧いただき、誠にありがとうございました。次回は令和4年6月に開催を予定しています。開催方法等の詳細につきましては、改めてご案内します。

### CERI チャンネルの開設

令和3年6月1日に第26回化学物質評価研究機構研究発表会の開催に合わせ、本機構のウェブサイトに、動画を配信するページとして「CERI チャンネル」を開設しました。現在、本機構の紹介、化学物質管理、クロマトグラフィー用カラム及び材料・素材分析に関連した無料動画コンテンツをご用意しています。今後も動画コンテンツを追加していきますので、ぜひご覧ください。

CERI チャンネル URL: [https://www.cerij.or.jp/ceri\\_channel/index.html](https://www.cerij.or.jp/ceri_channel/index.html)



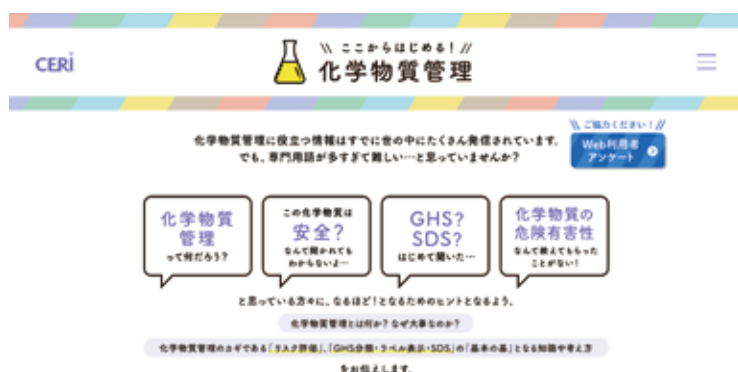
本機構ウェブサイト「CERI チャンネル」のページ（2021年9月現在）



## 「ここからはじめる！化学物質管理」ウェブサイトのご案内

本機構は、化学物質管理をこれから学ぶ方、担当する方への教育等に役立つ情報を発信する場として、ウェブサイト「ここからはじめる！化学物質管理」を公開しました。化学物質管理の必要性、リスク評価やGHS/SDS/ラベルの基礎について、動画等を用いて解りやすく紹介しています。リンク集や用語集も充実していますので、化学物質管理に携わる方の自習や化学物質管理になじみがない方への導入教育等にぜひご活用ください。

URL: <https://www.cerij.or.jp/chemical-management/index.html>



QRコード

「ここからはじめる！化学物質管理」のページ（2021年9月現在）

## 令和3年度 CERi 賞表彰報告

本機構の研究表彰事業である一般社団法人日本ゴム協会の CERi 若手奨励賞及び CERi 最優秀発表論文賞、日本環境毒性学会の CERi 学会賞の令和3年度受賞者（敬称略）は次のとおりです。

### 一般社団法人日本ゴム協会

第14回 CERi 若手奨励賞（令和3年5月）

受賞者：守谷（森棟）せいら（中部大学）

研究名称：「ナノフィラーの表面改質によるエラストマーの高機能・高性能化に関する研究」

第26回 CERi 最優秀発表論文賞（令和3年5月）

受賞者：星野 裕樹、野々川 舞（株式会社アシックス）

研究名称：「スポーツ用シューズ部材の接着評価方法」

第27回 CERi 最優秀発表論文賞（令和3年11月予定）

受賞者：齊藤 雅之（東京大学大学院）

研究名称：「スチレン系熱可塑性エラストマー SBS の超薄膜状態での力学特性」

### 日本環境毒性学会

第8回 CERi 学会賞（令和3年8月）

受賞者：渡部 春菜（国立研究開発法人 国立環境研究所）

研究名称：「Adverse Outcome Pathway を俯瞰した生態毒性評価・試験法の開発と毒性原因解析に関する研究」

## お知らせ

### 令和3年度 CERI 寄付講座 前期終了・後期開講

本機構は、化学物質等、製品の評価、管理技術の発展に貢献できる人材を育成することを目的とし、九州大学及び東京工業大学において寄付講座を開講しています。前期の講義には、多くの方に受講いただき誠にありがとうございました。後期の講義は次のとおり開催します。

#### ☆九州大学

九州大学大学院工学研究院応用化学部門主催の令和3年度 CERI 寄付講座「先端材料科学 ～設計、構造・物性から機能化まで～」の前期講義は、オンラインで実施しました。後期は10月2日に開講し、前期と同様にオンラインで講義を行っています。受講を希望される場合は、寄付講座の Web サイト ([http://www.cstf.kyushu-u.ac.jp/japanese\\_news/archives/85](http://www.cstf.kyushu-u.ac.jp/japanese_news/archives/85)) で講義内容、申し込み方法等についてご確認ください。

#### ☆東京工業大学

東京工業大学 物質理工学院 応化系・材料系主催の令和3年度 CERI 寄附講座「ゴム・プラスチックの安全、安心 –身の回りから最新の話題まで–」の前期講義は、オンラインで実施しました。後期は10月9日にオンラインで講義を開始しました。一部の講義は対面でも実施する予定です。申込方法等は、CERI 寄附講座の Web サイト (<http://www.ceri.mac.titech.ac.jp/>) をご確認ください。

### JASIS2021・JASIS WebExpo2021-2022 出展

一般社団法人日本分析機器工業会 (JAIMA)、一般社団法人日本科学機器協会 (JSIA) 主催の合同展は例年9月上旬に開催されますが、今年はオリンピックの影響もあり、11月8日 (月) から10日 (水) までの3日間、幕張メッセ国際展示場で開催される予定です。本機構からは、化学標準部が国立研究開発法人産業技術総合研究所と協力して「研究機関コーナー」に出展し、標準物質の紹介等を行います。

JASIS WebExpo は9月8日 (水) から2022年3月15日 (火) までの約6か月間、開催されています。今年は、クロマト技術部を中心に高分子技術部、環境技術部、化学標準部、安全性評価技術研究所が協力して JASIS WebExpo のバーチャル展示会場に出展しております。バーチャル展示会場には、クロマトグラフィーカラム、高分子材料・製品の試験、オミクス解析、PFOS 試験、医薬品とその不純物試験等の動画及び資料を配信します。さらに、JASIS WebExpo 内の新技術説明会会場においてセミナー動画を11月中旬から配信する予定です。

詳細は JASIS WebExpo のホームページをご覧ください。



CERi のバーチャル展示ブース

QR コード



JASIS WebExpo

URL: <https://www.jasis.jp/webexpo/>

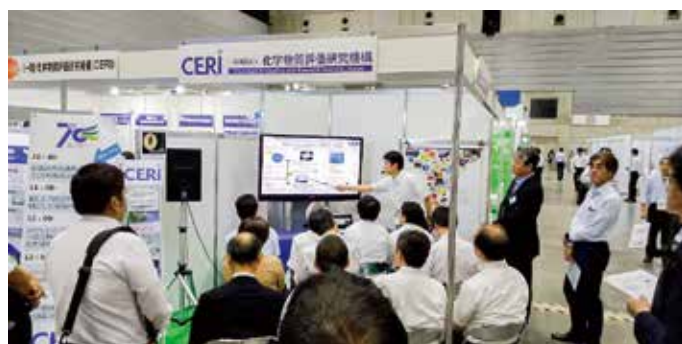
## ケミカルマテリアル Japan 2021 -ONLINE- 第7回 化学物質管理ミーティング出展

化学物質管理に関する国内唯一の展示会である化学物質管理ミーティング（化学工業日報社主催、<https://www.chemmate.jp/online>）が今年もオンラインで開催されます。開催期間は10月18日から10月29日です。前回、ケミカルマテリアル Japan 2020 として延べ約 37,000 人の来場がありました。これまでは予約で満席となっていた基調講演等も皆様ご視聴可能なため、大変ご好評いただいたようです。

Web 上の展示ブースでは、受託試験に関する資料をダウンロードしていただけるほか、マイクロプラスチックの規制動向、皮膚感作性試験、PFOA を含む PFAS 関連の規制動向とその分析、製品リスク評価に関するご紹介動画が期間中いつでもご覧いただけます。Web ならではの利点を生かし、多くの皆様に弊機構の業務をご紹介できるものと思います。関係職員一同、皆様のご参加をお待ちしています。

Web キャストのタイトル一覧（各 10 分程度です）

| No. | タイトル                                   |
|-----|----------------------------------------|
| 1   | CERi の化学物質管理まるごとサポート<br>CERi オンラインセミナー |
| 2   | 欧州マイクロプラスチック規制の動向                      |
| 3   | 皮膚感作性試験メニューの紹介                         |
| 4   | PFOA を含む PFAS 規制動向                     |
| 5   | PFAS 規制関連物質の分析について                     |
| 6   | CERi の製品中化学物質のリスク評価支援                  |



写真は前々回の横浜開催の様子

# 令和4年度 CERI 公募型研究助成の募集

本機構は、令和4年度 CERI 公募型研究助成のテーマを次の要領で募集します。

## 1. 研究助成の趣旨

化学物質の評価・管理技術の発展に資する研究を、大学又は公的研究機関の研究者から募集し、研究費の一部を助成します。

## 2. 対象分野

次の分野の研究を対象とします。

- ①ゴム、プラスチック等の高分子材料の評価技術
- ②環境分析、モニタリング技術
- ③標準物質の開発、評価技術
- ④化学物質の有害性評価、暴露評価及びリスク評価技術
- ⑤その他、化学物質の評価、管理に関連する技術

## 3. 応募資格

### 3.1 研究者

原則として、45歳以下(2022年4月1日時点)で、日本国内の大学又は公的研究機関に所属する研究者とします。

### 3.2 研究テーマ

申請する研究者が独自に行う研究であり、他

の機関からの委託研究や助成を受けている研究等と重複するものは対象外となります。

## 4. 研究期間

原則として契約日から2023年3月31日まで

## 5. 助成金額

1件当たり100万円以内

## 6. 助成対象費用

助成の対象となる費用は、研究の直接経費とし、研究実施者の人件費及び設備費は原則として対象外とします。

## 7. 応募期間

2021年12月1日～2022年1月31日(必着)

## 8. 応募方法

詳細は、10月中旬に本機構ホームページに掲載します。

## 9. お問い合わせ、応募書類提出先

〒112-0004

東京都文京区後楽1-4-25 日教販ビル7階  
一般財団法人化学物質評価研究機構

企画部企画課 担当：小野澤

Tel. 03-5804-6132 Fax. 03-5804-6139

## 各事業所連絡先

- 東京事業所  
Tel:0480-37-2601 Fax:0480-37-2521  
(高分子、環境、標準、クロマト、評価研)
- 名古屋事業所  
Tel:052-761-1185 Fax:052-762-6055
- 大阪事業所  
Tel:06-6744-2022 Fax:06-6744-2052
- 化学物質安全センター  
Tel:03-5804-6134 Fax:03-5804-6140
- 久留米事業所  
Tel:0942-34-1500 Fax:0942-39-6804
- 日田事業所  
Tel:0973-24-7211 Fax:0973-23-9800
- 安全性評価技術研究所  
Tel:03-5804-6135 Fax:03-5804-6139

## 編集後記

CERI NEWS 第92号をお届けします。巻頭言は「LC-MSを用いたプロテオーム解析の進歩」と題し、タンパク質の網羅的解析法における質量分析及び液体クロマトグラフィー用カラムの重要性について、新潟大学教授の松本雅記先生にご執筆いただきました。誠にありがとうございました。本機構が開発したL-columnシリーズには、プロテオーム解析に適したカラムもラインアップされていますので、是非ご活用ください。

本年も、新型コロナウイルスの影響で、各種イベントがインターネットツールを活用した形式で開催されています。本機構も、誌面で紹介したCERIチャンネルの他、寄付講座、化学物質管理ミーティング、JASIS等、インターネットツールを利用する活動を展開してまいります。順次本機構ホームページのTopics (<https://www.cerij.or.jp/>)でご案内しますので、ご確認ください。

(企画部 和田 丈晴)

<https://www.cerij.or.jp>

CERI NEWS 発行日 令和3年10月

編集発行 一般財団法人化学物質評価研究機構 企画部  
〒112-0004

東京都文京区後楽1-4-25 日教販ビル7F  
Tel:03-5804-6132 Fax:03-5804-6139  
E-Mail:cerinews@cerij.jp