

プロテオミクス受託解析の利用について

オープンファシリティセンター

20240208v1

目次

1. 利用手順	..2
2. サンプル調製について	..3
3. 分析装置	..4
4. プロテオミクス受託解析の料金と支払方法	..4
5. 免責事項	..4
6. 再解析	..4
7. 研究相談	..5

1. 利用手順

① 打ち合わせ

依頼内容・サンプル前処理について打ち合わせが必要です。

担当:西岡 (tomoki.nishioka@fujita-hu.ac.jp)、田中 (miho.tanaka@fujita-hu.ac.jp) 内線 : 9814 までご連絡ください。

② 日程調整

実験の目途が立ちましたら、日程調整を行います。

事前のご連絡なくサンプルをお持ち頂いても、お受け取りいたしかねます。

③ プロテオミクス受託解析依頼書・サンプル提出

オープンファシリティセンターのホームページから「プロテオミクス受託解析依頼書」をダウンロードしてください。 URL: <https://www.fujita-hu.ac.jp/~kyoriken/jyutaku/index.html>

必要事項を記入の上、サンプルと共に持って来て頂きます。

④ サンプル前処理・LC-MS 測定・Proteome Discoverer による解析

1~3 週間程度 (状況によりお時間を頂く場合があります)

⑤ 結果返却

報告書と解析結果 (.xlsx) をメールでお送りします。

受領した結果は速やかに内容を確認して頂きますよう、お願い致します。

LC-MS 測定データ (.raw) は容量が大きくメールに添付できませんので、ご都合が良い時にウイルスチェック済みの HDD をご持参の上、取りに来て頂いております。

*データは各自バックアップ作業をお願い致します。

当解析室では原則データを 3 年間保存し、期限を過ぎたデータは責任をもって消去させていただきます。

2. サンプル調製について

◇ サンプル前処理を依頼される場合

プロテオミクスのサンプル調製は複雑かつ標準化された方法が無く、プロトコールはサンプルの種類、目的に応じて異なります。その為、参考論文を探して頂き、タンパク質抽出に用いるバッファーや前処理方法は相談して決めていきます。

相談の結果、前処理内容によっては受託出来ない場合があります。予めご了承下さい。

受託内容

① In-gel digestion_ SDS-PAGE

必要サンプル量：タンパク質バンドが検出できていれば可能

前処理内容：ゲルの切り出し / 脱色 / 還元・アルキル化 / Trypsin 消化 / 脱塩

② In-solution digestion_ 細胞・組織のタンパク質抽出溶液

必要サンプル量：タンパク質 10 µg 以上 （目安：細胞 1×10^6 / 組織 10 mg）

*タンパク質定量は BCA assay など界面活性剤に対応する方法で行ってください

前処理内容：界面活性剤の除去 / 還元・アルキル化 / Trypsin 消化 / 脱塩

手法： SP3 法 [Nat Protoc. 2019 Jan;14(1):68-85.]

PTS 法 [J Proteome Res. 2008 Feb;7(2):731-40]

メタノールクロロホルム沈殿法 など

◇ LC-MS 測定のみを依頼される場合

タンパク質抽出に用いられる界面活性剤や塩は LC-MS に悪影響を及ぼします。

ご自身でサンプル前処理を行う場合、打ち合わせ時に調製方法のご提示をお願い致します。

また、サンプル injection 量の指定等は原則として受け付けません。

3. 分析装置

- ◇ Mass spectrometer : **Orbitrap Fusion** [Thermo Fisher Scientific]
HPLC : **EASY-n LC1000** [Thermo Fisher Scientific]
Trap column : Acclaim PepMap 100
Analytical column : EASY-Spray LC Columns

- ◇ Mass spectrometer : **Q Exactive** [Thermo Fisher Scientific]
HPLC : **Advance UHPLC** [Bruker-Michrom]
Trap column : MonoCap C18 Trap Column
Analytical column : MonoCap C18 Nano-flow 0.1x150mm

- ◇ Database search : **Proteome Discoverer 2.4** [Thermo Fisher Scientific]
Search engine : Sequest HT [Thermo Fisher Scientific] and/or Mascot [Matrix Science]

4. プロテオミクス受託解析の料金と支払方法

- ◇ プロテオミクス受託解析の料金

サンプル前処理

- | | |
|-----------------------------------|--------------|
| ① In-gel digestion_ SDS-PAGE のゲル | 2,600 円/サンプル |
| ② In-solution digestion_ タンパク抽出溶液 | 2,600 円/サンプル |

LC-MS 測定

Orbitrap Fusion

- | | |
|------------------------------|---------------|
| ① In-gel digestion サンプル | 9,900 円/サンプル |
| ② In-solution digestion サンプル | 13,900 円/サンプル |

Q Exactive

- | | |
|------------------------------|--------------|
| ① In-gel digestion サンプル | 7,000 円/サンプル |
| ② In-solution digestion サンプル | 7,000 円/サンプル |

- ◇ 支払方法

月ごとに料金の請求を行います。受付日の翌月上旬ごろに研究支援部 研究支援課から所属室へ請求依頼をお送りします。本学研究費、公的研究費などでの支払いが可能です。
お問い合わせは、研究支援課までお願い致します。

5. 免責事項

本受託解析は解析結果を保証するものではありません。

提出頂いたサンプルの品質により解析結果が得られない事があった場合、当解析室は一切の責任は負いません。この場合、利用料金は請求させていただきます。

6. 再解析

細心の注意を払って解析を行いますが、機器トラブル等によりサンプルが毀損する可能性もございます。その際は無償で再解析を行わせていただきますが、毀損によって生じたいかなる不利益に関しても責任は負いかねます。また、サンプルは再解析が可能な量を提出していただきます。

7. 研究相談

Proteome Discoverer2.4 の解析結果について、ご不明な点がありましたらお気軽にご相談ください。また、タンパク質抽出、タンパク質定量などの技術的な事に対して研究相談窓口をご用意しておりますので、是非ご利用ください。

連絡先： 西岡 (tomoki.nishioka@fujita-hu.ac.jp)

田中 (miho.tanaka@fujita-hu.ac.jp)

内線：9814