

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 オミックス解析室

20260701 ver.3

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	..5
6. 再解析	..5
7. 研究相談	..5

1. 利用手順

設備・機器共用システムで利用者登録をし、利用者 ID を取得する 以下の URL に記載の案内に従い登録をしてください。 URL: <https://www.fujita-hu.ac.jp/~kyoriken/system/index.html>

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。(大学 1 号館 3F 304 オミックス解析室)

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」(excel ファイル) に必要事項をご記入頂き、メールに添付してお送り下さい。 不明な箇所は、未記入で結構です。

URL: <https://www.fujita-hu.ac.jp/~kyoriken/jyutaku/index.html>

サンプルは大学 1 号館 3F 304 オミックス解析室にお持ちください。(平日 9:00~17:00)

④ サンプル前処理・LC-MS 測定・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、お願いいたします。

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/SSD 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いたします。

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 (目安：細胞 1×10^6 / 組織 10 mg)

液量 40~ µL (Max 100 µL)

*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.]

試料： タンパク質の量や濃度の調整は事前に行っていただく必要があります。

・タンパク質量 2-10 µg

・溶液量 40-100 µL

◇ 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いたします。

3. 分析装置

- ◇ HPLC : Vanquish NEO HPLC [Thermo Fisher Scientific]
Trap column : PepMap™ Neo trap cartridge
Analytical column : EASY-Spray LC Columns
Mass spectrometer : **Orbitrap Fusion** [Thermo Fisher Scientific]
*column の仕様は変更されている可能性があります。担当者に確認してください

- ◇ HPLC : Vanquish NEO HPLC [Thermo Fisher Scientific]
Analytical column : Aurora ULTIMATE
Mass spectrometer : **Orbitrap Astral Zoom** [Thermo Fisher Scientific]
*column の仕様は変更されている可能性があります。担当者に確認してください

- ◇ Database search : **Proteome Discoverer 2.4** [Thermo Fisher Scientific]
Search engine : Sequest HT [Thermo Fisher Scientific] and/or Mascot [Matrix Science]
- ◇ Database search : **Proteome Discoverer 3.3** [Thermo Fisher Scientific]
Search engine : Sequest HT and/or CHIMERYS[Thermo Fisher Scientific]
- ◇ Database search : **DIA-NN** <https://github.com/vdemichev/DiaNN>

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

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

Fusion : LC-MS 測定 (DDA / DIA)

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

Astral Zoom : LC-MS 測定 (DDA / DIA)

- | | |
|------------------------------|---------------|
| ・ In-gel digestion サンプル | 20,000 円/サンプル |
| ・ In-solution digestion サンプル | 20,000 円/サンプル |

- ◇ 支払方法

月末締めで翌月に利用料金の請求を行います。納品後の翌月上旬ごろに、研究支援推進本部事務部の研究支援課から所属室へ請求依頼をお送りします。請求をお急ぎの際はご相談ください。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いたします。

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

解析結果について、ご不明な点がござい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。