

プロテオーム解析 受託サービス キャンペーン

キャンペーン期間

2021 11.1 → 2022 2.28

定量プロテオーム解析

- iTRAQ®/TMT™ 試薬を用いた相対定量プロテオーム解析
- ヒト血清・血漿の相対定量プロテオーム解析
- リン酸化タンパク質相対定量プロテオーム解析

定性プロテオーム解析

- FFPE組織からのショットガン解析
- LC-MS/MSによるショットガン解析
- リン酸化ショットガン解析
- LC-MS/MSによるゲル内タンパク質同定

お 問 合 せ
お 見 積 り 依 頼

専用お問合せフォームからご検討内容をお知らせください。
営業担当または分析担当者より連絡させていただきます。





アンテグラルのプロテオーム解析。
30年に渡り培ってきた国内トップレベルの技術力と、
提案力で、お客様の研究をサポートします。

プロテオームとは、『すべてのタンパク質』を意味する言葉で、「すべての遺伝子」を意味するゲノムに対する造語です。ゲノムが一つの生物の持つ全ての遺伝情報を指すのに対し、プロテオームは細胞内で発現している全タンパク質のことを指します。タンパク質は生物の生命活動の中心的な役割を担っており、また、疾患等によって発現が変動するため、プロテオーム解析は、疾患研究や創薬研究において大きな情報となりえます。アンテグラルでは、前身であるアプロサイエンスの時代から含め、およそ30年に渡って、プロテオーム解析受託サービスをご提供して参りました。

『ユーザー様第一』『高品質』『誠実』 これらは私たちが大切にしてきたことです。

その結果、多くの皆さまから、「丁寧なコンサルティングで最適な分析を提案してもらいました」「質の高いサポートのおかげで研究が進みました」と信頼のお声をお寄せ頂くようになりました。私たちが専門的なサポートをさせてもらう事で、研究者の皆さまがご自身のコアな研究分野に専念していただき、結果として多くの研究が前へ進むことは、私たちの目標であり、喜びでもあります。初めてご検討されるお客様は、本当に大丈夫かな?と不安に思われることもあるかと思いますが、まずは、ご相談だけでも構いませんのでご連絡ください。きっと、アンテグラルに任せようと思っていただけです。

興味はあるけど・・・という方へ。

—□ 『プロテオーム解析個別オンラインセミナー』

プロテオーム解析にご興味をお持ちの方を対象にした『プロテオーム個別オンラインセミナー』を実施しています。実際に分析・解析を行う技術担当者から、個別対話型でご説明いたしますので、ご研究内容に必要な情報を効率よく収集して頂けます。ぜひご活用ください！

『自分の研究テーマにおいて、プロテオーム解析で何が分かるのか?』

『まだ具体的ではないけど、プロテオーム解析するなら、どんな準備を進めたらよいか知りたい』

私たちも、通り一遍の説明ではなく、個別対話型のセミナーならではの要望に沿った内容で、濃い話をできるように準備いたしますので、ぜひお申込みください。

詳細はこちらから



—□ 『無償トライアル試験』

こちらは、ご依頼を前提とした場合のご提案とはなりますが、分析を正式にご依頼いただく前の「無償トライアル試験」を承っております。これは、サンプルの一部をお預かりしてアンテグラルにて SDS-PAGE 等を実施し、その結果を踏まえ、最適な分析仕様や必要なサンプルの量について、コメントさせていただくものです。特に初めてご依頼頂く場合などにはご活用いただければと思います。お気軽にご相談ください。



プロテオーム解析受託サービス ラインナップ

定量プロテオーム解析

iTRAQ®/TMT™ 試薬を用いた 相対定量プロテオーム解析

キャンペーン
情報
P.4

iTRAQ®試薬あるいはTMT™試薬を用い、網羅的にタンパク質同定を行うと同時に、複数検体間での比較定量データを取得します。最大で16種類のサンプルを同時に分析することができるため、薬剤投与からのタイムコースや、病態変化に伴うタンパク質の発現変動解析などに応用することが可能です。

ヒト血清・血漿の相対定量プロテオーム解析

血清・血漿に含まれるタンパク質の同定と同時に、複数検体間で比較定量を行います。アルブミンやIgGのような存在量の多いタンパク質を取り除き、微量にしか含まれないタンパク質を精度よく同定・比較定量する系を確立しています。

キャンペーン
情報
P.6

リン酸化タンパク質発現・相対定量解析

生体内で生成されたタンパク質の中には、リン酸化修飾を受け、その機能や局在が調整されているものがあります。そのため、生体内タンパク質の機能を解明する上で、リン酸化修飾タンパク質にターゲットを絞ったプロテオーム解析は大変有用です。本サービスでは、iTRAQラベルしたペプチドをリン酸化濃縮し、分析を行います。また、非リン酸化ペプチドから得られる情報も非常に重要だと考えられますので、同時に相対定量を行えるワークフローを確立しています。

キャンペーン
情報
P.7

定性プロテオーム解析

FFPE組織からのショットガン解析

FFPE組織に含まれるタンパク質を網羅的に同定する分析手法です。アンテグラルではFFPEからのペプチド回収法を独自に確立し、貴重な臨床検体から最大限の情報を引き出します。

キャンペーン
情報
P.8

LC-MS/MSによるショットガン解析

組織・細胞や培養上清などから抽出した粗精製タンパク質画分を質量分析計を用いて、網羅的にタンパク質を同定する分析方法です。

キャンペーン
情報
P.10

リン酸化ショットガン解析

リン酸化タンパク質を含めて試料中のタンパク質を網羅的に同定する分析方法です。

キャンペーン
情報
P.10

LC-MS/MSによるゲル内タンパク質同定

電気泳動で分離したタンパク質を同定します。SDS-PAGEゲル内のタンパク質をプロテアーゼ処理し、得られたペプチドを質量分析計で検出します。質量分析計により得られたペプチドの質量、およびフラグメントイオンのスペクトルをデータベース検索することによりタンパク質を同定します。

キャンペーン
情報
P.12

定量プロテオーム解析

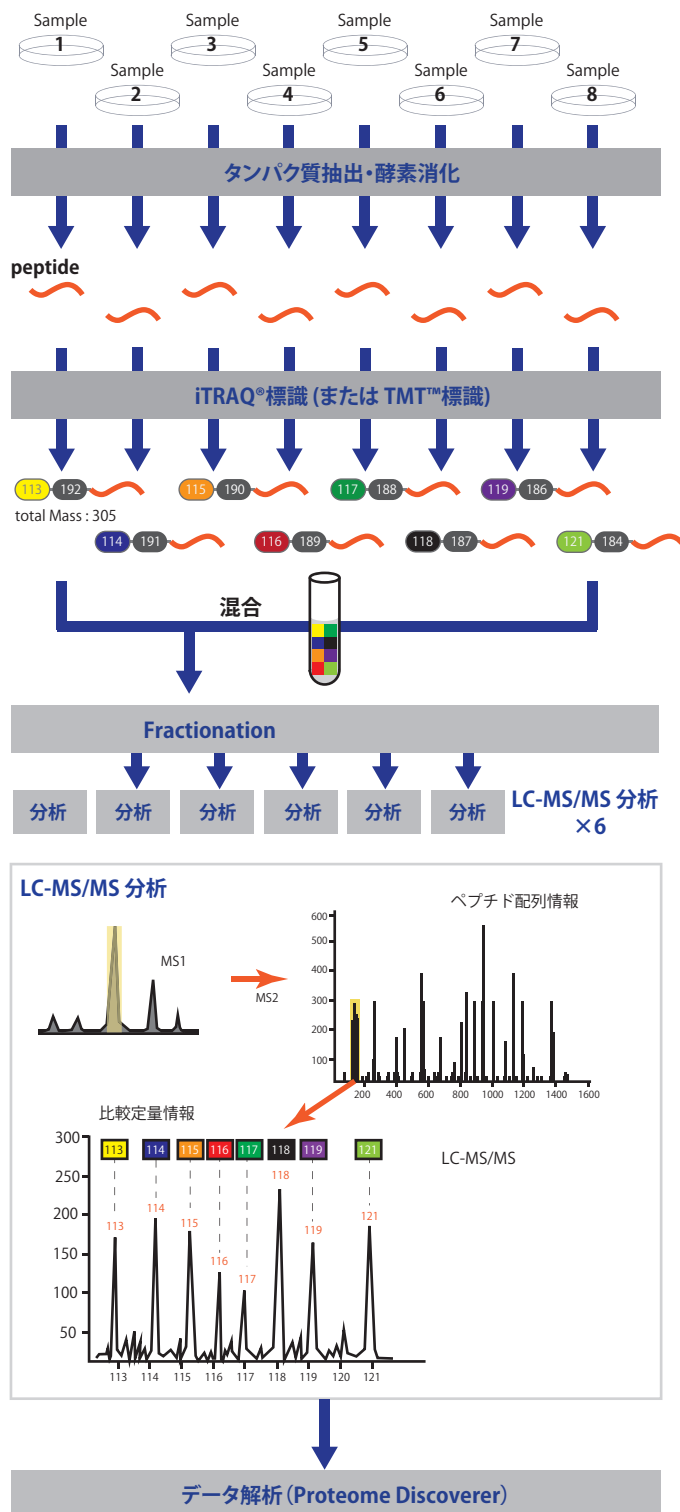
iTRAQ®/TMT™ 試薬を用いた相対定量プロテオーム解析

組織や細胞、培養上清などのサンプル中に含まれるタンパク質の網羅的な同定を行うと同時に、比較定量データを取得します。最大で16種類のサンプルを同時に同定・比較定量することができるため、薬剤投与からのタイムコースや、病態変化に伴うタンパク質の発現変動解析などに応用することが可能です。

右フローチャートでは、8種類の培養細胞サンプルを分析する場合について図説しています。まず、それぞれの検体からタンパク質を抽出・精製し、トリプシンを用いてペプチドに断片化します。得られた各検体由来のペプチドを iTRAQ® 試薬または TMT™ 試薬で標識します。この例の場合は、iTRAQ 試薬 (8-plex) を用いています。サンプル1由来の全てのペプチドは、「質量113のレポーター領域と質量192のバルンサー領域を持つ試薬」で標識されています。同様に、サンプル2由来のすべてのペプチドは、「114のレポーター領域と191のバルンサー領域を持つ試薬」、サンプル3, 4...も同様に、レポーター領域の質量が異なる試薬で標識されます。レポーター領域とバルンサー領域を足し合わせた質量はどの試薬も同じに設計されています。

これらを混合し、LC-MS/MS分析を行います。MS1では、ペプチドの質量にラベル質量を足したMSスペクトルが得られ、続いて、MS/MS分析を行うと、レポーター領域由来の113から121のピークが検出されます。このピークの強度の比から定量を行います。同時に、検出されたその他のピークからタンパク質同定を実施します。このように、MSスペクトルごとに、ペプチドの配列情報と検体間での比較定量値が得られ、それらを統合することで、どのような種類のタンパク質が存在しているか、また、その量が検体間で何倍であるのか、という情報が得られます。検体によって異なるので一概には言えないのですが、1,000~5,000種類のタンパク質の情報が得られます。

また、定量的なプロテオーム解析の結果を安定的に得るためには、再現性よくタンパク質を抽出し、ペプチド化すること(分析に供する前の処理)も大変重要です。アンテグラルの受託サービスでは、旧アプロサイエンス時代から含めてこれまでに様々な検体を取り扱ってきました。各種組織、培養上清等の希薄なタンパク質溶液、植物など夾雑物の多いサンプルなど、それぞれに前処理のコツがあります。それらのノウハウを活かして、ユーザー様それぞれの検体に最適な分析・解析を行います。



仕様

▶ 必要サンプル量

タンパク質 50 µg 以上

▶ 推奨サンプル形態

組織、細胞、培養上清、抽出液 等

※ 組織片の場合は数 mm 角程度、

培養細胞の場合は細胞数 10⁶ 程度を目安にご準備ください。

※ 溶液量は、数百 µL 以内を目安にご提供下さい。

▶ 納期

サンプルをお受け取りした日から、1.5~2ヶ月程度

※ サンプルを受け取るタイミングによっては、前後する場合があります。

▶ サービス内容

● サンプル前処理

↳ 組織等からのタンパク質抽出・精製

↳ サンプルQC (タンパク質定量・SDS-PAGE)

↳ 酵素消化・ラベル化・分画・精製

● LC-MS/MS分析

質量分析計: Q Exactive Plus (Thermo Fisher Scientific)

HPLC: EASY-nLC 1200 (Thermo Fisher Scientific)

● データ解析

↳ 同定タンパク質リスト

↳ 比較定量値リスト

▶ 価格

項目名	検体数	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
	2サンプル	¥1,000,000	
	3サンプル	¥1,420,000	¥1,295,000
	4サンプル	¥1,850,000	¥1,295,000
	5サンプル	¥2,185,000	¥1,529,000
	6サンプル	¥2,490,000	¥1,743,000
	7サンプル	¥2,760,000	¥1,932,000
	8サンプル	¥3,170,000	¥2,219,000
	9サンプル	¥3,546,000	¥2,484,000
	10サンプル	¥3,940,000	¥2,760,000
	11サンプル	¥4,334,000	¥3,030,000
	12サンプル	¥4,550,000	¥3,185,000
	13サンプル	¥4,700,000	¥3,290,000
	14サンプル	¥4,800,000	¥3,360,000
	15サンプル	¥4,900,000	¥3,430,000
	16サンプル	¥5,000,000	¥3,500,000

iTRAQ®/TMT™ 試薬を用いた相対定量プロテオーム解析

相対定量プロテオーム解析 FAQ

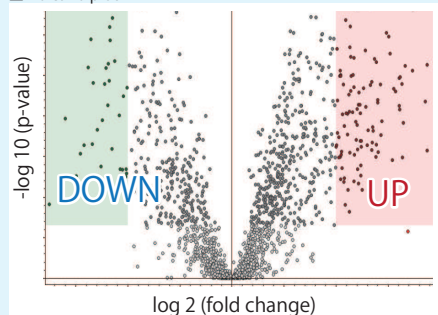
→ Q 相対定量プロテオーム解析の結果をどのような図で見ると分かりやすいか？

例えば、Volcano plot は、群間比 (fold change) と p 値 (有意差) の散布図ですが、この図のように、「有意に存在比が変化したタンパク質を網羅的に可視化すること」で、Up-regulated、Down-regulated の判別が容易になります。このプロットを描くためには、『p 値』の算出が必要となりますので、N=3 以上での分析が必要です (2 群間比較の場合、検体数は合計 6 となります)。

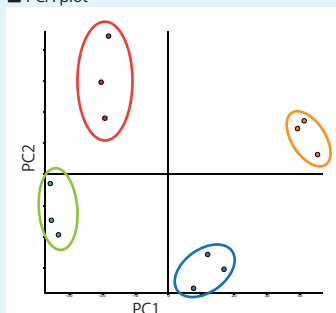
この他にも、ヒートマップや PCA Plot (主成分分析) など、視覚的に比較できる図を適宜作成可能です。

また、DAVID (無料で利用できるデータベースシステム) で、アノテーション情報を解析し、興味のあるタンパク質がパスウェイのどこに位置しているか等を解析することも可能です。

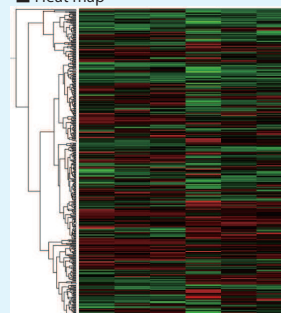
■ Volcano plot



■ PCA plot



■ Heat map



→ Q 得られたタンパク質リストには、どんなアノテーションが付くのか？

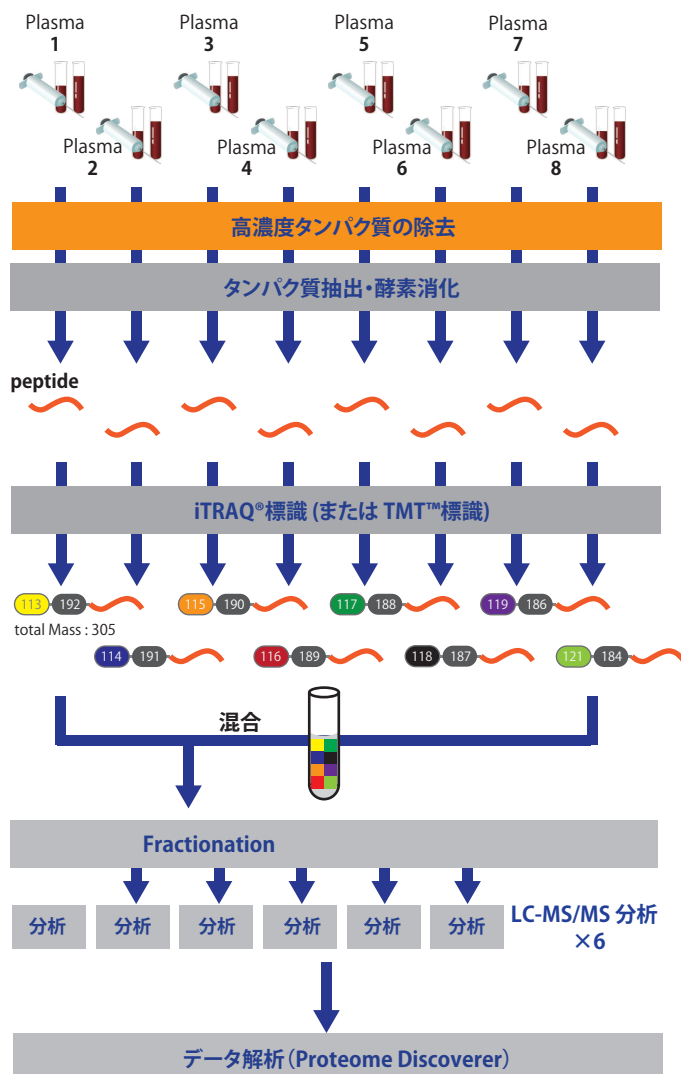
GeneSymbol、GO 情報、Description などが付随します。アノテーションの中で、よく利用されるのは、GO 情報です。GO とは gene ontology のことで、遺伝子の生物学的プロセス、細胞の構成要素および分子機能に着目して、遺伝子に付けられるアノテーションです。生物種に関係なく網羅的に生物学的現象を捉えるように設計されており、細胞死や細胞分化、防御応答などの biological process、ミトコンドリア・核・リボソームなどの Cellular component、抗酸化活性や DNA 結合、転写調節活性などの Molecular function の 3 つのサブカテゴリーに分類されています。

たとえば、「コントロール群と疾患群を比較して、○倍以上多くなったタンパク質では、防御応答や細胞シグナル伝達に関与するタンパク質が多く同定されている」というように、生体内の現象を把握する事ができます。

ヒト血清・血漿の相対定量プロテオーム解析

血清・血漿には、何千種類ものタンパク質が存在しており、その濃度の範囲は 10^{11} 程度と広いオーダーに渡っています。中でも、アルブミンやIgGに代表される存在量の多いタンパク質が数10種存在しています。それらのメジャーなタンパク質が血清・血漿中タンパク質の99%を占めており、バイオマーカー候補となるタンパク質等、多くの場合のご研究対象となるタンパク質は、1%程度しかないと考えられています。その1%の領域を定量的に探索するためには、存在量の多いタンパク質を除去する事が必要です。

アジレント社のMARS (Multiple Affinity Removal System) 等の手法を活用し、高濃度タンパク質を除去し、以降は前ページで紹介した、iTRAQ試薬やTMT試薬を用いた定量プロテオーム解析の実施する事で、血漿や血清サンプルの検体間の比較定量プロテオーム解析が可能です。



Q 血清・血漿サンプルはどのように保管しておくのが適切？

日本プロテオーム学会等が検証を行い、安定したプロテオーム解析を行うための生体試料の保管状態について、ベストプラクティス案が策定されています。それによりますと、血清・血漿の保管については、ベストなのは -80°C 保管である、とされているため、弊社でも -80°C を推奨しております。

価格

項目名	検体数	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
ヒト血清・血漿の相対定量プロテオーム解析	2サンプル	¥ 1,350,000	
	3サンプル	¥ 1,795,000	¥ 1,670,000
	4サンプル	¥ 2,250,000	¥ 1,695,000
	5サンプル	¥ 2,610,000	¥ 1,954,000
	6サンプル	¥ 2,940,000	¥ 2,193,000
	7サンプル	¥ 3,235,000	¥ 2,407,000
	8サンプル	¥ 3,670,000	¥ 2,719,000
	9サンプル	¥ 4,071,000	¥ 3,009,000
	10サンプル	¥ 4,490,000	¥ 3,310,000
	11サンプル	¥ 4,909,000	¥ 3,605,000
	12サンプル	¥ 5,150,000	¥ 3,785,000
	13サンプル	¥ 5,325,000	¥ 3,915,000
	14サンプル	¥ 5,450,000	¥ 4,010,000
	15サンプル	¥ 5,575,000	¥ 4,105,000
	16サンプル	¥ 5,700,000	¥ 4,200,000

仕様

必要サンプル量

ヒト血清・血漿 20 μL 以上 (マウス血清・血漿も対応可能です。)

納期

サンプルをお受け取りの日から、2~2.5ヶ月程度
※ サンプルを受け取るタイミングによっては、前後する場合があります。

サービス内容

- サンプル前処理
 - └ MARSカラム処理による高濃度タンパク質の除去
 - └ サンプルQC (タンパク質量・SDS-PAGE)
 - └ 酵素消化・ラベル化・分画・精製
- LC-MS/MS分析
 - 質量分析計: Q Exactive Plus (Thermo Fisher Scientific)
 - HPLC: EASY-nLC 1200 (Thermo Fisher Scientific)
- データ解析
 - └ 同定タンパク質リスト
 - └ 比較定量値リスト

リン酸化タンパク質の相対定量プロテオーム解析

生体内で生成されたタンパク質の中には、リン酸化修飾を受け、その機能や局在が調整されているものがあります。そのため、生体内タンパク質の機能を解明する上で、リン酸化修飾タンパク質にターゲットを絞ったプロテオーム解析は大変有用です。本サービスでは、iTRAQ® または TMT™ラベルしたペプチドをリン酸化濃縮し、分析を行います。

また、非リン酸化ペプチドから得られる情報も非常に重要だと考えられますので、同時に相対定量を行えるワークフローを確立しています。

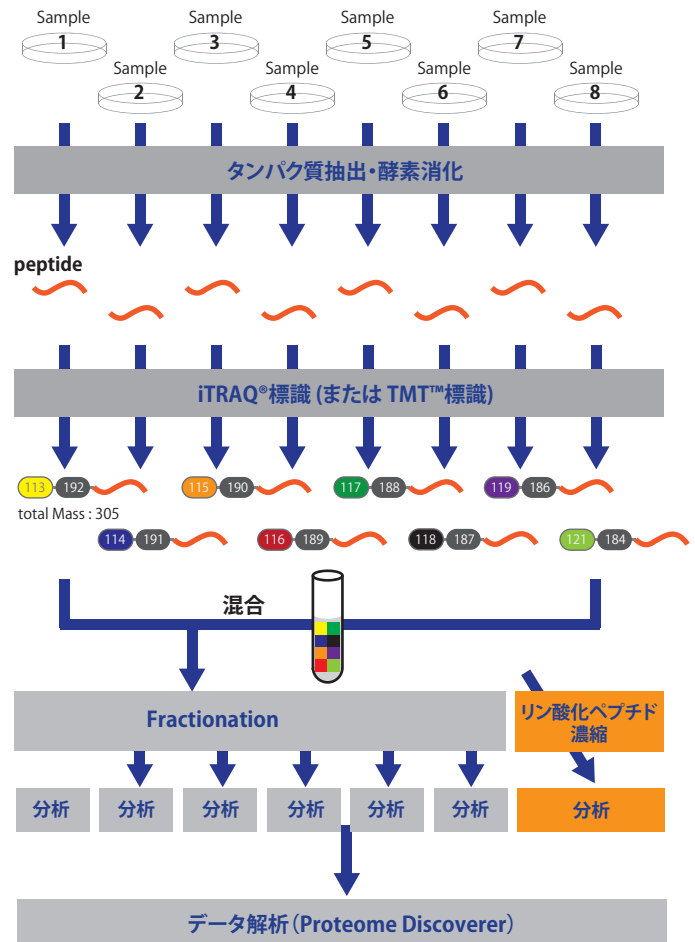
得られるデータ（タンパク質数）のイメージ

	同定・比較定量されたタンパク質数	同定・比較定量されたリン酸化タンパク質数
SCX 6 Fraction (統合解析)	4,000	100
リン酸化濃縮 Fraction	500	400

通常の iTRAQ 解析サービス

具体的には、ご提供頂いた試料からタンパク質抽出・精製を行い、酵素消化後に iTRAQ® または TMT™ラベルを行います。ラベル化されたペプチドを混合した後、一部を SCX によって 6 分画し、残りすべてはリン酸化ペプチド濃縮を行います。得られた 7 つのフラクション（SCX 6 分画+リン酸化濃縮）について、それぞれに LC-MS/MS 分析を行い、統合解析を行います。

解析結果は、SCX 6 Fraction を統合した結果、リン酸化濃縮 Fraction のみの結果、SCX 6 Fraction とリン酸化濃縮 Fraction の 7 つを統合した結果等、ご要望に応じて納品させていただきます。



価格

項目名	検体数	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
リン酸化タンパク質の相対定量プロテオーム解析	2サンプル	¥1,420,000	¥1,295,000
	3サンプル	¥1,850,000	¥1,295,000
	4サンプル	¥2,185,000	¥1,529,000
	5サンプル	¥2,490,000	¥1,743,000
	6サンプル	¥2,760,000	¥1,932,000
	7サンプル	¥3,170,000	¥2,219,000
	8サンプル	¥3,546,000	¥2,484,000
	9サンプル	¥3,940,000	¥2,760,000
	10サンプル	¥4,334,000	¥3,030,000
	11サンプル	¥4,550,000	¥3,185,000
	12サンプル	¥4,700,000	¥3,290,000
	13サンプル	¥4,800,000	¥3,360,000
	14サンプル	¥4,900,000	¥3,430,000
	15サンプル	¥5,000,000	¥3,500,000
	16サンプル	¥5,100,000	¥3,570,000

仕様

- ▶ 必要サンプル量
タンパク質 200 µg 以上
- ▶ 推奨サンプル形態
組織、細胞、培養上清、抽出液等
※ 組織片の場合は数 mm角 程度、
培養細胞の場合は細胞数 10⁶ 程度を目安にご準備ください。
※ 溶液量は、数百 µL 以内を目安にご提供下さい。
- ▶ 納期
サンプルをお受け取りの日から、1.5~2ヶ月程度
※ サンプルを受け取るタイミングによっては、前後する場合があります。
- ▶ サービス内容
 - サンプル前処理
 - ↳ 組織等からのタンパク質抽出・精製
 - ↳ サンプルQC (タンパク質定量・SDS-PAGE)
 - ↳ 酵素消化・ラベル化・分画・リン酸化ペプチド濃縮・精製
 - LC-MS/MS分析
質量分析計: Q Exactive Plus (Thermo Fisher Scientific)
HPLC: EASY-nLC 1200 (Thermo Fisher Scientific)
 - データ解析
 - ↳ 同定タンパク質リスト
 - ↳ 比較定量値リスト

定性プロテオーム解析

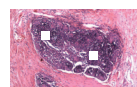
FFPE組織からのショットガン解析

臨床現場等で採取された FFPE 組織は、サンプルが良好な状態で保存されており、また、疾患の進行度などの臨床的情報が付随しています。これらのプロテオーム解析を行うことで、新しいバイオマーカーの発見につながる可能性があります。注目されています。

アンテグラルでは、FFPE からのペプチド回収法を独自に確立しています。この方法により、ホルマリンによるクロスリンクを効率よく外し、ペプチドを高収率で回収します。また、FFPE サンプルでは、さまざまな修飾を受けている可能性があります。それらを考慮した解析を行う事で、貴重な検体から最大限の情報を引き出します。

仕様

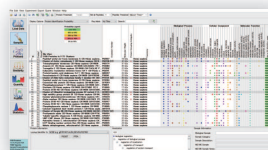
- ▶ 推奨サンプル形態／サンプル量
体積80 nL (例: 厚さ 10 μm, 2 mm x 4 mm) 以上のFFPE組織切片 (HE染色を推奨。その他の染色方法についてはご相談ください)
- ▶ 納期
サンプルをお受け取りの日から、1.5~2ヶ月程度
※ サンプルを受け取るタイミングによっては、前後する場合があります。



FFPE 組織切片 (HE 染色)

タンパク質抽出・酵素消化 & トリプシン消化

LC-MS/MS 分析



- ・ 同定タンパク質リスト
- ・ GO 情報
- ・ サンプル間比較 (複数のサンプルの場合)

価格

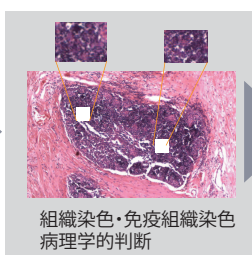
項目名	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
FFPE組織からのショットガン解析	¥500,000	¥298,000

分析・解析オプションのご案内 ~ 目的部位によりフォーカスした解析のために

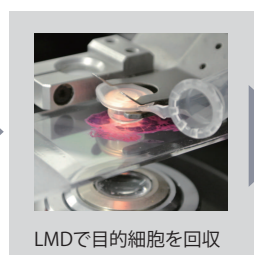
FFPE切片からプロテオーム解析をお考えになる場合、併せてぜひご検討いただきたいのが、レーザーマイクロダイセクションを用いて特定部位を切り出し、その部位のみのプロテオーム解析を実施する事です。レーザーマイクロダイセクション (LMD) は、目的の組織・領域を顕微鏡下で観察・確認しながら、レーザーで切り出して回収する手法です。摘出した臓器から、必要な領域のみを切り出して解析に使用することで、周辺領域に由来するバックグラウンドを低減し、特異性の高いデータを取得することが可能になります。



臓器の摘出・固定、ブロック作製、切片作製



組織染色・免疫組織染色 病理学的判断



LMDで目的細胞を回収



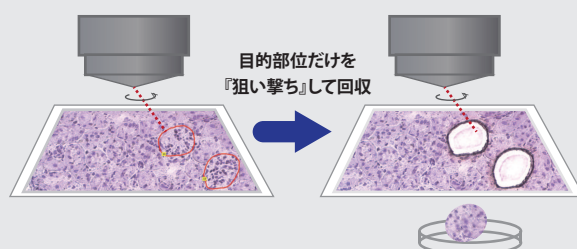
プロテオーム前処理

プロテオーム解析

■ レーザーマイクロダイセクション ¥148,000~

切り出したい領域を画像や図でご指定ください。弊社提携先の熟練の作業者が、薄切・染色したスライドを観察・画像取得し、ご希望の切り出し領域を確認いたします。

切り出し領域が確定しましたら、最適な切片の厚さやレーザー強度を検討し、本試験を実施いたします。切り出した断片をプロテオーム解析の前処理に最適な溶液に回収し、以降の操作を進めます。



分析・解析オプションのご案内 ～ 目的部位によりフォーカスした解析のために

さまざまな組織標本から必要な部位のみを切り出した実績がございます。お気軽にご相談ください。

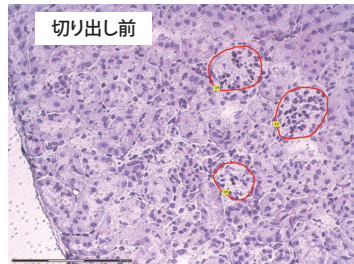


切り出し前

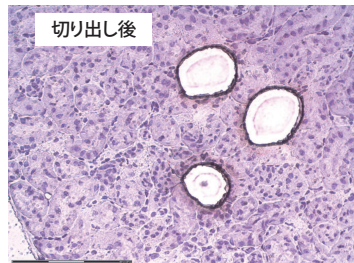


切り出し後

がん組織からがん細胞を回収する

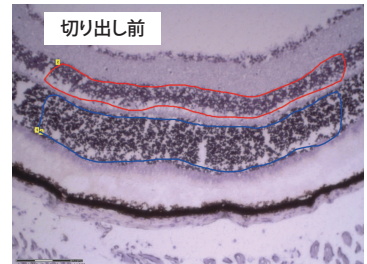


切り出し前

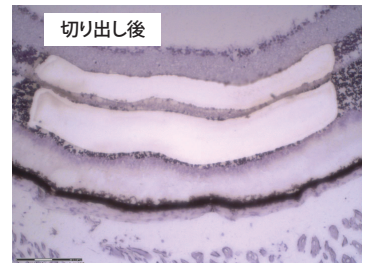


切り出し後

腎臓から糸球体を回収する



切り出し前



切り出し後

網膜から特定の領域を回収する

レーザーマイクロダイセクション FAQ

→Q レーザーマイクロダイセクションでは、どれくらいのサイズを切り出すことが可能ですか？

レーザーマイクロダイセクションに使用するレーザーの幅は、約 6 μm 程度になりますので、切り出す際には、最低でも数十細胞程度は必要となります。1細胞を切り出すことも可能ですが、周辺の細胞はレーザーで消失し、目的の細胞にも切り出しにおける熱の影響があると思われるので、質の高いタンパク質サンプルを調製することは困難です。

→Q サンプルの準備について ～ホルマリン固定時間に指定はありますか？

プロテオーム解析を行う場合には、固定時間は72時間以内を強く推奨しております。
ホルマリンによってタンパク質がランダムに架橋されてしまい、酵素消化効率が下がったり、修飾によりデータベース検索にからなくなり同定に至らない可能性が高くなるためです。
と、いう情報があるものの、アンテグラルで実際に実施したプロテオーム解析の実績としては、1週間程度、1ヶ月以上といった、一般には『過固定』とされるような検体でも、良好に分析が出来たケースもあります。ぜひご相談ください。

→Q サンプルの準備について ～染色方法に指定はありますか？

プロテオーム解析を行う場合、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を推奨しております。その他の染色方法については、ご相談ください。

→Q ブロック作製や薄切・染色も依頼できますか？

切片作製や薄切・染色の各種受託サービスもご提供しておりますので、ワンストップでご依頼いただく事もぜひご検討ください。

LC-MS/MSによるショットガン解析

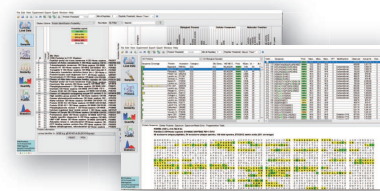
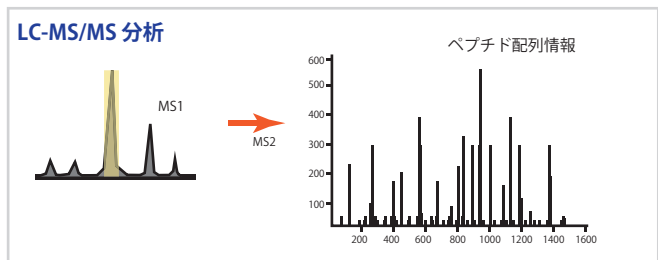
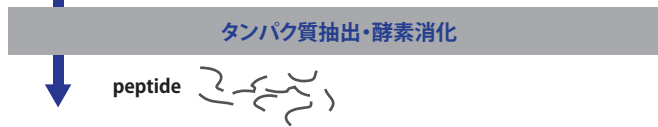
組織・細胞や培養上清などから抽出した粗精製タンパク質画分を質量分析計を用いて、網羅的にタンパク質を同定する分析方法です。組織、細胞や培養上清に含まれるタンパク質について、一度の分析で網羅的に「顔ぶれ」を見たい場合や、タンパク質複合体のコンポーネントを網羅的に見たい場合などにご活用いただけます。目安として、一度の解析で、数100~2,000程度のタンパク質が同定できます。

仕様

- ▶ **必要サンプル量**
タンパク質 10 µg 以上
- ▶ **推奨サンプル形態**
組織、細胞、培養上清、抽出液 等
※ 組織片の場合は数 mm角 程度、
培養細胞の場合は細胞数 10⁶ 個 程度を目安にご準備ください。
※ 溶液量は、数百 µL 以内を目安にご提供下さい。
- ▶ **納期**
サンプルをお受け取りの日から、1.5~2ヶ月程度
- ▶ **サービス内容**
 - サンプル前処理
 - ↳ 組織等からのタンパク質抽出・精製
 - ↳ サンプルQC (タンパク質定量・SDS-PAGE)
 - ↳ 酵素消化・分画・精製
 - LC-MS/MS分析
質量分析計: Q Exactive Plus (Thermo Fisher Scientific)
HPLC: EASY-nLC 1200 (Thermo Fisher Scientific)
 - データ解析

価格

項目名	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
LC-MS/MSによるショットガン解析	¥500,000	¥298,000



- 同定タンパク質リスト
- GO 情報 (SwissProt をデータベースに使用した場合)
- サンプル間で共通したタンパク質の確認 (複数のサンプルを統合して解析を行った場合)

リン酸化ショットガン解析

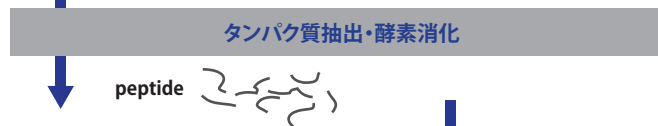
リン酸化タンパク質を含めて、試料中のタンパク質を網羅的に同定する分析方法です。組織や細胞からタンパク質を抽出し、酵素消化で得られたペプチドの一部はそのまま、残りはリン酸化ペプチド濃縮を行います。これら二つを別々に LC-MS/MS 分析・解析する事で、リン酸化タンパク質も含めた「タンパク質の顔ぶれ」を見る

仕様

- ▶ **必要サンプル量**
タンパク質 200 µg 以上
- ▶ **推奨サンプル形態**
組織、細胞、血清、培養上清、抽出液 等
- ▶ **納期**
サンプルをお受け取りの日から、1.5~2ヶ月程度
※ サンプルを受け取るタイミングによっては、前後する場合があります。

価格

項目名	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
リン酸化 ショットガン解析	¥600,000	¥398,000



- 同定タンパク質リスト
- GO 情報 (SwissProt をデータベースに使用した場合)
- サンプル間で共通したタンパク質の確認 (複数のサンプルを統合して解析を行った場合)

LC-MS/MS によるショットガン解析 FAQ

Q サンプル量がどうしても足りない…。規定量に満たなくても分析できる？

ショットガン解析に必要なタンパク質量としては、10ug 程度をお願いしております。実際に分析に供するタンパク質（ペプチド）の量としては、2ug 程度でよいのですが、通常、検体受け入れ時に電気泳動を実施し、その後、プロテオーム解析に適したバッファーに置換を実施、バッファー置換後に再度、電気泳動やタンパク質量を行って、と工程を経てから分析を行います。最適な分析を実施する目的で、このようなクオリティチェックを行っており、そのために、実際に最低限必要な量より多くご提供をお願いしているところです。

ただ、限られた量しかない検体の場合は、クオリティチェックを最低限にして（あるいは実施せずに）、お送り頂いた検体すべてを分析に供するような対応も可能ですので、ぜひご相談ください。

なお、分析に供する量が、標準として設定している量より少ない場合にどのような影響が考えられるか、という点についてもご質問を頂く事がございますが、特に、検出限界ぎりぎりの微量にしか含まれないタンパク質では、分析に供する量が減った事で同定されなくなる、などの影響はあると思われます。有用な情報を得て頂くためにも、出来る限りサンプル量を確保頂ければと思います。

Q アミノ酸置換が起こっていると想定される。考慮した検索は可能？

プロテオーム解析では、得られたデータと登録したデータベースを照合し、配列を決定いたします。そのため、基本的な考え方としては、データベースにないものは同定できません。もし、どのアミノ酸がどの変異を受けるか、という情報があれば、それらも含めてデータベース登録し、それらに対して検索を行う事で、得られたデータにその変異ペプチドが含まれるか照合する事はできます。

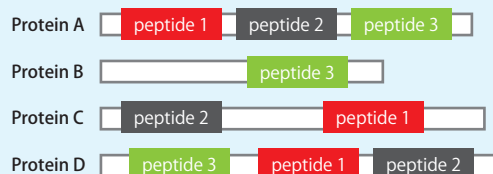
また、予測できないアミノ酸置換がある場合には、「Error tolerant 検索」という手法が使える場合もあります。Error tolerant 検索は、検索ソフト Mascot の機能のひとつで、同定されたタンパク質に対して、Mascot Server が持っている全ての修飾を使ってマッチングの判定を行います。これにより、例えば、『アミノ酸置換』『予期せぬ修飾』『予期せぬ非特異的なペプチド切断』など、データベースとサンプルの配列が一致しない場合に有効です。この手法を用いれば、予想外の変異があっても同定できる可能性もあります。ただし、同じペプチド上に複数の変異や修飾が重なって生じている場合、同定が難しくなる場合もございます。

Q 同定性の高いタンパク質がある場合、きちんと同定できるのか？

質量分析によるタンパク質の同定とは、実際には一番もっとうまいペプチドの割り当て（アサイン）であり、その結果から推定したタンパク質を出力しています。そのため、ペプチドが同定基準を超えていても同定されたタンパク質が試料内に必ず存在するとは限りません（右図参照）。

また、コンタミタンパク質由来のペプチド、例えば培養細胞をサンプルとした場合の培地成分、など他生物種のペプチドであっても相同配列がアサインされることによって実際には含まれていないタンパク質が同定される場合もあります。

Peptide 1 ~ 3 が同定された場合、Protein A、D が存在する可能性が最も高いですが、Protein B や C についてはあるともないとも言いきれません。Protein A とペプチドのヒットの仕方が同じである Protein D については区別がつけられません。



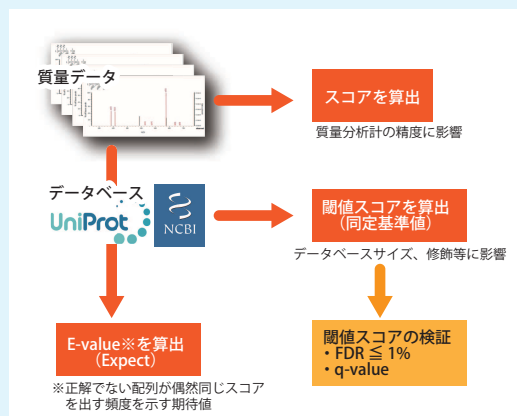
Q タンパク質同定の基準は何ですか？

同定タンパク質については、Scaffold ファイル形式で報告いたしますが、Scaffold で表示されているタンパク質はすべて Mascot 同定基準を超えたものとなります。Mascot では、「同定基準を超えたペプチドが 1 つ以上アサインされたタンパク質」を『同定タンパク質』としています。同定基準を超えたペプチド（同定ペプチド）とは、質量分析計により得られた質量データをもとに算出されるスコアがデータベースより算出される閾値スコア以上であること、および E-value が 0.05 以下であることの両方を満たすペプチドです。

なお、HUPO（プロテオーム学会）が推奨している、論文投稿時のガイドラインが下記となります。

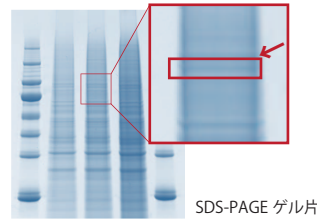
https://www.hupo.org/resources/Documents/HPPMSDataGuidelines_3.0.0.pdf

アンテグラルでは、この基準に準じた解析をしています。



LC-MS/MSによるゲル内タンパク質同定

電気泳動で分離したタンパク質を同定する分析サービスです。SDS-PAGEゲル内のタンパク質をプロテアーゼ処理し、得られたペプチドを質量分析計で検出します。質量分析計により得られたペプチドの質量、およびフラグメントイオンのスペクトル (MS/MSデータ) をデータベース検索 (Mascot サーチ) することによりタンパク質を同定します。

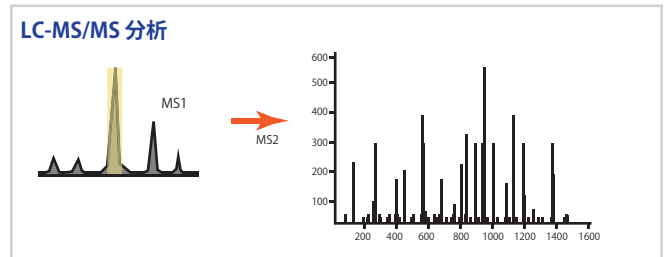


SDS-PAGE ゲル片

タンパク質抽出・酵素消化



LC-MS/MS 分析



- ・同定タンパク質リスト
- ・GO 情報
- ・サンプル間比較 (複数のサンプルの場合)

仕様

▶ 必要サンプル量

- ゲル片 (タンパク質 25 fmol 以上)
- ・ゲル片量の目安: 5,6 レーン以下 (12ウェルのミニゲルの場合)
- ・推奨染色法: CBB染色、銀染色 (質量分析用)、蛍光染色

▶ 納期

- サンプルをお受け取りの日から、3~4週間程度
- ※ サンプルを受け取るタイミングによっては、前後する場合があります。

▶ サービス内容

- サンプル前処理
 - ↳ 酵素消化・精製
- LC-MS/MS分析:
 - 質量分析計: Q Exactive Plus (Thermo Fisher Scientific)
 - HPLC: EASY-nLC 1200 (Thermo Fisher Scientific)
- データ解析
 - ↳ 同定タンパク質リスト

▶ 価格

項目名	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
LC-MS/MSによるタンパク質同定	¥210,000	¥189,000
	(4検体以上)	¥148,000

分析・解析オプションのご案内 ~ゲル内タンパク質のより詳細な解析のために

"タンパク質同定"を目的とした場合では、そのタンパク質にしか含まれていないような特異的なペプチド断片をひとつでも同定できれば、そのタンパク質が存在している証拠となり目的が達成されますが、修飾部位など特定の場所を特に検出したい目的の場合「どこかひとつ」ではなく、その特定の部位を検出できるように工夫が必要です。そのためのオプションを準備しています。また、変異部位を探索する目的で出来るだけ多くのペプチド領域を同定したい場合などにもご活用ください。

■ 消化酵素の追加 ¥30,000/条件

通常のタンパク質同定目的の場合には、消化酵素としてトリプシン (LysとArgのC末端側を切断) を使用しますが、得られるペプチドが必ずしも質量分析に適した長さとはなりません。そこで、同じサンプルに違う消化酵素 (たとえば、キモトリプシン: Phe, Tyr, TrpのC末端側を切断) を作用させて得たペプチドも別途分析し、トリプシン消化で得られた結果と統合して解析することで、カバー率を上げる事が期待できます。

■ 分析条件の変更 ¥30,000/検体

HPLCの条件 (グラジエント等) を変更することが可能です。通常のタンパク質同定目的の分析の場合と比べ、グラジエント勾配を緩やかにすることで分離が向上し、より多くのペプチドを分析・同定できる可能性があります。

■ SDS-PAGE ¥60,000/泳動ゲル1枚分

電気泳動サンプルの調製・泳動・最適な染色方法での染色・目的バンドの切り出し操作を含みます。
『必要機器が手元にない』『操作に不安がある』『時間がない』などの場合、ぜひ私たちにおまかせください。



株式会社アンテグラル
〒771-0360
徳島県鳴門市瀬戸町明神
字板屋島 124-4

<https://bio.integrale.co.jp/>

- Mail: bio@integrale.co.jp
- Tel: 088-683-7211
- Fax: 088-683-7212

[注意事項] 希望販売価格は参考であり、販売店からの販売価格ではありません。記載の希望販売価格は2021年11月1日現在の希望販売価格です。予告なしに改定される場合がありますので、ご注文の際にご確認ください。

販売店