

# 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：2022年6月20日～9月30日

## 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

旧 アンテグラル・バイオサイエンス事業部は、2022年4月1日から、  
株式会社ファーマフーズ（京都市）の一事業部 アプロサイエンスグループとして  
新たなスタートを切りました。

アプロサイエンス時代から提供しております受託サービス、ならびに研究用試薬の事業はすべて継続し、  
ライフサイエンス研究者の皆さまのお役に立てる事業であり続けたいと考えております。  
株式会社ファーマフーズ・アプロサイエンスグループとして、これまで通りに、これまで以上に、  
ご支援・お付き合いを宜しくお願い致します。

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・バイオサイエンス事業部は

## 株式会社ファーマフーズ 『アプロサイエンスグループ』として 新たなスタートをきりました

<https://apro-s.com/>

ファーマフーズは、ストレス緩和・リラックス・疲労感の軽減の効果でチョコレートや飲料等に配合されている GABA を主力とし多くの機能性素材を開発・販売しています。また、通信販売事業では、独自の機能性素材を配合した最終製品を販売しております。近年の大ヒット商品である 育毛剤 ニューモ は、CM 等でご覧になられることもあるかもしれません。そして、私達が参画するバイオメディカル部は、独自の抗体作製技術「ALAgene® technology」を用いた創薬事業を行っております。最近の成果としては、自己免疫疾患の創薬標的分子に対する抗体を大手製薬企業に導出してしております。これらの事業を拡大・発展させる道筋において、私たちのプロテオーム解析技術が高く評価され、今回の事業統合に至りました。

旧 株式会社アプロサイエンスの時代から 30 年に渡ってご提供して参りました、プロテオーム解析を中心とした受託サービスや研究用試薬の事業は、すべて継続し、引き続き研究者の皆さまのお役に立てる事業であり続けたいと考えております。なお、今後の事業組織の呼称は、原点に立ち戻り、アプロサイエンスといたします。『国内トップレベルの実績と技術力』と紹介いただけるこの名称に相応しい事業であり続けられるよう、担当者一同、全力で取り組んで参りたいと思っております。

株式会社ファーマフーズ・アプロサイエンスグループとして、これまで通りに、これまで以上に、お付き合いを宜しくお願いします。





# アプロサイエンスのプロテオーム解析受託サービス

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。私たちは、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』 これらは私たちがずっと変わらず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、ご相談だけで構いませんのでご連絡ください。

## 多様な検体に 豊富なノウハウで対応。

- 組織や細胞 ホールライゼート
- 液性検体(血清・血漿、各種体液)
- FFPE組織
- 免疫沈降サンプル
- SDS-PAGE ゲル内タンパク質

## 最適な分析方法をご提案

- より定量的な分析方法
- TMTラベル試薬を用いた方法
  - ラベルフリー定量
  - タンパク質同定・セミ定量
- より定性的な分析方法

## 解析データの解釈をお手伝い

- Volcano plot や PCA plot の作成
  - クラスタ解析
  - GO解析 等
- 取得されたデータを最大限活用するためのサポートをいたします。

この冊子に掲載している受託サービス項目は、言わば『代表的な仕様』です。目的やサンプルの状況、ご予算、スケジュール等をお伺いして最適な組合せでご提案いたします。

## 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ご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。



### —□ 『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。



# 定量プロテオーム解析

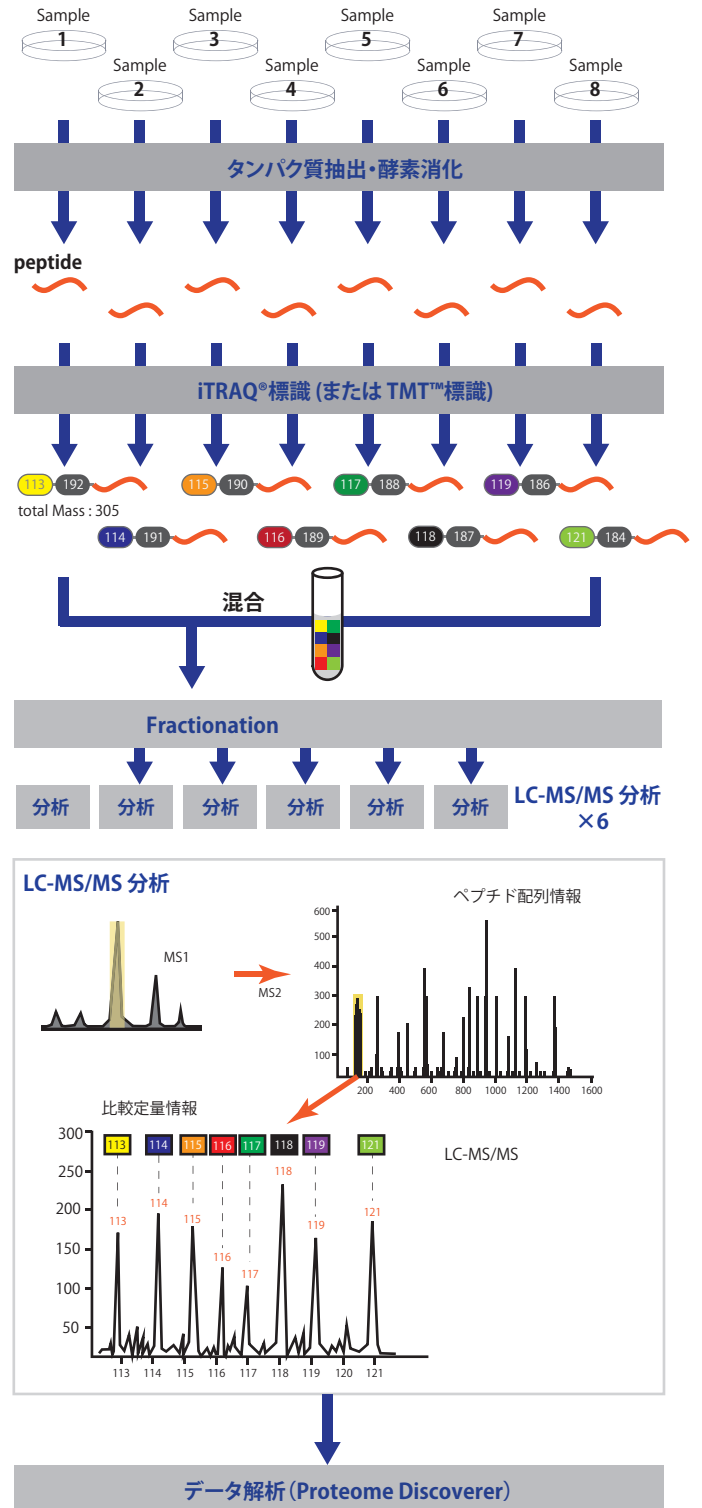
## iTRAQ®/TMT™ 試薬を用いた相対定量プロテオーム解析

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。弊社では、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。



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

FFR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

リン酸化タンパク質の  
ショットガン解析

LC-MS/MSによる  
ゲル内タンパク質同定

## 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 10<sup>6</sup> 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	<del>¥ 1,420,000</del>	¥ 1,295,000
	4サンプル	<del>¥ 1,850,000</del>	¥ 1,295,000
	5サンプル	<del>¥ 2,185,000</del>	¥ 1,529,000
	6サンプル	<del>¥ 2,490,000</del>	¥ 1,743,000
	7サンプル	<del>¥ 2,760,000</del>	¥ 1,932,000
	8サンプル	<del>¥ 3,170,000</del>	¥ 2,219,000
	9サンプル	<del>¥ 3,546,000</del>	¥ 2,484,000
	10サンプル	<del>¥ 3,940,000</del>	¥ 2,760,000
	11サンプル	<del>¥ 4,334,000</del>	¥ 3,030,000
	12サンプル	<del>¥ 4,550,000</del>	¥ 3,185,000
	13サンプル	<del>¥ 4,700,000</del>	¥ 3,290,000
	14サンプル	<del>¥ 4,800,000</del>	¥ 3,360,000
	15サンプル	<del>¥ 4,900,000</del>	¥ 3,430,000
	16サンプル	<del>¥ 5,000,000</del>	¥ 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

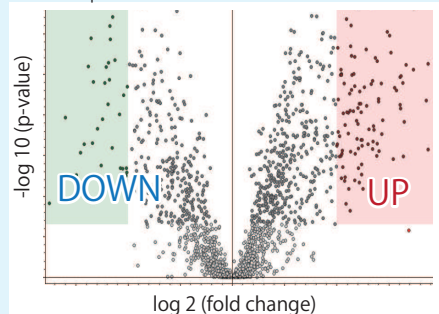
### ▶ Q 相対定量プロテオーム解析の結果をどのような図で見ると分かりやすいか？

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)。

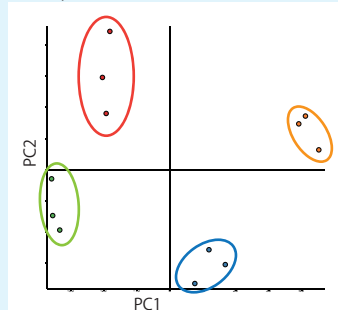
この他にも、ヒートマップや PCA Plot (主成分分析) など、視覚的に比較できる図を適宜作成可能です。

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。

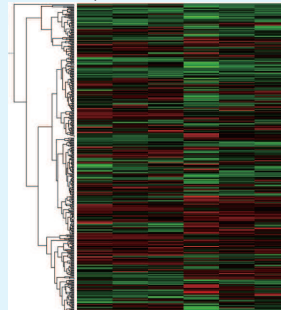
■ Volcano plot



■ 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關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。

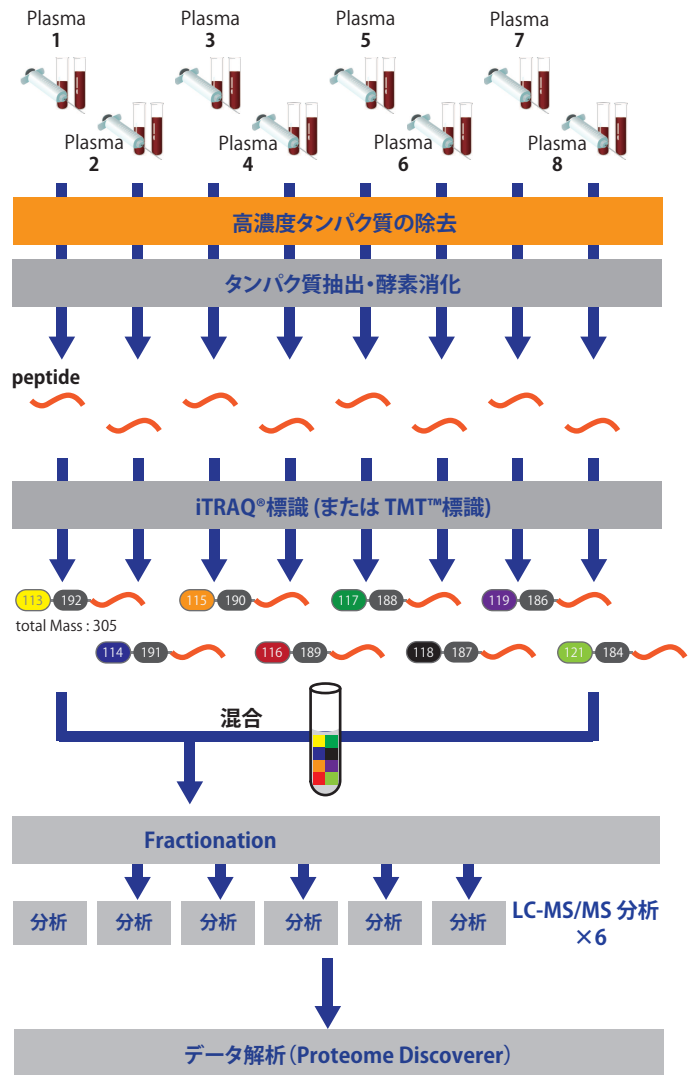
## ヒト血清・血漿の相対定量プロテオーム解析

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、多くの場合で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。

★注目の新サービス Olink Target 受託サービス  
本冊子の最終ページにも掲載しています。是非ご覧ください。

『質量分析で到達できない領域へアプローチ。  
微量のリキッドバイオプシーサンプルから  
Low-abundant protein を定量。』



### ▶ 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	<del>¥ 1,795,000</del>	¥ 1,670,000
	4サンプル	<del>¥ 2,250,000</del>	¥ 1,695,000
	5サンプル	<del>¥ 2,610,000</del>	¥ 1,954,000
	6サンプル	<del>¥ 2,940,000</del>	¥ 2,193,000
	7サンプル	<del>¥ 3,235,000</del>	¥ 2,407,000
	8サンプル	<del>¥ 3,670,000</del>	¥ 2,719,000
	9サンプル	<del>¥ 4,071,000</del>	¥ 3,009,000
	10サンプル	<del>¥ 4,490,000</del>	¥ 3,310,000
	11サンプル	<del>¥ 4,909,000</del>	¥ 3,605,000
	12サンプル	<del>¥ 5,150,000</del>	¥ 3,785,000
	13サンプル	<del>¥ 5,325,000</del>	¥ 3,915,000
	14サンプル	<del>¥ 5,450,000</del>	¥ 4,010,000
	15サンプル	<del>¥ 5,575,000</del>	¥ 4,105,000
	16サンプル	<del>¥ 5,700,000</del>	¥ 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した日から、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

## 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、その機能が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。

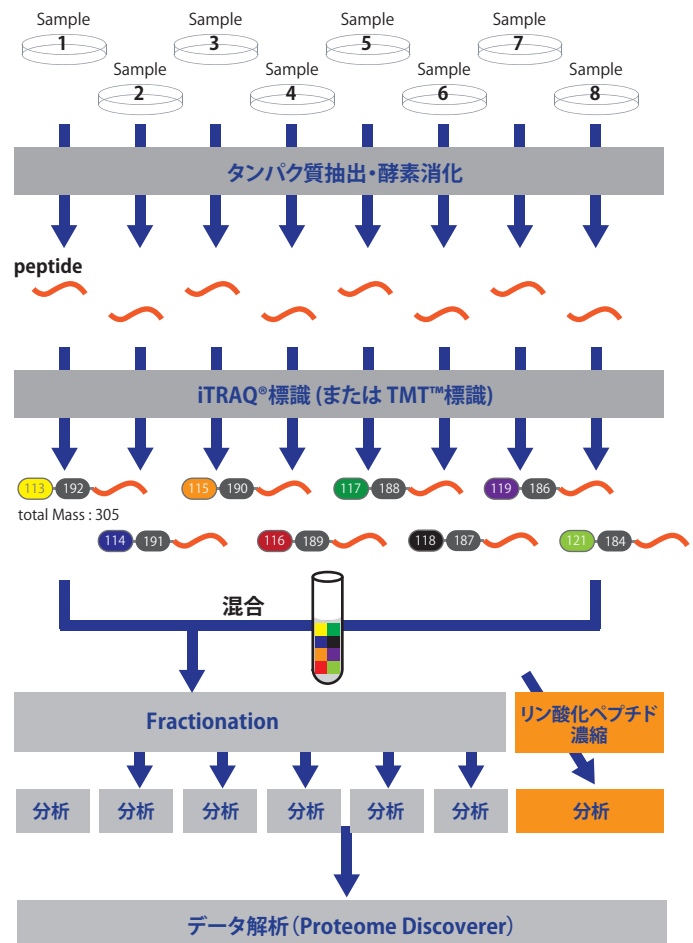
また、非リン酸化ペプチドから得られる情報も非常に重要だと考えられますので、同時に相対定量を行えるワークフローを確立しています。

### 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	通常のiTRAQ解析サービス
リン酸化濃縮 Fraction	500	400	

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、ご希望に応じて納品させていただきます。



## 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 10<sup>6</sup> 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

### 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

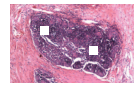


# 定性プロテオーム解析

## 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るとして、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。



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)

### 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

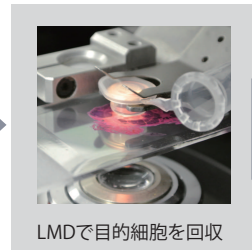
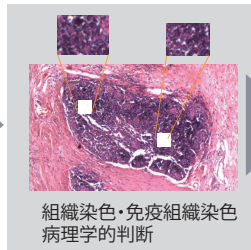
サンプルをお受け取りした日から、1.5~2ヶ月程度  
※ サンプルを受け取るタイミングによっては、前後する場合があります。

#### ▶ 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	<del>¥500,000</del>	<b>¥298,000</b>

## 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

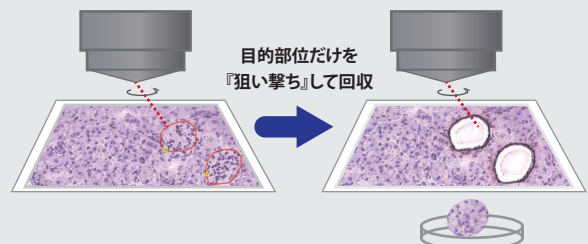
FFPE切片からプロテオーム解析をお考えになる場合、併せてぜひご検討いただきたいのが、レーザーマイクロダイセクションを用いて特定部位を切り出し、その部位のみのプロテオーム解析を実施する事です。レーザーマイクロダイセクション (LMD) は、目的の組織・領域を顕微鏡下で観察・確認しながら、レーザーで切り出して回収する手法です。摘出した臓器から、必要な領域のみを切り出して解析に使用することで、周辺領域に由来するバックグラウンドを低減し、特異性の高いデータを取得することが可能になります。



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。



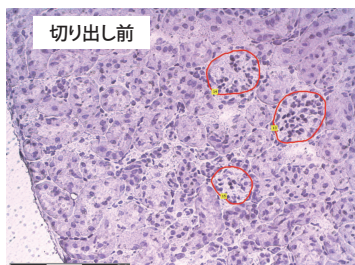


## 分析・解析オプションのご案内 ～ 目的部位によりフォーカスした解析のために

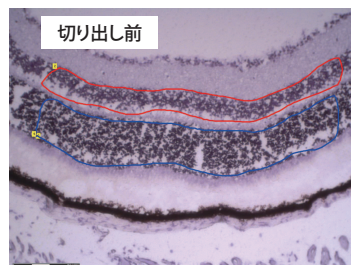
さまざまな組織標本から必要な部位のみを切り出した実績がございます。お気軽にご相談ください。



切り出し前



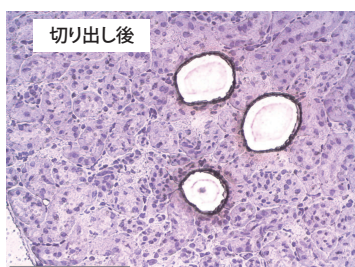
切り出し前



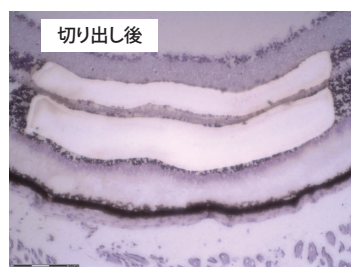
切り出し前



切り出し後



切り出し後



切り出し後

がん組織からがん細胞を回収する

腎臓から糸球体を回収する

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、弊社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 10<sup>6</sup> 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した日から、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

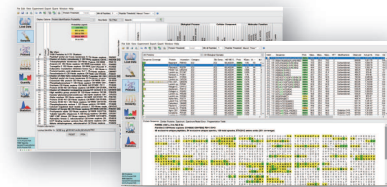
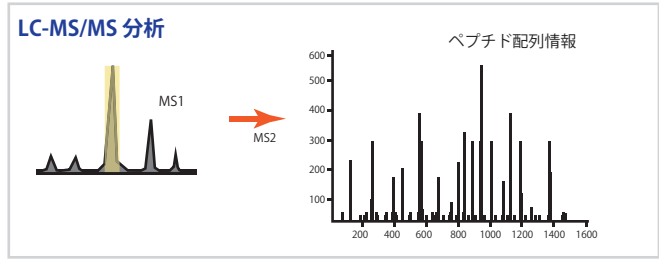
項目名	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
LC-MS/MSによるショットガン解析	<del>¥500,000</del>	¥298,000



タンパク質抽出・酵素消化

peptide

LC-MS/MS 分析



- 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、これら二つを別々に LC-MS/MS 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」を確認できます。

### 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。

▶ 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	<del>¥600,000</del>	¥398,000



タンパク質抽出・酵素消化

peptide

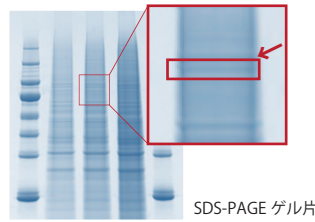
リン酸化ペプチド濃縮

LC-MS/MS 分析

- 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

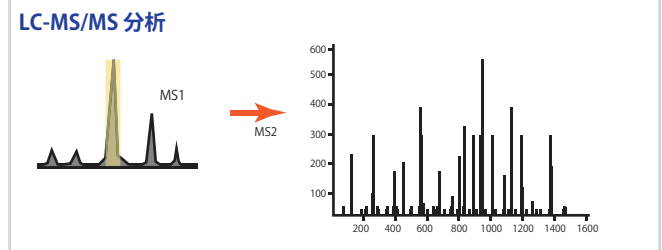
電気泳動で分離したタンパク質を同定する分析サービスです。SDS-PAGEゲル内のタンパク質をプロテアーゼ処理し、得られたペプチドを質量分析計で検出します。質量分析計により得られたペプチドの質量、およびフラグメントイオンのスペクトル (MS/MSデータ) をデータベース検索 (Mascot サーチ) することによりタンパク質を同定します。



タンパク質抽出・酵素消化

peptide

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した日から、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

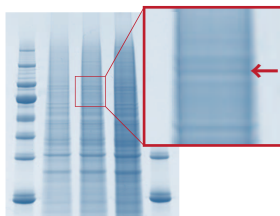
項目名	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
LC-MS/MSによるタンパク質同定	¥210,000	¥189,000
	(4検体以上)	¥148,000

### サンプル調製について

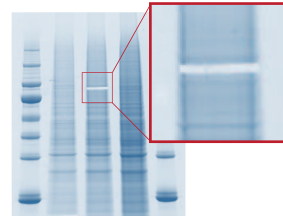
レーン幅 4mm 程度、切り出すバンドの高さ 1~2mm 程度とした場合に、ゲル片 5 個以内を目安にしてください。ただし、ゲルの量は少なれば少ないほど良好な結果が得られる可能性が高くなります。『余分なゲル』が酵素消化の効率を下げ、また、ゲル由来の夾雑物の影響により解析が難しくなるからです。余分なゲルが出来る限り含まれないように、切り出してください。また、どうしてもバンドが薄い場合、同じバンドを複数集める事でサンプル量の確保はできますが、可能であれば、サンプルを濃縮して電気泳動に供する等の工夫をし、酵素消化に供するゲルの量をできる限り少なくしてください。

#### 弊社での実施例

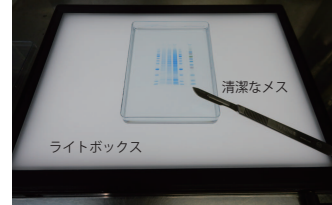
切り出し前の SDS-PAGE ゲル



切り出し後の SDS-PAGE ゲル



切り出し作業中 (クリーンベンチ内)



ゲルの切り出し作業中の様子です。ライトボックスの上で作業すると、細いバンドまで視認しやすくなります。

必要なサンプル量ですが、タンパク質同定を目的とした場合、必要なタンパク質サンプルの量の目安として 25fmol と規定していますが、細胞や組織のライセート、粗精製タンパク質などのクールドなサンプルを電気泳動した場合、1本のバンドに見えても、そのバンドに複数のタンパク質が含まれている可能性が高いです。複数のタンパク質を合わせて 25fmol だった場合、各タンパク質は最低量に満たず、十分な解析が行えない可能性があります。クールドなサンプル由来の場合、100fmol 以上を目安にご準備ください。



# 新サービスご紹介 ～Olink® Target 受託サービス

Olink® Target を用いた 血清・血漿 タンパク質相対定量解析

**APRO**  
株式会社ファーマフーズ  
アプロサイエンスグループ

× **Olink®**  
オーリンクプロテオミクス  
株式会社

質量分析で到達できない領域へアプローチ。

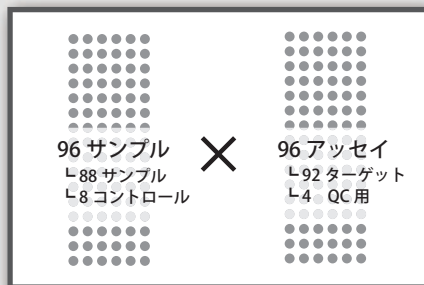
**微量のリキッドバイオプシーサンプルから Low-abundant protein を定量。**

Proximity Extension Assay, PEA 法は、ターゲットのタンパク質に対し、2つの DNA タグ付き抗体でイムノアッセイを行い、得られた 2 本鎖 DNA からリアルタイム PCR や次世代シーケンサーで発現定量を行う革新的な技術です。ターゲットタンパク質に特異的な 2 つの抗体が正しく結合した場合のみ、2 本鎖 DNA が形成されるため、極めて特異性の高いアッセイ技術であり、マルチプレックス反応における抗原と抗体の交差反応性の問題を克服しています。

質量分析を用いたプロテオーム解析の場合、特に血清・血漿のように複雑性が高くて含まれるタンパク質の濃度差が大きい検体では、多量タンパク質によって微量タンパク質の検出や定量が妨げられる事も多く、例えば、サイトカイン類に代表されるような微量タンパク質は、バイオマーカー探索や疾患研究において大変重要であるにもかかわらず、検出できないケースが多くあります。今回、新たに受託サービスをスタートいたします。Olink proteomics 社のプラットフォーム (PEA 法) では、このような極微量に含まれるタンパク質も精度よく比較定量する事ができ、質量分析を用いた方法では到達できなかった領域へのアプローチが期待できます。

## Olink Target 受託サービスでできること

血清・血漿、脳脊髄液、唾液、尿  
組織・細胞ライセート液、培養上清 等



最大 88 検体を同時測定し、92 の対象タンパク質それぞれの『相対定量値』算出。

Olink Target 96 には、全 15 種類のパネルがあります。それぞれ、疾患領域ごとや生物学的プロセスごとに重要な 92 のタンパク質が選出され、測定が可能です。

### ヒト用 14 種類 / マウス用 1 種類

#### ↳ 疾患領域ごとに構成されたパネル (7 種類)

- Inflammation
- Cardiovascular 2 種類
- Oncology 2 種類
- Neurology
- Immuno-oncology

#### ↳ 生物学的プロセスごとに構成されたパネル

- Cardiometabolism
- Cell regulation
- Neuro-exploratory
- Immune response
- Development
- Metabolism
- Organ damage

## ▶ 価格

検体数によって異なりますので、お問合せください。

価格帯の目安は およそ ¥25,000 ~ ¥65,000 / 検体 です。

株式会社ファーマフーズ  
アプロサイエンスグループ

■Url: <https://apro-s.com/>

■Tel: 088-678-6372

■Mail: [bio@apro-s.com](mailto:bio@apro-s.com)

〒770-0865 徳島県徳島市南末広町 4-53 エコービル 4 階

《本社》

〒615-8245 京都府京都市西京区御陵大原1-49

販売店

**APRO**  
Science group