

APRO

アプロサイエンス

質量分析を用いた 網羅的・探索 プロテオーム解析 受託サービス

網羅的

探索

New!!

DIA 法による高深度分析のご提案も可能！

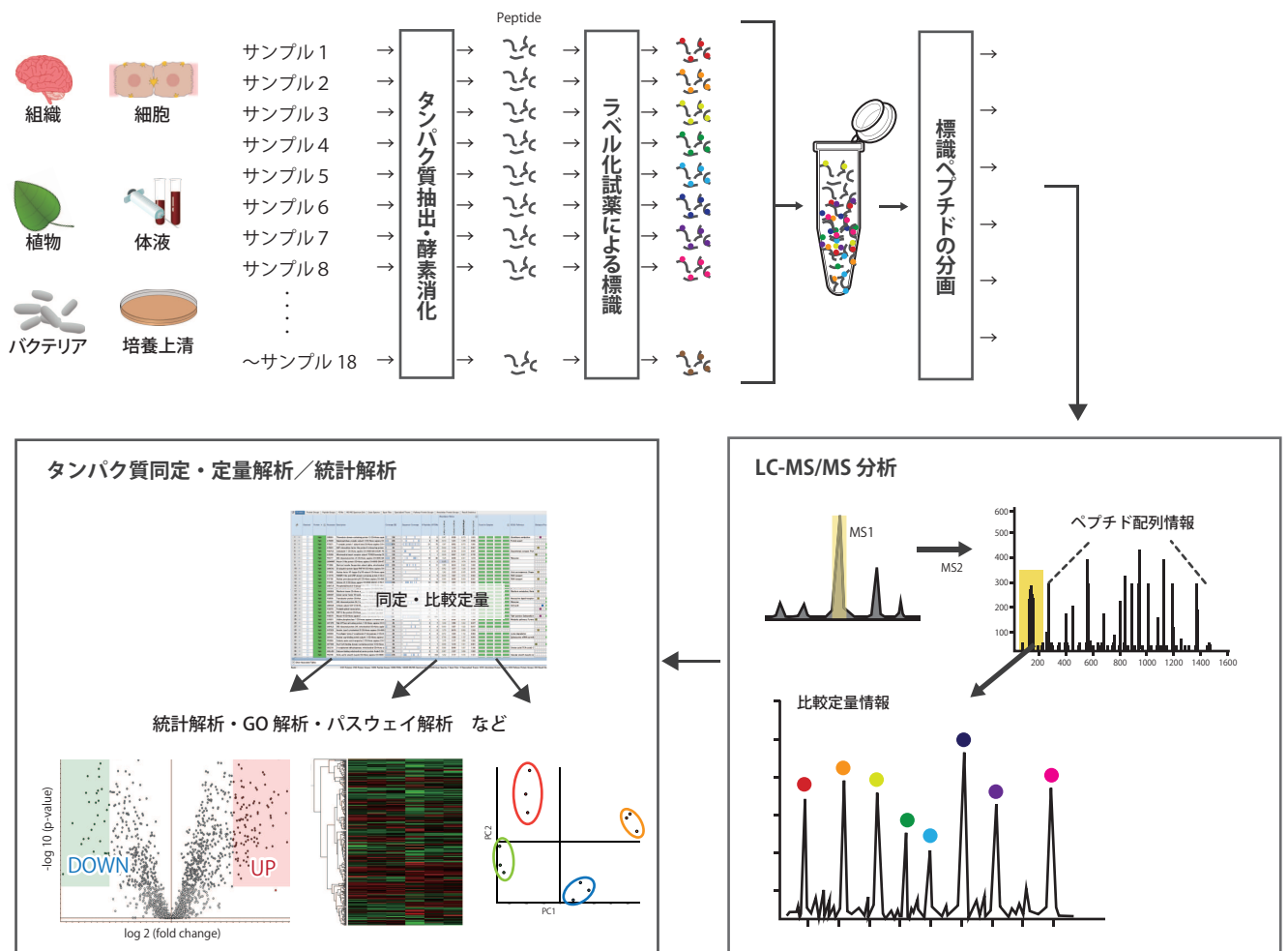
定量プロテオーム解析

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する解析手法です。ラベル化試薬を用い、ペプチド配列情報と検体間での比較定量値を同時に取得し、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。最大で18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。

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。



▶ 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。

▶ 必要サンプル量

タンパク質 50 μg 程度

- ※ 上記より少なくても対応できる場合がありますので、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

● データ解析

▶ 使用する機器

- 質量分析装置
 - ↳ Orbitrap Exploris 480 (Thermo Fisher Scientific)
- HPLC
 - ↳ Vanquish Neo UHPLC (Thermo Fisher Scientific)
- 解析ソフトウェア
 - ↳ Proteome Discoverer (Thermo Fisher Scientific)

| 項目名 | 検体数 | 価格 (税別) |
|-------------------------|--------|-----------------|
| TMT™ 試薬を用いた相対定量プロテオーム解析 | 2サンプル | ¥ 1,110,000 /一式 |
| | 3サンプル | |
| | 4サンプル | |
| | 5サンプル | |
| | 6サンプル | ¥ 1,320,000 |
| | 7サンプル | ¥ 1,540,000 |
| | 8サンプル | ¥ 1,760,000 |
| | 9サンプル | ¥ 1,980,000 |
| | 10サンプル | ¥ 2,200,000 |
| | 11サンプル | ¥ 2,420,000 |
| | 12サンプル | ¥ 2,640,000 |
| | 13サンプル | ¥ 2,800,000 /一式 |
| | 14サンプル | |
| | 15サンプル | |
| | 16サンプル | |
| | 17サンプル | |
| | 18サンプル | |

※ 特別な前処理 (リン酸化ペプチド濃縮等) は別途お見積。

Point

ラベル化試薬を用いた比較定量プロテオーム解析でできること

- ▶ 一度の分析で1000~5000タンパク質を同定・比較定量
- ▶ 同時に18検体の分析が可能。
- ▶ 組織・細胞・培養上清など様々な種類の検体に適応可能。

定量プロテオーム解析

DIA プロテオーム解析 **NEW!!**

組織・細胞や培養上清などから、LC-MS/MS (DIA法) を用いて、網羅的にタンパク質を同定、検体間比較します。目安として、組織や細胞サンプルの場合、一度の解析で、~8,000程度のタンパク質が同定できます。

従来のDDA (Data dependent acquisition) 法を用いたLC-MS/MSショットガン解析においては、存在量の多いペプチドから順に検出・同定がされたため、微量なタンパク質が同定されにくい特徴がありました。DIA (Data independent acquisition) 法では、存在量によらず全てのMS/MSスペクトルを取得し、事前に構築されたスペクトルライブラリーと照合することで、より高感度で定量性の高いプロテオーム解析が可能となりました。

▶ 価格

| 項目 | 価格 (税別) |
|--------------|----------------|
| DIA プロテオーム解析 | ¥ 220,000 / 検体 |

▶ 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 μ L 以内を目安にご提供下さい。

▶ 必要サンプル量

タンパク質 10 μ g 程度

- ※ 上記より少なくとも対応できる場合がありますので、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・精製
- LC-MS/MS分析
- データ解析

▶ 使用する機器

- 質量分析装置
 - ↳ Orbitrap Exploris 480 (Thermo Fisher Scientific)
- HPLC
 - ↳ Vanquish Neo UHPLC (Thermo Fisher Scientific)
- 解析ソフトウェア
 - ↳ DIA-AN

Point

DIA プロテオーム解析でできること

- ▶ 一度の分析でおよそ8000タンパク質程度を同定。
- ▶ 検体間比較定量に最適。
- ▶ 組織・細胞・培養上清・IPサンプル、EVサンプルなどに適応可能。



ラベル化試薬を用いた方法？ DIA プロテオーム解析？

目的やサンプルの状況・ご予算などに応じて、適切な仕様をご提案しますので、ご相談ください。

| | TMT 試薬を用いた方法 | DIA プロテオーム解析 |
|--------------|----------------------------------|------------------------------------|
| 分析目的 | 相対定量 | 相対定量・高深度分析 |
| 測定モード | DDA (Data dependent acquisition) | DIA (Data independent acquisition) |
| 必要サンプル量 | 20ug 以上 | 10ug |
| 同定できるタンパク質の数 | 5,000 | 8,000 |
| 翻訳後修飾解析について | Unimod に登録されている 約 1500 種類 | リン酸化・ユビキチン化 |
| 解析ソフトウェア | Proteome Discoverer | DIA-AN |
| 報告データ形式 | Proteome Discoverer で 閲覧可能な形式 | tsv ファイル (エクセル) 統計解析等は別途対応が必要 |
| 費用 | ～¥220,000 / 検体 (12 検体以上でお得) | ¥220,000 / 検体 |
| その他 | | 生物種によっては適応不可 |

FFPE組織からプロテオーム解析

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。アプロサイエンスでは、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。

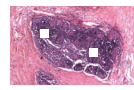
▶ 推奨サンプル形態／サンプル量

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

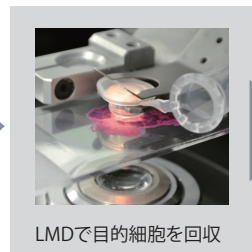
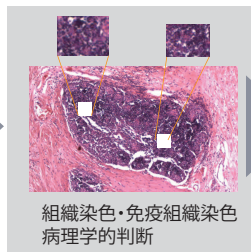
- 同定タンパク質リスト
- GO 情報
- サンプル間比較 (複数のサンプルの場合)

▶ 価格

| 検体数 | 価格 (税別) |
|-----------------------|----------------|
| FFPE組織からの プロテオーム解析 | ¥ 220,000 / 検体 |

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。

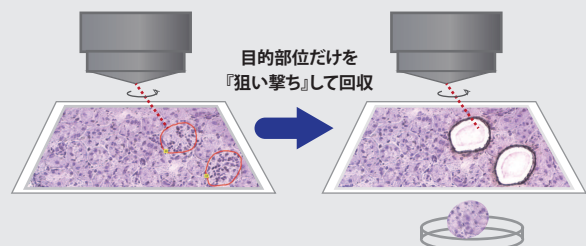


プロテオーム解析

■ 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。



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。

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

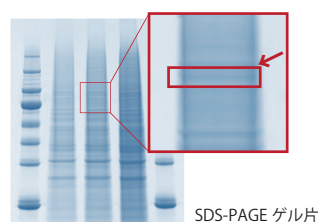
- サンプルをお受け取りした日から、3~4週間程度
- ※ サンプルを受け取るタイミングによっては、前後する場合があります。

▶ サービス内容

- サンプル前処理
 - ↳ 酵素消化・精製
- LC-MS/MS分析
- データ解析
 - ↳ 同定タンパク質リスト

▶ 価格

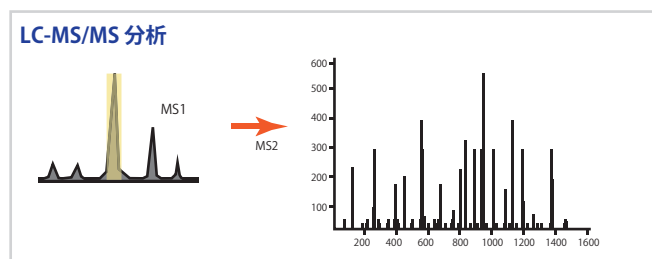
| 検体数 | 価格 (税別) |
|-----------|-----------------|
| ~5 検体の場合 | ¥ 110,000 × 検体数 |
| 6 検体以上の場合 | 都度お見積り |



タンパク質抽出・酵素消化



LC-MS/MS 分析

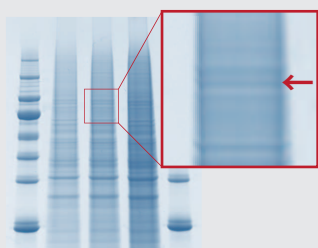


- ・ 同定タンパク質リスト
- ・ GO 情報
- ・ サンプル間比較 (複数のサンプルの場合)

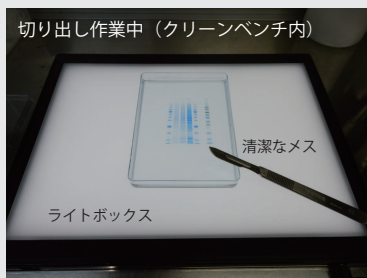
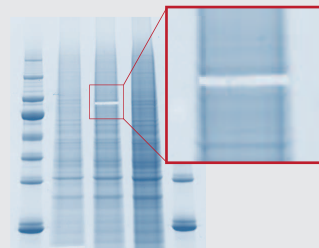
サンプル調製について

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、ゲルの量は少なけ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。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。

切り出し前の SDS-PAGE ゲル



切り出し後の SDS-PAGE ゲル



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。

プロテオーム解析のことならアプロサイエンスへご相談ください

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
- DIAプロテオーム解析
 - TMTラベル試薬を用いた方法
 - 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 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。



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

〒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