

医学研究科共通機器センター

質量分析器による受託解析要項

解析内容

① タンパク質同定

電気泳動 (SDS-PAGE) などにより分離した目的タンパク質を還元アルキル化、酵素処理によってペプチド断片化した後、nanoLC-MS/MS により解析します。

得られたデータから ProteinPilot を用いてのデータ解析を行い、各ペプチド断片の同定とタンパク質同定を行います。

< サンプル形態 >

タンパク質のゲル片 (銀染色、Oriol など)

タンパク質の溶液、凍結乾燥品など

< 必要サンプル量 >

- ・ゲル片 15 fmol 以上
- ・溶液、凍結乾燥品

② タンパク質の網羅的解析 (ショットガン分析)

組織抽出液や体液などのタンパク質混合試料を還元アルキル化、酵素処理によってペプチド断片化した後、nanoLC-MS/MS により解析します。

試料中のタンパク質 1000 種類以上を一斉に同定することが可能です。

< サンプル形態 >

組織・微生物・植物などからのタンパク質抽出液、体液、培地など

< 必要サンプル量 >

タンパク質量 20 μ g 以上

③ タンパク質、ペプチドの修飾解析

還元アルキル化、酵素処理によって断片化されたペプチドを用いて nanoLC-MS/MS 測定を行います。

得られたデータから ProteinPilot でデータ解析を行い、同定されたペプチドに含まれる翻訳後修飾 (リン酸化、糖鎖修飾など) を同定します。

④ SWATH 解析

SWATH は単一の分析でサンプルに含まれるすべてのタンパク質（数千種類）をノンラベルで定量化・プロファイリングする画期的な質量分析ベースの次世代プロテオミクス技術です。同定ペプチドライブラリーに基づく従来のデータ解析方法に加え、DIA-NN を使用したライブラリーフリーのデータ解析により、より多くのタンパク質を定量することができます。

[使用例]

- ・ 患者群と対照群からのヒト血漿／血清サンプルにおける差次的に制御されたタンパク質の発見
- ・ 薬物刺激時の細胞上清中の分泌タンパク質同定
- ・ マウス組織や臓器の網羅的定量解析により薬物刺激で活性化する経路を発見
- ・ 多数検体の尿や血漿／血清からの大規模バイオマーカー探索（discovery, verification）

⑤ その他

QTrap6500+ (AB SCIEX)を用いた MRM 解析

質量でフィルターをかけてターゲット分子を検出することで、血液や尿、脳脊髄液のような多成分サンプルの中から狙ったタンパク質や化合物などを絶対定量することができます。数百種類のターゲットを単一の分析で、高い S/N 比、かつハイスループットでの測定が可能で、低濃度でしか存在しない分子の定量解析に適しています。

[使用例]

- ・ TripleTOF6600 で発見したバイオマーカーの検証解析（validation）、絶対定量
- ・ ターゲット／ワイドターゲット メタボローム解析
生体内に存在する代謝産物（アミノ酸、生体アミン、糖質、脂質など）を定量
- ・ 代謝物の体内動態
マウスの各組織・臓器に含まれる特定の化合物を定量解析することにより、その化合物の体内動態を明らかにする

Gene Ontology Enrichment 解析

プロテオームの比較解析により抽出されたタンパク質群が持つ GO term の組成を全ゲノムでの組成と比較することで、そのタンパク質群にエンリッチされている Function/Biological Process/ Component を知ることができます。例えばある薬剤の刺激に対して変動したタンパク質群に、どのような機能をもつものが含まれるかを解析します。フリーのソフトウェア（Perseus）もしくはウェブサイトサービス（GSEA, DAVID,

PANTHER 等) を使用します。

タンパク質相互作用ネットワーク構築

タンパク質相互作用解析では、プロテオームの比較解析により抽出されたタンパク質群の相互作用ネットワークを STING により構築します。実験的に検証された相互作用の他に、gene neighborhood や gene fusion、co-expression 等の情報から推測される相互作用を知ることができます。

パスウェイ解析

プロテオームの比較解析により抽出されたタンパク質群が関与する代謝経路やシグナル経路を同定します。

◎その他にも様々な分析が可能ですので、リストにない分析をご希望の場合も随時ご相談下さい。

受託解析料金

受託解析を依頼するためには共通機器センターへの登録が必要となります。

受託解析に関わる料金は消耗品などの実費のみを請求いたします。多変量解析などのデータ二次解析は無料です。

以下の表は解析に使用する可能性のある消耗品の解析単位、検体単位当たりの料金となります。前処理の方法により使用する試薬は異なります。受託解析ご依頼時に解析内容の打ち合わせの上、必要な前処理、使用する試薬類を提示いたします。特殊な前処理が必要になる場合はキットなどを依頼者が購入し、共通機器センターからは技術が無償で提供いたします。検体数が多い場合などは別途ご相談ください。

QTrap6500+を用いた解析は研究内容により使用する溶媒やカラムが異なるため、消耗品は依頼者が購入し持ち込みをしていただきます。機器の使用に必要な技術は無償で提供いたします。エレクトロードやバイアル、洗浄用溶媒などの共通する消耗品のみを請求いたします。

解析料金は可能な限り寄附金からのお支払いをお願いいたします。校費払いの場合は年度最終納期の調整が必要なため 12 月までにご依頼ください。科研費での精算には対応しておりません。その他の競争的資金 (AMED、JST) ではお支払いいただけません。その他の競争的資金でのお支払いの場合も年度内に使用期限があるものは 12 月までにご依頼ください。

TripleTOF6600

品名	単位	単価 (円)
ヨードアセトアミド	100 検体まで	1,690
ジチオスレイトール	100 検体まで	898
Trypsin	1 検体	169
Lys-C	1 検体	3,095
V8 プロテアーゼ	1 検体	324
MonoSpin C18	1 検体	506
Amicon Ultra	1 検体	690
Spin Filters	1 検体	845
バイアル	1 検体	231
キャピラリーカラム	1 project	14,520
Tuning Solution	1 project	548
β -ガラクトシダーゼ	1 project	343
ギ酸	1 project	119
超純水	1 project	660
アセトニトリル	1 project	2,283
アセトン	1 project	3
炭酸水素アンモニウム	1 project	3
尿素	1 project	10
トリフルオロ酢酸	1 project	1,617
アイピスピペットチップ	1 検体	57
マイクロチューブ	1 検体	110
タンパク質定量サービス	1 project	556
維持・管理費	1 検体	654

QTRAP6500+

品名	単位	単価 (円)
超純水	1 project	600
アセトニトリル	1 project	2,075
ELECTODE T	1 project	3,593
PPGs Chemical Standards Kit	1 project	1,540
ガラス製スナップトップバイアル	1 検体	42
Anti-Static Foam Swab	1 project	3,256
Anti-Static Foam Swab	1 project	3,212
メタノール	1 project	525
2-プロパノール	1 project	1,150

※上記の単価は令和5年7月1日より適用。

<お問い合わせ先>

高度先進医学研究センター 分子生体防御学講座 多田羅 洋太

アドレス: ytatara@hirosaki-u.ac.jp

医学研究科共通機器センター(内線 5512)