

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

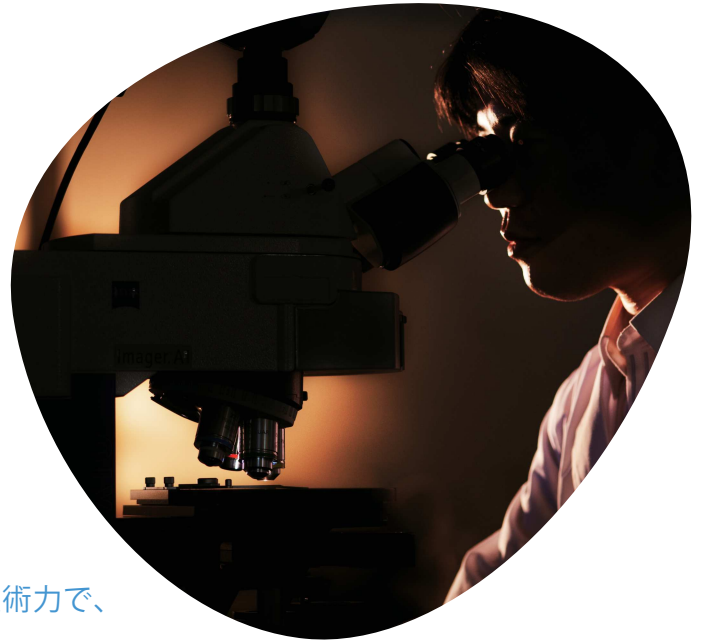
2020 10.19 → 2021 2.26

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発現・相対定量解析

定性プロテオーム解析

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



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で、
お客様の研究をサポートします。



この冊子を開いてご覧になっている皆さまは
『受託サービス』の利用を少なからずご検討されている方だと思います。
そのような研究のアウトソーシングを考える上で、
重要視されることは何でしょうか？
解析データの質が高いこと、結果報告までの早さ、対応の丁寧さ…

アンテグラルは、前身のアプロサイエンス時代から30年に渡って
プロテオーム解析のエキスパートとして、
数多くの研究者の皆さまから分析をお任せいただいて参りました。

『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いて
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。

初めてご利用を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。
きっと、アンテグラルに任せようと思っただけです。



integrale

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。

分析を成功させる秘訣 ～サンプル調製編～ P.5

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(14種類)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

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.8

分析を成功させる秘訣 ～ゲルサンプル調製編～ P.9

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

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.11

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。

定量プロテオーム解析

お問い合わせは
こちら

iTRAQ®/TMT™ 試薬を用いた相対定量プロテオーム解析

iTRAQ®試薬あるいはTMT™試薬を用いた解析では、標識したサンプルを質量分析計で分析することで、網羅的にタンパク質の同定を行うと同時に、比較定量データを取得することができます。最大で10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。

右フローチャートでは、4種類のサンプルを分析する場合について説明しています。まず、それぞれのサンプルをトリプシンを用いてペプチドに断片化し、iTRAQ®試薬または、TMT™ 試薬で標識します。この例の場合、サンプルA由来の全てのペプチドは、114のレポーター領域を持つ試薬で標識されています。同様に、サンプルB, C, Dは、それぞれ115, 116, 117の試薬で標識されています。

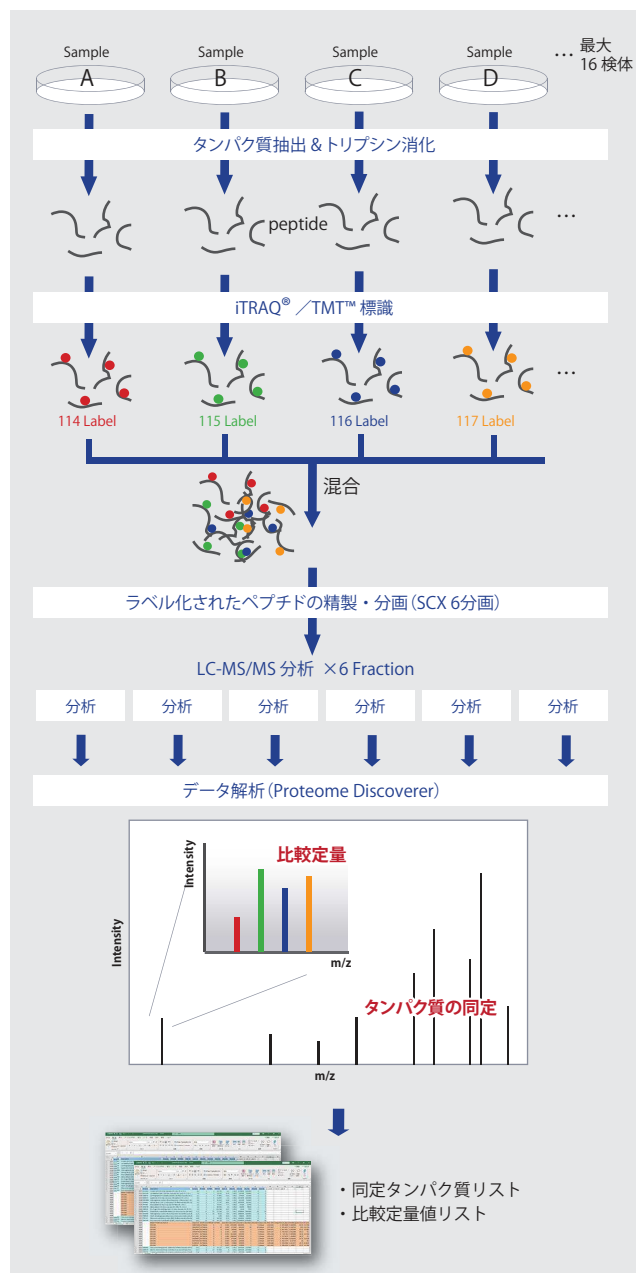
MS/MS分析を行うと、レポーター領域由来の114から117のピークが検出されます。このピークの強度の比から定量を行います。同時に、検出されたその他のピークからタンパク質同定を実施します。

このようにして、A~Dのサンプルに、どのようなタンパク質がどのような量比で含まれるかを解析します。

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

分析項目名	検体数	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
iTRAQ®/TMT™ 試薬を用いた相対定量プロテオーム解析	2サンプル	¥ 1,000,000	
	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

11~16サンプルについては別途お問合せください。

分析を成功させる秘訣 ～サンプル調製編～

組織からのタンパク質抽出

組織のどの部位を採取するかによって、含まれる細胞の種類が大きく異なります。腫瘍組織を切り出したつもりでも、腫瘍細胞だけでなく、周辺の炎症細胞や血管由来細胞などが多量に含まれる場合もありますので切り出し操作には注意が必要です。次に重要なのは、『組織中のタンパク質を一気に完全に変性させる』ことです。組織内のタンパク質が中途半端に変性した状態だと、内在性プロテアーゼ等が活発に働いてしまいます。弊社では、液体窒素中で組織片を微細な粉末（表面積が大きい状態）にしてから変性剤を含む Lysis バッファーを加え、一気に処理しています。*組織片の状態で検体を送付頂きましたら破砕から弊社で対応いたします。

細胞からのタンパク質抽出

接着細胞の場合、セミコンフルエント程度に増殖した時点で培地を除去してください。シャーレ内の細胞を PBS 等で洗浄し、培地に含まれる血清等の高濃度のタンパク質をできるだけ除去します。この際に氷冷すると、細胞の種類や状態によってはコールドショックによる予期せぬタンパク質誘導が起こる場合もありますので過剰な冷却とならないようご注意ください。次に細胞を剥離する方法ですが、トリプシン等のタンパク質消化酵素を使用すると、特に細胞表面に近いタンパク質がペプチド化しますので、酵素を使用しない方法を検討してください。弊社ではセルスクレーパーを使ってかきとる方法をお勧めしています。

培養上清・培地

がん細胞の培養上清（セクリトーム）は、がん細胞が分泌するタンパク質やその断片をバラエティ豊富に含んでいる上、組織由来タンパク質があまり含まれないため、プロテオーム解析対象として注目されています。一般的には、がん細胞の培養の際にはウシ胎児血清（FBS）を培地に添加しますが、FBS が含まれる培養上清はプロテオーム解析のサンプルには適さないため、無血清培養の条件を検討する事が第一歩となります。また、培養上清に分泌されたタンパク質はかなり希釈されている状態であるため、タンパク質を濃縮することが必要となります。弊社では微量に含まれる分泌タンパク質も回収できるように濃縮方法を確立しています。

免疫沈降 (IP) や共免疫沈降 (Co-IP) によるサンプル調製

免疫沈降法を用いてクルードなサンプルから目的のタンパク質を分離するのは、プロテオーム解析のサンプル前処理方法として有用です。しかし、非特異的なタンパク質が多い、コントロール実験との差が出ない、などの問題もよく発生します。ぜひ、複数の先行論文や実施例を精査し、目的やサンプルに最適な実験条件を見つけて頂ければと思います。抗体や担体の製造販売元からの情報も有用です。なお、免疫沈降法に使用する担体ですが、最近では、アガロースレジンより磁気ビーズを使用した論文実績が増えています。磁気ビーズの方が抗体の結合量が高く、また、非特異的バックグラウンドも低いとされています。

私たちがラベルフリーではなく、ラベル法をお勧めする理由

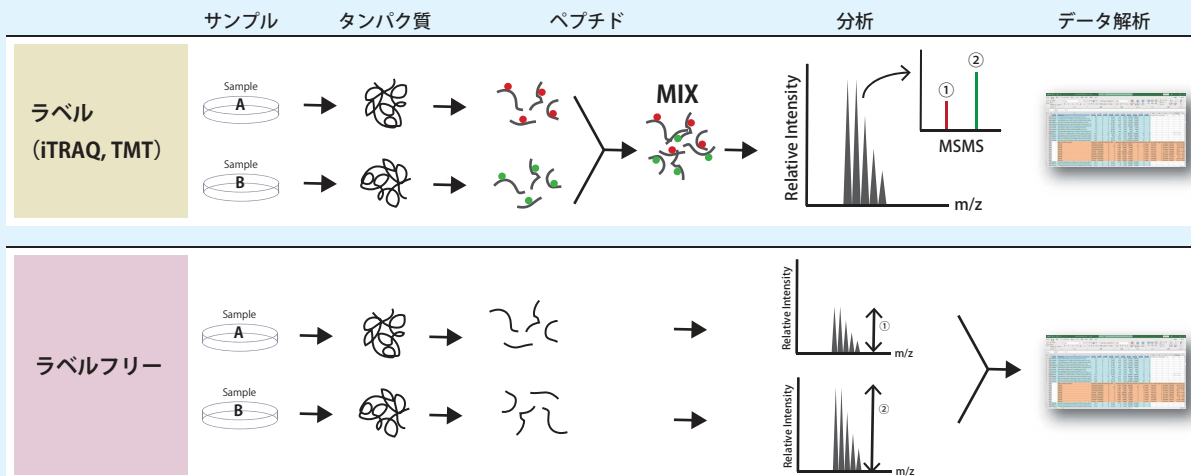
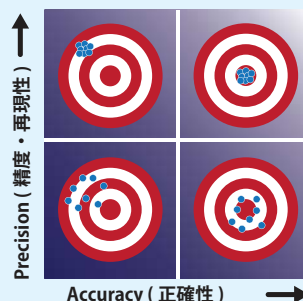
定量的なプロテオーム解析の手法として、iTRAQ® 試薬や TMT™ 試薬のようなラベル化試薬を使用し、検体間のタンパク質発現を比較定量する方法と、「ラベルフリー定量 (LFQ: Label Free Quantitation)」と呼ばれるラベルしない方法があります。

アンテグラルでは、現在、『定量的なプロテオーム解析がしたい』とお問合せいただきましたら、必ず、ラベル法 (iTRAQ®) をお勧めしているのですが、それは、Accuracy (正確性) Precision (精度・再現性) とともに、ラベル法の方が優れているからです。

なぜ、ラベル法の方が、精度および再現性に優れるのでしょうか？ 定量プロテオミクスのフローを下図に記載してみました。ラベル法とラベルフリー法を見比べてください。ラベルフリー法では、質量分析をそれぞれの検体ごとに行って、最後のデータ解析で MS スペクトルの強度を比較する事によって、ようやく 1 つにまとまっています。分析の誤差がどうしても出てしまいますので、結果として、再現性に乏しくなってしまいます。

一方、ラベル法では、分析前にペプチドを混合し、一度の分析で比較定量値の算出をしますので、その分、精度が高くなります。ラベルフリー法で精度の高いデータを得るためには、実験回数を重ねる必要があります。

このように、検体ごとに N 数を重ねた試験が必要なラベルフリー法と、多検体を一度の分析で実施できるラベル法を比べると、「受託サービスとしてご提供する」という観点では、圧倒的にラベル法の方がユーザー様のメリットが大きい (費用・時間・データの安定性) と考えています。



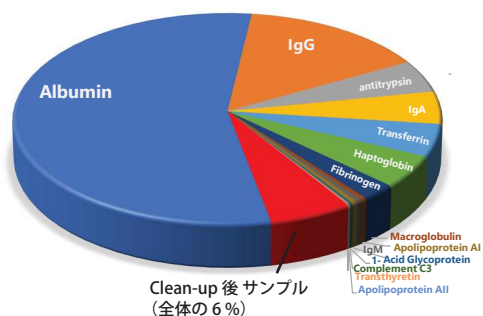
ヒト血清・血漿の相対定量プロテオーム解析

お問い合わせは
こちら

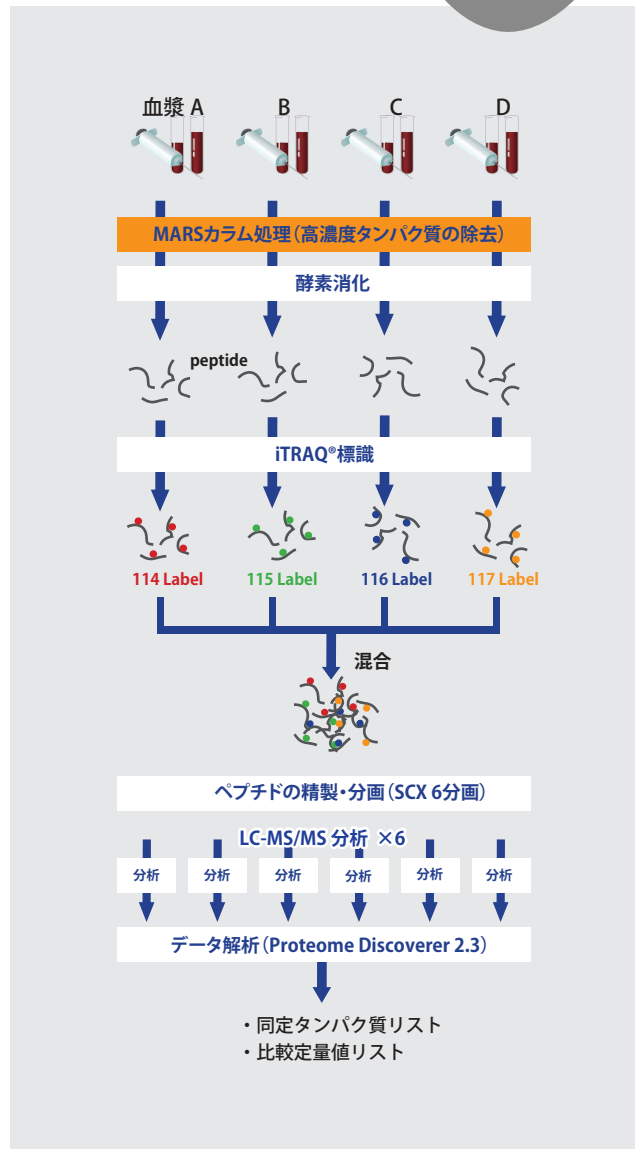
血清・血漿には、何千種類ものタンパク質が存在しており、その存在範囲は 10^{11} 程度と広いオーダーに渡っています。

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種以上存在し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、バイオマーカー候補となるタンパク質は、残りの1%程度と考えられています。その1%の領域を網羅的に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。

アンテグラルでは、血清・血漿中の存在量の多いタンパク質の除去に、アジレント社のMARS (Multiple Affinity Removal System) を利用しています。



MARSは、血清・血漿等から最大14種類の存在量の多いタンパク質を特異的に除去できる抗体カラムです。上の円グラフで示すように、MARSカラムを用いた処理により、低濃度のタンパク質 (赤で示した、全体の約6%程度の領域) 以外が除去されるため、目的部分の分析性能が飛躍的に向上します。MARSカラムは、世界中で利用されており、多くの論文に掲載されている信頼のある前処理手法です。アンテグラルでも多数の使用実績があり、良好で安定な系が確立できています。



▶ 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 (MARSカラム処理を含む)	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

11~16サンプルについては別途お問合せください。

仕様

▶ 必要サンプル量

ヒト血清・血漿 20 μ L 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

お問い合わせは
こちら

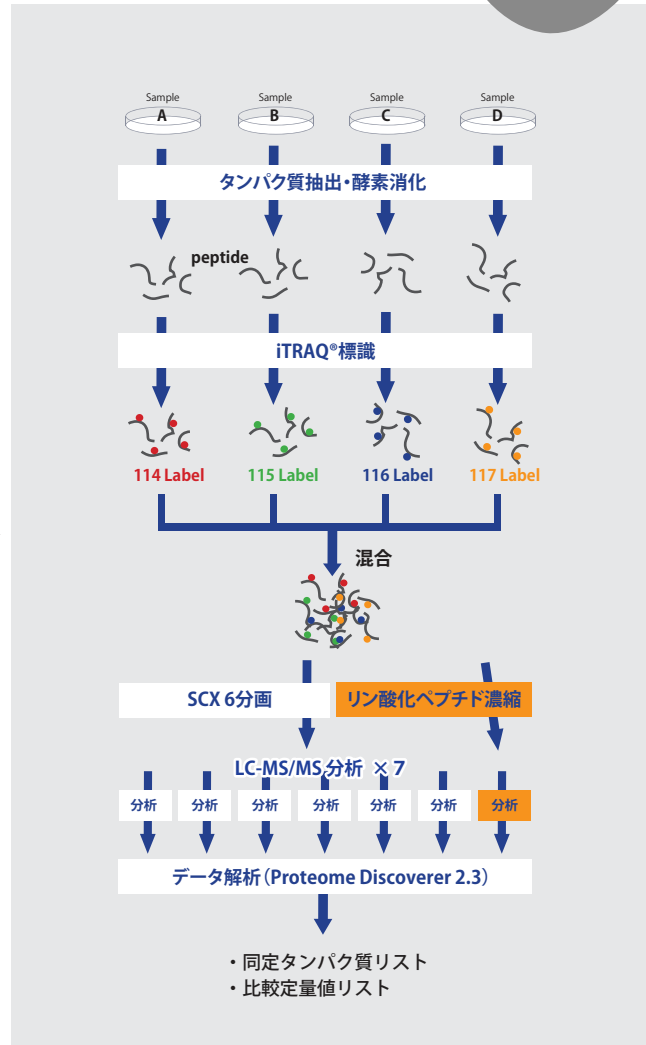
生体内で生成されたタンパク質の中には、リン酸化修飾を受け、その機能や局在が調整されているものがあります。そのため、生体内タンパク質の機能を解明する上で、リン酸化修飾タンパク質にターゲットを絞ったプロテオーム解析は大変有用です。本サービスでは、iTRAQラベルしたペプチドをリン酸化濃縮し、分析を行います。また、非リン酸化ペプチドから得られる情報も非常に重要だと考えられますので、同時に相対定量を行えるワークフローを確立しています。

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	通常のiTRAQ解析サービス
SCX 6 Fraction (統合解析)	4,000	100	
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® 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	¥3,540,000	¥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

11~16サンプルについては別途お問合せください。

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 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・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の相対定量プロテオーム解析

LC-MS/MS によるゲル内タンパク質同定

LC-MS/MS によるシロットガン解析

EPG 組織からのシロットガン解析

リン酸化シロットガン解析

LC-MS/MSによるゲル内タンパク質同定

お問い合わせは
こちら

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

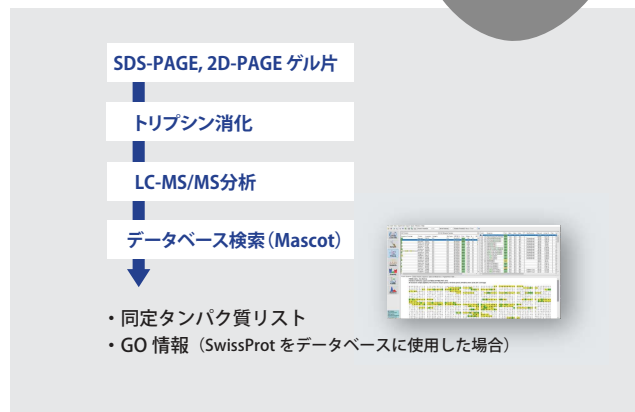
- ゲル片 (タンパク質 25 fmol 以上)
- ゲル片量の目安: 5,6 レーン以下 (12ウェルのミニゲルの場合)
- 推奨染色法: CBB染色、銀染色 (質量分析用)、蛍光染色

▶ 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:
 - 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
	(5 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。

■ 解析 追加料金不要

ご指定いただいた修飾情報だけでなく、目的タンパク質に対するエラートレラント検索(*)を実施することで、予期せぬ修飾やアミノ酸置換も含めて検索を行う事ができます。

※ エラートレラント検索とは・・・

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情報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。

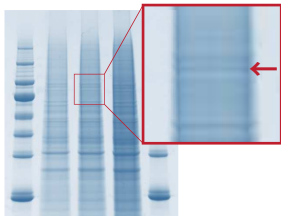
分析を成功させる秘訣 ～ゲルサンプル調製編～

ゲルの量

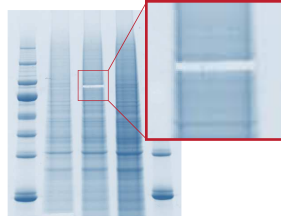
レーン幅 4mm 程度、切り出すバンドの高さ 1～2mm 程度とした場合に、ゲル片 5 個以内を目安にしてください。ただし、ゲルの量は少なければ少ないほど良好な結果が得られる可能性が高くなります。『余分なゲル』が酵素消化の効率を下げ、また、ゲル由来の夾雑物の影響により解析が難しくなるからです。余分なゲルが出来る限り含まれないように、切り出してください。また、どうしてもバンドが薄い場合、同じバンドを複数集める事でサンプル量の確保はできますが、可能であれば、サンプルを濃縮して電気泳動に供する等の工夫をし、酵素消化に供するゲルの量をできる限り少なくしてください。

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。

タンパク質の量の目安

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。

還元処理

非還元条件にて調製されたサンプルは、還元条件にて調製されたサンプルに比べて酵素処理後の断片ペプチドの回収率が低くなる可能性があります。特に問題が無ければ、DTT、β-メルカプトエタノール、TCEP などの還元剤で処理した後に電気泳動を実施して下さい。なお、非還元で電気泳動したサンプルの場合、後からゲル内で還元アルキル化処理をする必要があります。

銀染色の方法・キット

銀染色の手法として、グルタルアルデヒドを使用する場合、タンパク質中のアミノ基が修飾されるため、質量分析には使用できません。グルタルアルデヒドの含まれない質量分析用のキット・プロトコルをご使用ください。

※ 弊社製品 MS 用銀染色キット (Cat No. SP-4020) のご使用を推奨いたします。

無償試供品 (2 回分) のご提供が可能ですので、お申し付けください。

コンタミネーション

質量分析を用いた高感度分析では、コンタミネーションに注意したサンプル調製が重要です。下記の点にご注意下さい。

- ・ 操作中は全ての工程において必ず手袋を着用してください。手袋をしていても、可能な限りゲルに直接ふれないでください。
- ・ 染色に使用するトレイ等は、他の実験と共用せず専用もしくは使い捨てのものを使用する。特に、ウェスタンブロットティングに使用しているトレイ等は、ブロッキング剤や抗体が多量に付着していますので、プロテオーム解析には使用できません！
- ・ ゲルを切り出す際には、クリーンベンチ内で操作を行ってください。また、使用するマイクロチューブやチップに静電気が生じると、空気中のホコリが引き寄せられて、サンプル処理のチューブ内に入り込んでしまう可能性があります。静電気が発生しにくい環境を整えてください。

分析・解析オプションのご案内

■ 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。

■ ゲル内還元アルキル化処理 ¥40,000/検体

非還元で泳動をした場合、目的のバンドを切り出した後に、ゲル内で還元処理を行う必要があります。

LC-MS/MSによるショットガン解析

お問い合わせは
こちら

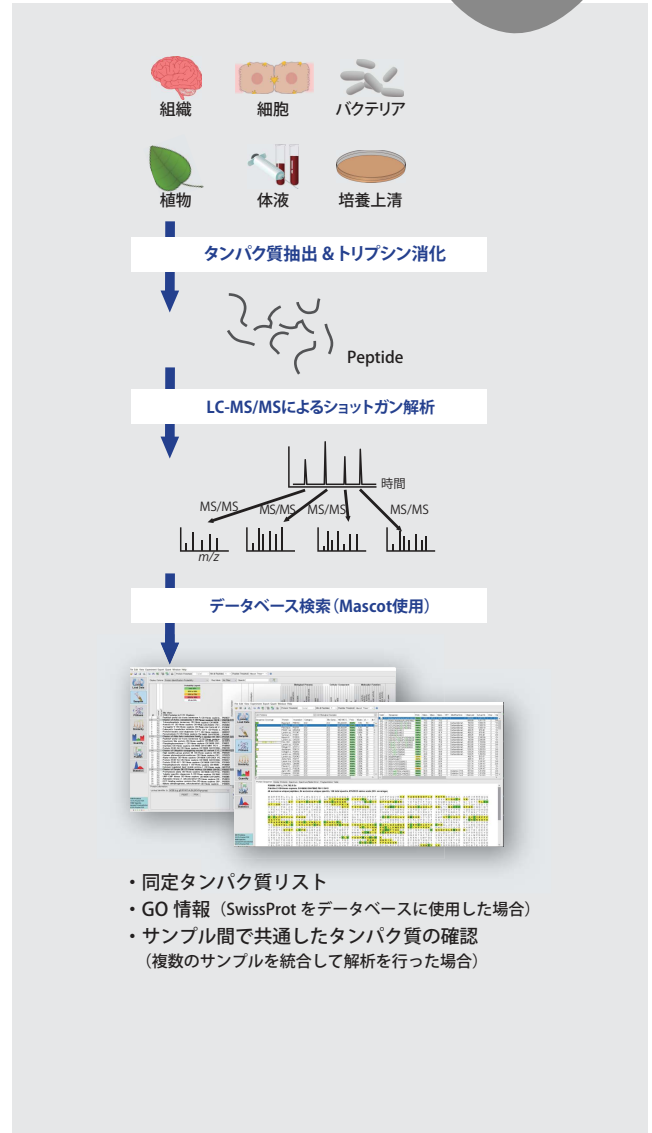
組織・細胞や培養上清などから抽出した粗精製タンパク質画分を質量分析計を用いて、網羅的にタンパク質を同定する分析方法です。組織、細胞や培養上清に含まれるタンパク質について、一度の分析で網羅的に「顔ぶれ」を見たい場合や、タンパク質複合体のコンポーネントを網羅的に見たい場合などにご活用いただけます。目安として、一度の解析で、数100~2,000程度のタンパク質が同定できます。

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 (タンパク質量定・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
 - ↳ 同定タンパク質リスト

価格

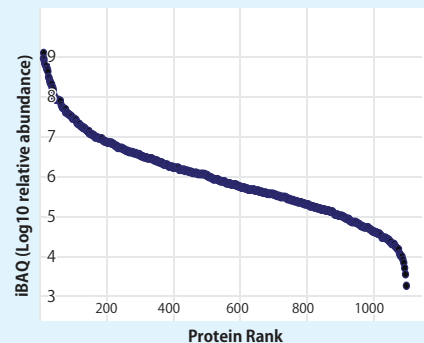
項目名	価格 (税別)	キャンペーン価格 (税別)
LC-MS/MSによるショットガン解析	¥500,000	¥298,000



定性的なプロテオーム解析結果から、定量的な情報は得られないの??

定性的なプロテオーム解析としてお承りしている案件については、基本、正確な (正確性の高い) 定量情報はないと考えて頂きたいのですが、それでも、参考になる数値などはありますので、ご紹介したいと思います。「ショットガン解析で同定されたタンパク質 1000 個のうち存在量が多いタンパク質はどれ?」といったご質問をよく頂戴しますが、例えば、スペクトル数 (そのタンパク質の同定に寄与したスペクトル数) が多いほど、そのタンパク質の存在量が多いのでは、という参照にはなりません。(厳密な定量ではありませんので、ご注意を・・・)

N=2 以上のデータを取得している場合は、LFQ (Label Free Quantitation) 解析も可能です。タンパク質がどのように発現変動しているか (検体間で同一タンパク質を比較)、または、どんなタンパク質が多く発現しているか (同一検体内で違うタンパク質を比較) という解析ができます。後者の同一検体内での違うタンパク質の比較定量値を表すのが iBAQ という値です。各タンパク質由来のペプチドが MS で検出され、それらペプチドの MS 強度を足し合わせたものが、そのタンパク質の MS 強度として算出されますが、この値だけを見ると、ペプチドの個数が多いもの (大きい分子量サイズのタンパク質等) の方が強度が大きく見積もられてしまいます。そこで、各タンパク質において、理論上検出されるペプチド (トリプシン消化したときに 6 ~ 30 残基のサイズ) の個数で、上記のタンパク質レベルでの MS 強度を割ったものを算出します。この値が、iBAQ 値 (Intensity Based Absolute Quantification) として取り扱われるもので、同一検体内で、違うタンパク質を比較定量する指標として見て頂けると考えられます。ご依頼の際に、定量的な情報にも興味がある、とお伝えいただきましたら、対応できる内容をご説明させていただきますので、お気軽にご相談ください。



算出されますが、この値だけを見ると、ペプチドの個数が多いもの (大きい分子量サイズのタンパク質等) の方が強度が大きく見積もられてしまいます。そこで、各タンパク質において、理論上検出されるペプチド (トリプシン消化したときに 6 ~ 30 残基のサイズ) の個数で、上記のタンパク質レベルでの MS 強度を割ったものを算出します。この値が、iBAQ 値 (Intensity Based Absolute Quantification) として取り扱われるもので、同一検体内で、違うタンパク質を比較定量する指標として見て頂けると考えられます。ご依頼の際に、定量的な情報にも興味がある、とお伝えいただきましたら、対応できる内容をご説明させていただきますので、お気軽にご相談ください。

FFPE組織からのショットガン解析

お問い合わせは
こちら

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。

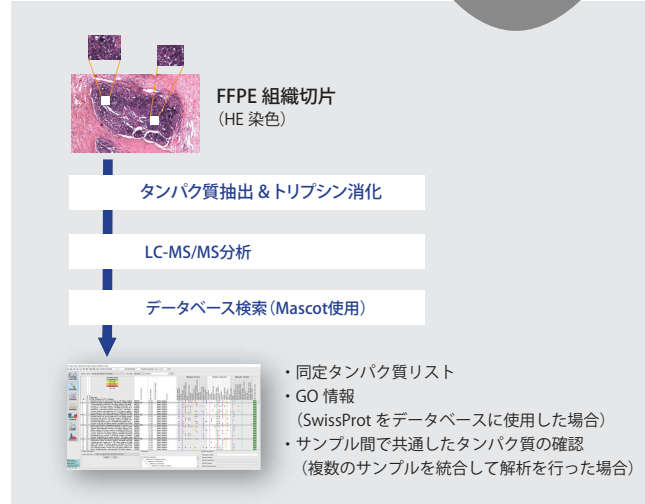
仕様

▶ 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。

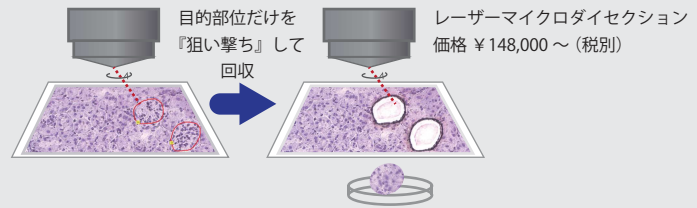


▶ 価格

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	¥500,000	¥298,000

分析・解析オプションのご案内

別途費用が必要ですが、FFPE 組織ブロック作製・切片作製や目的部位の切り出し (レーザーマイクロダイセクション: LMD) の受託サービスもご提供します。LMD は、顕微鏡で観察・確認しながら、特定の領域のみをレーザーで切り出して回収する手法です。目的部位のみを解析に使用することで、バックグラウンドが低く特異性の高いデータを得る事ができます。



リン酸化ショットガン解析

お問い合わせは
こちら

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」を見る事ができます。

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

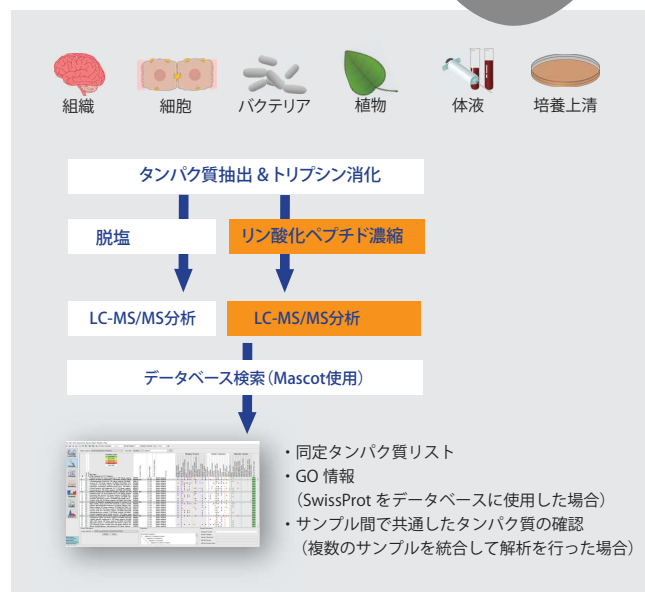
組織、細胞、血清、培養上清、抽出液 等

▶ 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	¥600,000	¥398,000



定量プロテオーム解析

TRAQ / 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の
相対定量プロテオーム解析

LC-MS/MS による
ゲル内タンパク質同定

LC-MS/MS による
ショットガン解析

FFPE組織からの
ショットガン解析

リン酸化
ショットガン解析

プロテオーム解析 受託サービス お問合せ

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。



お客様の声をお聞かせください!

ご意見・ご感想、論文掲載情報、実施例等



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2020年8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