

プロテオミクス解析

○依頼内容

1. SDS-PAGE ゲル内消化

- ・ サンプルは電気泳動後 CBB 染色し切り出したゲル
 - * ゲルは 1mm 角程度に切ってタンパク質低吸着チューブへ入れてお持ちください。
 - * ご自身で実施したい場合のトレーニングも承ります。担当者へご相談ください。
 - * プロトコールは下記をご参照ください。

2. nano-UPLC および質量分析計を利用したプロテオミクス解析

- ・ 1D-LC/ESI-MS スペクトル解析
(ACQUITY UPLC M-Class, Xevo G3 QTof MS)
 - * 別途、機器利用料が発生します。

○料金

依頼料金は依頼書（機器分析ホームページよりダウンロード）、機器利用料は研究設備予約システム「SimpRent」（次項目参照）をご確認いただき、不明な点はお問い合わせください。
ゲル内消化の料金は処理回数での計算となり、1回で処理可能なSample数は5本までです。Sample数が5本に満たないときにも、1回分の料金をご負担いただきますので、ご了承下さい。
料金は2ヶ月ごと（大学運営資金、寄附金、受託研究費、科学研究費補助金）の精算になります。

○依頼方法

機器分析内線：5850または「SimpRent」該当装置基本情報ページ下部「お問い合わせ」ボタン（<https://shinshu.simprent.jp/top#/equipment/equipment/444>）よりお問い合わせいただき、担当者と事前打ち合わせをお願いします。

サンプルシート（機器分析ホームページよりダウンロード）に必要事項を記入し、メールに添付してkikijimu@shinshu-u.ac.jpへお送りください。

担当者による前処理プロトコール確認後、以下のものを旭総合研究棟4階へお持ちください。

- ・ サンプル：チューブに通し番号を記入
- ・ 依頼書：機器分析ホームページよりダウンロード、プリントアウトし記入
- ・ データ返却用外付け HDD

○返却

測定終了は「SimpRent」よりメールにてご連絡いたします。

※noreply-simprent@shinshu.simprent.jp より「機器の予約変更」メールが届きます。

「連絡用メモ」に記載の測定終了の旨を確認後に、旭総合研究棟4階へお越してください。

生データを外付けHDDに保存して返却します。

解析は旭総合研究棟4階画像解析室のプロテオミクス解析用 PC（予約制）で行ってください。
リモートでの解析をご希望の場合は、別途お問い合わせください。

○納期

お問い合わせください。

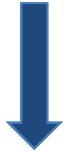
プロテオミクス解析 依頼手順

<1> 担当者と事前打ち合わせ（内線5850またはSimpRent）



- ・依頼内容および前処理プロトコルの確認
- ・サンプルシートをメールに添付して kikijimu@shinshu-u.ac.jp に送付

<2> 試料調製



- ・依頼者の責任で調製

<3> 依頼書・サンプル提出



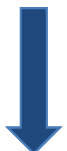
- ・依頼書のプリントアウト，必要事項の記入
- ・担当者に提出
- ・データ回収用外付けHDDを持参

<4> ゲル内消化



- ・電気泳動後にCBB染色し，1mm角に切り出したゲルを依頼者が用意
- ・脱色，消化の作業は担当者

<5> LC-MS分析



- ・ESI - MS 分析は担当者

<6> データベース解析

* 試料調製，データベース解析は依頼者御自身で行っていただきます。
操作方法は担当者よりご説明いたします。

ゲル内消化プロトコール

* 簡略化したプロトコールです。詳細は別途お問い合わせください。

脱色液を加える：**脱色**

↓ 洗淨、乾燥

↓ 10mM DTT 溶液を加える

↓ 56℃で 45 分間：**還元**

↓ 55mM ヨードアセトアミド溶液を加える

↓ 室温で 30 分間（遮光）：**アルキル化**

↓ 洗淨、乾燥

↓ 12.5ng/ul トリプシン溶液を加える

↓ 4℃で 45 分間

↓ 洗淨、50mM 重炭酸アンモニウムを加える

↓ 37℃で 16 時間（一晚）：**消化**

↓ 洗淨、乾燥

↓ 全量 20 ul になるように 0.1%TFA+5%アセトニトリル溶液を加え、バイアル瓶へ
分析