

II. 疾患プロテオミクスラボラトリー

施設長(兼): 井上純一郎 内線: 75275 FAX: 75421 E-mail: jun-i@ims.u-tokyo.ac.jp

URL: <http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/mpl/top.html>

支援業務: 蛋白質情報解析

微細形態解析

培地室サービス

(原則的にかかった経費は自己負担とします。)

1. 蛋白質情報解析支援の案内

担当者: 秦 裕子 内線: 75469 FAX: 75491 E-mail: hata@ims.u-tokyo.ac.jp

尾山 大明 内線: 75469 FAX: 75491 E-mail: moyama@ims.u-tokyo.ac.jp

支援内容: タンパク質の同定、翻訳後修飾解析、及び相対定量解析

申し込み先: prtmx@ims.u-tokyo.ac.jp

研究支援概要

疾患プロテオミクスラボラトリー（蛋白質情報解析グループ）では、数百から数千のタンパク質に関する一斉同定及び定量を可能にするオンラインナノ流速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析（nanoLC-MS/MS）システムを駆使し、システムレベルでのタンパク質動態の解明に向けた多様なプロテオミクス技術基盤の確立及び疾患関連研究への応用展開を推進しています。

nanoLC-MS/MS システムによるプロテオミクス解析においては、解析対象のタンパク質を酵素消化により断片化したペプチドに関して、分析計内での衝突解離により更に部分断片化した質量データセット（MS/MS スペクトル）を取得し、内部アミノ酸配列に関する理論分子量情報を基に確度の高い同定を行います。サンプルに含まれるペプチド群を nanoLC によって分離を行いながら、直接かつ連続的に質量分析計に導入しショットガン式に測定を行うため、非常に複雑性の高いサンプルに関する高感度かつ包括的な同定を行うことが可能です。

nanoLC における分離能が検出感度に直接影響を及ぼすため、消耗品のカラム、ESI スプレイヤーは全て申込者ごとに付け替え、分析は専属の担当者が行います。本施設のスタッフが解析や技術指導を行った場合は、共同研究扱いとさせていただきますので予めご了承下さい。

上記の高精度質量分析技術を用いて、主に以下の解析支援を行っています。

1. タンパク質複合体に関する包括的同定解析

免疫沈降により精製したタンパク質複合体に関するダイレクトショットガン解析により、ゲル電気泳動による複合体構成成分の分離・切り出しを行う従来のプロテオーム解析に比べ、高感度かつ包括的な解析を行うことが可能です。汎用性の高い界面活性剤で可溶化が困難な難溶性タンパク質複合体の解析に関しては、フィルター上で微量タンパク質複合体のバッファー交換及び酵素消化を行う FASP (Filter-Aided Sample Preparation)法を適用します。

2. リン酸化・ユビキチン化等のタンパク質翻訳後修飾に関する精密同定解析

当グループでは、従来のプロテオーム解析法で検出が困難であったリン酸化、ユビキチン化等のタンパク質翻訳後修飾に関する高感度・高精度解析基盤を確立しています。リン酸化に関しては、チタニアカラムによる微量リン酸化ペプチドの濃縮技術を基盤とする大規模同定解析が可能です。また、ユビキチン化部位の包括的解析に関しては、被修飾部位をトリプシン処理した後に生成されるジグリシン修飾リジンを標的とするモノクローナル抗体を用いた精製手法を適用します。

3. MS スペクトルデータに基づく高精度相対定量解析

細胞タンパク質全体に継代培養にて直接安定同位体ラベルを導入する SILAC (Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture) 法により、MS スペクトルのピーク情報から培養細胞中のタンパク質あるいはその翻訳後修飾に関する包括的な相対定量を行うことが可能です。各タンパク質分子・複合体・パスウェイあるいは細胞ネットワークレベルでの定量的な変動に関する高精度計測に適用します。

利用の流れ

1. 実験目的、予備検討に関する情報を担当者宛てにメールにてご連絡下さい。
2. 予備検討結果を基に打ち合わせを行い、サンプル調製の詳細に関してご相談をさせていただきます。必要に応じて調製方法の最適化に向け再度条件検討を行って頂き、本測定サンプルに関する実験方法の詳細を決定します。

3. 別途スケジュールを設定し、疾患プロテオミクスラボラトリー蛋白質情報解析実験室（合同ラボ棟1階）にて当施設スタッフの指導の下、分析サンプルの調製を行います。作成したサンプルは質量分析担当者の方で一時保存します。
4. 質量分析測定及びタンパク質同定・定量に関する情報解析を行い、結果がまとまり次第、各研究課題の担当者に報告します。
5. 論文等の成果発表に向けたデータの取り扱いについては、随時ご相談下さい。

利用者負担金（1測定）： 所内 125,000円
 所外 150,000円

内訳：質量分析消耗品一式費用

75,000円

質量分析装置保守契約費用一部負担金（平成24年11月より設定）

50,000円（所内）、75,000円（所外）

また、解析の内容によって別途消耗品が必要な場合は、原則として申込者負担になりますので予めご了承下さい。

■蛋白質情報解析支援料金表

サービス内容		単位	利用料金 (円)
nanoLC-MS/MS 型高精度質量分析計を用いた プロテオミクス解析	(所内研究者)	1 測定	125,000
nanoLC-MS/MS 型高精度質量分析計を用いた プロテオミクス解析	(所外研究者)	1 測定	150,000

2. 微細形態解析支援の案内

担当者:相良 洋 TEL/FAX: 75515 E-mail: sagara@ims.u-tokyo.ac.jp

微細形態解析グループでは以下のサービスを行います。

1. 透過型電子顕微鏡用試料作成および指導
2. 走査型電子顕微鏡用試料作成および指導
3. 免疫電子顕微鏡法用試料作成および指導
4. その他、形態学的観察のサポート

(光学顕微鏡標本(樹脂包埋)作成、ネガティブ染色、等)

1. 透過型電子顕微鏡用試料作成および指導について

超薄切片法により組織・細胞の微細形態を観察するための試料作成、電子顕微鏡観察、写真撮影を行います。また、自分で試料作成、観察を希望される方々には、適正な指導、アドバイスをします。

2. 走査型電子顕微鏡用試料作成および指導について

走査型電子顕微鏡で組織、細胞の表面構造を観察するための試料作成、観察、写真撮影を行います。自分で試料作成、観察を希望される方々には、指導、アドバイスをします。

3. 免疫電子顕微鏡法用試料作成および指導について

特定分子の細胞内局在を免疫電子顕微鏡法を用いて検索します。コロイド金法、HRP法等、用いる方法については事前に相談して決定します。

用いる抗体は一次抗体、二次抗体とも利用者側でご用意ください。

また、検索したい抗原分子によっては必ずしも明確な局在が得られない場合があります。事前に了解の上ご利用ください。

4. その他、形態学的観察のサポートについて

上記の電子顕微鏡的観察以外にも電子顕微鏡用樹脂包埋試料の厚切り切片による光学顕微鏡的観察や、ネガティブ染色による細胞分画や分子の観察等、様々な形態学的観察のサポートが可能です。

思いついたことがありましたら一度ご相談ください。

利用の手順

1. 担当者(相良)に連絡。
電話: 内線 75515
E-mail: sagara@ims.u-tokyo.ac.jp
2. 担当者と打合せ。
実験目的をおうかがいした後、目的達成のための最適な方法をご提案し話し合いの上、具体的な実験の計画を立案します。
3. 利用申込書の提出。

検体引き渡し
4. 作業の実施
5. 試料・写真の引き渡し、説明

利用料金

1. 透過型電子顕微鏡

- 一式……………10,000 円
別途、ネガ一枚につき 150 円が必要になります。
- 固定・脱水・包埋…………… 6,000 円
- 薄切・染色・観察・撮影…………… 4,000 円
別途、ネガ一枚につき 150 円が必要になります。
- 写真焼き付け…………… 印画紙一枚につき 150 円

2. 走査型電子顕微鏡

- 一式……………10,000 円
- 固定・脱水・凍結乾燥…………… 6,000 円
- 観察・撮影…………… 4,000 円

3. 免疫電子顕微鏡

透過型電子顕微鏡に準ずる

4. その他、形態学的観察のサポート

その都度相談により決定します。
最低限消耗品代の負担をお願いいたします。

微細形態解析サービス利用申込書

平成 年 月 日

微細形態解析サービスを利用したく、以下の通り申し込みます。

利 用 者	職名		氏名	印
	所属分野名			
	連絡先	電話 : E-mail :		
責 任 者	職名		氏名	印
	所属分野名			
	連絡先	電話 : E-mail :		
	支払区分	校費 科研費(科目) その他 ()		

内 容	Title	
	<p style="text-align: center;">透過型電子顕微鏡観察一式……………10,000 円 別途、ネガ一枚につき 150 円がかかります。</p> <p style="text-align: center;">固定・脱水・包埋…………… 6,000 円 薄切・染色・観察・撮影…………… 4,000 円 別途、ネガ一枚につき 150 円がかかります。</p> <p style="text-align: center;">走査型電子顕微鏡観察一式……………10,000 円 固定・脱水・凍結乾燥…………… 6,000 円 観察・撮影…………… 4,000 円</p> <p style="text-align: center;">免疫電子顕微鏡法一式……………10,000 円 別途、ネガ一枚につき 150 円がかかります。</p> <p style="text-align: center;">その他</p> <p style="text-align: right;">計 _____ 円</p>	

- * 上記費用は一回の実験につきかかる費用です。
- * 研究内容によっては数回の実験が必要となります。