タンパク質ゲル内消化受託サービス

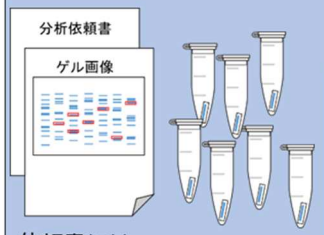
2022年8月現在
医科学研究支援部門　藤井沙季

ゲル内消化の方法とサービスの流れ

サービス内容：CBB染色されたSDS-PAGEのゲル片を、タンパク質消化酵素処理し、消化物の回収・精製を行います。
※ゲル内消化と、MALDI-TOF MSによるペプチドの質量分析の両方をご希望の場合は、「MALDI-TOF MS質量分析受託サービス」も合わせてご依頼ください。

依頼者

電気泳動とCBB染色を行い、分析したいバンドやスポットを清潔なカッターナイフやカミソリで切り出す。
スタッフに分析依頼書・ゲル画像・ゲル片を提出



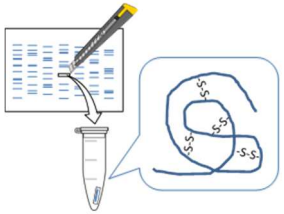
依頼書には、
- 由来生物種
- 分子量
- 還元・アルキル化に用いる試薬の希望
- プロテアーゼの希望
- 修飾の有無　　を記入

希望する試薬など依頼書に沿って行い、分析結果を送付します。

試薬の希望がない場合の標準手順では、
還元：ジチオスレイトール
アルキル化：アクリルアミド
プロテアーゼ：トリプシン
を用います。

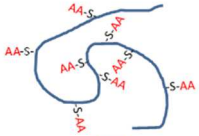
スタッフ

タンパク質の分離
主にSDS-PAGEや二次元電気泳動を行ってタンパク質を分離します。

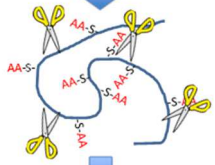


目的のバンドの切り出し

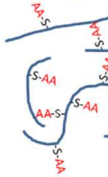
脱染色、還元・アルキル化
システインによるS-S結合を切断し、タンパク質をほぐれた状態に維持します。



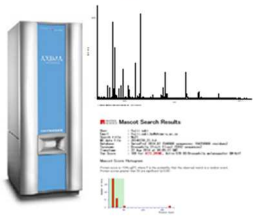
プロテアーゼ処理
タンパク質をペプチドに分解します。タンパク質に応じて適したプロテアーゼを選択します。



消化物の回収・精製・濃縮
ペプチドをゲルから抽出し、C18カラムを用いて精製・濃縮を行います。



ペプチドの質量分析
MALDI-TOF MSを用いてペプチドの質量を分析します。



PMF解析
得られた質量データをMS-FitやMASCOTなどでデータベースと照合し、タンパク質を同定します。

ご利用料金

基本料金3,000円＋600円×サンプル数（最大28サンプル）

※参考　MALDI-TOF MS質量分析受託サービス
利用料金：1サンプル　400円

例）5サンプルのゲル内消化とMALDI-TOF MS質量分析を依頼。
〈内容〉
トリプシン消化を行い、消化物をMALDI-TOF MSで分析。
MSデータのご返却と、データベース検索サイトの利用方法をご紹介。
〈利用料金〉
タンパク質ゲル内消化受託サービス：3,000円＋600円×5サンプル＝6,000円
MALDI-TOF MS質量分析受託サービス：400円×5サンプル＝2,000円

参考

【マトリックス支援レーザー脱離イオン化法】
マトリックス支援レーザー脱離イオン化法（Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization ; MALDI）はソフトイオン化法のひとつで、マトリックスと呼ばれるイオン化されやすい物質をサンプルと混合して結晶化し、そこにレーザーを照射するとサンプルとマトリックスの間でプロトンの授受が起こり、タンパク質やペプチド、多糖のような大きな生体分子も壊すことなくイオン化できる方法です。

【飛行時間型質量分析法】
飛行時間型質量分析法(Time of Flight Mass Spectrometry ; TOF MS)は、生じた分子イオンを電場で加速させ、一定距離の飛行時間を測定して分子の質量を求める方法です。加速された分子イオンは、質量電荷比m/zが小さいほど高速で飛行するので、飛行時間から得られる質量電荷比m/zの値から質量を求めます。

【タンパク質同定方法について】
ペプチドマスフィンガープリンティング法(Peptide Mass Fingerprinting ; PMF)と呼ばれる方法で同定します。データベース上のタンパク質について、特異性のわかっているプロテアーゼで切断すると、配列から生じるペプチドとその質量が予想されます。こうして得られるペプチド質量の理論値と、未知タンパク質から得られた実測値を比較することで、統計的にタンパク質を同定する方法です。