

プロテオミクス研究技術支援

質量分析受託解析のご案内

神戸理研の質量分析室では、共同研究の形で各種プロテオミクス解析の研究技術支援に取り組んでおります。専任の研究員が、研究者の各々のニーズに合わせて対応し、プロテオーム研究の遂行をサポートします。研究目的に合わせてご活用ください。

主な支援内容

タンパク質同定 : Protein Identification

タンパク質相互作用解析 Affinity purification mass spectrometry (AP-MS)

- ・近位依存性標識 (BioID, TurboID、etc.)
- ・免疫沈降法 (IP-MS)
- ・タグ精製法 (GFP, Flag, Biotin, Myc, HA, TAP etc.)
- ・GST-pull down assay etc.

タンパク質定量 : Quantitative Proteomics

網羅的同定解析・ノンターゲット定量解析

- ・ラベルフリー定量 (Label Free Quantification)
- ・ラベル化定量 (SILAC、 Isobaric labeling)

ターゲット定量解析

- ・MS-QBiC : 安定同位体標識ペプチドを用いたターゲット解析

翻訳後修飾解析 : Post Translational Modification (PTM)

リン酸化、アセチル化、メチル化、ユビキチン化、SUMO化、脂質修飾、N-末端・C-末端決定、S-S結合部位決定 etc.

クロスリンク質量分析 : Cross-link mass spectrometry (XL-MS)

タンパク質複合体の立体構造解析

受付期間

新規の相談・お申し込み 2023年5月8日～ 2023年11月30日

解析サンプル提出期間 2023年6月1日～ 2023年12月22日

* 解析の混雑状況によって、新規共同研究の受け入れを一時休止することがあります。

* 2023年度予算による支払いをご希望される場合は、必ず2023年12月中にお申し込みください。

理研では、民間企業や大学研究機関からのご要望に応じて、研究・技術協力をスムーズに実施できる受託試験制度を整えております。(詳細)

<https://www.riken.jp/medialibrary/riken/outreach/collaboration/kenkyu.pdf>



【お問い合わせ先】

理化学研究所 生命機能科学研究センター BDR

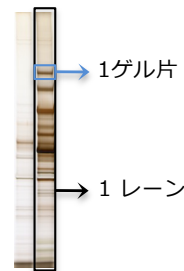
無細胞タンパク質合成研究チーム プロテオミクス研究支援担当：中川

場所：理研神戸キャンパス 融合連携イノベーション推進棟 (IIB) S503

Email : mass-spec@riken.jp

【支援内容詳細】

- 【解析料】 1ゲル片につき：22,000円（税込）
複合体構成因子群の同定解析 1レーンにつき：110,000円（税込）
ショットガン解析 1run：22,000円（税込）



- 【必要なタンパク量】 同定解析： \geq fmol (\approx ng)、銀染色でバンドが薄く目視できる程度。
翻訳後修飾解析： \geq pmol (\approx μ g)、CBBではっきり濃く染まる程度
クロスリンク質量分析： \geq pmol (\approx μ g)、タンパク量が多いほど良い

設備紹介

LC-MS/MSシステム (イオン源 nano-ESI)

ADVANCED UHPLC + Orbitrap Velos Pro (ThermoFisher社)

Vanquish Neo UHPLCシステム+ Orbitrap Eclipse(ThermoFisher社)

プロテオミクス解析データベース&Software

MASCOT2.8 (MATRIX SCIENCE社), Proteome Discoverer2.5 (ThermoFisher社),

Scaffold 5.2 (MATRIX SCIENCE社), PEAKS Studio 11 (BSI solutions社),

Skyline (MacCoss Lab), MaxQuant (Max Plank ins.), StavroX/Mero X/XlinkX

【解析の流れ】

- ① お問い合わせ：mass-spec@riken.jp
当方の受注方針・お支払い方法のご説明

- ② 共同研究の申し込み（メール対応可）

* 電話による新規お問い合わせは受け付けておりません。
* ご依頼内容によってはお引き受けできない場合がございます。

- ③ 事前打ち合わせ（遠方の方はメール対応可）

* 納期は約1ヶ月（混雑状況により変動します）

- ④ 受託試験手続（メールおよび郵送）

- ⑤ サンプルの受け渡し（クール便による郵送）

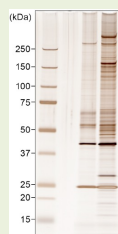
ゲル片サンプルの場合



切り出して1.5ml tubeに保存

レーン解析の場合

ゲルを切り分けずに
ハイブリバック等に保存



- ⑥ 質量分析室で解析

マス測定用ペプチドサンプルの調製

LC-MS/MS測定

MASCOTによるデータベース検索

- ⑦ 結果報告（e-mail）

Scaffold 又は Proteome Discoverer
その他、データファイルの作成
（所外にも対応可能）

MASCOT server
（神戸研所内ネットワーク専用）

- ★ 事前にゲル画像から目的のバンドが同定可能か等、ご相談に応じます。
- ★ 解析に関する事前のご相談、解析結果についてのディスカッション、部屋や装置の見学等、お気軽にご連絡ください。
- ★ 研究内容の背景/概要および目的、解析試料の由来など解析の詳細をお聞かせ頂きますので、ご協力のほどよろしくお願いいたします。
- ★ 解析は必ず研究室長の承認を得た上でお問い合わせください。
- ★ 本技術支援は共同研究として実施いたします。共同研究は研究室長もしくはプロジェクトのリーダーに当たる方よりお申し込みください。

2022

- Toh K, et al. Chemoproteomic Identification of Blue-Light-Damaged Proteins. *J Am Chem Soc.* 2022 144:20171-20176. [\[PubMed\]](#)
- Hashimoto K, et al. Postnatal expression of cell cycle promoter Fam64a causes heart dysfunction by inhibiting cardiomyocyte differentiation through repression of Klf15. [\[PubMed\]](#)
- Kouwaki T, et al. K63-linked polyubiquitination of LGP2 by Riplet regulates RIG-I-dependent innate immune response. *EMBO Rep.* 2023:e54844 [\[PubMed\]](#)

2021

- Yagi S, et al. Seven Amino Acid Types Suffice to Create the Core Fold of RNA Polymerase. *J Am Chem Soc.* 2021, 143:15998-16006 [\[PubMed\]](#)
- Kukimoto-Niino M, et al. Cryo-EM structure of the human ELMO1-DOCK5-Rac1 complex. *Sci Adv.* 2021 7:eabg3147. [\[PubMed\]](#)
- Ariyoshi M, et al. Cryo-EM structure of the CENP-A nucleosome in complex with phosphorylated CENP-C. *EMBO J.* 2021 40:e105671. [\[PubMed\]](#)
- Nishimura K, et al. Deciphering the Proteotoxic Stress Responses Triggered by the Perturbed Thylakoid Proteostasis in Arabidopsis. *Plants (Basel).* 2021 10:519. [\[PubMed\]](#)
- Takakura M, et al. Rpd3/CoRest-mediated activity-dependent transcription regulates the flexibility in memory updating in Drosophila, *Nature Communications, Nat Commun.* 2021 12:628. [\[PubMed\]](#)
- Sridhar S, et al. Bridgin connects the outer kinetochore to centromeric chromatin. *Nature Communications,* 2021 Jan 8;12(1):146. [\[PubMed\]](#)

2020

- Watanabe K, et al. Indolizines Enabling Rapid Uncaging of Alcohols and Carboxylic Acids by Red Light-Induced Photooxidation. *Organic Letters* 2020 Jul 17;22(14):5434-5438. [\[PubMed\]](#)
- Cheng D, et al. Structural basis for histone variant H3tK27me3 recognition by PHF1 and PHF19. *Elife.* 2020 Sep 1;9:e58675. [\[PubMed\]](#)

2019

- Oya E, et al. H3K14 ubiquitylation promotes H3K9 methylation for heterochromatin assembly. *EMBO Rep.* 2019 Aug 29:e48111. [\[PubMed\]](#)
- Katoh H, et al. The R2TP complex regulates paramyxovirus RNA synthesis. *PLoS Pathog.* 2019 May 23;15(5):e1007749. [\[PubMed\]](#)
- Nishibuchi G., et al. Mitotic phosphorylation of HP1 α regulates its cell cycle-dependent chromatin binding. *J Biochem.* 2019 May 1;165(5):433-446 [\[PubMed\]](#)
- Bommi JR, et al. Meiosis-specific cohesin component, Rec8, promotes the localization of Mps3 SUN domain protein on the nuclear envelope. *Genes Cells.* 2019 Jan;24(1):94-106. [\[PubMed\]](#)

2018

- Hara Y., et al. Shark genomes provide insights into elasmobranch evolution and the origin of vertebrates. *Nat Ecol Evol.* 2018, 2, 1761-1771 [\[PubMed\]](#)
- Okazaki K, et al. RNAi-dependent heterochromatin assembly in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* requires heat-shock molecular chaperones Hsp90 and Mas5. *Epigenetics Chromatin.* 11, 26 (2018) [\[PubMed\]](#)

2017

- Zhou Z, et al. NEDD4 controls spermatogonial stem cell homeostasis and stress response by regulating messenger ribonucleoprotein complexes. *Nat Commun.* 8, 15662 (2017) [\[PubMed\]](#)

2016

- Kamata K., et al. Four domains of Ada1 form a heterochromatin boundary through different mechanisms. *Genes Cells.* 21, 1125-1136. (2016) [\[PubMed\]](#)
- Mitsumori R., et al. Gic1 is a novel heterochromatin boundary protein in vivo. *Genes Genet Syst.* (2016) 91, 151-159. [\[PubMed\]](#)
- Suzuki A, et al. Dead end1 is an essential partner of NANOS2 for selective binding of target RNAs in male germ cell development. *EMBO Rep.* 17, 37-46. (2016) [\[PubMed\]](#)

2015

- Nishibuchi G., et al. N-terminal phosphorylation of HP1 α increases its nucleosome-binding specificity. *Nucleic Acids Res.* 42 12498-12511. (2014) [\[PubMed\]](#)

2014

- Nishibuchi G., et al. Physical and Functional Interactions between the Histone H3K4 Demethylase KDM5A and the Nucleosome Remodeling and Deacetylase (NuRD) Complex. *J Biol Chem.* 289, 28956-28970. (2014) [\[PubMed\]](#)
- Izumi H., et al. p54nrb/NonO and PSF promote U snRNA nuclear export by accelerating its export complex assembly. *Nucleic Acids Res.* 42, 3998-4007. (2014) [\[PubMed\]](#)
- Kamata K., et al. The N-terminus and Tudor domains of Sgf29 are important for its heterochromatin boundary formation function. *J Biochem.* 155, 159-171. (2014) [\[PubMed\]](#)

2013

- Kamata K., *et al.* C-terminus of the Sgf73 subunit of SAGA and SLIK is important for retention in the larger complex and for heterochromatin boundary function. *Genes Cells*. 18, 823-837. (2013) [[PubMed](#)]
- Kuroha K., *et al.* The Upf complex interacts with aberrant products derived from mRNAs containing a premature termination codon and facilitates their proteasomal degradation. *J Biol Chem*. 288, 28630-28640. (2013) [[PubMed](#)]
- Tsutsui T *et al.* Mediator complex recruits epigenetic regulators via its two cyclin-dependent kinase subunits to repress transcription of immune-response genes. *J Biol Chem*. 288, 20955-20965, (2013) [[PubMed](#)]

2012

- Terabayashi T., *et al.* Phosphorylation of Kif26b promotes its polyubiquitination and subsequent proteasomal degradation during kidney development. *PLoS One*. 7, e39714. (2012) [[PubMed](#)]
- Shiomi Y., *et al.* Two different replication factor C proteins, Ctf18 and RFC1, separately control PCNA-CRL4Cdt2-mediated Cdt1 proteolysis during S phase and following UV irradiation. *Mol Cell Biol*. 32, 2279-2288. (2012) [[PubMed](#)]
- McCloskey A., *et al.* hnRNP C tetramer measures RNA length to classify RNA polymerase II transcripts for export. *Science*. 335, 1643-1646. (2012) [[PubMed](#)]
- Satoh R., *et al.* Role of the RNA-binding protein Nrd1 in stress granule formation and its implication in the stress response in fission yeast. *PLoS One*. 7, e29683. (2012) [[PubMed](#)]

2011

- Hatanaka A., *et al.* Fub1p, a novel protein isolated by boundary screening, binds the proteasome complex. *Genes Genet Syst*. 86, 305-314. (2011) [[PubMed](#)]
- Zou P., *et al.* p57(Kip2) and p27(Kip1) cooperate to maintain hematopoietic stem cell quiescence through interactions with Hsc70. *Cell Stem Cell*. 9, 247-261. (2011) [[PubMed](#)]
- Kitano E., *et al.* Roles of fission yeast Grc3 protein in ribosomal RNA processing and heterochromatic gene silencing. *J Biol Chem*. 286, 15391-15402. (2011) [[PubMed](#)]
- Otani T., *et al.* IKK ϵ Regulates Cell Elongation through Recycling Endosome Shuttling. *Dev Cell*. 20, 219-232. (2011) [[PubMed](#)]
- Hiragami-Hamada K., *et al.* N-Terminal Phosphorylation of HP1{alpha} Promotes Its Chromatin Binding. *Mol Cell Biol*. 31, 1186-1200. (2011) [[PubMed](#)]

2010

- Shirai A., *et al.* Methylation of ribosomal protein L42 regulates ribosomal function and stress-adapted cell growth. *J Biol Chem*. 285, 22448-22460. (2010) [[PubMed](#)]
- Hayakawa T., *et al.* MRG15 binds directly to PALB2 and stimulates homology-directed repair of chromosomal breaks. *J Cell Sci*. 123, 1124-1130. (2010) [[PubMed](#)]

2009

- Alev C., *et al.* Genomic organization of zebra finch alpha and beta globin genes and their expression in primitive and definitive blood in comparison with globins in chicken. *Dev Genes Evol*. 219, 353-360. (2009) [[PubMed](#)]
- Okada S., *et al.* Reconstitution of Arabidopsis thaliana SUMO pathways in E. coli: functional evaluation of SUMO machinery proteins and mapping of SUMOylation sites by mass spectrometry. *Plant Cell Physiol*. 50, 1049-1061. (2009) [[PubMed](#)]
- Shimada A., *et al.* Phosphorylation of Swi6/HP1 regulates transcriptional gene silencing at heterochromatin. *Genes Dev*. 23, 18-23. (2009) [[PubMed](#)]

2008

- Alev C., *et al.* BetaA, the major beta globin in definitive red blood cells, is present from the onset of primitive erythropoiesis in chicken *Developmental Dynamics*, 237, 1193-1197. (2008) [[PubMed](#)]
- Sadaie M., *et al.* A conserved SET-domain methyltransferase, Set11, modifies ribosomal protein Rpl12 in fission yeast. *J. Biol. Chem.*, 283, 7185-7195. (2008) [[PubMed](#)]
- Kakihara K., *et al.* Conversion of plasma membrane topology during epithelial tube connection requires Arf-like 3 small GTPase in *Drosophila*. *Mech. Dev.*125, 325-336. (2008) [[PubMed](#)]

2007

- Hayakawa T., *et al.* RBP2 is an MRG15 complex component and down-regulates intragenic histone H3 lysine 4 methylation. *Genes Cells* 12, 811-26. (2007) [[PubMed](#)]