

タンパク質配列分析をご依頼の方へ

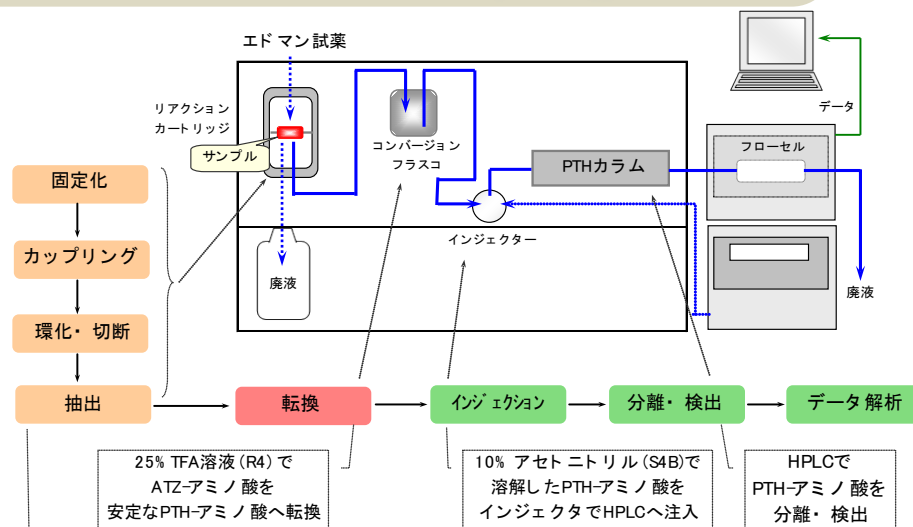
- タンパク質配列分析とは
- タンパク質配列分析で分かること
- 提出試料について
- 返却データ
- 判読不能を可能にするためのヒント
- 申込書作成上の注意点
- 分析スケジュール

2026年6月版

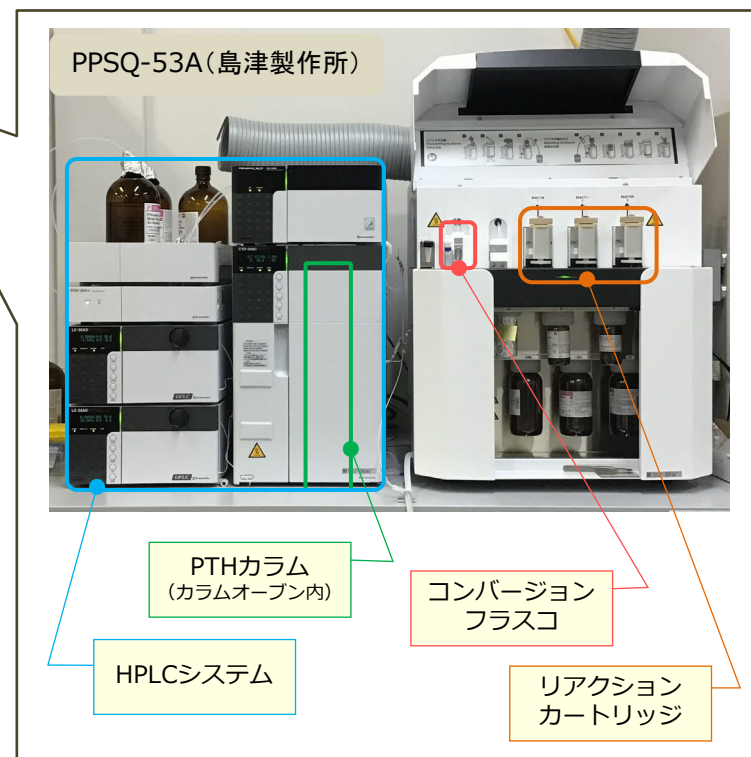
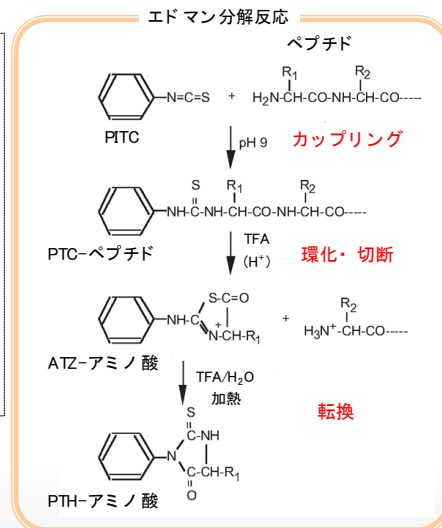
当部門のタンパク質配列分析

分析項目	通常分析
測定感度	2~300 pmol ※試料により解読のしやすさには大きな差があります
試料量目安 (例 5残基)	10 pmol
測定機種	PPSQ-53A (Shimadzu)
測定時間/1測定 (例 5残基)	6 hr

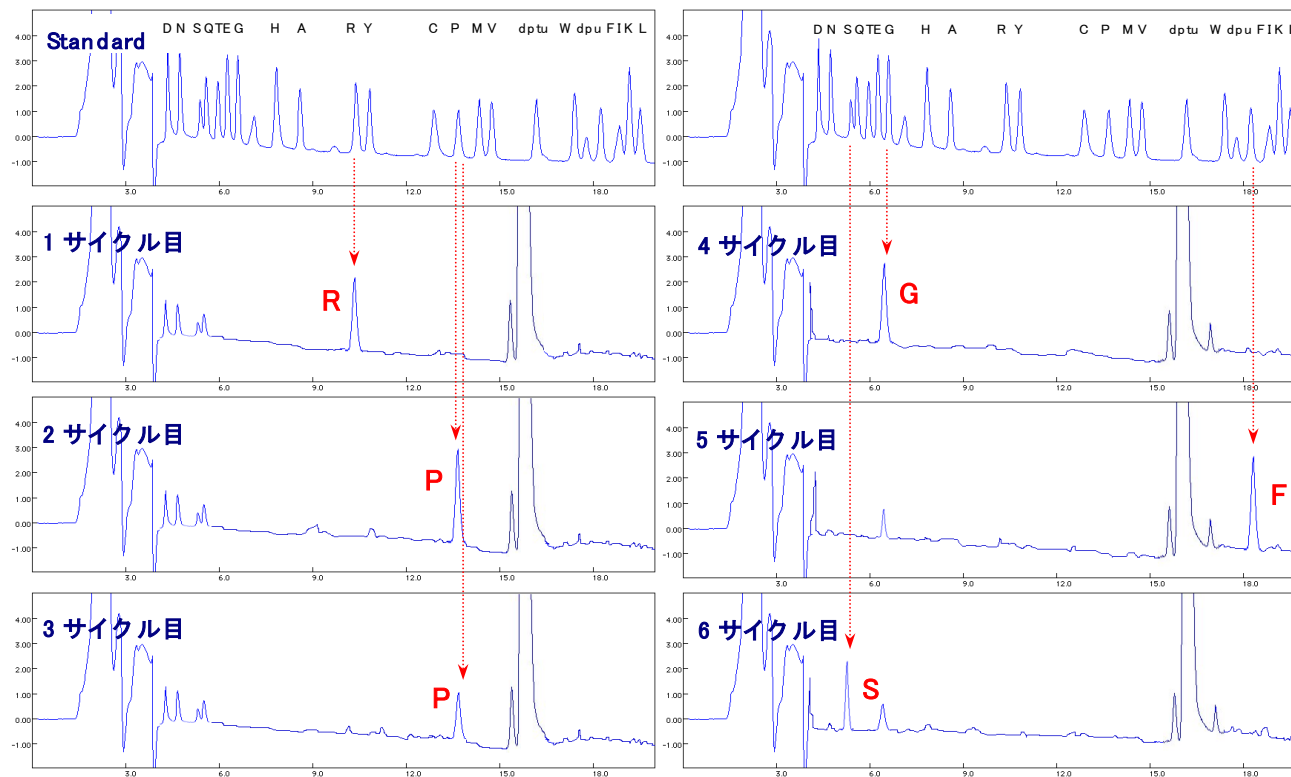
ペプチドシーケンサー(PSQ)の概要



- 【固定化】
ポリブレンにペプチド（あるいはタンパク質）を固定（またはペプチドが固定化されたPVDF膜をセット）
- 【カップリング】
ペプチド末端アミノ基にPITC (R1) を反応させ、PTCペプチドを生成（酢酸エチル (S2) で過剰試薬・副生成物を洗浄）
- 【環化・切断】
トリフルオロ酢酸 (TFA) で環化・切断
- 【抽出】
遊離したATZ-アミノ酸を塩化n-ブチル (S3) で抽出（残ったペプチドはさらに反応を繰り返す）



PTHアミノ酸クロマトグラム



RPPGFS

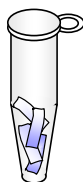
($\text{H}_2\text{N} - \text{Arg} - \text{Pro} - \text{Pro} - \text{Gly} - \text{Phe} - \text{Ser} - \text{COOH}$)



N末端から切り離されたアミノ酸が1サイクルずつ順に出てくるので、前のサイクルと比較して増加しているピーク（アミノ酸）を読んでいくと、配列決定ができる。



試料形態



PVDF膜サンプル

膜孔 $0.2\mu\text{m}$ のものをご使用ください。

(商品名：Immobilon-PSQ、フルオロトランス、シーケブロット)

ブロッキング後、バンドがみえる程度に脱色してください。脱色後、超純水でよくボルテックスし脱塩・洗浄を行ってください。その後、ろ紙等の上で自然乾燥させてご提出ください。



溶液サンプル

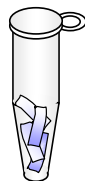
塩類を除いて下さい⇒逆相系HPLCで分取，精製など

除かれていないとラインが汚染したり，
カラムが詰り測定不能になります。



試料量の見積もり方

【重要】PSQにかける試料の **mol** 量で、判読できる残基数や判読の可否が変わります。



PVDF膜サンプル

ブロッティングに供したmol量の最大10%がブロッティングされたと考えて下さい。

染色後のPVDF膜を分子量マーカーとの比較を目安にブロッティングされたmol量を推定、申込書にご記入下さい。

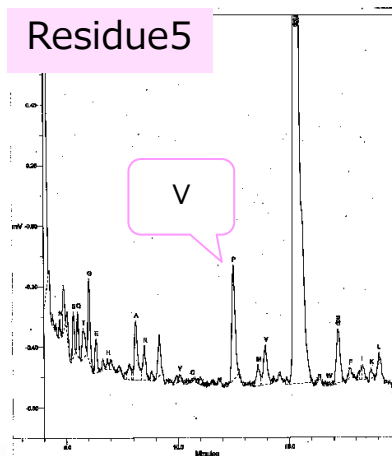
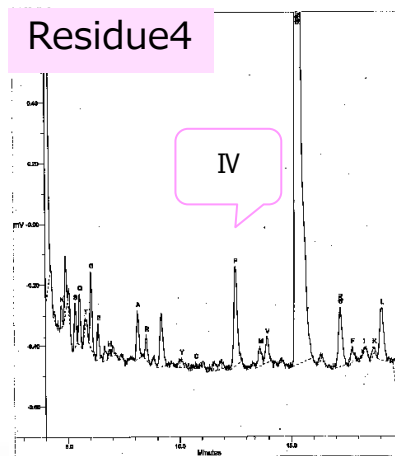
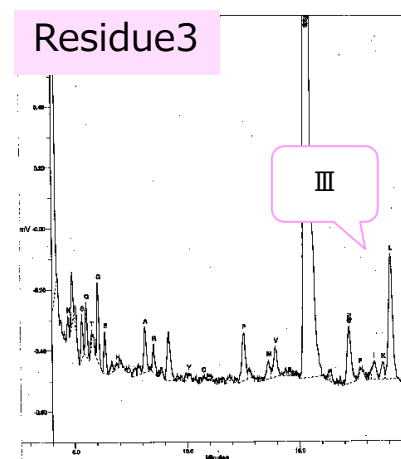
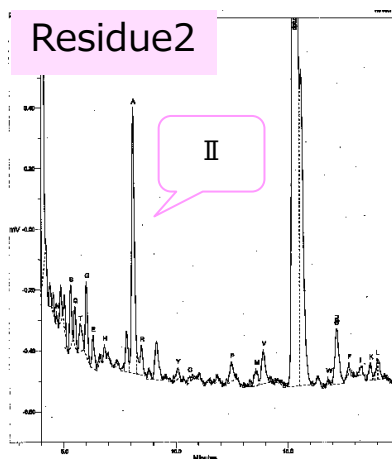
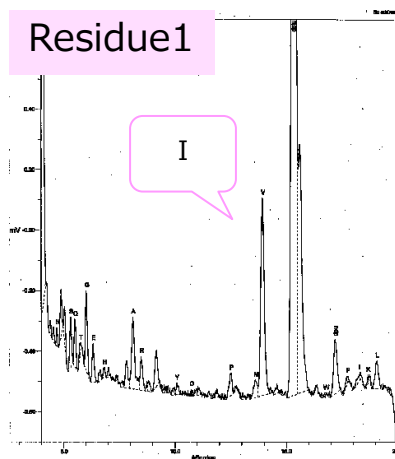


溶液サンプル

提出した溶液中のmol量を算出、申込書にご記入下さい。

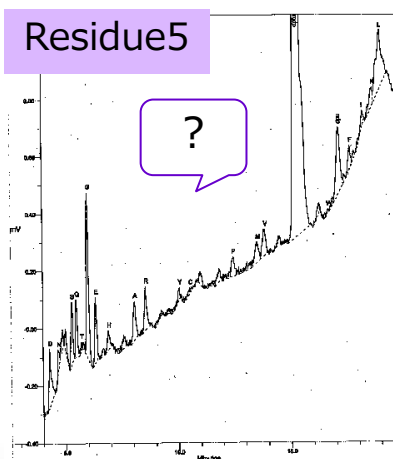
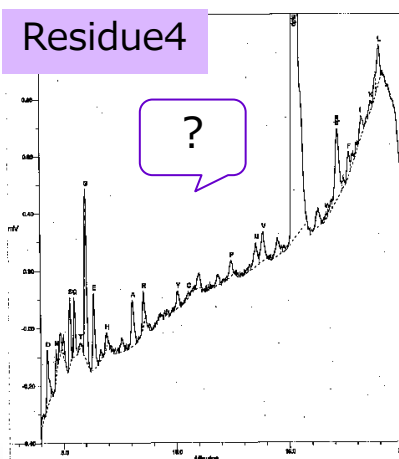
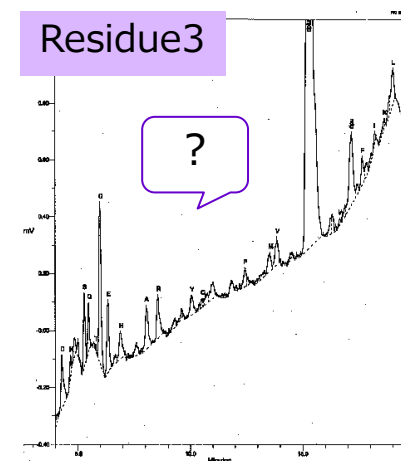
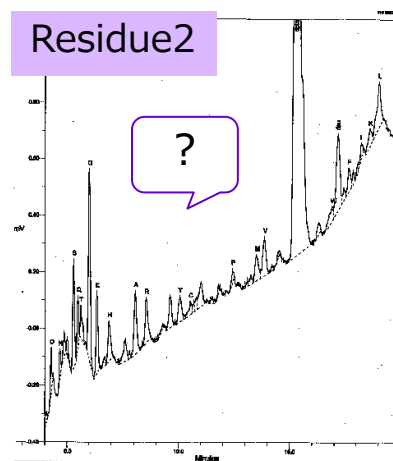
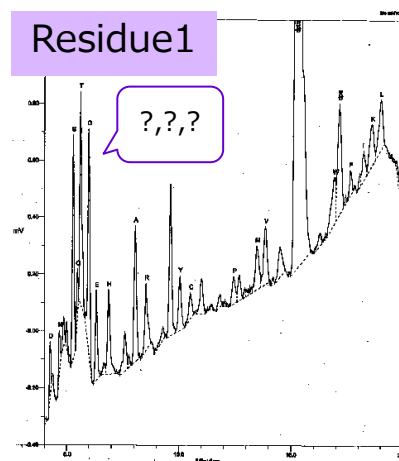


判読可能なデータ ⇒ 前のサイクルと比較して、増加しているピークがある





判読不能なデータ ⇒ 前のサイクルと比較して、増加しているピークがない



- ・ N末が修飾されている
⇒デブロッキングが必要
- ・ プロットされていない
- ・ サンプル量の不足

2 ページ目：分析条件の一覧

3 ページ目：標準品（PTHアミノ酸）のクロマトグラム

4 ページ目～：各サイクルのクロマトグラム、差クロマトグラム

配列結果の見方

オペレーターが判読した結果
DTHKSEIAHR

※「X」があった場合、判読できなかった
ときの表記です

```
[シーケンス分析]
開始日時       : 2025/07/08 14:35:34
解析日時       : 2025/07/09 11:58:10
リアクタ番号   : 2
サイクル数     : 11
シーケンススケジュール名 : C:\PPSQ\SEQPROG3_PDA_BGE\PPVDF9-3C.sch
サンプル名     : BSA
サンプル量(pmol) : 20.0
サンプルID     : BSA
オペレータ名   : HIROSE Tomohiro
データファイル名 : 20250708BSA-1
開始番号       : 1
メソッドファイル名 : 20250708BSA-1.lcm
バッチファイル名 : 20250708BSA-1.lcb
データファイルフォルダ : C:\LabSolutions\Data\Project1\PPSQ\20250708BSA-1
分析サイクル数 : 11 / 11
データファイル名 : C:\LabSolutions\Data\Project1\PPSQ\20250708BSA-1\20250708std-2.D01.lcd
推定配列[参考]DTHKS EIAHR
```

BSAの10残基分の配列結果の例です。
ご返却データの**最終ページ**にあります。

[収量(pmol)]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Asp	1.58	0.00	0.00	0.00	0.13	0.06	0.18	0.00	0.00	0.06
Glu	0.44	0.00	0.00	0.19	0.11	1.32	0.00	0.00	0.00	0.00
Asn	0.48	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ser	0.00	0.00	0.00	0.00	0.63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Thr	0.53	0.35	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Gln	0.13	0.00	0.00	0.04	0.04	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00
Gly	0.29	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00
His	0.05	0.05	0.37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.26	0.00
Ala	0.06	0.19	0.04	0.12	0.13	0.06	0.04	0.83	0.00	0.00
Arg	1.93	0.00	1.78	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.33
Tyr	0.08	0.98	0.00	0.14	0.00	0.11	0.16	0.04	0.11	0.00
Pro	0.33	0.16	0.00	0.10	0.04	0.00	0.12	0.00	0.00	0.00
Met	0.37	0.00	0.00	0.00	0.24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Val	0.57	6.35	1.01	0.43	0.68	0.00	0.11	0.45	0.07	0.05
Trp	0.00	642.04	23.96	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lys	0.43	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Phe	0.38	0.00	0.06	0.00	0.08	0.00	0.32	0.18	0.00	0.00
Ile	0.11	0.95	0.05	0.05	0.11	0.00	1.20	0.00	0.29	0.00
Leu	0.42	0.00	0.00	0.97	0.96	0.00	0.68	2.15	0.00	0.00

赤字が解析ソフトが判読した結果です。
正しくない場合があります。

ブロッキングPVDF膜を用いてデブロッキングを行うことで、判読可能になる場合があります。

方法が簡単なデブロッキングⅠから順に試してみてください。方法の詳細は参考文献をご確認下さい。

【参考文献】「プロテオーム解析－理論と方法－」 平野 久著

5.2ブロックされたタンパク質のアミノ酸配列分析



【出典】「プロテオーム解析－理論と方法－」 平野 久著
(東京化学同人) p173より

試料名（英数字のみ）

①

試料名（英数字のみ）*：

半角英数字 10 文字以内で記入してください。

Sample1

- 試料名 英数字10文字以内

通常分析

②

PPSQ-53A (Shimadzu Co.) にて測定

通常分析 申込み*：

分析希望残基数を選択してください。希望する残基数がリストになく、その他に入力された場合は、料金概算は正しい値とはなりません。

5残基 ▼

試料状態*：

PVDF膜に転写した試料は、前処理料金がかかりません。それ以外の試料では、前処理料金が必要です。

☐ PVDF膜に転写 ☐ 溶液状態 ☐ その他

- 分析を希望する残基数をドロップダウンから選択
- 試料状態を必ず選択

試料情報 - 1

④

試料量 (pmol) * :

PVDF膜試料は電気泳動時のバンドの太さなどからの大まかな見積もりで結構ですが、膜転写を行った際の収率は10%以下ともいわれていますので、考慮してご提出ください。溶液試料の有量を算出して入力してください。

[溶液試料のみ]提出液量 (μl) :

分析操作に関わる情報ですので、ご入力ください。

分子量 (kDa) :

100kDa以上の大きなタンパクですと、N末以外の部分からのランダムな切断によりバックグラウンドが上昇していくため、解読が難しくなることがあります。

修飾処理 (Pyridylethylation) * :

シスチン、システインの解読に必要な処理です。

☐ No ☐ Yes

その他の修飾処理 :

その他の修飾処理の種類、解読希望特殊アミノ酸などがあれば入力してください。

⑤

⑥

不純物 impurities :

分析妨害または装置故障を引き起こす物質もありますので、含有が考えられる物質をお知らせください。

☐ 塩 salt ☐ 糖 sugar ☐ 脂質 lipid ☐ 遊離アミノ酸 free amino acid ☐ nonvolatile buffers ☐ その他 ☐ 特に無し

試料の提出及び保管 * :

分析されるまでの間の保管状態にもなります。

☐ 冷蔵庫 low temp. ☐ 冷凍庫 freezer ☐ 冷凍庫 freezer (-80℃)

最終段階の精製方法 :

精製が不十分ですと、分析不良または装置故障を引き起こすことがあります。

☐ HPLC ☐ 電気泳動 Electrophoresis (1D) ☐ 電気泳動 Electrophoresis (2D) ☐ 透析 Dialysis ☐ その他 (具体的に)

④ 試料量はバンド太さなどからの大まかな見積もりで（プロット収率は10%以下になることも）

⑤ 特殊なアミノ酸の同定を希望される場合に記載

⑥ これらの不純物は分析に大きく影響する可能性あり

試料情報 - 2

申込書の提出を不要とするため、本欄の入力内容も保存されることになりました。データの保存を希望されない場合は、入力不要です。

試料の由来：

生物種など

配列について：

☐ 既知 known ☐ 未知 unknown

候補配列：

分析の参考になりますので、候補配列がある場合はご入力ください。

⑦ 配列情報が分かっている場合はお知らせください

分析に関する希望調査

担当者との打ち合わせ：

☐ している ☐ していない ☐ これから希望する ☐ その他

測定目的：

☐ 予備実験・大量発現タンパクの確認 ☐ 既知タンパク質の同定 ☐ プライマー作成 ☐ その他

解読できない場合＊：

分析停止をご希望の場合、最初の分析サイクルで解読できないときに分析を5サイクルで停止します。途中まで判読可能だった場合はご指定の分析サイクル数まで分析を行います。

☐ 分析続行 continue ☐ 分析停止 quit

試料の分析履歴について：

☐ 初めて申し込む試料 ☐ 再測定 ☐ 類似試料 ☐ その他

以前申し込まれた受付No：

試料の分析履歴で再測定または類似試料を選択された方は入力してください。

その他ご要望等：

300文字以内

⑧ 分析中止をご希望の場合、担当者のスケジュール調整のため通常より時間がかかる場合があります。



2017年5月から
予約制になりました

タンパク質配列分析は、測定前に装置の状態確認が必要な分析です。そのためには、管理試料でデモ測定を行うため、コストパフォーマンスとスタッフ体制を考慮し、予約制に変更することにしました。予約はお電話にて承り、ご依頼内容を確認の上、分析予定日をご案内させていただきます。

装置状態確認手順

本測定に必要分を試薬補充



装置状態簡易確認



調整(必要に応じて)



管理試料で装置状態確認



調整(必要に応じて)



調整完了, 測定開始



参考資料がありますので、下記ホームページもご覧下さい。
ご不明な点はお気軽にお問い合わせ下さい。

【タンパク質配列分析】

https://www.gfc.hokudai.ac.jp/system/ias/doc/psq_top