

Przedmiotem zamówienia jest przeprowadzenie usługi analiz proteomicznych z wykorzystaniem technik spektrometrii mas sprzężonej z chromatografią cieczową (LC-MS) obejmujących analizę globalną proteomu oraz analizę ubikwitynomu.

Część I - Analiza globalna proteomu:

1. **Materiał:** 50 próbek tkanki mózgowej myszy;
2. **Zakres:** Identyfikacja białek obecnych w próbkach oraz porównanie ich poziomów między badanymi grupami;
3. **Przygotowanie próbek:** Oczyszczenie i trawienie metodą SP3 oraz pomiar stężenia peptydów przed analizą MS;
4. **Pomiary:** Analiza LC-MS w układzie Evosep One-Orbitrap Astral, metoda DIA (Data Independent Acquisition), gradient chromatograficzny co najmniej 40 minut;
5. **Analiza danych:**
Opracowanie wyników w programie DIA-NN, Spectronaut (wersja minimum 19) lub równoważnym, tj. oprogramowaniu umożliwiającym:
 - analizę danych proteomicznych w podejściu DIA (Data Independent Acquisition),
 - identyfikację i ilościową analizę białek/peptydów w trybie DIA,
 - obsługę plików w standardowych formatach (np. RAW, mzML, mzXML),
 - generowanie raportów i eksport wyników w otwartych formatach (np. txt, Excel, CSV),
 - zastosowanie standardowych algorytmów do wyszukiwania, weryfikacji i walidacji sekwencji białkowych w trybie DIA,
 - wsparcie dla metod analizy ilościowej (label-free i znakowanej, np. TMT, iTRAQ).
6. **Wyniki:**
Raport obejmujący identyfikację białek oraz porównanie ich poziomów pomiędzy uzgodnionymi grupami wraz z analizą statystyczną. Na życzenie Zamawiającego przygotowanie opisów do publikacji i depozycja danych w bazie PRIDE.

Część II – Analiza ubikwitynomu

1. **Materiał:** 50 próbek tkankowych po homogenizacji i izolacji białek zmodyfikowanych ubikwityną metodą immunoprecypitacji
2. **Zakres:** Oznaczenie miejsc ubikwitynacji oraz ich ilościowe porównanie pomiędzy badanymi grupami.
3. **Przygotowanie próbek:** Oczyszczenie i trawienie białek metodą SP3.
4. **Pomiary:** Analiza LC-MS w układzie **Evosep One – Orbitrap Astral**, z zastosowaniem metody **DDA (Data Dependent Acquisition)**, z gradientem chromatograficznym trwającym co najmniej 40 minut.
5. **Analiza danych:** Opracowanie wyników w oprogramowaniu **MaxQuant**, **Proteome Discoverer 3.2** lub równoważnym, tj. programie umożliwiającym import i analizę danych z eksperymentów proteomicznych (np. LC-MS/MS),

Strona 1 z 2

- identyfikację i ilościową analizę białek oraz peptydów,
- obsługę otwartych formatów danych (np. RAW, mzML, mzXML),
- generowanie raportów z wynikami w formatach umożliwiających dalsze opracowanie statystyczne (np. Excel, TXT, CSV),
- zastosowanie standardowych algorytmów wyszukiwania i weryfikacji sekwencji białkowych (np. Sequest, Andromeda),
- wsparcie dla analizy ilościowej metodą znakowaną i bez znakowania (label-free, TMT, iTRAQ).

6. **Wyniki:**

Raport obejmujący identyfikację miejsc ubikwitynacji oraz ich ilościowe porównanie pomiędzy uzgodnionymi grupami, wraz z analizą statystyczną. Na życzenie Zamawiającego – przygotowanie opisów do publikacji oraz depozycja danych w bazie **PRIDE**.

