

## Servizio di Metabolomica - Linee Guida

### ▪ Metabolomica

Analisi Strumentali	Risultato
Semi Targeted	Analisi quantitative di metaboliti specifici
Untargeted	Analisi quantitative del metaboloma
Stable Isotope Tracing	Analisi quantitative del contributo metabolico da parte di un metabolita marcato in varie reazioni metaboliche
Tipologia di Campione	Specifiche
Cells	Componenti intracellulari ed extracellulari
Yeast	Componenti intracellulari
Tissues	

### ▪ Design dello studio metabolomico

Analisi dei dati	Risultato
Matrice dei dati grezzi	Matrice di dati qualitative e quantitative con i metaboliti riconosciuti e quantificati (MultiQuant/Xcalibur)
Matrice di Dati Normalizzata	Le intensità dei metabolite verrà normalizzata (normalizzazione tecnica/biologica in base al tipo di matrice)
Analisi statistica Multivariata	Dalla matrice dei dati normalizzati verranno creati grafici come: PCA (analisi delle componenti principali) per avere una versione globale del modello (Metaboanalyst)
Analisi statistica Univariata	t-Test/ANOVA (o simile ) verranno utilizzati con I dati normalizzati (il test statistico utilizzato potrà essere discusso in seguito) (Metaboanalyst)
Grafici	I dati normalizzati potranno essere visualizzati come: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Box Plot/grafici a barre</li> <li>• Heatmap non supervisionata</li> <li>• Volcano Plot</li> </ul>
Analisi dei dati di Stable Isotope tracing	I dati di tracing verranno corretti per l'abbondanza naturale del marcatore scelto (R script) e verranno espressi come: <ul style="list-style-type: none"> <li>• ntensità dei singoli isotopologues</li> <li>• Arricchimento frazionale</li> <li>• Somma degli isotopologues</li> </ul>

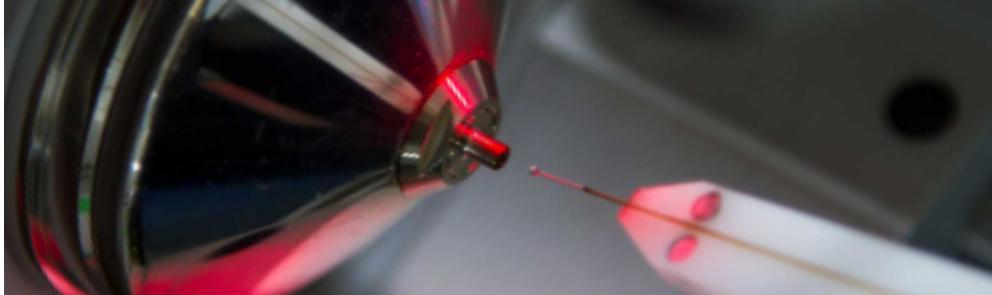
### ▪ Etichettatura e spedizione dei campioni

I campioni dovranno essere spediti in ghiaccio secco e il ricercatore dovrà spedire via mail il modulo di sottomissione campioni (fornito dopo aver discusso il progetto)

**L'indirizzo di spedizione è:**

Laura Tronci

IFOM, Via Adamello 16 - 20139, Milano (MI) - Italia



## Servizio di Lipidomica - Linee Guida

### ▪ Servizio di Lipidomica

Analisi strumentale	Risultato
Analisi di Lipidomica Shutgun in nanoLC*	Analisi Qualitativa e quantitative di specie lipidiche
*Metodo Pubblicato: Cattaneo A, Martano G, Restuccia U, Tronci L, Bianchi M, Bachi A, Matafora V. Opti-nQL: An Optimized, Versatile and Sensitive Nano-LC Method for MS-Based Lipidomics Analysis. <i>Metabolites</i> . 2021 Oct 21;11(11):720. doi: 10.3390/metabo11110720. PMID: 34822378; PMCID: PMC8623082.	

### ▪ Design dello studio di Lipidomica

Informazioni	Specifiche
Tipo di campione	La tipologia di campione dovrebbe essere chiarita prima dell'analisi.
Numero di replicati	Minimo 3 replicati per condizione biologica
Preparazione del campione	I campioni dovranno essere spediti in ghiaccio secco come pellets. La concentrazione del campione dovrà essere discussa insieme al progetto

### ▪ Analisi dei Dati

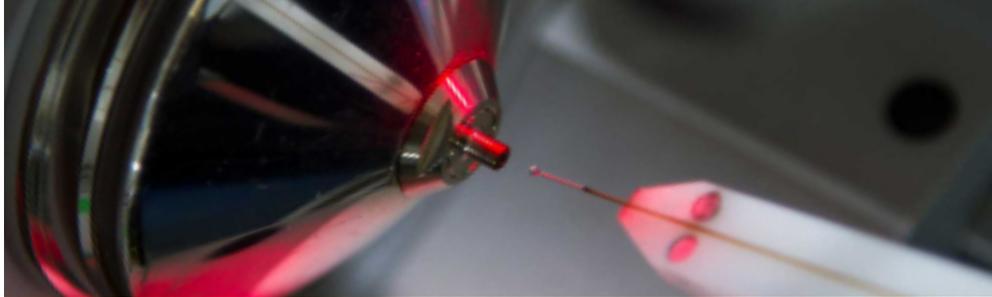
Analisi dei dati	Risultato
Matrice dei dati grezzi	Matrice con dati qualitativi e quantitative di specie lipidiche (*Software MSdial)
Matrice di Dati Normalizzata	L'intensità delle specie lipidiche verrà normalizza per la somma di queste
Analisi statistica Multivariata	I dati normalizzati potranno essere visualizzati come PCA (principal component analysis) per avere una visione globale del modello. (* <a href="https://www.metaboanalyst.ca/">https://www.metaboanalyst.ca/</a> )
Analisi statistica Univariata	t-Test/ANOVA (o simile) verranno applicati ai dati (* <a href="https://www.metaboanalyst.ca/">https://www.metaboanalyst.ca/</a> )
Grafici	I dati normalizzati potranno essere visualizzati come: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Box Plot/grafici a barre</li> <li>• Heatmap non supervisionata</li> <li>• Volcano Plot</li> </ul> (** <a href="https://www.metaboanalyst.ca/">https://www.metaboanalyst.ca/</a> )
Extra Data Analysis	Lipid classes and unsaturation levels analysis can be performed (to be discussed)
**Software: Raw data analysis with MS dial: <a href="http://prime.psc.riken.jp/compms/msdial/main.html">http://prime.psc.riken.jp/compms/msdial/main.html</a> Post Data analysis with Metaboanalyst: <a href="https://www.metaboanalyst.ca/">https://www.metaboanalyst.ca/</a>	

### ▪ Etichettatura e spedizione dei campioni

I campioni dovranno essere spediti in ghiaccio secco e il ricercatore dovrà spedire via mail il modulo di sottomissione campioni (fornito dopo aver discusso il progetto)

#### L'indirizzo di spedizione è:

Angela Cattaneo or Laura Tronci  
IFOM, Via Adamello 16 - 20139, Milano (MI) - Italia



## Servizio di Proteomica - Linee Guida

### ▪ Servizio di Proteomica

Analisi Strumentali	Risultato
Analisi di Proteomica Untarget	Analisi Qualitativa e quantitativa (Label Free e SILAC) del proteoma di campioni semplici e complessi; analisi del profilo del fosfo-proteoma
Analisi di modifiche post-trasduzionali	Analisi Qualitativa di PTMs
Analisi di proteine intatte	Determinazione del MW monoisotopico e medio applicando un algoritmo di deconvoluzione dei segnali dallo spettro MS
Tipologia di Campione	Specifiche
Immunoprecipitato	Eluizioni da immunoprecipitazioni caricate su gel o in soluzione
Cellule	Lisati cellulari totali, secretomi, matrisomi, organelli.
Tessuti	Lisati da omogenati.

### ▪ Design dello studio proteomico

Informazioni	Specifiche
Tipo di campione	La tipologia di campione dovrebbe essere chiarita prima dell'analisi. Nel caso di proteine ricombinanti o con mutazioni è richiesta la sequenza aminoacidica da inserire nel Data Base. Per proteine con taxonomie inusuali è richiesto il Data Base con le sequenze aminiacidiche delle proteine in formato .fasta
Numero di replicati	Minimo 3 replicati per condizione biologica
Concentrazione del campione	La concentrazione del campione dovrebbe essere discussa in base alla domanda biologica del Progetto (esempio: per un proteoma globale almeno 25µg di proteine).
Preparazione del campione	Il protocollo di lisi per l'estrazione delle proteine dipende dal tipo di campione e proteoma da analizzare e verrà fornito dopo aver discusso il progetto.

### ▪ Analisi dei dati

Analisi dei dati	Risultato
Matrice dei dati grezzi	Matrice di dati con le proteine identificate (Scaffold) e quantificate (MaxQuant/Spectronaut/Perseus). Su richiesta, possiamo fornire i files .RAW di out-put dello spettrometro di massa.
Matrice di Dati Normalizzata	Le intensità delle proteine verranno normalizzate (normalizzazione tecnica/biologica in base al tipo di matrice).
Analisi statistica	Test statistici (t-test/ANOVA o simile) verranno utilizzati con i dati normalizzati; il test statistico utilizzato potrà essere discusso in seguito in base al modello biologico (Perseus).
Grafici	I dati potranno essere graficati come: - PCA - Box Plot/Grafici a barre - Heatmap - Volcano Plot - Scatter Plot

### ▪ Etichettatura e spedizione dei campioni

I campioni di gel SDS-Page dovranno essere spediti a temperatura ambiente in contenitore ermetico per mantenere l'idratazione.

I campioni in soluzione dovranno essere spediti in ghiaccio secco

**Per i gel dovrà essere fornita l'immagine con l'annotazione dei campioni caricati e i pesi molecolari dei markers.**

**I campioni in eppendorf dovranno essere nominati in modo semplice e comprensibile (si possono usare lettere e/o numeri) inviandoci ed allegando una legenda con la lista e le informazioni di composizione del buffer, concentrazione proteica, condizione biologica, ecc.**

**L'indirizzo di spedizione è:**

Angela Cattaneo e Giorgia Parodi

IFOM, Via Adamello 16 - 20139, Milano (MI) - Italia

