

薬学の未来を考える京都シンポジウム
—創と療の革新—

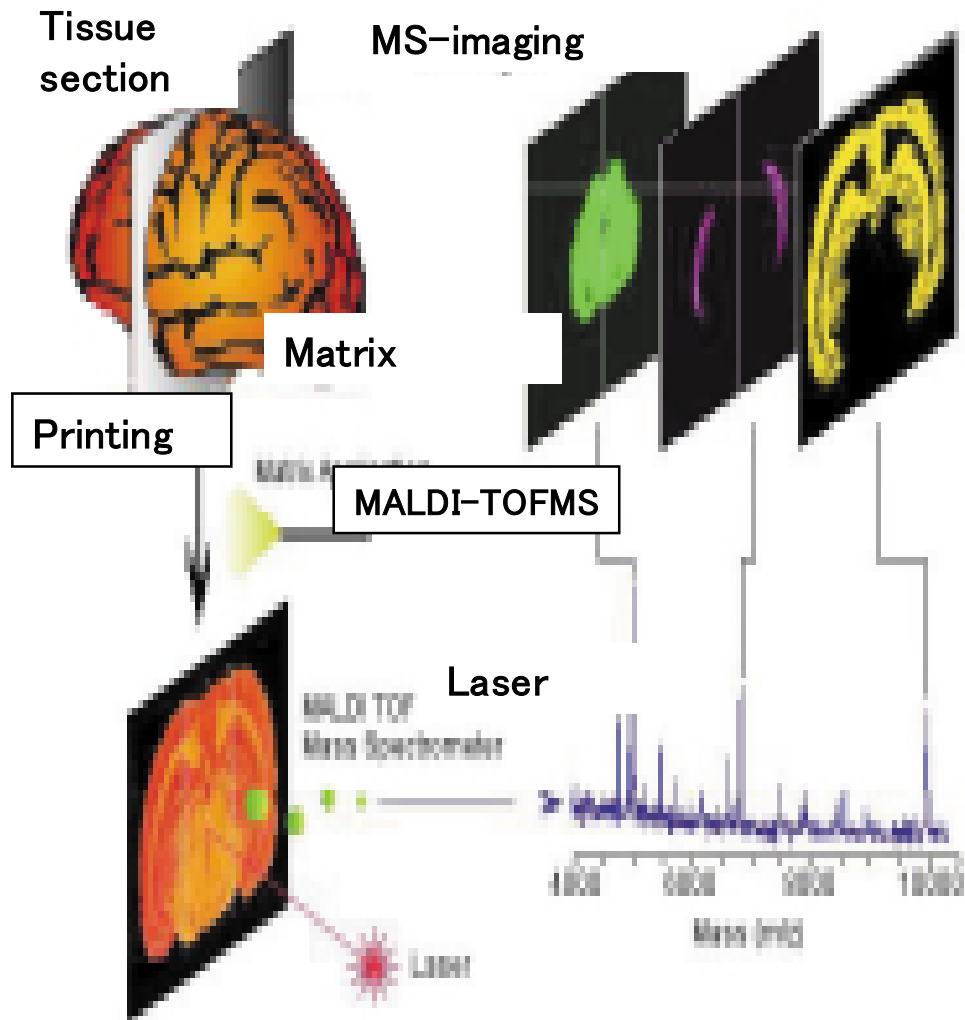
最先端プロにおける
診断・創薬技術の展開

(株)島津製作所 田中最先端研究所 革新的前処理グループ
佐藤孝明

最先端プロにおける
診断・創薬技術の展開

- 1 . MS-Imaging
- 2 . Microscopic MS
- 3 . Immuno-Beads MS

MS-Imaging



Printing



- Matrix
- Enzyme digestion

MALDI-TOFMS

Positioning



- MS
- MS/MS

パラフィン切片を用いたMSイメージング

1. パラフィン切片を用いる有用性

- レトロスペクティブな(過去に遡った)解析が可能
- サンプル数が豊富

2. これまでの解析法

- DNAを抽出し、変異や変動を解析
→タンパク質レベルでは確認が困難
- 免疫組織化学的解析
→ターゲットの特定、良質の抗体が必要
- 組織形態学的解析

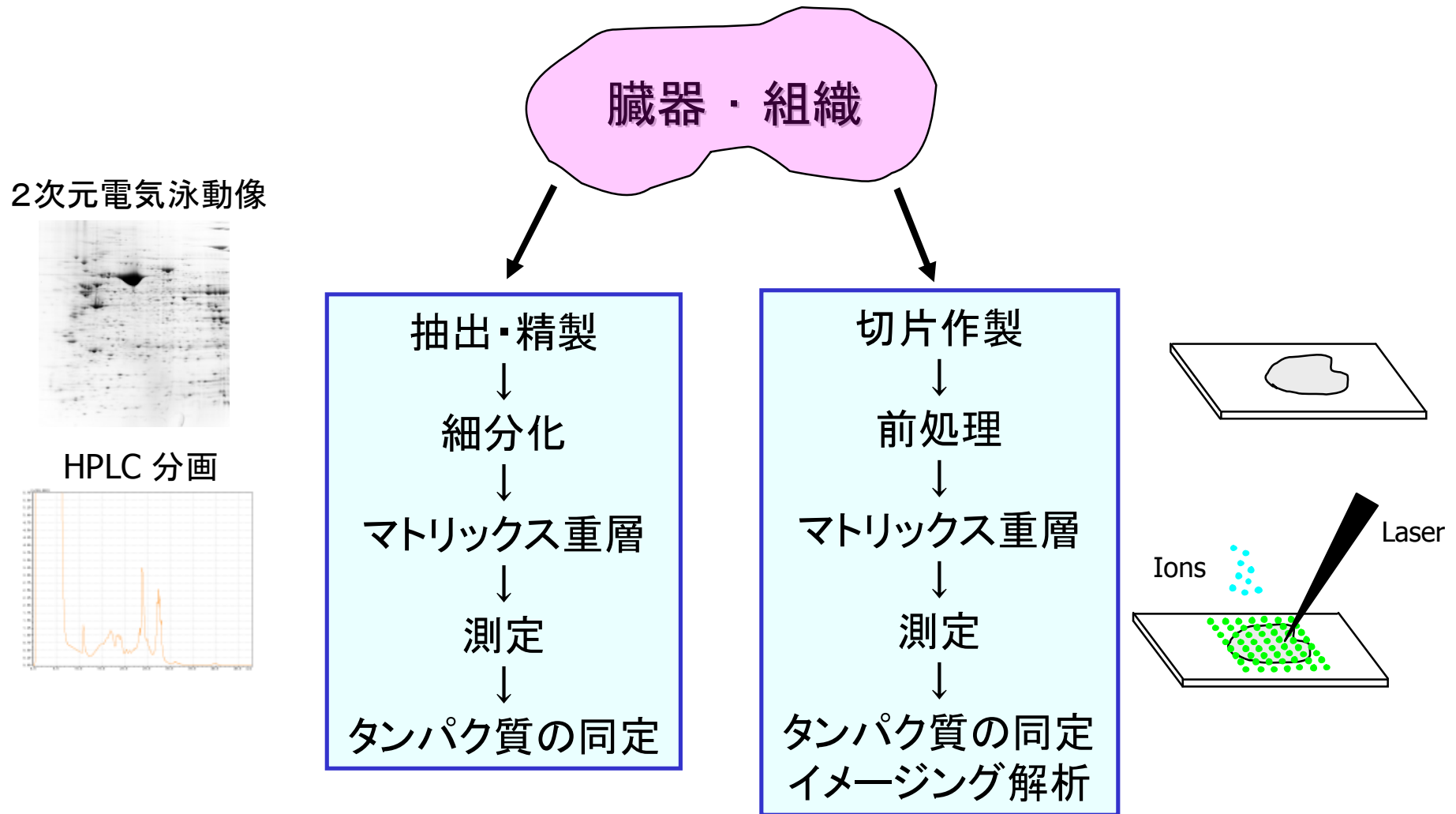
新規性

3. パラフィン切片からのMSイメージング

- タンパク質の確定的な検出
→質量=分子イオンピーク
- アミノ酸配列まで決定可能
→検出したタンパク質をMS/MS解析
→翻訳後修飾の解析
- タンパク質の発現量と位置情報
→がん組織と正常組織の違い

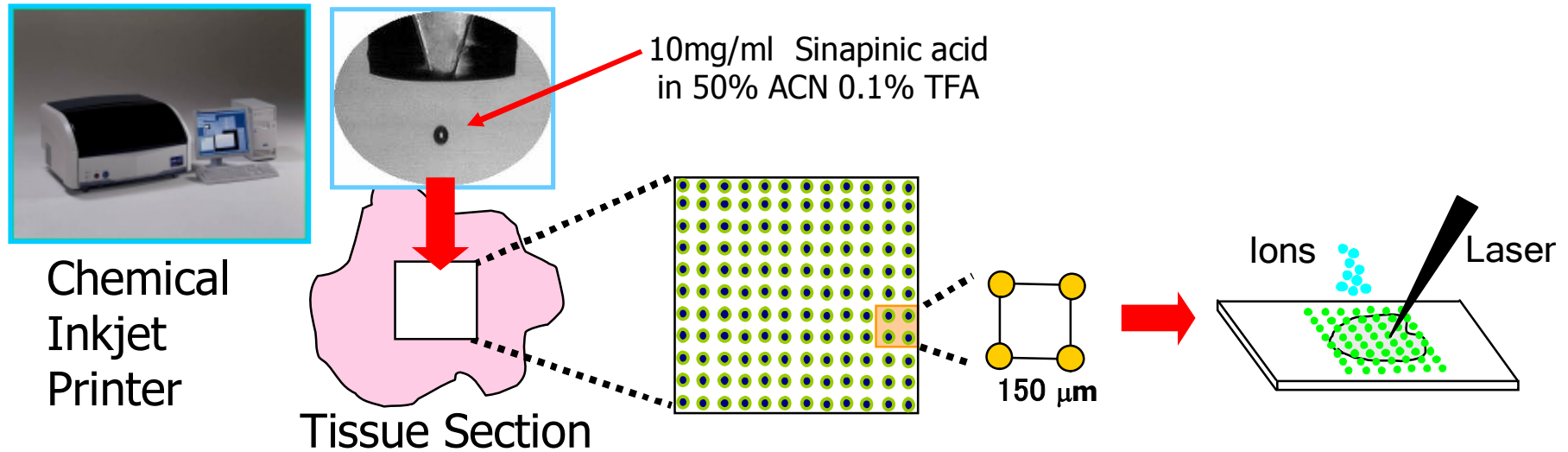
パラフィン切片を用いたダイレクトプロテオーム解析が可能

MSイメージング解析のための前処理

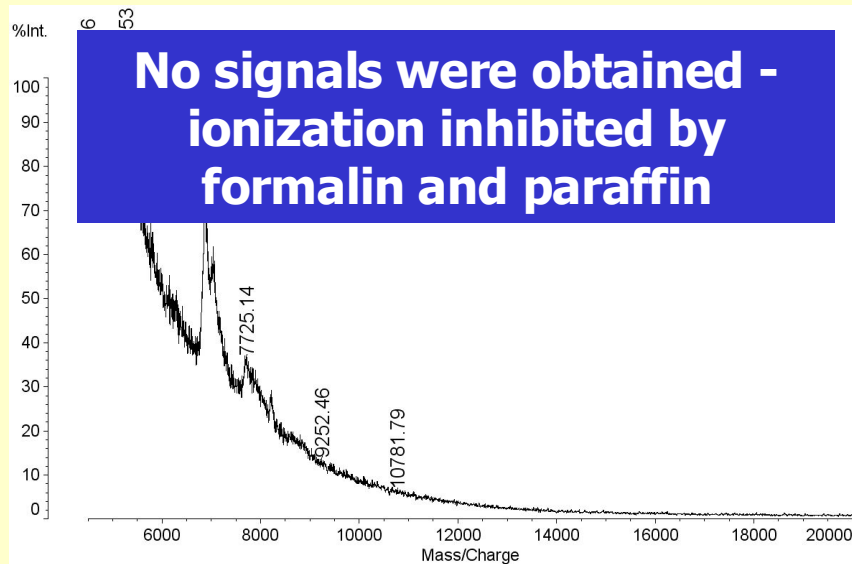


得られたMSシグナルを二次元展開することで
生体物質のマッピングやプロファイリングが可能

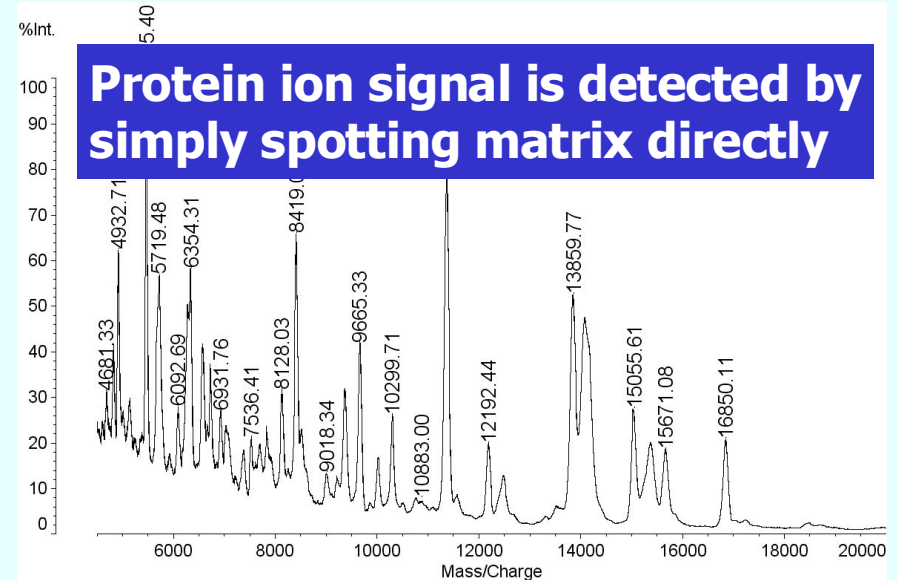
Direct analysis of proteins from tissue sections



Paraffin Section → Inadequate

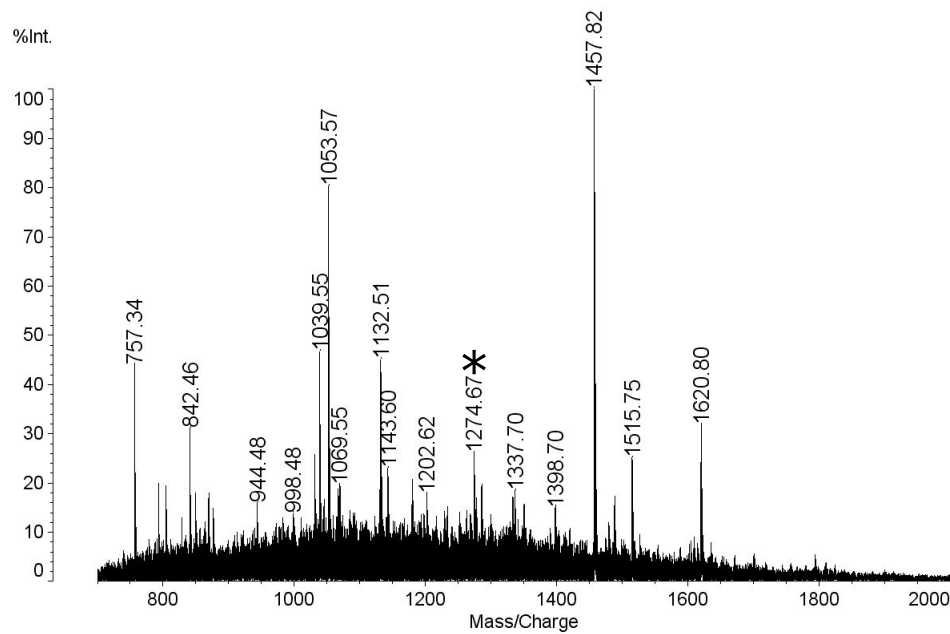


Frozen Section

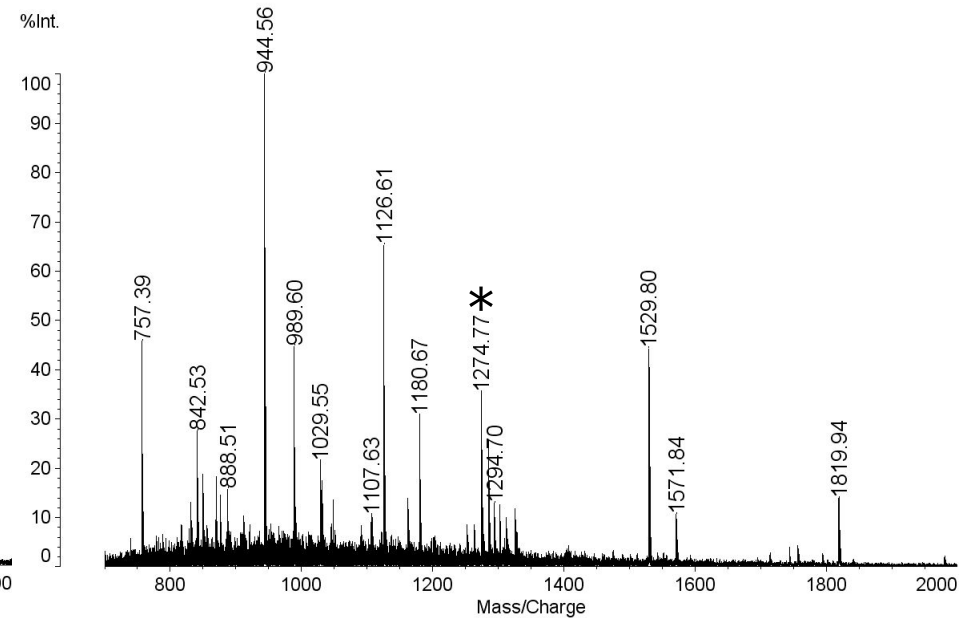


酵素処理による検出効率の向上

装置 : AXIMA-QIT
マトリックス : DHB



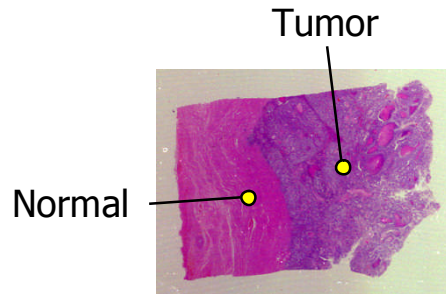
脱パラフィン切片



凍結切片

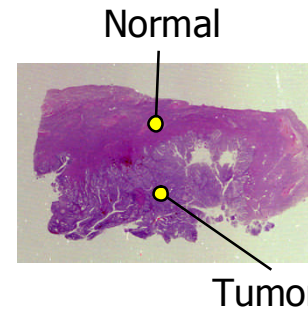
両方の切片で同じMS peakの検出が可能

長期保存パラフィン切片の解析例



サンプル

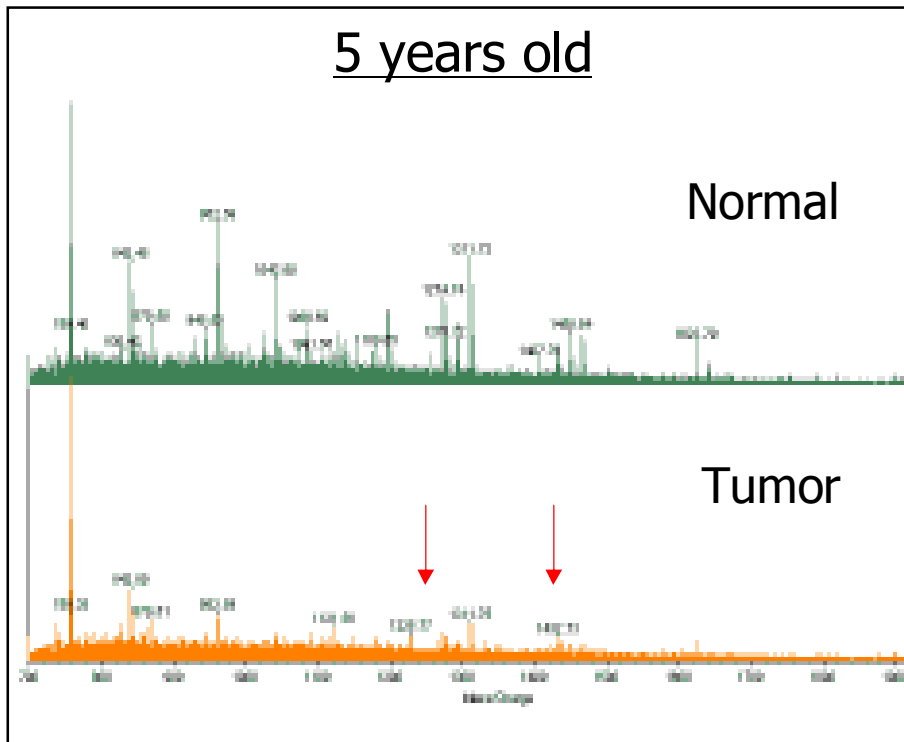
5年前に作製された
子宮体がん
パラフィン切片



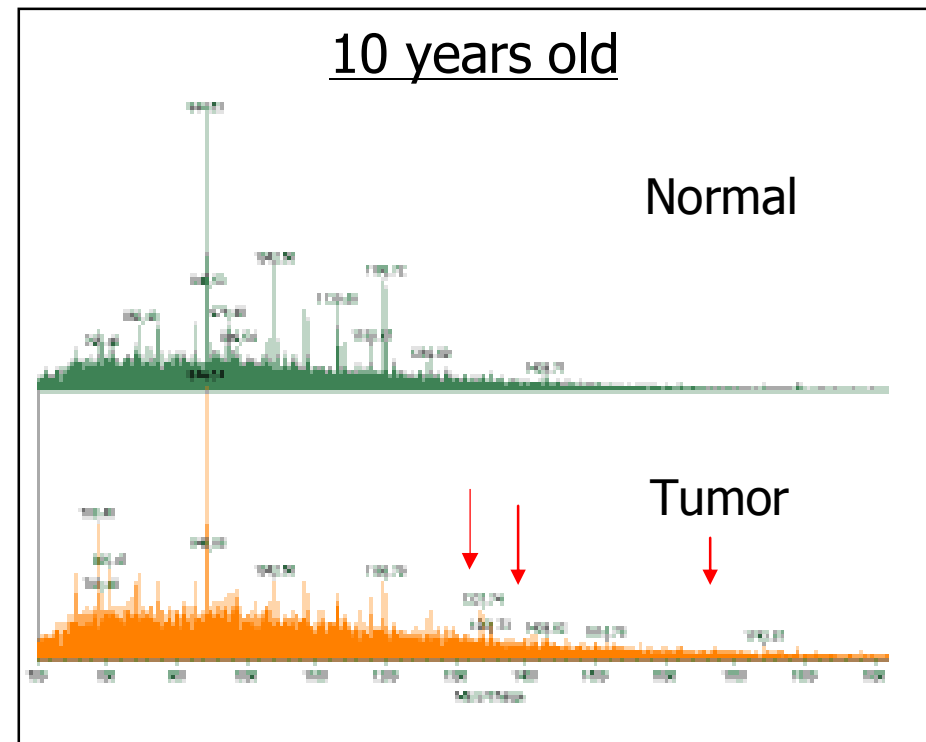
サンプル

10年前に作製された
子宮体がん
パラフィン切片

5 years old



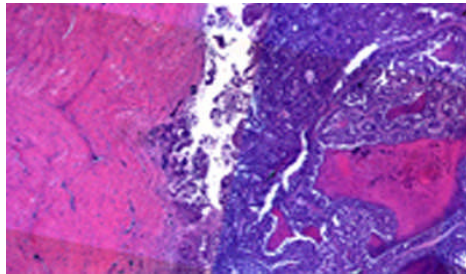
10 years old



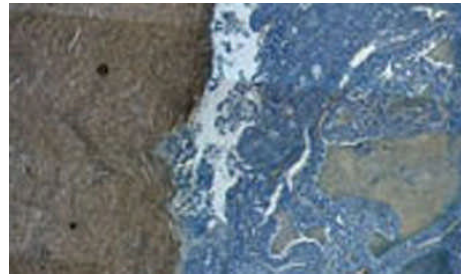
MS Imaging Analysis

Sample: Endometrioid adenocarcinoma
Storage period: 7 years

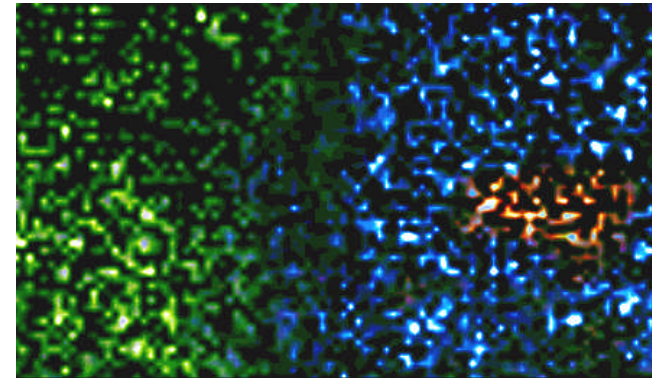
HE staining



Imunnostaining

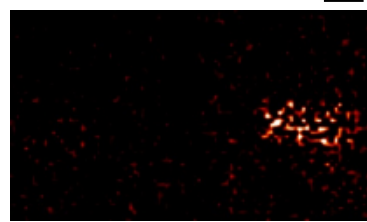


Multi target imaging

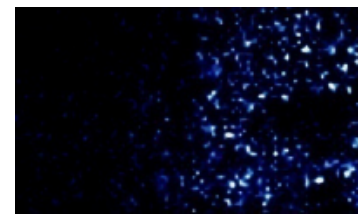


(BIO-MAP)

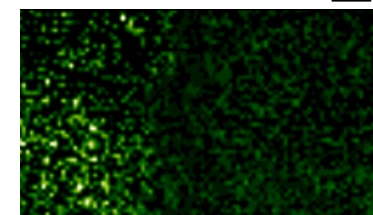
Peptide A ($m/z=1,175.7$)



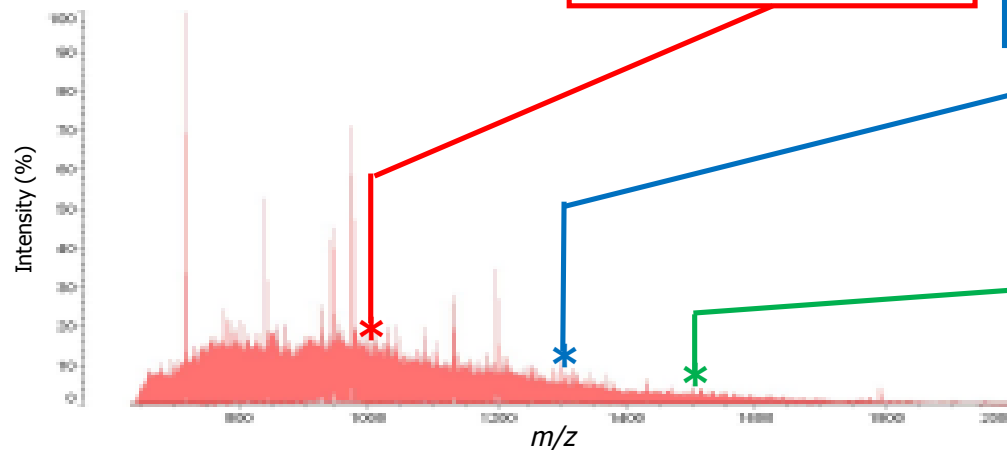
Peptide B ($m/z=1,299.8$)



Peptide C ($m/z=1,501.8$)



MALDI-MS measurement



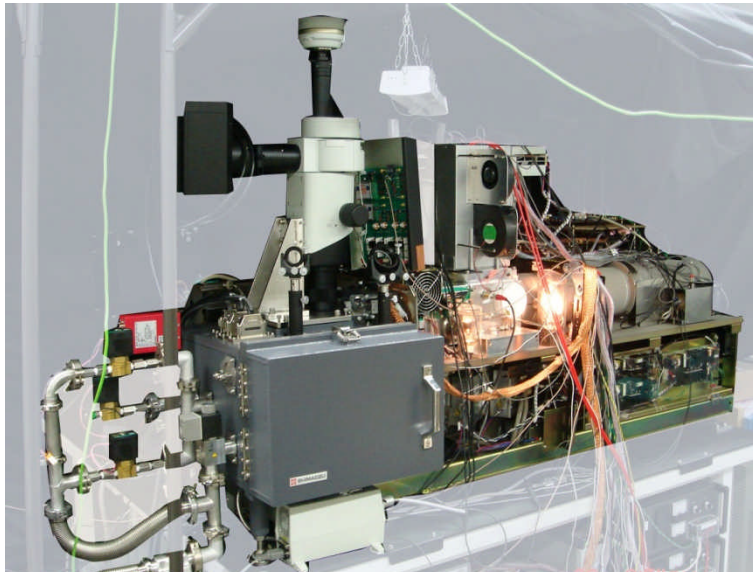
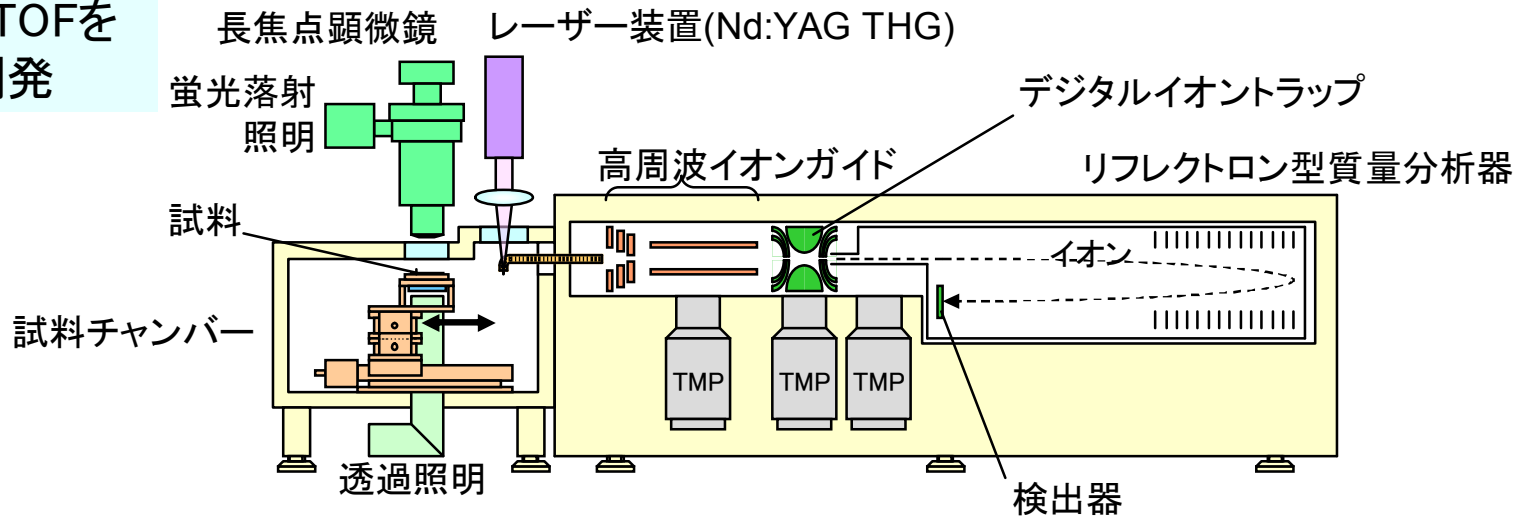
Scale bar = 1mm

最先端プロにおける
診断・創薬技術の展開

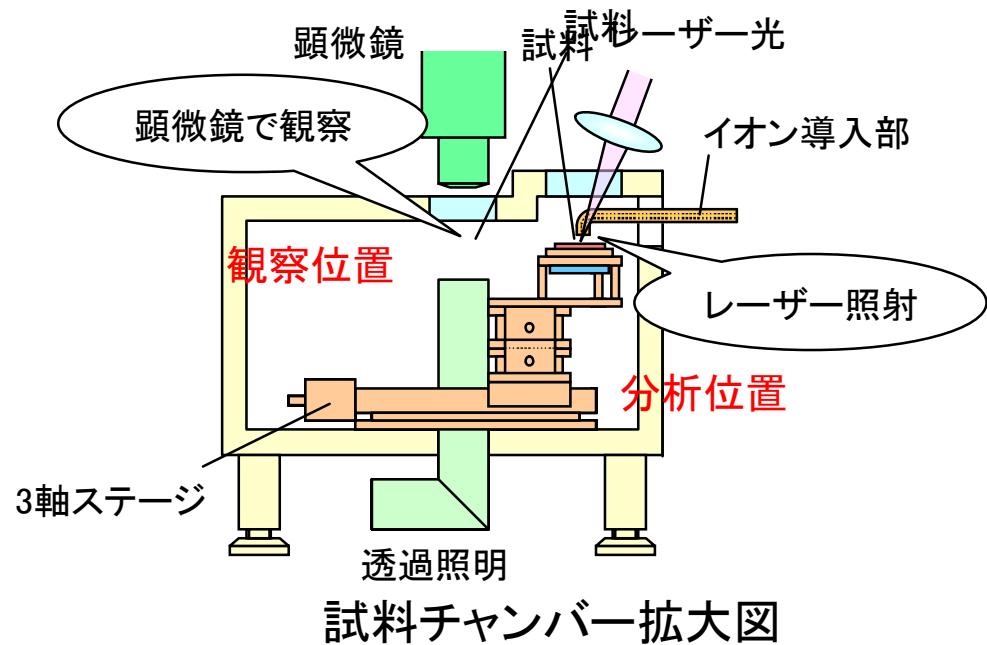
- 1 . MS-Imaging
- 2 . Microscopic MS
- 3 . Immuno-Beads MS

実験機の概要① 構成

LCMS-IT-TOFを
ベースに開発

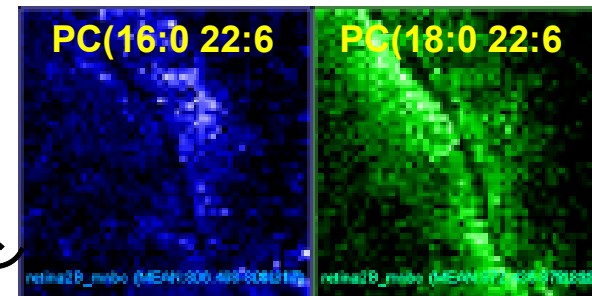
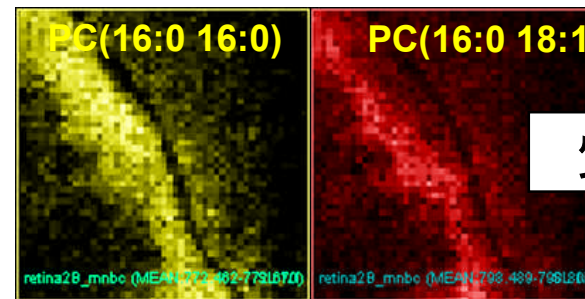
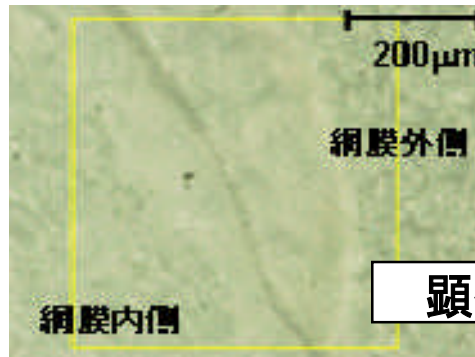
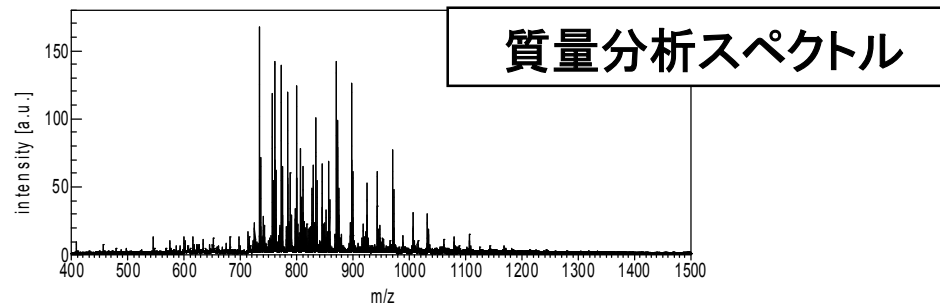
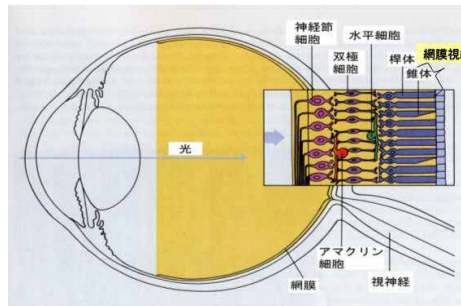


実験機の写真



プロト機によるこれまでの成果例

10 μm 以下の高空間分解能にて生体分子の局在を視覚化
MSⁿによる生体分子の同定

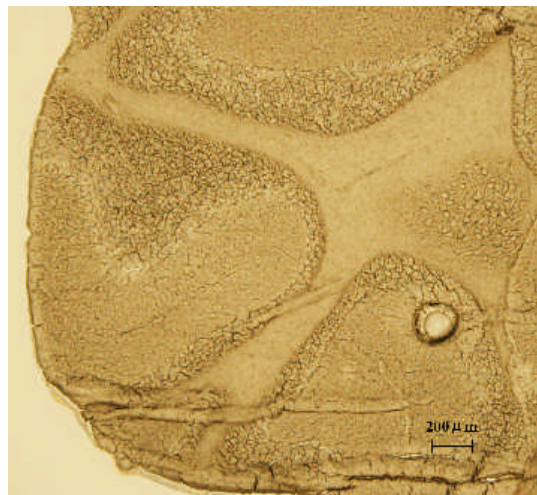


マウスの網膜の分析例
数10 μm 厚さの網膜の層ごとに、異なる脂質
が分布していることが観察

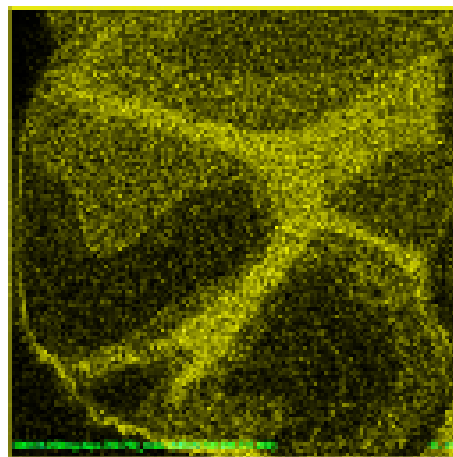
PC:フォスファチジルコリン
(リン脂質のひとつ)

走査範囲

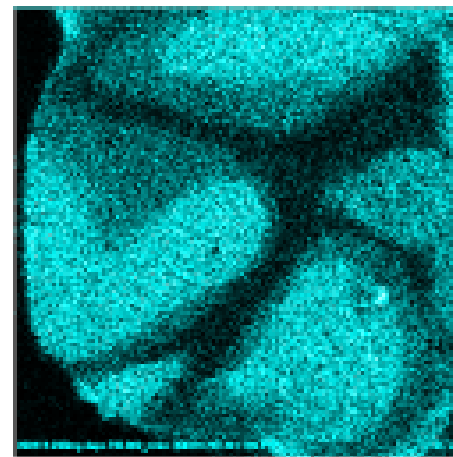
250x250点でのイメージング



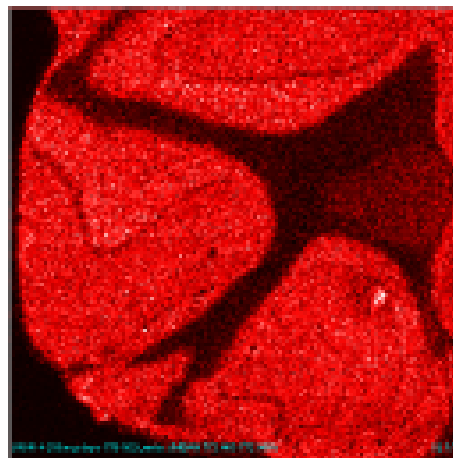
光学顕微鏡



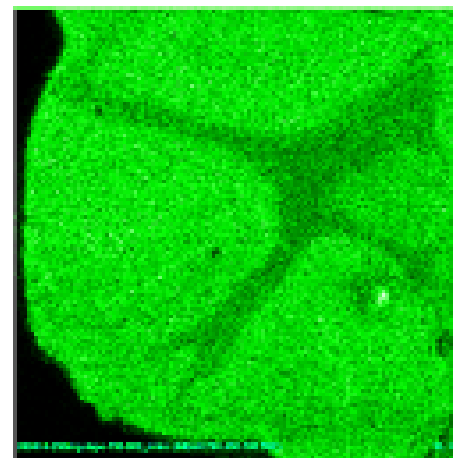
MS imaging m/z737



m/z769.5



m/z772.5



m/z798.5

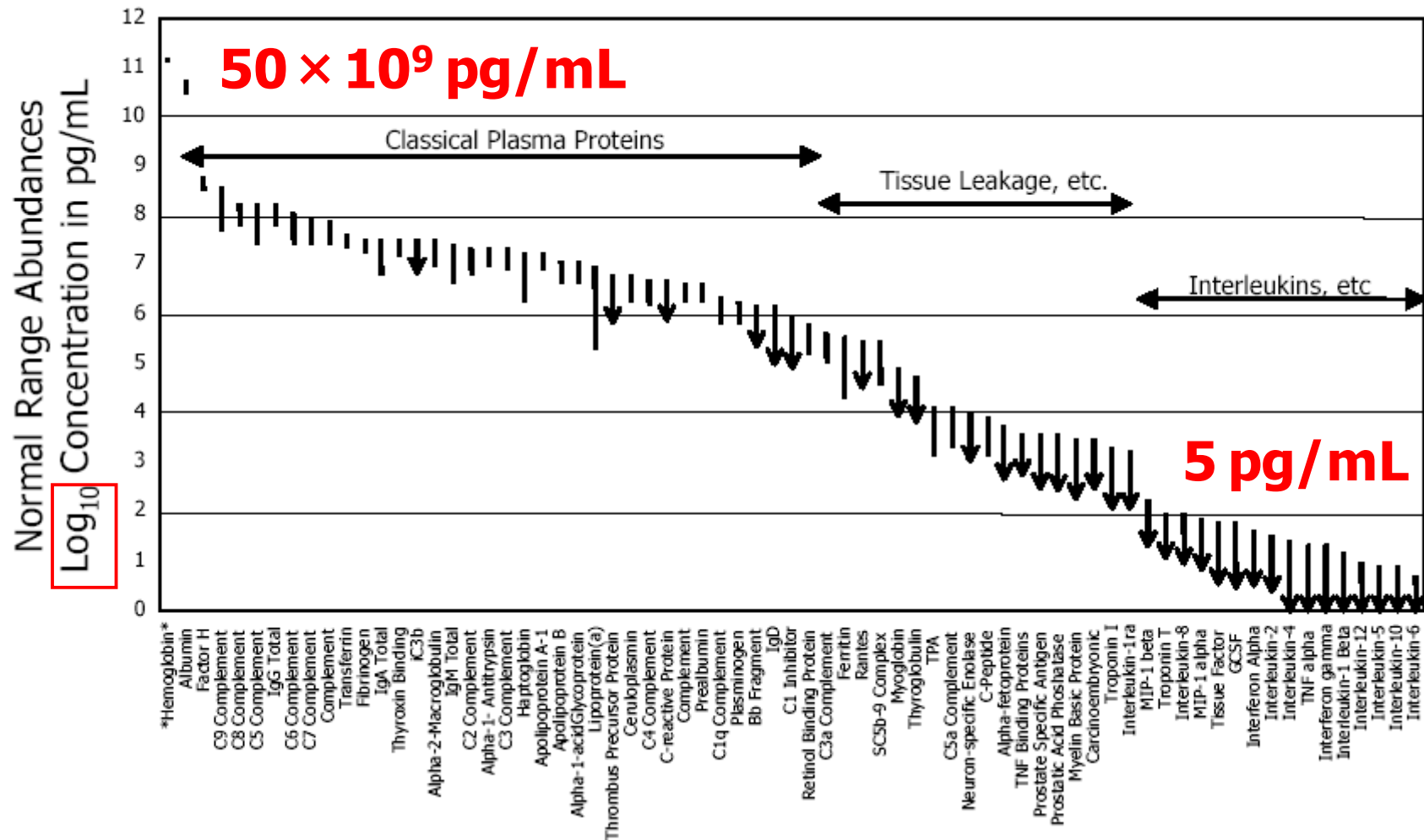
サンプル: マウス小脳
マトリクス: DHB(蒸着)
測定ピッチ: 10 μm
測定点数: 250 × 250 (62,500点)
測定時間: 約6時間

最先端プロにおける
診断・創薬技術の展開

- 1 . MS-Imaging
- 2 . Microscopic MS
- 3 . Immuno-Beads MS

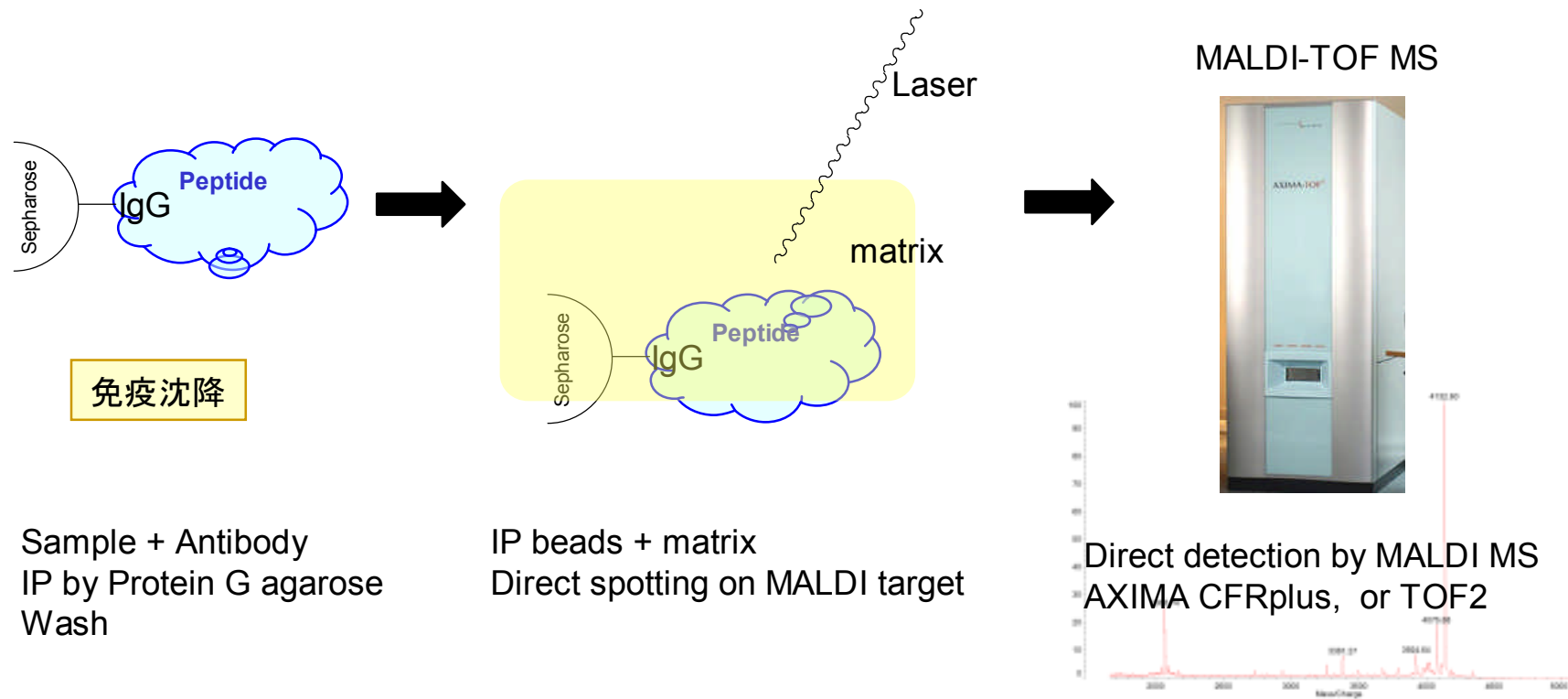
タンパク質のダイナミックレンジ

血清タンパク質の存在比 Dynamic Range: $>10^{10}$



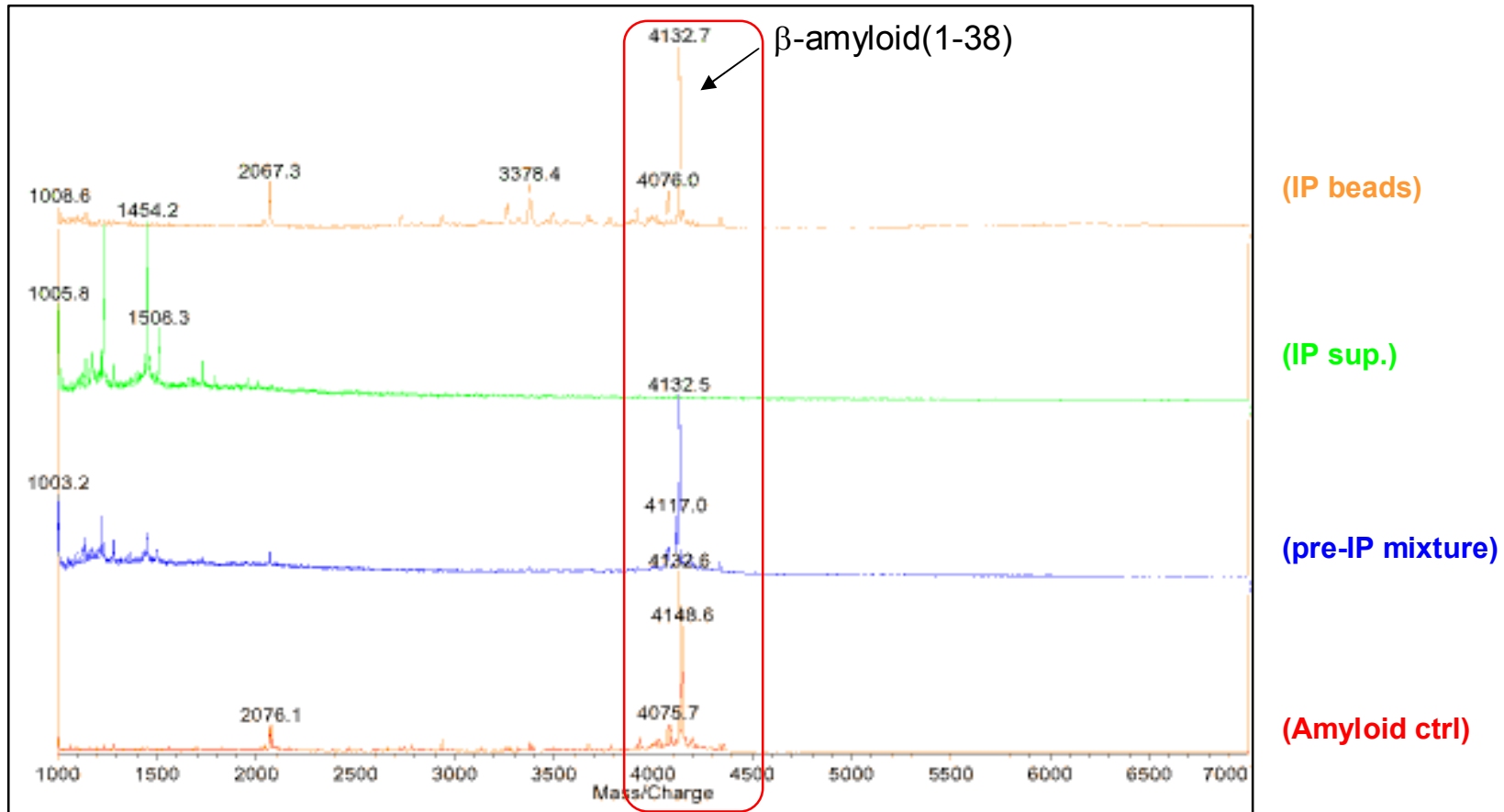
Immuno-Beads MS Method

実験系の模式図



Immuno-Beads MS Method

- IP-MS test of 10pmol β -Amyloid(1-38)



IP-MS results of 10pmol β -Amyloid in TBS.

Amyloid peptide signal was detected in control and pre-IP sample. Signal was completely eliminated in IP-sup, and recovered in IP-beads, so this is indicated that IP-MS platform works in good.

最後に

技術の進歩がサイエンスの進歩を促進する。最先端プロジェクトでは、次世代質量分析システムの開発を推進することによって、次世代の革新的創薬や診断システム開発に貢献することを目標とした
い。