



ホルマリン固定組織からの タンパク質バイオマーカー探索

The Liquid Tissue[®] MS Protein Prep Kit

ホルマリン固定パラフィン包埋組織からのタンパク質バイオマーカー探索

医学研究の分野において広く長期にわたり収集された膨大な量のホルマリン固定組織が、未開拓のプロテオーム情報源として存在しています。

疾患の進行や薬物反応・毒性などの詳細な臨床データをもつこれらの組織アーカイブは、診断・治療に有効なタンパク質バイオマーカーの探索・解析に大きな可能性を与えるものです。

Liquid Tissue[®] MS Protein Prepキットは、ホルマリン固定されたパラフィン包埋(FFPE)組織からタンパク質を抽出し、様々な質量分析プラットフォームでの解析・同定を行うことを初めて可能にします。

特に臨床プロテオーム研究用にチューンされた ZAPLOUS LC-MSシステムを用い解析することにより、詳細なタンパク質バイオマーカーの分子同定を行うことが出来ます。

MICROPROTEOMIC PROFILING IN FFPE TISSUE

ホルマリン固定組織切片

Liquid Tissue[®]

LC-MS/MS解析

ZAPLOUS Discovery LC/MS for Protein Biomarker Discovery

ZAPLOUS LC-MS Systems

ZAPLOUS MS-based Assay LC/MS for Biomarker Verification / Validation

- ◆ シンプルなプロトコールでルーチン解析
- ◆ LC-ESI-MS/MS、LC-MALDI-TOF、SELDI-TOFに対応
- ◆ 様々な疾患・正常組織
- ◆ ホルマリン固定・凍結組織

PANCREATIC CANCER PRECURSOR LESION MS PROTEOMIC PROFILING PANCREATIC CANCER PRECURSOR LESION IHC CONFIRMATION

1,587 Peptides → 425 Proteins

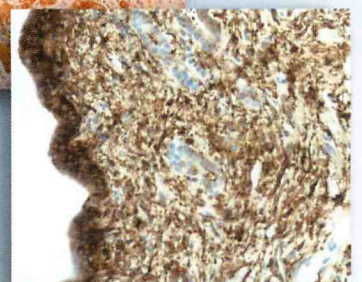
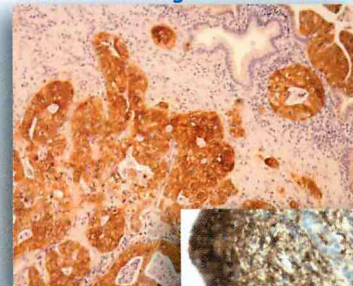
Including:

- Carboxypeptidase B precursor (Pancreas-specific protein) (PASP)
- Bile-salt-activated lipase precursor (Pancreatic lysophospholipase)
- Pancreatic alpha-amylase precursor (PA)
- Pancreatic triacylglycerol lipase precursor
- Breast cancer type 2 susceptibility protein
- Fructose-bisphosphate aldolase A (Lung cancer antigen NY-LU-1)
- Melanoma-associated antigen C1
- Nucleobindin 2 precursor (Gastric cancer antigen Zg4)
- Deleted in liver cancer
- GRIP and coiled-coil domain-containing protein 2 (CLL-associated antigen KW-11)
- Deleted in malignant brain tumors 1 – DMBT1
- Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase 2 (Tissue transglutaminase)



Liquid Tissue[®]処理
LC-MS/MS解析

Deleted in malignant brain tumors 1 (DMBT1)



Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase 2 (Tissue transglutaminase)

Fast forward microdissection!

Use innovative DIRECTOR™ Laser Microdissection Slides to call the shots with new speed and ease.

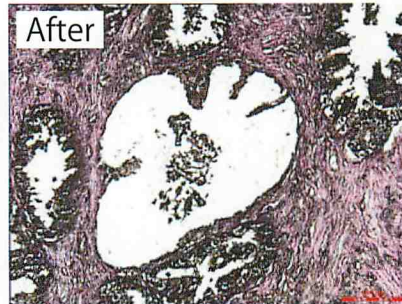
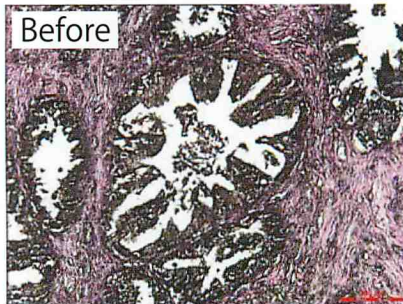
DIRECTOR™ レーザーマイクロダイセクションスライド

コンタミやサンプルダメージ・サンプルロスを防いでスピーディに目的部位を回収



DIRECTOR™ はプラスチックメンブレン（フォイル）や粘着キャップを必要としない、本当の意味での“ノンコンタクト”レーザーマイクロダイセクションスライドです。

プラスチックや粘着成分によるコンタミ無しに、ホルマリンやエタノールで固定された組織や新鮮な凍結組織の切片をピンポイントにダイセクトすることができます。



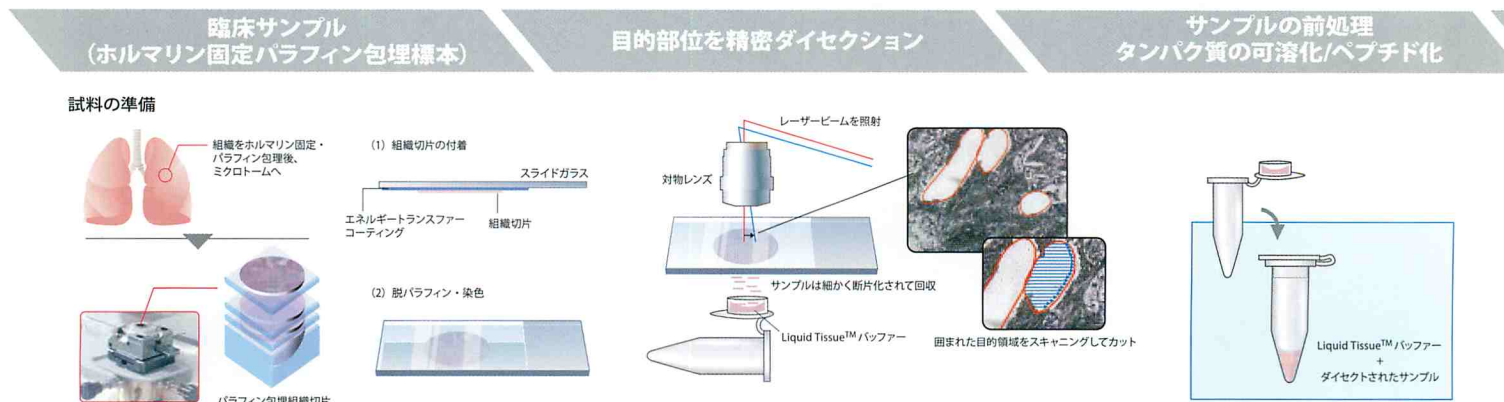
プラスチックなどを一緒に回収することもないので、吸着によるサンプルロスも最小限に抑えます。



Clinical Biomarker Initiative
Global Alliance

PROTEIN BIOMARKER WORKFLOW

Sample Preparation



Sectioning

滑走式ミクロトーム
ライカSM2000 R

Slides

DIRECTOR™
レーザーマイクロダイセクション
スライド

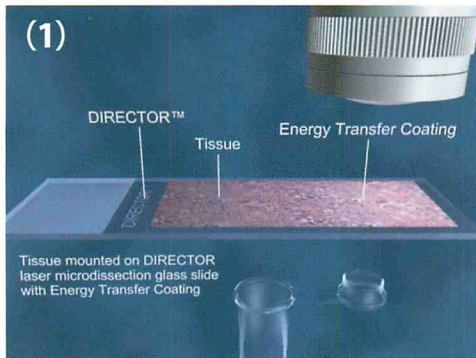
Microdissection

レーザーマイクロダイセクション
ライカLMD7000

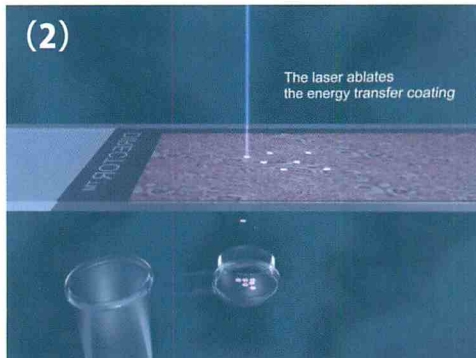
Peptide Extraction

プロテオーム解析前処理キット
Liquid Tissue™
MS Protein Prep Kit

■ライカLMD7000とDIRECTOR™スライド



(1) 組織切片をエネルギー転送コーティングの上に乗せる。



(2) 切片を載せた側を下にしてLMDにセットし、回収したいエリアをレーザーがスキャンする。



(3) エネルギー転送コーティングが気化し、その部分の組織が試薬などを入れたチューブの蓋に直接回収される。

DIRECTOR™ Laser Microdissection Slides

ユニークなエネルギー転送コーティングがガラス表面にほどこされており、レーザーが当たった瞬間に蒸発することでその部分の組織を直接チューブに落とし込みます。コーティングがすべてのレーザーエネルギーを吸収するため、サンプル内の生体分子に影響を及ぼすことはありません。また、その際エネルギー転送コーティングは完全に気化するので、サンプルがコーティングによってコンタミネートされることもありません。

エネルギー転送コーティングはあらゆる化学的・温熱条件に対し完全に不活性です。スライドをオートクレーブ処理や UV 照射で滅菌したり、ガスによる化学滅菌を行っても問題ありません。キシレンやアルコールなどの有機溶媒中でも安定しています。スライドは半永久的な保管が可能です。

DIRECTOR™ スライドは透明で、プラスチックフィルムのように自家蛍光を生じたり光の屈折を変えたりすることがないため、様々な観察法にお使いいただけます。一般的な病理用スライドのように、表面処理の必要なく組織切片を付着させることができます。また必要な場合は表面処理をしていただくことも可能です。

DIRECTOR™ スライドのサイズは一般的な病理用スライドと同様に、76 mm × 25 mm です。エネルギー転送コーティングはスライドの片側にほどこされており、組織や生体試料は直接その上にのせます。(くもりガラスをざらざらに仕上げている面が切片をのせるコーティング側になります。)

ORDERING INFORMATION

品番	品名	定価
50001-018	DIRECTOR™ Laser Microdissection Slides, 10 枚	¥ 29,000
50001-024	DIRECTOR™ Laser Microdissection Slides, 50 枚	¥ 119,000

Candidate Discovery

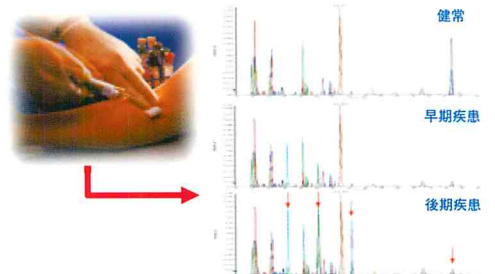
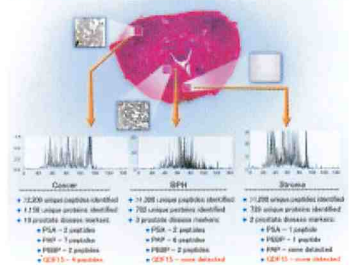
Candidate Validation

候補マーカーの同定/比較解析

MSデータのアラインメント及び統計解析

候補マーカーのMSIによる高感度定量解析

FFPE前立腺組織からバイマーカー同定した例



Biomarker Discovery

Analysis/Identification

Biomarker Verification/Validation

ZAPLOUS Discovery LC/MS

Genedata Expressionist®

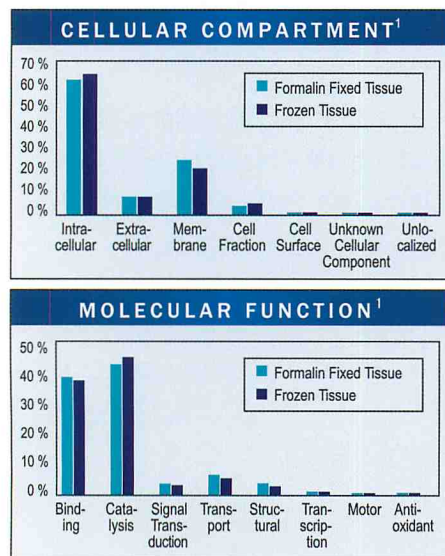
ZAPLOUS MS-based Assay LC/MS

The Liquid Tissue[®] MS Protein Prep Kit

Simple Process

Liquid Tissue[®] MS Protein Prepキットによるサンプル前処理は、所要時間1日~1日半（インキュベーション時間を除く実質作業時間は1時間程度）、ワンチューブ方式のシンプルなプロトコルです。

Liquid Tissue[®]処理されたFFPEサンプルと凍結サンプルを質量分析で比較すると、細胞内局在や分子機能に則したタンパク質が同様に同定されていることが数々の実験で証明されています。（下図）

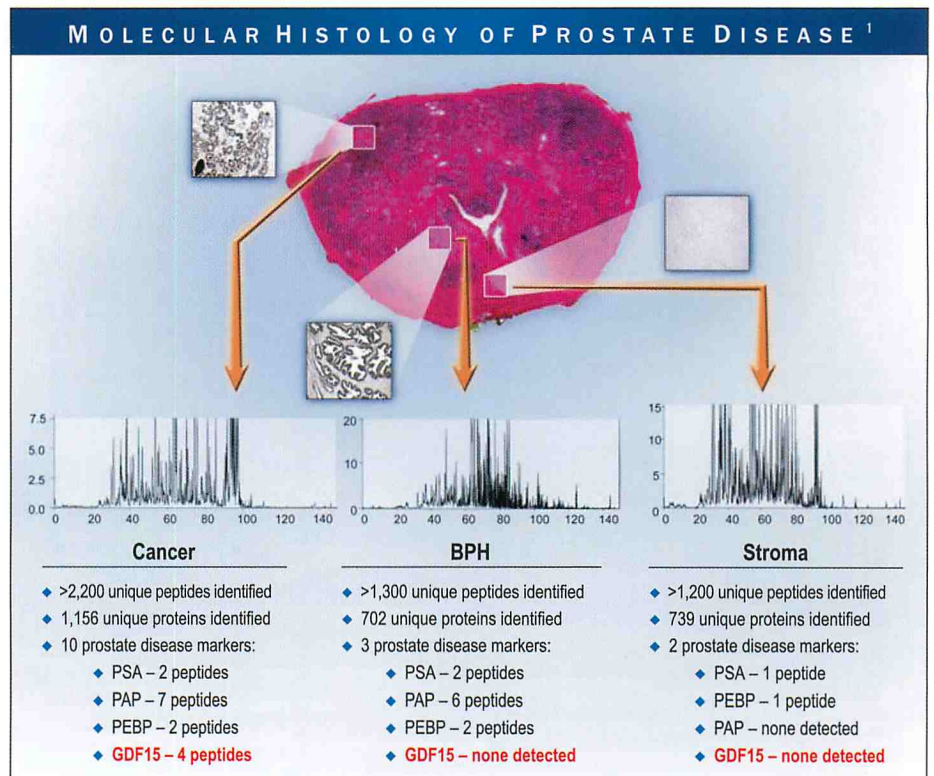


ホルマリン固定パラフィン包埋及び新鮮凍結のマウス肝臓組織から抽出されたタンパク質を比較したジーンオンロジー分析

Liquid Tissue[®] MS Protein Prepキットはニードルダイセクションやマイクロダイセクションで採集された様々なタイプのFFPE組織サンプルに対応し、LC-MS/MSによるタンパク質同定・定量を可能にします。

Liquid Tissue[®] MS Protein Prepキットは約30,000セル（厚さ10 μmの切片のおよそ2×4 mm の範囲に相当）の処理に最適化されており、そこから約4~8 μgのタンパク質が得られます。

※注意: Liquid Tissue[®]により処理されたサンプルは電気泳動や抗体検出に用いることはできません。



Ordering Information

品番	品名	定価
10001-010	Liquid Tissue [®] MS Protein Prep キット, 4 回分	¥ 180,000
10001-023	Liquid Tissue [®] MS Protein Prep キット, 10 回分	¥ 290,000
10001-053	Liquid Tissue [®] MS Protein Prep キット, 50 回分	¥ 1,290,000

ZAPLOUS LC-MSシステムによる受託解析

イーエムアール株式会社は、効果的な最新サンプル前処理法の提案からLC/MSシステムの最適化・高感度化・自動化、最適なMSデータ解析パラメータの設定まで、トータルソリューションに基づいた受託解析をご提供しております。



イーエムアール株式会社
 東京都目黒区中根2-13-18
 第百生命都立大駅前ビル 〒152-0031
 TEL: (03) 5731-2281 FAX: (03) 5731-2283

Email: info@amr-inc.co.jp
 URL: www.amr-inc.co.jp/

References

- Hood, B.L., Darfl er, M.M., Guiel, T.G., Furusato, B., Lucas, D.A., Ringeisen, B.R., Sesterhenn, I.A., Conrads, T.P., Veenstra, T.D. and Krizman, D. B. (2005) Mol. Cell. Proteomics 4 (11), 1741-1753
- Prieto, D.A., Hood, B.L., Darfl er, M.M., Guiel, T.G., Lucas, D.A., Conrads, T.P., Veenstra, T.D. and Krizman, D. B. (2005) Biotechniques 38, S32 - S35
- Patel V., Hood, B.L., Molinolo, A. A., Lee, N.H., Conrads, T. P., Braisted, J.C., Krizman, D. B., Veenstra, T.D., and Gutkind, J.S., Clin Cancer Res 2008;14(4) February 15, 2008, 1002-1014