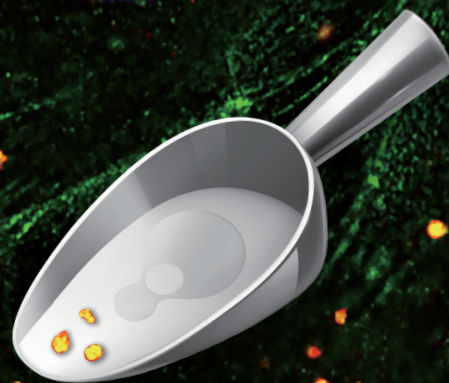




MICROSCOOP[®] / MINT

PROTEIN-PICKABLE MICROSCOPE

顕微鏡ベースの
細胞内プロテオームの探索





AIと顕微鏡を組み合わせた 光学反応によるビオチン標識

TDP-43
凝集体



筋萎縮性側索硬化症（ALS）患者の死後固定パラフィン包埋（FFPE）脳切片における
TDP-43凝集体での新規タンパク質成分の解明。
試料はMayo ClinicのRossolli研究室より提供。



検出困難なタンパク質を 発見するための ターゲット型スクーピング

Microscoop® Mintは、画期的な空間プロテオミクスプラットフォームであり、多くの生物学的課題において特定の細胞内微小領域で新規タンパク質成分を明らかにするために使用されています。Microscoop® Mintは、顕微鏡を用いたスクーピング（Microscopic Scooping）を可能とします。すなわち、自動化されたUltra-content 顕微鏡ガイドによる光学バイオチン化によって細胞内タンパク質を光標識し、質量分析に基づくプロテオーム解析のために十分な量の細胞内タンパク質を分離および収集します。

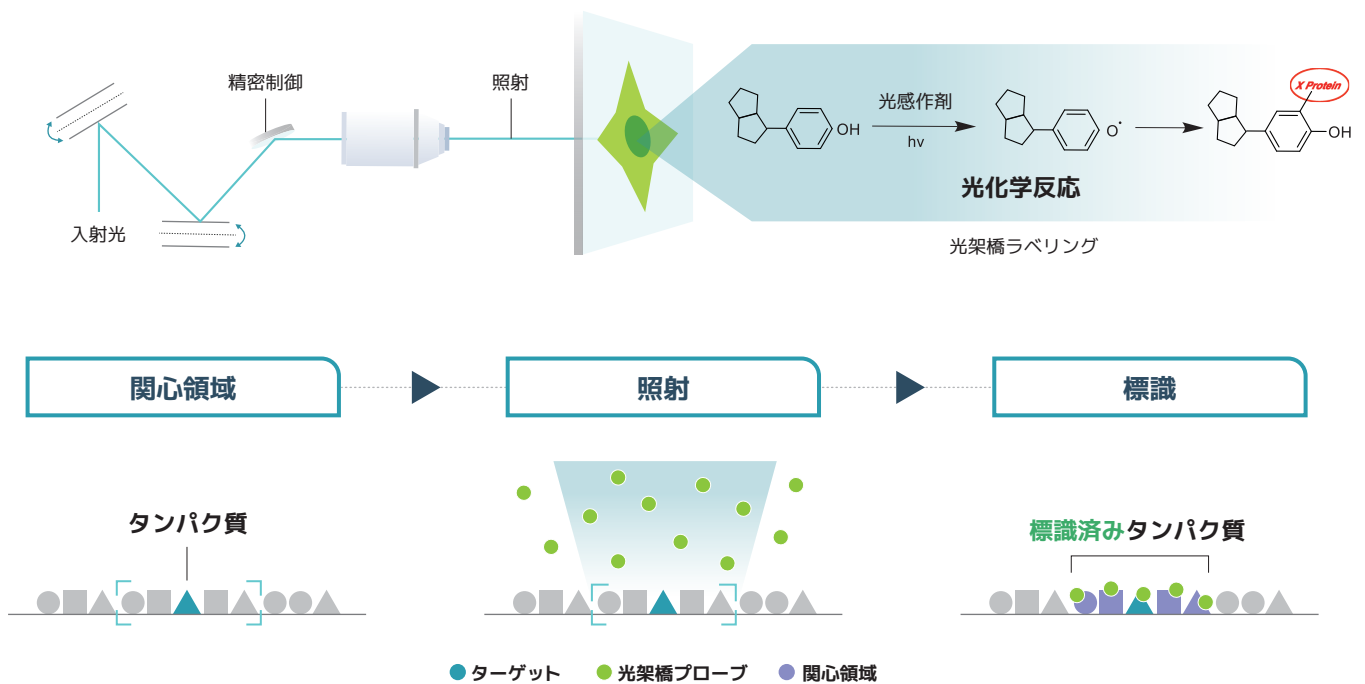
これは、これまでにない空間プルダウン技術であり、高解像度、高感度、高特異性を備えたバイアスのない細胞内プロテオームの同定を可能にします。

HOW MICROSCOOP[®] WORKS?

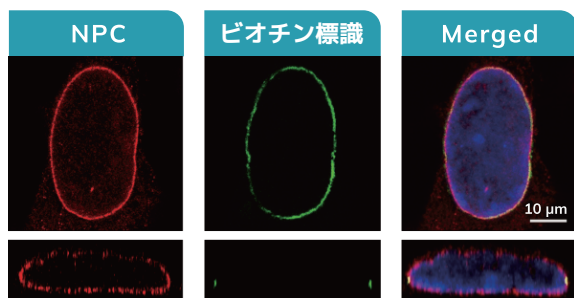
光化学

サブミクロン空間光学ビオチン化

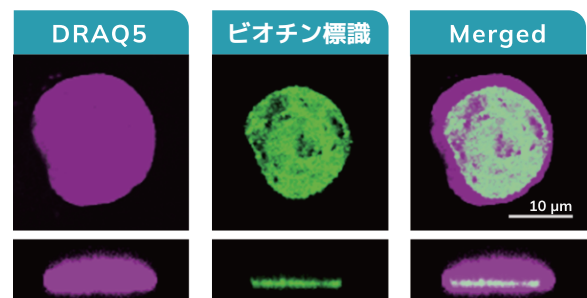
フォトラベリングは、2光子励起を利用して光触媒との光化学反応を引き起こすことで実現されます。この反応により、ビオチンと光活性化アミノ酸リンカーを含む分子が酸化還元反応を起こし、共有結合を形成します。この過程で、照射された焦点スポット内のアミノ酸がビオチン化され、サブミクロンのラベリング解像度が達成されます。各照射スポットの照射時間は、ミリ秒またはサブミリ秒の範囲内に設定されており、試料全体に対する迅速なビオチン化を可能にします。



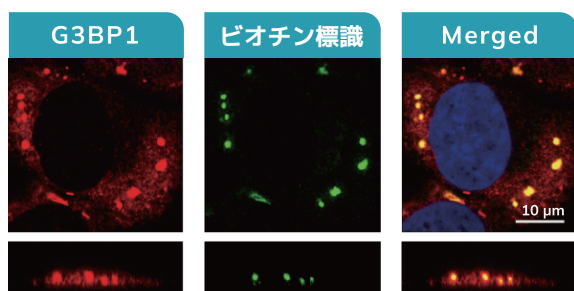
フォトラベリング画像解析



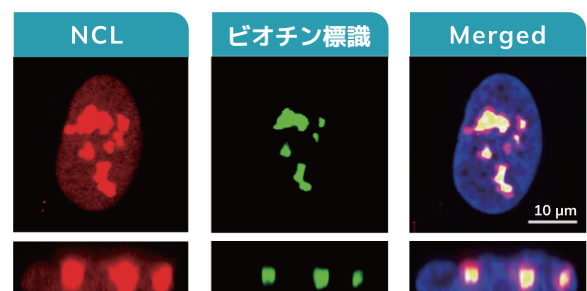
Nuclear pore complex



Nucleus

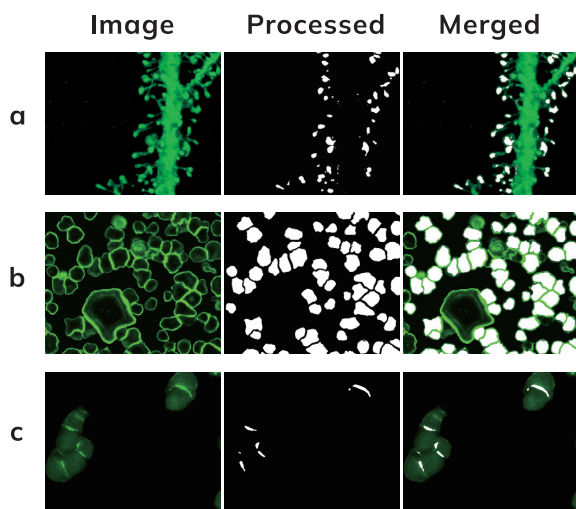


Stress granules



Nucleoli

リアルタイムAI処理



AIガイドによるターゲットフォトラベリング

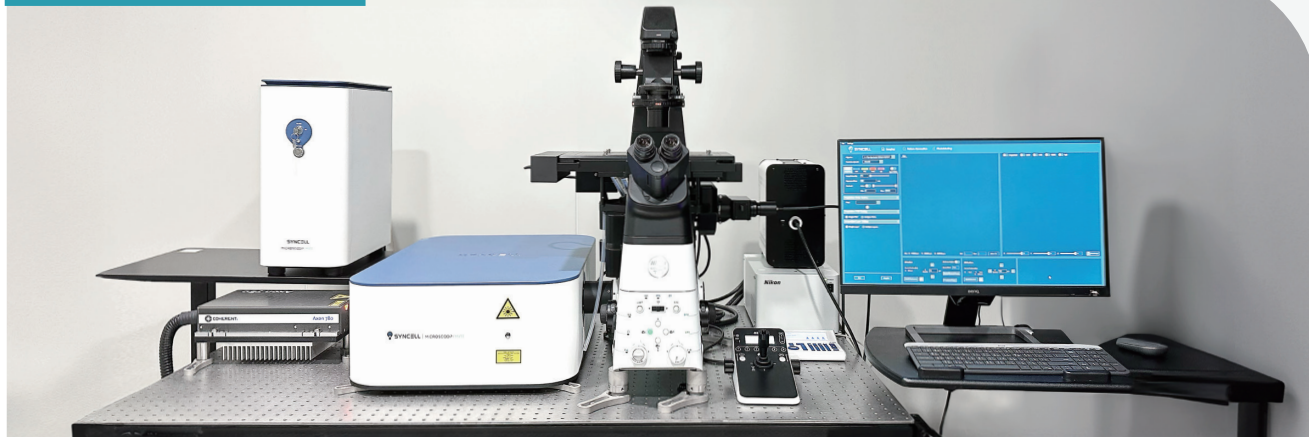
AIガイドによるターゲットフォトラベリング従来の画像処理では画像の複雑さや画質の問題で関心領域を正確に分割できない場合でも、ディープラーニングを用いた画像セグメンテーションがプロテオーム解析に役立ちます。

数百枚のアノテーションされた画像を使用して、特定の生物学的課題に対するニューラルネットワークを訓練します。

Microscope® MintのソフトウェアであるAutoscoop™は、調整済みのニューラルネットワークを呼び出し、リアルタイムで視野(FOV)ごとに関心領域を認識します。

高速なフォトラベリングを実現するためには、リアルタイムでの従来の画像処理(a)およびAIによる処理(b,c)が重要です。

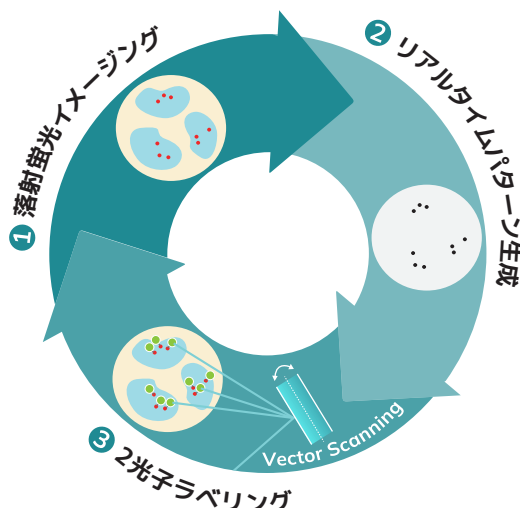
メカトロニクス



同期自動化

ハードウェア、ファームウェア、ソフトウェアが統合されたメカトロニクスシステムは、スキャンシステム、レーザー、顕微鏡、カメラ、落射照明光源、および周辺機器をリアルタイムで正確かつ迅速に制御することを可能にします。この自動化されたプロセスは、撮像からインテリジェントなラベリングまでの各ステップを同期させることで最適化されており、ミリ秒未満の時間精度を実現しています。この統合システムによって、高速かつ高解像度の空間フォトラベリングが可能となります。

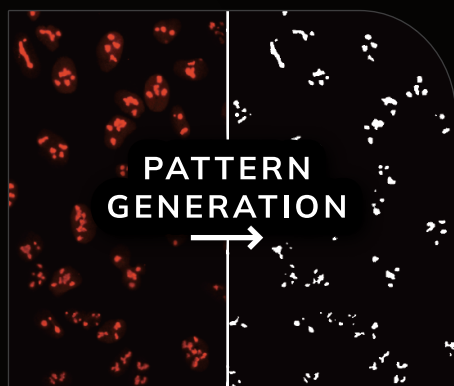
数千サイクルを繰り返す



Ultra-Content

1つの視野(FOV)内の関心領域から回収されたタンパク質だけでは、質量分析計による低濃度タンパク質の検出感度に十分ではありません。このタンパク質増幅の課題に対応するために、Microscope®は自動化されたターゲット型フォトラベリングを10,000以上の視野(FOV)で行い、質量分析に必要な十分な量のタンパク質をバイオチン標識します。イメージング、パターン生成、フォトラベリングの3つのステップはすべての視野で繰り返されます。各ステップの速度は最適化されており、フォトラベリングプロセス全体を一晩で完了できるようになっています。

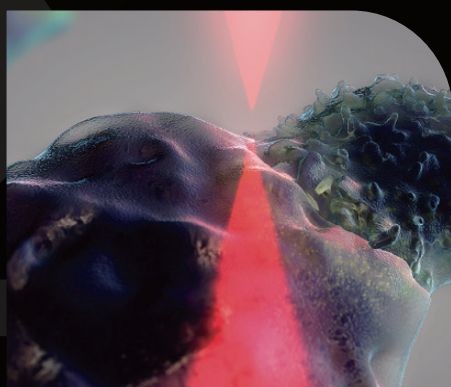
WORKFLOW



STEP 1

リアルタイム画像解析

フォトラベリングキット（例: Synlight-Rich™ Kit）は、光化学反応を行うために細胞または組織サンプルに最初に加えられます。サンプルがステージにセットされると、Microscoop®は1つの視野（FOV）ごとにサンプルの画像（または複数の色の画像）を撮影します。この画像は、Microscoop®のソフトウェアであるAutoscoop™によってリアルタイムで解析され、従来の画像処理またはAIディープラーニングを使用してユーザーが指定する関心領域をセグメント化します。セグメント化の精度を向上させるために、事前または事後の処理が含まれることもあります。



STEP 2

パターン化された光学ビオチン標識化

フェムト秒光源を制御して、セグメント化された関心領域を1点ずつ照射します。このパターン化された照射により、Synlight-Rich™ Kitの光感受性プローブの反応を介して高い空間精度でターゲットタンパク質の光ビオチン化が引き起こされます。このパターン化されたフォトラベリングは、数千の視野（FOV）にわたって自動的に繰り返され、後続の質量分析を用いたプロテオーム解析に必要な十分な量のタンパク質がビオチン化されるようにします。



STEP 3

タンパク質抽出

フォトラベリングされた細胞や組織は、スライドまたはチャンバーからスクレイピングされます。複数のスライドやチャンバーから得られた材料をプールすることで、総タンパク質量を増加させることができます。スクレイピングされたサンプルは、タンパク質抽出キット（例: Synpull™ Kit）の試薬で処理され、細胞膜を破壊して溶解させます。その後、免疫沈降によってタンパク質を濃縮し、プロテオーム解析のためにペプチドへ分解されます。



STEP 4

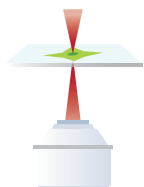
プロテオームの同定

収集されたペプチドは、LC-MS/MS分析できます。フォトラベリングされたサンプルと非標識（CTL）サンプルの両方からプロテオーム情報が得られます。コントロールとフォトラベリングされたプロテオームを比較することで、関心領域に特異的なプロテオームが高感度、高特異性、高空間精度で取得されます。検証は、免疫染色による共局在解析や追加の機能アッセイによって行うことができます。

MICROSCOOP® / MINT 用試薬キット

SynCellは、Microscoop® Mintに最適化された試薬キットを提供しています。Synlightキットは、フォトラベリングに必要な光化学プローブおよびその他の試薬を含む専用のキットです。Synlight-Rich™キットは、300 nm以上の構造に対して高いラベリング効率を持つように設計されています。Synpull™キットは、低容量のプルダウンおよび質量分析に適したサンプル準備のために最適化された多くの試薬群を含み、細胞および組織サンプルの両方に対応しています。

フォトラベリングキット



MICROSCOOP®によるターゲット
フォトラベリング

製品番号	品名	容量
SYN-RI0106* / SYN-RI0206	Synlight-Rich™ Kit	最大6回分の反応 (LC-MS/MS用に1~3ラウンド**)

*ポジティブコントロールが含まれています。 **1ラウンド = 1つのテスト群 + 1つのコントロール群

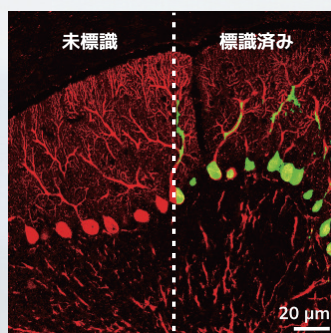
Synlight-Rich™ Kit
(7 units)
(SYN-RI0106)



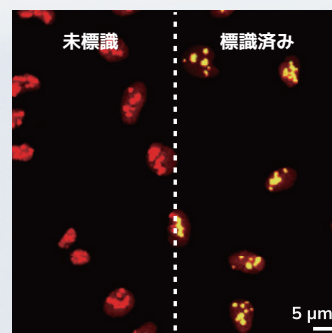
SYNCELL
Synlight Rich™ KIT

Synlight-Rich™ Kit
(4 units)
(SYN-RI0206)

マウス小脳内のプルキンエ細胞

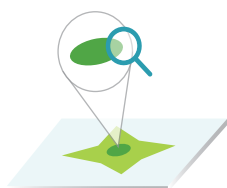


核小体



Synlight-Rich™は高効率なフォトラベリングを可能にし、プルキンエ細胞の細胞体 (約10 μm) や軸索 (約2 μm)、および核小体 (約1 μm) といったサブミクロンからミクロンサイズの構造に適しています。

タンパク質抽出キット



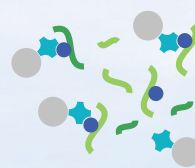
質量分析ベースのプロテオミクス解析の
ためのフォトラベリングサンプルの抽出
および処理

製品番号	品名	容量
SYN-PU0106	Synpull™ Kit	最大6回分の反応 (LC-MS/MS用に3ラウンド**)

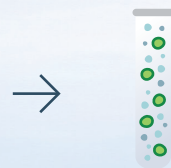
**1ラウンド = 1つのテスト群 + 1つのコントロール群



● ビオチン



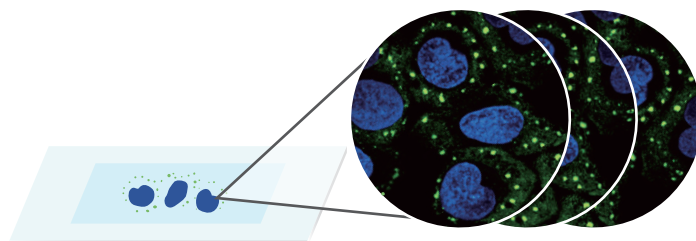
● ストレプトアビジンビーズ



精製済みフォトラベリングペプチド

細胞内空間プロテオミクスの探索

INPUT



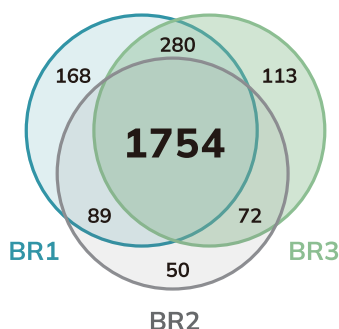
サンプル

● ターゲット ● DAPI染色

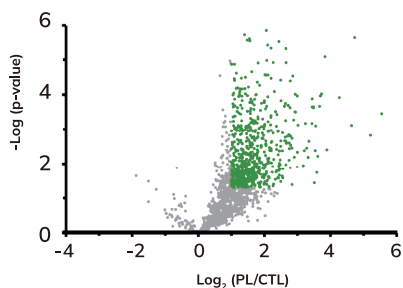


MICROSCOOP®

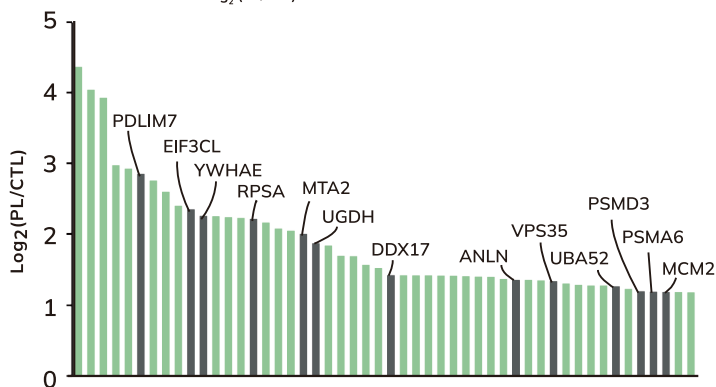
+
質量分析



Microscope®によって空間的に分離され、質量分析で解析されたストレス顆粒タンパク質のベン図。



フォトラベリングされたサンプル (PL)とコントロールサンプル (CTL)間の相対的なタンパク質レベルをlog₂スケールで示したボルケーノプロット。過剰に発現した(濃縮された)タンパク質は緑色で表示されています。



Microscope®によって空間的に濃縮された上位50種のタンパク質には、多くの既知のストレス顆粒タンパク質(緑)と、ストレス顆粒タンパク質としての明確な事前アノテーションのないもの(グレー)が含まれています。

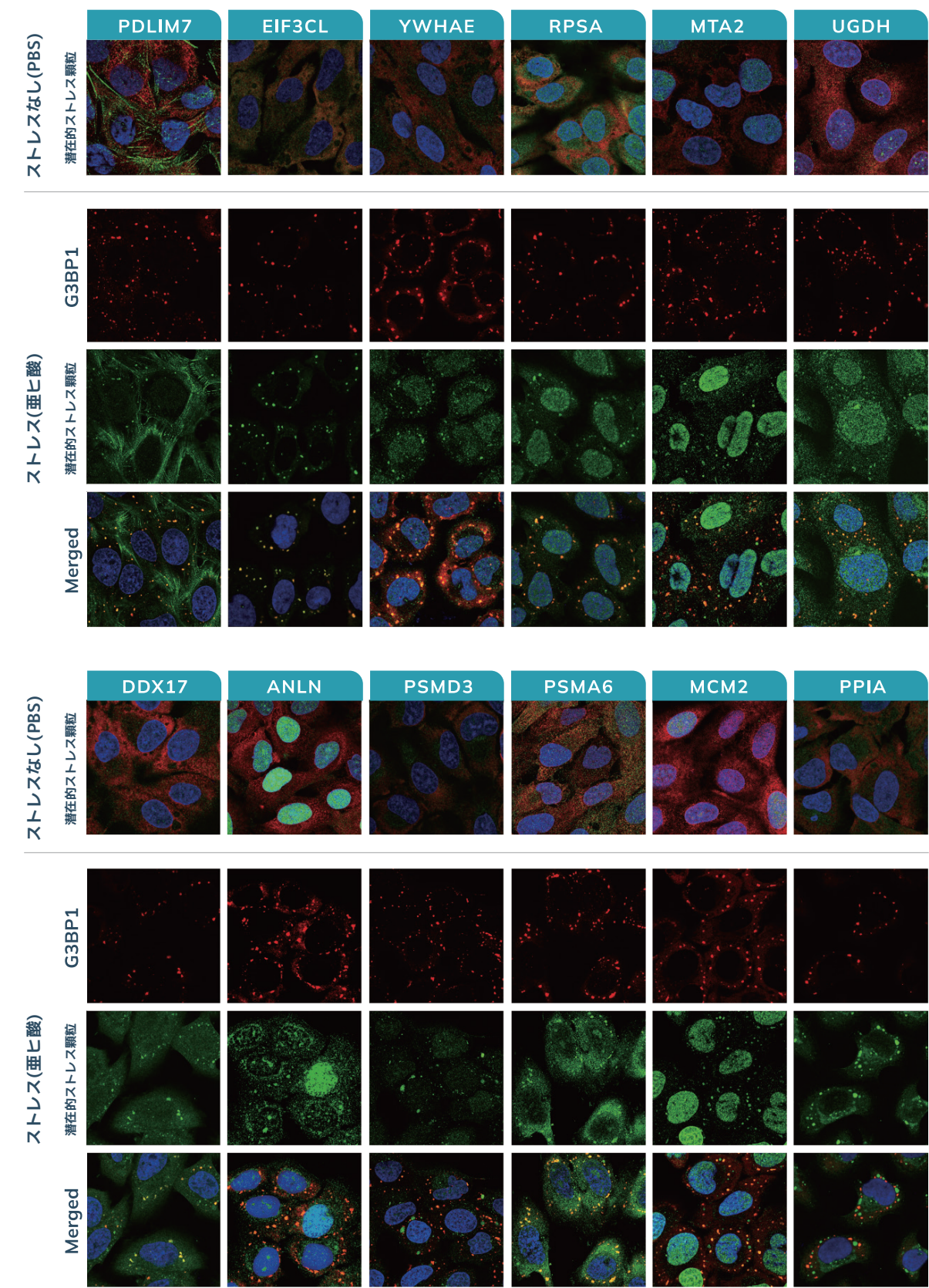
Protein	Log ₂ (PL/CTL)
● Known ● Novel	
● PALLD	4.37
● HNRNPK	4.04
● CSDE1	3.92
● VCL	2.97
● GSPT1	2.92
● PDLIM7	2.83
● PABPC1	2.74
● GARS1	2.60
● HNRNPH1	2.39
● EIF3CL	2.34
● YWHAE	2.25
● TARDBP	2.24
● FXR1	2.23
● EIF3E	2.22
● RPSA	2.21
● MOV10	2.16
● HDLBP	2.07
● HNRNPL	2.04
● MTA2	1.99
● UGDH	1.86
● PCBP1	1.83
● SYNCRIP	1.69
● VCP	1.68
● PABPC4	1.56
● DPYSL2	1.52
● DDX17	1.42
● DDX50	1.42
● EEF1D	1.42
● CPNE3	1.42

A List of Proteins at the Targets

OUTPUT

共局在の検証

ストレス顆粒タンパク質としての明確な事前アノテーションのないタンパク質は、ストレス顆粒マーカであるG3BP1との共免疫染色によって1つずつ確認されました。共局在の結果は、Microscoop®技術の高い特異性を示しています。新規のストレス顆粒構成タンパク質が一括で同定されました。



Microscoop®技術によって同定された新規ストレス顆粒構成タンパク質の共局在検証。
共焦点顕微鏡画像は、亜硫酸ストレスの有無におけるU-2OS細胞内のストレス顆粒形成を示しています。
ストレス顆粒タンパク質としての明確な事前注釈がない12種のタンパク質が、ストレス顆粒マーカG3BP1と高い共局在を示しました。
緑色：Microscoop®によって同定されたタンパク質、赤色：G3BP1、青色：DAPI染色。



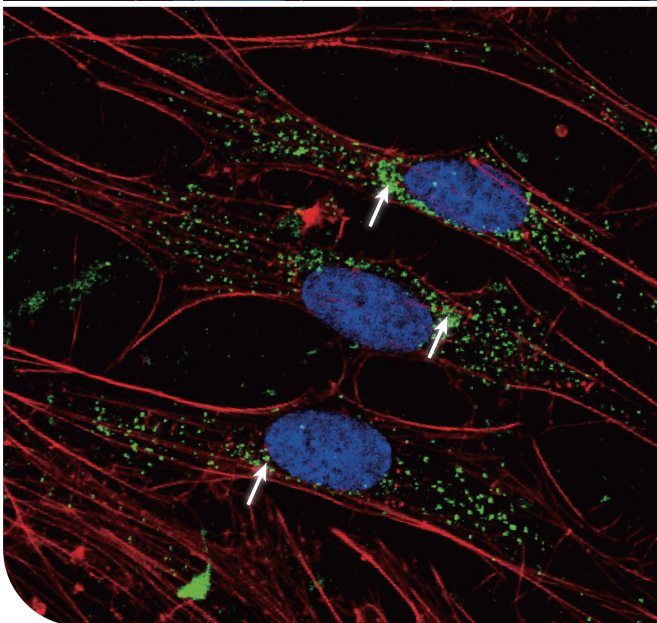
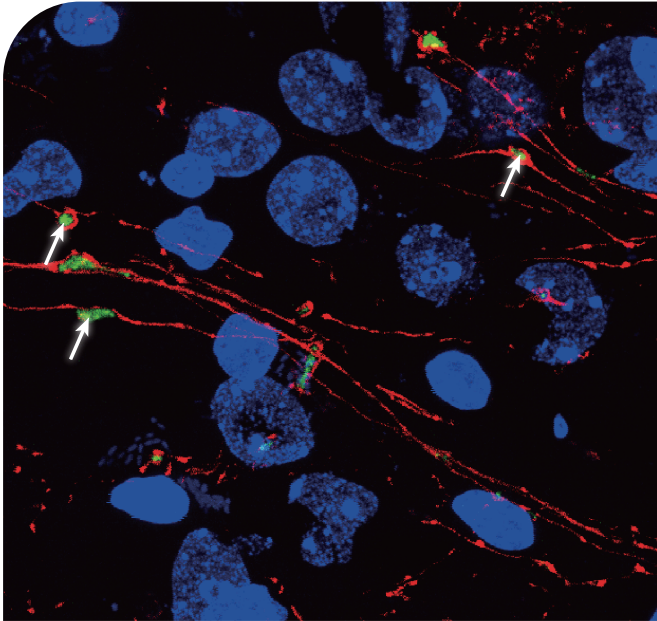
幅広い探索用途

神経科学
がん生物学
細胞生物学
免疫学
発生生物学
感染症
老化
代謝疾患
炎症性疾患
幹細胞研究
免疫腫瘍学
病理学
創薬ターゲット探索
バイオマーカー探索
.....その他

神経科学

顕微鏡で認識可能な構造である β アミロイド、内嗅皮質第II層におけるリリン陽性ニューロン、または樹状突起スパインは、Microscoopを用いた空間的な濃縮によって研究することができます。

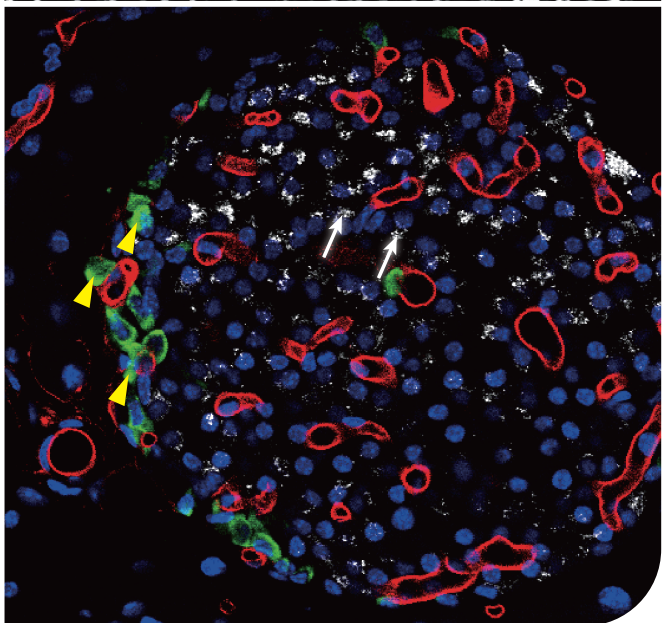
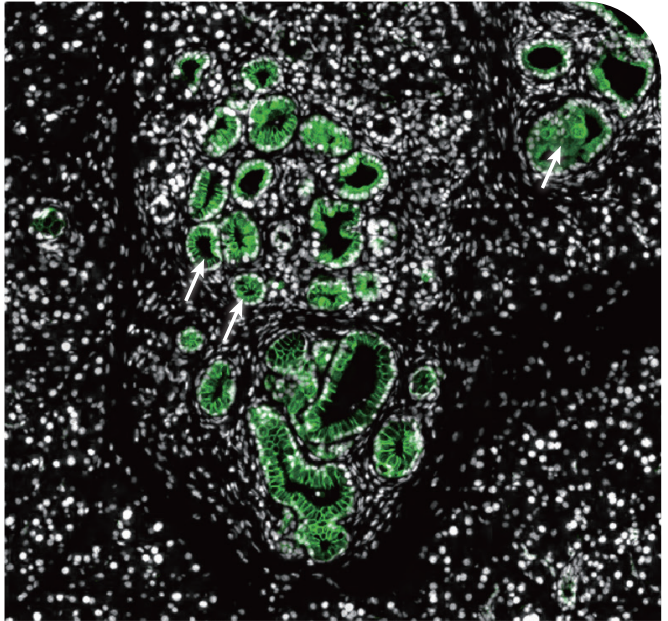
以下は、Microscoop®によって光学ビオチン標識化された海馬苔状線維ブトン（Alexa488-ニュートラビジン、緑色）を使用したタンパク質プルダウンおよびプロテオーム解析の例です。



がん生物学

転移性細胞のE-カドヘリン関連タンパク質、がん細胞-T細胞間インターフェースのタンパク質、三重陰性乳がんにおけるKi67陽性細胞のプロテオームといった課題は、Microscoopを用いた空間的な濃縮およびその後のプロテオミクス解析によって対応可能です。

以下は、マウス膀胱がんの病変周辺で早期がんマーカーであるサイトケラチン19の例です。



細胞生物学

大型の細胞外小胞、ストレス顆粒、フィロポディアの先端、焦点接着、または小胞体-ミトコンドリア間インターフェースといった細胞内構造のプロテオームは、Microscoop®および質量分析を用いて同定することができます。ここでは、Microscoop®を用いた細胞内の空間分離およびプロテオミクス解析によって光学ビオチン標識化が可能なペルオキシソーム（PEX14、緑色）の例を示しています。

代謝生物学

Microscoopを用いたプロテオーム解析は、免疫学、代謝疾患、発生生物学、感染症などの他の生物学的課題にも応用することができます。

ここでは、膵島の画像を示し、 α 細胞（グルカゴン、緑色）、 β 細胞（インスリン、白色）、または血管（WGA、赤色）を分離し、新規タンパク質成分を同定することができます。

SYNCELLについて

SynCELLは、次世代プロテオミクスのためのツールを開発する最前線に立つライフサイエンス技術企業です。当社の先駆的なMicroscoop®技術は、空間的なタンパク質成分の発見を可能にし、これまで不可能であったde novo細胞内空間プロテオミクスを初めて実現しました。この画期的な技術は、分子メカニズムの理解、新規疾患バイオマーカーの特定、新しい創薬ターゲットの発見など、幅広い生物学的課題に応用することができます。

研究用。診断目的での使用は禁止されています。
仕様および外観は、予告なしに変更されることがあります。

syncell.com / info@syncell.com / +1 617 631 2746
200 Dexter Ave, Watertown, MA 02472 USA



WEBSITE



LinkedIn



Twitter

代理店

輸入元



株式
会社

スクラム

世界の価値ある技術をあなたの元に

本社

〒135-0014 東京都江東区石島2-14 Imas Riverside 4F
Tel. (03)6458-6696 Fax. (03)6458-6697

西日本営業所

〒532-0003 大阪市淀川区宮原5-1-3 NLC新大阪アースビル403
Tel. (06)6394-1300 Fax. (06)6394-8851

Web Site : www.scrum-net.co.jp

SYN20250212