

# バイオマーカー探索と同定

当社では、創薬の加速と治療方針の最適化を目的に、バイオマーカーの探索および検出に関するエンドツーエンドのサービスを提供しています。サンプル収集・前処理に始まり、バイオマーカーの検証・定量化に至るまで、高精度なプラットフォームと科学的専門知識を活かして、重要なバイオマーカーの正確な同定を実現します。

新薬開発の初期段階から臨床開発に至るまで、当社サービスでは薬効評価、安全性評価、患者層別化に必要な信頼性の高い分析結果を提供します。

当社をご活用いただくことで、バイオマーカーパイプラインの効率化が図れ、最先端技術へのアクセスと、信頼できるデータに基づく迅速かつ確実な意思決定が可能となります。

## バイオマーカー探索・検出プロセス

### 検体採取

動物種 (Species): ヒト、マウス、ラット、イヌ、ウサギ、サル 健康状態 (Health Status): 健常 vs. 疾患状態のサンプル  
サンプル種別 (Sample Types): 血液、血清、血漿、組織生検、尿、脳脊髄液 (CSF)、および細胞サンプル (例: PBMC)

### 試料調製および保存管理

処理 (Processing): サンプルの種類に応じて、細胞、血漿、タンパク質などの主要成分を分離。  
保存 (Storage): バイオマーカーの安定性を分析まで維持するために、最適な条件 (例: 凍結保存) でサンプルを保管。

### バイオマーカーの網羅的探索と機能解析

プラットフォームの選定 (Platform Selection): ハイスループットスクリーニング、ゲノミクス/トランスクリプトミクス、プロテオミクス、エピジェネティクス解析プラットフォームなどを用いて、関連性の高いバイオマーカーを同定。  
使用技術 (Technologies Used): qPCR、シーケンシング、LC-MS/MS、JESS、ELISA、MSD などを使用して、疾患や治療反応に関連するバイオマーカーの探索および初期検証を実施。

### バイオマーカーの妥当性評価および定量解析

検証 (Validation): バイオマーカーの同一性、特異性、および再現性の確認。  
定量 (Quantification): MSD、AlphaLISA、HTRF などのマルチプレックスアッセイや Western Blot を用いて、さまざまな条件下でのバイオマーカー発現量を正確に測定。

### 細胞機能解析(オプション)

細胞解析 (Cellular Analysis): IncuCyte やハイコンテンツ解析 (HCA) などのプラットフォームを用いて、細胞バイオマーカーのフローサイトメトリーやリアルタイムイメージングを行い、細胞挙動、免疫応答、薬剤効果をモニタリング。

### 生体内イメージング(オプション)

生体動物モデルにおけるバイオマーカーの非侵襲的光学イメージング (例: 腫瘍、免疫応答、薬物分布の追跡)。疾患の進行やバイオマーカー動態を観察するための長期縦断的研究。

### データ解析と報告書

統計解析 (Statistical Analysis): バイオマーカーデータを解析し、傾向、相関関係、有意な知見を特定  
解釈 (Interpretation): データは、対象となる疾患、治療介入、または研究中の生物学的プロセスの文脈に基づいて解釈

## バイオマーカー探索のためのオミクス技術

オミクス技術 (Omics Technology)	バイオマーカー探索における利点	適した用途
<ul style="list-style-type: none"> <li>ゲノミクス (Genomics)</li> <li>トランスクリプトーム (Transcriptomics)</li> <li>プロテオミクス (Proteomics)</li> <li>メタボロミクス (Metabolomics)</li> <li>エピゲノミクス (Epigenomics)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 生体システムに対する多層的で包括的なインサイトの提供</li> <li>- 遺伝子、転写物、タンパク質、代謝物、エピジェネティクスの変化を検出</li> <li>- ハイスループットかつスケーラブル</li> <li>- 統合的な「マルチオミクス」アプローチにより、複雑な疾患の理解が向上</li> <li>- 個別化医療および標的治療の実現を支援</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 診断や治療標的を目的とした、遺伝子・タンパク質・代謝物バイオマーカーの探索</li> <li>- がん、神経変性疾患、心血管疾患、代謝性疾患などの包括的な疾患プロファイリングに向けたマルチオミクス統合</li> <li>- 薬理ゲノミクスおよび創薬研究</li> <li>- 精密医療および患者層別化のためのバイオマーカー探索</li> </ul>

## バイオマーカー検出ソリューション：最適な技術を選ぶためのガイド

技術	特徴	適した用途 / 対象
qPCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 遺伝子発現解析における高い感度と特異性</li> <li>- リアルタイムモニタリングによる定量的結果の取得</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 転写産物バイオマーカーの発見および定量的ための遺伝子発現プロファイリング</li> <li>- RNA バイオマーカーの検証</li> </ul>
クラシック・ウェスタンブロット (WB)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- タンパク質検証のゴールドスタンダード</li> <li>- タンパク質のサイズ、アイソフォーム、および翻訳後修飾を検出可能</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- タンパク質バイオマーカーの検証および発現変化の追跡</li> <li>- がん研究における特定のアイソフォームの同定</li> </ul>
蛍光ウェスタンブロット (Fluorescent WB)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- マルチプレックス対応：同一メンブレン上で複数のバイオマーカーを検出可能</li> <li>- 高感度かつ広いダイナミックレンジ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 複数タンパク質の同時検出</li> <li>- 経路解析 (例：複数のシグナル伝達タンパク質の検出)</li> </ul>
シンプルウェスタン (Jess)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 自動化により、手作業の時間を最小限に</li> <li>- タンパク質検出における完全な定量化とデジタル出力対応</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ハイスループットなバイオマーカー検証</li> <li>- 大規模サンプル群での再現性の高いデータ取得</li> </ul>
インセル・ウェスタン (In-Cell Western)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 生細胞内で直接タンパク質を定量的に検出可能</li> <li>- 細胞環境下で特定バイオマーカーの解析が可能</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 細胞ベースのバイオマーカー・スクリーニング</li> <li>- 細胞内におけるバイオマーカーの空間的分布の解析</li> </ul>
ELISA & MSD (Meso Scale Discovery)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 高感度かつ高特異性で個別バイオマーカーを検出</li> <li>- MSD により複数分析項目の同時測定 (マルチプレックス) が可能</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- サイトカインプロファイリング、血液 / 血漿中タンパク質の定量</li> <li>- 臨床研究における大規模バイオマーカースクリーニング</li> </ul>
AlphaLISA & HTRF	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 均一系で洗浄不要のアッセイによりハイスループットスクリーニングが可能</li> <li>- 高感度でマルチプレックス解析に対応</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ハイスループットなバイオマーカー探索</li> <li>- バイオマーカー測定結果に基づく創薬および化合物スクリーニング</li> </ul>
フローサイトメトリー (Flow Cytometry)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 細胞バイオマーカーおよび免疫細胞集団の多項目解析が可能</li> <li>- 希少細胞に対する高感度検出</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 免疫細胞プロファイリングおよび機能的バイオマーカーの検出</li> <li>- 単一細胞レベルでのバイオマーカー解析</li> </ul>
ハイコンテンツ解析 (High-Content Analysis)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 表現型スクリーニングのための自動化されたハイスループットイメージング</li> <li>- 細胞形態およびバイオマーカー発現に関する詳細情報を提供</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 細胞バイオマーカーのイメージング</li> <li>- ハイコンテンツスクリーニングにおけるタンパク質発現および局在のマルチプレックス解析</li> </ul>
IncuCyte (ライブセルイメージング)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- リアルタイムかつ連続的なライブセル解析</li> <li>- 細胞の変化 (例：増殖、アポトーシス) を時間経過とともに追跡可能</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- バイオマーカー応答の動的追跡</li> <li>- 生細胞を用いた縦断的研究 (長期観察)</li> </ul>
LC-MS (液体クロマトグラフィー - 質量分析)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- タンパク質および低分子 (脂質、多糖類、アミノ酸、脂肪酸、ビタミンなど) の定量的かつ高特異的</li> <li>- 翻訳後修飾および代謝物の検出が可能</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 代謝物および脂質の解析に非常に適している</li> <li>- ペプチドおよび神経伝達物質の定量</li> </ul>
インビボ・イメージング (In Vivo Imaging)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 生体動物モデルにおける非侵襲的・リアルタイムのバイオマーカーイメージング</li> <li>- 治療に対する反応や時間経過に伴うバイオマーカー動態の追跡</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- がん、炎症、薬効評価におけるバイオマーカーの縦断的追跡</li> <li>- 腫瘍の増大や薬剤分布のモニタリング</li> </ul>

## 特徴

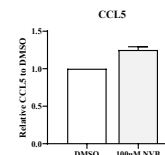
### ウェスタンブロットサービス:

- ✓ 伝統的な WB、ドットブロット、Jess(シンプルウェスタン)、蛍光 WB、化学発光 WB の 5 種類のウェスタンブロットに対応しており、多様でハイスループットなタンパク質検出オプションを提供。
- ✓ 古典的 WB を用いた数百種類のバリデート済みバイオマーカーアッセイの豊富な実績により、信頼性の高い結果を保証。
- ✓ WB および Jess(シンプルウェスタン)技術の両方を用いた薬力学サンプルの取り扱いに精通。
- ✓ 高速な処理時間: WB の処理は 1 ~ 2 営業日以内に対応可能。
- ✓ 高スループット: 96 ウェルプレートフォーマットに対応し、効率性を最適化。



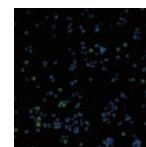
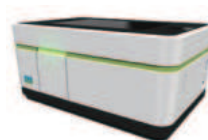
### qPCRアッセイ:

- ✓ 特定の DNA または RNA 分子の量を、高感度・高特異性・高再現性で定量するために qPCR を使用。
- ✓ 細胞および組織サンプル用アッセイを含む、複数のすぐに使用可能なバイオマーカーアッセイを提供。



### ハイコンテンツ・イメージング:

- ✓ ハイコンテンツ免疫蛍光アッセイにより、主要なバイオマーカーを精密に検出。  
対象には、タンパク質の転位、総タンパク質量、リン酸化タンパク質、アセチル化タンパク質、メチル化タンパク質などのさまざまな翻訳後修飾が含まれ、DNA 損傷応答などのシグナル伝達経路にも関与。

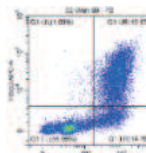
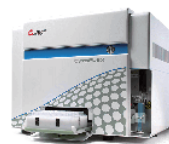


### フローサイトメトリー:

- ✓ 組織サンプルをフローサイトメトリー解析用に処理可能。
- ✓ 細胞表面マーカー、細胞内サイトカイン、転写因子、ならびに ROS(活性酸素種)などの特殊マーカーの検出が可能。

### ELISA:

- ✓ 高感度検出のため、CLARIOstar PLUS および PHERAstar FSX などの高度な装置を完備。
- ✓ 直接法、間接法、サンドイッチ法、競合法など、さまざまな ELISA フォーマットに精通。
- ✓ サイトカインおよびタンパク質レベルの検出における豊富な実績。



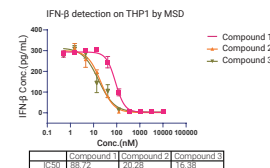
### AlphaLISA:

- ✓ サイトカイン、総タンパク質、リン酸化タンパク質の検出に商用キットを使用。
- ✓ 特定タンパク質に対するアッセイのカスタマイズが可能で、活性化や阻害の測定に対応。
- ✓ 384 ウェルプレートに対応し、ハイスループットスクリーニングを実現。



### MSD (メソスケールディスカバリー):

- ✓ 96 ウェルおよび 384 ウェルプレートに対応しており、サイトカインパネル、総タンパク質、LRRK2 pSer935 のようなリン酸化タンパク質の検出に関する豊富な実績。

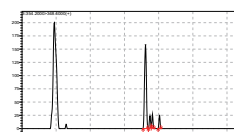


### PDバイオマーカー検出のための疾患モデル:

- ✓ 疾患モデルの開発に関する高度な専門知識を有しており、PD バイオマーカーのシームレスな検出が可能。

### LC-MS/MS:

- ✓ ペプチドおよび神経伝達物質の検出における豊富な実績があり、バイオマーカー解析において高い特異性と感度を提供。



### バイオインフォマティクス解析:

- ✓ ゲノミクス、トランスクリプトーム、プロテオミクス、マルチオミクスアプローチを含む、複数のオミクス分野にわたる包括的なデータ解析サービスを提供。
- ✓ クライアントのニーズに合わせたカスタムデータマイニングおよび解析に対応。

## 神経研究におけるバイオマーカー探索：神経伝達物質のLC-MS/MS解析

ドーパミン、セロトニン、ノルエピネフリンなどの神経伝達物質は、神経疾患の重要なバイオマーカーです。LC-MS/MSを用いることで、血漿や組織中のこれらの神経伝達物質を高感度かつコスト効率良く検出でき、少量サンプルでも正確なバイオマーカー定量が可能です。

### ◇ 背景:

神経伝達物質は、シナプス前ニューロンによって合成され、神経終末から放出される主要な化学伝達物質で、シナプス後ニューロンや効果器細胞上の特定の受容体に作用します。

これには、ドーパミン(DA)、エピネフリン(E)、ノルエピネフリン(NE)、セロトニン(5-HT)などのモノアミン類、アセチルコリン(Ach)などのコリン作動性神経伝達物質、ならびに GABA やグルタミン酸などのアミノ酸が含まれます。

脳内の神経伝達物質の濃度は行動やさまざまな神経疾患と密接に関連しており、それらの測定は神経精神薬の作用機序の理解に役立ちます。

### ◇ 課題と解決策:

神経伝達物質の分析における課題のひとつは、特にサンプル量が少ない場合に感度が低いことです。誘導体化試薬の使用により感度が大幅に向上し、低濃度の神経伝達物質を正確に検出することが可能です。

### ◇ 利点:

- コスト効率: 市販のキットを使用する必要なし。
- 高スループット: 複数の神経伝達物質を1つの方法で測定可能。
- 少量サンプル: 必要なサンプル量はわずか 50 µL で、他の方法より大幅に少ない。
- 高特異性: 神経伝達物質の検出精度が向上。

Neurotransmitters	CSF		Rat plasma		Rat brain homogenate	
	baseline <sup>[1]</sup> (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	baseline <sup>[2]</sup> (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)	baseline <sup>[3]</sup> (ng/mL)	LLOQ (ng/mL)
GLY	/	5	3727.26±409.58	500	49836.1 ± 3651.0	5000
GLU	614±317	2	2855.74±114.26	500	90480.9 ± 6496.0	5000
GABA	35±18	5	3.13±1.68	2	28192.2 ± 2418.0	10000
HVA	16.4±2.2	1	/	1	164.9 ± 29.7	100
5-HT	0.45±0.2	0.5	30.81±4.23	1	976.8 ± 109.0	500
NE	0.8±0.26	0.5	54.32±1.75	2	609.2 ± 65.3	500
DA	/	2	23.89±0.08	2	551.5 ± 104.1	100
DOPAC	10.1±4.1	0.5	/	1	144.4 ± 44.1	100
5-HIAA	101.3±15.4	5	/	5	232.7 ± 31.6	200
Metanephrine	/	1	/	2	/	500
E	/	2	25.09±1.47	2	/	500
histamine	/	0.1	1.85±0.39	1.5*	34.3 ± 1.03	4
3-MT	/	1	/	1	/	200
Normetadrenaline	/	1	/	1	/	200
Ach	/	5	/	5	/	200

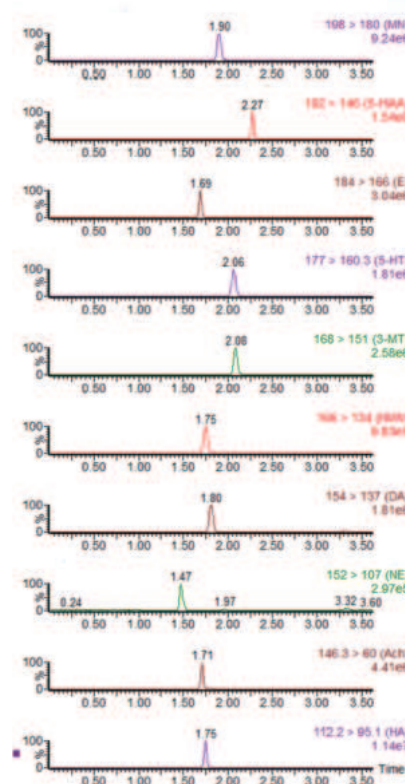


図: 血漿およびさまざまな組織中の神経伝達物質およびその代謝物の LC-MS/MS 解析で、表には主要な分析対象物の保持時間(Rt)およびピーク面積が示されており、ドーパミン(DA)、ノルエピネフリン(NE)、セロトニン(5-HT)などが含まれます。

クロマトグラムは各神経伝達物質の明確な分離と検出を示しており、m/z トランジションおよび保持時間が記載され、各化合物に対する本法の高い感度と特異性を示しています。

### 参考文献:

1. Kovac, Andrej, et al. "Liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for determination of panel of neurotransmitters in cerebrospinal fluid from the rat model for tauopathy." *Talanta* 119.1 (2014): 284-290. DOI: 10.1016/j.talanta.2013.10.027.
2. Jiahui, et al. "Target-based metabolomics for the quantitative measurement of 37 pathway metabolites in rat brain and serum using hydrophilic interaction ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry." *Analytical & Bioanalytical Chemistry* (2016).
3. "Simultaneous determination of multiple neurotransmitters and their metabolites in rat brain homogenates and microdialysates by LC-MS/MS." *Analytical Methods* 7.9 (2015): 3929-3938.