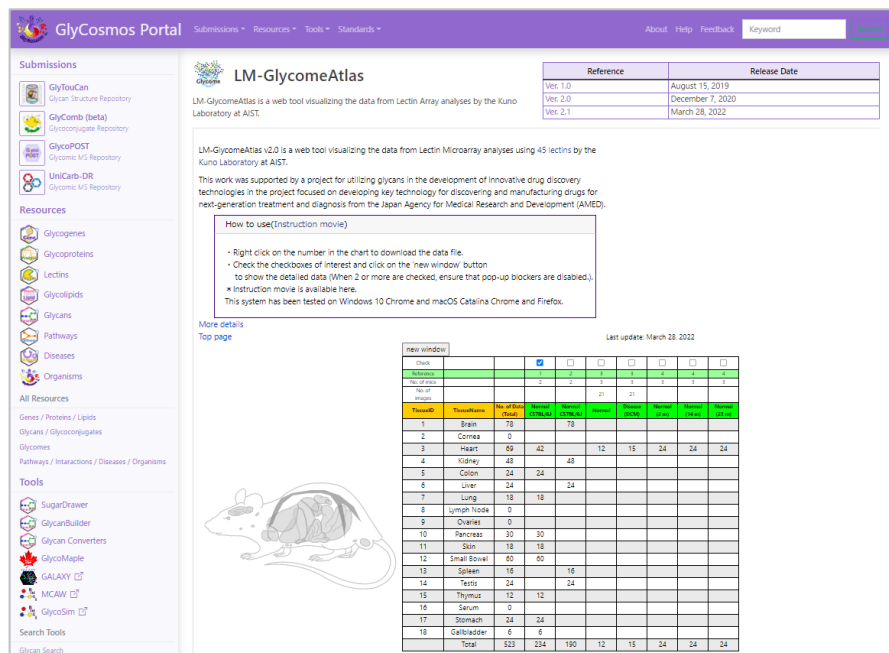


LM-GlycomeAtlas Ver.2.1: レクチンを利用した組織グライコーム・データベースのアップデート

○岡谷 千晶¹、藤田 典昭¹、曾我部 勇²、荒川 康一²、板倉 陽子³、豊田 雅士³、安形 清彦¹、富永 大介¹、木下 聖子²、久野 敦¹

1. 産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門、2. 創価大学 糖鎖生命システム融合研究所、3. 東京都健康長寿医療センター研究所 老年病態研究チーム

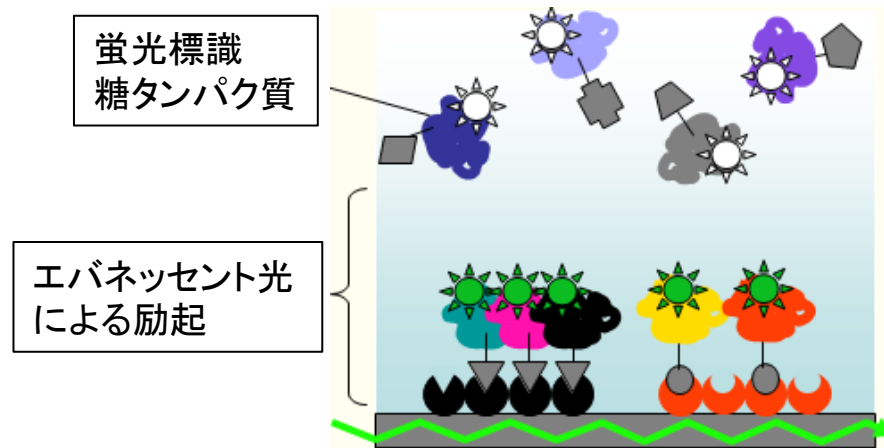


- レクチンマイクロアレイ(LMA)は、試料中の糖タンパク質上糖鎖の構造的特徴を迅速かつ簡便に取得する糖鎖解析技術である。本技術をレーザーマイクロダイセクション(LMD)と組合せることで、組織切片上の微小領域に発現する糖タンパク質の糖鎖プロファイリング法を確立した。
- LM-GlycomeAtlasは、本技術により取得できる「組織グライコームマップ」データの視覚的理解と利活用促進のため開発したウェブツールである。本ウェブツールは、日本糖質学会により公式認定された糖鎖科学ポータル GlyCosmos Portalにて公開している。
- 本発表では、Ver.2.0のインターフェースを活用し、加齢に伴う心臓における糖鎖変化を示すデータを追加したので報告する。

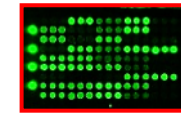
https://glycosmos.org/lm_glycomeatlas/index

レクチンマイクロアレイ(LMA)技術

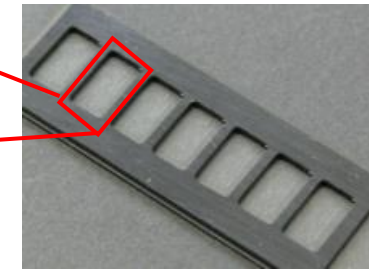
- レクチン-糖タンパク質の相互作用を数値化 (糖鎖プロフィール)
- エバネッセント波励起型スキャナーによる検出 → 高感度な分析 (サブngオーダーの糖タンパク質)
- 糖タンパク質から糖鎖を遊離させる必要がない → 迅速かつ簡便に分析可能
- タンパク質上のN型・O型糖鎖の両方を分析可能



45種のレクチン



レクチンアレイチップ
(LecChip)



アレイスキャナー
(GlycoStation Reader)



試料中の糖タンパク質上糖鎖の構造的特徴を迅速かつ簡便に取得する糖鎖解析技術

Kuno et al. Nat Methods (2005)

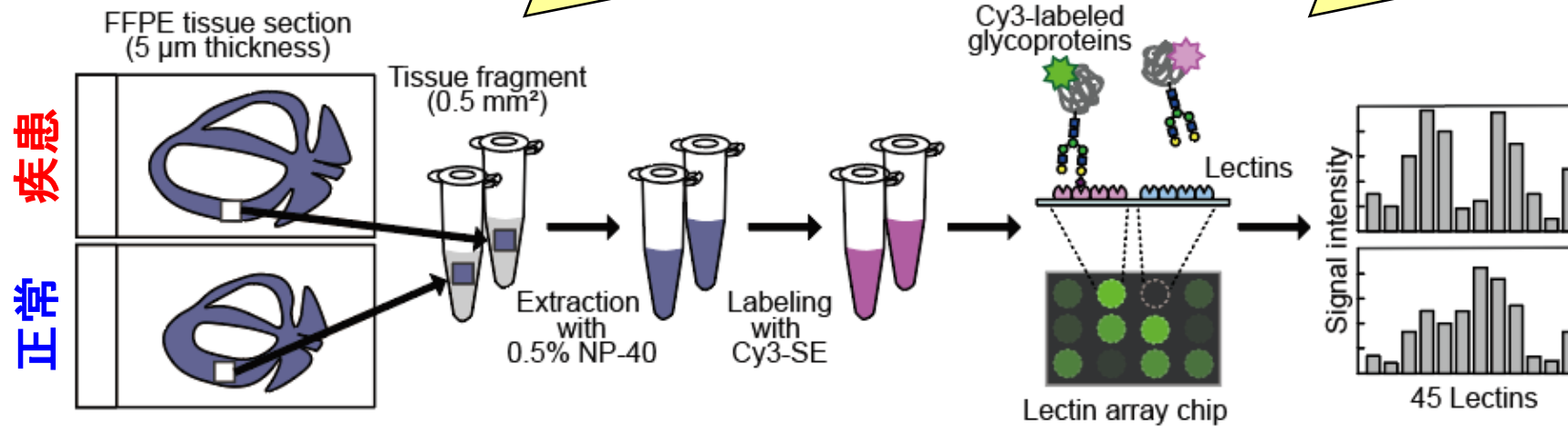
LMA技術による組織糖鎖プロファイリング



レーザーマイクロダイセクション(LMD)
による組織片の回収



レクチンマイクロアレイ(LMA)
による比較糖鎖プロファイリング



組織切片上の微小領域(5 μm 厚、 $>0.1 \text{ mm}^2$)に発現する糖タンパク質の糖鎖プロファイリング法を確立

Zou*, Yoshida*, Nagai-Okatani* *et al. Sci Rep* (2017)

Nagai-Okatani *et al. Int J Mol Sci* (2019)

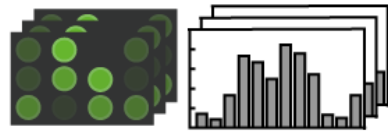
Nagai-Okatani *et al. Methods Mol Biol* (2022)

組織糖鎖の“見える化”ツール: LM-GlycomeAtlas

Laser microdissection



Lectin microarray



Lectin histochemistry

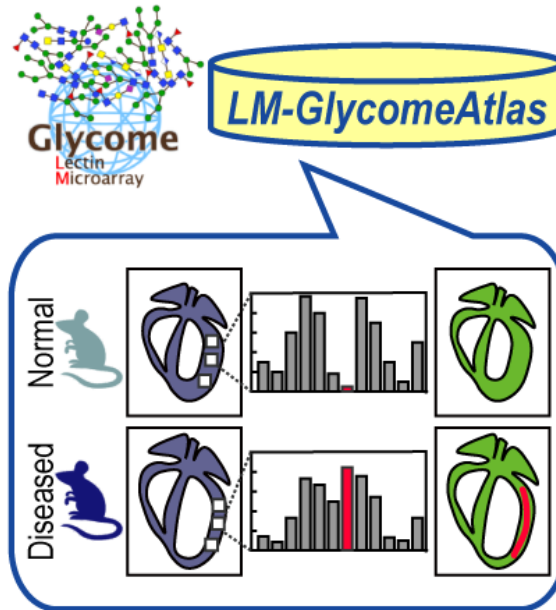


Image

Data

Image

“Tissue glycome mapping”



523

- 組織糖鎖解析データを視覚的に理解するためのウェブツール
- 最新版 (Ver.2.1) では、マウス14組織の500以上のLMAデータと42の組織染色画像が閲覧可能

Last update: March 28, 2022

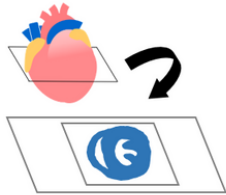
new window									
Check			☒	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Reference			1	2	3	3	4	4	4
No. of mice			2	2	3	3	3	3	3
No. of images					21	21			
TissueID	TissueName	No. of Data (Total)	Normal C57BL/6J	Normal C57BL/6J	Normal	Disease (DCM)	Normal (2 m)	Normal (14 m)	Normal (23 m)
1	Brain	78		78					
2	Cornea	0							
3	Heart	69	42		12	15	24	24	24
4	Kidney	48		48					
5	Colon	24	24						
6	Liver	24		24					
7	Lung	18	18						
8	Lymph Node	0							
9	Ovaries	0							
10	Pancreas	30	30						
11	Skin	18	18						
12	Small Bowel	60	60						
13	Spleen	16		16					
14	Testis	24		24					
15	Thymus	12	12						
16	Serum	0							
17	Stomach	24	24						
18	Gallbladder	6	6						
	Total	523	234	190	12	15	24	24	24

Narimatsu et al. *JPR* (2018) : concept
 Nagai-Okatani et al. *Molecules* (2019) : Ver.1.0
 Nagai-Okatani et al. *JPR* (2021) : Ver.2.0

LM-GlycomeAtlas Ver.2.1における新規データ: 加齢に伴う正常マウス心臓の糖鎖プロファイル変化の解析

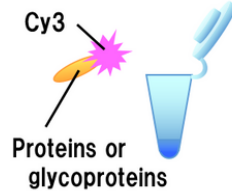
実験スキーム

Preparation of
tissue section



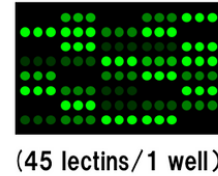
Extraction and
labeling of proteins

Cutting by laser
micro dissection



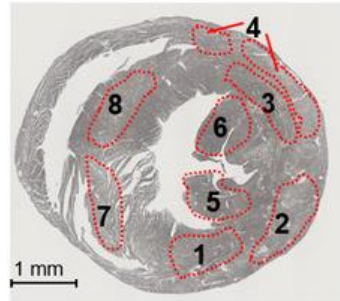
Reaction and
detection of glycans

Scanning by
lectin microarray

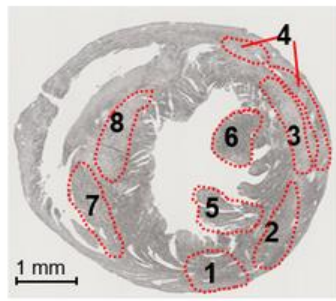


組織全体画像

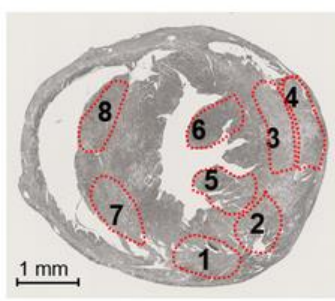
2-month-old



12-month-old

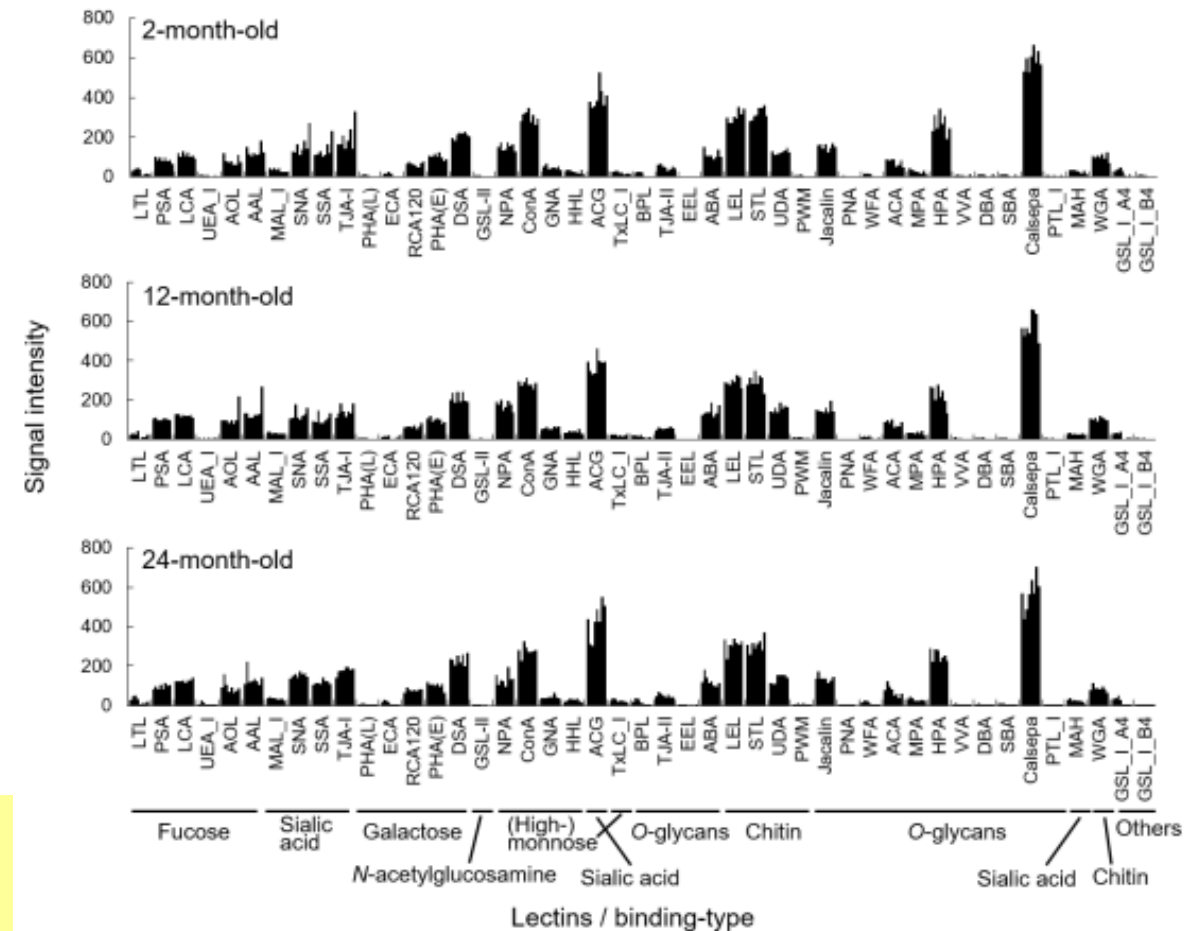


24-month-old



糖鎖を指標とした経時的な心臓組織の状態把握と機能変化の
解明を目的とし、世代の異なる正常マウス(C57BL/6NCrSlc)の
心臓組織の糖鎖プロファイルを比較評価した。

組織糖鎖プロファイル



Itakura Y et al. (preprint) <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-960240/v1>

LM-GlycomeAtlasの活用方法①

1. 組織を選択

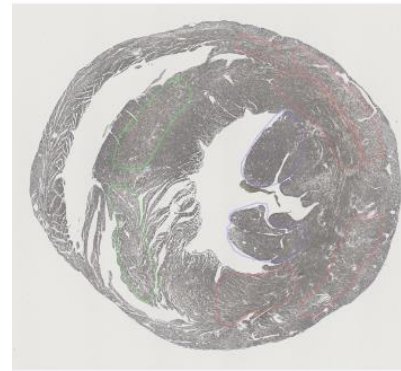
Top page



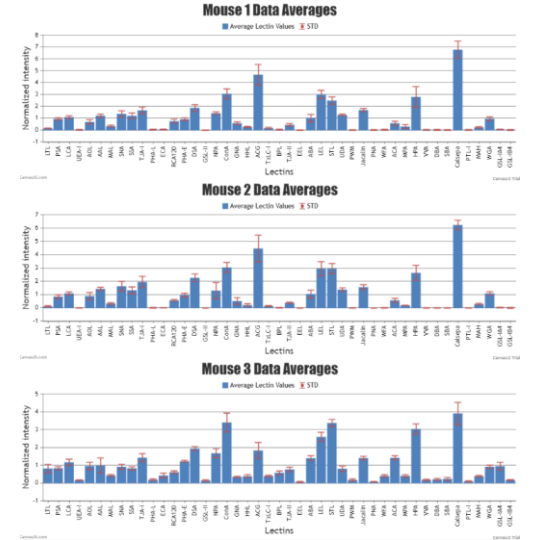
Reference		4
No. of mice		3
No. of images		
TissueID	TissueName	Normal (2 m)
1	Brain	
2	Cornea	
3	Heart	24 download
4	Kidney	
5	Colon	
6	Liver	
7	Lung	
8	Lymph Node	
9	Ovaries	
10	Pancreas	
11	Skin	
12	Small Bowel	
13	Spleen	
14	Testis	
15	Thymus	
16	Serum	
17	Stomach	
18	Gallbladder	
	Total	24

2. 部位を選択

Last update: March 28, 2022
Zoom In Zoom Out Reset



3. LMD画像・LMAデータの表示



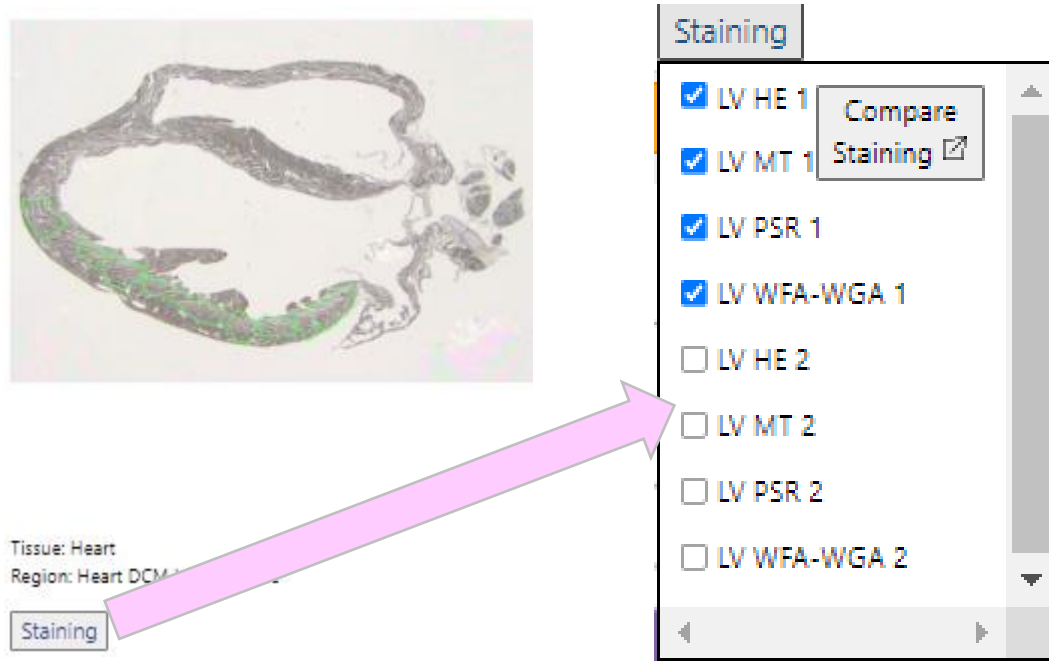
4. LMAデータのダウンロード

- LM-GlycomeAtlas画面上で、組織全体画像やLMDによる切り出し画像、LMAデータを閲覧することができる。
- また、ユーザー自身による再解析のため、LMAデータ(Excel形式)をダウンロード可能である。

	A	B	C	D	E	F	G
1	Sample Info			Lectin Microarray Condition			
2	Sample Name	Dissected	Duration (s)	Analyzed (s)	LecChip Lot No.	Exposure	Gain
3	Mouse TMI1_Sample1	1006361		603817	LAA16400804	199	105
4	Mouse TMI1_Sample2	1011439		606863	LAA16400804	199	115
5	Mouse TMI1_Sample3	1004115		602469	LAA16400805	199	115
6	Mouse TMI1_Sample4	1006750		604050	LAA16400805	199	115
7	Mouse TMI1_Sample5	951480		570888	LAA16400806	199	115
8	Mouse TMI1_Sample6	696046		417628	LAA16400806	199	125
	Whole section_info(TMIG)_01			Sample_Info(TMIG)_01		Lectin array data(TMIG)_01	

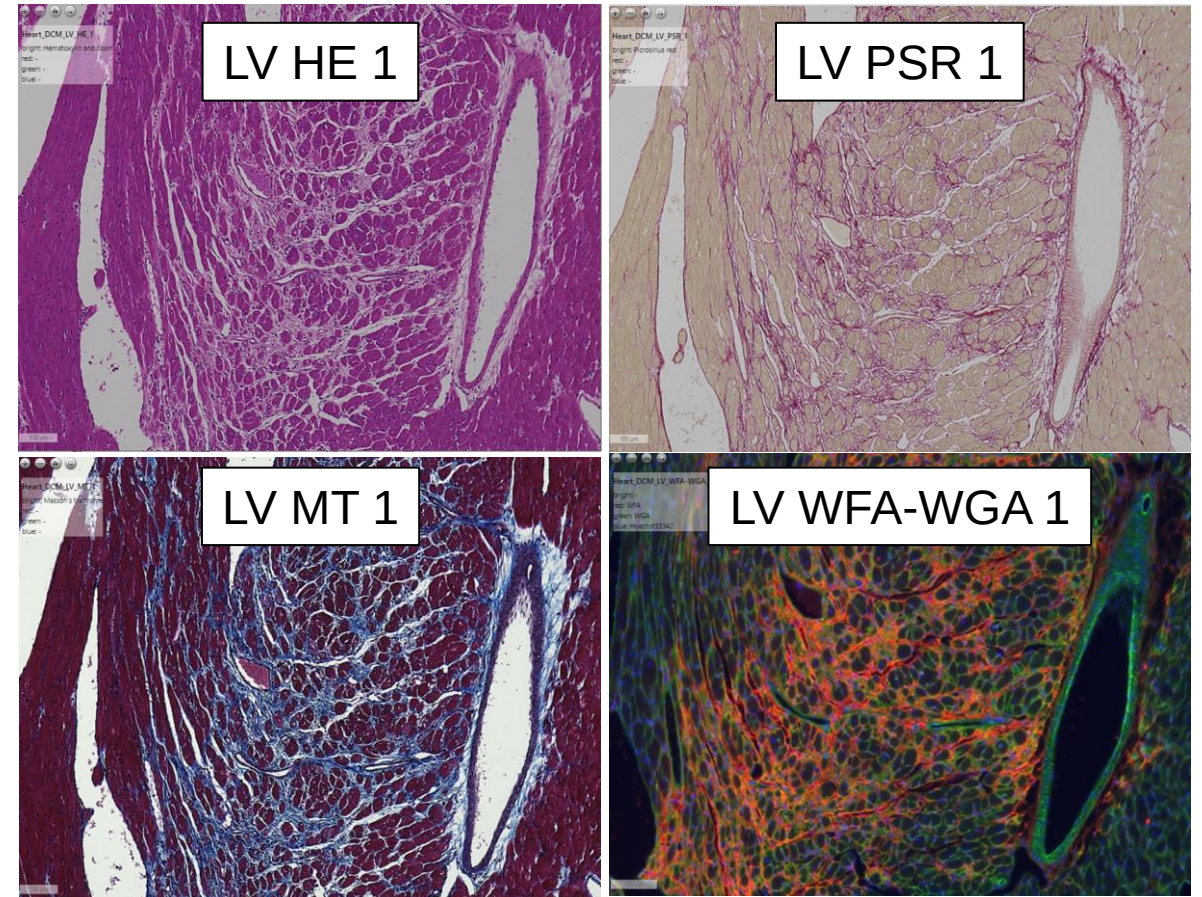
LM-GlycomeAtlasの活用方法②

5. 染色画像データの選択



また、レクチン染色など各種染色法により染色した組織切片の画像データ(拡大縮小可能)を高解像度で表示可能である。

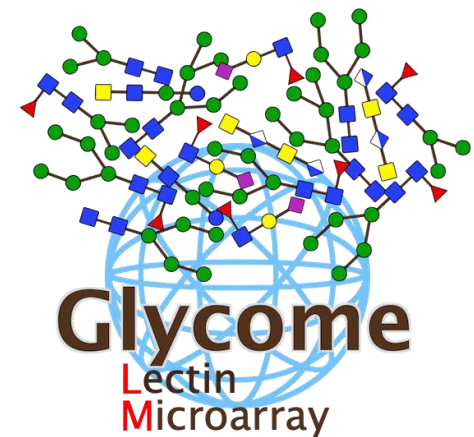
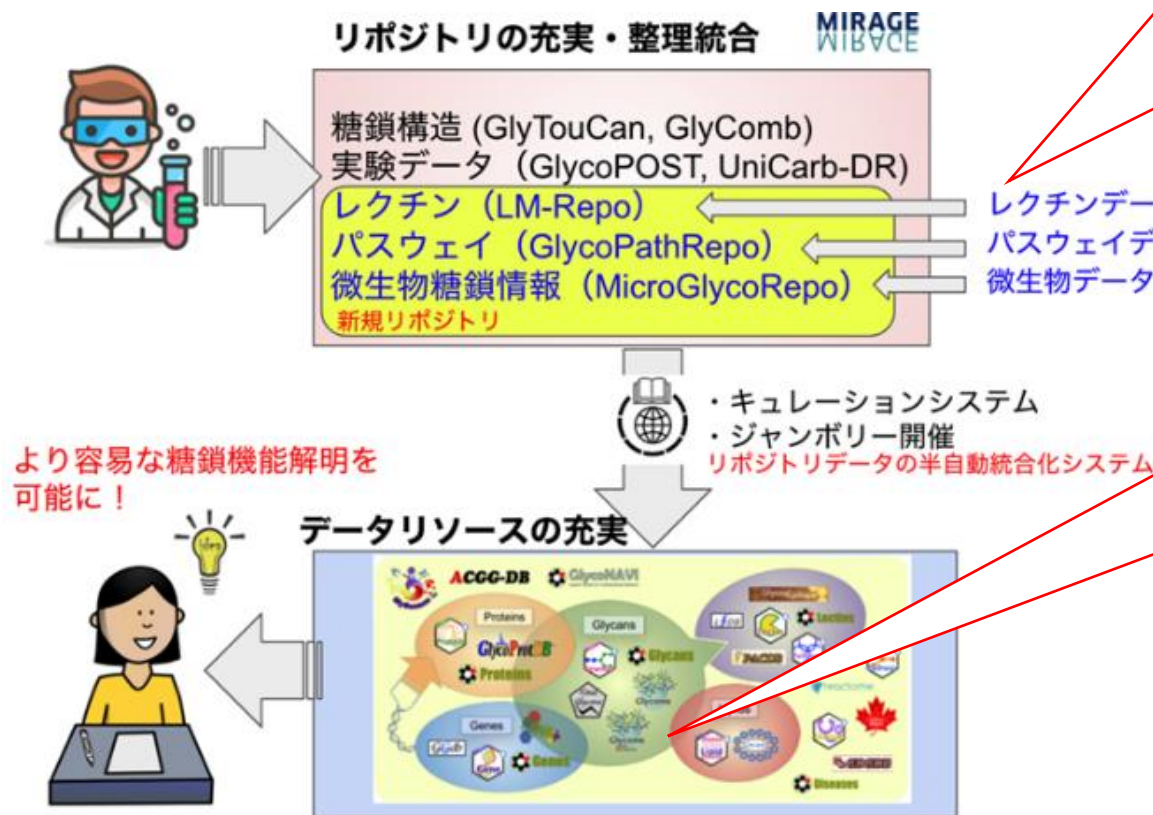
6. 選択した画像データの表示



今後の展開について

今後、新規リポジトリシステムの開発と並行して、LMAに限らず、レクチンを活用した糖鎖解析手法で取得したデータも表示可能なツールとして、本データベースを拡張させていきたい。

現状は組織レクチンアレイデータのみ
→別手法で取得したデータも追加可能に



Lectin-based
Multimodality

謝辞

本研究は、科学技術振興機構（JST）、NBDC事業推進部ライフサイエンスデータベース統合推進事業「統合化推進プログラム」の助成を受けています。



参考文献

References

Lectin microarray technology

- 1.Kuno A, Uchiyama N, Koseki-Kuno S, Ebe Y, Takashima S, Yamada M, Hirabayashi J. Evanescent-Field Fluorescence-Assisted Lectin Microarray: A New Strategy for Glycan Profiling. Nat. Methods 2(11):851-856, 2005. <https://doi.org/10.1038/nmeth803>.
- 2.Hirabayashi H, Yamada M, Kuno A, Tateno H. Lectin microarrays: concept, principle and applications. Chem. Soc. Rev. 42(10):4443-4458, 2013. <https://doi.org/10.1039/c3cs35419a>
- 3.T Hiono, C Nagai-Okatani, A Kuno. Application of Glycan-Related Microarrays. Comprehensive Glycoscience (Second Edition) 4:134-148, 2021. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819475-1.00059-6>

Tissue glycome mapping technology

- 1.Matsuda A, Kuno A, Ishida H, Kawamoto T, Shoda J, Hirabayashi J. Development of an all-in-one technology for glycan profiling targeting formalin-embedded tissue sections. Biochem Biophys Res Commun 370(2):259-63, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.03.090>
- 2.Zou X, Yoshida M, Nagai-Okatani C, Iwaki J, Matsuda A, Tan B, Hagiwara K, Sato T, Itakura Y, Noro E, Kaji H, Toyoda M, Zhang Y, Narimatsu H, Kuno A. A standardized method for lectin microarray-based tissue glycome mapping. Sci Rep 7:43560, 2017. <https://doi.org/10.1038/srep43560>
- 3.Narimatsu H, Kaji H, Vakhrushev S Y, Clausen H, Zhang H, Noro E, Togayachi A, Nagai-Okatani C, Kuno A, Zou X, Cheng L, Tao SC, Sun Y. Current Technologies for Complex Glycoproteomics and Their Applications to Biology/Disease-Driven Glycoproteomics. J. Proteome Res. 2018, 17 (12), 4097–4112. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.8b00515>
- 4.Nagai-Okatani C, Aoki-Kinoshita KF, Kakuda S, Nagai M, Hagiwara K, Kiyohara K, Fujita N, Suzuki Y, Sato T, Angata K and Kuno A. LM-GlycomeAtlas Ver. 1.0: A Novel Visualization Tool for Lectin Microarray-Based Glycomic Profiles of Mouse Tissue Sections. Molecules 24(3):486, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24162962>
- 5.Nagai-Okatani C, Zou X, Fujita N, Sogabe I, Arakawa K, Nagai M, Angata K, Zhang Y, Aoki-Kinoshita KF, Kuno A. LM-GlycomeAtlas Ver. 2.0: An Integrated Visualization for Lectin Microarray-based Mouse Tissue Glycome Mapping Data with Lectin Histochemistry. J Proteome Res 20(4):2069-2075, 2021. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c00907>
- 6.Nagai-Okatani C, Zou X, Matsuda A, Itakura Y, Toyoda M, Zhang Y, Kuno A. Tissue Glycome Mapping: Lectin Microarray-Based Differential Glycomic Analysis of Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue Sections. Methods Mol Biol 2460:161-180, 2022. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2148-6_10

Tissue glycomic profiling dataset (References in the chart)

- 1.Nagai-Okatani C, Aoki-Kinoshita KF, Kakuda S, Nagai M, Hagiwara K, Kiyohara K, Fujita N, Suzuki Y, Sato T, Angata K and Kuno A. LM-GlycomeAtlas Ver. 1.0: A Novel Visualization Tool for Lectin Microarray-Based Glycomic Profiles of Mouse Tissue Sections. Molecules 24(3):486, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24162962>
- 2.Zou X, Yoshida M, Nagai-Okatani C, Iwaki J, Matsuda A, Tan B, Hagiwara K, Sato T, Itakura Y, Noro E, Kaji H, Toyoda M, Zhang Y, Narimatsu H, Kuno A. A standardized method for lectin microarray-based tissue glycome mapping. Sci Rep. 7:43560, 2017.
- 3.Nagai-Okatani C, Nishigori M, Sato T, Minamino N, Kaji H, Kuno A. Wisteria Floribunda Agglutinin Staining for the Quantitative Assessment of Cardiac Fibrogenic Activity in a Mouse Model of Dilated Cardiomyopathy. Lab Invest. 99(11):1749-1765, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41374-019-0279-9>
- 4.Itakura Y, Hasegawa Y, Kikkawa Y, Murakami Y, Nagai-Okatani C, Norihiko Sasaki N, Mariko Umemura M, Takahashi Y, Kimura T, Kuno A, Ishiwata T, Toyoda M. Spatiotemporal Changes of Tissue Glycans Depending on Localization in Cardiac Aging. (preprint; 18 Oct, 2021) <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-960240/v1>

Other applications for glycobiomarker discovery

- 1.Matsuda A, Kuno A, Kawamoto T, Matsuzaki H, Irimura T, Ikehara Y, Zen Y, Nakanuma Y, Yamamoto M, Ohkohchi N, Shoda J, Hirabayashi J, Narimatsu H. Wisteria Floribunda Agglutinin-Positive Mucin 1 Is a Sensitive Biliary Marker for Human Cholangiocarcinoma. Hepatology 52(1):174-182, 2010. <https://doi.org/10.1002/hep.23654>
- 2.Hirao Y, Matsuzaki H, Iwaki J, Kuno A, Kaji H, Ohkura T, Togayachi A, Abe M, Nomura M, Noguchi M, Ikehara Y, Narimatsu H. Glycoproteomics Approach for Identifying Glycobiomarker Candidate Molecules for Tissue Type Classification of Non-Small Cell Lung Carcinoma. J. Proteome Res 13(11):4705-4716, 2014. <https://doi.org/10.1021/pr5006668>
- 3.Yamashita K, Kuno A, Matsuda A, Ikehata Y, Katada N, Hirabayashi J, Narimatsu H, Watanabe M. Lectin Microarray Technology Identifies Specific Lectins Related to Lymph Node Metastasis of Advanced Gastric Cancer. Gastric Cancer 19(2):531-542, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10120-015-0491-2>
- 4.Wagatsuma T, Nagai-Okatani C, Matsuda A, Masugi Y, Imaoka M, Yamazaki K, Sakamoto M, Kuno A. Discovery of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma-Related Aberrant Glycosylations: A Multilateral Approach of Lectin Microarray-Based Tissue Glycomic Profiling with Public Transcriptomic Datasets. Front. Oncol. 10:338, 2020. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00338>

Last update: March 28, 2022