



In vitro safety screening

Axcelead Drug Discovery Partners, Inc.
Safety Business Unit
Safety Site Lead

中西 豊

2024/2/5

In vitro safety screening

Axceleadの強み

- 適応症等を考慮し、化合物の特性に応じた安全性評価戦略の立案及びサポート
- 創薬の必要事項を満たしたサービスを提供
品質、スピード、コスト（化合物量含む）
高品質：最新のサイエンス/ガイドライン/バリデーション/解決策提案
- 各評価系単体での委託も可能



各試験の必要量、試験実施状況

試験名称	必要量 (10 mM DMSO or 粉 末)	頻度	キャパシティー (化合物数/試験)
▶ Glu/Gal 細胞毒性 (24hr)	21 µL	weekly	320
▶ Glu/Gal 細胞毒性 (24hr, 72hr)	35 µL	weekly	100+α 要相談
▶ ミトコンドリア毒性(Flux analyzer)	30 µL	weekly	8
▶ リン脂質蓄積	35 µL	weekly	40
▶ hERG(SyncroPatch)	21 µL	weekly	280
▶ Nav1.5 or Cav1.2(SyncroPatch)	29 µL	by request	24
▶ Nav1.5 Late&Peak(SyncroPatch)	45 µL	by request	18
▶ MEA(hiPS-心筋細胞)	5 mg	by request	5
▶ Promiscuity panel	20 µL	weekly	39
▶ Micro-Ames (2菌株)	6 mg	bi-weekly	6
▶ Micro-Flow (TK6 細胞)	6 mg	weekly	4
▶ Multi-Flow DNA 損傷(S9-)	6 mg	by request	4
▶ 3T3 NRU 光毒性	2 mg/100 µL	bi-weekly	7
▶ HT-Cytotox assay ONT	20 µL (100 µM)	by request	80
▶ Cytokine Assay_ONT	30 µL (500 µM)	by request	12

In vitro safety screening

Hit to Lead

Lead optimization to CN/CS

GLP/non-GLP

一般毒性

On-/Off-target TOX

Target Safety Assessment
HepG2 Cytotox (Glu/Gal & Mitochondria)
Promiscuity 8 panels , Phospholipidosis

遺伝毒性

KILLER TOX

Micro-Ames
Micro-Flow & Multi-Flow

Ames MN

安全性薬理

QT prolongation & TdP

hERG
hERG-Cav-Nav

Beyond hERG
S7B Q & A

hiPS-CMs
MEA / Ca transient

その他

3T3 NRU photo-toxicity
(UV/Vis abs spectra & ROS)

ニューモダリティー／細胞治療

General toxicity
Genotoxicity
Safety pharmacol
Miscellaneous

Rep & Develop tox
Carcinogenicity

Target Safety Assessment (TSA)

TSAは意図しない副作用の可能性を調査し、安全性評価戦略/リスク軽減計画を提供します。

TSAを構成する要素

- ・ターゲットの生物学的役割の情報
- ・ヒトと実験動物種間での遺伝子及びタンパク質配列の相同性
- ・組織分布と発現
- ・生物学的相互作用とパスウェイ経路
- ・疾患または病理学的関連性
- ・ノックアウトまたはトランスジェニックモデルの表現型
- ・競合薬における前臨床または臨床所見
- ・**安全性スクリーニングと脱リスク戦略立案**

適切な動物種
注意すべき臓器・毒性
効果的な安全性スクリーニング

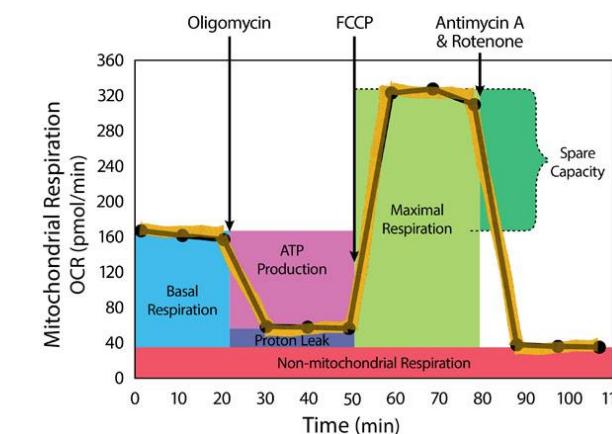
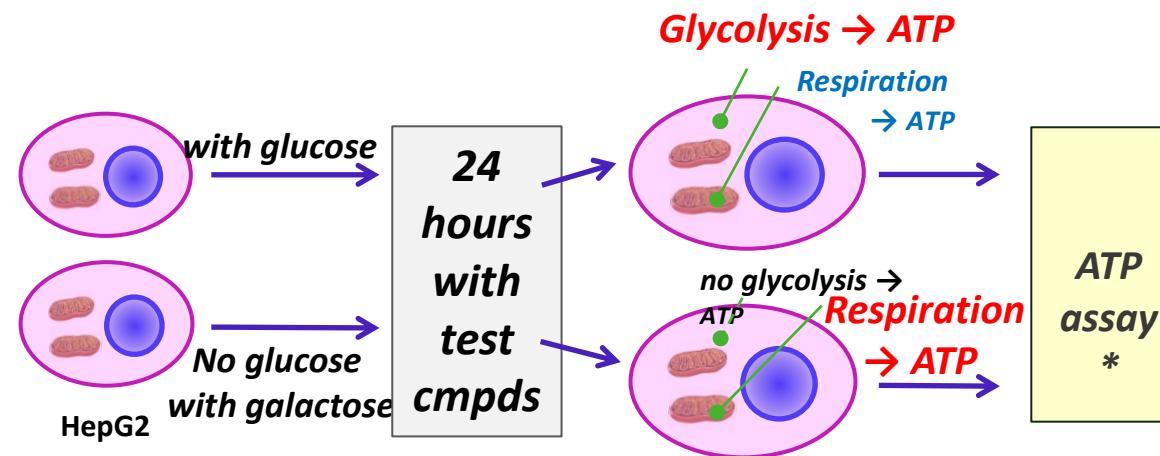
細胞毒性試験 (HepG2): ATP assay and FluxAnalyzer assay

■Cytotoxicity (Glu/Gal 24hr and Glu 72hr) assay

グルコース培地とガラクトース培地それぞれに馴化した2種類のHepG2 細胞
ATP指標：細胞毒性/特異的ミトコンドリア毒性を検出

■Cytotoxicity focusing on Mitochondria toxicity (FluxAnalyzer)

FluxAnalyser (OCR)とHepG 2 細胞
ATP産生時の酸素消費を指標：高感度にミトコンドリア毒性を検出

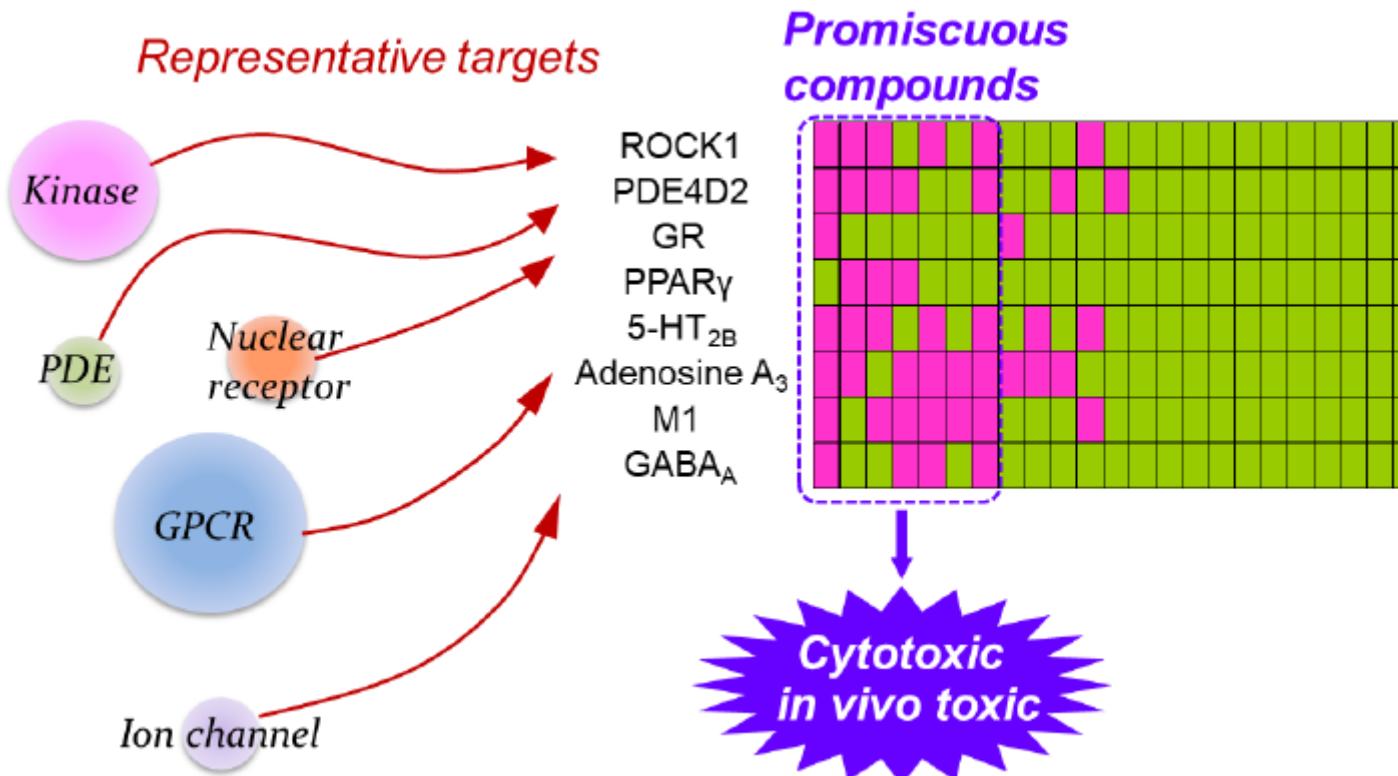


*CellTiter-Glo® Assay (Promega KK) with EnVision (PerkinElmer Co., Ltd)

Promiscus 8 Panel : コンセプト

目的とする標的以外の標的 (Off-target) をさわらない化合物を選抜するために行う試験

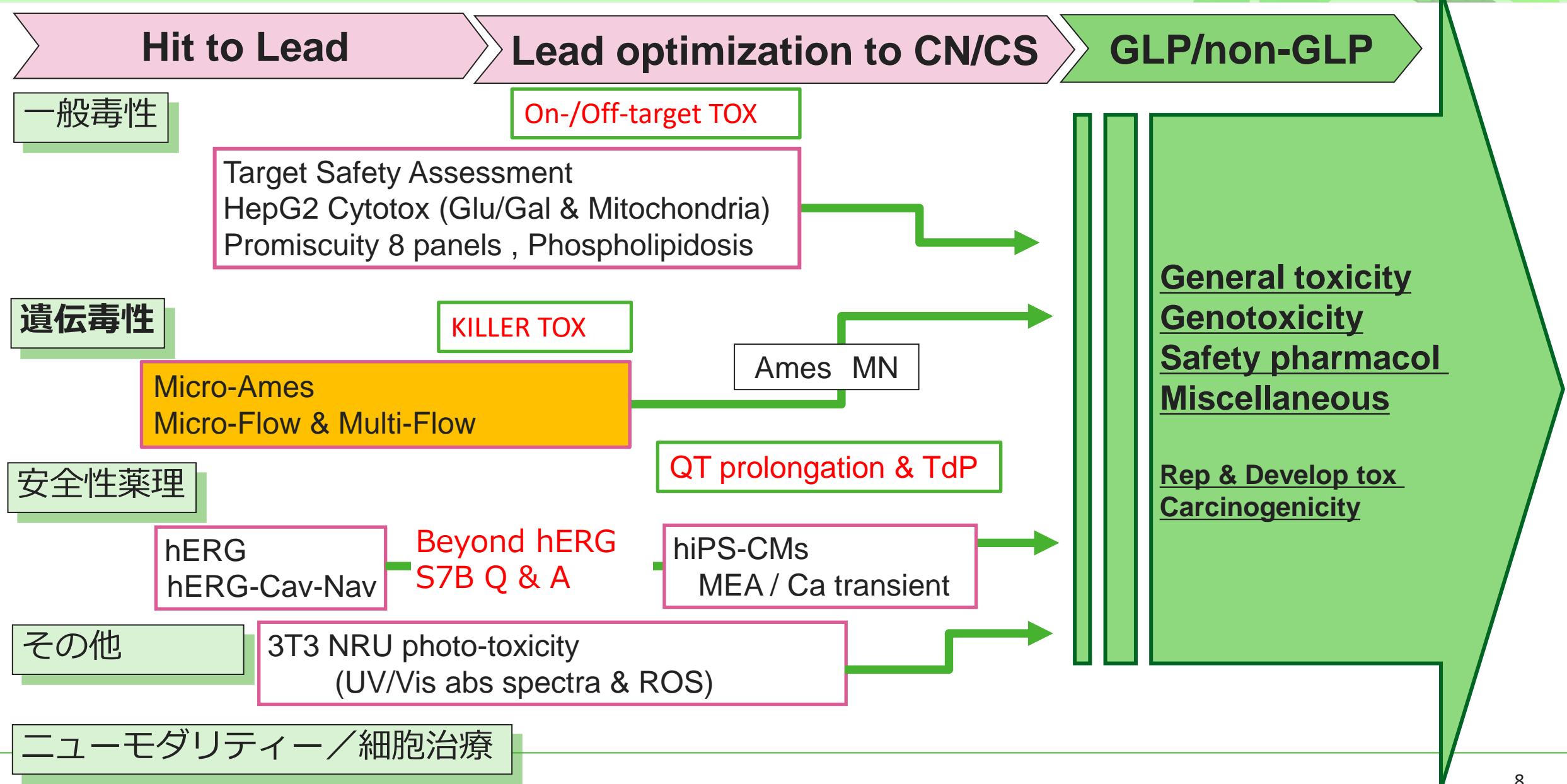
- ・化合物の非特異的相互作用を検出
- ・様々なgene family からターゲットを選抜することで、GPCR メインのパネル試験よりも幅広く化合物の Promiscuity を評価する。



- ・GPCRは全ゲノムの4%に過ぎない (800/20,000ゲノム)
- ・塩基性のみならず、中性／酸性化合物も評価すべき

(T.Sameshima et al., Chem. Res. Toxicol., 2019)

In vitro safety screening

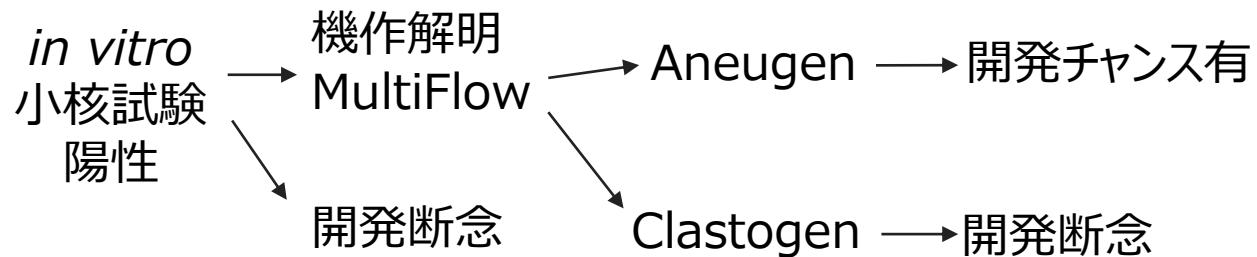


Axcelead: スクリーニング遺伝毒性試験の特徴

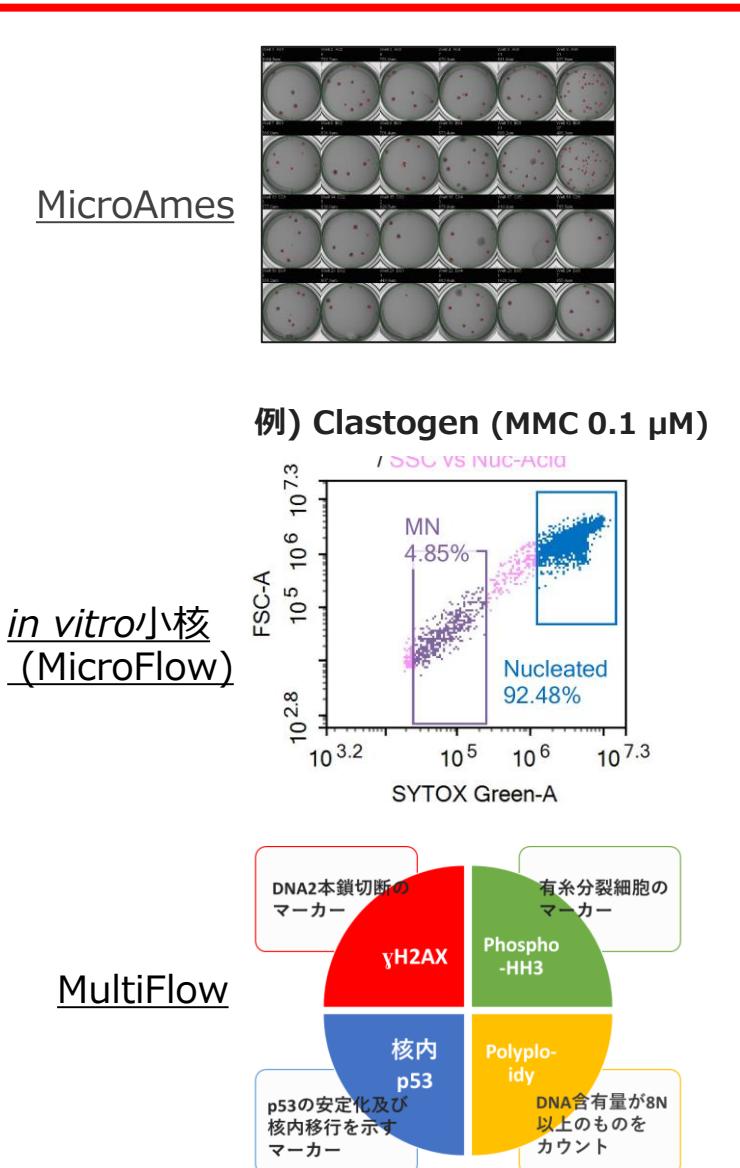
- ✓ 少量かつ迅速に化合物の遺伝毒性ポテンシャルを評価

	標準的な 遺伝毒性試験 必要検体量	Axcelead Screening 遺伝毒性試験 必要検体量
細菌を用いる復帰 変異試験 (2菌株)	100 mg	MicroAmes : 6 mg
<i>In vitro</i> 小核試験	50 mg	MicroFlow : 6 mg
合計	150 mg	12 mg

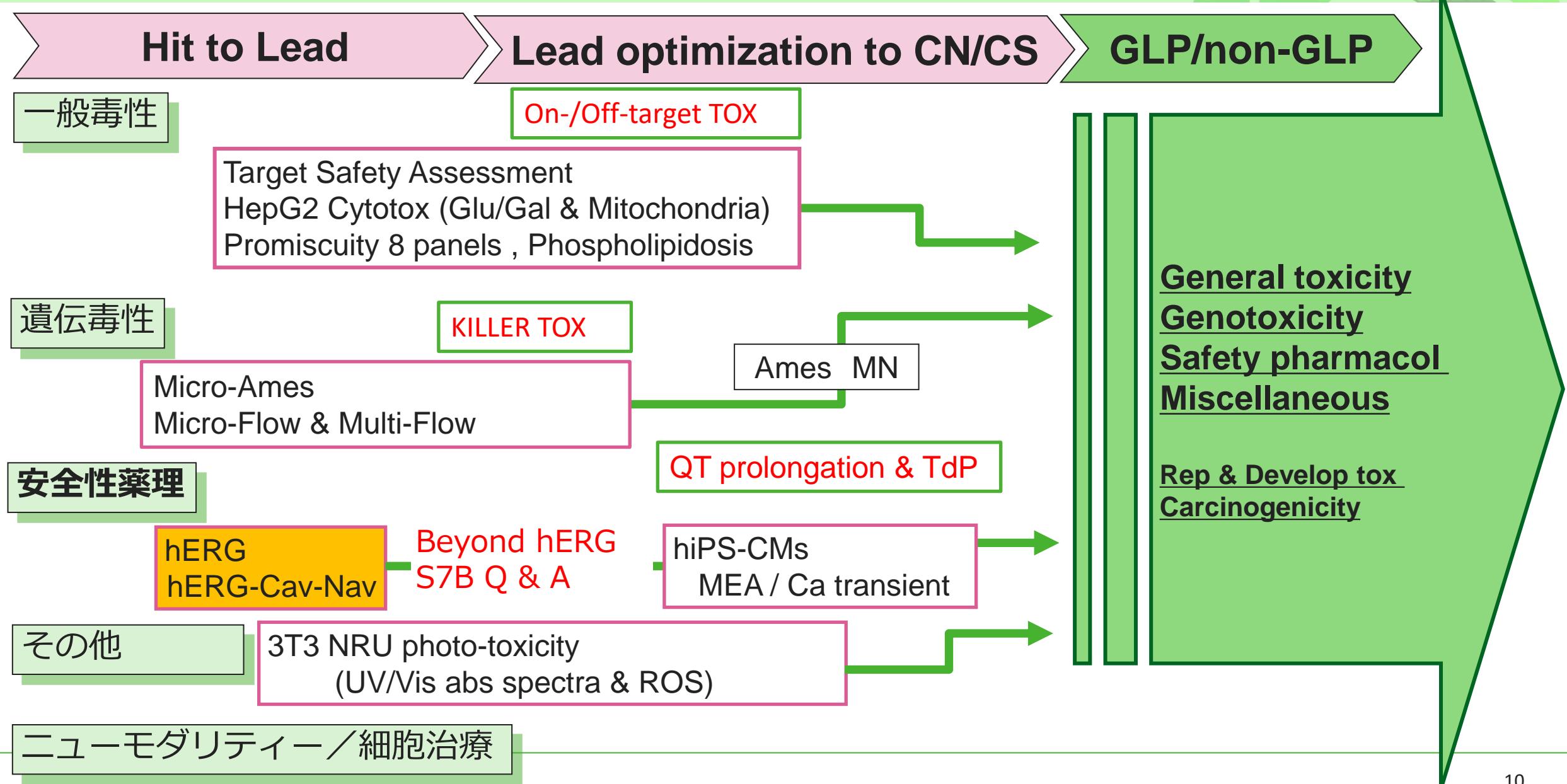
- ✓ 小核陽性機序解明により新たな開発戦略を提案



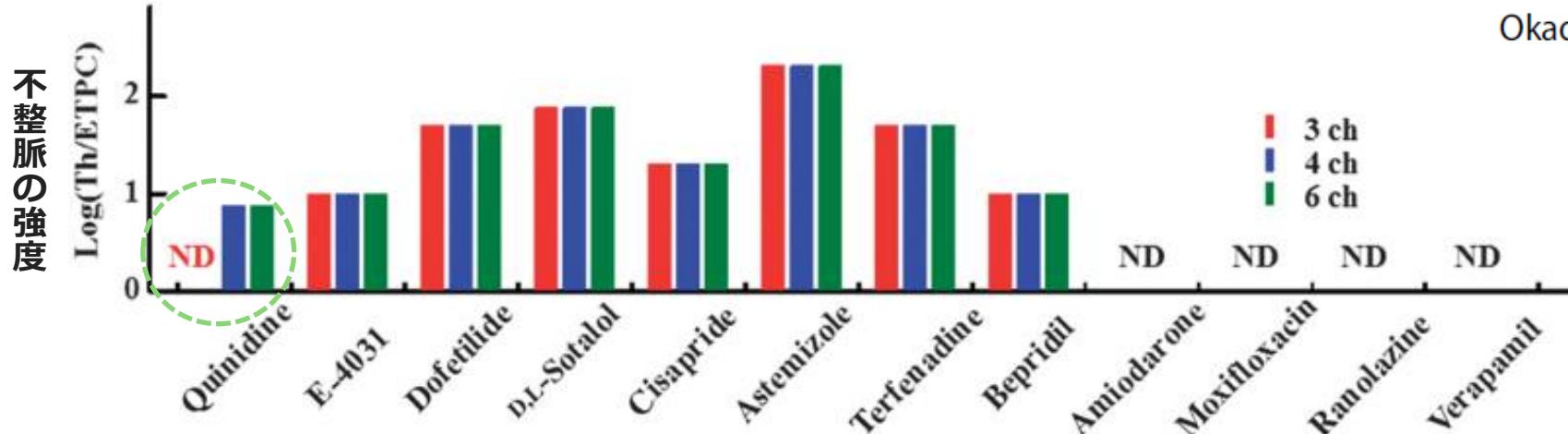
➤ 必要量の低減及びスループットの向上により、早期での遺伝毒性評価を実現
後期開発ステージでの遺伝毒性評価戦略立案をサポート



In vitro safety screening



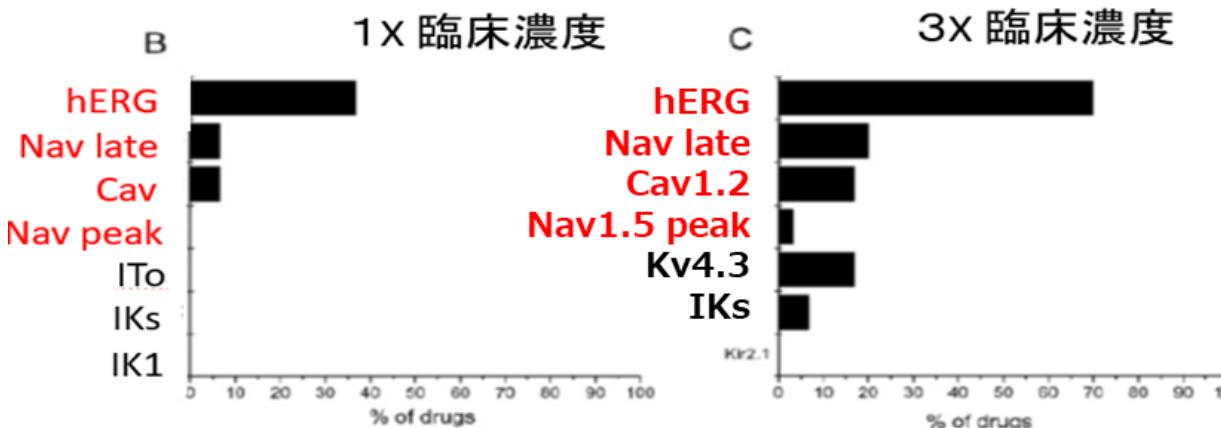
不整脈予測に有用なチャネル数は？？



Okada et al. Sci. Adv. 2015;1:e1400142

3Ch: hERG, Nav(peak), Cav
4Ch: 3Ch + IKs
6Ch: 3Ch + IKs, IK1, Ito

- スクリーニングでは hERG, Nav, Cav の評価で不整脈リスク予測にはほぼ取りこぼしがない



hERG阻害がみられても…
Nav1.5 LateやCav1.2に阻害があると
QT延長が相殺されるケースあり

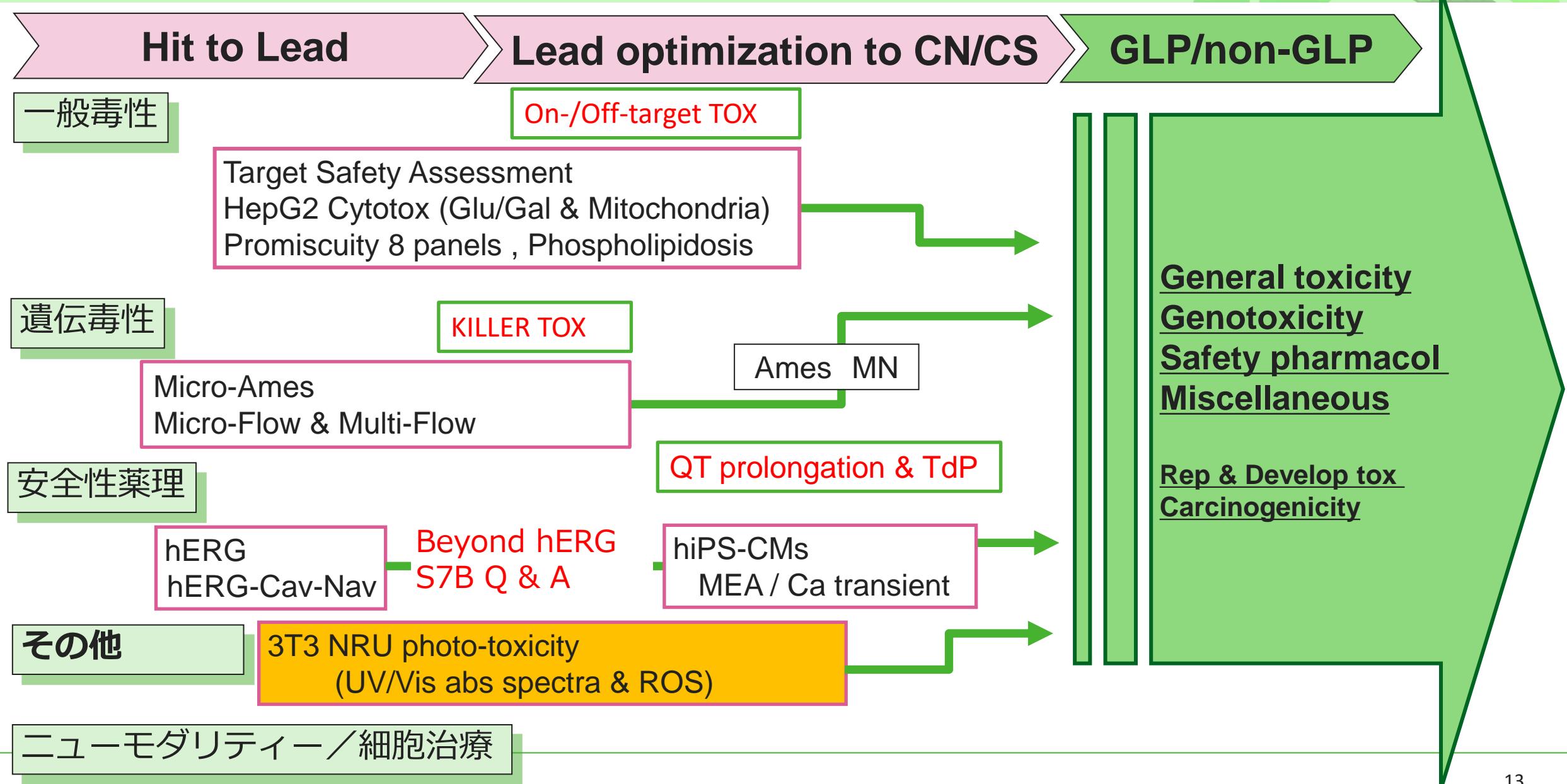
Crumb Jr et al., J Pharmacol Toxicol Methods 2016; 251-262

- 臨床濃度3倍で評価された結果から、4ch評価で大多数の化合物リスク予想が可能と判断

4チャネルアッセイの特徴は？

	hERG	Cav1.2	Nav1.5 peak	Nav1.5 Late & Peak
細胞	CHO DUO (B'SYS)	HEK-Cav1.2 (SBDD)	HEK-Nav1.5 (SBDD)	
	Frozen stock	Frozen stock	Frozen stock	
測定記録法 (機器)	陰圧ホールセル (SyncroPatch)			
Hall/plate	4 x S-type	4 x High	4 x Medium	4 x S-type
パルスプロトコール (CiPA推奨)	-80, +40, -80mV (step-ramp)	-80, 0, -80 mV (step-ramp)	-95, -15 , -95 mV (step-ramp)	
刺激頻度と回数	1回/5 sec、60 回		1回/10 sec、30回	
增幅剤ATX-II (濃度)	添加なし			添加あり (50 nM)
成功確率	>85%	>65%	>80%	>70%
評価濃度/適用	4 濃度、累積		4濃度、単回	
化合物暴露時間 /DMSO濃度	5分×4 (0.3-0.4%)		5分 (0.3%)	
評価項目 Throughput	阻害率, IC ₅₀ , Hill 係数, (70 cmpds/plate)		阻害率, IC ₅₀ , Hill 係数 (16 cmpds/plate)	阻害率, IC ₅₀ , Hill 係数 (14 cmpds/plate)
評価n数	5		6	5
			8	

In vitro safety screening



Axceleadの光安全性評価メニュー

医薬品開発に最適化した光安全性評価メニューを用意、
お客様のニーズに合わせたサービスをご提供

- Axceleadでは、ICH S10のガイダンスで規定されている光毒性試験を幅広くカバーしており、複数の委託先を使い分ける必要がありません。
- スクリーニング向けに試験内容をスリム化、作業を一部自動化することにより、リーズナブルな価格でご提供可能です。



疑似太陽光照射装置

SXL-3000V2
(セリック株式会社)

光毒性の
初期評価

光毒性の
実験的評価

- **光化学的特性**

- 紫外可視吸収スペクトル

- **化学的試験法による光反応性検査**

- ROS (reactive oxygen species) アッセイ

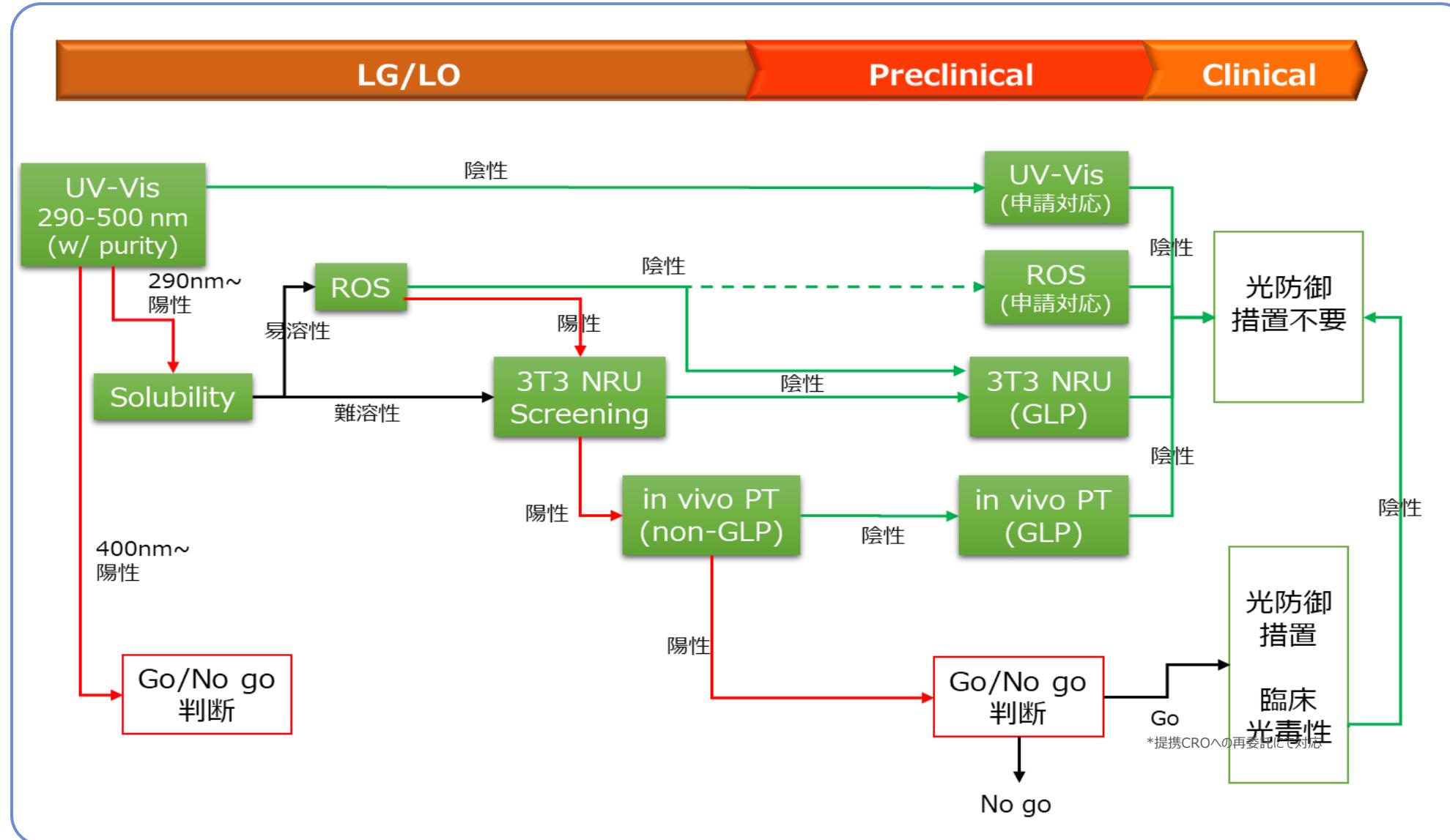
- **In vitro光毒性試験系**

- 3T3 ニュートラルレッド取り込み法 (3T3 NRU PT)

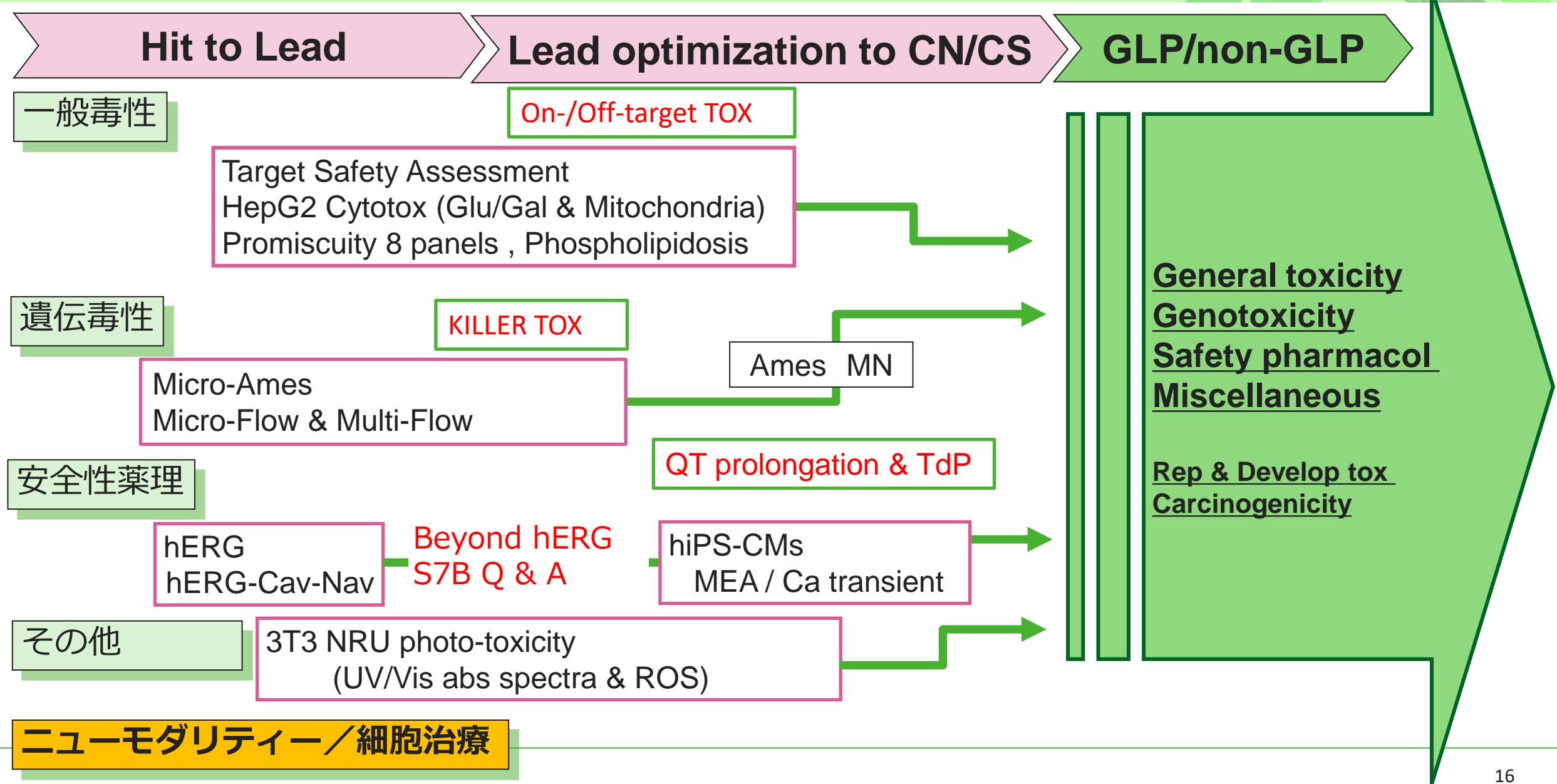
- **In vivo光毒性試験系**

- マウス (ヘアレスマウス)
- ラット (SDラット, Long-Evansラット等)

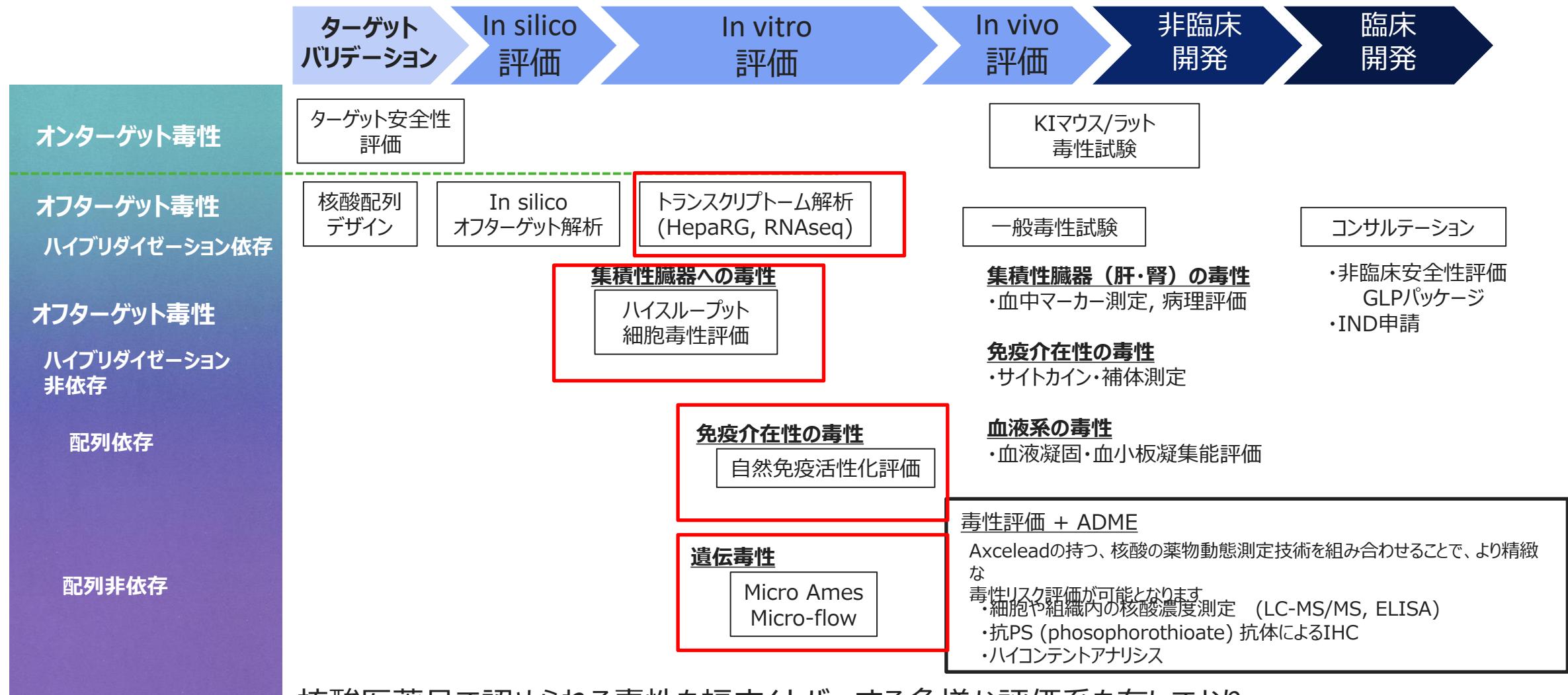
光安全性評価フローの一例



In vitro safety screening



核酸医薬品の安全性試験メニュー



核酸医薬品で認められる毒性を幅広くカバーする多様な評価系を有しており、より毒性が少なく効果の高い核酸のデザイン・選択に貢献します。

In vitro safety screening

Axceleadの強み

- 適応症等を考慮し、化合物の特性に応じた安全性評価戦略の立案及びサポート
- 創薬の必要事項を満たしたサービスを提供
品質、スピード、コスト（化合物量含む）
高品質：最新のサイエンス/ガイドライン/バリデーション/解決策提案
- 各評価系単体での委託も可能

品質、スピード、コスト意識を
バランスよく組み入れた
Axceleadの in vitro safety screening
を是非ご活用ください

