

統合生物

試験メニュー

薬理試験、癌領域

1

---【in vitro試験】---

- ▶ がん細胞を用いた評価試験
 - ・がん細胞パネル (増殖・浸潤・遊走性評価)
 - ・3次元培養(スフェロイド培養、ソフトアガー培養)
 - ・併用効果評価試験
- ▶ がん免疫関連評価試験
 - ・T細胞 細胞傷害性評価/ 抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 活性評価
- ▶ ターゲット評価、作用機作解析、バイオマーカー解析

---【in vivo試験】---

- ▶ 抗腫瘍効果評価試験
- ▶ IMISによる薬効薬理試験
- ▶ ターゲットエンゲージメント、PK/PD解析
- ▶ 腫瘍浸潤リンパ球解析
- ▶ 免疫不全モデル (Xenograft model)
 - ・各種ヒトがん細胞株/ 患者腫瘍組織移植 (PDx) モデル
 - ・皮下移植/ 同所移植/ 転移/ 全身播種モデル
- ▶ 免疫正常モデル (Syngeneic model)
 - ・各種マウスがん細胞株モデル
 - ・皮下移植/ 同所移植/ 転移モデル

薬理試験、免疫疾患領域

2

---【in vitro試験】---

- ▶ 初代培養細胞や全血におけるサイトカイン産生、シグナル活性化、細胞画分の解析
- ▶ T細胞、B細胞等の増殖試験
- ▶ Th1、Th17、Treg、CD8 T細胞などの分化試験
- ▶ 脾細胞、胸腺細胞、B細胞、好中球などの遊走やアポトーシス試験
- ▶ ターゲット評価、作用機作解析、バイオマーカー解析

---【in vivo試験】---

- ▶ ターゲットエンゲージメント、PK/PD解析：
サイトカイン産生や細胞内シグナル活性の測定等
- ▶ 血液、リンパ節、各種組織における免疫細胞フェノタイプング(5レーザー搭載のFACS解析)
- ▶ 抗体産生の評価
- ▶ 動物モデル
 - ・マウス炎症性腸疾患モデル
 - ・多発性硬化症モデル
 - ・関節リウマチモデル
 - ・乾癬モデル等

薬理試験、中枢疾患領域

3

---【in vitro試験】---

- ▶ 中枢性細胞の初代培養を用いたタンパク質・遺伝子発現解析

試験メニュー

---【in vivo試験】---

- ▶ 行動薬理試験(精神疾患関連の評価系)
 - ・プレパルスインヒビション試験
 - ・社会性試験
 - ・精神刺激剤誘発の過活動
- ▶ 行動薬理試験(運動機能の評価系)
 - ・握力測定
 - ・ロタロッド試験
 - ・ランニングホイールテスト
- ▶ 行動薬理試験(認知機能の評価系)
 - ・新奇物体認知試験
 - ・8-方向放射状迷路試験
- ▶ ターゲットエンゲージメント、PK/PD解析
 - ・マイクロダイアリシス
 - ・睡眠脳波の測定・解析
 - ・薬効病理解析
 - ・脳脊髄液(CSF)の採取
- ▶ 動物モデル
 - ・認知機能障害モデル(スコポラミン、MK-801)
 - ・バルプロ酸誘発自閉症モデル
 - ・Poly (I:C) による統合失調症モデル
 - ・脳内局所投与による動物モデルの作製

薬理試験、心血管疾患領域

4

---【in vitro試験】---

- ▶ 初代培養心筋細胞を用いた心肥大評価、シグナル解析
- ▶ ラット摘出灌流心(ランゲンドルフ灌流心)を用いた心機能測定
- ▶ 大動脈リング標本を用いた血管収縮/弛緩反応測定
- ▶ ターゲット評価、作用機作解析

---【in vivo試験】---

- ▶ ターゲットエンゲージメント、PK/PD解析、各種薬効評価
- ▶ CV safety評価(血圧、心機能、心電図 etc.)
- ▶ 動物モデル
 - ・虚血/再灌流障害モデル
 - ・心不全モデル
 - 心不全モデル(小動物):
心筋梗塞後心不全(MI)モデル、
大動脈狭窄(TAC)心肥大モデル etc.
 - 心不全モデル(大動物):
虚血/再灌流心不全モデル、
心筋梗塞後心不全(MI)モデル
 - 心カテーテル法による心機能測定
 - 心エコー法による心機能測定
- ▶ 高血圧モデル
- ▶ 肺高血圧モデル
- ▶ 腎症モデル(Alport syndromeマウス etc.)

薬理試験、代謝疾患領域

5

- ▶ 血糖低下/上昇、体重低下/上昇の作用機作解析

---【in vitro試験】---

- ▶ 肝星細胞/肝細胞の共培養系を用いた線維化評価
- ▶ 初代培養肝細胞/肝細胞株を用いた糖代謝シグナル解析
- ▶ 膵β細胞、脂肪細胞等の細胞株を用いた各種代謝シグナル解析
- ▶ 摘出骨格筋を用いた脂肪代謝評価
- ▶ ターゲット評価、作用機作解析、バイオマーカー解析

---【in vivo試験】---

- ▶ ターゲットエンゲージメント、PK/PD解析、各種薬効評価
- ▶ 動物モデル
 - ・非アルコール性脂肪肝炎(NASH)モデル
(高脂肪食負荷MC4R KOマウス、コリン欠乏高脂肪食負荷正常マウス、薬物誘発性線維化モデル etc.)
 - ・糖尿病モデル(小動物)
 - 糖負荷試験(GTT) / インスリン負荷試験(ITT)
 - グルコースクランプ
 - ・糖尿病モデル(大動物)
 - ・肥満モデル
 - 体組成分析(Echo-MRI)
 - 脂肪分析(X線CT装置)
 - 呼吸代謝分析(オキシマックス等流量システム)

薬理試験、消化器疾患・腸管運動領域

6

---【in vitro試験】---

- ▶ マグヌス試験

---【in vivo試験】---

- ▶ 排便試験
- ▶ ビーズ排出試験
- ▶ 大腸マノメトリー試験

薬理試験、大動物を用いた細胞治療評価試験

7

---【in vivo試験】---

- ▶ 免疫抑制モデル
 - ・免疫抑制ブタモデル
 - ・免疫抑制サルモデル
 - 細胞生着評価
- ▶ 免疫抑制+各種疾患モデル
例: 免疫抑制心不全ブタ/サルモデル
免疫抑制1型糖尿病ブタモデル etc.

オミクス解析

8

- ▶ 網羅的分析によるバイオマーカー探索およびメカニズム解析
 - ・メタボロミクス
 - ・リポドミクス
 - ・プロテオミクス
 - ・トランスクリプトミクス(NGS)
 - AmpliSeq
 - Single-cell RNA-seq
 - ・ゲノミクス(NGS)
 - ターゲットリシーケンス
 - 細菌叢のメタゲノム
 - ・ターゲット分析系の構築と解析
 - ・代謝フラックス解析
 - ・タンパク質相互作用解析

バイオインフォマティクス

9

- ▶ 各種オミクスデータ解析
 - ・メカニズム、repositioningなどの仮説構築
 - ・アノテーション(遺伝子機能、変異情報など)の付加
 - ・遺伝子変異解析
 - ・Single-cell RNA-seqデータの解析
- ▶ データの可視化
- ▶ GWAS
- ▶ オミクスデータ取得、解析結果からの検証実験に関するコンサルテーション

遺伝子改変動物 (マウス/ラット)

10

- ▶ 遺伝子ノックアウト(KO)動物の作出
- ▶ トランスジェニック(Tg)動物の作出
- ▶ 点変異ノックイン(KI)動物の作出
- ▶ ヒト化動物の作出
- ▶ 病態モデル動物への追加的遺伝子改変
- ▶ 動物のクリーニング(SPF化)
- ▶ 遺伝子改変動物の精子・胚の凍結保存(系統保存)
- ▶ 培養細胞のゲノム編集のためのgRNA設計とVector構築

薬理試験、癌領域

---【in vitro試験】---

▶ がん細胞を用いた評価試験

・がん細胞パネル (増殖・浸潤・遊走性評価)

試験概要: 複数のがん細胞を用いて被験物質を評価する。感受性の高いがん種の同定や発現データと合わせることで感受性マーカー探索に利用可能。がん細胞の浸潤・遊走性についても評価可能。

・3次元培養 (スフェロイド培養、ソフトアガー培養)

試験概要: スフェロイド培養やソフトアガー培養により形成されたコロニーを用いて被験物質を評価する。平面培養とは異なる環境や長期期間の評価が必要な場合に利用可能。

・併用効果評価試験

試験概要: がん細胞に対して2剤の被験物質の併用効果を評価する。併用パートナーの探索や標的癌種の選択に利用可能。

▶ がん免疫関連評価試験

・T細胞 細胞傷害性評価/抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 活性評価

試験概要: T細胞もしくはNK細胞のがん細胞増殖抑制効果を評価する。ラベルしたがん細胞の漏出ラベル量もしくはFACSで定量し、がん細胞の増殖抑制率を算出する。

▶ ターゲット評価、作用機作解析、バイオマーカー解析

試験概要: siRNA, 被験物質など様々な実験ツールを用いてターゲット、作用機序、バイオマーカーをin vitro、in vivoの材料を用いて探索あるいは評価する。

---【in vivo試験】---

▶ 抗腫瘍効果評価試験

試験概要: がん細胞を皮下、腹腔内、胸腔内、静脈内に移植し、腫瘍生着後に被験物質を投与して、抗腫瘍効果を測定する。単剤の薬効評価、2剤の併用効果の評価、放射線照射装置を用いた放射線感受性評価などが実施可能。また、化合物、抗体、CAR-Tなど様々なモダリティに対しても対応可能。

▶ IVISによる薬効薬理試験

試験概要: 発光・蛍光タンパク質発現がん細胞を用いた非侵襲的な薬効薬理評価やラベル化されたDDS担体の体内分布などの評価が実施可能。

▶ ターゲットエンゲージメント、PK/PD解析

試験概要: 担がんマウスに被験物質を投与し、被験物質の時系列で血液および腫瘍をサンプリング。血中動態、腫瘍内被験物質濃度、腫瘍内種々のPDのデータからPK/PD解析を実施する。薬効評価のための至適投与量の検討や被験物質選択に利用可能。

▶ 腫瘍浸潤リンパ球解析

試験概要: Syngeneicモデルの腫瘍を用いて、腫瘍内に浸潤する免疫細胞をFACS、免疫組織染色、single cell RNA-seqなどで解析する。腫瘍モデルの腫瘍内の免疫細胞プロファイリング、被験物質によるプロファイリングの変動などの評価に利用可能。

▶ 免疫不全モデル (Xenograft model)

試験概要: NSG, NOG, SCID, Nudeなどの免疫不全マウスに、がん細胞株やPDx株、primary tumorを移植し、in vivoモデル構築やin vivo薬理試験を実施する。転移、同所移植、全身播種モデルなどの特殊モデルの樹立や薬効評価も実施可能。免疫不全ラットを用いたモデルも利用可能。

▶ 免疫正常モデル (Syngeneic model)

試験概要: 免疫正常マウスにマウスがん細胞を移植し、in vivoモデル構築 (皮下移植/同所移植/転移モデル) やin vivo薬理試験を実施する。マウス血漿や腫瘍内の免疫細胞のプロファイリング用のサンプル取得や解析も実施可能。

薬理試験、免疫疾患領域

---【in vitro試験】---

▶ 初代培養細胞や全血におけるサイトカイン産生、シグナル活性化、細胞画分の解析

試験概要：ヒトや動物の末梢血単核球、脾細胞、CD4⁺/CD8⁺ T細胞、Treg細胞などを単離し、産生されるサイトカイン、細胞内シグナルの活性化、細胞表面マーカーの発現などを解析する。

▶ T細胞、B細胞等の増殖試験

試験概要：単離したT細胞、B細胞等をCD3/28やIgM刺激し、ATP量、FACSにより増殖の程度を評価する。

▶ Th1、Th17、Treg、CD8 T細胞などの分化試験

試験概要：単離したマウスやヒトのnaive CD4⁺ T細胞やmemory CD4⁺ T細胞をTh1、Th17、Tregへ分化誘導し、サイトカイン発現・産生パターンや分化マーカーの発現をELISAやFACSにより解析する。

▶ 脾細胞、胸腺細胞、B細胞、好中球などの遊走やアポトーシス試験

試験概要：脾細胞、胸腺細胞、B細胞、好中球の各種刺激による遊走反応をTranswell®等を用いて解析する。

▶ ターゲット評価、作用機序解析、バイオマーカー解析

試験概要：siRNA、被験物質など様々な実験ツールを用いてターゲット、作用機序、バイオマーカーをin vitro、in vivoの材料を用いて探索あるいは評価する。

---【in vivo試験】---

▶ ターゲットエンゲージメント、PK/PD解析

試験概要：動物に被験物質を投与（経口、皮下、腹腔内、静脈内など）し、一定時間後に採取した血液あるいは生体に対して、ターゲットに適した刺激を添加し、ターゲットの活性化状態をサイトカイン産生、リン酸化タンパク量、細胞表面抗原の発現などを指標に評価する。また、同時に被験物質のPKを測定し、PK/PD解析を行う。

▶ 血液、リンパ節、各種組織における免疫細胞フェノタイピング(5レーザー搭載のFACS解析)

試験概要：微量の血液やリンパ節をはじめとする各種組織中の免疫細胞について、5レーザー搭載のFACSを用いて詳細な表現形解析を行う。各細胞の構成比率に対する被験物質の作用を評価することも可能。

▶ 抗体産生の評価

試験概要：マウスをKLH/CFAにより感作し、血中の抗体をELISAにより、また鼠径リンパ節中の胚中心B細胞やプラズマ細胞をFACSにより解析する。

▶ 動物モデル

・マウス炎症性腸疾患モデル

試験概要：マウスに活性化/Naive T細胞移入あるいはデキストラン硫酸により大腸炎を誘発し、下痢、大腸でのサイトカイン産生や病理組織変化を観察するとともに、免疫フェノタイピングを実施して大腸炎を評価する。

・多発性硬化症モデル

試験概要：マウスをMOG/FIAで感作するとともに百日咳毒素を投与して自己免疫性脳脊髄炎を発症させ、症状スコア、病理組織評価、サイトカイン産生や浸潤細胞の免疫フェノタイピングを行う。

・関節リウマチモデル

試験概要：ラットをウシII型コラーゲン/FIAで感作して関節炎を惹起し、体重減少と足蹠容積の増加等を経日的に評価する。

・乾癬モデル

試験概要：マウスの耳介にIL-23やImiquimodを投与することにより、乾癬様の皮膚炎症症状を誘発させ、耳介厚、病理組織学的

薬理試験、中枢疾患領域

---【in vitro試験】---

▶ 中枢性細胞の初代培養を用いたタンパク質・遺伝子発現解析

試験概要：神経細胞、ミクログリア、アストロサイトといった中枢性の細胞を動物から単離・培養し、各種刺激に対して惹起される発現量の変動やシグナル変動を解析する。

---【in vivo試験】---

▶ 行動薬理試験(精神疾患関連の評価系)

・プレパルスインヒビション試験

試験概要：突然の強い感覚刺激により驚愕反応を生じるが、その強い刺激の前に比較的弱い刺激を先行させることで驚愕反応が抑制される現象を評価する試験。統合失調症患者はこの反応の低下が報告されている。

・社会性試験

試験概要：3部屋からなる測定ボックスの両端の2部屋に小型のケージを置き、片方には動物を、もう片方には無生物を入れる。中央の部屋に動物を入れ、小型ケージ内の動物あるいは無生物に接触する時間を計測し、社会性行動を評価する。

・精神刺激剤誘発の過活動

試験概要：ケージ上部に取り付けた赤外線センサーから格子状に出る赤外線を横切った回数を計測することで、ケージ内の動物の行動量を数値化する。MK-801などの薬剤による過活動に対する被験物質の作用を検討することで、薬効評価が可能。本試験系は、飼育用ケージのまま測定できるため、ストレスなく評価できる。

▶ 行動薬理試験(運動機能の評価系)

・握力測定

試験概要：握力計に接続した測定用の金網に動物をつかまらせて引っ張ることで、動物の最大握力を測定する(主に前肢の測定)。

・ロタロッド試験

試験概要：動物(マウス・ラット)の運動機能の協調性および平衡感覚を評価する試験。回転する棒の上に動物を乗せ、落下するまでの時間を計測。本試験の回転棒は一定速度、あるいは一定の加速度で加速させる2条件の設定が可能。

・ランニングホイールテスト

試験概要：動物の自発的な活動量を計測する。また24時間の活動量を計測することで、概日リズムの評価にも使用可能。

▶ 行動薬理試験(認知機能の評価系)

・新奇物体認知試験

試験概要：まず2つの同一の物体を動物に認知させる。一定時間後に片方を新奇物体に変更したときの接触時間を計測する。動物が新奇物体に興味を示す習性を利用した認知試験。

・8-方向放射状迷路試験

試験概要：放射状に配した8方向のアームの先端に餌を置き、すべての餌を食べるまでの行動を観察する。一度進入したアームに再度進入したときをエラーとして記録する。

▶ ターゲットエンゲージメント、PK/PD解析

・マイクロダイアリシス

試験概要：脳内の標的部へ半透膜のプローブを留置し、脳内の神経伝達物質を測定する。

・睡眠脳波の測定・解析

試験概要：睡眠脳波を計測することで睡眠障害やそれに対する薬効を評価する。

・薬効病理解析

試験概要：疾患モデル動物などの障害やPDマーカ、および薬物による作用を組織化学的に評価する。(可視、蛍光など)

・脳脊髄液(CSF)の採取

試験概要：マウス、ラット、サルといった動物からCSFを採取し、タンパク質や遺伝子の発現を解析する。臨床でのバイオマーカ候補を探索する上で有用な試料。

▶ 動物モデル

・認知機能障害モデル(スコポラミン、MK-801)

試験概要：スコポラミンやMK-801を投与することにより、認知機能を障害させた動物モデル、新奇物体認知試験や8-方向放射状迷路試験と組み合わせることで薬効評価に使用可能。

・バルプロ酸誘発自閉症モデル

試験概要：バルプロ酸をはじめとする抗てんかん薬の妊娠期の服用が自閉症の発症リスクを増加させるという報告から作製されたモデル。社会性試験と組み合わせることで薬効評価に使用可能。

・脳内局所投与による動物モデルの作製

試験概要：薬剤やタンパク質などを脳内局所に注入することにより、動物モデルを作製する。病理解析、PDマーカ、機能解析などと組み合わせることで薬効評価に使用可能。

薬理試験、心血管疾患領域

---【in vitro試験】---

▶ 初代培養心筋細胞を用いた心肥大評価、シグナル解析

試験概要: マウス/ラット新生仔、成熟ラットから単離した心筋細胞を用いて各種刺激剤により心肥大やアポトーシスを誘導し、被験物質による抑制作用を評価する。各種細胞内シグナルを解析することも可能。

▶ ラット摘出灌流心(ランゲンドルフ灌流心)を用いた心機能測定

試験概要: ラットから摘出した心臓を灌流し、流路に被験物質を処置することにより心機能に対する作用を評価する(心臓直接的作用)。虚血/再灌流障害に対する薬効評価や各種細胞内シグナルを解析することも可能。

▶ 大動脈リング標本を用いた血管収縮/弛緩反応測定

試験概要: ラットから摘出した大動脈を用いて各種血管収縮物質による血管収縮に対する被験物質の血管弛緩反応を評価する。

▶ ターゲット評価、作用機作解析

試験概要: siRNA, 被験物質など様々な実験ツールを用いてターゲット、作用機序をin vitro、in vivoの材料を用いて探索あるいは評価する。

---【in vivo試験】---

▶ ターゲットエンゲージメント、PK/PD解析、各種薬効評価

試験概要: 動物に被験物質を投与(経口、皮下、腹腔内、静脈内など)し、一定時間後もしくは経時的に血液あるいは臓器を採取。ターゲットに適した血中/細胞内物質や酵素活性等の薬効指標(PD)及び血中動態(PK)を測定してPK/PD解析を実施する。薬効評価のための至適投与量の検討や被験物質選択に利用可能。正常動物だけではなく病態モデルでも実施可能。

▶ CV safety評価(血圧、心機能、心電図etc.)

試験概要: 被験物質の薬効評価に加えて覚醒下/麻酔下での血圧、心機能、心電図等の循環系への安全性の評価も可能(マウス、ラット、イヌ、サル、ブタ)。In vitro試験と組み合わせて作用機作解明も実施可能。

▶ 動物モデル

・虚血/再灌流障害モデル

試験概要: ラットの心臓に虚血/再灌流障害を惹起して形成される梗塞巣に対する被験物質の縮小効果を評価する。

・心不全モデル

-心不全モデル(小動物)

試験概要: 収縮不全モデル(心筋梗塞後心不全(MI)マウス/ラット、虚血/再灌流障害による心不全ラット等)、拡張不全モデル(食塩感受性Dahlラット、老齢マウス等)、心肥大モデル(大動脈狭窄(TAC)心肥大マウス、薬剤誘発性心肥大マウス等)を作製して被験物質や細胞による心機能、心肥大、線維化等に対する改善効果を評価する。

-心不全モデル(大動物)

試験概要: ブタやサルの冠状動脈を結紮することにより虚血性心不全を引き起こす心不全モデル。心機能は3Dエコーを用いて経時的に測定する。細胞療法の副作用として懸念される不整脈もホルター心電図を装着して同時に評価可能。

-心カテーテル法による心機能測定

試験概要: 麻酔下マウス/ラットに頸動脈から左心室内に圧センサーのついたカテーテルを挿入して心機能を測定する。

-心エコー法による心機能測定

試験概要: 麻酔下マウス/ラットに小動物専用心エコーを用いて心機能(Doppler法による拡張能含む)を非侵襲的に測定する。

-高血圧モデル

試験概要: SHR (Spontaneously Hypertensive Rat)、アンジオテンシンII負荷マウス、DOCA/salt 負荷マウス等の高血圧モデルを用いて、血圧に対する被験物質の作用をテールカフ法、テレメトリー法、カニューレ法等により評価する。

-肺高血圧モデル

試験概要: モノクロタリン誘発性の肺高血圧モデルを用いて、右室圧、肺動脈圧等に対する被験物質の作用を心カテーテル法や薬効病理により評価する。

-腎症モデル(Alport syndromeマウスetc.)

試験概要: 慢性腎臓病モデル(Alport syndromeマウス、5/6腎摘ラット等)、糖尿病性腎症モデル等の腎症モデルを用いて、血中・尿中パラメーターに対する被験物質の作用を評価する。

薬理試験、代謝疾患領域

▶ 血糖低下/上昇、体重低下/上昇の作用機作解析

試験概要: 各種in vitro、in vivo試験を組み合わせることで被験物質の作用機作を解明。

---【in vitro試験】---

▶ 肝星細胞/肝細胞の共培養系を用いた線維化評価

試験概要: 脂肪酸を処置した肝細胞と肝星細胞を共培養して線維化マーカー遺伝子発現を評価する。各種細胞内シグナルを解析することも可能。

▶ 初代培養肝細胞/肝細胞株を用いた糖代謝シグナル解析

試験概要: 単離した初代培養肝細胞や肝細胞株を用いて被験物質の糖新生、解糖系、脂質蓄積等に対する作用を評価する。各種細胞内シグナルを解析することも可能。

▶ 膵β細胞、脂肪細胞等の細胞株を用いた各種代謝シグナル解析

試験概要: 膵β細胞株を用いて被験物質のインスリン分泌能に

与える影響を評価する。脂肪細胞株を用いて被験物質の脂質蓄積・脂肪細胞分化等に対する作用を評価する。各種細胞内シグナルを解析することも可能。

▶ 摘出骨格筋を用いた脂肪代謝評価

試験概要: ラットから摘出したヒラメ筋/腓腹筋にRI標識したパルミチン酸を添加して脂肪酸燃焼を測定し、被験物質の作用を評価する。

▶ ターゲット評価、作用機作解析、バイオマーカー解析

試験概要: siRNA, 被験物質など様々な実験ツールを用いてターゲット、作用機序、バイオマーカーをin vitro、in vivoの材料を用いて探索あるいは評価する。

---【in vivo試験】---

▶ ターゲットエンゲージメント、PK/PD解析、各種薬効評価

試験概要: 動物に被験物質を投与(経口、皮下、腹腔内、静脈内など)し、一定時間後もしくは経時的に血液あるいは臓器を採取。ターゲットに適した血中/細胞内物質や酵素活性等の薬効指標(PD)及び血中動態(PK)を測定してPK/PD解析を実施する。薬効評価のための至適投与量の検討や被験物質選択に利用可能。正常動物だけではなく病態モデルでも実施可能。

定する(ITT)。その推移から耐糖能またはインスリン感受性を評価する。

- グルコースクランプ

試験概要: インスリンを注入しながら、血糖値が一定になるようにブドウ糖を同時に注入し続ける。一定の血糖値を維持するのに必要なブドウ糖の投与量からインスリン感受性を判断する。

・ 糖尿病モデル(大動物)

試験概要: ブタにストレプトゾトシン(STZ)を処置することにより誘発する1型糖尿病モデル。

・ 肥満モデル

試験概要: 高脂肪食負荷肥満マウス/ラットを用いて、体重、摂餌量、脂肪重量、酸素消費量に対する被験物質の作用を評価する。

- 体組成分析(Echo-MRI)

試験概要: 無麻酔のマウス/ラットをEcho-MRI装置に入れて核磁気共鳴の原理で体組成を非侵襲的に測定する。

- 脂肪分析(X線CT装置)

試験概要: 麻酔下でマウス/ラットをCT装置に入れて組織の密度に応じて算出されるCT値を非侵襲的に測定する。

- 呼吸代謝分析(オキシマックス等流量システム)

試験概要: 無麻酔のマウス/ラットをチャンバーに入れて、強制換気時のチャンバーの出口と入口で酸素及び二酸化炭素の容積濃度を非侵襲的に測定する。

▶ 動物モデル

・ 非アルコール性脂肪肝炎(NASH)モデル(高脂肪食負荷MC4R KOマウス、コリン欠乏高脂肪食負荷正常マウス、薬物誘発性線維化モデル etc.)

試験概要: 高脂肪食負荷4型メラノコルチン受容体(MC4R)欠損マウス、コリン欠乏高脂肪食負荷正常マウス、四塩化炭素誘導性マウス/ラット線維化モデル等のモデルを用いて、線維化または脂肪肝に対する被験物質の作用を評価する。

・ 糖尿病モデル(小動物)

試験概要: 2型糖尿病モデル(ob/ob、db/db、KKA^yマウス、Wistar fattyラット等)、1型糖尿病モデル(ストレプトゾトシン(STZ)誘発糖尿病マウス/ラット、Akitaマウス)を用いて、血中・尿中パラメーターの測定、糖またはインスリン負荷試験、グルコースクランプ試験等による糖代謝の評価により被験物質の作用を評価する。

- 糖負荷試験(GTT)・インスリン負荷試験(ITT)

試験概要: ブドウ糖を投与して経時的に血糖及びインスリン値を測定する(GTT)。またはインスリンを投与して血糖を測

薬理試験、消化器疾患・腸管運動領域

6

---【in vitro試験】---

▶ マグナス試験

試験概要：マウス、ラットの腸管をマグナスにセットし、各種刺激剤や電気刺激を加えた時の収縮反応を等尺性トランスデュースにより記録する。被験物質の収縮・弛緩作用を評価する。

---【in vivo試験】---

▶ 排便試験

試験概要：マウス、ラットに評価被験物質を投与し、一定時間の間に排泄される糞の数、湿・乾燥重量、性状を観察する。また、オピオイド受容体作動薬により誘発される便秘（排便数・重量の減少）に対する被験物質の作用を検討することも可能。

▶ ビーズ排出試験

試験概要：マウスに評価被験物質を投与（経口、皮下、腹腔内）した後、ガラスビーズを肛門から大腸腔内に挿入し、ガラスビーズが排出されるまでの時間を計測する。

▶ 大腸マノメトリー試験

試験概要：麻酔下にラットの腸管に挿入したカニューレから生理食塩液を注入し腸管内圧を上昇させる。腸管内圧が規定の圧を超えた回数を計数することで腸管の運動を評価する。

薬理試験、大動物を用いた細胞治療評価試験

7

---【in vivo試験】---

▶ 免疫抑制モデル

・免疫抑制ブタモデル

試験概要：外科的手術（胸腺及び脾臓摘出）及び免疫抑制剤の投与により免疫抑制状態にする。免疫抑制剤の投与量はブタ末梢血単核球細胞を用いたin vitro試験を元に設定し、投与後の血中薬物濃度を測定して目標血中濃度に達していることを確認する。異種細胞の評価に利用。このモデルに病態を惹起させて細胞処置による薬効試験に利用することも可能。

・免疫抑制サルモデル

試験概要：免疫抑制剤の投与により免疫抑制状態にする。免疫抑制剤の投与量はサル末梢血単核球細胞を用いたin vitro試験を元に設定し、投与後の血中薬物濃度を測定して目標血中濃度に達していることを確認する。異種細胞の評価に利用。このモデルに病態を惹起させて細胞処置による薬効試験に利用することも可能。

・細胞生着評価

試験概要：ブタおよびサルに各種細胞を移植する。細胞生着は病理により評価を実施。病態モデルを用いた場合は細胞生着によって期待される各種薬効を評価可能。

▶ 免疫抑制＋各種疾患モデル

(例) 免疫抑制心不全ブタ/サルモデル

試験概要：上記の免疫抑制処置を行ったブタやサルに冠状動脈を結紮して心不全を惹起するモデル。心機能は3Dエコーを用いて経時的に測定する。細胞療法の副作用として懸念される不整脈もホルター心電図を装着して同時に評価可能。

(例) 免疫抑制1型糖尿病ブタモデル

試験概要：上記の免疫抑制処置を行ったブタにストレプトゾトシン(STZ)を処置することにより1型糖尿病モデルを誘発するモデル。

オミクス解析

▶ 網羅的分析によるバイオマーカー探索およびメカニズム解析

試験概要:細胞、培養上清、動物またはヒト組織、血液、CSF等のサンプルについて網羅的な生体分子測定技術を用いる事により、目的の表現型と関連した変動を示す分子種を見出す。さらに、データ内に含まれる周辺または関連分子の変動と併せて、作用メカニズム解析を行う。必要に応じて動物モデルにおけるマーカーのバリデーションも可能。

・メタボロミクス

試験概要:低分子代謝物に特化したGC/MS/MSおよび、高極性代謝物に特化したHilic-LCMS/MSシステムを組み合わせ、解糖系、クエン酸回路、電子伝達系、アミノ酸代謝、核酸塩基代謝、胆汁酸等の約700種の代謝物が測定対象。

・リポドミクス

試験概要:Cholesterol, dolichol, fatty acylcarnitines, free fatty acid, ganglioside, lysophospholipids, neutral lipids, phospholipids, sphingolipids, ubiquinones等、約50クラスの脂質分子群の網羅的分析を実施する。

・プロテオミクス

試験概要:オービトラップ質量分析装置を用いた網羅的タンパク質分析。細胞、動物組織、臨床体液サンプル、微量の免疫沈降物、ホルマリン固定標本等の解析が可能。プレラベルまたはポストラベルによる定量、リン酸化プロテオミクスを含む翻訳後修飾解析も実施可能。

・トランスクリプトミクス

- AmpliSeq

試験概要:ヒトおよびマウスの網羅的な遺伝子発現データを次世代シーケンサー (NGS) で取得する。微量のtotal RNA(10 ng)があれば、再現性の高いデータが取得できる。被験物質の作用メカニズム、遺伝子の機能の解明などのための基礎的なデータとなる。

- Single-cell RNA-seq

試験概要:個々の細胞レベルでの網羅的な遺伝子発現データを取得する。異なる機能を持った複数の細胞が混在している組織や、分化の度合いが異なる分化途中の細胞集団における、多様性の理解を通して、病気の原因となる細胞の特定や機能解明、分化に影響を与えるであろう遺伝子の探索などに応用できる。

・ゲノミクス

- ターゲットリシーケンス

試験概要:ゲノムの特定領域(ある遺伝子のエクソンなど)の配列をNGSで取得する。疾患の原因となる遺伝子変異、希少な体細胞変異の検出やGWASのフォローアップを、短期間、低コスト、高いカバレッジで実施する。見出された変異候補についてはサンガー法やデジタルPCR法による変異の検証も実施できる。

- 細菌叢のメタゲノム

試験概要:細菌叢のDNAの網羅的な遺伝子データを取得する。疾患、食事・サプリメント、環境、遺伝的な背景が異なることで生じる細菌叢の違いを検出するために使用する。その違いは疾患の発症や新たな創薬のターゲット、バイオマーカーなどの探索に応用できると期待されている。

・ターゲット分析系の構築と解析

試験概要:網羅的分析より見いだされたバイオマーカー候補について、より簡便で精度の高い分析系を構築し、定量・解析する。バイオマーカー探索に用いた分析プラットフォームを基に系構築を行うため、高い成功確率や精度が望める。

- 代謝フラックス解析

試験概要:安定同位体ラベル物質を細胞に取り込ませ、生じる下流代謝物を測定します。静的な代謝物濃度よりも直接的に、代謝酵素活性を評価が可能。

- タンパク質相互作用解析

試験概要:細胞または組織中で標的タンパク質を形成している複合体ごと回収し、プロテオミクス解析を行います。微量サンプルに最適化したプラットフォームおよび、ラベル化法による精度の高いサンプル間比較により、確からしい相互作用タンパク質候補を見出す。

バイオインフォマティクス

9

▶ 各種オミクスデータ解析

試験概要: AmpliSeqをはじめとした各種の網羅的解析データに価値を付加する。

・メカニズム、repositioningなどの仮説構築

試験概要: 化合物や核酸などの被験物質の網羅的なデータを活用してクラスタリングやパスウェイの解析からメカニズムや適応疾患などにつなげる仮説を構築する。

・アノテーション(遺伝子機能、変異情報など)の付加

試験概要: 遺伝子発現解析や変異の解析で見出された候補分子や変異について、Gene symbol、alias Gene ID、SNP IDなどの情報を付加する。

・遺伝子変異解析

試験概要: がん組織における体細胞変異、希少疾患における遺伝子の変異の検出、それらの頻度を算出する。

・ Single-cell RNA-seqデータの解析

試験概要: 個々の細胞レベルで取得した遺伝子発現情報を解析し、組織中や培養細胞集団中の細胞亜集団の検出、細胞種の推定を行う。細胞分化の中間段階、枝分かれの存在など検出を目的としたTrajectory解析も可能。

▶ データの可視化

試験概要: 膨大な数字を眺めても、それらに隠された現象を理解することはできないので、そのデータを様々な視点で可視化し、適切・的確な判断を下すサポートを行う。

▶ GWAS

試験概要: ゲノムワイドで遺伝子変異の解析を実施し、量的な形質に関連する変異を見出す。

▶ オミクスデータ取得、解析結果からの検証実験に関するコンサルテーション

試験概要: トランスクリプトーム解析をはじめとするオミクスデータ取得のための実験系の相談を承ります。またそれぞれ分野の専門家と相談して、解析結果や構築した仮説を検証するためのin vitro、vivo実験系についても提案。

遺伝子改変動物 (マウス/ラット)

10

▶ 遺伝子ノックアウト(KO)動物の作出

試験概要: ゲノム編集技術を使用しKOマウスやラットを作出する。F0世代でHomo KOを取得することができるため、作出開始から最短3ヶ月で試験に供するHomo KOが提供可能。

▶ トランスジェニック(Tg)動物の作出

試験概要: Safe harbor locus への遺伝子発現ユニットのKI法を利用し、従来の半分程度の期間(約半年)でKIマウス/ラットを作出する。目的に応じて従来法のTgやBAC Tg作出にも対応することが可能。

▶ 点変異ノックイン(KI)動物の作出

試験概要: 点変異KIは内在のマウス/ラット遺伝子に点変異を導入する。そのためヒトの変異(遺伝病)をMimicすることができる。目的に応じてゲノム編集技術あるいはES細胞を使用して作出する。

▶ ヒト化動物の作出

試験概要: human cDNA KIを内在のマウス/ラット遺伝子にターゲティングすることで、マウス/ラット遺伝子をKOするとともに、内在遺伝子と同じ発現パターンでヒト遺伝子を発現させる。目的に応じてゲノム編集技術あるいはES細胞を使用して作出する。

▶ 病態モデル動物への追加的遺伝子改変

試験概要: 免疫不全マウスを含む病態モデルマウスやラットをベースに、追加的な遺伝子改変(KOやKI)を実施する。これにより年単位の時間がかかる戻し交配が必要なくなる。

▶ 動物のクリーニング(SPF化)

試験概要: 外部機関(海外研究機関含む)からマウスやラットを導入するために必要な手続きに対応し、成体・凍結胚・凍結精子あらゆる形式で導入可能。またSPFで使用するためにIVF(人工授精)を利用することで1世代でクリーン化する。外部への導入へも対応可能。

▶ 遺伝子改変動物の精子・胚の凍結保存(系統保存)

試験概要: 実験に使用しなくなった作出・導入系統を将来再び利用できるように凍結保存する。成体復元には、移植・出産・離乳まで3ヶ月ほど必要。

▶ 培養細胞のゲノム編集のためのgRNA設計とベクター構築

試験概要: iPS細胞を含む各種培養細胞のゲノム編集に必要なデザインを行い、ベクターの構築およびツールの提供を行う。ターゲット遺伝子への点変異や欠失導入、およびSafe harbor locusへの発現ベクターの挿入などが可能。目的とする変異株が取得できるまで、コンサルテーションとサポートを継続。

