

# F1-1 機能ゲノミクス解析による創薬等支援

実験計画から、核酸抽出、ライブラリー作製、シーケンシング、高度なデータ解析まで、大規模機能ゲノミクス解析を統合的に支援

## [1] 支援担当者

所属	①理化学研究所 生命医科学研究センター ②国立遺伝学研究所	
氏名	①カルニンチ ピエロ ②池尾 一穂	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	バイオロジカルシーズ探索ユニット 生体試料を用いた大規模機能ゲノミクス解析による創薬等支援及び技術基盤の整備（高度化）
	代表機関 代表者	理化学研究所 カルニンチ ピエロ
支援技術のキーワード		機能ゲノミクス解析、統合データ解析、CAGE、微量RNA-seq、Single Cell解析

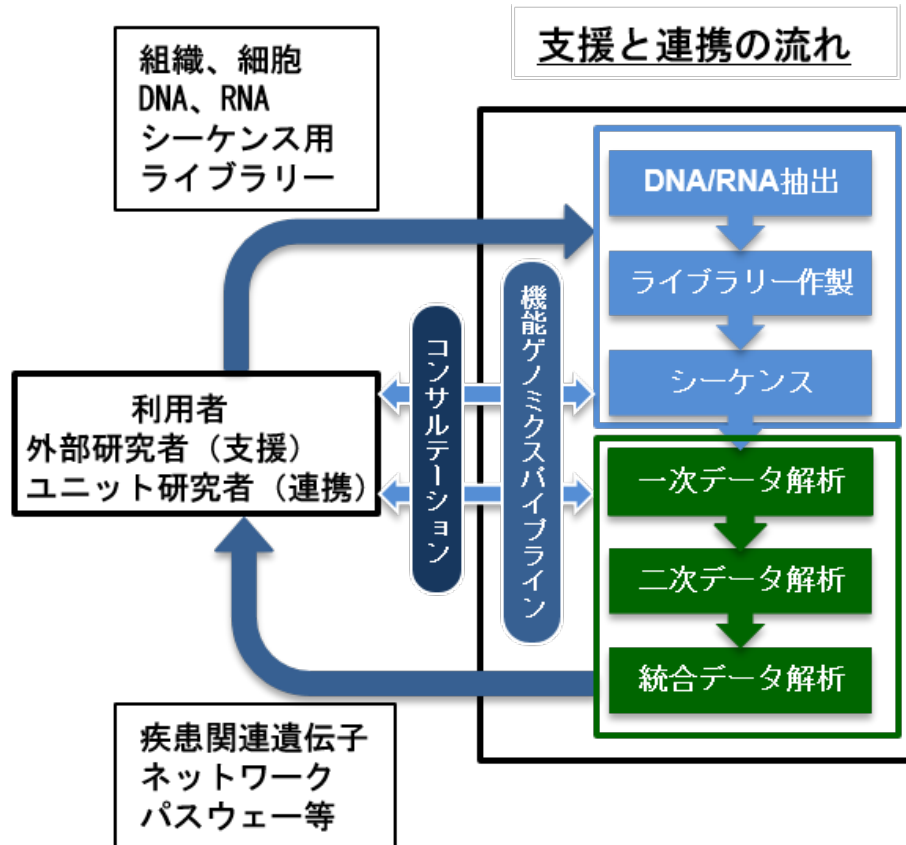
## [2] 支援技術の概要

実験計画から、サンプル受領、核酸抽出、ライブラリー作製、シーケンス、データ解析までの機能ゲノミクス解析について、プロセスごとにコンサルテーションを行いながら統合的に支援する。

<ライブラリー作製、シーケンス解析、統合データ解析>

- **非増幅CAGE法（転写開始点解析法）**：網羅的かつ定量的にプロモーター、エンハンサー活性及び遺伝子の転写開始点を測定する。遺伝子アノテーション、活性推定などの解析結果も提供する。
- **RNA-seq及び微量RNA-seq解析**：Total RNA（100ng-10ng）を出発原料とするトランスクリプトーム解析を行う。単純な遺伝子発現解析に加え、パスウェー解析等の高次解析も支援する。
- **small RNA-seq解析**：Total RNA（1μg程度）を出発原料として、small RNA-seq解析を支援する。
- **ChIP-seq解析**：ChIPed DNA（10ng程度）を出発原料として、ChIP-seqを行う。ピークコール、モチーフ等の解析結果を提供する。
- **全ゲノムDNA-seq解析（WGS）及びExome-seq解析（WES）**：全ゲノムDNA（0.3μg-1μg程度）を出発原料として、全ゲノムDNA-seq解析あるいはExome-seq解析を支援する。
- **極微量（pgレベル）RNA-seq解析**：高度化によりメニュー化が完了しており、極微量のRNA（100pg以上）を用いたRNA-seq解析の支援及び連携として提供する。
- **ChromiumによるPhasingシーケンス解析**：高度化でメニュー化を完了しており、Chromium System（10X Genomics社）を用いて作製したゲノムフェーシングライブラリーのシーケンス解析について、支援・連携を実施する。
- **Poly Aを対象とした完全長cDNA-seqの提供（連携・共同研究）**：Oxford Nanopore Technologies社（ONT）MinIONによるロングリードシーケンスを用いた連携（共同）研究を実施する。
- **10X Chromiumを用いたSingle Cell解析（連携・共同研究）**：綿密なコンサルテーションを行いながら、scRNA-seq及びscATAC-seq等について実施する。
- **シーケンスデータ解析**：完全長RNA-seqを始めとするシーケンスデータのゲノムへのマッピング、リードの定量、アノテーション等の基本的な解析を提供する。
- **多サンプル比較統計解析**：複数のサンプル間の時系列解析、異なるコンディション間の比較解析を行い、特定の発現パターンを示す遺伝子抽出等の解析により、マーカー候補遺伝子等を提供する。同時に、近年のNGSシーケンサーの性能向上やSingle Cell解析に代表される新規技術の出現によるサンプル数および比較解析の組み合わせ数の増加に伴う多サンプル解析の支援、タイムコース解析の支援などを提供する。

- **原因遺伝子探索**：疾患特異的遺伝子の探索等から候補遺伝子の絞り込みを行うとともに、現象の原因となる候補遺伝子情報を提供する。
- **機能モデル構築**：シーケンスデータに、ゲノム、相互作用、変異等の異なる情報を加えて統合的に解析を提供することにより、転写や代謝パスウェイ等の機能モデルを構築し提供する。
- **疾患情報、大規模SNPsデータの取り込み等リファレンスデータの充実**：ヒト、マウス以外の準モデル生物などのリファレンスゲノムの必要に応じた提供。タンパク質相互作用、遺伝子発現データ、および文献情報抽出によるデータの提供。
- **Poly Aを対象とした完全長cDNA-seqのデータ解析の提供**：MinIONによる完全長cDNAシーケンスについて、データ解析を行う。
- **Single Cell解析データへの対応**：Single Cellデータの解析支援を行い、細胞の同定、マーカー遺伝子の推定などを行う。



### [3] 支援技術の利用例

- **新規創薬ターゲット発見**：C型肝炎治療の主流であったインターフェロンなどでC型肝炎ウイルスを排除できた計943人の血液サンプルについて、次世代シーケンサーを用いて遺伝子解析を行った結果、TLL1遺伝子が、肝がんの発症に関わることを見いだすとともに、TLL1遺伝子型の違いにより、がん発症のリスクが約2倍あることを明らかにした。
- **企業導出**：種々のがん細胞株からがん幹細胞を分離し、遺伝子発現比較解析により数種類のがん幹細胞特異遺伝子を同定することに成功している。これらの遺伝子については、製薬企業2社に分子標的シーズとして提案し、創薬に向けた共同研究開発を実施中。

## [4] 支援担当者の研究概要

支援に必要とされる要素技術とデータ解析の開発（高度化）を行う。要素技術の開発においては、理化学研究所の独自シーケンス技術であるCAGE法をさらに発展させ、技術開発とハイスループット化を軸とした複数の高度化課題を設定する。

### 技術開発（高度化）

- 自動微量非増幅CAGEライブラリー調製システムの構築
- NET-CAGE法のメニュー化に向けた取り組み
- 完全長cDNA-seq開発
- Large-scale low-cost directional single cell RNA-seqの技術開発
- 長鎖塩基配列のターゲットシーケンス

### データ解析（高度化）

- 疾患マーカーおよび創薬ターゲット探索のためのリファレンス情報の充実
- 完全長cDNA-seqおよび極微量（pgレベル）RNA-seqのための解析パイプラインの開発
- Chromium及びONT MinION long readによるgenome phasing解析技術へのデータ解析支援技術の導入
- Single Cellデータ解析への対応

※高度化課題の社会への普及・実用化に向けた取り組みとして、技術開発を活用した共同（連携）研究を推進する。

# F2-1 微量検体からの高精度1塩基解像度メチローム解析

独自技術PBATによる高感度・高精度の全ゲノムバイサルファイトシーケンシング（一塩基解像度ゲノムワイドDNAメチル化解析）

## [1] 支援担当者

所属	①九州大学 大学院医学研究院	
氏名	①伊藤 隆司	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	バイオロジカルシーズ探索ユニット 先進メチローム解析の支援と高度化
	代表機関 代表者	九州大学 伊藤 隆司
支援技術のキーワード	DNAメチル化、メチローム、バイサルファイトシーケンシング、エピゲノム、PBAT	

## [2] 支援技術の概要

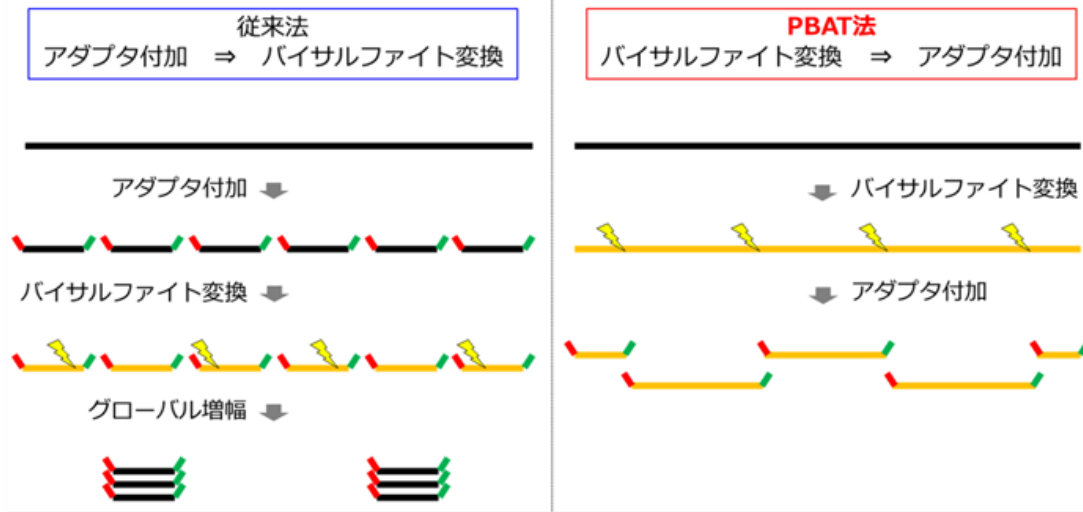
DNAメチル化はヒストン修飾と並ぶエピジェネティクスの二大分子機構のひとつである。次世代シーケンサー（NGS）の登場によって、DNAメチル化部位を一塩基解像度で決定する全ゲノムバイサルファイトシーケンシング（WGBS）が実現した。しかし、WGBSの原法は、大量の出発材料を必要とするため、医学生物学的に興味深い微量試料への適応が不可能であるという限界を抱えていた。我々は、その原因がバイサルファイト変換反応によるDNAの分解にあることを突き止めた。更に、NGSライブラリー用アダプタの付加とバイサルファイト変換の順序を従来法と入れ換えることでバイサルファイト変換の副作用を回避するPost-Bisulfite Adaptor Tagging (PBAT)を開発して、この限界を打破した。世界最高の感度と精度を有するPBATによるWGBSが我々の提供する支援技術である。

## [3] 支援技術の利用例

- 再生医療や創薬スクリーニングに利用されるiPS細胞由来細胞の解析による評価と品質管理マーカーの探索
- 生殖補助医療に利用される受精卵や初期胚細胞の解析による評価と品質管理マーカーの探索
- 神経幹細胞、造血幹細胞等の分化過程の解析
- 生活習慣病等の病態モデル動物の細胞・組織・臓器レベルでの解析と病態マーカーの探索
- 臨床検体や病理標本を用いた悪性腫瘍、生活習慣病、精神神経疾患等の解析とマーカーの探索
- エピゲノムコホートによるメチル化マーカーの探索
- エピゲノム薬等の作用機序の解析



# 全ゲノムバイサルファイトシーケンシングの戦略

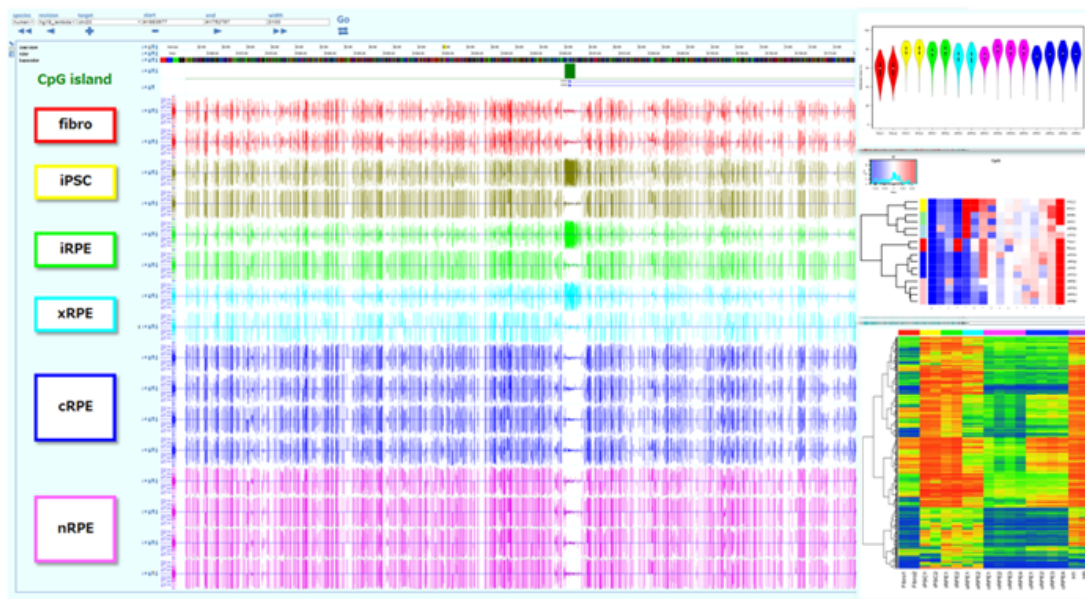


## [4] 支援担当者の研究概要

支援担当者は、30年来一貫してゲノム科学の分野で研究を行ってきた。ゲノム解析用マーカー取得技術の開発に始まり、トランスクリプトームやプロテオーム（インタクトーム）の解析を経て、最近ではエピゲノム解析に注力している。

特にDNAメチル化に関しては、独自手法による新規インプリント遺伝子 *Impact* の同定に端を発し、新規PCR技術による非インプリント型アレル特異的メチル化の発見を経て、1塩基解像度で全ゲノムのメチル化レベルを解明するWGBSの開発にも早くから取り組んだ。その結果、バイサルファイト処理によるDNA切断の影響を回避する独自技術PBATを開発して、ライブラリー調製効率の飛躍的向上に成功した。PBATは、従来法では不可能だった微量検体の解析を続々と成功に導いてメチローム解析のフロントを拡大し、最近では1細胞解析にも応用されている。更に、WGBSライブラリー調製法の系統的比較研究によって、PBATが最も正確でバイアスが少ない方法であることも示されている。PBATの性能をさらに向上させるため、アダプタ付加を現行のランダムプライミングから独自の1本鎖DNA連結技術に置き換える高度化研究を進め、究極のメチローム解析である1細胞からの2倍体メチローム解明を目指している。これらと並行して、メチロームのバイオインフォマティクスについても独自の手法を開発している。

生物（種）の歴史は染色体（ゲノム）に記されてあるという木原均博士の有名な言葉に倣うと、個体や細胞の履歴（記憶）はエピゲノムに刻まれている。エピゲノムから細胞の履歴（記憶）を読み解くことを目指して、独自の的方法論・技術の開発にこだわったエピゲノミクス研究を心がけている。



# F3-1 1細胞・微小組織サンプルからのトランスクリプトーム及び微生物1細胞ゲノム解析

単1細胞および微小組織領域からの遺伝子発現網羅解析および、ドロップレット技術を応用した微生物1細胞ゲノム解析を支援

## [1] 支援担当者

所属	①早稲田大学 理工学術院 ②早稲田大学 理工学術院総合研究所 ③早稲田大学 ナノ・ライフ創新研究機構	
氏名	①竹山 春子 ②細川 正人 ③松永 浩子	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	バイオリジカルシーズ探索ユニット 創薬等支援のための1細胞・微小生体組織のトランスクリプトーム解析
	代表機関 代表者	早稲田大学 竹山 春子
支援技術のキーワード	単一細胞、微小組織、遺伝子発現解析、微生物シングルセルゲノム解析	

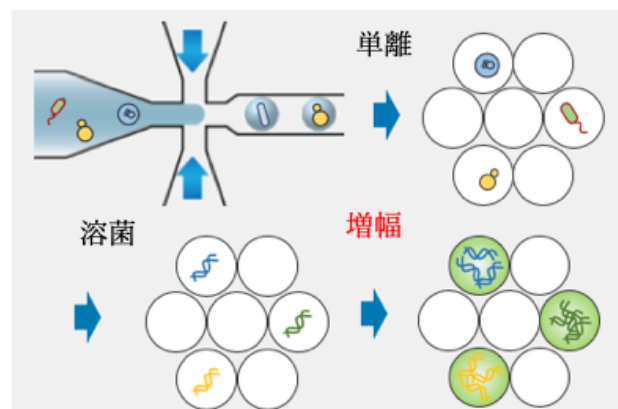
## [2] 支援技術の概要

- 組織切片を観察し、任意の微小組織領域を高速採取
- 単一細胞、微量細胞もしくは微量RNAからの増幅cDNAの調製、RNA-seqライブラリ作製
- RNA-seqデータの二次解析（変動遺伝子の抽出、遺伝子発現パターンのクラスタリング）
- 組織観察像と遺伝子発現情報の統合解析<sup>3</sup>
- ドロップレット技術を応用した微生物シングルセルゲノム解析

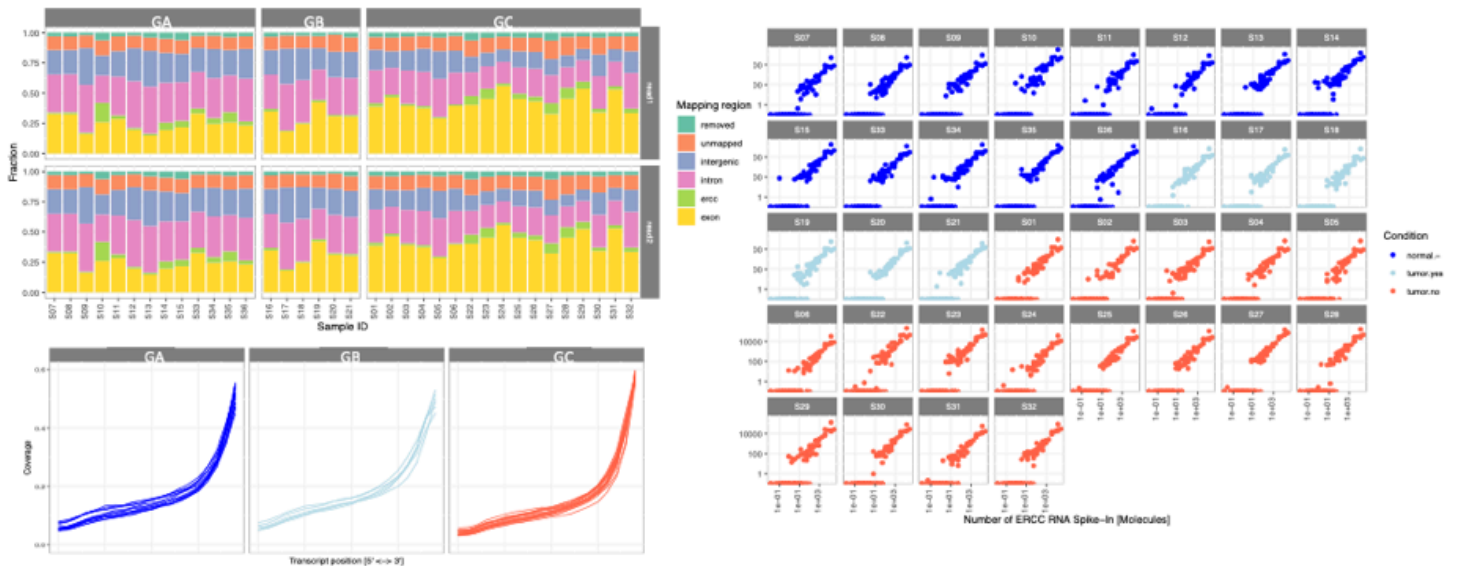
微小組織採取システム



超ハイスループット  
シングルセルゲノム解析技術



## RNA-seq解析レポートのイメージ



## [3] 支援技術の利用例

- シングルセルRNA-seqによる希少細胞の特性解析
- 組織採取技術を用いた臨床検体や病態モデル動物の微小な組織領域における遺伝子発現比較解析 (疾病部と周辺部の比較解析など)
- 転写物のバリエーション解析
- 疾病要因または既存薬の分子作用機序の理解に向けた遺伝子発現解析
- 新たなバイオマーカーの探索・バリデーション
- 腸内細菌由来シングルセルゲノム解析
- 微生物ゲノム情報を用いた薬剤耐性評価 など

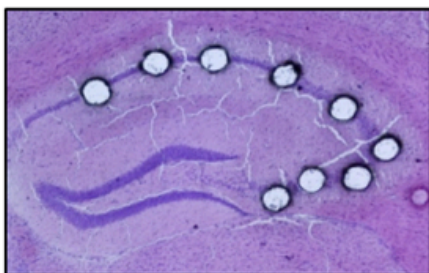
## [4] 支援担当者の研究概要

顕微鏡及び組織採取機構からなる微小組織採取システムは、顕微鏡画像状態でユーザーが選択した領域を高速・自動でサンプリングすることができる。1度の採取に要する時間は5秒以内で、直径100マイクロンサイズの組織を連続的に採取可能である。採取した微小組織片のRNA-seq解析と、組織の画像情報を組み合わせることで、組織内の遺伝子発現を微小空間の解像度で捉えることができる。

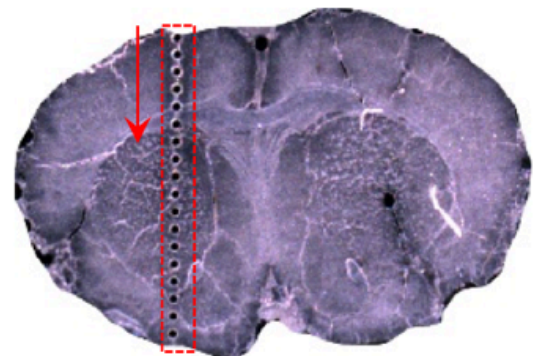
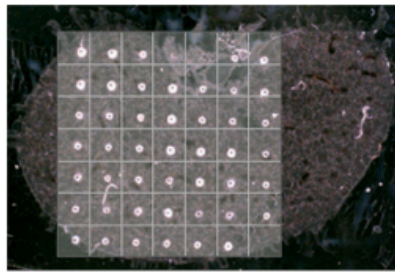
ドロプレット技術を応用した微生物シングルセルゲノム解析技術ではピコリットル液滴に細胞を封入し、液滴内で溶菌及び増幅を行う。液滴は1秒間に1000個というスピードで生成することができ、一度に大量のゲノム増幅を実現する。この技術を使うことで、シングルセルから全ゲノム配列の決定が可能になる。

本課題では、組織採取の効率化を目指したシステム高度化、mRNA発現情報以外の情報も含めたマルチオミクス解析手法の開発、組織画像と遺伝子発現の統合解析プラットフォームの構築、さらには微生物シングルセルゲノムの解析も加えた多角的なアプローチを実施する。

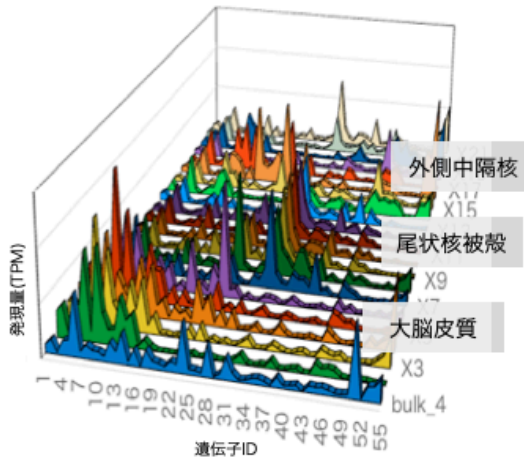
脳海馬領域の部位毎採取



腎臓組織のマトリックス採取

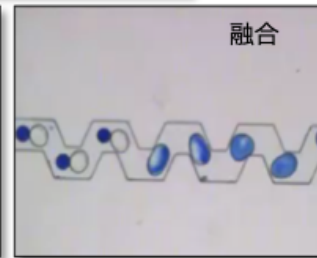
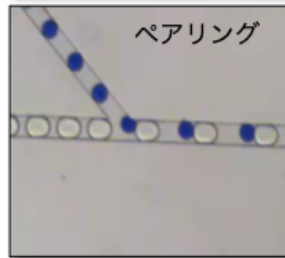
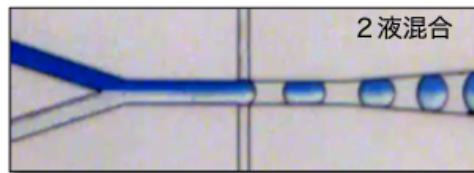
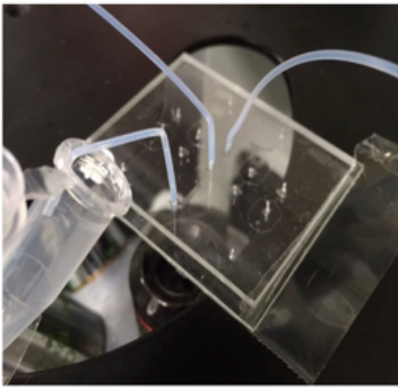


マウス脳組織切片からの連続採取イメージ  
赤枠内で直線状に組織採取



領域特異的な遺伝子発現を計測  
遺伝子発現の空間的広がりを可視化すること  
を目指している

### PDMS マイクロ流路





# F4-1 ゲノム高次構造と転写ネットワークの統合的理解に向けた技術基盤提供支援

次世代シーケンサーを用いた各種ChIP-seq、RNA-seq(mRNA、small RNA、1細胞)、Hi-C解析支援

## [1] 支援担当者

所属	①東京大学 定量生命科学研究所	
氏名	①白髭 克彦	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	バイオリジカルシーズ探索ユニット ゲノム高次構造と転写ネットワークの統合的理解に向けた技術開発
	代表機関 代表者	東京大学 白髭 克彦
支援技術のキーワード	ChIP-seq、低インプットChIP-seq、RNA-seq、1細胞RNA-seq、Hi-C	

## [2] 支援技術の概要

### 1. タンパク質・修飾プロファイリング支援

ChIP-seq解析についてクロマチン免疫沈降 (ChIP) サンプル調整、シーケンスライブラリ作成、情報解析の技術支援及び技術移転を行う。通常のプロトコル ( $10^6$ 細胞) に加え、ChIP効率の良い一部のタンパク質については少数細胞 ( $10^3$ ~ $10^5$ 細胞) での解析も可能である。

### 2. 転写解析支援

mRNA-seq、small RNA-seqなどの各種RNA-seq実験について、ライブラリ作成支援、発現データを用いた変動解析などの情報解析支援を行う。またchromium(10xGenomics)を用いた1細胞RNA-seq解析について、細胞の調整、ライブラリ作成、得られたデータからクラスタリングによる新規細胞集団の分類やマーカー分子の検出などの情報学的解析の支援を行う。

### 3. Hi-Cによるクロマチン高次構造解析支援

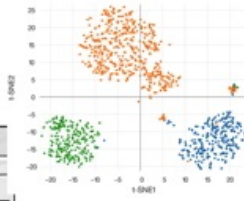
当研究室で採用している*in situ* Hi-C法によるHi-Cライブラリの調整を支援し技術の移転をするとともに、Hi-Cデータの解析方法の指導を行う。

## [3] 支援技術の利用例

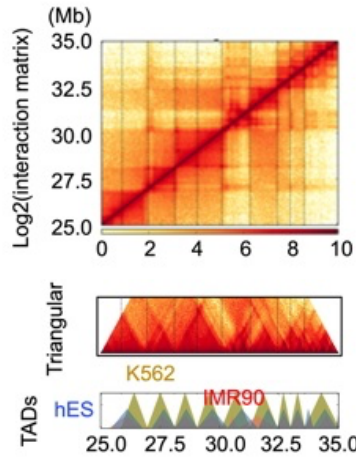
- 組織からセルソーターにより分取した少数の細胞を用いたヒストン修飾解析 (低インプットChIP)
- 主要組織構成細胞の不均一性の解析とがん幹細胞の単離 (1細胞RNA-seq解析)
- 細胞分化に伴う染色体TAD(topologically associated domains)構造の変化の観察 (Hi-C)



▲ chromiumを用いた1細胞RNA-seq解析



Hi-Cによるクロマチン高次構造解析▶

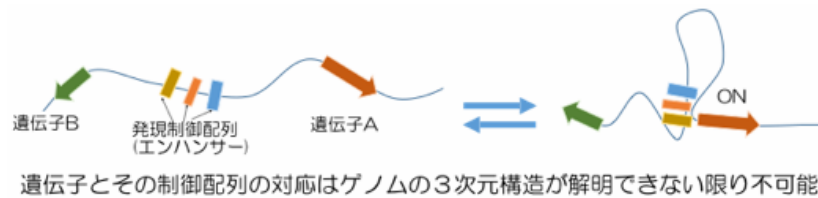


## [4] 支援担当者の研究概要

私たちは、染色体がどのように折りたたまれ、核中で機能しているのかを明らかにするための研究を行っている。特に染色体を形作る重要な因子であるコヒーシン、コヒーシンローダー、及びCTCFがどのような生化学的な活性をもち、ゲノムをどのように折りたたみ、転写を制御しているのかという点に焦点をあてた研究を行っている。これらの因子は、例えば転写時にエンハンサーとプロモーターの相互作用を誘導するなど転写制御において必須の役割を担っている。このような研究にはHi-CやChIP-seqといったゲノム解析技術が必要不可欠であり、われわれはこのようなエピゲノム解析技術のパイオニアとして研究を進めてきた。

本事業においては、技術開発として、Hi-C及び、ChIP-seq技術の高度化を目指す。特にHi-Cについては少数細胞化と、高解像度化、特定のタンパクが形成するゲノム高次構造を明らかにするための手法の導入と開発を目指す。これらは、HiChIPやCapture Hi-Cと呼ばれる手法である。これらのゲノム解析技法は、配列決定機関と連携し、高度化を行う。これと並行して、転写情報、エピゲノム情報、ゲノム高次構造情報を統合的に解析可能な情報学的解析プラットフォームの提供と、少数細胞Hi-C、Hi-C派生技術の情報解析基盤も構築する予定である。構築された手法、リソースによりさらなる支援を実施し、種々の細胞、組織における転写制御ネットワークの全貌を解明することで、本事業に貢献する。

1細胞からのChIP-seq技術であるChILT-seqに関しては東工大の木村宏教授らと開発を進める。



# F5-1 ゲノム編集等の技術を用いた疾患モデルマウスの作製

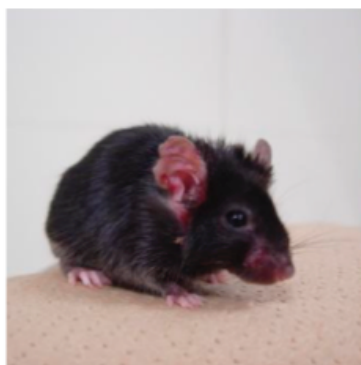
ゲノム編集技術やES細胞の相同組み換え技術を用いた遺伝子改変マウスの作製、新規部位特異的組み換え酵素システムの技術提供

## [1] 支援担当者

所属	①かずさDNA研究所	
氏名	①中山 学	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	バイオリジカルシーズ探索ユニット ゲノム編集等の技術を用いた疾患モデルマウスの作製とゲノムエンジニアリング技術の開発
	代表機関 代表者	かずさDNA研究所 中山 学
支援技術のキーワード	疾患モデル動物、ゲノム編集、コンディショナルノックアウト、コンディショナルノックイン、新規部位特異的組み換え酵素システム	

## [2] 支援技術の概要

- CRISPR/Cas9のゲノム編集によるノックアウトや点突然変異の導入
- ES細胞を用いた相同組換え法によるコンディショナルノックアウト、コンディショナルノックインマウスの作製
- ヒトiPS細胞を用いたゲノム編集
- オフターゲット効果が抑制されたCas9-nickaseシステムを用いたゲノム編集
- 新規部位特異的組換え酵素システムであるVCre/VloxPとSCre/SloxPシステムによる緻密なゲノムエンジニアリング



Arg (CGT)



His (CAT)

アトピー性皮膚炎疾患モデルマウス  
(JAK1遺伝子ノックインマウス)

## [3] 支援技術の利用例

- 患者様のエクソーム解析等の結果から得られた遺伝子の変異情報をもとに遺伝子改変マウスを作製し、発症メカニズムの解明と治療標的となるパスウェイ・分子の同定を行う。
- ヒトの疾患の発症機構を反映した疾患モデルマウスを用いた創薬標的分子の発見の促進。
- 疾患モデルマウスを用いた治療薬剤候補の効果・安全性の検定。

# 新しい部位特異的組み換え酵素システム

酵素名  
Cre                      VCre ビブリオ菌プラスミド由来                      SCre シュワネラ菌プラスミド由来

認識サイト  
loxP                      VloxP                      SloxP

ATAACTTCGTATA GCATACAT TATACGAAGTTAT    TCAATTCTGAGA ACTGTCAT TCTC GAAATTGA    CTCGTGCCGATA ACTGTAAT TATCGGACATGAT

✓ 既存の組み換え系とクロス反応しませんので、既存の組み換えシステムと同時に使用することができます。(特許第5336592号, 特許第5336676号)

## [4] 支援担当者の研究概要

公益財団法人かずさDNA研究所と理化学研究所・生命医科学研究センター（IMS）は協働して疾患モデルマウス作製のパイプライン（6年間で388種類の遺伝子改変マウスと3年間で113種類のゲノム編集マウスを作製）を確立・稼働してきた。また、既存のCre/loxPとクロス反応しないために同時に用いることのできる新規部位特異的組換え酵素システムであるVCre/VloxPとSCre/SloxPマウスを開発してきた。

### SPFレベルの動物実験施設



ES細胞 iPS細胞の培養



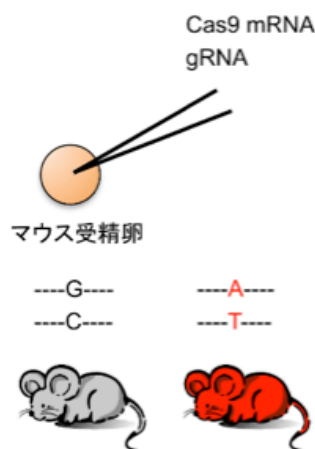
マイクロインジェクション装置



胚移植



最大収容ケージ数  
10,000ケージ、およそ50,000匹





# F6-1 次世代型疾患モデル動物作出

新規開発2ステップ法で高速にコンディショナルノックアウトマウス作製。ノックイン、ノックアウトマウス作製

## [1] 支援担当者

所属	①群馬大学 生体調節研究所	
氏名	①畑田 出穂、堀居 拓郎、森田 純代	
AMED 事業	ユニット／領域 名 課題名	バイオリジカルシーズ探索ユニット 次世代型疾患モデル動物作出
	代表機関 代表者	群馬大学 畑田 出穂
支援技術のキーワード	Floxマウス、コンディショナルノックアウトマウス、ノックアウトマウス、ノックインマウス、エピゲノム編集マウス	

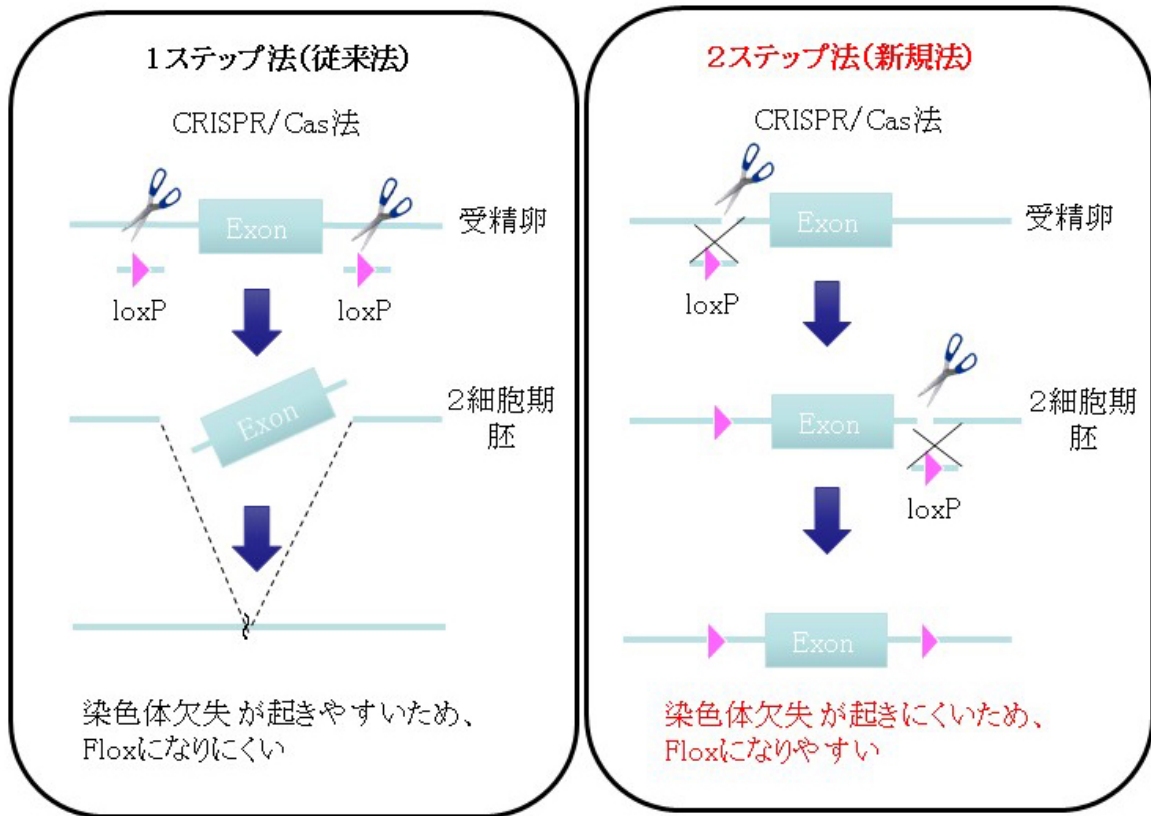
## [2] 支援技術の概要

新規開発2ステップ法で高速にコンディショナルノックアウトマウスを作製

1ステップ法（従来法）では、ゲノムの近接2箇所を切られたことによる染色体欠失が高頻度に関わりFloxマウスはほとんど得られない。  
2ステップ法（新規法）では1ステップでloxPを挿入するのではなく、1箇所ずつ受精卵と2細胞期胚に2ステップに分けてloxPを挿入することにより染色体欠失を回避する。この方法により染色体欠失が減少し高効率にFloxマウスを得ることができる。

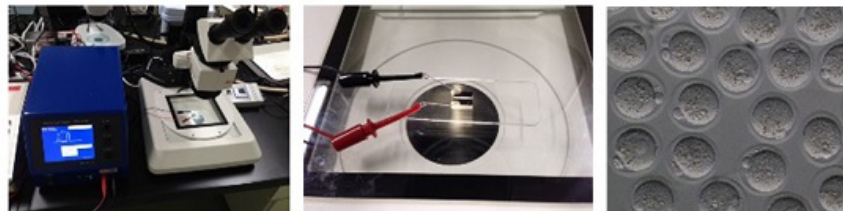
エレクトロポレーション法で高速にノックアウトマウス、ノックアウトマウスを作製

エレクトロポレーション法とCRISPR/Cas法を組み合わせることで高速にノックアウトマウス、ノックインマウスの作製が可能。



### [3] 支援技術の利用例

- コンディショナルノックアウトマウス、ノックアウトマウス、ノックインマウス作製による標的遺伝子の評価。
- コンディショナルノックアウトマウス、ノックアウトマウス、ノックインマウス作製による疾患モデルマウス作製と薬剤試験。



### [4] 支援担当者の研究概要

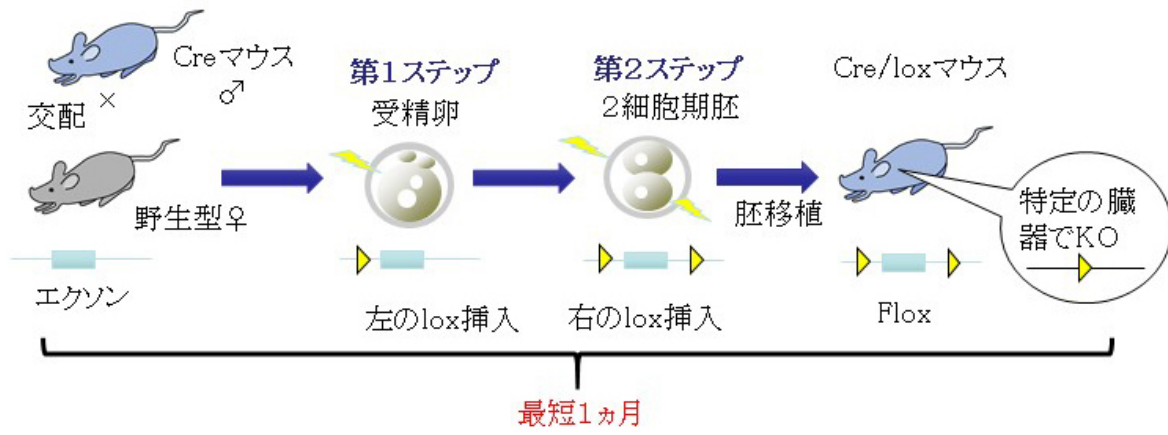
#### 高速コンディショナルノックアウトマウス法の開発

2ステップ法で高速にコンディショナルノックアウトマウスを作製する方法を開発した。この方法では受精卵と2細胞期に分けてexonの左右にloxPを挿入する。これにより、従来法において同時にloxPを挿入することによって起こっていた染色体欠失を回避し、高効率でFloxマウスを作製できる。またこの方法を用いて組織特異的Cre発現マウスの受精卵から直接Flox/Creマウスの作製にも成功した (Scientific Reports, 2017)。

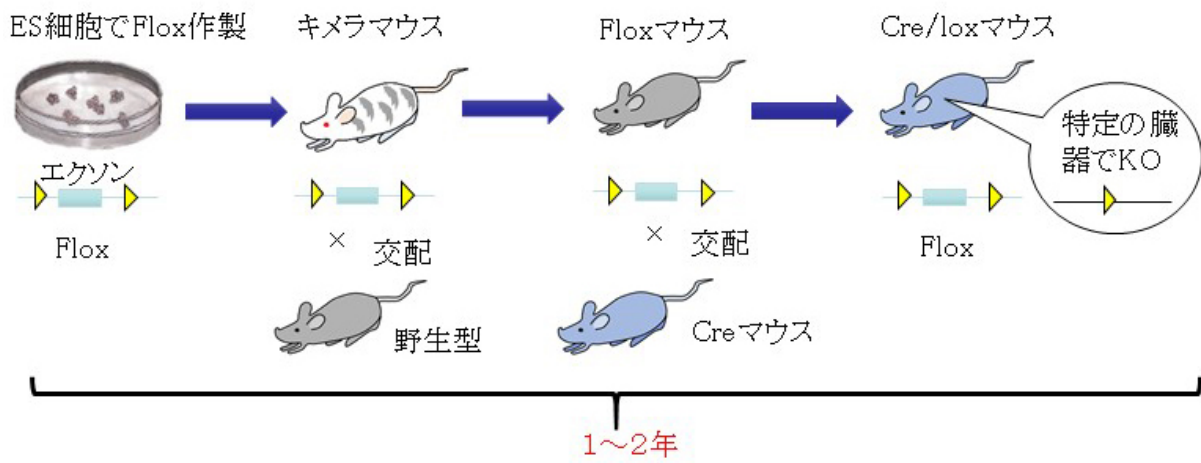
#### エピゲノム疾患モデル動物の開発

遺伝子切断活性をなくしたCas9 (dCas9) と、DNAの脱メチル化の最初の反応を起こす酵素 (TET) を直結し、TETの活性を標的遺伝子にリクルートしたが、十分に発現を活性化できなかった。そこで、脱メチル化能力を向上させるため、(1) dCas9の端に短い目印のアミノ酸配列 (GCN4) を複数個つないだものと (2) GCN4を認識して結合するミニ抗体にTETをつなげたものを同時に細胞に導入して新規複合体を構成させる方法を開発した。これにより特定の遺伝子に複数のTETが作用し、効率的に脱メチル化し遺伝子発現を十分に上昇させることができた。一方、標的の遺伝子以外ではまったく脱メチル化が見られず特異性が高いことがわかった (Nat. Biotech. 2016)。この技術をさらに応用発展させ個体レベルでエピゲノムだけを改変したエピゲノム疾患モデル動物を作成する。

## 新規法



## 現行の条件付きノックアウトマウス作製



# F6-2 エピゲノム疾患モデルマウス（シルバーラッセル症候群モデルマウス）

エピゲノム編集法で作製したシルバーラッセル症候群モデルマウス。

## [1] 支援担当者

所属	①群馬大学 生体調節研究所	
氏名	①畑田 出穂、堀居 拓郎、森田 純代	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	バイオロジカルシーズ探索ユニット 次世代型疾患モデル動物作出
	代表機関 代表者	群馬大学 畑田 出穂
支援技術のキーワード	エピゲノム、エピゲノム編集、シルバーラッセル症候群、モデルマウス	

## [2] 支援技術の概要

(1) 遺伝子切断活性をなくした dCas9 の端に短いアミノ酸配列（タグ）を複数個つないだものと (2) タグを認識して結合するミニ抗体に脱メチル化の最初の反応を起こす酵素TETをつなげたものを同時に細胞に導入すると特定の遺伝子に特異的に複数のTETが作用し、効率的に脱メチル化し遺伝子発現を十分に上昇させることができる (Nat. Biotech., 2016、図1)。これをエピゲノム編集法という。またこの技術をさらに応用発展させシルバーラッセル症候群モデル動物を作成した(Genome Biology, 2020、図2)。そこでシルバーラッセル症候群モデルマウスの供給支援をおこなう。

図1 エピゲノム編集法

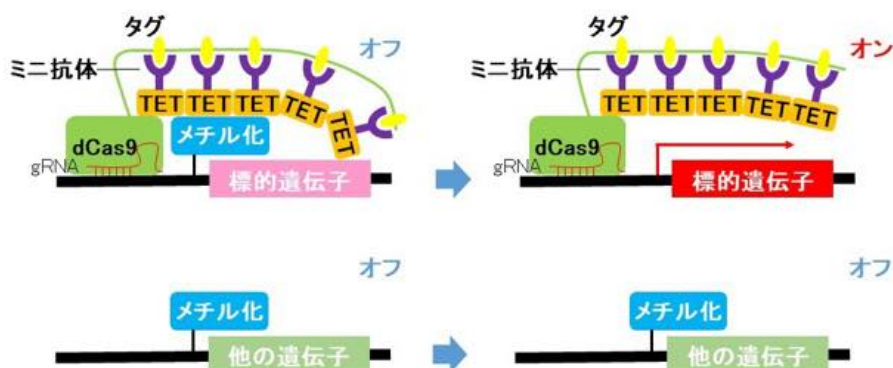


図2 シルバーラッセル症候群モデルマウス



### [3] 支援技術の利用例

- シルバーラッセル症候群モデルマウスを用いた治療薬試験、病態解析。

### [4] 支援担当者の研究概要

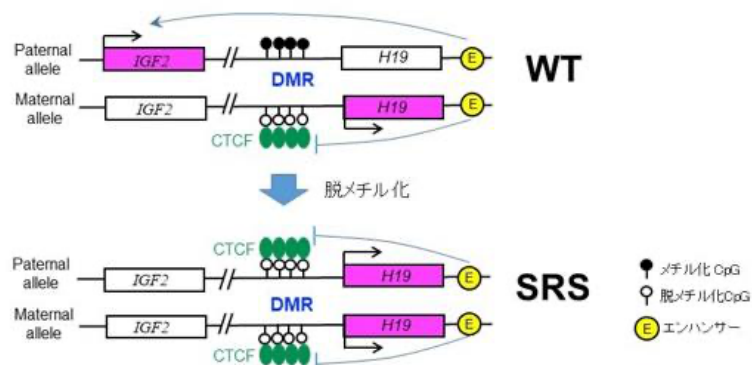
シルバーラッセル症候群は子宮内発育不全、成長障害、身体左右非対称、顔貌の異常などに特徴づけられる疾患である。染色体11p15上のH19遺伝子のメチル化の異常が、この疾患の主要な原因と考えられている。我々は効率的に脱メチル化し遺伝子発現を十分に上昇させることができるエピゲノム編集法を開発し (Nat. Biotech., 2016)、この技術をさらに応用発展させシルバーラッセル症候群モデル動物を作成した(Genome Biology, 2020)。

健常者(WT)では母親由来のアレルでは InsulatorにCTCFが結合するためEnhancerがIGF2に働かずIGF2が発現せずH19が発現する(図3)。それに対し父親由来のアレルはInsulatorがメチル化されてCTCFが結合しないためEnhancerがIGF2に働きIGF2が発現する。シルバーラッセル症候群の患者では父親由来のアレルが脱メチル化されており、InsulatorにCTCFが結合するためEnhancerがIGF2に働かずIGF2の発現がまったくなくなり子宮内発育遅延(UGR)を引き起こす。そこでエピゲノム編集によりCTCF結合部位を脱メチル化し、シルバーラッセル症候群モデルマウスを作製した。その結果、モデルマウスでは患者と同様にH19の発現が上昇、Igf2の発現が減少していた。このマウスを用いて表現型解析をおこなったところ、シルバーラッセル症候群の患者でみられる症状のうち、胎児の発育遅延、出生後の成長障害、顔貌の異常、食欲不振、低血糖、心臓の異常(線維化)、身体の左右非対称、頭が体の割に大きい、など多くの症状を再現していることがわかった。

図3 シルバーラッセル症候群(SRS)

**主な症状:**

子宮内発育不全、成長障害、身体左右非対称、大頭症など



# F7-1 ヒト化マウスを基盤とした創薬支援プラットフォーム

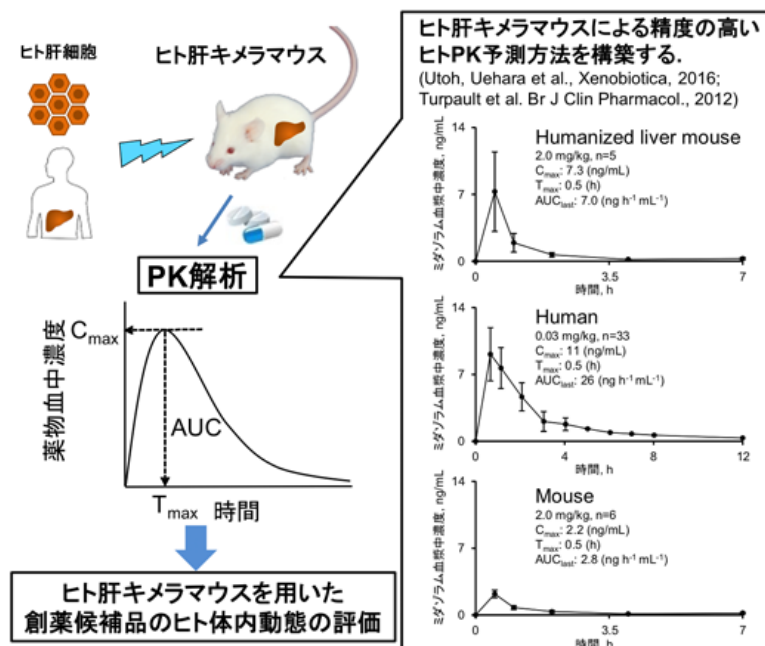
マウス/ラットを用いた創薬候補物質の薬物動態・薬理評価・安全性評価、ヒト肝マウスを用いた薬物代謝測定

## [1] 支援担当者

所属	①実験動物中央研究所	
氏名	①末水 洋志	
AMED 事業	ユニット/領域名 課題名	バイオロジカルシーズ探索ユニット ヒト化マウスを基盤とした創薬支援プラットフォーム
	代表機関 代表者	実験動物中央研究所 末水 洋志
支援技術のキーワード	ヒト肝マウス、薬物動態・薬理評価、薬物代謝測定、ヒト免疫系マウス、アレルギー	

## [2] 支援技術の概要

- ①通常のマウス/ラットを用いて候補物質の薬物動態 (PK)、薬効、安全性評価を高感度微量解析装置を用いて行う。
- ②独自に開発したTK-NOGヒト肝キメラマウス、当該マウスから単離した肝細胞 (Hu-Liver cell) を用いてPK、薬効、安全性評価を行う。
- ③ヒト化肝キメラマウスで残存するマウス由来CytochromP450酸化還元酵素遺伝子(Por)欠損マウスを作製し、PK解析、薬物代謝の特性評価を行う。
- ④担がんマウスモデル (転移モデルを含む) を用いた抗がん剤評価に加え、ヒト化免疫PDXマウスを用いた免疫チェックポイント阻害/分子標的候補薬の薬効、安全性評価を行う。
- ⑤ヒトI型アレルギーモデルによる、抗アレルギー薬候補物質の薬効評価を行う。



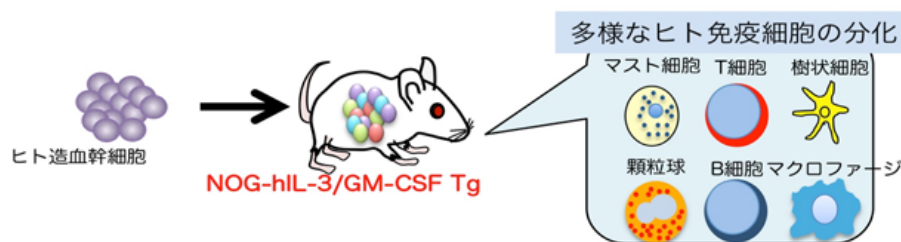


### [3] 支援技術の利用例

- ①通常のマウス/ラットおよびヒト肝の薬物代謝を外挿し得るヒト肝キメラマウスを用いた創薬候補物質のPK,薬効、安全評価を行い、臨床試験とのPOCに近づける。
- ②ヒト肝キメラマウス由来肝細胞（Hu-Liver cell）を用いて候補物質のスクリーニングを行う。
- ③ヒト肝キメラマウスに改良を加え、残存するマウス薬物代謝酵素を喪失させる。
- ④ヒト化免疫マウスによって確立したヒト疾患モデルを用いてヒト疾患に効果があり、安全性の高い創薬候補物質を選別する。

### [4] 支援担当者の研究概要

公益財団法人 実験動物中央研究所（実中研）は設立以来60余年に亘って、ポリオワクチン安全性試験に使われるポリオマウス（Tg-PVRマウス）、短期発がん試験に有用なrasH2マウスなどWHO,FDAを含む機関から国際標準として認められる数々の実験動物を開発してきた。最近では重度免疫不全マウスであるNOGマウスを開発し、これらに遺伝子改変を加えることによって多種の改良型NOGマウスを作製している。今回の支援で用いるTK-NOGヒト肝キメラマウスのほか、ヒトサイトカインや血球増殖因子遺伝子を導入したマウスにヒト造血幹細胞を移入したヒト化免疫マウスは多くの研究機関、企業から創薬開発にその有用性を高く評価されている。中でも、NOGマウスにIL3およびヒトGM-CSFを遺伝子導入したNOG-hIL-3/GM-CSF Tgマウスに造血幹細胞を移入すると各種ヒト白血球が分化し、ヒトI型アレルギーである喘息や食物アレルギーのモデルを作製することができる。また、このマウスにPDXを移植して免疫チェックポイント阻害候補薬を投与し、その消長を解析することでその薬効を評価できる。実中研ではこのような新規実験動物の開発とともに、これらユニークな動物を必要数揃えるための生産グループも有しており、研究、開発、生産、受託をワンストップで実施可能である。このように本グループではNOGマウスを基盤としてヒトへの外挿性の高い実験動物を用いることによってアカデミアで見いだされた創薬候補物質の非臨床試験と臨床試験のPOCを可能な限り一致させるための支援を行う。



# F8-1 心血管安全性評価を通じた創薬支援

hERG試験やヒトiPS心筋を利用した*in vitro*評価から非げっ歯類を利用した*in vivo* QT延長試験まで心血管安全性評価を総合的に実施する。

## [1] 支援担当者

所属	①東邦大学 医学部	
氏名	①内藤 篤彦、杉山 篤	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	バイオリジカルシーズ探索ユニット アカデミア創薬支援を目的とした統合的な心血管安全性評価試験系の開発
	代表機関 代表者	東邦大学 内藤 篤彦
支援技術のキーワード	催不整脈性評価、心毒性評価、安全性薬理試験、循環器創薬支援	

## [2] 支援技術の概要

心臓に対する毒性は医薬品の開発中止理由として最も大きな割合を占めており、開発候補化合物の心臓に対する安全性をより早期に、より正確に評価することは、創薬研究において最も重要な事項の一つである。そのために我々は、外部研究者から提供された医薬品候補化合物に対して心臓に対する安全性を評価するための*in vitro*および*in vivo*安全性薬理試験を実施する。

*In vitro*試験としては、hERG試験およびヒトiPS細胞由来心筋細胞を利用した薬理試験を通じて医薬品候補化合物の催不整脈性を評価するとともに、独自の実験系を利用して心臓の左室機能を障害するような毒性の評価を実施する。*In vivo*試験としては、げっ歯類だけでなく臨床試験を実施するために必要な非げっ歯類を利用して、ホルター心電図を用いた覚醒条件下でのQT時間延長作用や麻酔下での薬理試験等を通じて循環器系に対する安全性を評価する。

我々の支援を通じて循環器系に対する安全性が担保されることによって、アカデミアで開発された医薬品候補化合物の臨床への橋渡しや製薬企業等への導出が促進されるものと確信している。

## [3] 支援技術の利用例

- 化合物の絞り込み  
スクリーニングを通じて得られたヒット化合物の中からリード化合物を絞り込む際やリード化合物の最適化を行う際、我々が*in vitro*での薬理試験を実施することで、より循環器系に対する安全性の高い化合物を選別することが可能になる。
- 循環器系に対する安全性評価  
化合物の最適化を終えてモデル動物に対する薬効が確認された後、臨床試験を実施する前の安全性評価に我々の技術を利用することで、循環器系に対する安全性を様々な角度から評価することが可能である。特に、hERG阻害作用が認められる化合物やげっ歯類を用いた試験で循環器系への影響が認められた化合物のように、循環器系に対する安全性が疑わしい化合物については、ヒトに近い薬理反応を示す非げっ歯類モデルを利用することで「拾い上げる」ことができる可能性がある。
- 心疾患治療薬スクリーニング  
我々のヒトiPS細胞由来心筋細胞を利用した独自の実験系は、例えば心不全や不整脈といった心筋細胞の異常が原因となる疾患に対する新規治療薬のスクリーニングや薬理作用評価にも利用することが可能である。



## [4] 支援担当者の研究概要

- ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた創薬研究（内藤）

遺伝子改変や特殊培養系開発を通じてヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた心疾患モデルを複数作成し、製薬企業との共同研究等を通じて心疾患に対する新規治療薬開発研究を実施している。

- 超小型ミニブタの開発・応用

「ブタ」の実験モデル動物への応用研究を進め、成豚でも体重10kg程度の世界最小サイズの超小型ミニブタ（登録名：マイクロミニピッグ）の開発に成功した。慢性心不全、QT延長症候群、薬物代謝・動態など、様々な分野の研究への応用に向けたマイクロミニピッグの特徴づけを行っている。その他、薬物誘発致死性不整脈の予知システムの開発、拡張不全型心不全の治療戦略の開発、心肺蘇生時の心行動態・病態薬理の解明研究などを実施している。

# F9-1 *In vivo*薬物動態試験

化合物の*in vivo*投与による薬物動態試験支援

## [1] 支援担当者

所属	①大阪大学 大学院薬学研究科 ②大阪府立大学 大学院生命環境科学研究科	
氏名	①中川 晋作、辻川 和丈 ②井澤武史	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	バイオリジカルシーズ探索ユニット アカデミア創薬における薬物動態・安全性評価基盤の構築
	代表機関 代表者	大阪大学 中川 晋作
支援技術のキーワード	薬物動態試験、薬物動態パラメーター、実験動物	

## [2] 支援技術の概要

生体における開発候補化合物の薬物動態 (Pharmacokinetics: PK) は、吸収 (Absorption)、分布 (Distribution)、代謝 (Metabolism)、排泄 (Excretion) により規定される。開発候補化合物を医薬品へと導くために実施される臨床試験の第I相試験においては、ヒトに対する薬物動態と安全性が検証される。そのため創薬研究では、臨床試験以前の段階から化合物の薬効とともに薬物動態を*in vivo*で検討する必要がある。大阪大学薬学研究科附属創薬センター薬物動態・安全性試験ユニットでは、開発候補化合物の有用性を評価する上で重要となる薬物動態試験を支援する。

## [3] 支援技術の利用例

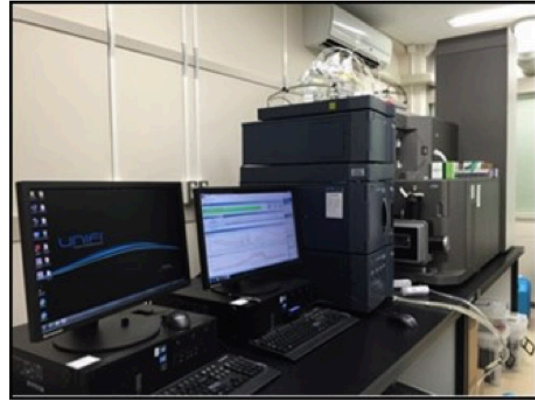
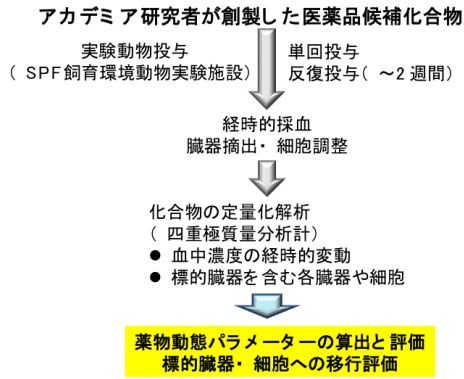
### 1. 薬物動態試験支援

支援依頼者から附属創薬センター薬物動態・安全性試験ユニットに送付された開発候補化合物を実験動物に投与した後、経時的採血と臓器摘出・細胞調製を行う。高速液体クロマトグラフィー-タンデム四重極質量分析装置を用いて薬物動態パラメーターの算出、標的臓器・細胞への移行を評価する。薬物動態パラメーターとしてはVolume of distribution (Vd)、Area Under the Curve (AUC)、Clearance (CL)、Half-Life ( $t_{1/2}$ )、血中最大濃度 (Cmax) と血中最大濃度時の時間 (Tmax) 等を算出し、その結果を支援依頼研究者にフィードバックする。使用実験動物はマウスやラット、投与回数は単回あるいは連続 (2週間まで) 投与、投与方法は経口、皮下、静脈内などの対応を行う。

### 2. 創薬支援利用施設、設備

大阪大学薬学研究科附属動物実験施設、イオンモビリティ搭載四重極飛行時間型質量分析装置(Vion)、超高速液体クロマトグラフィー-タンデム四重極質量分析装置(Xevo TQ-XS)など。

## In vivo薬物動態試験



四重極飛行時間型質量分析装置



四重極質量分析装置

## [4] 支援担当者の研究概要

大阪大学薬学研究科附属創薬センター (Drug Innovation Center: DiNC) 薬物動態・安全性試験ユニット (Pharmacokinetics and Safety Studies Unit: PKSA)において、製薬会社出向、出身の研究者や大阪大学薬学研究科教員が、開発候補化合物の実験動物への投与による薬物動態解析を支援する。またPKSAと製薬会社出向の創薬化学研究者が所属している構造展開ユニット (LEU) 間では相互連携体制が構築されており、創薬サイエンス研究支援拠点においてアカデミア創薬研究をシームレスに支援する体制が整えられている。

大阪大学大学院薬学研究科附属創薬センター薬物動態・安全性試験ユニットHP：[http://www.phs.osaka-u.ac.jp/souyaku\\_kyoten/about/stc.html](http://www.phs.osaka-u.ac.jp/souyaku_kyoten/about/stc.html)

## 大阪大学における創薬研究のシームレスな支援体制

### 薬学研究科 創薬サイエンス研究支援拠点



# F9-2 *In vivo*安全性試験

化合物の*in vivo*投与による安全性試験支援

## [1] 支援担当者

所属	①大阪大学 大学院薬学研究科 ②大阪府立大学 大学院生命環境科学研究科	
氏名	①中川 晋作、辻川 和文 ②山手 丈至	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	バイオリジカルシーズ探索ユニット アカデミア創薬における薬物動態・安全性評価基盤の構築
	代表機関 代表者	大阪大学 中川 晋作
支援技術のキーワード	安全性試験、血球細胞分析、血清生化学的解析、実験動物	

## [2] 支援技術の概要

創製される開発候補化合物の有用性を評価する上で、実験動物を用いた安全性試験はそれに続く人を対象とした臨床試験を展開する上で必須項目である。そこで大阪大学薬学研究科創薬サイエンス研究支援拠点の附属創薬センター薬物動態・安全性試験ユニットならびに大阪府立大学生命環境科学研究科獣医学専攻では、開発候補化合物を動物に投与することによる安全性を評価し、製薬企業などへ導出可能な有望な化合物シーズを見極める安全性試験を支援する。

## [3] 支援技術の利用例

### 1. 安全性試験支援

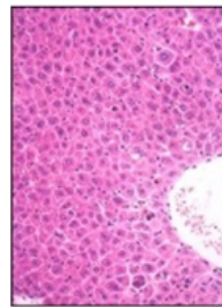
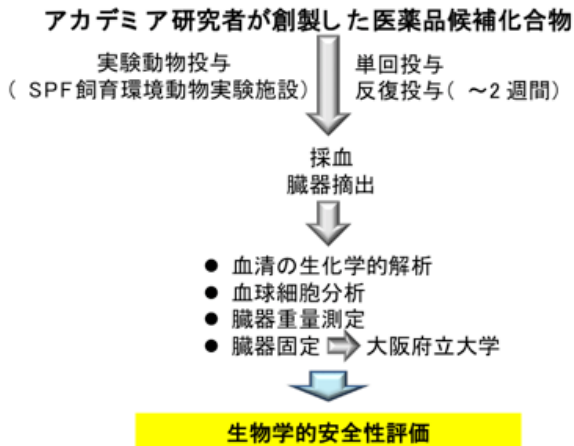
支援依頼者から附属創薬センター薬物動態・安全性試験ユニットに送付された開発候補化合物を実験動物に投与した後、経時的採血、臓器重量測定、臓器のホルマリン固定を行う。血液を用いて血球細胞分析や血清の生化学的解析を行う。またホルマリン固定臓器を用いて3-5 μmの厚さのパラフィン包埋切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色後に、光学顕微鏡を用いて形態学的解析を行う。細胞の変性や壊死を毒性病理学的変化の指標とし、毒性発現の標的臓器・組織を同定する。

使用実験動物はマウスやラット、投与回数は単回あるいは連続（2週間まで）投与、投与方法は経口、皮下、静脈内などの対応を行う。

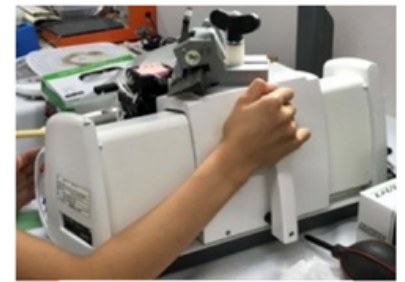
### 2. 創薬支援利用施設、設備

大阪大学薬学研究科附属動物実験施設、多項目自動血球分析装置（XT-2000iV）、生化学自動分析装置（DRI-CHEM）、自動マイクローム、自動染色装置など

## In vivo安全性試験支援



ラット肝臓のヘマトキシリン-エオシン染色



自動マイクローム



自動染色装置

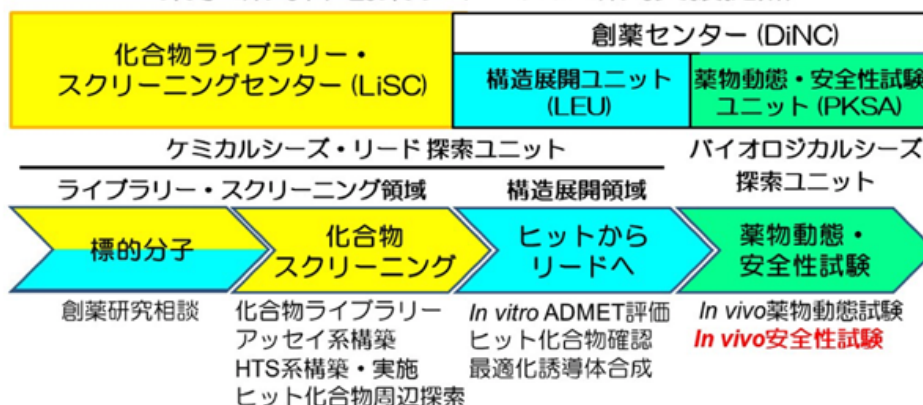
## [4] 支援担当者の研究概要

大阪大学薬学研究科の附属創薬センター (Drug Innovation Center: DiNC) 薬物動態・安全性試験ユニット (Pharmacokinetics and Safety Studies Unit: PKSA)において、製薬会社出向、出身の薬物動態・安全性試験研究者や大阪大学薬学研究科教員が、開発候補化合物を実験動物へ投与、採血と臓器摘出を担当する。血球細胞分析は多項目自動血球分析装置で、血清の生化学的試験は生化学自動分析装置を用いて実施する。臓器はホルマリン固定後、大阪府立大学へと送付される。大阪府立大学では自動マイクロームや自動染色装置を用いて病理組織切片の染色が行われ、獣医病理学・毒性病理学を専門とし、日本獣医病理認定資格JCVP、日本毒性病理認定資格JSTPを有する獣医師が安全性評価を担当する。またPKSAと製薬会社出向の創薬化学研究者が所属している構造展開ユニット (LEU) 間では相互連携体制が構築されており、アカデミア創薬研究をシームレスに支援する体制が創薬サイエンス研究支援拠点では整えられている。

大阪大学大学院薬学研究科附属創薬センター薬物動態・安全性試験ユニットHP : [http://www.phs.osaka-u.ac.jp/souyaku\\_kyoten/about/stc.html](http://www.phs.osaka-u.ac.jp/souyaku_kyoten/about/stc.html)

## 大阪大学における創薬研究のシームレスな支援体制

### 薬学研究科 創薬サイエンス研究支援拠点





# F9-3 薬物動態イメージング解析

薬物動態のin vivoイメージング解析支援

## [1] 支援担当者

所属	①大阪大学 薬学研究科	
氏名	①辻川 和丈、長谷 拓明、石村 里佳	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	バイオリジカルシーズ探索ユニット アカデミア創薬における薬物動態・安全性評価基盤の構築
	代表機関 代表者	大阪大学 中川 晋作
支援技術のキーワード	薬物動態、 <i>In vivo</i> 、イメージング質量顕微鏡	

## [2] 支援技術の概要

リード化合物の創製においてin vivo薬物動態解析は重要な情報を提供する。現在薬物動態解析では、被検化合物を小動物に投与後、経時的に採血し、血中の被検化合物濃度を質量分析計等により解析することにより薬物動態パラメーターの算出を行っている。一方、薬物動態の標的組織や臓器レベルでの解析は、血液を用いた解析では得られない薬効発現につながる被検化合物の動態情報を得ることができる。本支援では、イメージング質量顕微鏡を用い、光学顕微鏡による組織・臓器レベルの情報と質量分析計によるMSイメージを融合させる解析技術により、組織・臓器中の被検化合物や代謝物の分布解析を行い、薬効発現との関連性などこれまでには得られなかった情報の取得が可能になる。

イメージング質量顕微鏡

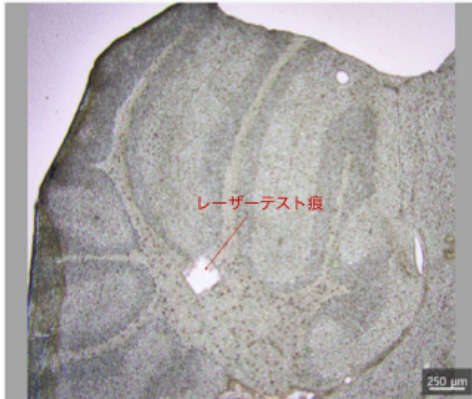


### [3] 支援技術の利用例

クロルプロマジンを投与したマウスの小脳を用いて凍結組織切片を作製した。マトリックスとして $\alpha$ -シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸(CHCA)を蒸着後、イメージング質量顕微鏡 (iMScope) により分析した。またクロルプロマジンの代謝経路から、組織レベルでの代謝物も検出した。

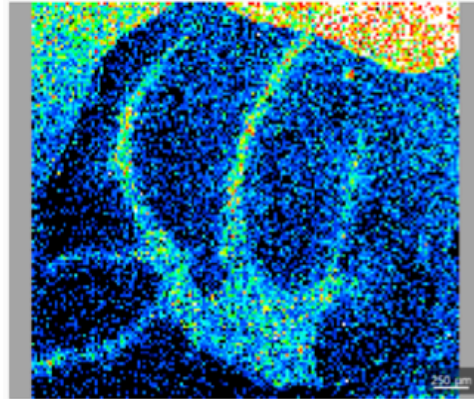
#### 【クロルプロマジン投与後マウス小脳のiMScope画像】

顕微鏡画像 (5倍)



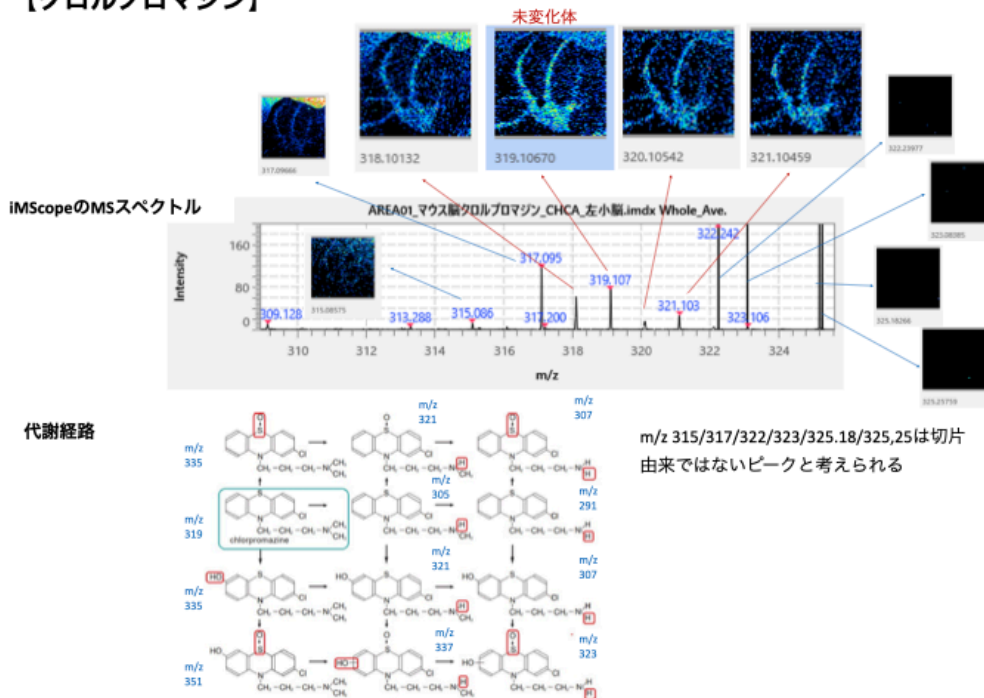
※ 5倍,10倍,40倍,広視野,プレート全体,の撮影が可能

MS\_TICイメージング画像 (約3万ピクセル)



※ 最高100万ピクセルまで測定可

#### 【クロルプロマジン】



### [4] 支援担当者の研究概要

大阪大学薬学研究所創薬サイエンス研究支援拠点附属創薬センター (Drug Innovation Center: DiNC) では、薬物動態・安全性試験ユニット (Pharmacokinetics and Safety Studies Unit: PKSA)において製薬会社出身の薬物動態・安全性試験研究者や大阪大学薬学研究所の研究者が、リード化合物の創製において重要となるin vivo薬物動態や安全性試験の支援を行っている。その支援においては被検化合物を実験動物へ投与し、採血した血中の血球細胞は多項目自動血球分析装置により、また血清は生化学自動分析装置による解析を実施している。さらに摘出臓器はホルマリン固定後、自動マイクロームや自動染色装置を用いて病理組織切片の染色が行われる。それらの安全性評価における病理所見は、獣医病理学・毒性病理学を専門とし、日本獣医病理認定資格JCVP、日本毒性病理認定資格JUSTPを有する獣医師が担当している。

大阪大学大学院薬学研究所創薬サイエンス研究支援拠点の全支援内容は下記HPから知ることができる：[http://www.phs.osaka-u.ac.jp/souyaku\\_kyoten/about/](http://www.phs.osaka-u.ac.jp/souyaku_kyoten/about/)

# F10-1 人工染色体技術を用いたヒト化マウス／ラットおよび多機能細胞による創薬支援

人工染色体技術を用いて開発したヒト化マウス／ラットおよび多機能細胞の提供、それらを用いた創薬支援

## [1] 支援担当者

所属	①鳥取大学 染色体工学研究センター	
氏名	①香月 康宏	
AMED 事業	ユニット／領域名 課題名	バイオリジカルシーズ探索ユニット 人工染色体技術を用いたヒト化マウス／ラットおよび多機能細胞による創薬支援
	代表機関 代表者	鳥取大学 香月 康宏
支援技術のキーワード	ヒト化動物、人工染色体、薬物動態試験、薬物代謝酵素、抗体医薬品	

## [2] 支援技術の概要

- 人工染色体を用いて作製された薬物動態試験モデル・毒性試験モデル・完全ヒト抗体産生動物などの「資材」の提供
- 人工染色体導入モデルを用いた薬物動態試験・毒性試験・完全ヒト抗体シーズ取得に関する「技術」の提供
- 人工染色体を用いた薬物動態試験・毒性試験のための新規モデル作製に関する「支援」

## 本研究の基盤となる人工染色体技術とは？

### ヒト/マウス染色体

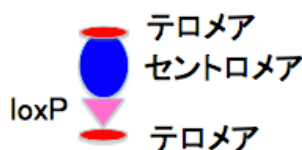


不要な遺伝子領域を削除



loxPを搭載

### ヒト/マウス人工染色体 (HAC/MAC)



### 人工染色体の特徴

- ・内在染色体とは独立に維持される
- ・一定のコピー数で安定に維持される
- ・過剰発現／発現消失がない
- ・導入遺伝子サイズに制限がない



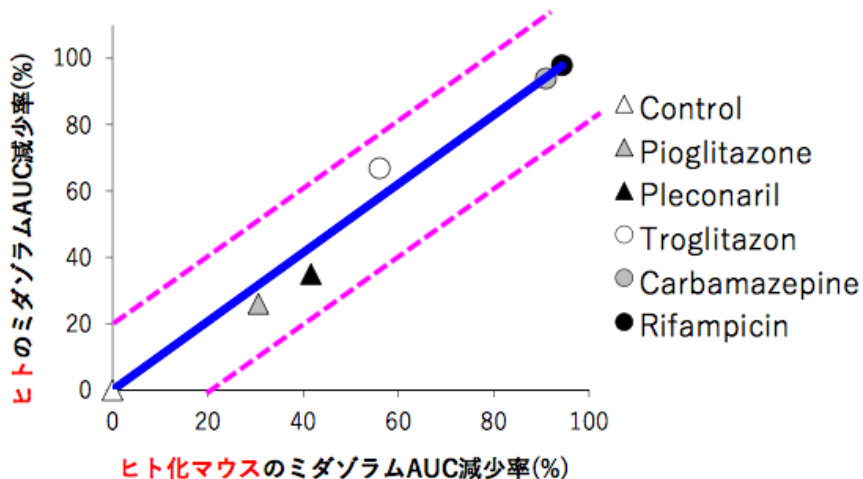
### [3] 支援技術の利用例

ヒト化動物は、薬物代謝酵素誘導剤によるヒト特異的な遺伝子発現変化のみならず、それに伴う被代謝物の血中動態に関して、ヒトを再現することが可能である。図はヒト化CYP3A/PXRマウスを用いた薬物代謝酵素誘導試験の結果を示す。

#### 人工染色体による ヒト化CYP3A/PXRマウス



#### 各種CYP3A誘導剤併用時における CYP3A被代謝薬物ミダゾラムのAUC減少率の比較



### ヒト化CYP3A/PXRマウスを用いた薬物代謝酵素誘導試験

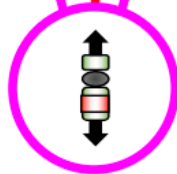
### [4] 支援担当者の研究概要

種差を克服したヒト化動物は、ヒト特異的な薬物動態を予測する上で、あるいはヒト抗体医薬品シーズを作製する上で大きな役割を果たすと考えられる。

しかし、多くの遺伝子は群 (>数100kb) を形成し、従来技術では全長搭載することがきわめて困難であった。

それを背景に、我々は独自に開発した人工染色体ベクターを利用し、これまでに様々な完全長遺伝子導入ヒト化マウス/ラットの作製に成功してきた(ヒト化薬物動態モデル動物、完全ヒト抗体産生動物)。一方で、動物モデルのみではなく、人工染色体を用いて、毒性・薬物相互作用をハイスループット評価可能で医薬品開発初期から利用可能な高性能、多機能細胞の作製にも成功してきた。本研究では「動物モデル」および「細胞モデル」の2つの側面から、人工染色体技術を用いた薬物動態・毒性試験モデル・完全ヒト抗体産生動物の作製・改良、およびそれらを利用した薬物動態・毒性試験・ヒト抗体シーズ取得を支援する。

## ヒト化マウス/ラット



## 多機能細胞



### 資材

#### 動物資材支援

- ✓hCYP3Aマウス、ラット
- ✓hMDR1マウス
- ✓hCYP2Cマウス
- ✓hOATP1マウス
- ✓hUGT2マウス、ラット
- ✓hPXR/CAR/AhRマウス、ラット など

### 技術

#### 動物実験支援

- ✓薬剤投与
- ✓経時的採血
- ✓組織切片作製
- ✓カニューレーション手術
- ✓DNA/RNA抽出
- ✓ミクロソーム抽出
- など

#### 細胞資材支援

- ✓代謝酵素強制発現細胞 (HepG2細胞)
- ✓初回通過代謝評価細胞 (Caco-2細胞)
- ✓代謝酵素誘導HTP評価細胞 (HepG2細胞)
- ✓腎毒性HTP評価細胞 (S3細胞) など

#### 細胞評価支援

- ✓化合物および代謝物の定量試験
- ✓化合物の細胞膜透過試験
- ✓リアルタイム発光測定による経時的定量
- など