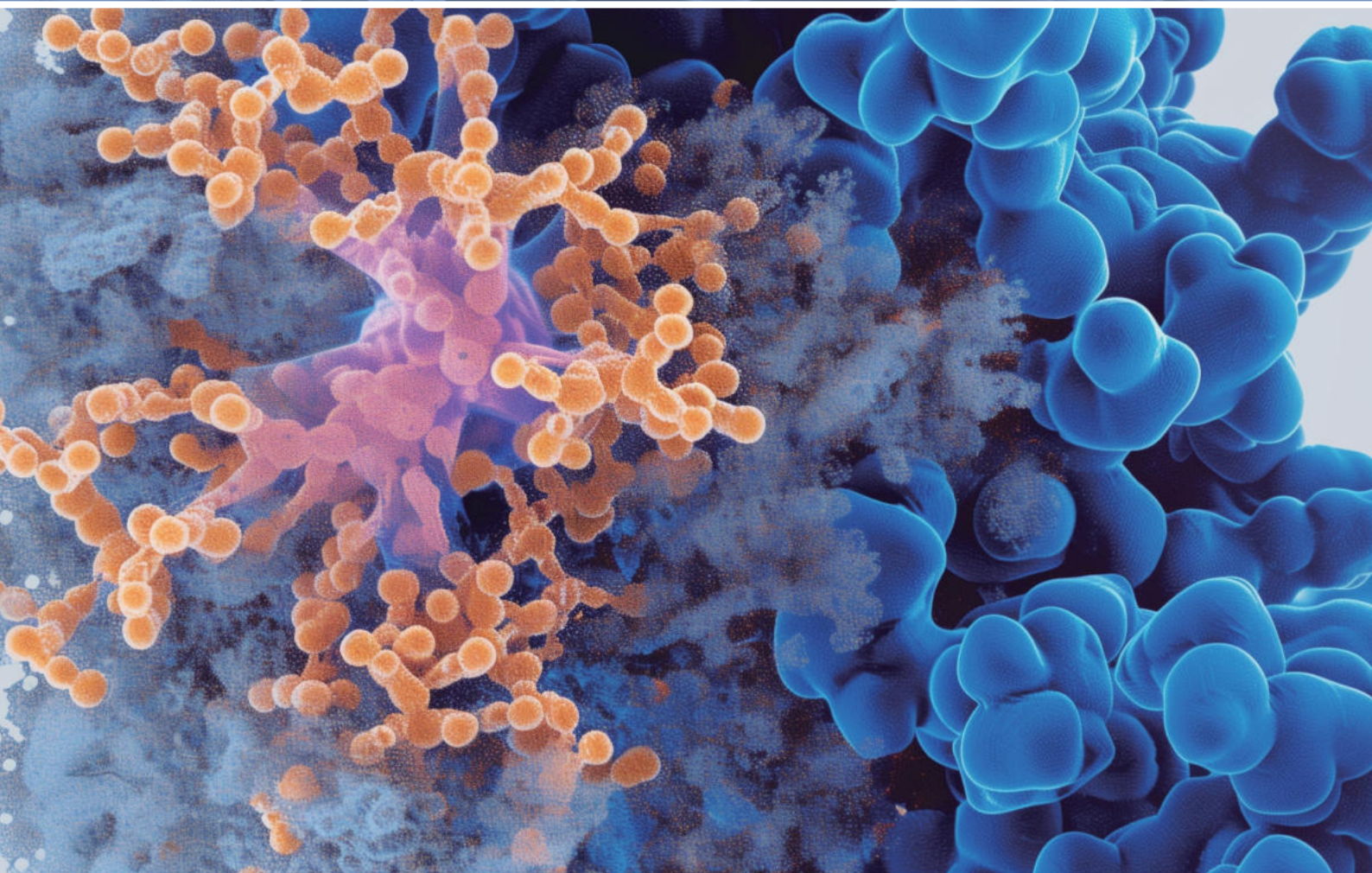


キナーゼ統合型創薬

ターゲットソリューションで新たな可能性を切り拓く



キナーゼ生化学アッセイ

ICE Bioscienceの幅広いポートフォリオには、数多くのキナーゼアッセイが含まれており、創薬分野におけるリーダーとしての地位を確立しています。当社の専門知識は、クライアントのニーズに合わせてカスタマイズされたアッセイの開発にも及んでいます。必要なキナーゼアッセイを確実に提供することで、研究者や組織は当社と自信を持って連携し、プロジェクトを進めることができます。当社の豊富なポートフォリオは600種類以上のキナーゼアッセイを特徴としており、多様な研究ニーズや用途に応じたさまざまな形式で利用可能です。

- **発光ベースの活性アッセイ (ADP-Glo):** これらのアッセイは、ADPの生成を検出し、感度が高く広いダイナミックレンジを持つ発光を使用してキナーゼ活性を測定します。このため、高スループットスクリーニングに適しています。
- **HTRFベースの活性アッセイ:** 均一時間分解蛍光 (HTRF) アッセイは、高スループット性能と堅牢性を備えており、ドナー分子とアクセプター分子間のエネルギー移動を通じてキナーゼ活性を測定する非放射性的な手法を提供します。

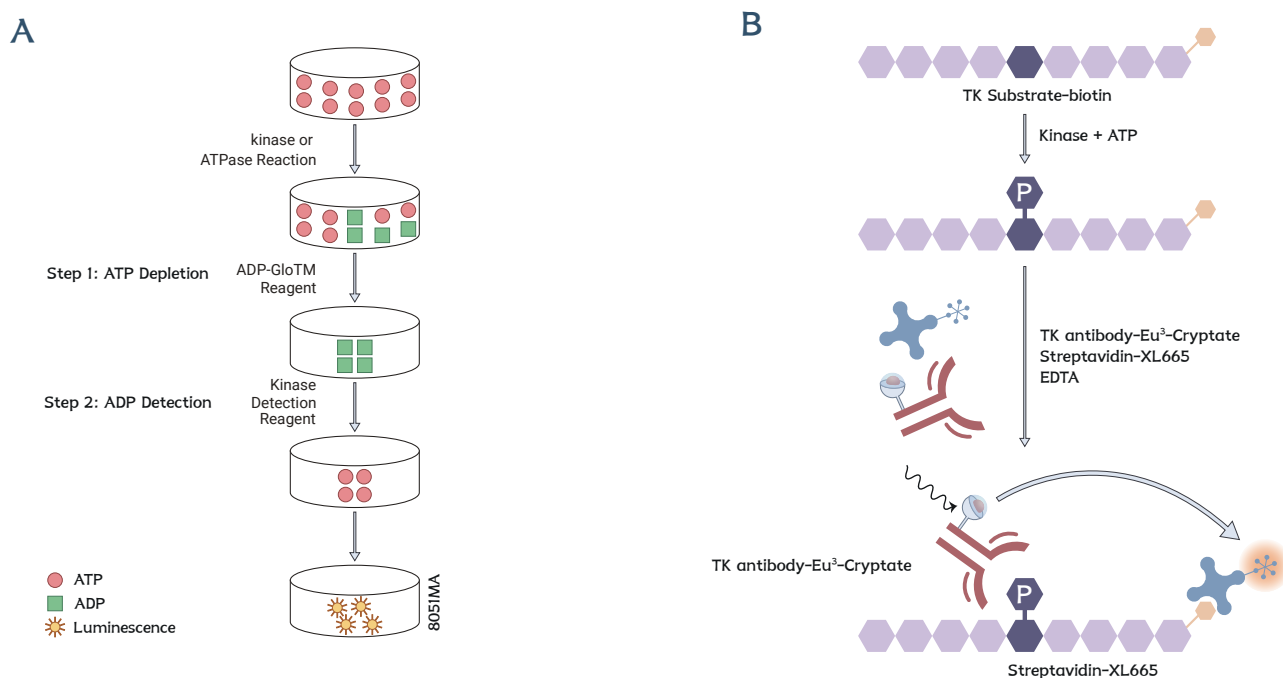


図2.
 (A) ADP-Glo™アッセイは、ADPの生成量を定量することでキナーゼ活性を測定します。発光は反応後の酵素活性を示します。
 (B) HTRFアッセイは、ドナーおよびアクセプター蛍光色素を使用してリン酸化基質を検出し、その結果得られる蛍光強度はキナーゼ活性に比例します。

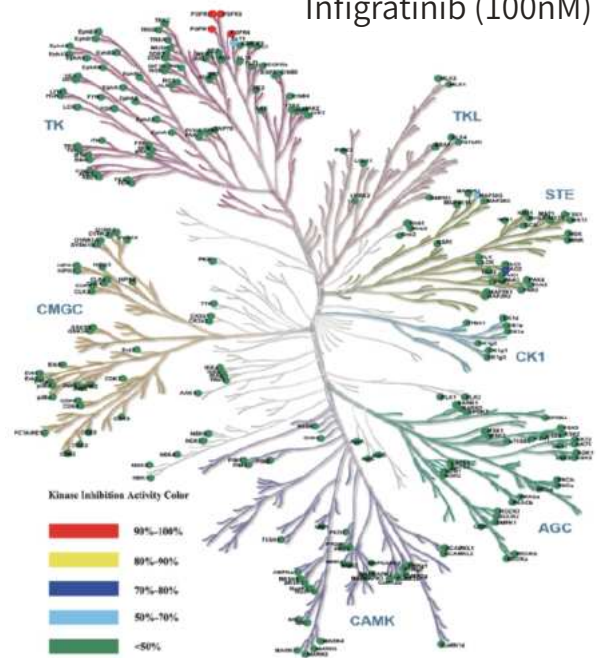
キナーゼパネルスクリーニング

キナーゼパネルスクリーニングは、キナーゼ創薬の初期段階で使用される高スループット手法であり、幅広いキナーゼ標的にわたって、治療候補化合物の活性および特異性を迅速に評価します。

Kinase Panels	Panel Size	Features
KinomeMINI WT Panel	80	Economical, rapid screening, essential core WT kinases
KinomeMED WT Panel	217	Intermediate panel offering a wider range of WT kinases
KinomeMAX WT Panel	330	Broad spectrum panel for extensive kinase profiling
KinomeFULL Panel	416	Comprehensive coverage of the entire human kinome
TK WT Panel	76	Targeted selection of the tyrosine kinase family
CDK Panel	16	Specialized for the cyclin-dependent kinase family
LIPID Kinase Panel	25	Focused on phosphatidylinositol kinases
Customized Panel	Custom	Tailored to specific research needs, highly flexible

この系統樹は、ICE Bioscienceのキナーゼパネルを用いて、100nMの濃度でInfigratinibをさまざまなキナーゼファミリーに対してスクリーニングした結果を示しています。キナーゼは、TK、TKL、STE、CMGC、CK1、AGC、CAMKなどのファミリーに分類され、それぞれの進化的関係に基づいてプロットされています。

Infigratinibが示す阻害の程度は色分けされており、この可視化により、どのキナーゼが異なるファミリー内およびファミリー間で最も影響を受けているかを特定することで、化合物の効力と特異性を迅速に評価できます。これにより、治療候補としての可能性や標的外効果の決定に役立ちます。



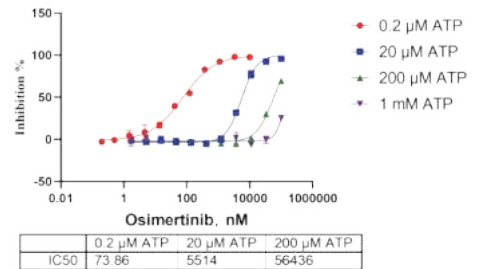
- **高い再現性:** 当社のアッセイは常に信頼性が高く、多様な研究環境において比較可能な検証済みの結果を保証します。
- **系統樹の可視化:** 化合物の特異性やキナーゼファミリーの活性に関する明確な洞察を得るため、スクリーニング結果を系統樹で視覚化します。
- **柔軟な成果物:** 単一ポイントの阻害率を用いた活性のスナップショットや、詳細なIC50値を用いた効力解析を選択可能です。

MoA (作用機序) 研究

ATP競合試験 (キナーゼ阻害剤向け)

このアッセイでは、阻害剤がキナーゼの活性部位でATPと競合するかどうかを判定します。ATP濃度が上昇するにつれて阻害剤の効力が低下する場合、ATP競合が示唆されます。

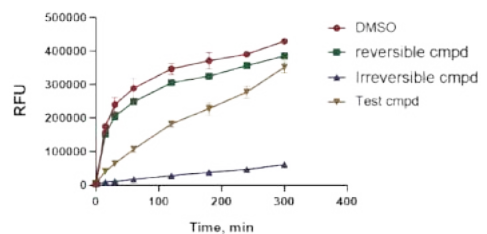
Osimertinib titration in EGFR T790M L858R C797S HTRF assay



可逆的および非可逆的阻害剤のジャンプ希釈試験

このアッセイでは、希釈後にキナーゼ活性を測定することで、可逆的阻害剤と非可逆的阻害剤を区別します。可逆的阻害剤の効果は希釈後に減少しますが、非可逆的阻害剤の効果は希釈後も持続します。

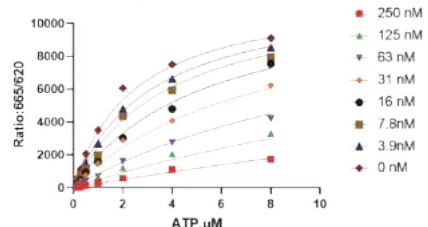
Irreversible Vs reversible_Jump dilution

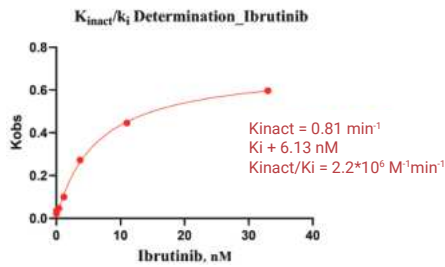


阻害モードおよびKi値の決定

動態解析を実施し、阻害モードを判定するとともに、阻害剤のキナーゼへの結合親和性を示すKi値を計算します。

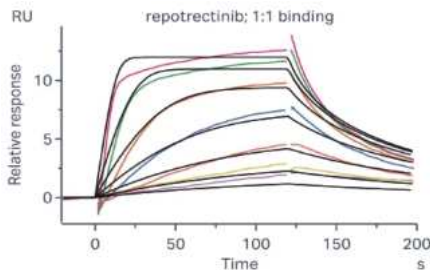
MET ATP competitive Ki = 14.46 nM





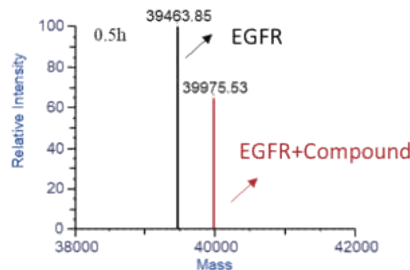
共有結合化合物のKinact/Ki試験

共有結合阻害剤の反応速度 (Kinact) と共有結合前の親和性 (Ki) を評価し、効力と結合の永続性に関する洞察を提供します。



SPRを使用した生物物理学的アッセイ

キナーゼ阻害剤の結合動態 (会合および解離速度) および親和性 (KD) を測定します。この技術はラベルフリーで、結合イベントを直接測定できるため、キナーゼとその阻害剤との相互作用動態を理解する上で非常に有用です。

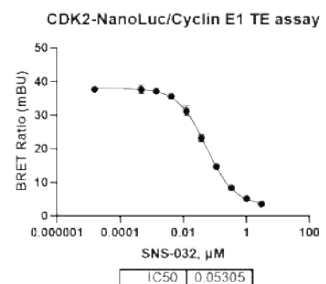
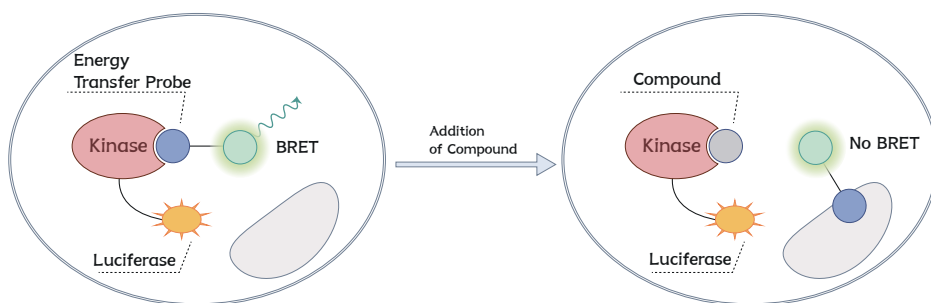


LC/MSを使用した共有結合アッセイ

LC/MSは、キナーゼと阻害剤間の共有結合を特定し、特性評価するために使用されます。反応前後の質量スペクトルデータを提供することで、共有結合複合体の形成および非可逆的阻害剤のメカニズムを確認できるほか、質量マッピングを通じて結合部位を特定することも可能です。

NanoBRETターゲットエンゲージメントキナーゼアッセイ

ICE Bioscienceは、160種類以上のNanoBRET TEキナーゼアッセイの幅広い選択肢を提供しています。このアッセイは、生きた細胞内でキナーゼと試験化合物との相互作用を測定するための最先端の方法です。この方法は、生物発光共鳴エネルギー移動 (BRET) 技術を採用しており、生物発光ドナーと蛍光アクセプターが近接した際にエネルギー移動が発生するという近接依存型のアッセイです。



The BRET ratio decreases as the concentration of the inhibitor (SNS-032) increases, indicating the inhibitor's binding to the kinase complex.

- **生細胞での応用:** 細胞溶解を必要とする従来のアッセイとは異なり、NanoBRETアッセイは生細胞内で実施され、細胞の自然な状態を保持しながらリアルタイムでの動態測定を可能にします。
- **定量的:** 試験化合物とキナーゼ標的との結合親和性および占有率に関する定量的データを提供します。
- **スループットの柔軟性:** 高スループットスクリーニングと詳細な機構研究の両方に対応しており、創薬のさまざまな段階での用途に適しています。

BaF3細胞増殖アッセイ

BaF3細胞増殖アッセイは、成長と生存のためにインターロイキン-3 (IL-3) に依存するマウス由来の前駆B細胞株であるBaF3細胞を利用します。このアッセイは、造血系およびリンパ系悪性腫瘍を標的とする薬剤の効力と有効性を評価するために一般的に使用されます。BaF3細胞は、細胞増殖を促進する腫瘍性キナーゼを発現するように設計されており、キナーゼ関連シグナル経路の研究や、キナーゼ阻害剤の標的外効果の評価に役立ちます。

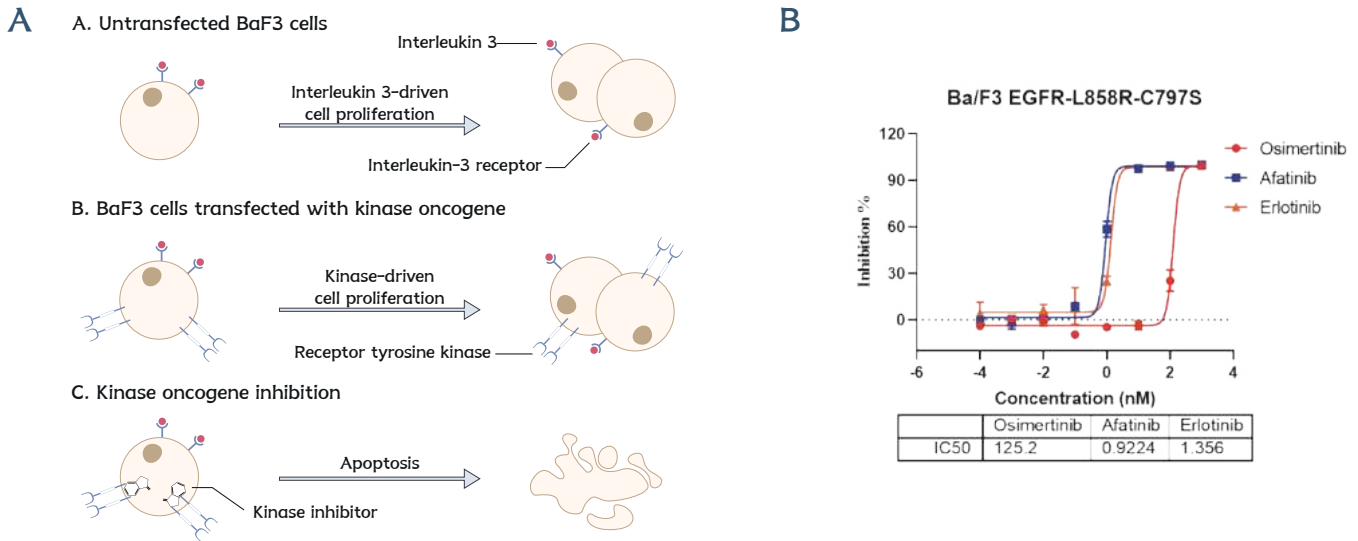


図3.

(A) BaF3細胞は増殖にIL-3を必要とします。化合物を試験する際、受容体型チロシンキナーゼの過剰発現により、IL-3の補充なしでBaF3細胞株が成長できるように設計されています。化合物が標的を効果的に阻害すると、IL-3がない状態で細胞の増殖が停止または死滅し、その化合物が特定のキナーゼ活性によって駆動されるがんに対する治療薬の可能性を示します。

(B) EGFR-L858R-C797S変異を発現するBaF3細胞の阻害曲線は、オシメルチニブ、アファチニブ、エルロチニブを処理した場合、それぞれの阻害剤がこの特定のEGFR変異に対して持つ相対的な効力を示しています。

BaF3細胞パネルスクリーニング

BaF3細胞パネルスクリーニングは、薬剤の有効性を評価し、薬剤耐性および感受性のメカニズムを探るための信頼性の高いツールとして機能します。これは、がん標的治療の開発において非常に重要です。

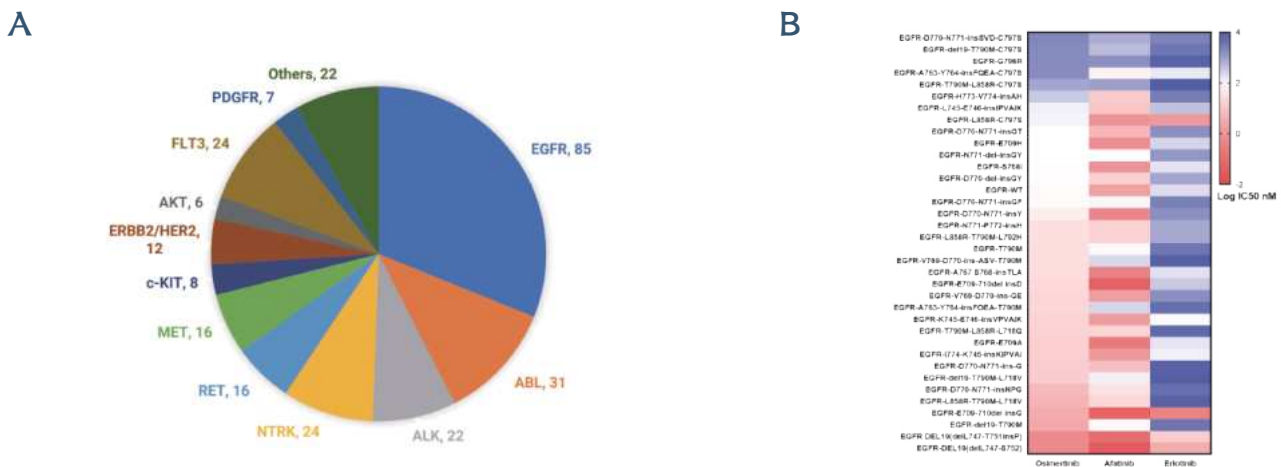


図4.

(A) 各キナーゼ標的に利用可能な細胞株数を詳述した当社の包括的な BaF3 細胞パネル。

(B) BaF3 パネルアッセイの結果を示しており、オシメルチニブ、アファチニブ、エルロチニブなどの異なる阻害剤で処理された場合の各種 EGFR 変異体の Log IC50 値が表示されています。各行は特定の EGFR 変異を表し、色のグラデーションは阻害の効力を反映しています。赤は高い効力(低い IC50 値)を、青は低い効力(高い IC50 値)を示しています。

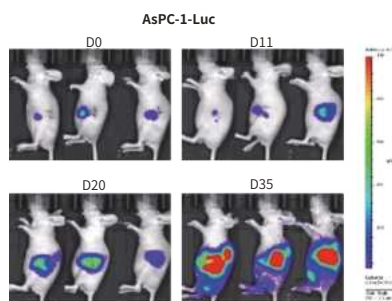
細胞ベースのキナーゼアッセイポートフォリオ

ICE Bioscienceは、細胞ベースのキナーゼアッセイの包括的なラインアップを提供しています。これには、高度な検出方法と多様な細胞モデルを活用して、キナーゼ活性、阻害、およびタンパク質相互作用を評価する機能が含まれます。当社のアッセイは、キナーゼ動態、シグナル伝達経路、および治療薬候補の作用機序に関する正確かつリアルタイムの洞察を提供します。内因性および外因性キナーゼソースの両方に対応するよう調整されたこれらのアッセイは、高い再現性と感度の基準を満たすよう設計されており、堅実な創薬および開発を支援します。

キナーゼパネル	アッセイ技術	細胞タイプ	アッセイタイプ	結果の測定項目
細胞内リン酸化検出	ICW/IFA, AlphaLISA, HTRF, ELISA, MSD, フローサイトメトリー, WB	接着性または浮遊性細胞株	基質リン酸化、タンパク質分解	キナーゼ阻害活性
BaF3細胞増殖	CellTiter-Glo (CTG)	BaF3細胞株	細胞増殖	キナーゼ阻害活性
機能アッセイ	CellTiter-Glo (CTG), ELISA, AlphaLISA, MSD	多様な細胞 (腫瘍細胞株を含む)	細胞生存率、サイトカイン放出	キナーゼ阻害活性
レポーター遺伝子アッセイ	ルシフェラーゼなど	多様な細胞株	シグナル経路活性化	転写活性
NanoBRET™ターゲットエンゲージメント	NanoBRET™	多様な細胞株	タンパク質間相互作用、キナーゼ阻害	結合親和性、化合物効力
HiBiTベースのタンパク質分解アッセイ	発光検出	HiBiT細胞株	タンパク質分解	分解活性

In Vivo腫瘍モデル

ICE Bioscienceは、In Vivo腫瘍モデルに特化しており、がん研究のための幅広い細胞株、CDXモデル（細胞由来異種移植モデル）、および包括的な薬理学的分析を提供しています。これにより、キナーゼをターゲットとした治療法の開発を効率化します。

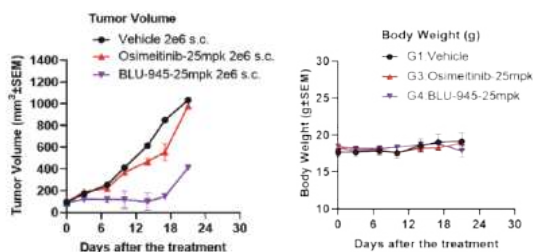


Pancreatic Orthotopic tumor model

WT細胞株モデル:

野生型細胞株を利用したこれらのモデルは、キナーゼ標的の基本的な生物学や、In Vivo環境におけるキナーゼ阻害剤の主な効果を評価するために重要です。これにより、通常の生物学的環境での薬剤の有効性と薬物動態に関する基礎的な理解が得られます。

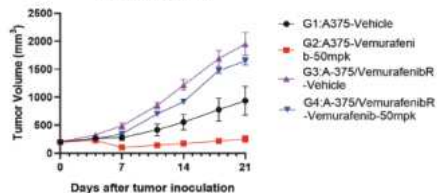
BaF3 EGFR L858R/T790M/C797S in vivo efficacy



改変Ba/F3細胞株モデル:

これらのモデルは、特定のキナーゼや関連する突然変異を発現するように設計されたBa/F3細胞を活用しており、生理学的条件下でターゲット療法を研究するための強力なプラットフォームを提供します。特に、ターゲットとなるキナーゼに対する阻害剤の効力と特異性を評価する際に役立ちます。

A375 in SCID mice



薬剤耐性細胞株 - CDXモデル

当社のCDX（細胞株由来異種移植モデル）では、既知の薬剤耐性を持つ細胞株を組み込んでおり、耐性がん表現型に対するキナーゼ阻害剤の有効性を調べることができます。このアプローチは、セカンドライン治療の開発や耐性メカニズムの理解において重要です。

ICE Bioscienceは2010年に設立された、革新的なCRO+Explorer企業です。私たちは、ターゲットの検証から前臨床候補の特定に至るまで、創薬初期段階を包括的にサポートします。当社の強みは、多くの企業から信頼を受けるサービスを提供でき、未知の治療標的研究に挑戦し続ける高い専門性と柔軟性にあります。私たちは、情熱と専門知識をもって創薬サービスを提供し、お客様の課題解決に貢献します。さらに、地域社会や環境への配慮を大切にし、世界の健康向上を目指すことを使命としています。

