

日本初の総合的創薬ソリューションプロバイダー
Axcelead Drug Discovery Partners, Inc.

ADMEスクリーニングにおける サンプル前処理の自動化

Automation of sample preparation in ADME screening

第9回 JBFシンポジウム
2018年2月6日

Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社

研究本部 薬物動態分析 HT-ADME

○折笠 匠、山口 昌史

初期創薬研究とADMEスクリーニングの目的

初期創薬研究（低分子）のプロセス



ADME Screening

- 純度測定
 - 溶解度
 - log D
 - PAMPA
 - MDR1基質スクリーニング
 - 代謝安定性
 - CYP阻害
 - CYP誘導
 - 血漿タンパク結合
 - in vivo PK試験
- 毎週実施

化合物の最適化・順位づけ
早期の動態特性の把握

ADMEスクリーニングの自動化

ADMEスクリーニングのアッセイ系の特徴

- 1試験あたりの評価化合物数は数十～数百化合物
- スループット重視（96,384well化）
- 微量アッセイ（～数十 μ L）
- データの信頼性、堅牢性

→ 研究者がマニュアルピペットで実験するには大きな負担になる

弊社ではTECAN Freedom EVOを活用しADMEスクリーニングを自動化

Freedom EVOについて

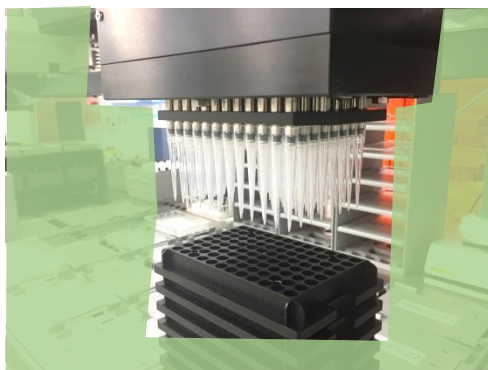
- TECAN社が開発した自動分注システム
- 世界中の製薬会社,研究機関,CRO等で使用され、遠心機、インキュベータ、シーラー等の外部機器を接続することで高度な自動化も可能
- 分注プロトコルの新規作成・変更が研究者でも容易に実施できる



自動化に必要な装置構成

ADME試験の自動化に必要な装置構成

分注ヘッド MCA

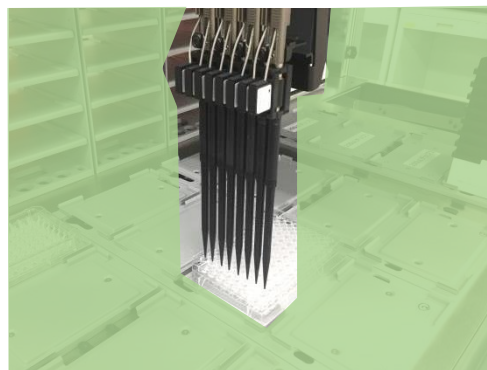


分注範囲：1.0 ～200 μ L(96ch)

プレート全ウェル分注

- 反応停止時など同一容量を同時添加したいとき
- 列分注、行分注も可能

8ch 分注アーム LiHa

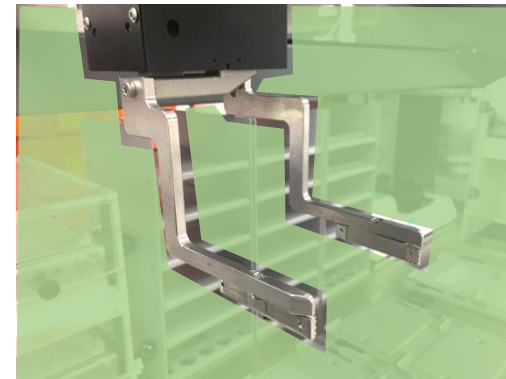


分注範囲：1.0 ～1000 μ L
(5000 μ Lまで拡張可)

1ch ～ 最大8ch

- チャンネルごとに容量可変
- 分注位置を自在に指定可
- 液面検知、目詰まり検知機能

搬送アーム RoMa



プレートの搬送用アーム

- 遠心機やシーラーへの搬送など自動化には必須

他にもオプションは多数

創薬研究における自動化とは

"単純・単調な作業を自動化すること" だけが目的ではない

熟練研究者の手技を必要とするアッセイを
誰でも再現できる

- 自動化を進める過程で様々な課題が生じる
- 自動化の構築はメーカー任せにはできない

研究者が主体となって自動化を構築

ADMEスクリーニングの自動化は大きく2つ

1. 反応操作の自動化
2. 分析サンプル前処理の自動化

1. 反応操作の自動化の構築

PAMPAの完全自動化の事例

PAMPA=人工膜透過性試験

完全自動アッセイ

分注器にプレート・試薬を配置し、開始ボタンを押すと分析用サンプルの作成まで自動で完了する

単機能の分注器



10年前
5時間/試験

半自動化

- ・アッセイが部分的に自動化状態された状態
- ・プレートの乗せ換えが必要
- ・研究者は分注器を離れることができない

構築途中
5時間/試験

完全自動化



現在
30分/試験

フルオート化によって初めて研究者の工数は削減される

1. 反応操作の自動化の構築

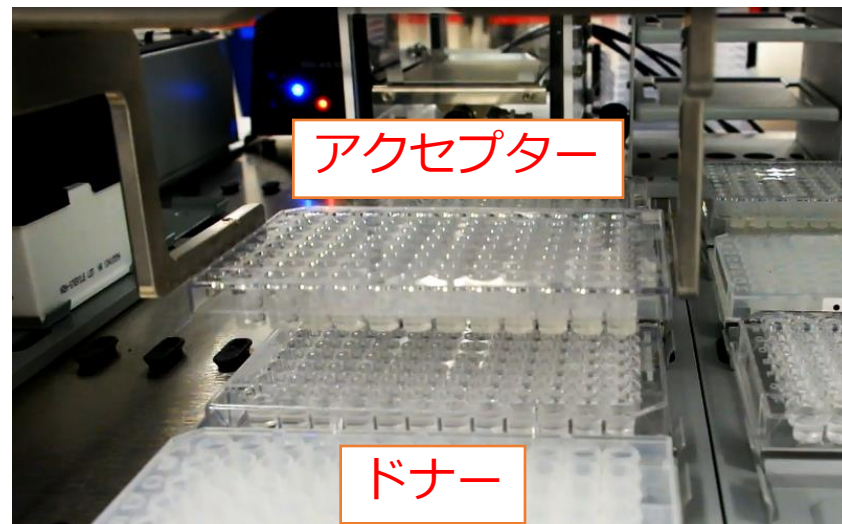
PAMPA自動化の構築過程

- 周辺装置の追加、分注プロトコル作成
- 1000コマンド以上必要、数十箇所のティーチング
- 従来法との同等性確認
- 開発期間 4ヶ月

自動化の課題

例) ドナープレートと
アクセプタープレート
の重ね合わせの成功確
率が低い

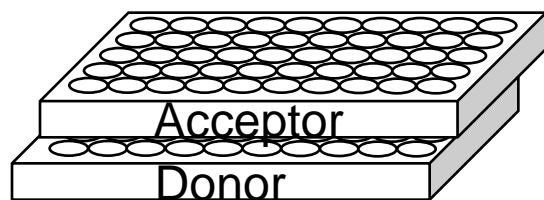
成功確率 約50%



1. 反応操作の自動化の構築

改良点① プレートの位置補正動作を加える

改良点② プレートを斜めにして差し込むように重ね合わせる



① アクセプタープレートを
ずらして乗せる

② 角をつかんで持ち上げ、
差し込むように重ねる

成功確率は **100%に向上**

自動試験を安定して運用可能に

2. 生体試料の分析前処理の自動化

カセットドージングの前処理自動化 事例

カセットドージング

複数化合物を単一の動物に投与するPK試験

PKサンプル前処理操作

1. LC-MS/MS測定用の希釈標準液調製
2. 有機溶媒添加による除タンパク

前処理自動化の課題

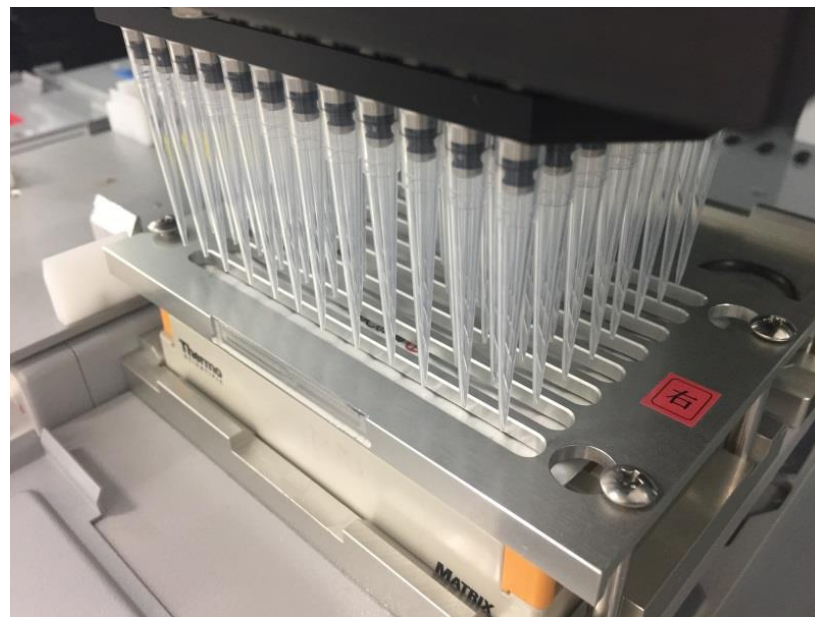
有機溶媒添加 シール 攪拌 遠心 上清回収

ヒートシールされたサンプルチューブからの上清回収



2. 生体試料の前処理の自動化

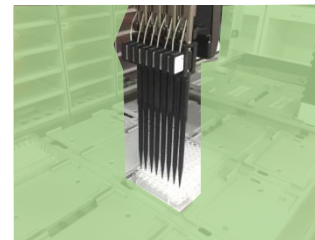
シールにチップを突き刺して上清を回収



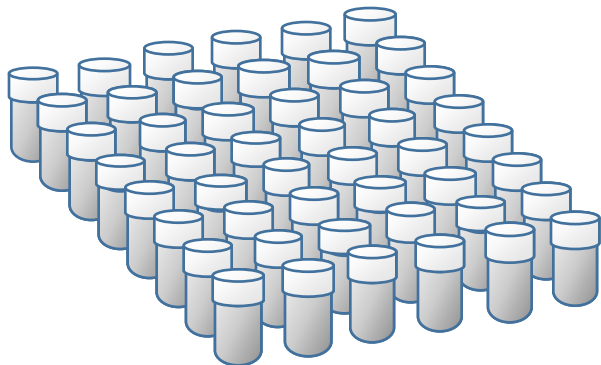
ピアッシングキャリアを製作
ガイドの脱着も自動化

LiHaを活用した自動化

- LiHa (Liquid Handling Arm)
チャンネル毎に分注量、分注位置を自在に変更できる



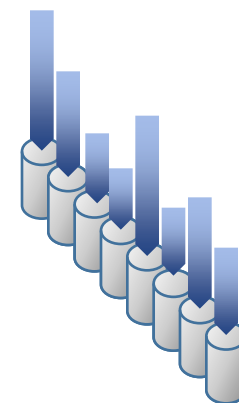
活用例 1) 大量の化合物溶液調製



分子量
秤量値 が異なる数十本のバイアル瓶

Sample	M.W.	Weight	Volume
A0001	354	1.0	282
A0002	278	1.2	432
A0003	653	0.9	138
A0004	296	1.1	372
A0005	330	1.0	303

Worklist を作成し
TECANで実行



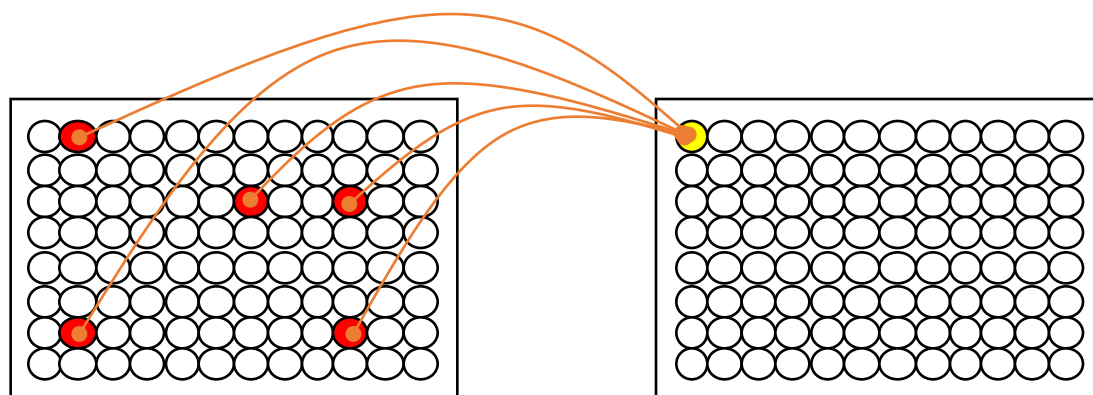
各バイアルに
所定量を分注

煩雑な作業から研究者が開放される

LiHaを活用した自動化

活用例 2) プレート内の化合物を試験フォーマットにあわせて移し変える

例えば... LC-MS/MSでカクテル分析するために分子量が重ならないように分注



Source Plate

Destination Plate

Sample	M.W.	Source ID	Dest. ID
A0001	354	A02	A01
A0002	278	C07	A01
A0003	653	C10	A01
A0004	296	G02	A01
A0005	330	G10	A01

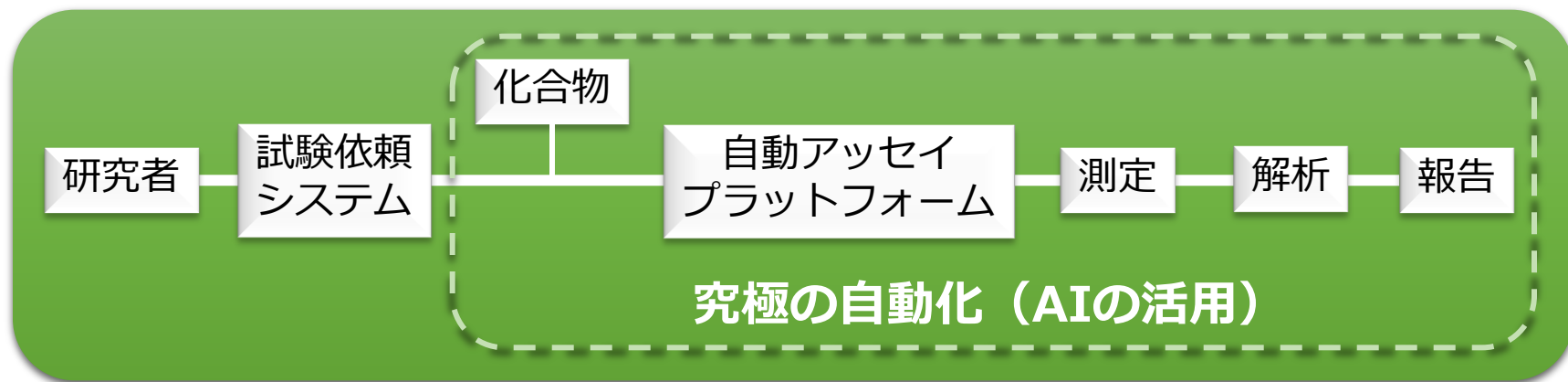
分子量組合せマクロ (Excel)
でグルーピング
Worklist作成し、TECANで実行

LiHaを活用することで、フレキシブルな分注が可能

複雑なアッセイに対応できる

今後の課題

- 全自動化対応試験の拡大
- エラーによる停止の発生頻度の低減
- 分析装置を接続し、測定まで自動化
- 夜間運転の実施



- 多数の化合物を評価するADMEスクリーニングにおいて反応操作、分析前処理の自動化を行うことは研究業務の効率化、人為的なエラーの回避のために必須である
- LiHa分注は、化合物並び替え等、複雑な作業の自動化に有効
- エラー低減のためには機器の特徴を理解し、様々な工夫や改良が必要
- 研究者が主体となって自動化構築することが不可欠