



LBAの発展的議論

DG2024-68

Developmental discussion of the LBA

氏名 (Name)	所属 (Company)	備考
中勢 喜博 Yoshihiro Nakase	シミックファーマサイエンス株式会社 <i>CMIC Pharma Science Co., Ltd.</i>	Leader
野口 翔平 Shohei Noguchi	株式会社新日本化学 <i>Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.</i>	Sub Leader
酒巻 有里 Yuri Sakamaki	テルモ株式会社 <i>Terumo Corporation</i>	Sub Leader
黒岩 樹 Itsuki Kuroiwa	メディフォード株式会社 <i>Mediford Corporation</i>	
永多 正憲 Masanori Nagata	アステラス製薬株式会社 <i>Astellas Pharma Inc.</i>	
鍋嶋 桂 Kei Nabeshima	株式会社サンプラネット <i>Sunplanet Co., Ltd.</i>	
吉永 良介 Ryousuke Yoshinaga	株式会社東レリサーチセンター <i>Toray Research Center, Inc.</i>	

2024 6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	2025 1月	2月	3月
TC 6/26		TC 8/2		TC 10/4 10/18	F2F 11/6 @東京 アンケート11/25-12/6	TC 12/20	TC 1/17 1/31	TC 2/20	JBFシンポ ジウム 3/3-5 @姫路
	推進 委員会 7/17		推進 委員会 9/18		推進 委員会 11/20		推進 委員会 1/15	推進 委員会 2/19	推進 委員会 3/19

- Teamsによる電話会議（TC）を6回、対面での会議（F2F）を1回実施。
- DG推進委員会により定期進捗報告。
- DGサポーターに対し、アンケートを実施。
- データファイルはBOXを利用し、メールでコミュニケーションをとった。

背景及び目的

背景

近年、抗体医薬をはじめとする高分子医薬品が開発及び上市されており、それら医薬品の血中濃度測定には主にLigand Binding Assay (LBA) が使用されている。また、薬効や安全性の指標となる各種バイオマーカー測定においてもLBAが用いられることが多く、その重要性はますます高まっている。

目的

当DGではLBAに関してより発展的な議論をすることを目的とし、以下の4テーマについて、チームでの議論及びアンケート調査を実施した。

- ①LBA の自動化
- ②Singlicate アッセイの実装
- ③キットを用いたバイオマーカー測定
- ④マルチプレックスアッセイ

本発表ではその調査結果を報告する。日々進歩する分野であるからこそ、最新の情報を共有し、バイオアナリシス業界を飛躍させる一助となることを期待する。

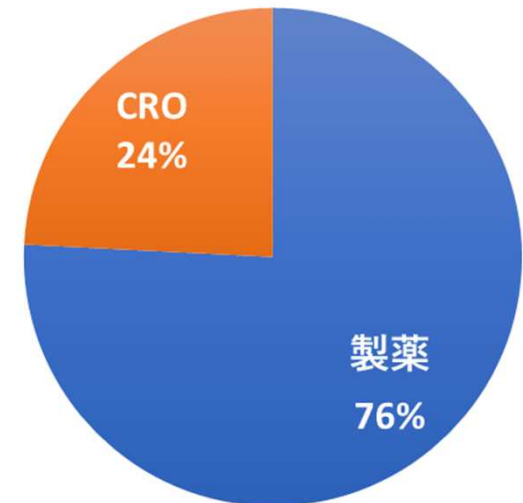
アンケートを実施し、その結果をもとにチーム内で議論

実施時期： 2024年11月25日～12月6日

対象者： 国内で活動している製薬企業・CROの中から、JBFの諸活動への協力を賛同いただいた方（DGサポーター）

アンケートツール： Questant

回答数： 40名
(同一企業からの回答者も含む)





LBAの自動化

LBAの自動化

背景

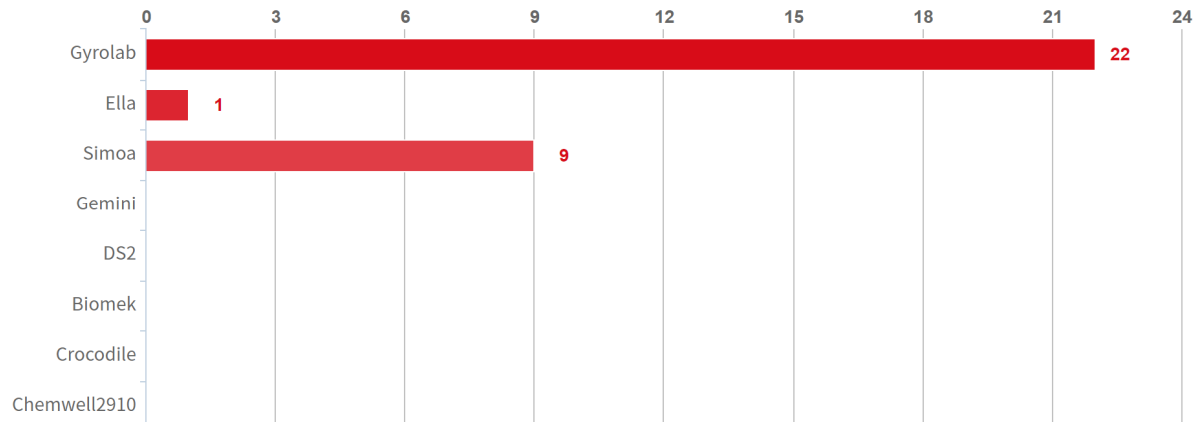
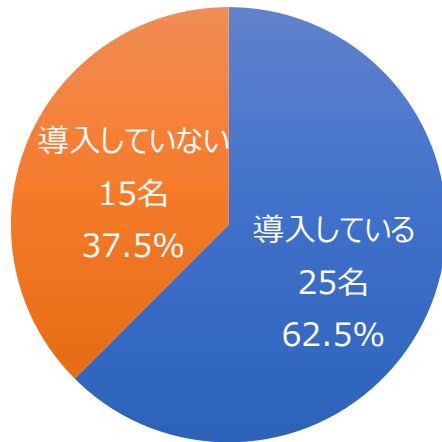
LBAの実験は作業工程が多く、多数のサンプルを扱う場合にスループットの低さが問題となる。加えて、日間や実験者間のわずかな操作の違いが許容できない誤差につながることもあり、再現性の高い測定系の構築が求められる。

これらの課題の解決に向けて、多くの研究施設で自動化LBA装置の導入が進められているが、実際の現場での活用状況について把握する機会はこれまでになかった。

このテーマでは、「自動化LBA装置の導入状況」や、「使用者が感じているメリット」、「導入に伴う課題」などについて調査を行い、今後の課題解決や技術発展につながる情報を提供することを目的とした。

LBAの自動化

自動化LBA装置を導入されていますか？（回答数40名）

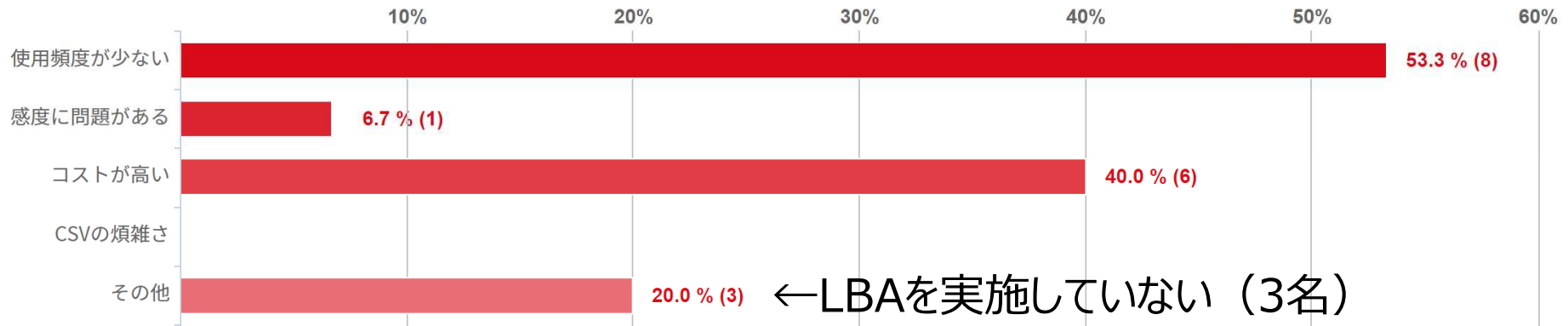


- ✓ 専用の試薬・デバイスを用いる機器が、回答者の過半数で導入されていた。
- ✓ 手作業をそのまま自動化する汎用機器を導入している方はいなかった。
- ✓ 1施設で2種類の機器を導入している場合もあった。



LBAの自動化

自動化LBA装置を導入されていない理由は何ですか？（回答数15名）

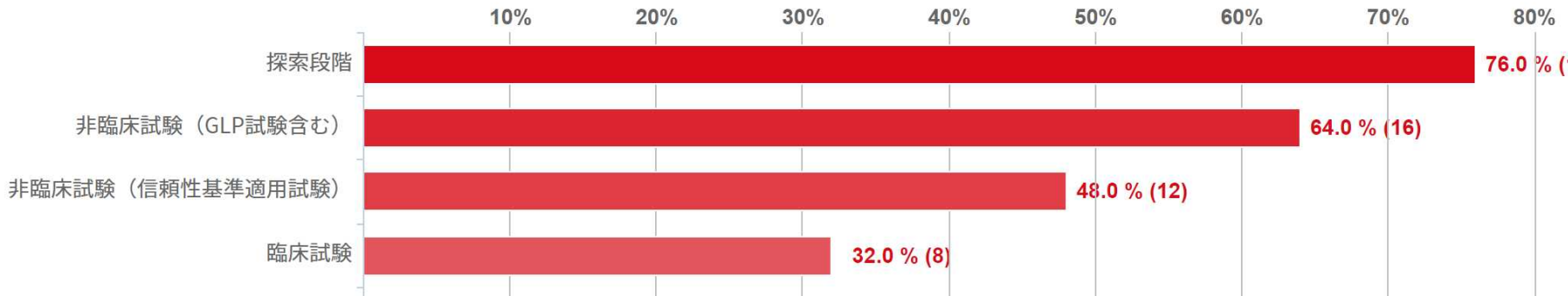


<http://bioanalysisforum.jp/>

✓ 使用頻度及びコストについての回答が多く、費用対効果が重視されている。

LBAの自動化

自動化LBA装置をどの開発フェーズで使用されていますか？（回答数25名）

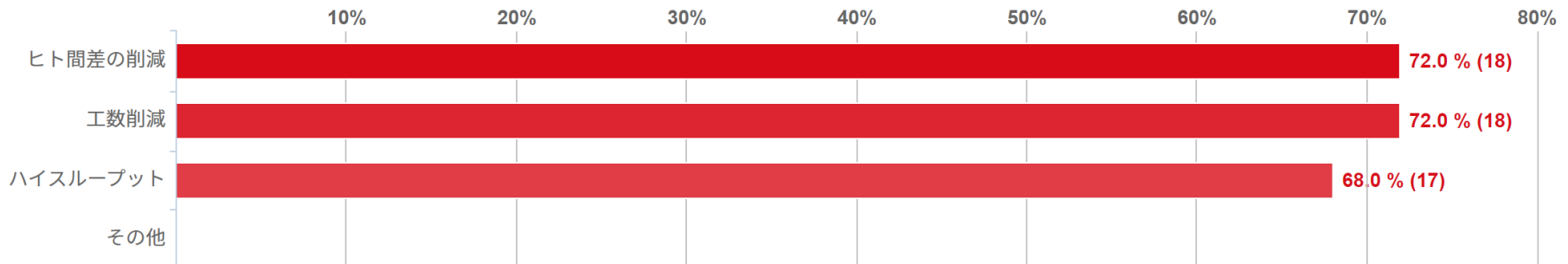


✓ 探索段階からの使用が多く、申請用試験まで広いステージで使用されている。

✓ 申請用試験でも十分な実績があり、バリデーションも可能な分析系であることが示された。

LBAの自動化

自動化LBA装置の導入のメリットは何ですか？（回答数25名）



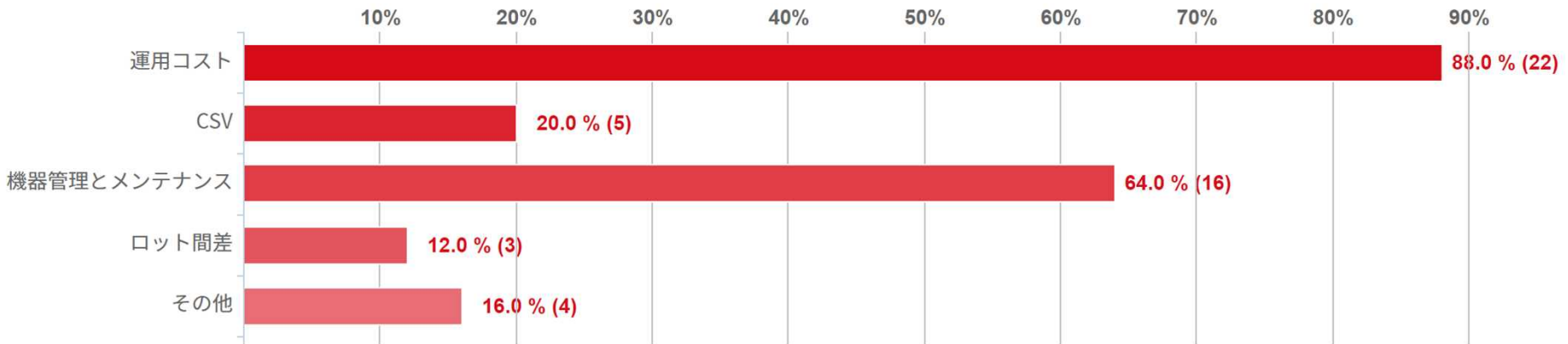
✓この項目は自動化LBA装置を導入されている方への質問であり、一般的に想定される自動化のメリットが実感されていることが確認された。

✓その他、DG内での意見として以下が挙げられた。

- ・操作ミスの低減
- ・技術研修が容易

LBAの自動化

自動化LBA装置の課題は何ですか？（回答数25名）



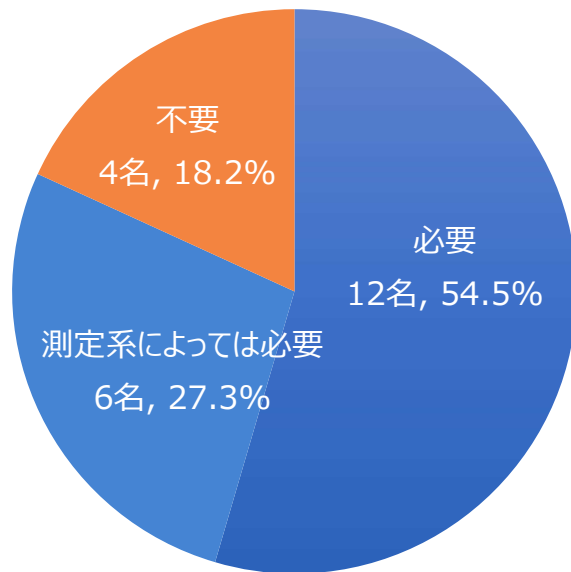
✓ 主な課題は、コストと維持管理の手間であった。

✓ ロット間差は比較的少ないことが明らかとなった。

✓ 「その他」のコメントは、すべてバラツキ（CV、機器間差）であった。

<Gyrolabを利用されている方限定>

検体測定試験でキャリーオーバーの確認は必要ですか？（回答数22名）



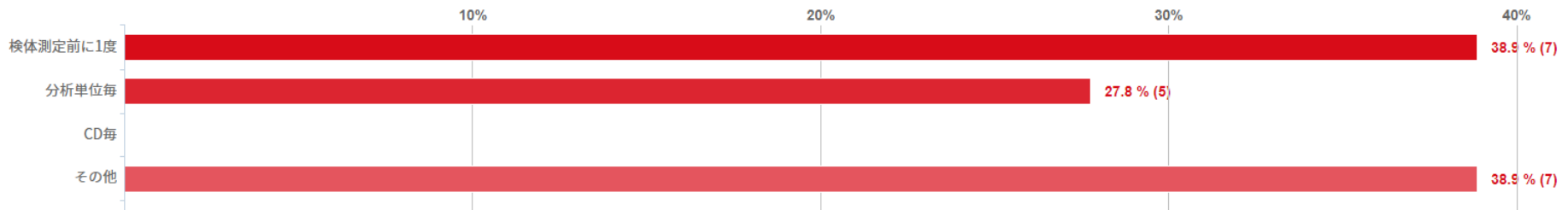
どのような場合に必要でしょうか？

- ・分析法の構築時、分析対象物質や重要試薬の物性に応じて決定（1名）
- ・被験物質に金属吸着等が懸念される場合（1名）
- ・検討段階でキャリーオーバーが発生した場合（2名）
- ・標準物質のLot等何か変更があった場合（1名）

✓ Gyrolabにおけるキャリーオーバーの確認は、約80%の方が必要と考えている。

＜Gyrolabを利用されている方限定＞

キャリアオーバーの確認頻度を教えてください。（回答数18名）



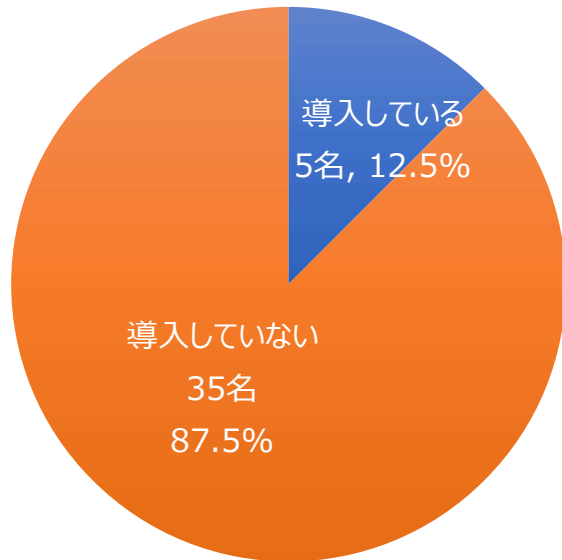
その他回答：

- ・測定試験（プロジェクト）開始前に1度（1名）
- ・メソッド構築時のみ（1名）
- ・バリデーション（2名）
- ・バリデーションと実検体測定の試験毎（1名）
- ・メソッド構築とバリデーションで問題なければ実検体測定は試験毎（1名）

✓ 実検体の測定前に1度確認するという回答が最も多かった。

LBAの自動化

LBAにおいて、前処理及び精製時に自動装置を導入されていますか？
(回答数40名)



何を導入されていますか？

・分注装置
(EDR-384SR 1名, ASSIST PLUS 2名)

・精製システム (King Fisher 4名)

✓ほとんどの方が導入していないと回答した。

✓一部の方は、精製システムを活用されている。

前処理及び精製時に用いる自動装置の導入のメリットは何ですか？

(回答数5名)

感度向上	0名
マトリックス効果の低減	0名
バックグラウンド減少	0名
その他	5名

その他回答：

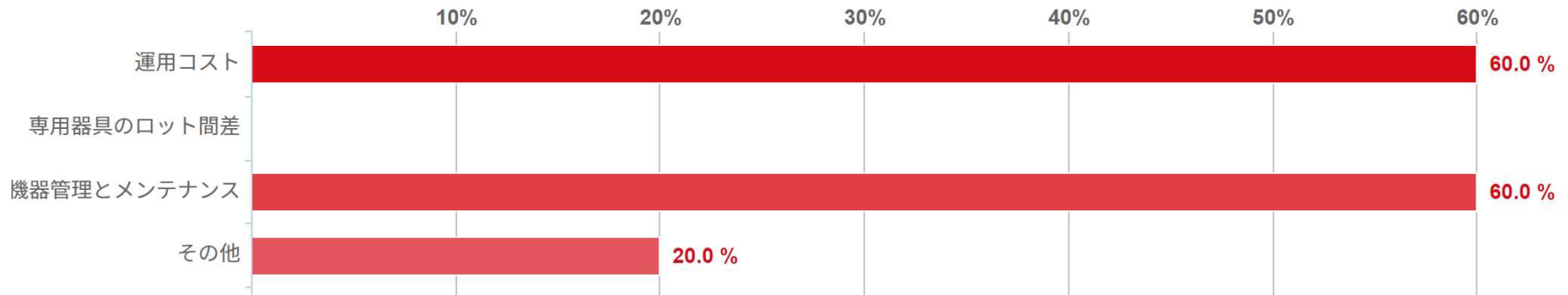
- ・工数削減（4名）
- ・作業効率化とヒト間差の低減（1名）

✓主なメリットは、工数削減であった。

✓データへの影響面でのメリットは感じていない。

LBAの自動化

前処理及び精製時に用いる自動装置の課題は何ですか？（回答数5名）



その他回答:

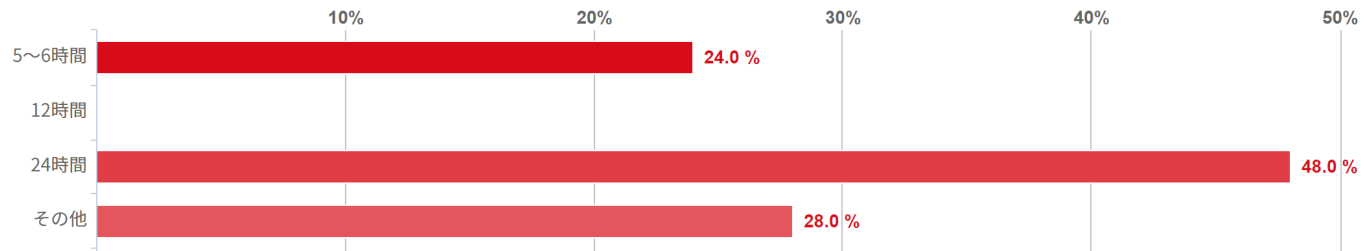
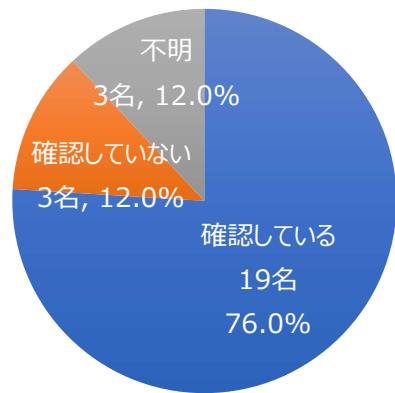
- ・手動で行った場合との感度や回収率の差（1名）

✓ 主な課題は、コストと維持管理の手間であった。

LBAの自動化

＜自動化LBA装置を導入していると回答した方限定＞

MRD後のサンプルの安定性はどの程度確認しますか？（回答数25名）



その他回答：

- ・冷蔵72時間
- ・確認していない、不明（6名）

✓ 自動化する場合は測定開始までに時間を要する場合もあることから、大半の回答でMRD後の安定性を確認していることが判明した。

小括

- ・自動化LBA装置は、当該アンケート回答者の過半数で導入されており、Gyrolabに続いて、Simoaが採用されていた。
- ・自動化LBA装置は、探索段階から申請用非臨床試験（信頼性基準、GLP）及び臨床試験で広く使用されていた。
- ・Gyrolab使用時において、キャリーオーバーの確認は約80%が必要と回答。
- ・LBAにおいて、前処理及び精製時の自動化装置はほとんど導入されていなかった。
- ・自動化LBAでは、測定開始までに時間を要する場合もあることから、MRD後の安定性も評価されていた。

バイオアナリシス業界において、LBAの自動化は進んでおり、信頼性を担保した分析が可能であることが確認された。



Singlicate assay

Singlicate assay

背景

現在LBAの測定は、duplicate assayが採用されている。これは以前より他の測定系と比較し、ばらつきが多いとされるLBAにおいて、広く一般的に採用された方法である。昨今の技術向上に伴い、LBAのばらつきも改善され、以前より抑えられる傾向が見られるようになった。そのような背景から、現在ではsinglicate assayの実装が、海外を始め議論されるようになった。しかしながら、日本国内においては、singlicate assayの実装について議論する機会がこれまでになかった。

また、近年発行されたICH M10ガイドラインにおいても、duplicate assayで測定しなければならないといった明記はなく、singlicate assayの実装が許容されていることから、singlicate assayの実装について議論する重要性はますます高まっている。

Singlicate assay



14:00	15:40	Session 3: Singlicate analysis beyond PK (parallel session) incl. introduction of Fahrenheit Workshop 2: Singlicate analysis PK/ADA/BM Session Chair: Mike Wright
14:00	14:20	Gareth Satchell, GSK Why Can't We – A Different Mindset for Singlicate Analysis
14:20	14:40	Janine Micheli, PPD, a part of ThermoFisher Exploring Singlicate Analysis: Feasibility, Implementation, and Real-World Applications in Immunoassay Bioanalysis
14:40	15:00	James Beecroft, F. Hoffmann-La Roche The Transition to Singlicate Biomarker Analysis: Retrospective and Prospective Insights
15:00	15:20	Stephanie Vauleon, F. Hoffmann-La Roche ADA analysis in duplicates versus singlicates: retrospective data evaluation and impact of singlicate analysis on validation and toxicity study data
15:20	15:40	Emma Rankka, Mercodia Evaluating Singlicate vs. Duplicate Testing in Biomarker Assays: Insights from a Case Study

✓ 直近のEBF Open Symposiumでもセッションが開催された。

✓ 各発表共、おおむねsinglicate assayを許容、もしくは推奨していた。

Singlicate assay

Singlicate assayの長所と短所

<長所>

- ・スループットの向上、それに伴う効率化が期待
- ・必要な検体量や重要試薬の削減
- ・コストの削減

<短所>

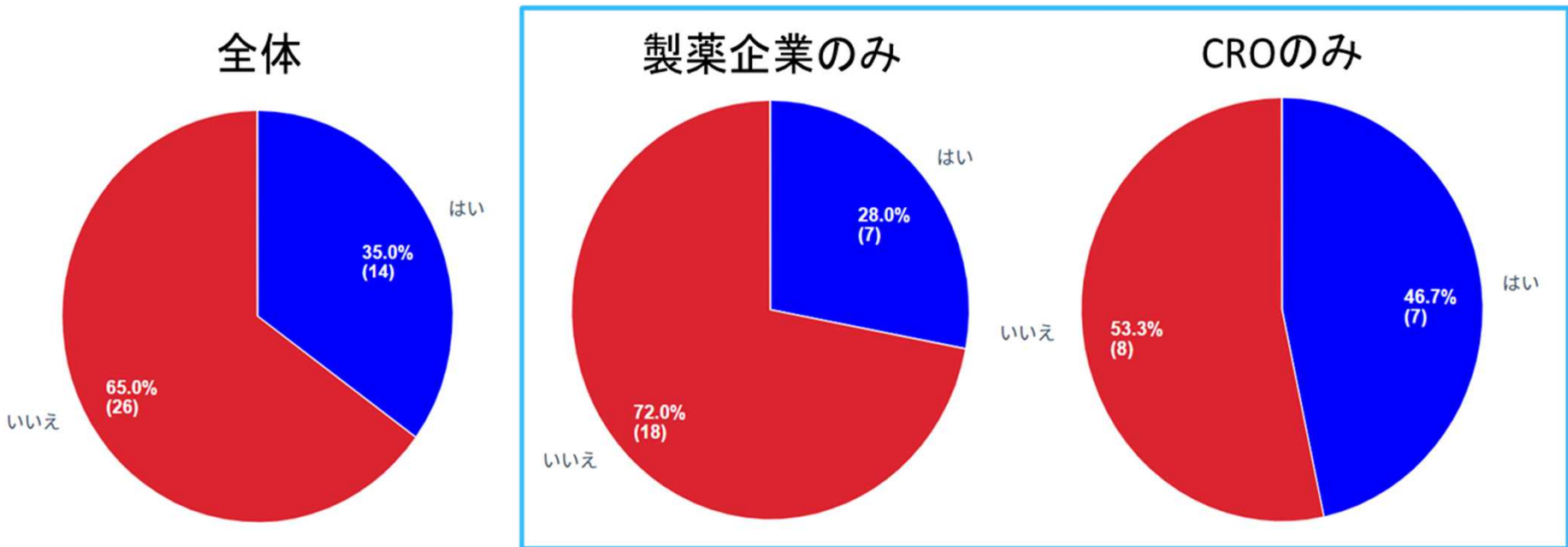
- ・測定誤差（ウェル間のばらつき）の検出が難しい

目的

このテーマでは、singlicate assayの現在の普及率や、今後実際に実装したいかどうかについて調査を行い、今後のsinglicate assayの実装につながる情報を提供することを目的とした。

Singlicate assay

Singlicate測定の実験はありますか？（回答数40名）



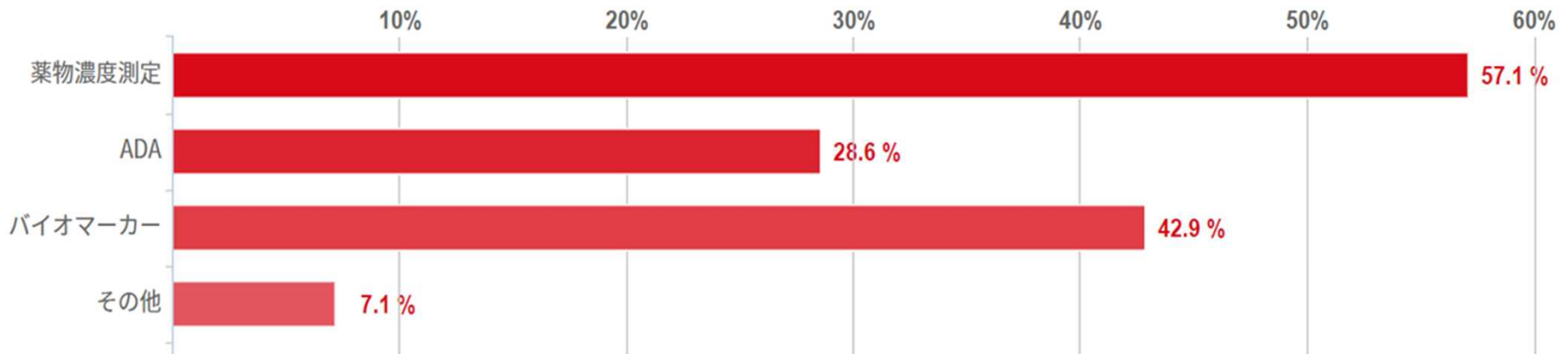
<http://bioanalysisforum.jp/>

- ✓ 全体では、過半数の方がsinglicate測定の実験がなかった。
- ✓ 企業別に分類したところ、製薬企業（回答数25名）では約3割、CRO（回答数15名）では約半数の方が、singlicate測定の実験があった。

Singlicate assay

<Singlicate測定の実験がある方限定>

Singlicateで測定しているAnalyteは何ですか？（回答数14名）



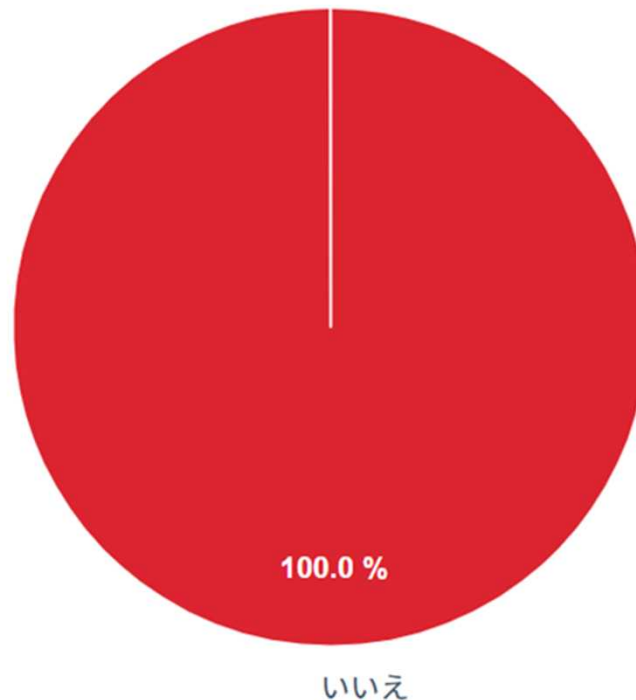
・その他：試薬の選択時のみ実施。

✓測定しているAnalyteについては、薬物濃度測定、ADA、バイオマーカーにかかわらず幅広く採用されていた。

Singlicate assay

<Singlicate測定の実験がある方限定>

Singlicate測定のバリデーションの実験はありますか？（回答数14名）



✓ Singlicate測定のバリデーションの実験がある方は 1 人もいなかった。

Singlicate assay

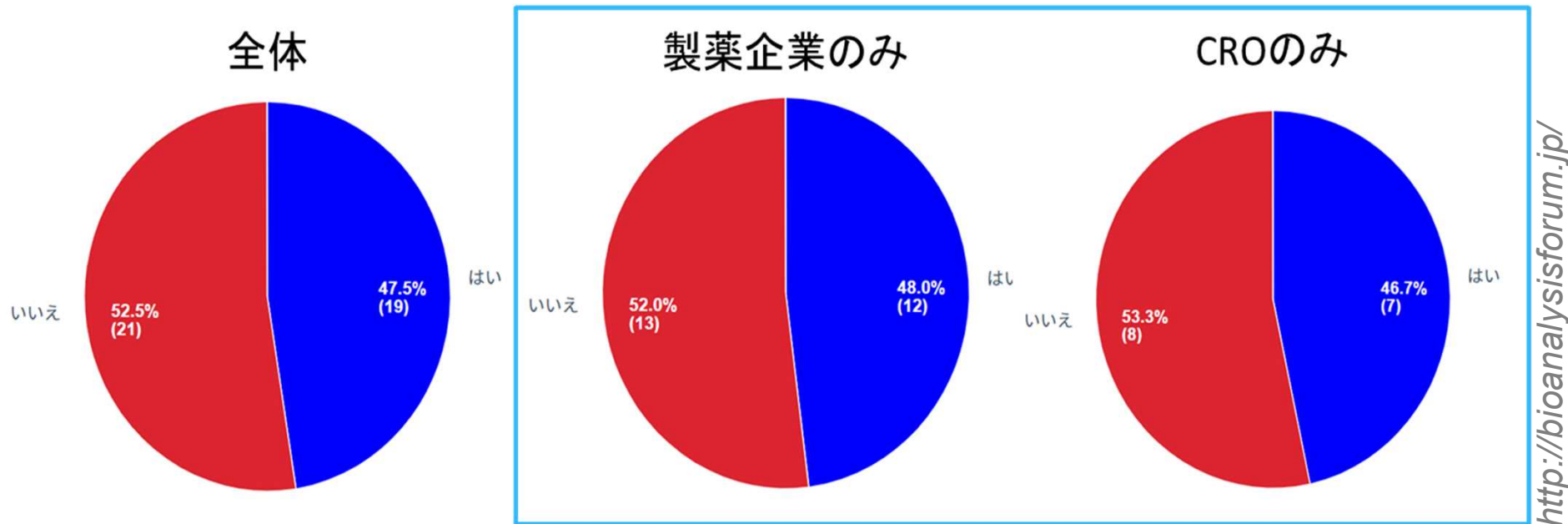
<Singlicate測定の経験がある方限定>

Singlicate/duplicateの使い分けのポイントがありましたらご記載ください。
(回答数10名、回答一部抜粋)

- ・規制試験では基本的にduplicateだが、duplicateで安定して数値が出ていることを確認できれば検討や非規制試験で適用することもある。
 - ・創薬ステージや社内判断用のデータ取得時で分析項目が複数ある場合や検体量が少ない時などはsinglicateで使い分ける。
 - ・測定キットや予算に余裕がある場合duplicateで実施し、限られたキット数や予算の場合singlicateで実施する。
 - ・Singlicate測定は分析法開発の初期段階で実施。分析法開発の後期、バリデーション、実試料分析ではduplicateアッセイで実施。
- ✓現在は、検討時にのみ、singlicate測定を採用することが多い。
- ✓また、検体量が少ない等のやむを得ない事情がある場合にも採用される傾向あることが確認された。

Singlicate assay

今後、Singlicate測定を実施したいですか？（回答数40名）



- ✓ 今後、singlicate測定を実施したいかどうかについては、したい/したくないが半数ずつに分かれた。
- ✓ 企業別に分類したが、製薬企業（回答数25名）とCRO（回答数15名）で割合の差はほとんど無く、全体と同じような結果となった。

Singlicate assay

前問にて、今後、singlicate測定を実施したい/したくないと回答した理由をお聞かせ下さい（回答数19名、回答一部抜粋）

＜今後、singlicate測定を実施したい理由＞

- ・工数や資材の削減が期待できるため。
- ・分析法の構築時や分析対象を検討する際には有用であるため。
- ・測定系にもよるが、CVの基準を満たす系についてはsinglicate測定が出来れば1回に測定できる検体が増えるのでありがたい。CVが外れやすい測定系についてはduplicate測定の方が安心です。

＜今後、singlicate測定を実施したくない理由＞

- ・測定系によるが、突発的なハネ値が生じる場合があるため、duplicate測定の方が安心感があるため。
- ・経験がないため。

Singlicate assay

小括

- Singlicate測定の実験については、当該アンケート回答者の過半数の方がなかった。
- Singlicate測定は、薬物濃度測定、ADA、バイオマーカーにかかわらず幅広く採用されていた。
- Singlicate測定の実験がある方でも、バリデーションの実験のある方は1人もいなかった。
- 現在singlicate測定は、検討時にのみに実施されることが多く、また、検体量が少ない等のやむを得ない事情がある場合にも採用されている傾向あることが確認された。
- 今後、singlicate測定を実施したいかどうかについては、半数ずつに分かれた。

今回はsinglicate assayの現在の普及率や、実装についての意識調査について行った。これらの情報が、今後のsinglicate assayの実装や議論の際の参考になることを期待する。



市販キットを用いた バイオマーカー測定

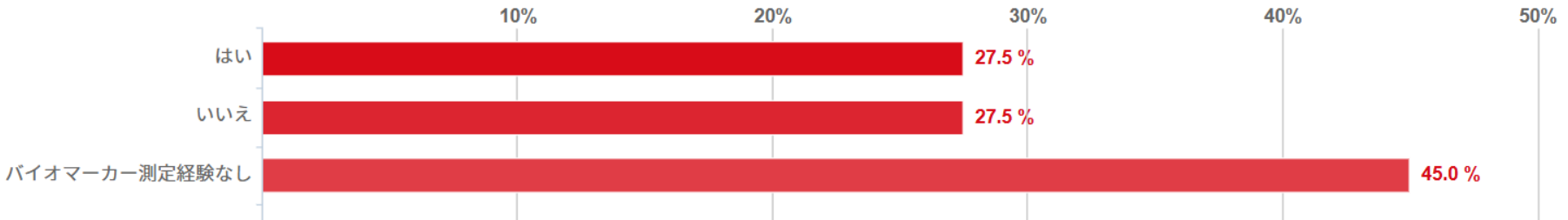
市販キットを用いたバイオマーカー測定

背景

バイオマーカー測定に市販イムノアッセイキットを使用する際、ロット変更により標準物質や重要試薬の反応性の違いによる測定系の性能に影響を及ぼすことがある。市販イムノアッセイキット（DG2017-34）にてキットのロット間差について議論されていた。本テーマではロット間差が測定系に影響を及ぼす際の具体的な対応策について意見を集めた。

市販キットを用いたバイオマーカー測定

バイオマーカー測定において、キットのロット変更をする際に許容できないほどシグナル（性能、反応性）が変わったことがありますか？（回答数40名）



✓バイオマーカー測定経験がある方の半数は、ロット変更による影響経験あり。

市販キットを用いたバイオマーカー測定

どのように許容できないと判断しましたか？（回答数11名）



その他回答

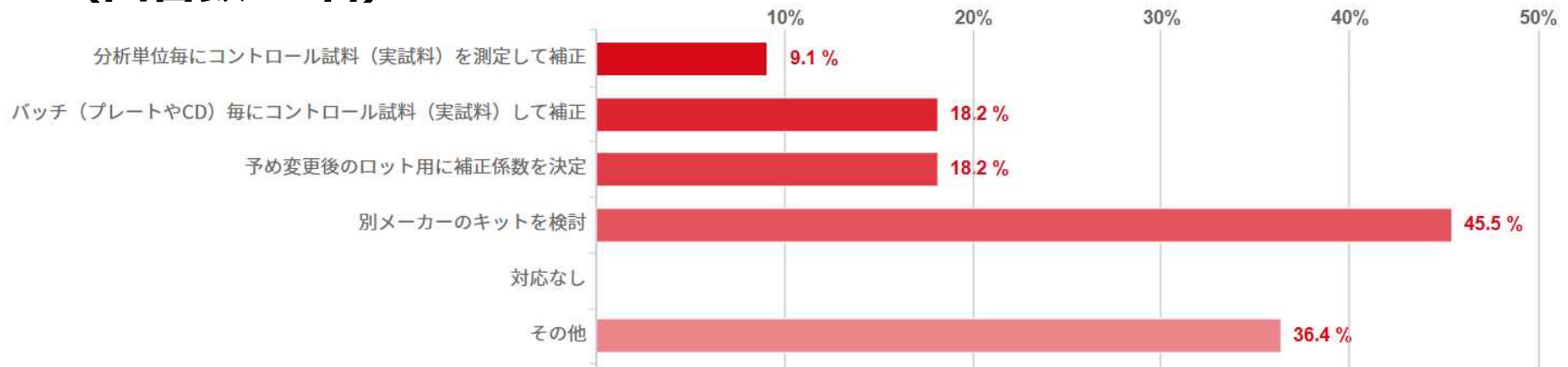
- ・標準物質のロット間差がある
- ・検量線が作成できない

- ✓ ロット変更による問題点は、標準物質の反応性の違いが約半数。
- ✓ その他には、重要試薬なども原因として考えられる。

市販キットを用いたバイオマーカー測定

許容できないロット間差が見受けられたときにどのように対応されましたか？

(回答数11名)



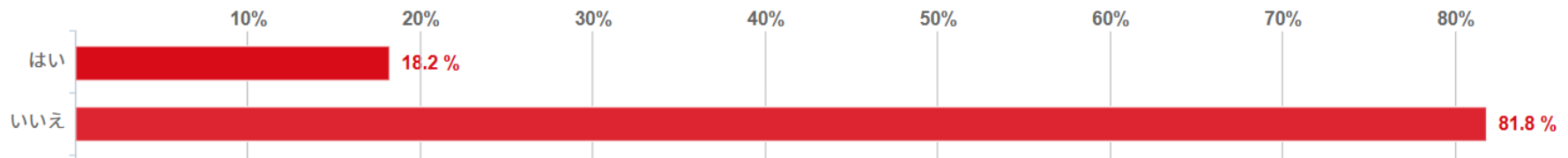
その他回答

- ・パーシャルバリデーションの実施
- ・ロット変更
- ・定量範囲変更

- ✓ ロット間差の影響があるときの対応について
- ・コントロール試料の設置
- ・事前に補正係数を決定
- ・メーカーの変更は、恐らく検討段階の対応と考えられる。

市販キットを用いたバイオマーカー測定

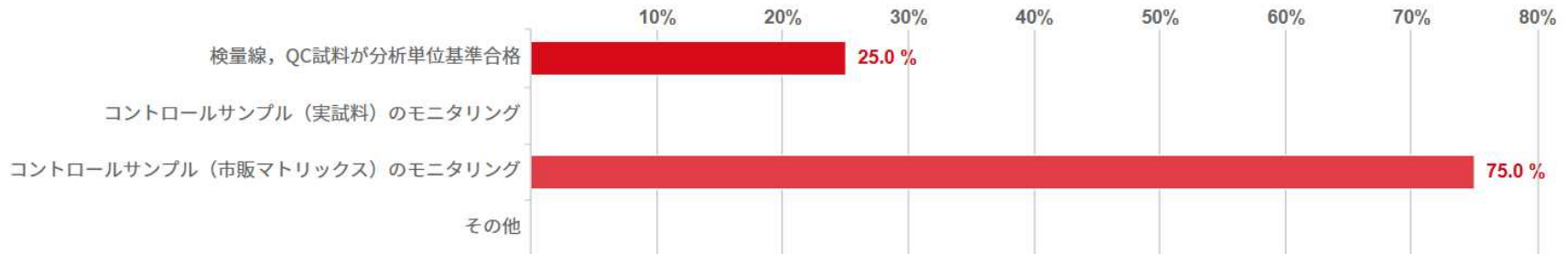
キットの期限延長をしたことがありますか？（回答数22名）



✓キットの期限延長をしたことがある方の割合は少数派。

市販キットを用いたバイオマーカー測定

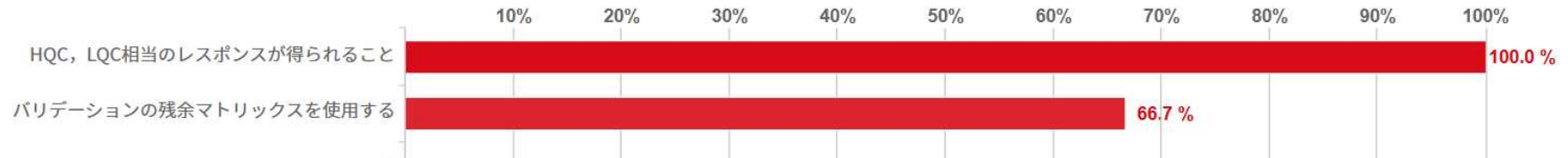
どのようにして延長されましたか？（回答数4名）



✓ 延長方法としては、コントロール試料のモニタリングが多数で
検量線、QC試料の分析単位基準を満たすことを確認する意見もあった。

市販キットを用いたバイオマーカー測定

コントロールサンプル（実試料や市販マトリックス）を使用する場合、コントロールサンプルの選択基準は？（回答数3名）



✓ 延長に使用するコントロール試料の選択基準は、HQC及びLQC相当のレスポンスが得られる試料を用いることが重要視されている。

市販キットを用いたバイオマーカー測定

小括

- ロット変更において許容できないほどシグナルが変わった経験ある回答は、約1/4。
- シグナルが変わったと判断した理由は、「新ロットにおける旧ロット標準物質から調製したQC試料の定量値乖離」と「新ロットにおける実試料結果の乖離」に分かれた。
- ロット間差が認められた際の対応は、「コントロール試料（実試料）を分析単位またはバッチ毎に測定して補正」、「予め新ロット用の補正係数を決定」、「別メーカーのキット検討」など回答が分散した。
- キットの期限延長の経験があると回答した方は少数。
- 延長の手段は、「コントロール試料（市販マトリックス）のモニタリング」が多数。その際のコントロール試料の選択基準は、HQC及びLQC相当の濃度かつバリデーションの残余が用いられていた。

市販キットを用いたバイオマーカー測定

小括

ロット間差が測定系に影響を及ぼす際の具体的な対応策について調査をした。ロット間差の内容（実測値の乖離、定量範囲の差異等）によって適宜対応する必要があるが、今回の調査結果を今後のバイオマーカー分析の参考になることを期待する。



マルチプレックス

背景

近年、薬効や安全性の指標となる各種バイオマーカー測定において LBA が用いられることが多く、その重要性はますます高まっている。

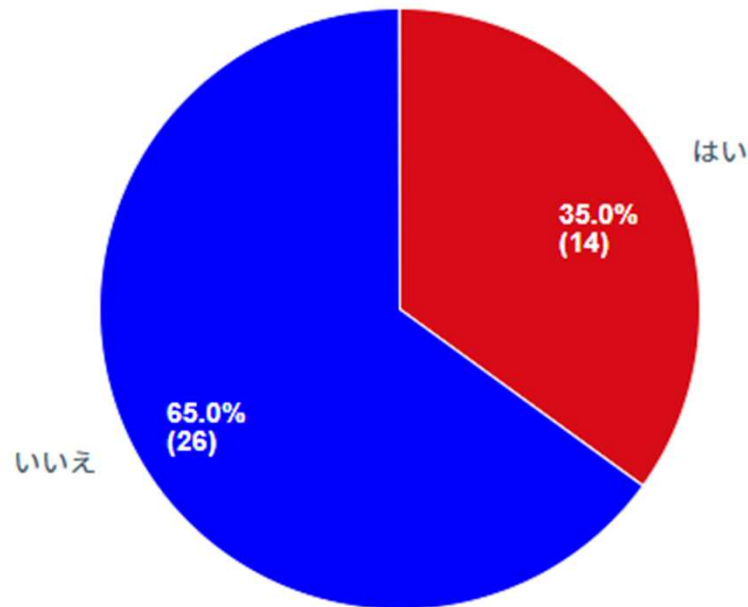
バイオマーカー測定において使用される機器としてマルチプレックスが挙げられる。マルチプレックスアッセイはひとつの生体サンプルから一度に多項目の情報を取得する実験手法であり、バイオマーカー測定において需要が高まってきている。

このテーマでは、マルチプレックスアッセイにおいて使用経験のある機器や使用フェーズを調査することで、今後の課題解決や技術発展につながる情報を提供することを目的とした。



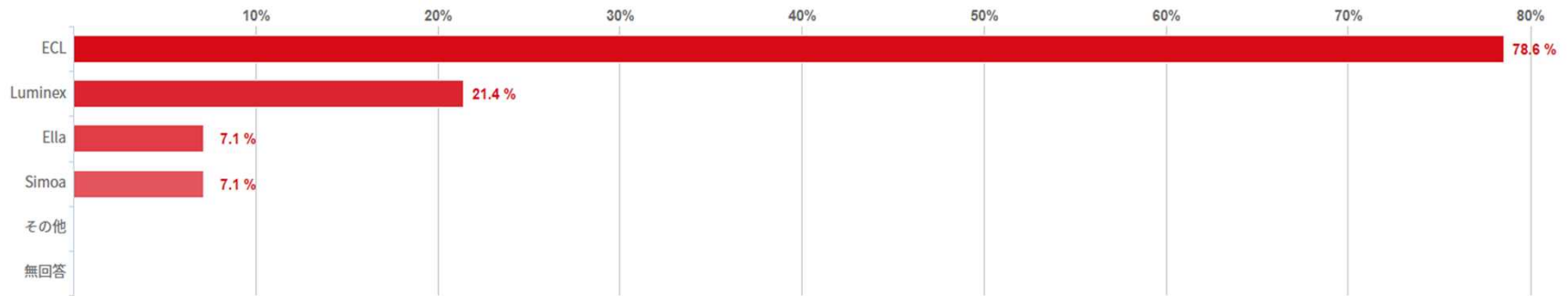
マルチプレックス

Multiplexを使用した測定の経験はありますか？（回答数40名）



✓ 予想に反し、マルチプレックスの使用経験者は少数派であった。

どのような測定機器を使用しましたか？（回答数14名）



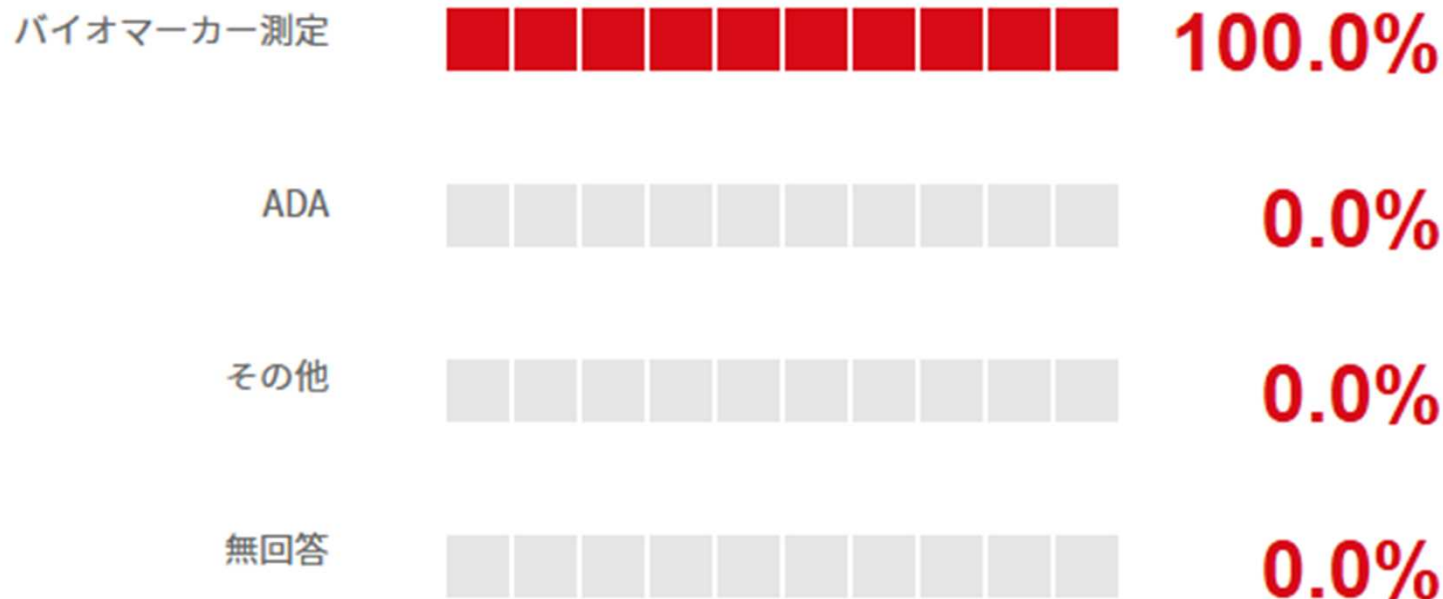
✓ ECLの使用が最も多く、回答者の78.6%が使用経験ありと回答した。

✓ 次いでLuminexが21.4%と約1/5の方が使用経験ありと回答した。



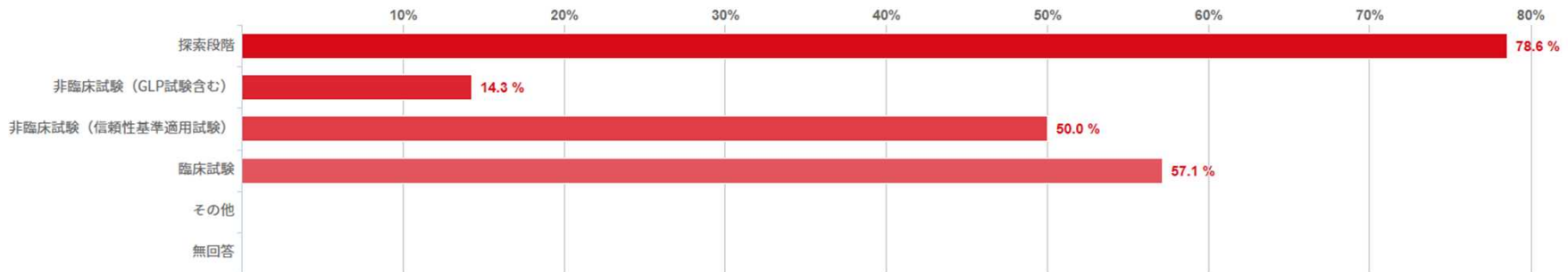
マルチプレックス

測定したAnalyteは何ですか？（回答数14名）



✓バイオマーカー以外の測定で使用実績はないことが判明した。

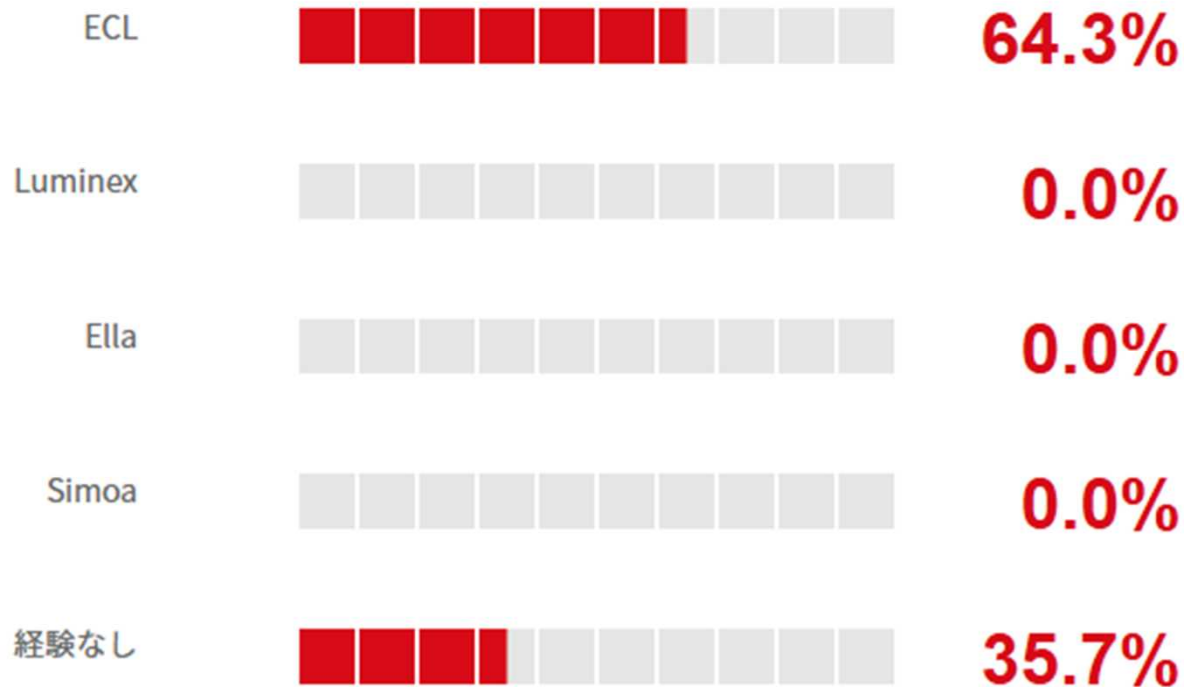
どの開発フェーズで使用されていますか？（回答数14名）



✓ 探索段階での使用が最も多く、回答者の78.6%が使用経験ありと回答した。

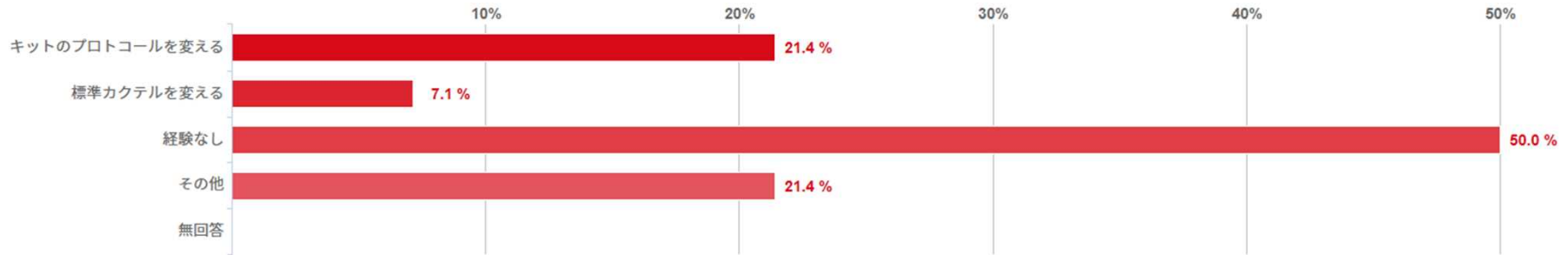
✓ 次いで臨床試験、Non-GLPの非臨床試験と使用されていることが判明した。

バリデーションの経験はありますか？（回答数14名）



✓バリデーション経験者のすべてがECLでの経験であった。

サイトカインの種類など、項目によって検量線範囲が狭くなった場合、どのように対処していますか？（回答数14名）



・その他の回答：実試料を希釈する、別ロットを検討する、そのまま定量する。

✓ 回答者の半数が経験なしと回答した。

✓ 経験者の回答としては、キットのプロトコルを変更するという回答が多く、それぞれの対応は企業によって異なると感じた。

小括

- ・マルチプレックスはアンケート回答者の35%しか使用経験がなかった。
- ・使用経験ありと回答した中でもECLの使用率が最も高かった。
- ・マルチプレックスはバイオマーカー測定でのみ使用経験があり、探索段階をはじめ、臨床試験やNon-GLPの非臨床試験で使用されることが多かった。
- ・バリデーション実施経験はECLのみであり、その他の測定機器はまだ広く使用されていないことが判明した。

バイオアナリシス業界において、マルチプレックス使用率はそれほど高くなく、使用機器もまだまだ拡大の余地があることが示唆された。

以下の4テーマについて、チームでの議論及びアンケート調査を実施し、調査結果を報告した。

- ① LBAの自動化: 過半数の施設で導入が進んでおり、探索段階から申請まで幅広いステージで活用されていることが確認された。
- ② Singlicateアッセイの実装: 測定経験がない回答者が過半数を超え、今後の実施意向は半々に分かれたことが確認された。
- ③ キットを用いたバイオマーカー測定: ロット間差による影響がある際の対応及び期限延長について具体的な意見を集めることが出来た。
- ④ マルチプレックスアッセイ: マルチプレックスの使用率はまだ低く、まだまだ拡大の余地があることが確認された。

この調査結果を基に、各施設におけるバイオアナリシスを飛躍させる一助となることを期待する。

Summary

The following four themes were discussed by the team and surveyed, and the results of the survey were reported.

- ① **Automation of LBA:** LBA automation is being implemented at the majority of facilities and is being used at various stages, from exploratory to application.
- ② **Singlicate assay:** More than a majority of respondents had no experience with measurements, confirming a 50-50 split in their willingness to implement them in the future.
- ③ **Biomarker measurement using kits:** We were able to gather specific opinions on how to respond to the impact of lot-to-lot differences and to extend expiration.
- ④ **Multiplex assay:** Multiplex usage is still low, confirming that there is still room for expansion.

We hope that the results of this survey will help to jumpstart bioanalysis at each facility.

免責事項

本発表における資料等に対する調査、集計等はDGメンバーが行ったものである。

解釈においては、科学的根拠をもとに各自でご判断いただけますよう、お願いいたします。