

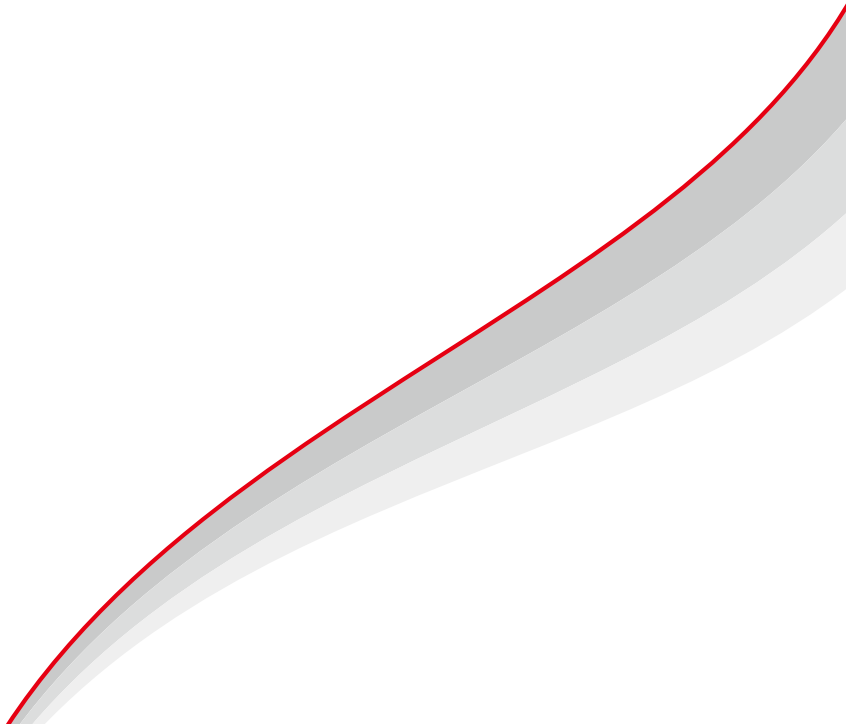
Cell Analysis Webinar

原薬からバイオまで受託分析の最前線
～残留物質などの、不純物を検出する～

2023年11月15日

株式会社 島津テクノリサーチ

医薬ライフサイエンス事業部



会社概要



環境

- 環境汚染調査（ダイオキシン類、放射能等）、疫学調査、CCS(二酸化炭素回収貯留関連測定)、下水コロナ検査

製品・素材

- 製品・素材の研究や試験に関する業務
グリーン調達支援分析、物性測定、非破壊検査、異物解析、におい分析等

医薬・ライフサイエンス

- 医薬品の受託試験、ライフサイエンス分野の試験
医薬品、再生医療製品および医療機器開発支援
(安定性試験、信頼性の基準試験)
GMP試験
バイオマーカー探索
(プロテオミクス、メタボロミクス、
リピドミクス、MSイメージング)
衛生検査業務（新型コロナウイルス検査、アミロイドMS)

医薬・ライフサイエンス分野 分析メニュー

再生医療関連

- 細胞培養プロファイリング
- 培地残留不純物分析
- 細胞画像解析
- 微生物試験
- ウイルス否定試験

ライフサイエンス

- メタボロミクス
- プロテオミクス
- リピドミクス
- MSイメージング
- D,Lアミノ酸

医薬品

- 品質・安定性試験
- 元素分析
- 配合変化試験
- 抗体医薬品, タンパク製剤
- 異物分析

医療機器・医療材料

- 無菌試験
- 溶出物評価

細胞培養・再生医療関連受託メニュー

⇒細胞培養・再生医療における不純物測定

⇒培地成分一斉分析

⇒細胞画像解析

⇒微生物関連試験

細胞培養・再生医療における不純物測定

細胞を育てる段階で添加される化学物質

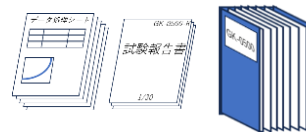
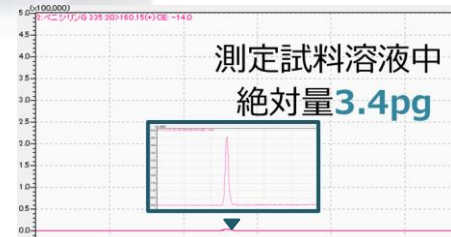
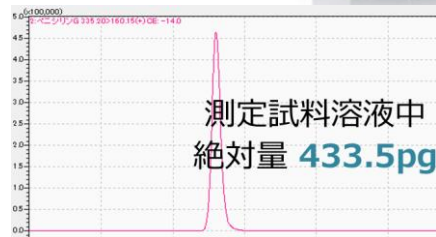
目的 細胞の生存率を上げる
不要な微生物の増殖を抑制する

再生医療製品への残留は・・・

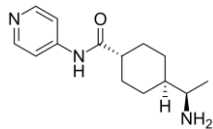
- ・アレルギーとなり得る
- ・移植後の拒絶反応へ

最終製品として出荷される前に
洗浄してリスクを軽減させる

当局申請に使用可能な
信頼性基準試験で実施します



細胞培養・再生医療における不純物測定

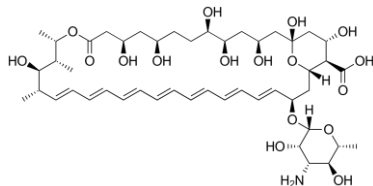


Y-27632

ROCK (Rho-associated coiled-coil forming kinase/Rho binding kinase) 阻害剤

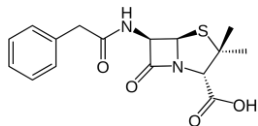
細胞死を抑制

凍結保存後の細胞生存率を向上



アムホテリシンB

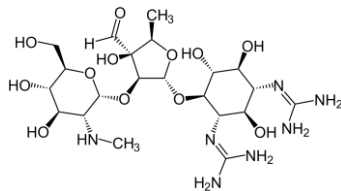
抗真菌剂



ペンシリングG

抗菌剂

βラクタム系（ペニシリンG）



ストレプトマイシン

アミノグリコシド系（ストレプトマイシン、カナマイシン、ゲンタマイシンなど）

その他の不純物測定実績

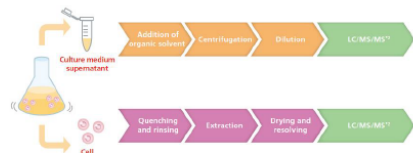
- 分化誘導因子
- メルカプトエタノール . . . 培養細胞の増殖が活性化
- エタノールアミン . . . ハイブリドーマ培養用培地を最適化
- DMSO . . . 抗凍結剤
- アクリルアミドモノマー . . . 細胞培養シートなどのバイオマテリアル
- β プロピオラクトン . . . ウイルスの不活化

培地成分一斉分析

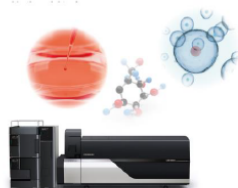
細胞培養プロファイリング ver.3

Cell Culture Profiling Ver.3

a) 前処理プロトコル



b) 一斉分析メソッド



c) データ可視化ツール



144成分の一斉分析が20分以内で可能

- 従来のアミノ酸やビタミンなどの基礎培地成分や分泌代謝物に加え、抗体医薬品製造に用いられる培養細胞（特にChinese hamster ovary (CHO) 細胞）を対象としてデータベースや文献情報による絞り込み、実サンプル分析を通して測定対象化合物を選定しました。

1メソッドで培養上清代謝物・細胞内代謝物が測定可能

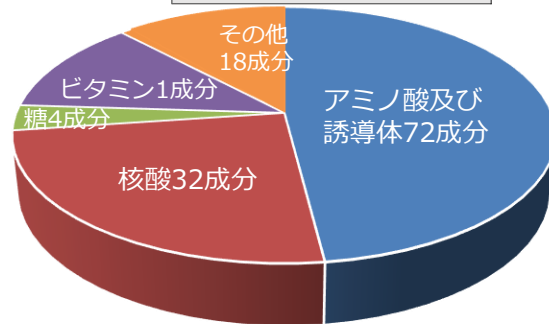
- 測定対象化合物の増強とともに、CHO細胞の実サンプル分析を通して測定パラメータの最適化も実施しました。これによりシグナル飽和が抑制できるためデータ取得のスループットが当社従来比で約2倍向上しています。

マルチオミクス解析パッケージで解析を支援

- 代謝工学向けに開発されたマルチオミクス解析パッケージが付属します。細胞培養プロファイリングVer.3の測定対象成分に適した代謝マップ白地図が3種類、製品に格納されています。培養結果の時系列変化を簡便に代謝マップ上で可視化することが可能です。またVolcano Plot、主成分分析、階層的クラスタリングなどの統計解析を簡便に実施していただけます。

培地成分一斉分析(対象化合物)

Amino acids and their metabolites		Nucleic acids and their metabolites	Vitamins	Others
5-Oxoproline	1-Methylhistidine	Adenine	Riboflavin	2-Ketoglutaric acid
Alanine	3-Methylhistidine	Adenosine	Pantothenic acid	Aconitic acid
Asparagine	Histidine	Adenosine monophosphate	4-Pyridoxic acid	Citric acid
Aspartic acid	Urocanic acid	Deoxyadenosine	Pyridoxal	Fumaric acid
Glutamic acid	2-Aminoadipic acid	Deoxyguanosine	Pyridoxalphosphate	Isocitric acid
Glutamine	Acetylcarbitine	Deoxyguanosine monophosphate	Pyridoxine	Lactic acid
N-Acetylaspartic acid	Camitine	Guanine	Biotin	Malic acid
4-Aminobutyric acid	Hydroxylysine	Guanosine	4-Aminobenzoic acid	Pyruvic acid
4-Hydroxyproline	Lysine	Guanosine 3',5'-cyclic monophosphate	Folic acid	Succinic acid
Arginine	Pipecolic acid	Guanosine monophosphate	Cyanocobalamin	Glyceric acid
Argininosuccinic acid	Saccharopine	Hypoxanthine	Ascorbic acid	Glycolic acid
Citrulline	3-Hydroxyanthranilic acid	Inosine	Acetylcholine	Glyoxylic acid
Creatine	5-Hydroxytryptophan	Inosine monophosphate	Choline	Mevalonic acid
Ornithine	Anthrannilic acid	Uric acid	Citicoline	MVA-P
Proline	Formylkynurenine	Xanthine	Lipoic acid	Penicillin G
Putrescine	Hydroxykynurenine	Xanthosine	NAD	Resveratrol
2-Aminobutyric acid	Indole-3-acetic acid	Xanthosine monophosphate	Niacinamide	Shikimic acid 3-phosphate
5-Glutamylcysteine	Kynurenic acid	3-Aminoisobutyric acid	Nicotinic acid	Taurine
5'-Methylthioadenosine	Kynurenine	3-Aminopropanoic acid		
Cystathionine	Serotonin	Cytidine		
Cysteine	Tryptophan	Cytidine 3',5'-cyclic monophosphate		
Cystine	4-Hydroxyphenyllactic acid	Cytidine monophosphate		
Glutathione	Dopa	Cytosine		
Homocysteine	Norepinephrine	Deoxycytidine		
Homocystine	Phenylalanine	Deoxycytidine monophosphate		
Methionine	Phenyllactic acid	Orotic acid		
Methionine sulfoxide	Tyrosine	Thymidine		
N-Acetylcysteine	3-Hydroxyisobutyric acid	Thymidine monophosphate		
Ophthalmic acid	3-Methyl-2-oxovaleric acid	Thymine		
Oxidized glutathione	Isoleucine	Uracil		
S-Adenosylhomocysteine	Leucine	Uridine		
2-Aminoethanol	Valine	Uridine monophosphate		
Glycine	Alanyl- glutamine			
O-Phosphoethanolamine	Asymmetric dimethylarginine	Sugars		
Serine	Glycyl- glutamine	Gluconic acid		
Threonine	Symmetric dimethylarginine	Hexose (Glucose)		
		Sucrose		
		Threonic acid		



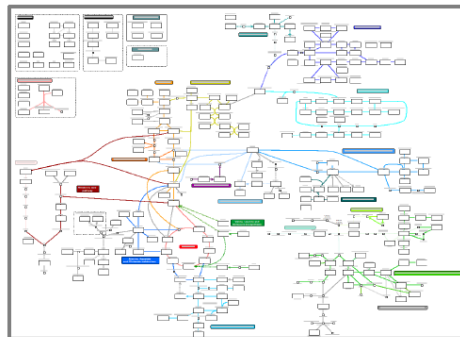
培地成分一斉分析（マルチオミクス解析パッケージ）

典型的な統計解析（volcano plot、主成分分析、階層的クラスタリング）が実行可能です。
各メソッド用に最適化された白地図上で、測定対象化合物の時系列変化を可視化できます

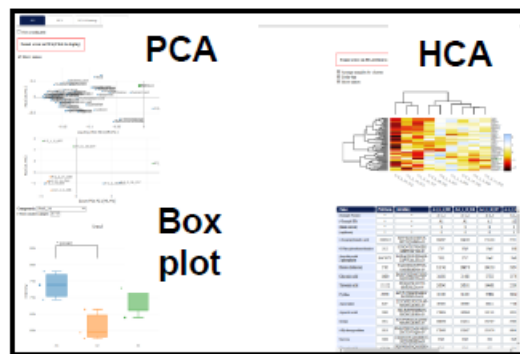
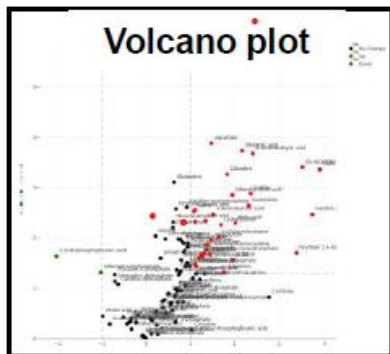
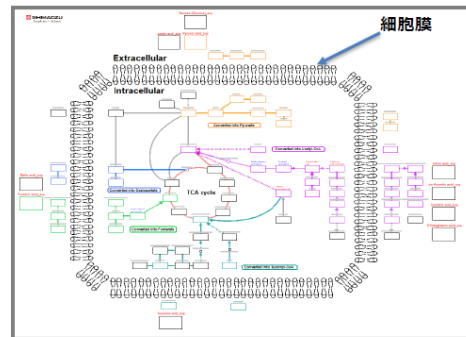
培養上清用白地図



細胞内代謝物用白地図

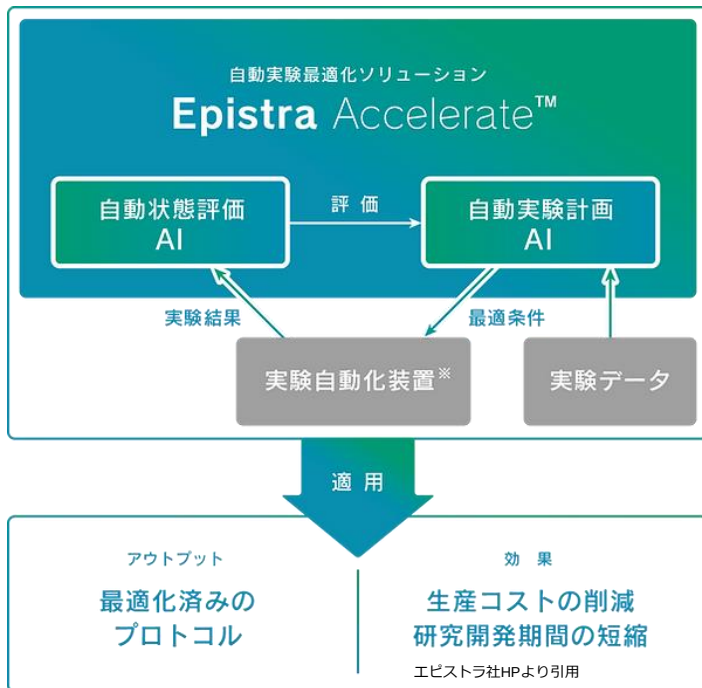


特定代謝物用白地図



培地成分一斉分析（AI解析による培養条件の最適化）

LC/MS/MSメソッドパッケージ 細胞培養プロファイリング による培地成分分析と
AIによる実験自動最適化システムEpistra Accelerateを組み合わせ
細胞培養条件の最適化ソリューションを提供します。



培養条件の最適化

- 培地種類による差異
- 培地添加物の影響
- 培養時間の評価
- 再現性の評価
- 変動要因の探索

細胞画像解析

細胞観察サポートWebアプリケーション Cell Pocket

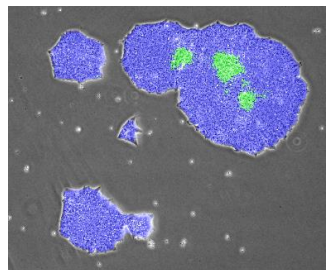
数十枚の画像を学習し、高速・高精度の画像解析が可能。
「細胞の個数」「コロニーの増殖速度」「細胞異常の面積比率」など
細胞培養の現場に即した様々な定量情報の算出が可能。
AIが細胞の数量・面積などを高速・高精度で算出



細胞画像解析

テクスチャ類似度

培養条件によるコロニーの見た目
(テクスチャ情報)の違いを視覚化、数値化



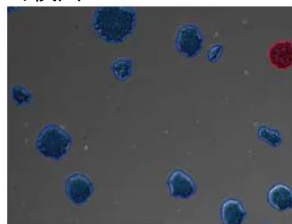
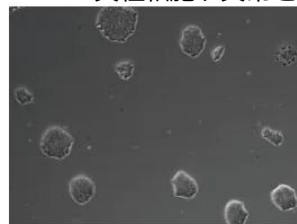
<判定結果>	
判定	Pass
スコア[%]	92.41
規格[%]	70

判定結果

オーバーレイ画像

欠陥検出

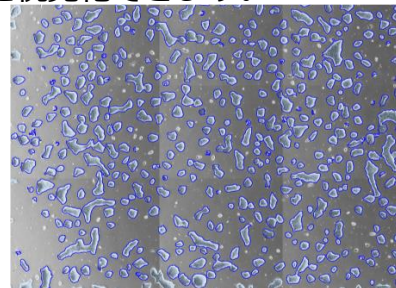
異種細胞や異常を精度よく検出



異常コロニーを検出した画像

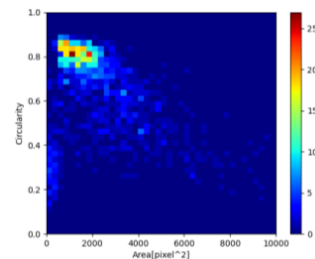
粒子解析

培養条件の差異によるコロニーの形態指標の分布
の差異を視覚化できます。



#	Diameter	Area	...	Aspect ratio
1	16.1	107.8		5.4
2	37.3	223.1		10.2
3	57.1	420.3		8.9
242	32.7	180.2		6.8
243	44.2	267.9		6.2

数値データ

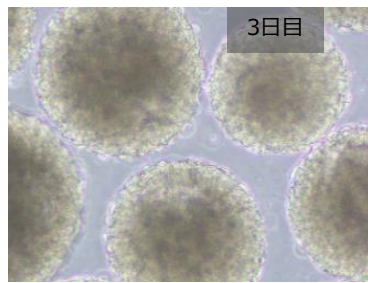
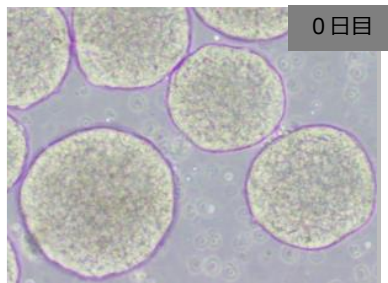


ヒートマップ

島津製作所HPより引用

細胞画像解析

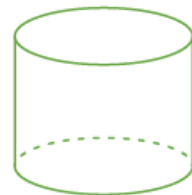
ヒトiPS細胞スフェア



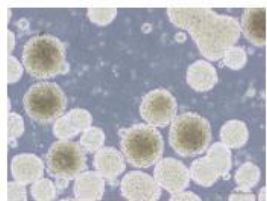
内胚葉へ分化誘導

[深層学習]

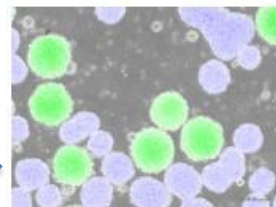
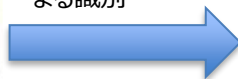
[学習済みモデル]



0日目と3日目の
スフェアを
混合した画像



学習済みモデルに
よる識別



96%以上の精度で識別

培養0日目: 青 画像データ提供: 東京工業大学
培養3日目: 緑 桑・白木研究室様

微生物関連試験

★エンドトキシン試験

日本薬局方 <4.01>エンドトキシン試験法

- ・ 光学的定量法：比色法
比濁法
- ・ ゲル化法：定量，限度試験



トキシノメーター

(実績) 原薬や製剤，非水溶性の検体，
医療器具

★無菌試験

日本薬局方 <4.06>無菌試験法

- ・ 直接法
- ・ メンブランフィルター(MF)法



無菌試験操作



MF法

(実績) 原薬、製材、液剤等

マイコプラズマ否定試験・ウイルス否定試験

マイコプラズマ否定試験：NAT法

★島津ダイアグノスティクス社製
「Myco Finder」

7種のマイコプラズマ菌種検出
M. arginine, *M. orale*, *M. salivarium*,
M. hyorhinis, *M. fermentans*,
M. pneumoniae, *Acholeplasma laidlawii*



ウイルス否定試験：NAT法

★島津ダイアグノスティクス社製
「VirFinder Type-A / VirFinder Type-B」

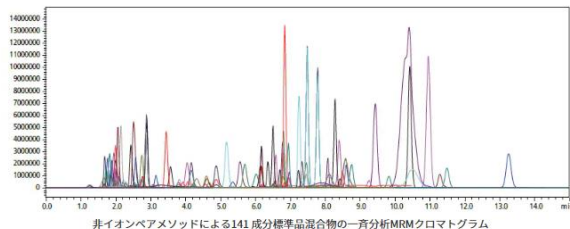
9種のウイルス検出
Type-A: HIV-1, HIV-2, PVB19, HCV, HBV,
HTLV, hB2M(Reference)
Type-B: WNV, EBV, CMV



バイオマーカー探索

一次代謝物

解糖系・リン酸経路・TCA回路等112成分
アミノ酸・補酵素・有機酸等141成分



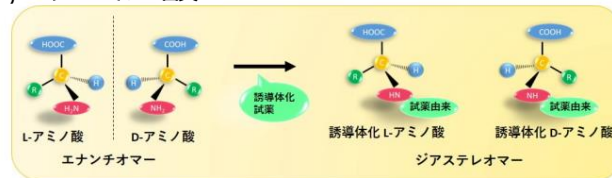
LC-MS/MSメソッドパッケージ
一次代謝物 Ver.3(株)島津製作所

短鎖脂肪酸

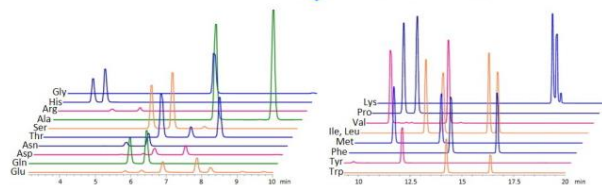
分類	化合物名
短鎖脂肪酸	酢酸
	プロピオン酸
	酪酸
	イソ酪酸
	吉草酸
	イソ吉草酸

分類	化合物名		
有機酸	2-オキシ酪酸	クエン酸	フマル酸
	2-ヒドロキシグルタル酸	グリオキシル酸	マレイン酸
	α -ケトグルタル酸	グリコール酸	マロン酸
	β -ヒドロキシ酪酸	コハク酸	リンゴ酸
	イソクエン酸	乳酸	
	オキサロ酢酸	ビルビン酸	

D, Lアミノ酸

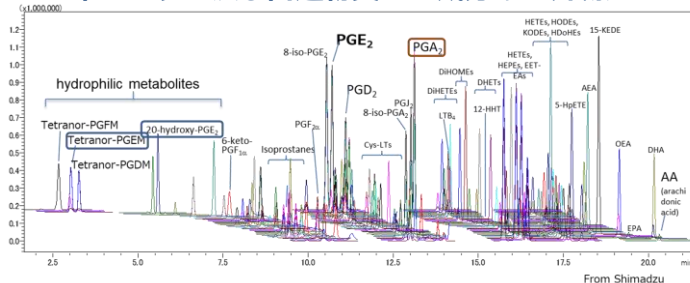


LC-MS/MS分析



脂質メディエーター

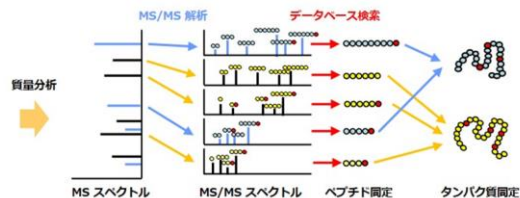
アラキドン酸カスケードに由来する脂質メディエーター及び関連物質196成分の一斉測定



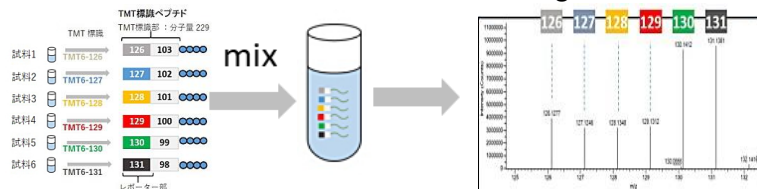
バイオマーカー探索

• プロテオミクス

【同定解析】タンパク質同定



【比較解析】TMT (TandemMassTag) 解析



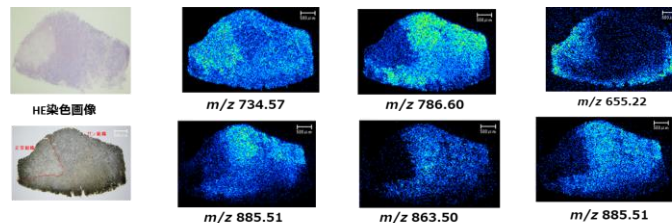
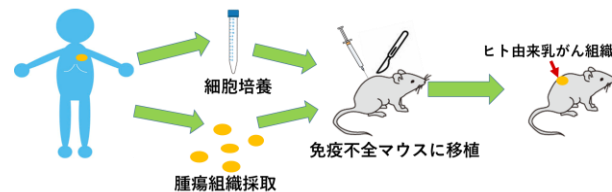
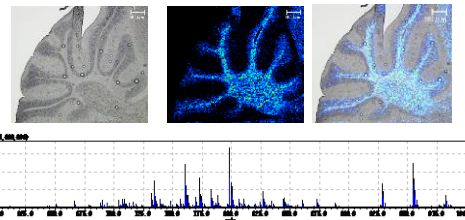
【定量解析】ターゲットタンパク質の定量



• MSイメージング



顕微鏡画像 分布画像 重ね合わせ



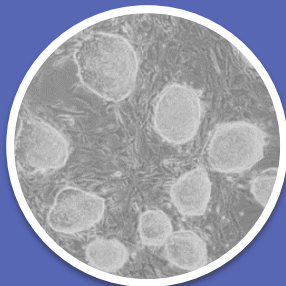
Patient-derived xenograft (PDX) モデルマウスの腫瘍組織
(京都大学医学部乳癌外科提供)

原薬からバイオまで



医薬品分析

安定性試験
品質試験
不純物測定



再生医療開発支援

製品開発支援
培養液分析



バイオマーカー

オミクス解析
MSイメージング

← GxPレギュレーション対応から 基礎研究まで幅広く対応 →

ご清聴ありがとうございました



その他様々な分析メニュー
をご準備しております

医薬ライフサイエンス関連メ
ニューはこちら



HPアドレス :

<https://www.shimadzu-techno.co.jp/index.html>