

浜松医科大学創薬基盤システムの設置について

医科大学である本学は、基礎及び臨床医学研究から、新規性、独創性に富み、有用な創薬アイデアを出せる可能性が高く、臨床研究に発展させていくことも可能であり、創薬研究に非常に有利な環境にある。また、創薬シーズやリード化合物を有すること薬基盤の利用を示すことは科研費やAMEDなど研究費取得にも重要な要素となる。また、知財の取得及び産学連携の推進にもつながり、創薬研究は本学において重要な位置を占める可能性を秘めている。しかしながら、これまで本学には創薬基盤が整備されておらず、創薬研究は少数の研究者が行っているにすぎなかった。そこで創薬研究推進WGでは、化合物ライブラリーおよびshRNAライブラリーとスクリーニング支援機器からなる創薬基盤システムを立ち上げる。さらに他のWGとも協力して、創薬アイデアを集約し、分子標的の同定、化合物スクリーニングへの展開、動物モデルを中心とした高次評価系の情報提供、助言等を行い、本学の医学研究を推進することを目的とする。

1. 浜松医科大学創薬基盤化合物ライブラリー

概要

本化合物ライブラリーは下記の3種類の市販化合物ライブラリーからなる。使用には下記に従った1次スクリーニング系を構築し、系の作動確認（バリデーション）を行っていることが必要である。別紙使用申請書に目的、研究計画等を記載し、創薬WGに申請する。また申請書提出前に「化合物スクリーニング提案書」によりあらかじめWGに相談することが推奨される。創薬WGは研究の重要性やスクリーニング系を審査し、使用を許可する。必要に応じて1次スクリーニング系の改良等を指導することがある。先進機器共用推進部は化合物ライブラリーを保管し、使用者に分注したライブラリーを提供し、各アッセイ系への化合物の分注に用いる自動分注器の使用法を指導する。実際の分注やアッセイなどは使用者自身で行う。まず、FDA Approved Drug Libraryをスクリーニングし、その結果を創薬WGと協議し、Natural Product Libraryの使用に進む。生理活性物質 Libraryは少量(25 µl)のため、さらに必要とみなされた場合に使用することとする。

化合物ライブラリー（合計 2552 化合物 DMSO 溶液）

1. FDA Approved Drug Library (Enzo lifescience : BML-2843-0100) 770 compounds

<https://www.enzolifesciences.com/BML-2843/screen-well-fda-approved-drug-library-v2/>

2. Natural Product Library (Enzo lifescience : BML-2865J-0100) 502 compounds

<https://www.enzolifesciences.com/BML-2865/screen-well-natural-product-library/>

3. 生理活性物質 Library (Merck : LOPACK 1280 小スケール) 1280 compounds

2. 供給形式

FDA Approved Drug Library (原液 10 mM 100 μ l) :

- ・ 1 mM DMSO 溶液 20 μ l /96 well plate として供給予定
(option: 2 mM DMSO 溶液 10 μ l /96 well plate)
- ・ 推奨使用濃度 final 10 μ M (Cell based screening の 1st screening の場合)
- ・ DMSO は cell culture grade とする
- ・ 供給され残った分は再現性や用量依存性の評価等に使用すること
- ・ 1 研究室で複数の screening を行いたい場合は相談のこと
- ・ 高次評価に使用する hit 化合物は個別に購入すること

3. 消耗品使用料 (ライブラリー使用料は徴収しない)

別途規定 (プレート、チップ、DMSO などの消耗品)

4. スクリーニング系について

A. Cell based screening

培養細胞を用いた 96 well plate で行うオリジナルな知見に基づいたスクリーニング系であることが必要である。

96 well 200 μ l culture + 1 mM compound sol 2 μ l (Final 10 μ M compound, 1% DMSO)

あらかじめ使用細胞の DMSO の細胞毒性を調べておく必要があり、DMSO control を置くこと。DMSO 以外で化合物を希釈して用いる場合は用事調製とする (析出、分解の可能性のあることに注意する)

例 1 : 細胞運動、突起伸長、GFP-融合タンパクを用いた細胞内局在変動等を IN Cell analyzer などを用いた(蛍光)イメージングにより評価する系

例 2 : 標的タンパク質の量的/質的な変動や相互作用を免疫蛍光染色を用いて評価する系

例 3 : ルシフェラーゼを用いたレポーターアッセイにより遺伝子発現を評価する系

B. Cell free screening

オリジナルな知見に基づいた 96 well plate で行う Cell free アッセイを用いた系であることが必要である。

例 1 : Cell free で標的分子の活性を吸光度、蛍光、化学発光などを測定することにより評価する系

例 2 : Cell free で二つの標的分子の相互作用をアルファスクリーニング等で測定することにより評価する系

5. 化合物ライブラリースクリーニングの流れ

事前相談の必要がある方：

1. 化合物スクリーニング提案相談書を提出し、WG と評価系の相談を行う（守秘義務を負ったメンバーでの打ち合わせ、意見交換）。
2. WG の助言、依頼を踏まえてスクリーニング系を構築して、自身でテストランを行う
3. 浜松医科大学創薬基盤化合物ライブラリー使用申請書を提出
4. WG による申請書の確認と使用承認
5. FDA library の提供とスクリーニングの実施
6. 結果を WG への提示
7. 今後の方針について WG との意見交換 (次の library の提供 or 系の改良、hit 化合物の 2 次評価系等)

事前相談の必要がない方：上記 3 から

6. 相談、問い合わせ先（できれば化合物スクリーニング提案相談書（添付）が望ましい）

創薬研究推進 WG グループリーダー 鈴木哲朗

tesuzuki@hama-med.ac.jp

創薬研究推進 WG 先進機器共用推進部 内田千晴

cuchida@hama-med.ac.jp

7. 化合物ライブラリー使用申請書提出先

創薬研究推進 WG グループリーダー 鈴木哲朗

tesuzuki@hama-med.ac.jp

化合物ライブラリー仕様における消耗品利用料について（先進機器共用推進部）

2セットの希釈ライブラリプレートを作成するプログラム：

FDAライブラリのマスタープレート11枚
各wellから4 μとり、36 μDMSO or H₂Oの入った希釈用プレートへ移し、mix
↓
20 μを別のプレートへ移す=2セットとなる

| 必要物品と数 | | | 価格 | 備考 |
|-------------------|--------|-------|----------|---|
| 滅菌チップ(細胞用) | | 14箱 | ¥ 43,162 | 溶媒がDMSOのライブラリー用 11箱 溶媒がWaterのライブラリー用 1箱 動作確認用 2箱 |
| オートクレーブ可能な専用リザーバー | 10 ml用 | 1個 | ¥ 682 | 溶媒がWater用 |
| | 30 ml用 | 1個 | ¥ 682 | 溶媒がDMSO用 |
| 希釈用96ウェルV底プレート | | 24枚 | ¥ 6,720 | |
| DMSO耐性用プレートシール | | 24枚 | ¥ 2,880 | 希釈プレート用24枚 |
| ライブラリー専用キャップ | | 132本 | ¥ 6,800 | |
| DMSO | | 30 ml | ¥ 6,900 | cell culture grade、10 mL X 10本で定価23,000円 |
| Water | | 2 ml | ¥ 1,280 | 95284-100ML Water for molecular biology, sterile filtered |
| 合計(2セット分) | | | ¥ 68,906 | |
| 1セット分の料金 | | | ¥ 34,453 | |

利用者が独自の分注を行う場合

| 物品 | 価格 | 最小単位 | 備考 |
|------------------------------|---------|-------|----------------|
| クリーンチップ (96本/箱) | ¥ 2,746 | 1箱 | 専用、持ち込み不可 |
| 滅菌チップ(96本/箱) | ¥ 3,083 | 1箱 | 専用、持ち込み不可 |
| 100 mLリザーバー | ¥ 682 | 1個 | 専用、持ち込み不可 |
| 10 mLリザーバー | ¥ 682 | 1個 | 専用、持ち込み不可 |
| 30 mLリザーバー | ¥ 682 | 1個 | 専用、持ち込み不可 |
| 希釈用96ウェルV底プレート | ¥ 280 | 1枚 | 専用、持ち込み不可 |
| DMSO耐性用シール | ¥ 120 | 1枚 | |
| DMSO (cell culture grade) | ¥ 2,300 | 10 ml | |
| 滅菌水(molecular biology grade) | ¥ 640 | 10 ml | |
| 基本利用料金 (プログラム作成手数料、テスト費用) | ¥ 1,000 | | テストで用いたチップ1箱未満 |
| 基本利用料金 (プログラム作成手数料、テスト費用) | ¥ 2,000 | | テストで用いたチップ1箱以上 |

装置の性能上、利用者がプログラムを作成することはできません。
事前に装置担当者と、分注手順についての相談が必須です。
分注プログラム作成は、メーカー側とチェックしながら進めますので、数日～数週間（複雑さによる）かかります。

利用者が培地、溶液、平底V字プレート等を持ち込む場合も事前に、培地や溶液の種類、プレートのメーカー・製品番号等をお知らせください。