

hERG トラフィックング阻害評価

電気生理学的、生化学的の両面からのアプローチが可能になりました

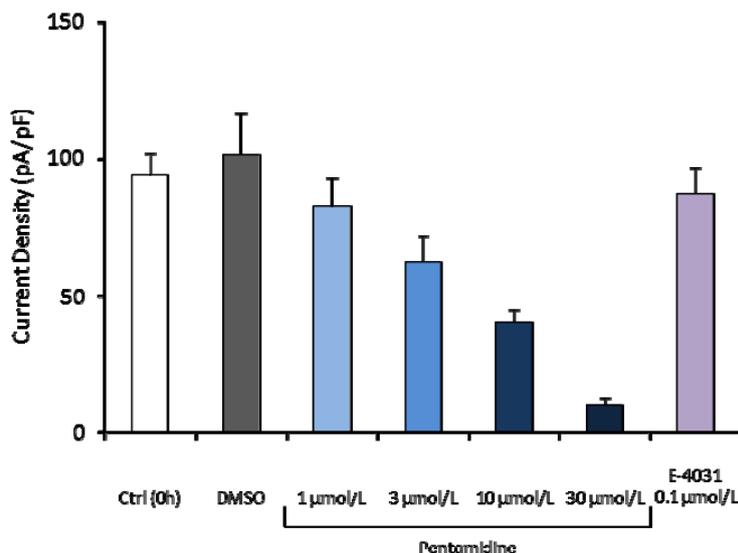
QT リスク評価の新たな課題、 hERG トラフィックング阻害をスピーディに評価

いくつかの化合物は、hERG チャンネルタンパクの膜移行 (トラフィックング) を阻害することが報告されています。QT 延長の誘因となり得る hERG トラフィックング阻害を、hERG チャンネルの直接阻害作用と合わせて確認することで、hERG リスクの評価を補完することが可能となります。

弊社では、hERG チャンネル電流をパッチクランプ法にて測定することにより、信頼度の高い結果をご提供いたしております。

信頼性基準適用試験、医薬品 GLP 適用試験の実施も可能です。

背景データの一例 (24 時間暴露)



暴露物質	変化 (抑制) 率 (%)	
	24 時間暴露	10 分間適用
DMSO, 0.1 vol%	-8.4	7.9
Pentamidine, 1 μmol/L	12.0	---
3 μmol/L	33.7	---
10 μmol/L	57.1	---
30 μmol/L	89.1	14.7

通常の急性暴露では捉えられないトラフィックング阻害作用を明確な濃度依存性をもって評価することが可能です。

標準プロトコル

■ 使用細胞

CHO または HEK

■ 群構成

- ・ 対照群 (DMSO)
 - ・ 被験物質群 (3 濃度)
 - ・ 陽性対照群 (Pentamidine)
- (各 n=5)

■ 試験方法

hERG 発現細胞を被験物質溶液に 24 時間暴露。その後パッチクランプ法にて hERG チャンネル電流を測定し、電流密度の変化率を算出。

標準納期

実験開始より速報提出まで
1 週間

(標準デザイン (5 群) の場合)

株式会社 薬物安全性試験センター

DSTC

Drug Safety Testing Center

Tel 0493-21-7160

www.dstc.jp

hERG トラフィックティング阻害評価

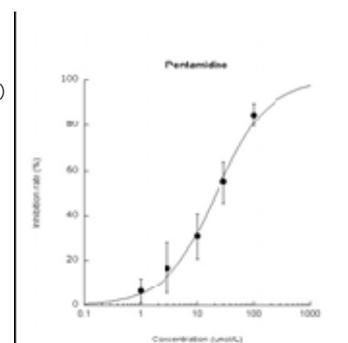
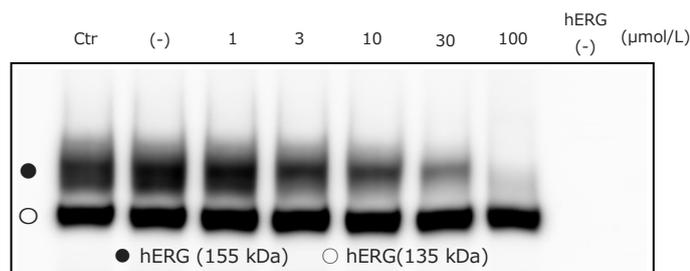
ウェスタンブロッティング法

hERG トラフィックティング阻害を 生化学的手法でスピーディかつ安価に評価

これまでのパッチクランプ法による評価に加えてウェスタンブロッティング (WB) 法による評価もご利用できるようになりました。

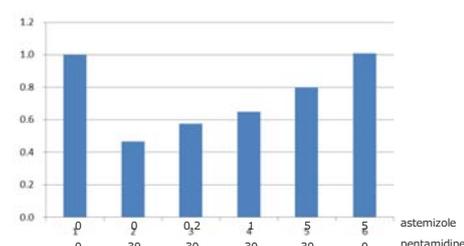
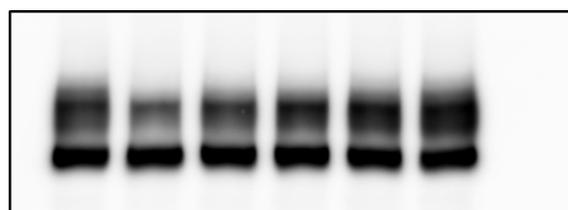
WB 法を用いた hERG トラフィックティング阻害評価では、被験物質存在下で培養した hERG 高発現 HEK 細胞を用いて、細胞膜にトラフィックティングする成熟型 hERG タンパク質を生化学的手法で定量します。トラフィックティングに対する被験物質の濃度依存性または時間推移などについての詳細な薬理学的知見を得ることができます。QT 延長や催不整脈を推測する候補化合物の安全性確認にスピーディかつ安価にお応えします。

実験例 1 hERG トラフィックティング阻害剤 Pentamidine の作用 (濃度依存性)

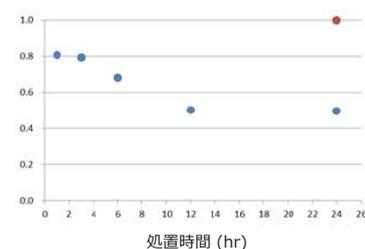
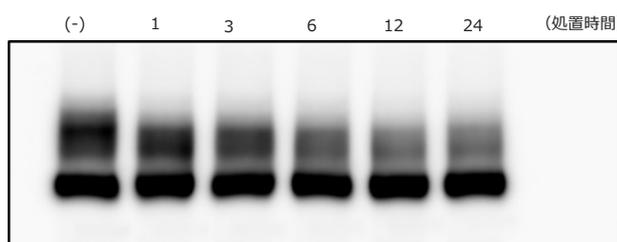


実験例 2 Pentamidine と Astemizole の競合作用 (レスキュー効果)

hERG (-)	0.2	0.2	5	5
astemizole (-)	(-)	(-)	0.2	0.2
pentamidine (-)	(-)	30	30	30



実験例 3 hERG トラフィックティング阻害剤 Geldanamycin (1 μmol/L) の作用 (時間推移)



標準プロトコル

■ 使用細胞

CHO または HEK

■ 群構成

- ・ 対照群 (DMSO)
- ・ 被験物質群 (3 濃度)
- ・ 陽性対照群 (Pentamidine) (n=3)

■ 試験方法

ウェスタンブロッティング法

電気泳動: SDS-PAGE

転写法: セミドライブロッティング

検出法: 化学発光 (HRP)

→ CCD 画像

撮影システム速報提出まで

■ 納品

hERG とローディングコントロールの

画像ファイル (16 bit/Tiff)

弊社での定量解析結果を添付

株式会社 薬物安全性試験センター

DSTC
Drug Safety Testing Center

Tel 0493-21-7160

www.dstc.jp