

カルナバイオサイエンス株式会社

# Carna Biosciences, Inc.



# 健 康 に た ず さ わ る 一 貫 し た 姿 勢 揺 る が な い カ ル ナ の 原 点

**【基本理念】** カルナバイオサイエンスは人々の生命を守り、  
健康に貢献することを目指します。

**【行動基準】**

1. 誠実に徹し、強い信頼関係を築く。
2. 常に最善を尽くし、困難を克服する。
3. 個性を尊重し、創造力を發揮する。

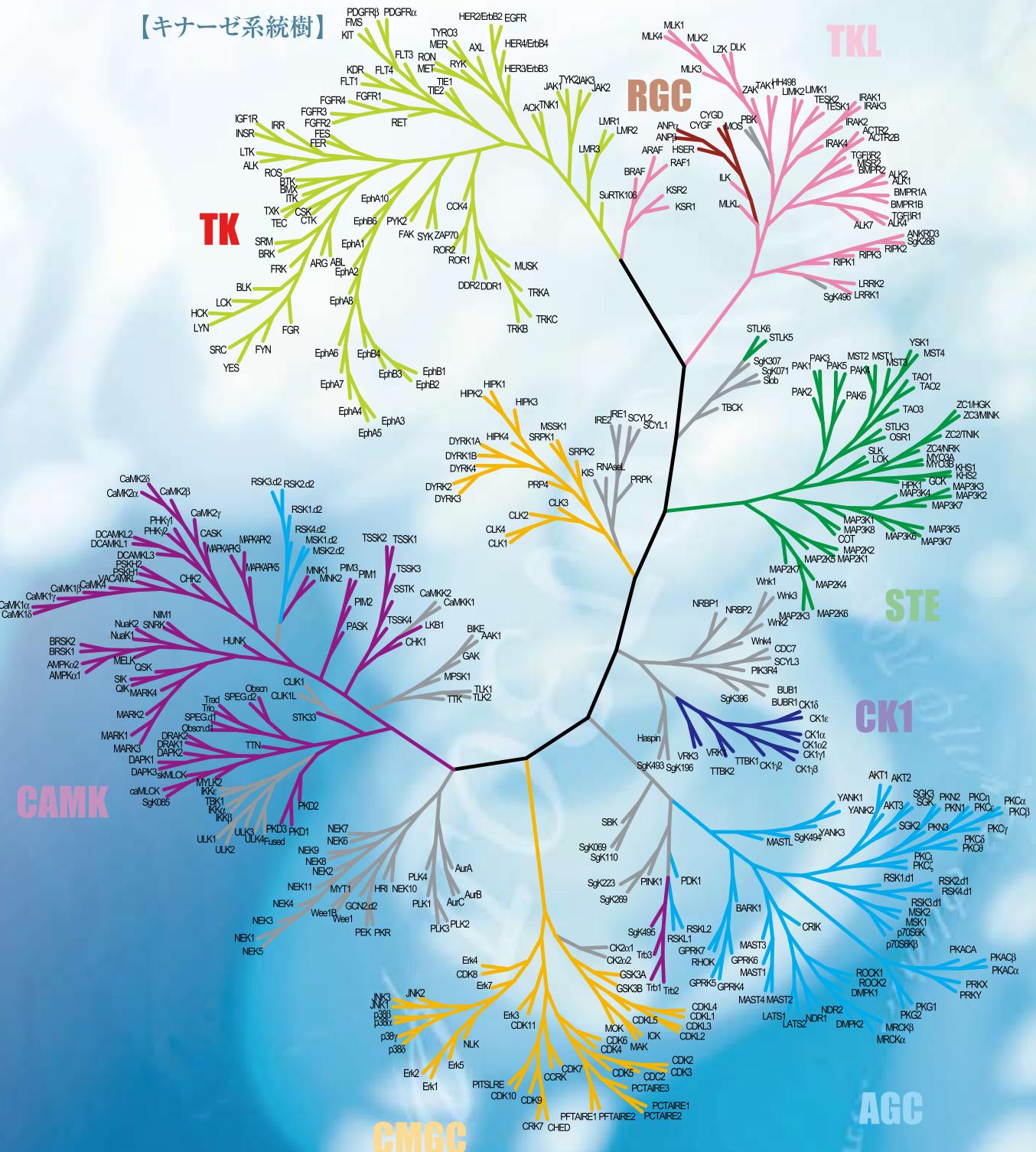
## キナーゼのリーディングカンパニーとして

弊社はタンパク質の一種であるキナーゼという酵素を標的として医薬品の創製を目指しています。キナーゼはガンの研究から見いだされた酵素で518種類のキナーゼが人の体の中で働いていることが明らかになっています。このキナーゼが働きすぎるとガンやリウマチなどの病気が引き起こされることがわかつきました。これまでに、キナーゼを標的にする8つのガンの治療薬が米国で認可され、その画期的な効果はガンの治療を大きく変えました。我々は研究のレベルを徹底的に高め、前臨床試験までのデータで導出可能な、効果の高いガンやリウマチの治療薬を生み出すことを重点目標としています。治療薬を生み出す研究には品質の高いキナーゼタンパク質が欠かせません。弊社は、これまでに培ってきた技術を駆使して270種類以上の高品質のキナーゼを作り、さらに、キナーゼ阻害薬の選択性を調べるために250種類以上のアッセイ系を構築し、プロファイリングパネルを作製しました。これらの創薬支援製品およびサービスを、キナーゼを標的として創薬研究を行っている製薬企業へ提供すると同時に、自社創薬に活用しています。今後も、製薬企業へ提供する製品・サービスを通して、また自社創薬を強力に推進することにより、一刻も早く病気で苦しむ患者の方々に有効な治療薬をお届けできるよう努力して参ります。

代表取締役 吉野 公一郎

# キナーゼ研究のノウハウで 製薬企業の発展に貢献します

## 【キナーゼ系統樹】



\*ヒトキナーゼドメインのアミノ酸配列の類似性でキナーゼを分類、図式化しました。

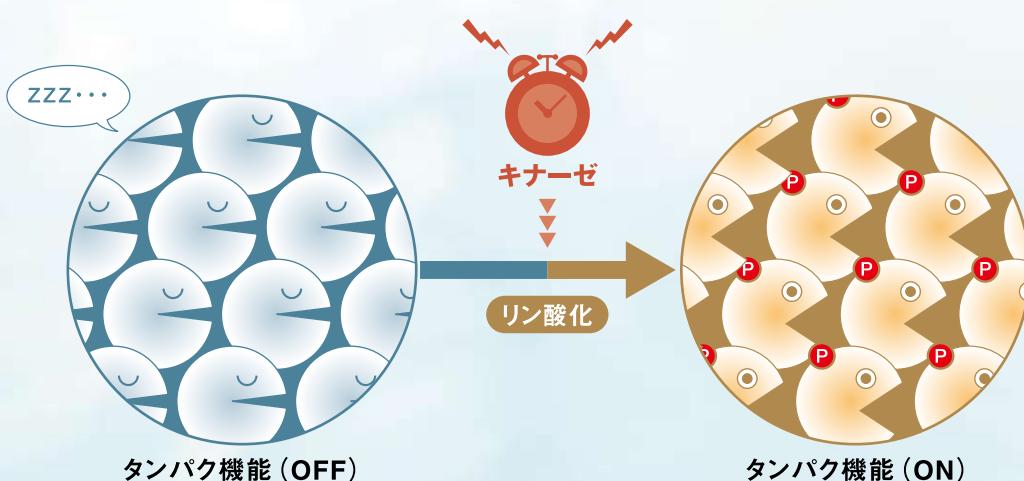
## キナーゼとは

キナーゼとは、他の分子（タンパク質や脂質など）にリン酸基を移転する（リン酸化する）酵素の総称です。このうちタンパク質をリン酸化するキナーゼをタンパク質キナーゼと呼びます。

タンパク質は生物の体を構成している主な成分であり、細胞の主成分でもあります。細胞内においてタンパク質はリン酸化、脱リン酸化する反応を繰り返しています。このリン酸化によってタンパク質は酵素活性、細胞内の局在や他のタンパク質との会合状態を変化させています。細胞内の30%ものタンパク質がキナーゼによる変化を受け、細胞内における様々なシグナル伝達や代謝の調節因子として機能していることがわかっています。

現在、ヒトゲノムの解読により生体内には518種類のキナーゼが存在すると言われており、それぞれのキナーゼがシグナル伝達の重要な役割を担っていると考えられています。ところが何らかの原因でこのキナーゼによるシグナル伝達に混乱が生じると、生体内の制御が正しく行われなくなり様々な疾患として発症することになります。その顕著な例がキナーゼの持続的なリン酸化がもたらす細胞増殖・分裂制御の破綻によるガン化といえます。その異常シグナルを止めるキナーゼ阻害薬は臨床で驚異的な治療効果が示されました。

【タンパク質のリン酸化の図】



# 創薬研究で注目される キナーゼの働き

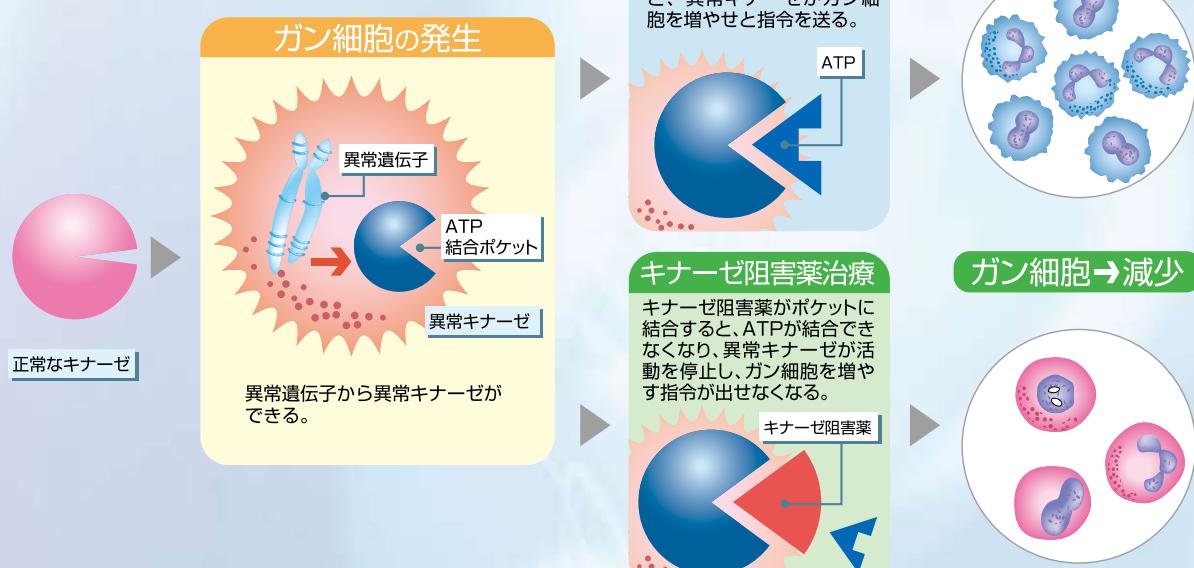
## キナーゼ阻害薬-分子標的薬

近年、「分子標的薬」と呼ばれる、有効性が高く副作用の少ない新しい抗ガン剤が注目を集めています。従来のガン治療では、嘔吐、食欲不振、疲労などの症状や、血球数の減少に伴う感染症、貧血など、抗ガン剤自体によって引き起こされる副作用によって苦しさに耐えきれず治療を断念することも少なくありませんでした。これは従来の抗ガン剤がDNA合成や細胞周期を非選択的に阻害して、正常細胞よりも増殖の早いガン細胞を主に殺すことを目的として作られているからです。このとき、ガン細胞以外にも分裂速度の速い

細胞（骨髄中の幼若造血細胞、口腔粘膜細胞、消化管上皮細胞、毛嚢等）も同時に障害を受けるため副作用を引き起こしてしまいます。一方、分子標的薬はガン細胞に特異的に発現している（あるいは過剰発現している）分子だけを狙い打ちして治療しようという目的で作られているため、従来の抗ガン剤がもつ副作用の発症を抑えることが可能になり、延命効果だけでなく患者のQOL（Quality of Life）の向上に役立っています。

低分子化合物による最初の分子標的薬は、ノバルティスファーマ社が開発した抗悪性腫瘍を適応症としたキナーゼ阻害薬、「グリベック®」です。

### 【キナーゼ阻害薬の作用】



「グリベック®」はフィラデルフィア染色体の遺伝子産物Bcr-Ablキナーゼを標的とし、欧米で1998年より慢性骨髄性白血病を適応として臨床試験が開始されましたが、その治療効果は驚異的なものでした。通常、臨床試験では20~30%の患者に効けば「有効」とされていた過去の事例とは異なり、1千人以上の患者の約90%で白血球数を正常値へ回復させたという、桁外れの効果をもたらしたのでした。その優れた臨床効果から、FDA（アメリカ食品医薬品局）は承認申請直後に「グリベック®」を優先審査対象品目に指定し、2.5ヵ月という過去に例をみない迅速な審査を行い2001年5月に米国での販売を承認しました。その有効性、安全性のゆえ、「グリベック®」の売上高は2006年にUS\$2,554百万にまでのぼり、ブロックバスターとして抗ガン剤市場の牽引役となっています。

## 臨床現場で認められたキナーゼ阻害薬の有効性

この「グリベック®」の大成功を機に、キナーゼ阻害薬の研究が一気に活性化し、現在では100以上のキナーゼ阻害薬が臨床試験中であり、すでに8つものキナーゼ阻害薬が上市されています。これらキナーゼ阻害を機序とする分子標的薬は、臨床現場において服用開始後わずか数日間で症状が消えるという非常に切れ味の良い優れた効果を示していることもあり、今後もキナーゼは創薬研究において最も注目される分子であるといっても過言ではありません。

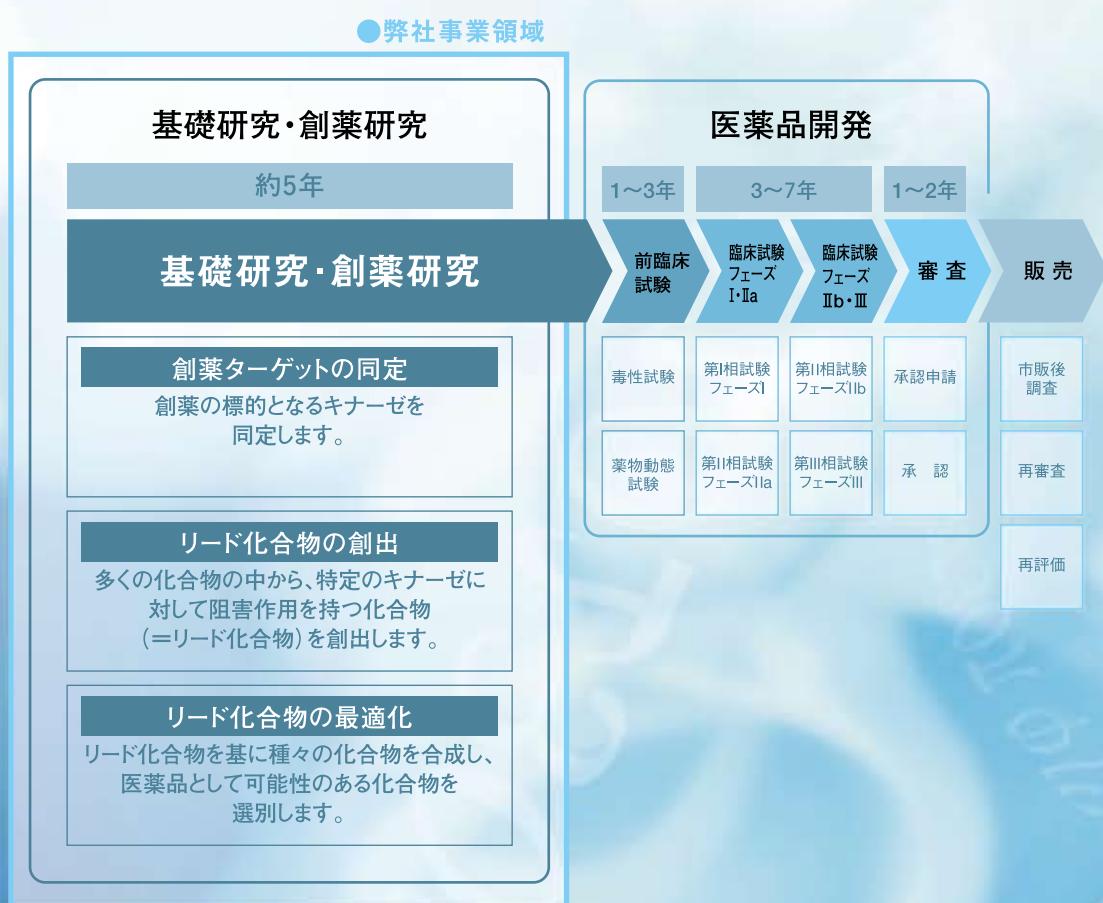
【キナーゼ阻害薬の売上高推移】



# 創薬プロセスへのアプローチ

## 創薬プロセス

新薬は基礎研究から上市まで以下のプロセスを経て、平均13～14年で販売されると言われています。



フェーズI:少人数の健康な人を対象に医薬品候補物質の安全性や体内動態を確認します。

フェーズII:少人数の患者を対象に医薬品候補物質の安全性と有効性を確認します。

フェーズIII:数百人から数千人の患者を対象に医薬品候補物質を既存品などと比較して安全性と有効性を確認します。

「グリベック®」の登場以降、キナーゼ阻害薬の研究開発競争が始まり、製薬企業は新薬開発にスピードを求められるようになり、そのスピードが年々加速しています。遺伝子取得、タンパク発現、アッセイ系構築等の創薬プロセスは年月をかけて蓄積された知識と経験が必要であり、また時間のかかる工程です。弊社は、最先端技術を駆使した創薬支援製品・サービスを提供することで、製薬企業の新薬研究の効率化を支援します。

## ■アッセイ開発技術

### —新薬開発の成功の鍵—

キナーゼ阻害薬はガンのみならず、リウマチ、喘息など免疫・炎症疾患を適応症とするものも開発されつつあります。特にガン以外を適応症とする場合は非選択的キナーゼ阻害による副作用が懸念されるため、如何にして標的キナーゼの選択的阻害薬を開発するかが創薬の最も重要なポイントになります。言い換えれば、残りの517種類のキナーゼを阻害しない化合物を見つけることが新薬開発の成功の鍵となるわけです。

その成功の鍵を担うのが化合物を評価するシステム、いわゆるアッセイ系を開発する技術です。アッセイ系とは、化合物が薬になりうるかを評価するための技術であり、標的となるキナーゼの反応をシンプルに試験管等の細胞外で再構築し再現させる技術です。細胞内で複雑な働きをしているキナーゼやキナーゼがリン酸化するタンパク質基質を分子生物学的手法・技術によって調製し、アッセイ系を構築することは容易なことではありません。弊社では、化合物評価に使用可能な、活性が高く不純物の少ないキナーゼタンパク質の開発・生産を自社で行っており、その品質は化合物の評価に使用可能な高い物であることが証明されています。優れたアッセイ系とは、結果の再現性が高く、様々な性質を持った多種多様な化合物の妨害を受けにくく、偽陽性や偽陰性の少ないものです。このような優れたアッセイ系を構築するためには、種々のアッセイ方法の中からどの方法を選ぶかが重要なポイントとなります。弊社では、Mobility Shift Assay (MSA) 方法に着目し、この原理に基づく測定機器LC3000 (Caliper Life Science社製品) を導入し、MSA法によるアッセイ系の構築を積極的に推進しています。他のアッセイ系で

は評価が不可能な化合物の測定・評価ができることが報告されており、これまで薬として評価されなかった化合物がキナーゼ阻害剤として見つかる可能性が示唆されています。しかし使用するキナーゼが高品質でなければならず、またキナーゼの基質探索に関する豊富な知識やアイデアが必要であることなどから、MSA法を用いたアッセイ系の構築は非常に困難とされてきました。弊社はMSAでの使用に耐える高品質キナーゼタンパク質を自社製造していることと、これまでに培った他のアッセイ系構築の知識と経験、さらに研究員の努力により250種類以上ものMSA法によるアッセイ系の構築に成功し、今後これを更に増やし続けていきます。構築されたMSA法によるアッセイ系では、測定精度の向上、高い再現性、測定のスピードの向上が得られると同時に、作業効率の改善がもたらされました。この技術は化合物のスクリーニングからプロファイリングにと幅広く応用され、弊社のプロファイリング受託サービス事業を担っています。また多くの製薬企業の要望にお応えし、アッセイキットとしての販売も開始しました。

●製品・サービス

# キナーゼタンパク質

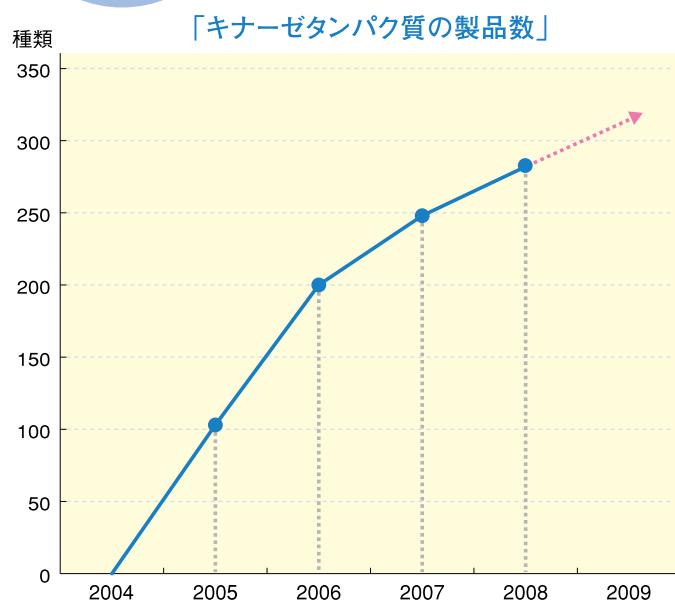
## Protein kinase



### キナーゼタンパク質

弊社は、生体内に存在するキナーゼ遺伝子の全長を自社で取得し、組換えキナーゼタンパク質を主に昆虫細胞を用いて、すべて自社で製造しています。この際、不純物の混入防止、高活性の維持に特に気を配っています。すでに270種類以上のキナーゼタンパク質が製品化され、お客様のあらゆるニーズにお答えできるよう、少量(5μg)から大量(数mg)まで幅広く供給できる体制を整えています。製品はすべて、規格化されたキナーゼ活性測定、電気泳動法による純度測定、およびペプチドマスフィンガープリント法による同定を行っており、これらの品質管理試験を経て販売されています。

キナーゼ  
タンパク質の  
製品化状況





## 【キナーゼタンパク質の製造プロセス】



●製品・サービス

## アッセイ開発 Assay development



### アッセイ開発

キナーゼ阻害薬（分子標的薬）をスクリーニングするためのアッセイ系の開発には、多くの時間と労力を要します。これまで蓄積してきたキナーゼアッセイ系構築のノウハウを結集して、キナーゼタンパク質、それに適合した基質、バッファー、および実験手順書を一式にしたアッセイキットを開発しました。弊社のアッセイキットを利用すると、煩雑なアッセイ系開発研究なしに、化合物評価等の実験が簡単に行えます。お客様の用途に合わせ、酵素結合抗体法（ELISA法）、時間分解・蛍光共鳴エネルギー転移法（TR-FRET法）、蛍光偏光法（FP法）、MSA法の4方法のキットを用意しました。また、お客様のご要望に応じたアッセイ系を構築するカスタマイズサービスも行っています。



QSS Assist MSA (MSA用アッセイキット)



QSS Assay kit (ELISA用アッセイキット)



## 【研究開発】

反応



キナーゼと基質を混合しキナーゼ反応を行う



Assay development

測定試験



LC3000でキナーゼ反応がどの程度起こったか調べる



●製品・サービス

# スクリーニング／プロファイリング

## Screening/Profiling



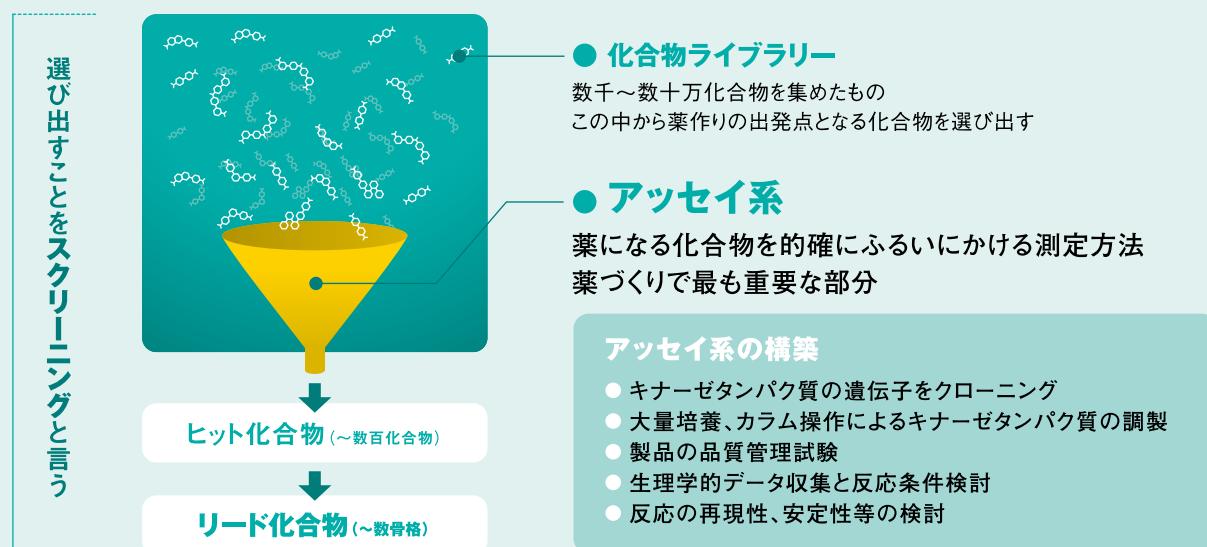
### スクリーニング・プロファイリング

キナーゼ阻害薬の創薬研究の初期段階では、創薬ターゲットとなっているキナーゼに結合してキナーゼの働きを抑える化合物を見いだすために、数千から数十万の化合物ライブラリーを用いた大規模なスクリーニングが実施されます。このような大規模なスクリーニングを実施するには効率的なアッセイ系の構築が必要です。またこのアッセイ系を用いたスクリーニングを完了するには数週間を要し、その間安定的にアッセイ系を動かしていく必要があります。弊社では、これまで培ってきた大規模スクリーニングに関するノウハウ、経験を生かして、お客様からライブラリーを預かり、スクリーニングを実施するサービスを提供しています。

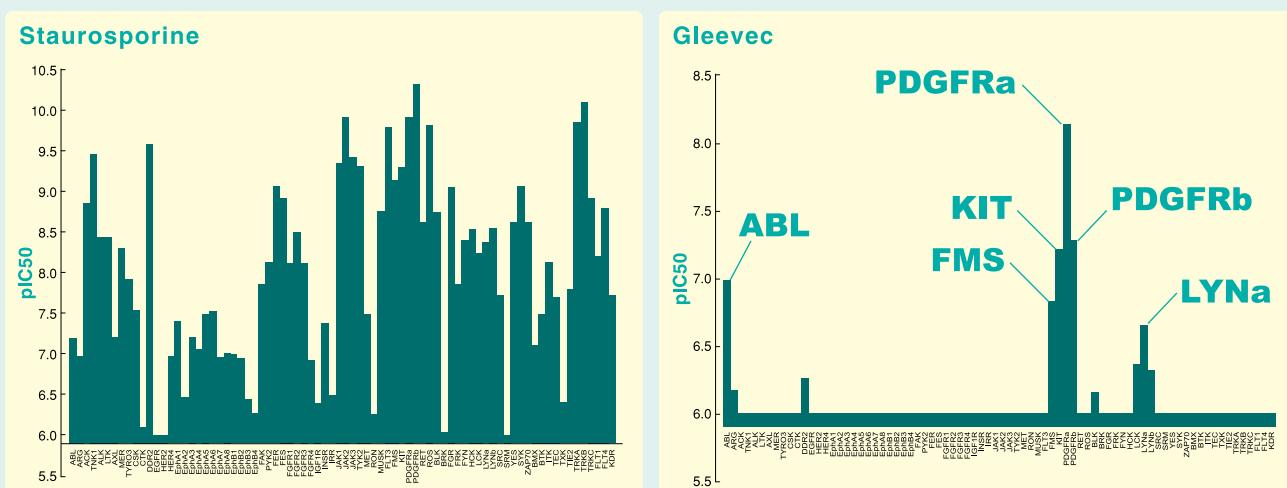
ライブラリーから化合物を選び出した後は、この化合物の類似化合物を多数化学合成して医薬品として使える化合物に仕上げていくわけですが、この間に化合物が標的のキナーゼを阻害するが、その他のキナーゼを阻害しないことを慎重に見極める必要があります。このような選択性を調べることをプロファイリングといいますが、弊社では250種類以上のキナーゼに対してプロファイリングを実施する体制を整え、化合物のプロファイリングを受託しています。また、お客様から化合物をお預かりした後、速やかにプロファイリングデータをお返しできるよう、社内体制の充実、プロファイリングプロセスの効率化に努めています。



## 【化合物のスクリーニング】



## 【プロファイリング グラフ】



グラフは、弊社でアッセイサービスを提供しているキナーゼのうち、78種類のチロシンキナーゼに対して化合物を作用させた場合のデータです。  
縦軸の単位pIC<sub>50</sub>は、化合物のキナーゼに対する阻害作用の強さを示しており、グラフが長いほど酵素活性が強く阻害されたことを表します。  
広範のキナーゼ阻害剤として有名なStaurosporineは、弊社のプロファイリング試験においても大多数のキナーゼに対して強い阻害作用を示したことから、非特異的な作用を有する（副作用の大きい）化合物であることが分かります。  
これに対し、Gleevecが有効な阻害作用を示す標的のキナーゼはABL、FMS、KIT、PDGFR $\alpha$ 、PDGFR $\beta$ 、及びLYN $\alpha$ といった少数のキナーゼに限られ、非常に特異性の高い（副作用の少ない）化合物であることが示されました。

●研究・開発

## 創薬 Drug discovery

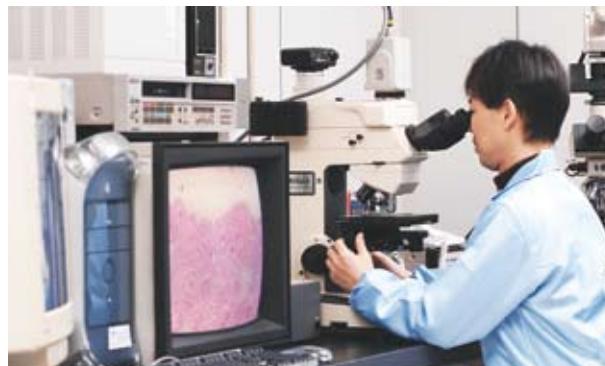


### 創薬事業

キナーゼ創薬基盤技術の研究開発で得られた新しい発見とテクノロジーを駆使し、新規作用機序による画期的な新薬の創製研究開発を行っています。このために、生命情報学、分子生物学、生化学、創薬化学、薬理学、薬物動態学等の専門分野を連携させるとともに、大学などの公的研究機関とも密接に連携し、基礎研究力の強化も進めています。

研究開発では、疾患の分子メカニズムの基礎研究を通じた標的キナーゼ分子の同定、新薬の創製を目指したハイスクループットスクリーニングおよびリード化合物最適化のための薬理学的評価を行っています。こうした評価には分子生物学的手法、生化学的手法、実験動物取り扱いなど広範囲の技術、知識が利用されます。

また、キナーゼ阻害薬の医薬品化に向けた開発候補品の





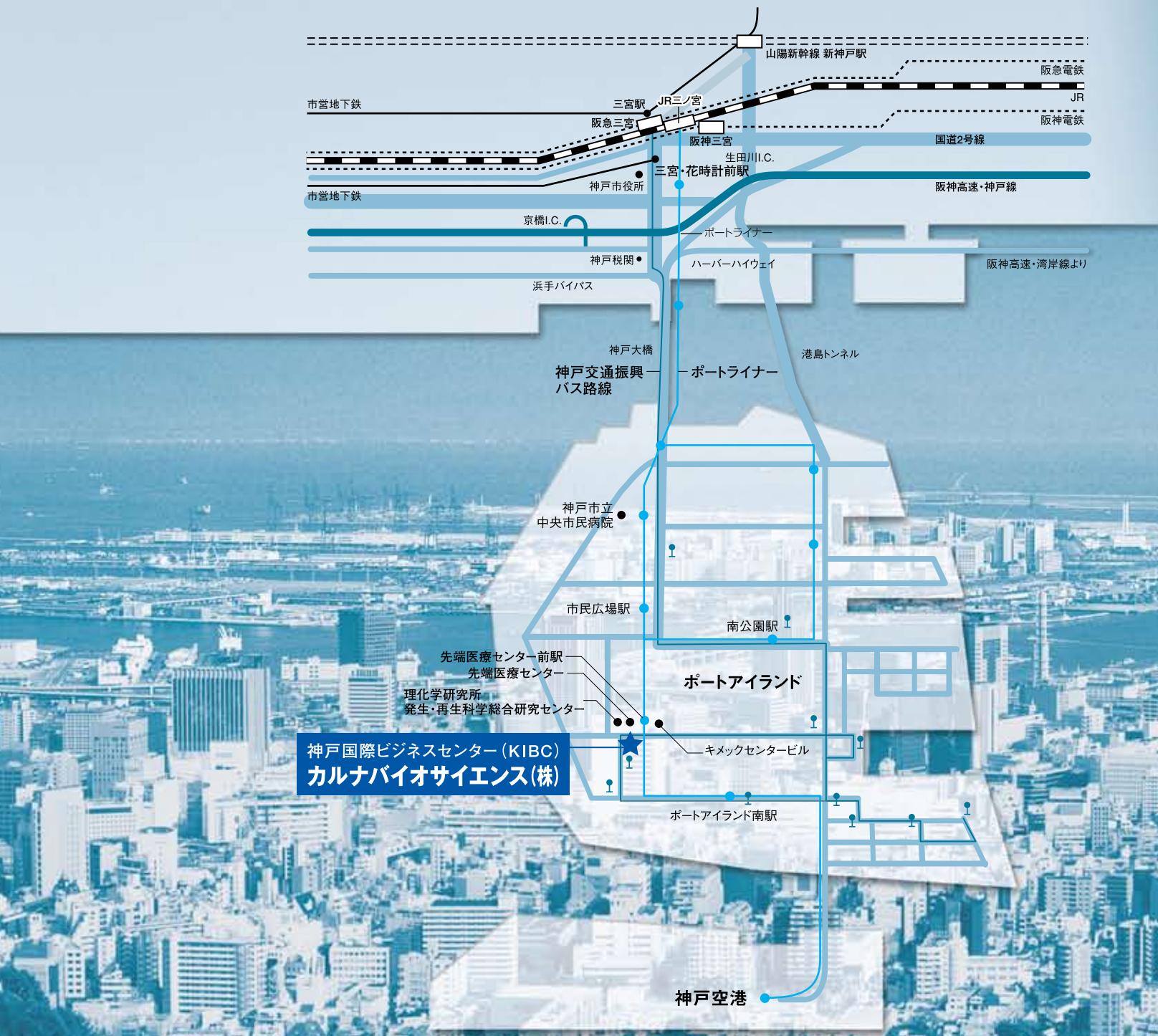
創製を行っており、リード化合物の最適化では、従来の合成法よりも高速で高収率なマイクロ波合成技術やフラッシュクロマトシステムによる精製の自動化、さらにタンパク質構造解析を基にした合理的分子設計などの最新技術を取り入れ、より効率的な創薬を目指した研究を進めています。弊社の基盤技術である250種類を越えるキナーゼ選択性プロファイリングパネルを適宜利用できることから、標的となるキナーゼに対し特異性の高い、副作用の少ない安全な新薬候補化合物を得ることが可能となります。

弊社の効率的な創薬技術を利用して創薬研究開発活動を行っていくにあたり、(1) 見出された新薬候補化合物を適切な時期に製薬企

業にライセンスアウトする自社型、(2) 研究初期より製薬企業とのスポンサー契約締結をし、研究開発を進めていく受託型、および(3) 当社と技術的な補完関係にある会社との共同研究型の3つのタイプを効率的に組み合わせて、パイプラインを充実させていく予定です。



# 神戸医療産業都市構想の中心







© 2003

カルナバイオサイエンス株式会社

〒650-0047

神戸市中央区港島南町5-5-2 神戸国際ビジネスセンター511

TEL:078-302-7091 FAX:078-302-6665

E-mail:info@carnabio.com

E-mail: info@carnabio.com  
<http://www.carnabio.com>