

JST 新技術説明会

食薬資源におけるバイオアッセイ技術 に基づいた機能性探索研究

筑波大学 数理物質系
筑波大学 地中海・北アフリカ研究センター
(産業技術総合研究所 触媒化学融合研究センター)

佐々木一憲



新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!

バイオアッセイ技術

様々な食薬資源について、動物細胞工学応用したバイオアッセイを駆使した生理活性機能の探索やそのメカニズム解明



得られた成果

喫煙 老化
体内での
活性酸素増
ストレス

活性酸素除去作用
(抗酸化作用)

前臨床試験



学習記憶改善
関節炎緩和・予防
生活習慣病予防・改善

研究開発

・ヒト介入試験
・シーズ探索
・商品開発



バイオアッセイ技術による機能性評価の流れ

PROCESS

様々な生物資源



スクリーニング
(様々なバイオアッセイを駆使)



分子メカニズム解析

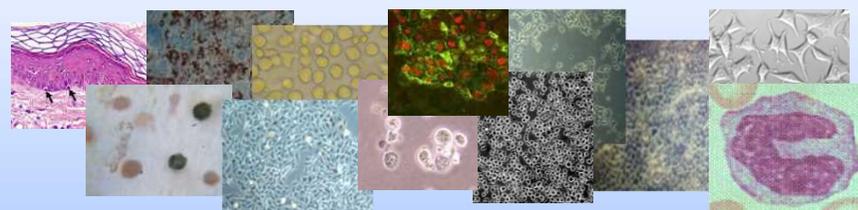


動物実験

(疾患モデル動物を使用)



食薬資源、藻類などの生物資源



様々な動物細胞を用いたバイオアッセイ

プロテオミクス解析、マイクロアレイ解析、リアルタイムPCR、ウエスタンブロッティング、RNAi など



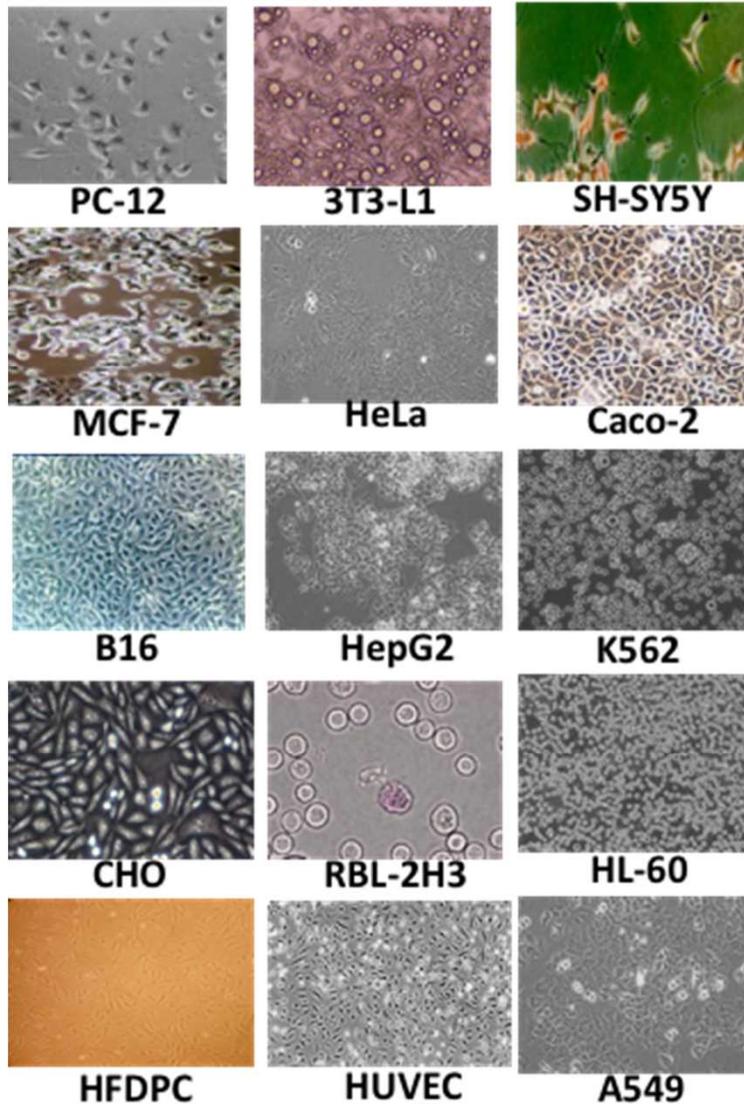
疾患モデルマウス
(学習記憶障害、うつ症状、肥満、ガン、糖尿病 など)



生物資源への機能性の付与



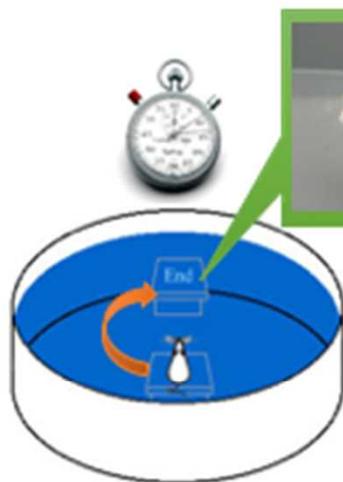
多様な細胞バイオアッセイ



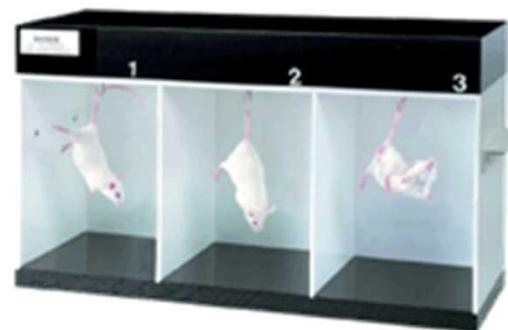
Group	Assay	Aim
Basic assay	DPPH assay	Antioxidant
	Total polyphenol assay	Antioxidant
	MTT assay	Anti-cancer Cytotoxicity
	LDH assay	Anti-cancer Cytotoxicity
	Intracellular ROS assay	Antioxidant
	Intracellular F-actin assay	Differentiation
	Intracellular ATP assay	Energy metabolism
Neuronal assay	Acetylcholinesterase assay	Differentiation
	Neurite outgrowth assay	Differentiation
	Neuroprotection assay	Neuroprotection
Intestinal assay	TER (transepithelial electrical resistance) assay	Tight junctional regulation
	α -Glucosidase assay	Anti-diabetes
	Cholesterol assay	Anti-hyperlipidemia
	Epithelium permeability assay	Intestinal permeability
Immunity assay	β -hexosaminidase assay	Anti-allergy
	Histamin assay	Anti-allergy
	Intracellular Ca ion assay	Anti-allergy
	Immunoactivity assay	Immunoactivity
Anti-cancer assay	Leukemia differentiation assay	Anti-cancer
	Cancer migration assay	Anti-cancer
Lifestyle-related disease assay	Adipogenesis assay	Insulin resistance
	Adiponectin assay	Insulin resistance
	ACE II assay	Hypertension
	Alkaline phosphatase activity assay	Osteogenesis
	Stress recovery assay	Anti-stress
Skin assay	Melanogenesis assay	Melanogenesis regulation
	Dermal papilla growth assay	Hair growth
	Epithelium permeability assay	Skin permeability



動物モデルバイオアッセイ



モリス水迷路試験



抗うつ試験

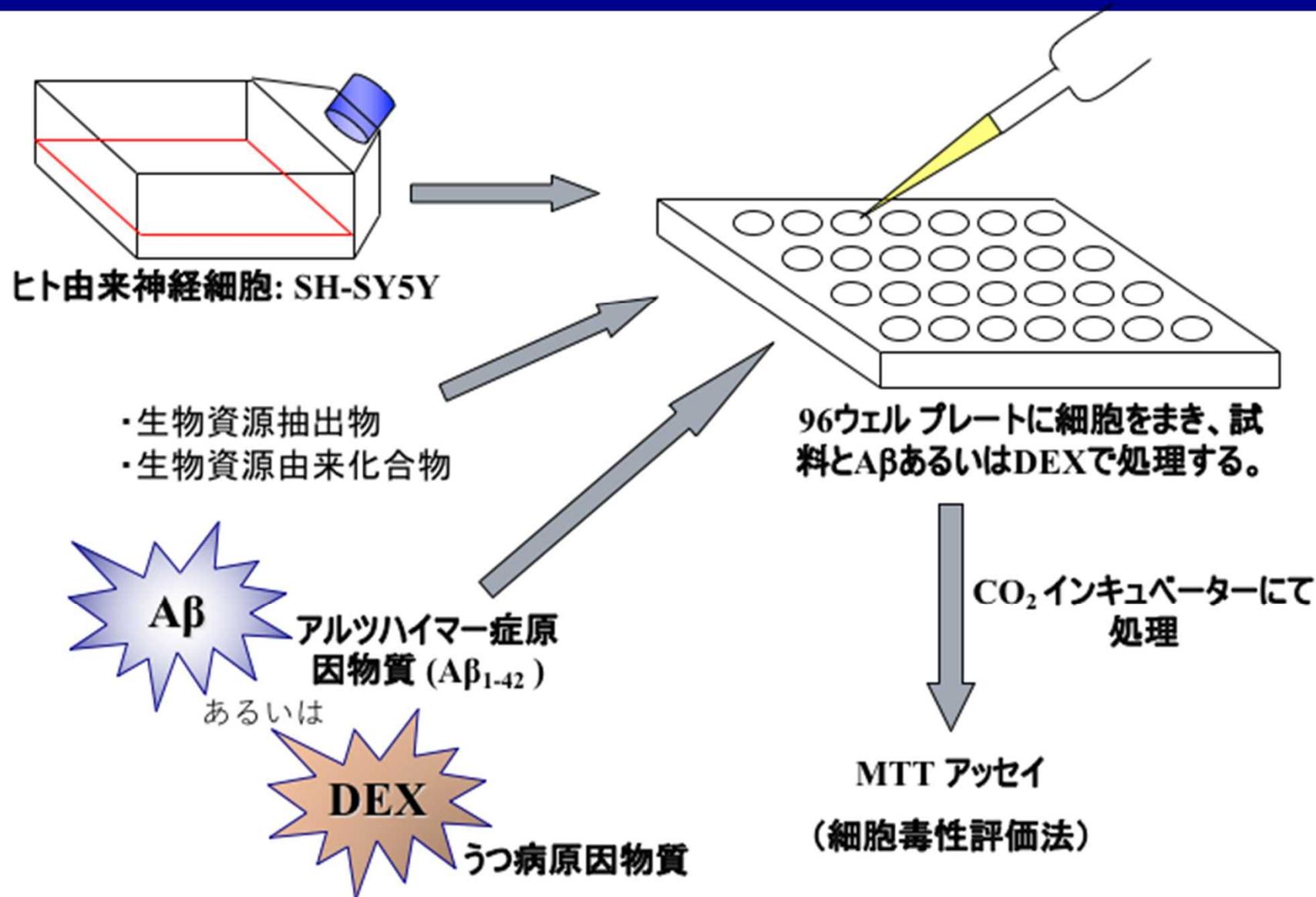
Animal	Experiment	Aim
Mouse (SAMP8, SAMR1)	Morris water maze (MWM)	Neuroprotective effect
Mouse (Nude mice)	The subcutaneous injection of cancer cells	Anti-cancer effect
Mouse (ob/ob or C57BL)	Obese mouse	Anti-fat effect
Mouse	Tail Suspension Test (TST)	Anti-depress effect
Mouse	Elevated plus maze Test	Anti-anxiety effect



抗肥満試験



神経細胞保護アッセイ



モリス水迷路試験



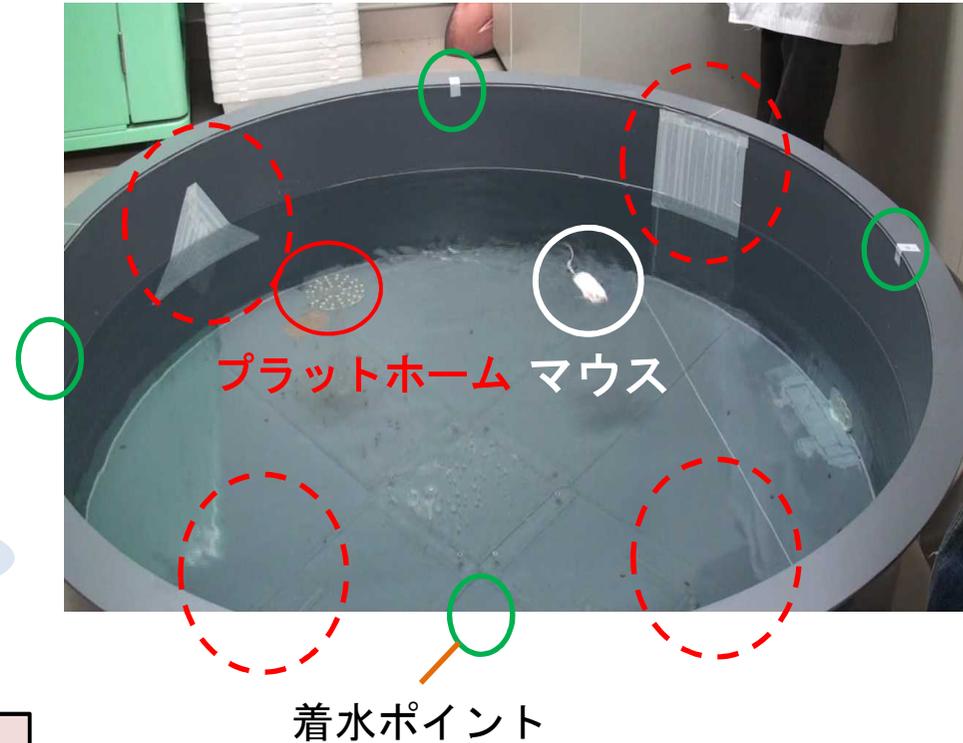
SAMP8マウス

生物資源抽出物や
由来成分の投与

空間学習記憶障害に関する影響評価

モリス水迷路試験

- ・ 1981年にMorris によって開発
- ・ 動物の**学習記憶能力**を評価する実験方法
- ・ 水面下に隠された**透明で不可視**のプラットフォームへの**逃避**
- ・ マウスは**目印（4つ）**の視覚情報から**空間**を認識
- ・ 異なる4箇所の着水地点からマウスを投入（毎日4回試行）
- ・ **プラットフォームに到着する時間により学習記憶能力を評価**



プラットフォームへの
到達時間の短縮

空間学習記憶改善

モリス水迷路試験 (SAMR1)

10



モリス水迷路試験 (SAMP8)

11



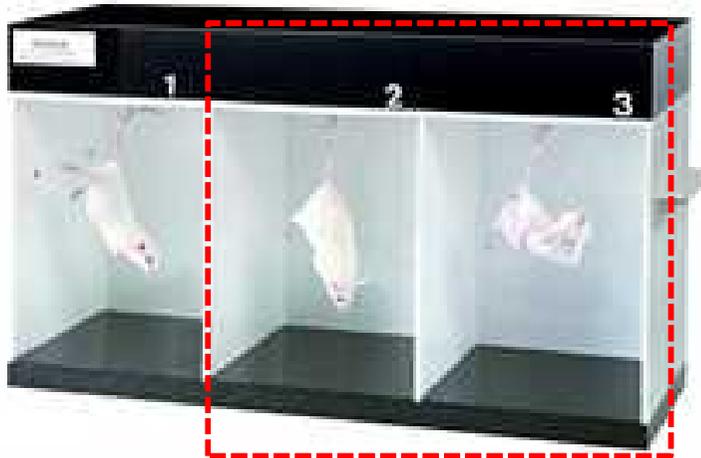
モリス水迷路試験 (SAMP8試料投与)

12

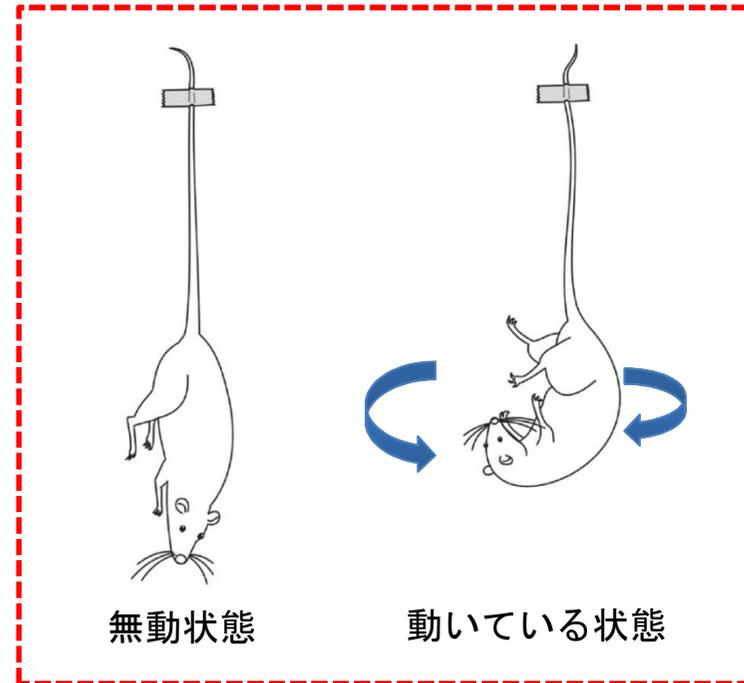


尾部懸垂試験

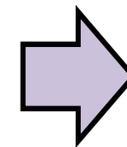
尾部懸垂試験法 (Tail suspension test)



<https://www.slideshare.net/urchauhan/in-vivo-model-of-depression>



尾を吊るされたマウスが精神的ストレスによって動かなくなった状態を無動状態とし、この無動時間を指標としてサンプルの抗うつ様効果を検証。
マウスを6分間逆さにぶら下げ、最後の4分間における無動時間を計測。



無動時間の短縮によってサンプルの**抗ストレス作用**が示される



尾部懸垂試験（動画）



水投与

Bupropion
投与

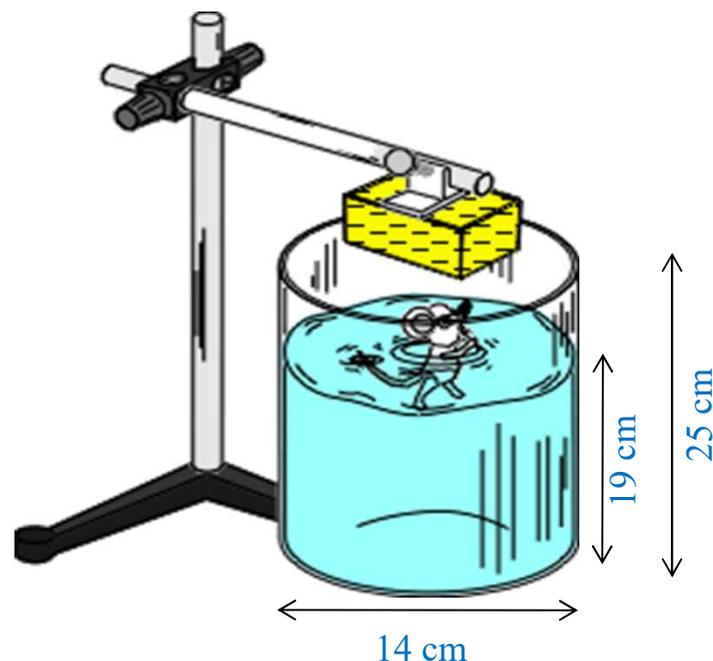
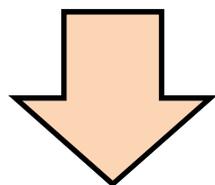
試料投与①

試料投与②



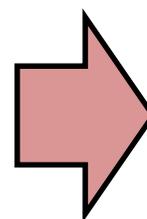


生物資源抽出物や
由来成分を経口投与



強制水泳試験 (Forced swim test)

- ・マウスに肉体的なストレスを負荷する実験。
- ・逃避不可能な水槽の中に水を入れ、そこにマウスを投入し、逃れようと泳ぐ時間とあきらめて無動になる時間を計測。
- ・マウスを5分間水槽に入れ、最後の4分間における無動時間を測定。



無動時間の短縮

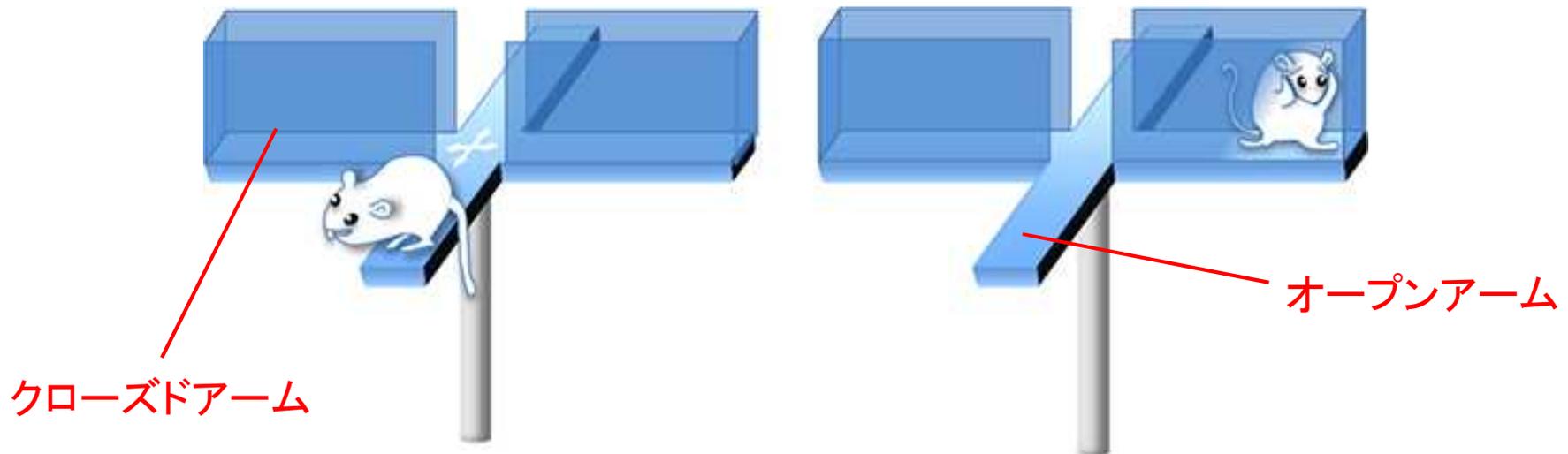
抗うつ効果

強制水泳試験（動画）



高架式十字迷路テスト

生物資源やその由来成分の抗不安効果の評価



高架式十字迷路テスト: 不安様行動を測定する代表的なテスト

マウスが壁際を好み、高所を避けるという性質を利用した不安様行動のテスト。自発的交替課題を行うための十字迷路を高架式にし、壁を持つアーム(クローズドアーム)と壁のないアーム(オープンアーム)を組み合わせ、それぞれのアームへの進入回数から不安様行動を評価。

オープンアームへの侵入回数と滞在時間を測定。



実例：微細藻類の機能性評価

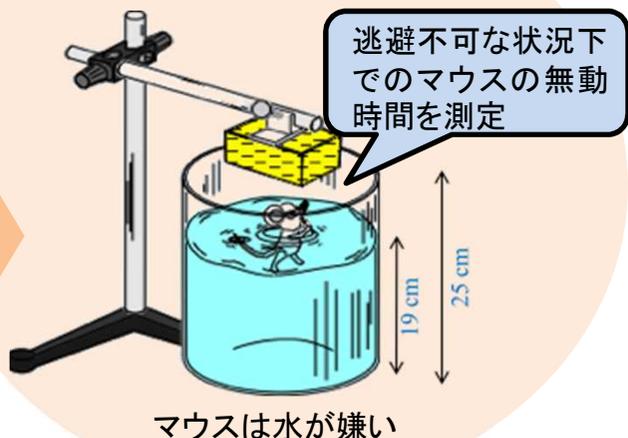
強制水泳試験を用いた 抗うつ様効果の評価



ボトリオコッカス抽出物



オーランチオキトリウム抽出物

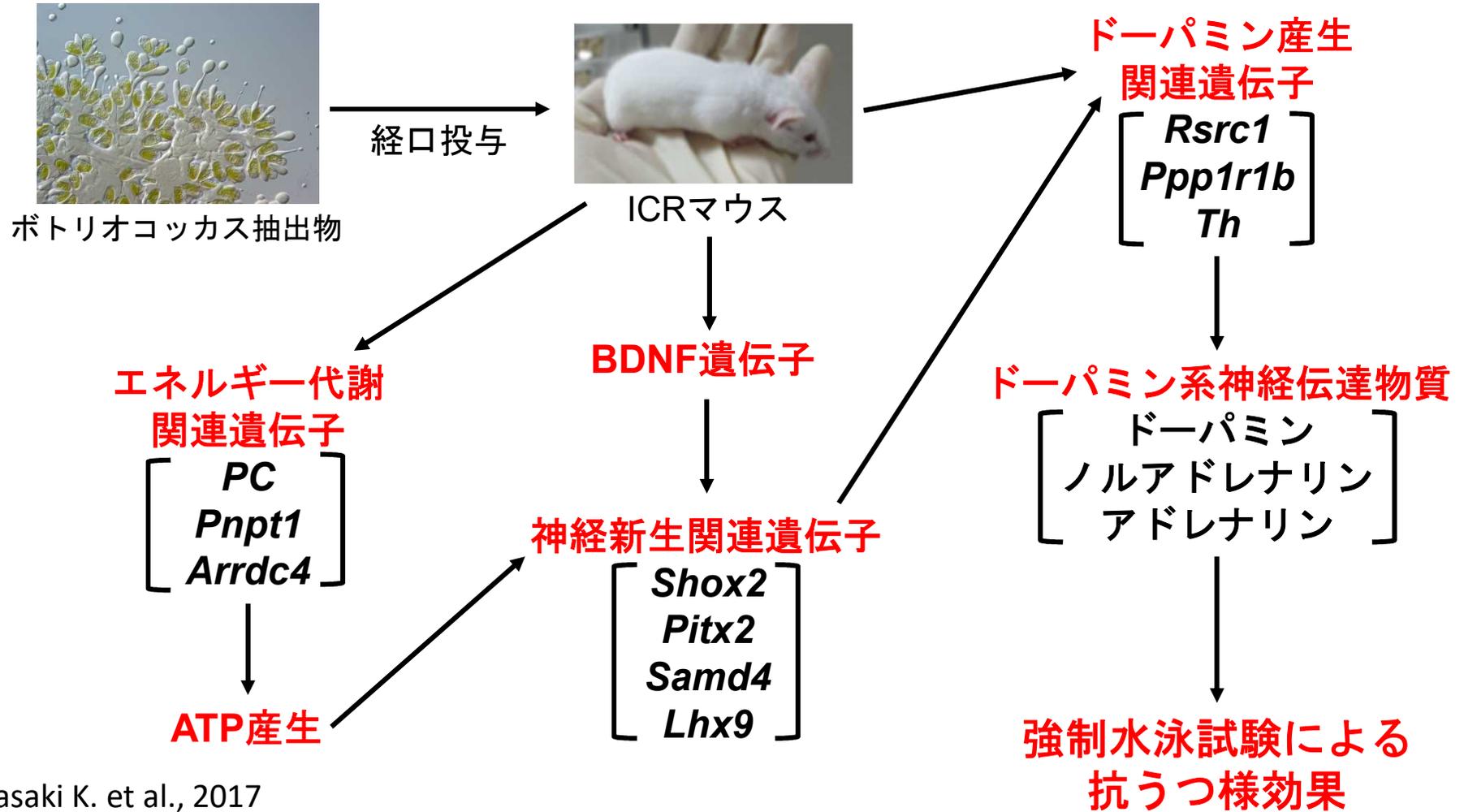


脳組織を用いたメカニズム解析



実例：微細藻類の機能性評価

ボトリオコッカスの神経新生促進によるドーパミン産生促進を介した抗うつ様効果を解明



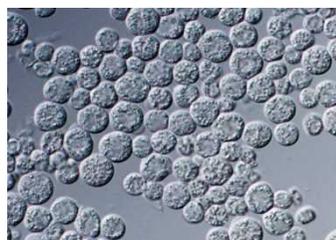
Sasaki K. et al., 2017



実例：微細藻類の機能性評価

オーランチオキトリウムの抗神経炎症を介した神経機能活性による抗うつ様効果を解明

神経炎症関連遺伝子



オーランチオキトリウム抽出物

経口投与



ICRマウス

- Ady7
- Plcb4
- Prkcd
- Sos1
- TNF- α
- IL-6

ドーパミン作動性シナプス
関連遺伝子

- Adcy5, Adcy9, Camk2a, Drd1,
- Drd2, Gria2, Gng7, Gnal, Itpr1,
- Prkca, Ppp1r1b, Ppp3ca,
- Trpc1

グルタミン作動性シナプス
関連遺伝子

- Adcy5, Adcy9, Gria2, Grik3,
- Grm3, Gng7, Homer1, Itpr1,
- Prkca, Ppp3ca

コリン作動性シナプス
関連遺伝子

- Jak2, Kras, Adcy5,
- Adcy9, Camk2a, Camk4
- Gng7, Itpr1, Kcnq5,
- Prkca

セロトニン作動性シナプス
関連遺伝子

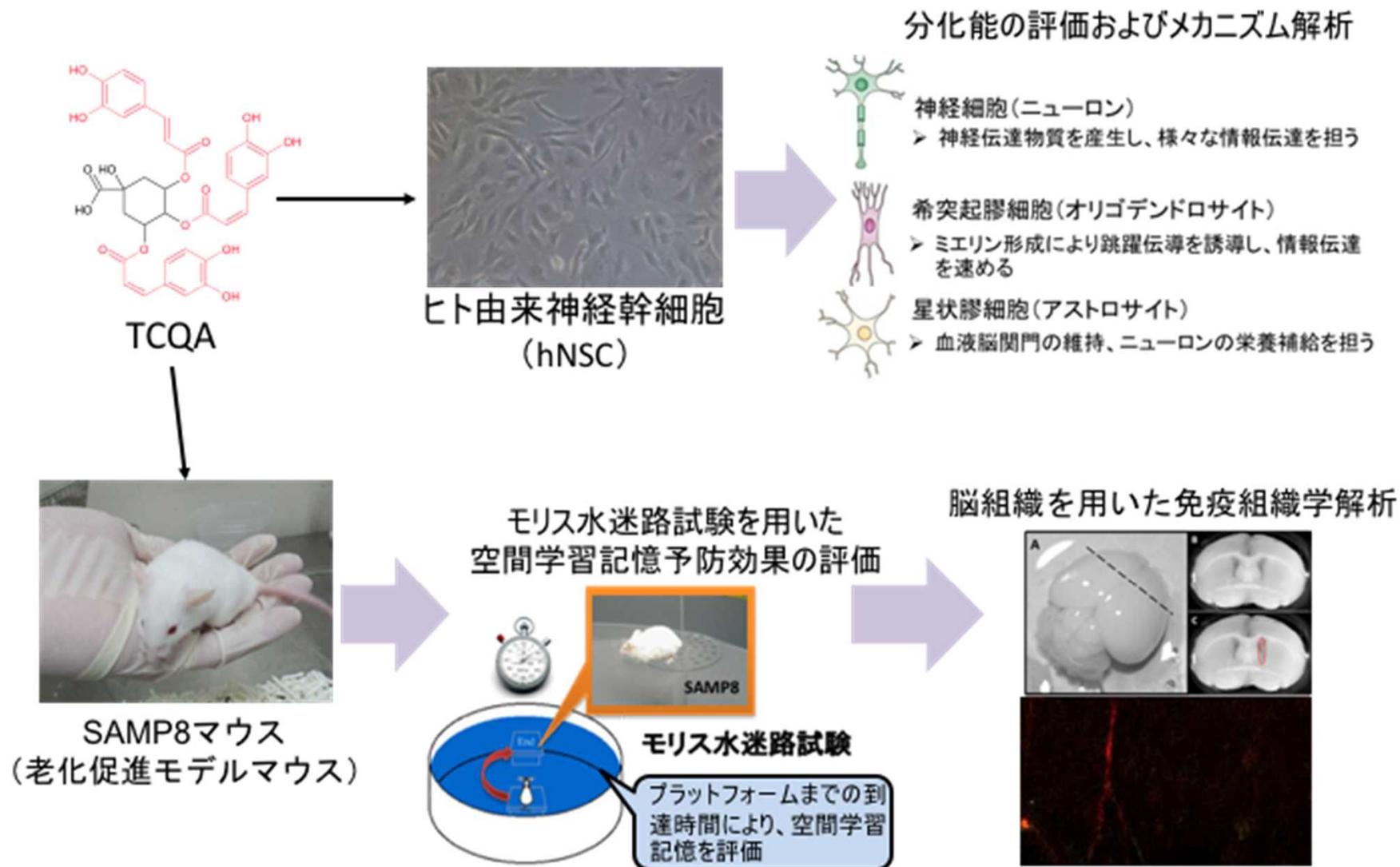
- Htr1b, Kras, Rapgef3,
- Adcy5, Gng7, Itpr1, Ptgs2,
- Prkca, Trpc1

強制水泳試験による
抗うつ様効果

論文投稿中

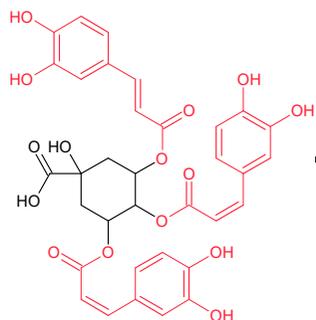


実例：3,4,5-トリカフェオイルキナ酸の新規機能性解明



実例：3,4,5-トリカフェオイルキナ酸の新規機能性解明

3,4,5-トリカフェオイルキナ酸の神経新生促進を介した学習記憶の改善効果を解明



TCQA

経口投与

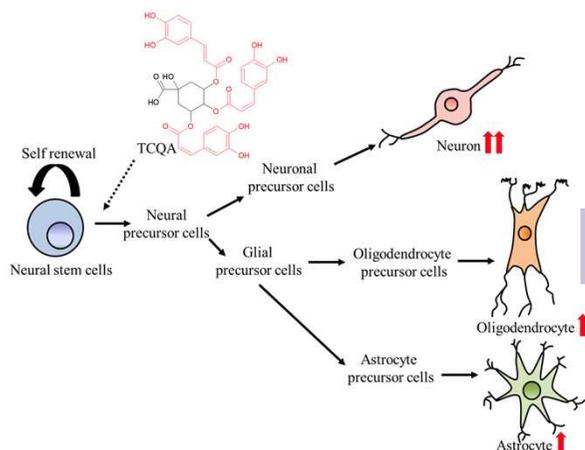


SAMP8マウス
(老化促進モデルマウス)

神経分化および
神経新生関連遺伝子 ↑

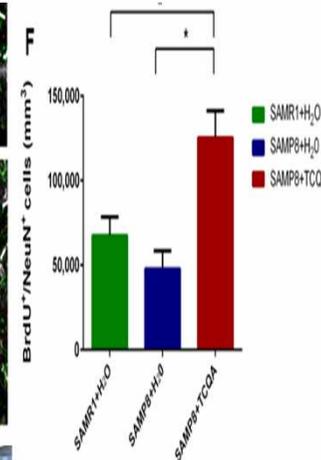
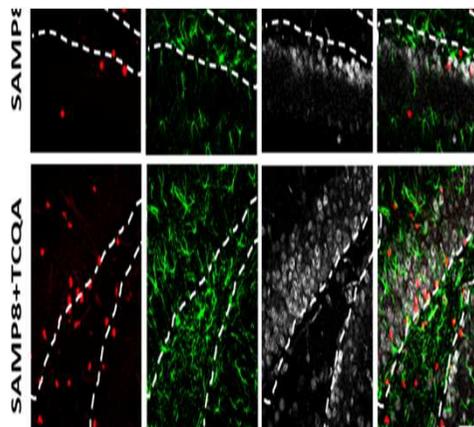
ZEB1, BMP5, BMPR2,
RORA, SMAD5, NBEA,
LRRTM1, NEUROD1

神経分化の促進



Sasaki et al., 2019

海馬歯状回領域における神経新生の促進



空間学習記憶
改善効果

ご清聴ありがとうございました

筑波大学 地中海・北アフリカ研究センター
磯田研究室

Isoda.hiroko.ga@u.tsukuba.ac.jp



お問い合わせ先

筑波大学 国際産学連携本部
産官学共創プロデューサー 中川 昌也

TEL 029-859-1856

FAX 029-859-1693

e-mail nakagawa.masaya.fn@un.tsukuba.ac.jp

