

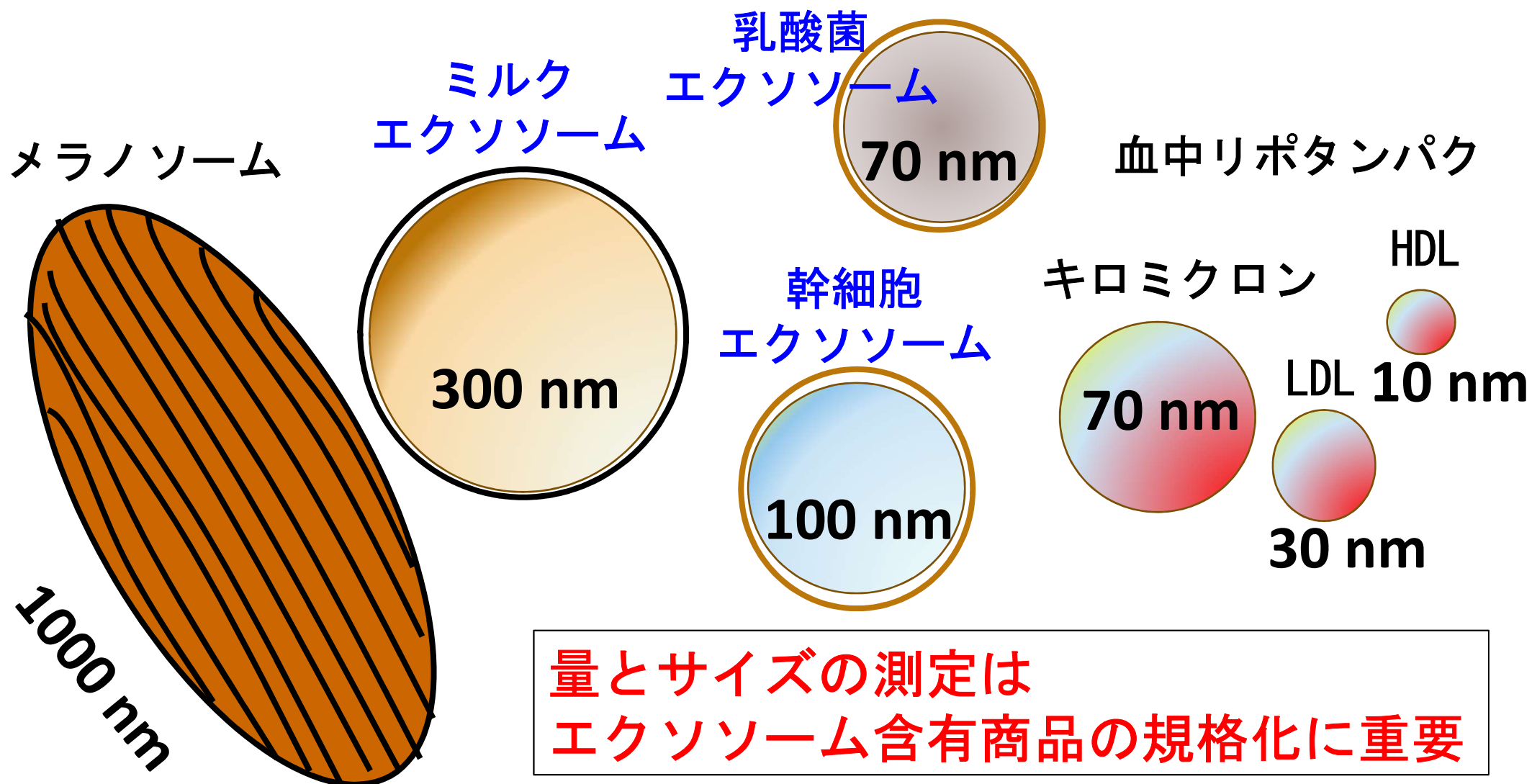
生物種を超えたエクソソームの 品質規格の策定と商品品質管理

岐阜大学 工学部 化学・生命工学科
教授 竹森 洋

2022年7月19日

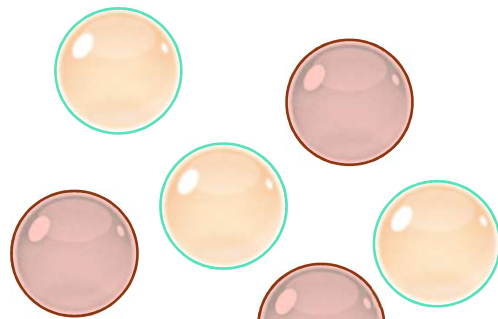
エクソソームとは？

細胞外小胞: Extra cellular vesicle (EV)



エクソソームとは？

細胞から分泌され、受け取る細胞の機能を調節

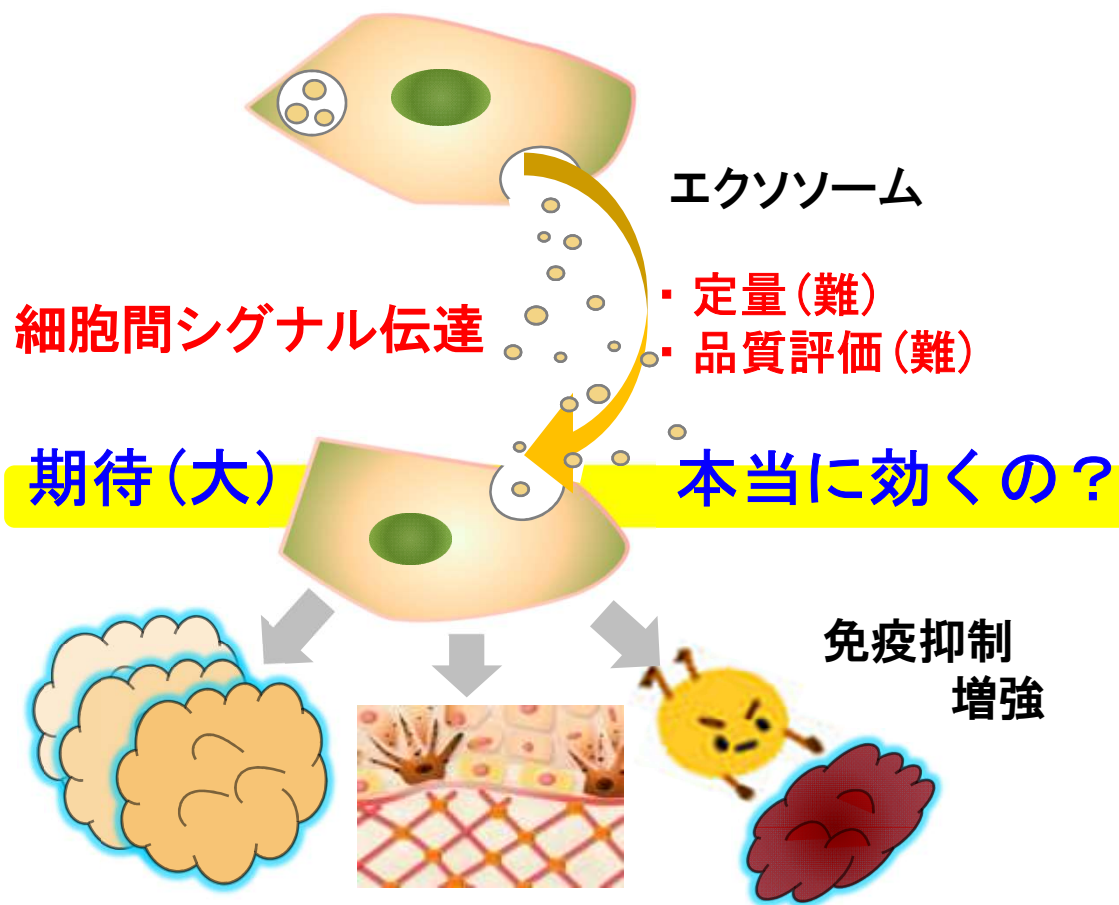


期待される効果

幹細胞エクソソーム： 若返り

ミルクエクソソーム： 抗炎症
美白作用

がん細胞エクソソーム： 臨床検査



エクソソーム

細胞間シグナル伝達

- ・ 定量(難)
- ・ 品質評価(難)

期待(大)

本当に効くの？

免疫抑制
増強

細胞保護
増殖

コラーゲン産生促進
新陳代謝促進

(問題点)

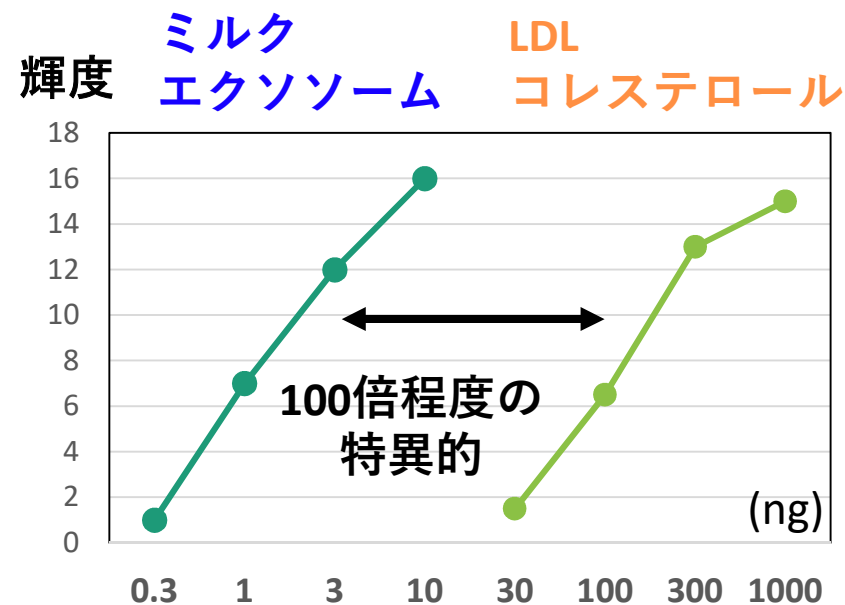
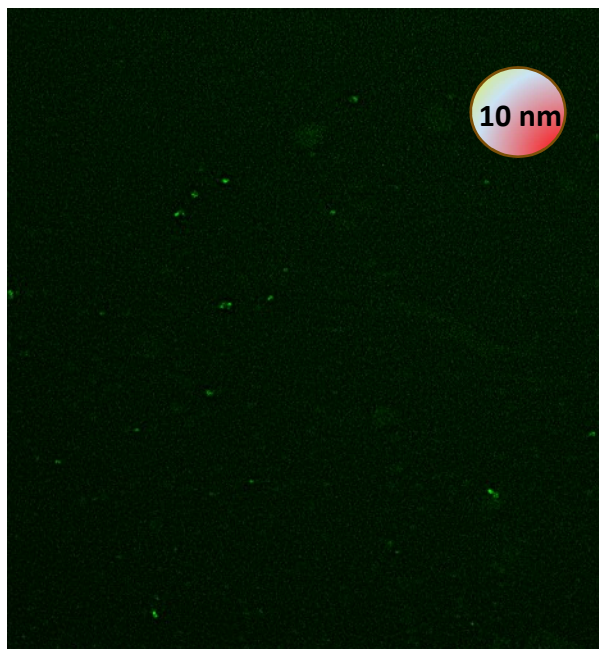
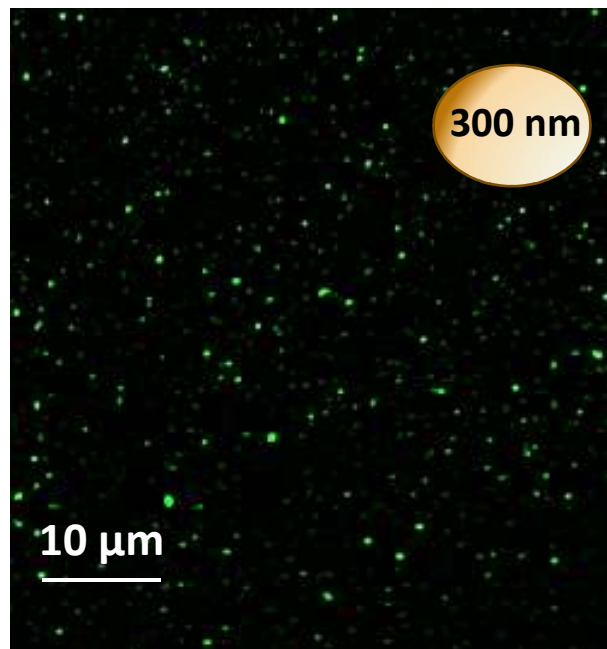
- ・ 含有物が分からない
- ・ 品質が不明瞭
熱に強い??

➡ × 怪しい商品開発???

エクソソームに特異的 GIF-2250

ミルクエクソソーム (1ng)

LDLコレステロール (1ng)



EVの中でもエクソソームに特異的

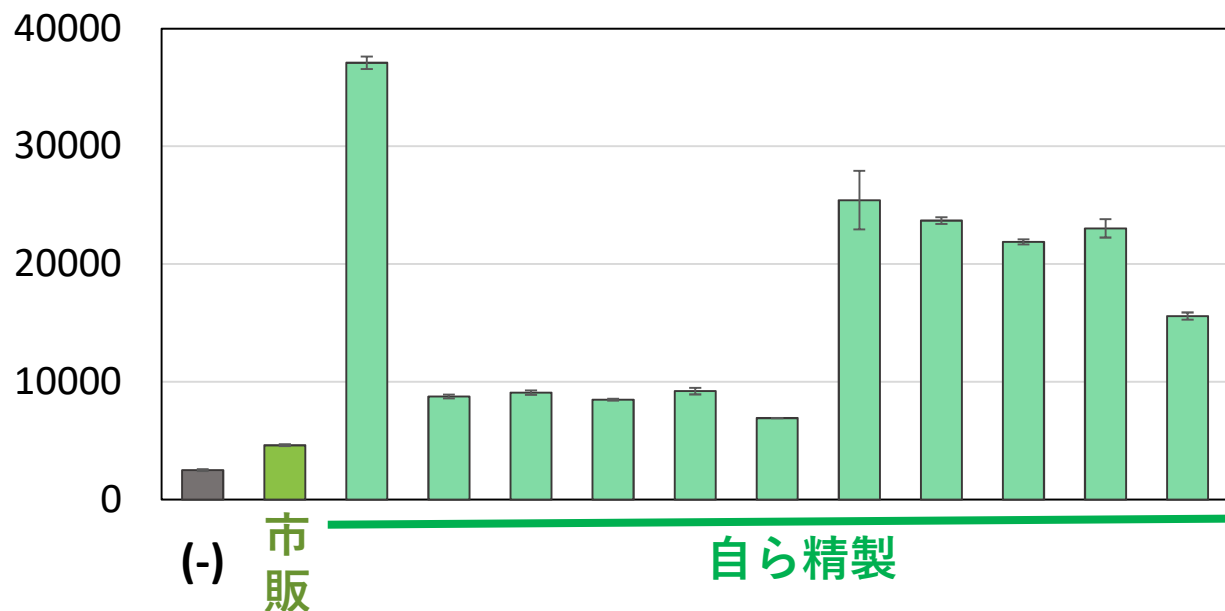
エクソソームを素早く定量したい

GIF-2250

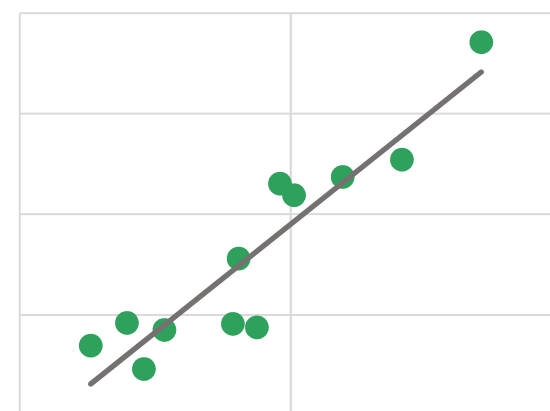


プレートリーダー

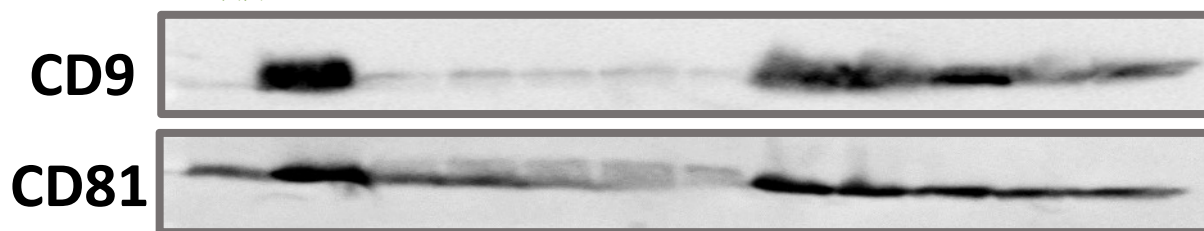
GIF-2250 蛍光強度



GIF-2250 蛍光強度



WB CD81



抗体

相関係数

CD9

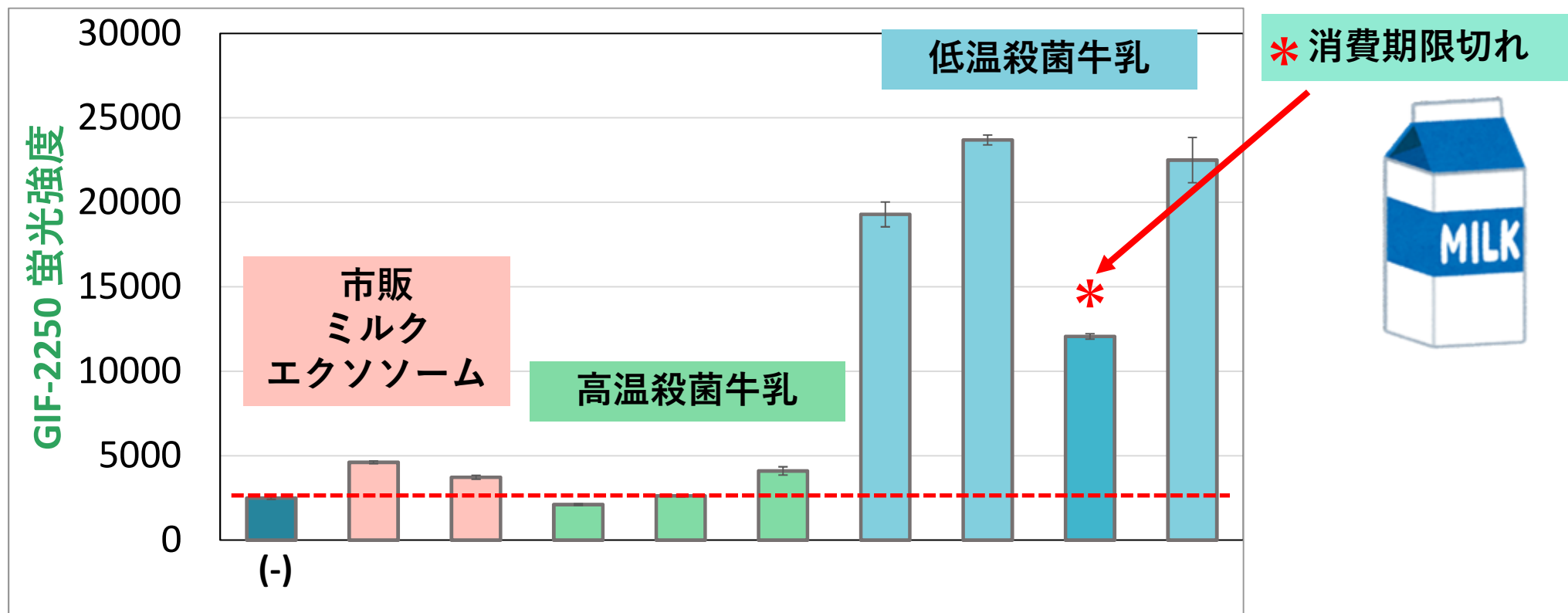
0.952866635

CD81

0.921632739

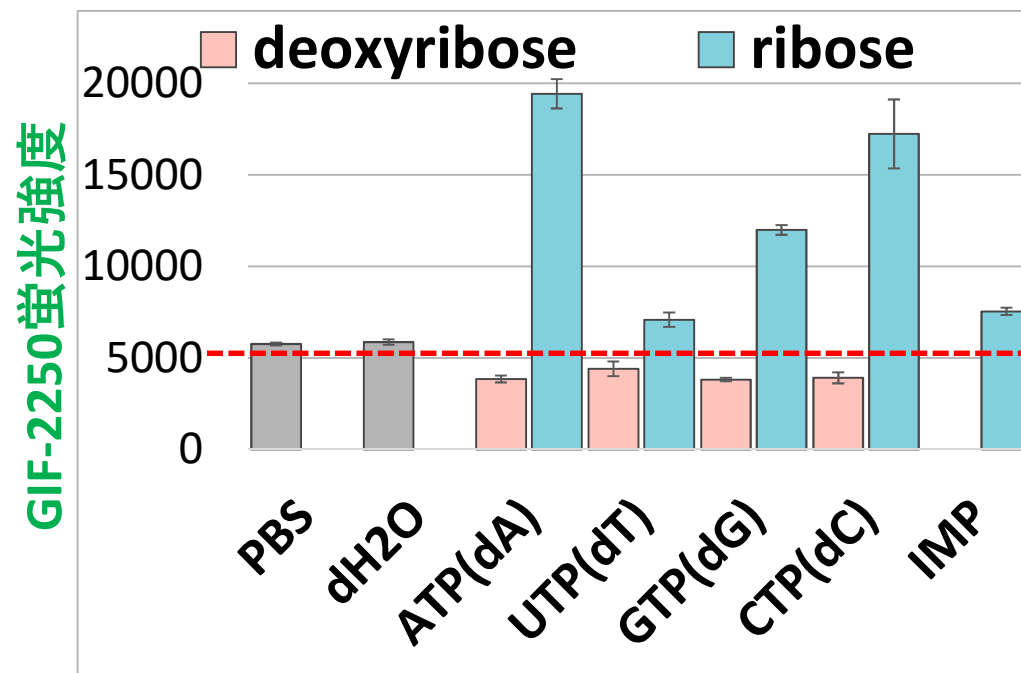
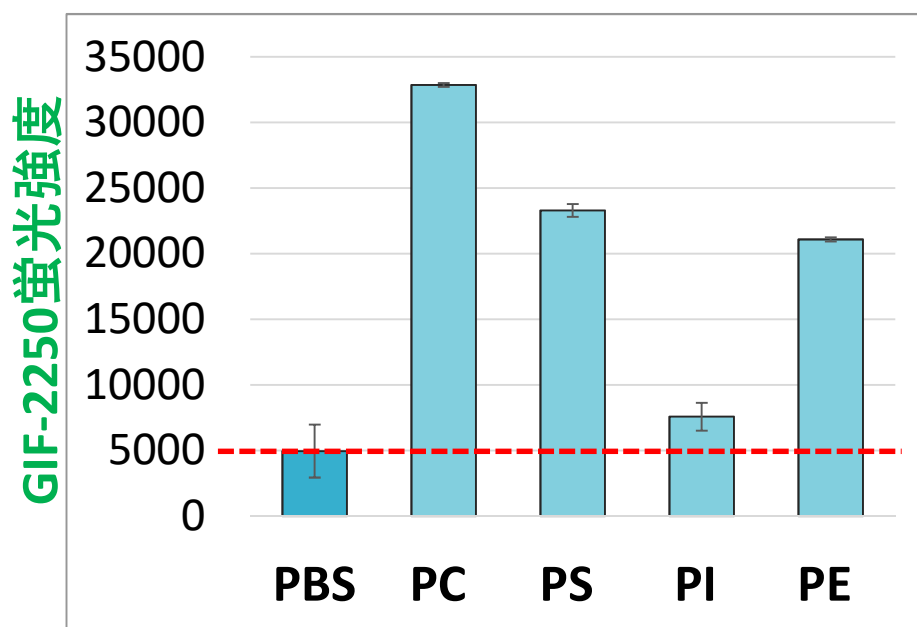
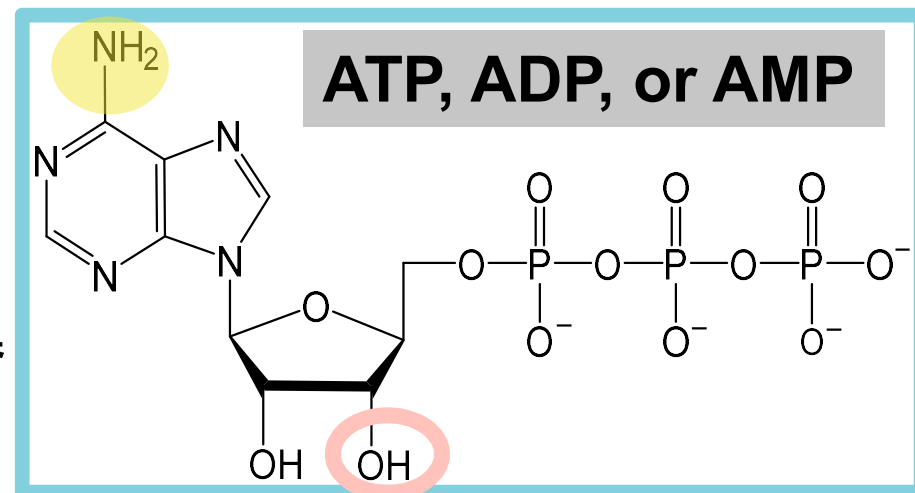
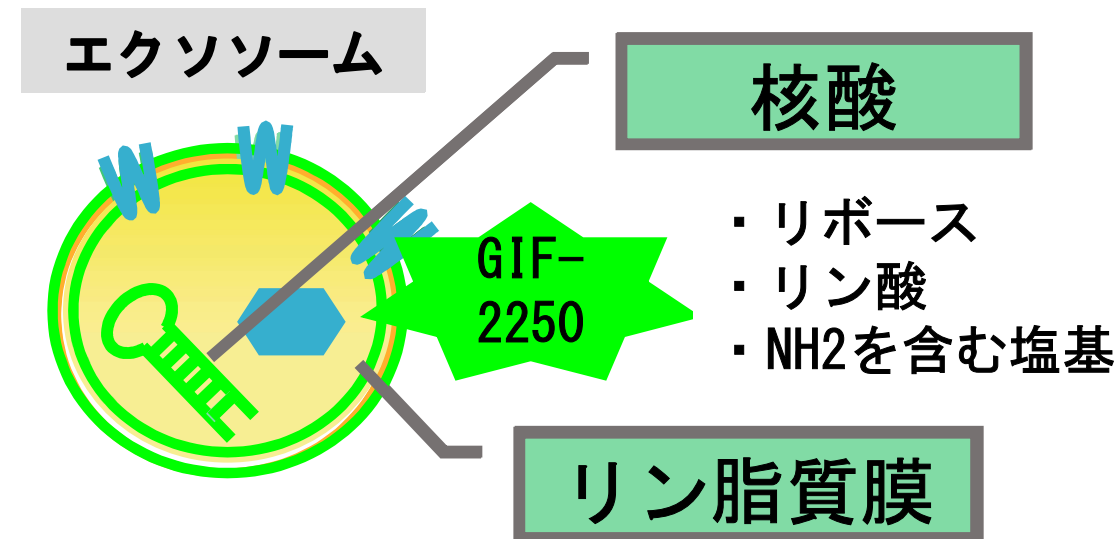
簡易精製後、プレートリーダーで検出 (最短1時間/感度=ng)

消費期限切れ商品中のエクソソームは大丈夫？

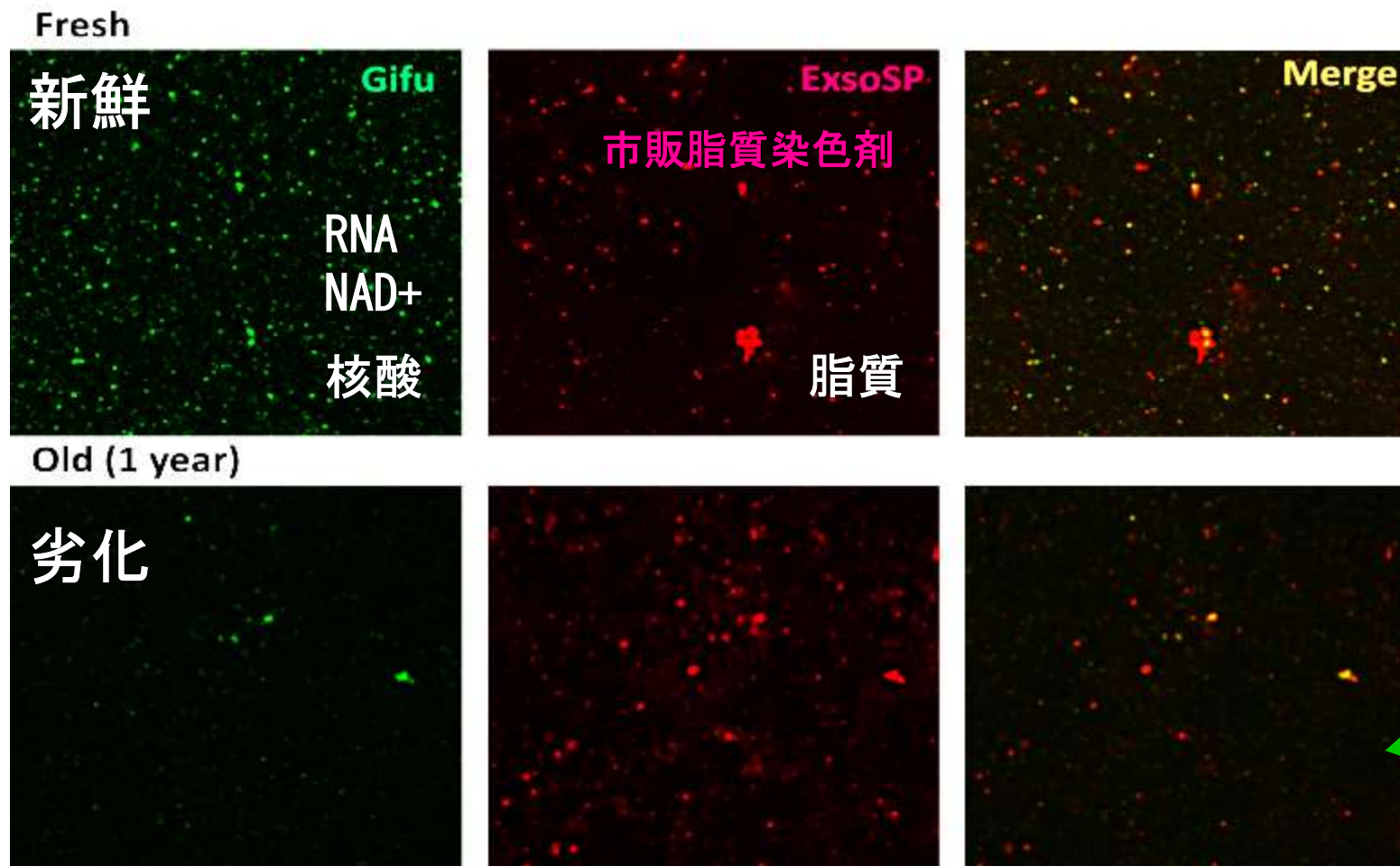


牛乳は、大量のエクソソームを含みます。ただし、消費期限切れはダメです。殺菌方法も重要です。

エクソソームの何と反応している？



エクソソームの鮮度を知りたい



GIF-
2250

★★★ GIF-2250はリン脂質・RNA・NAD⁺の組み合わせによって
エクソソームを光らせる



エクソソームをより詳しく解析したい

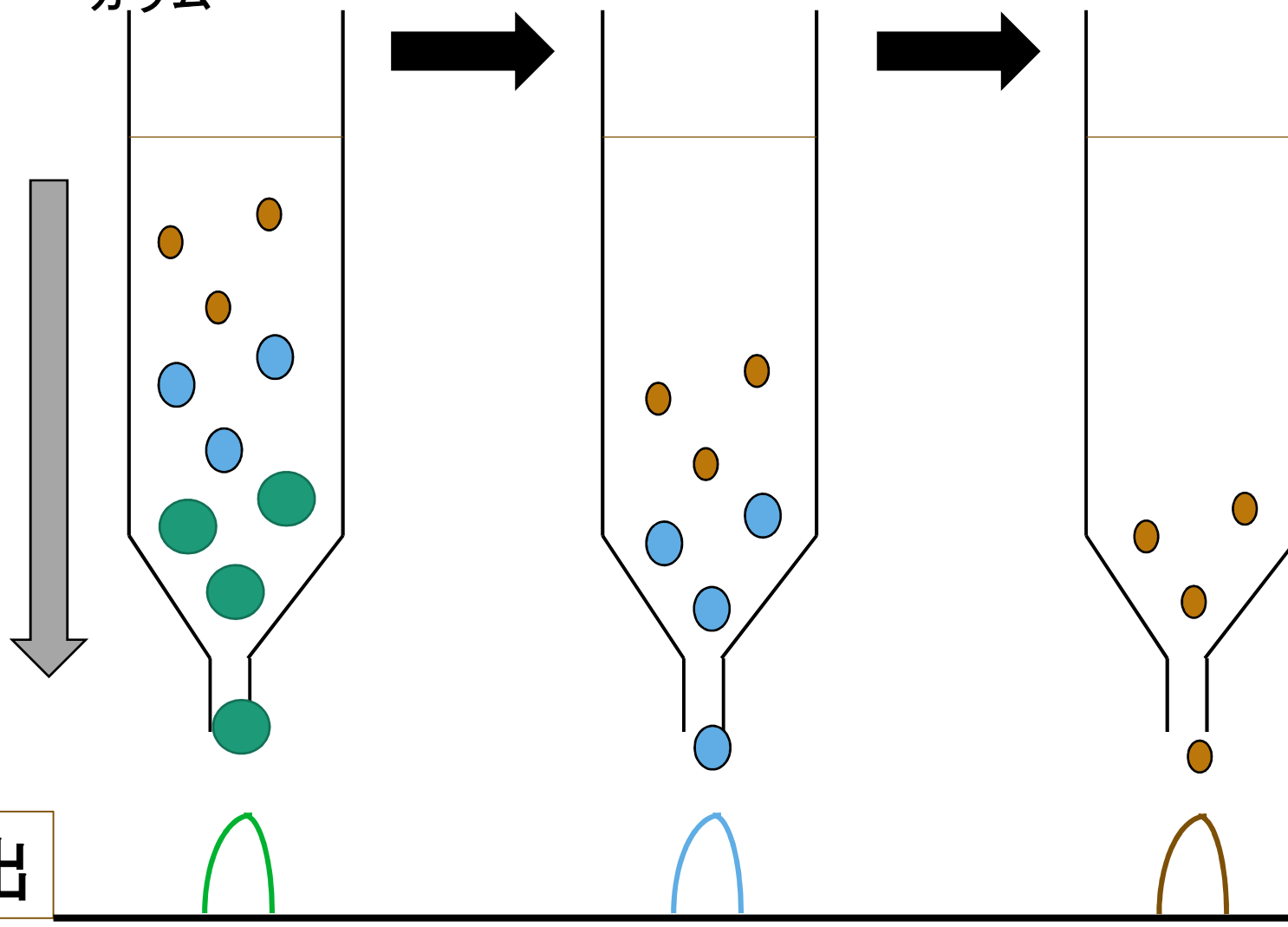
ゲル濾過法

カラム

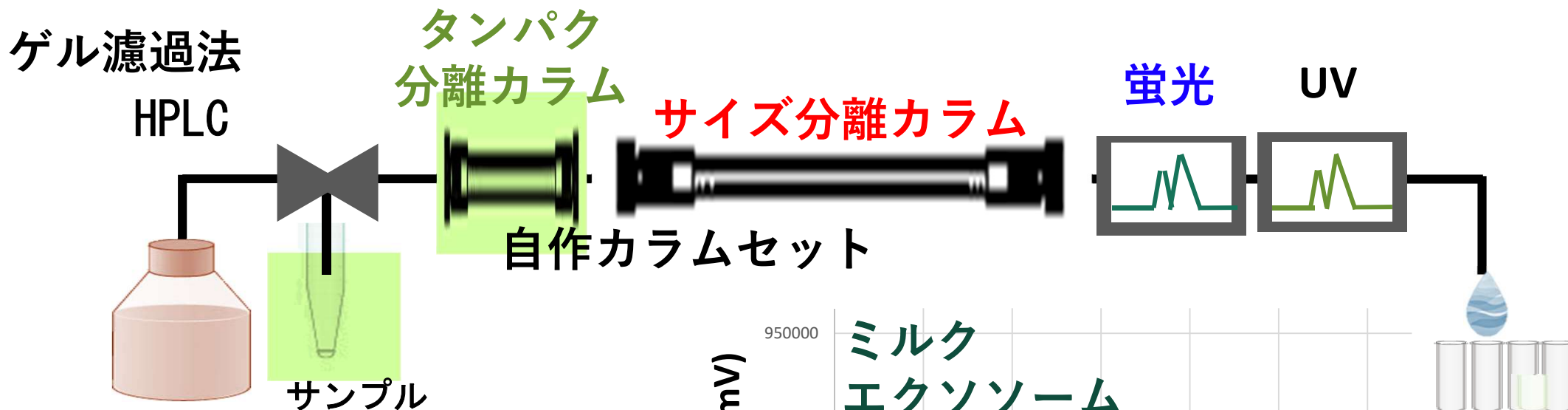
大きさ順に出て来ます。

検出

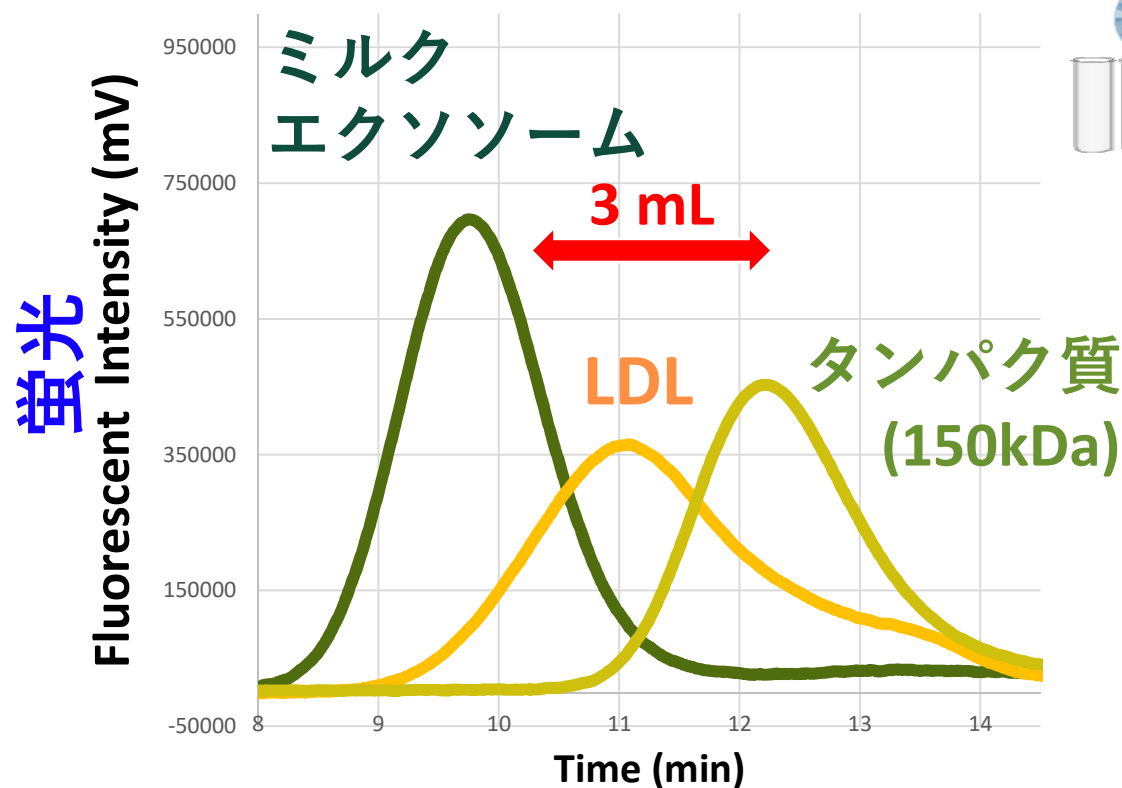
時間



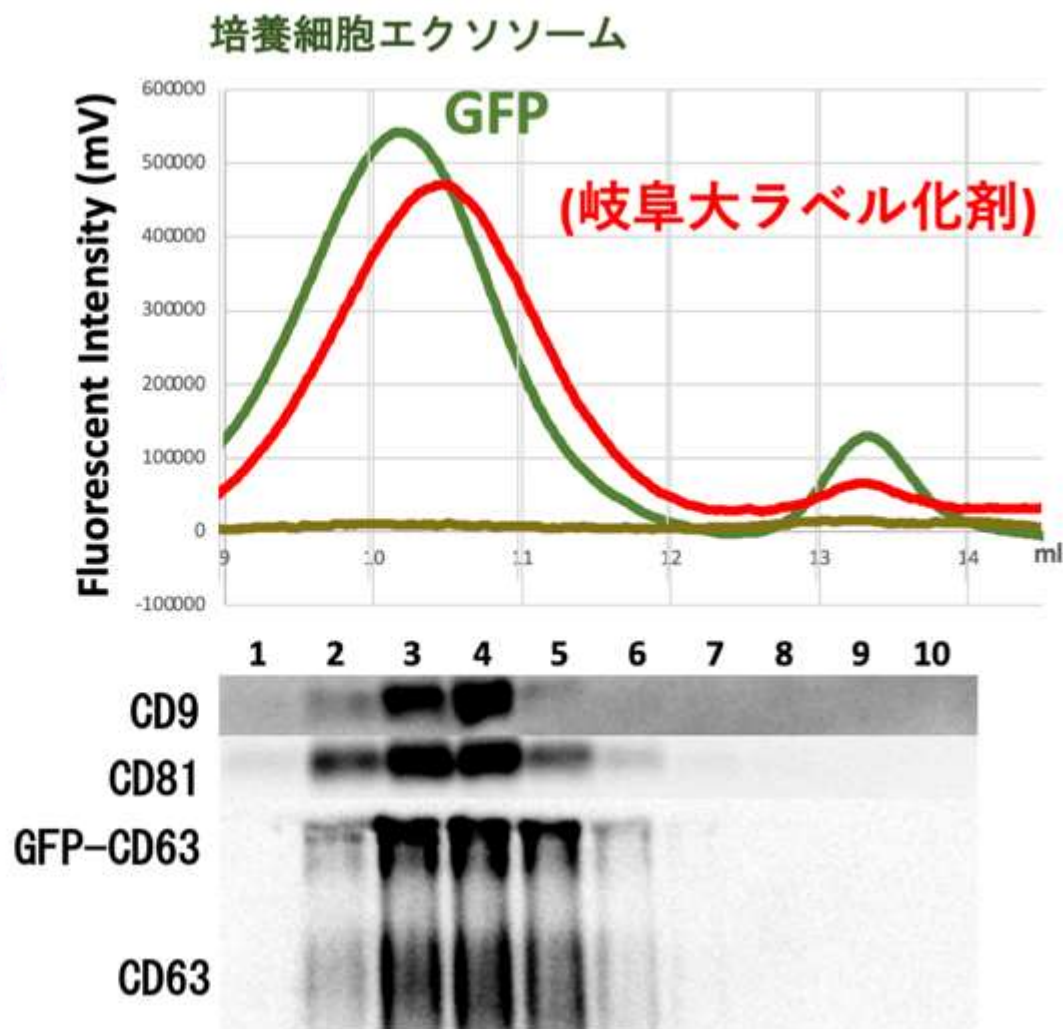
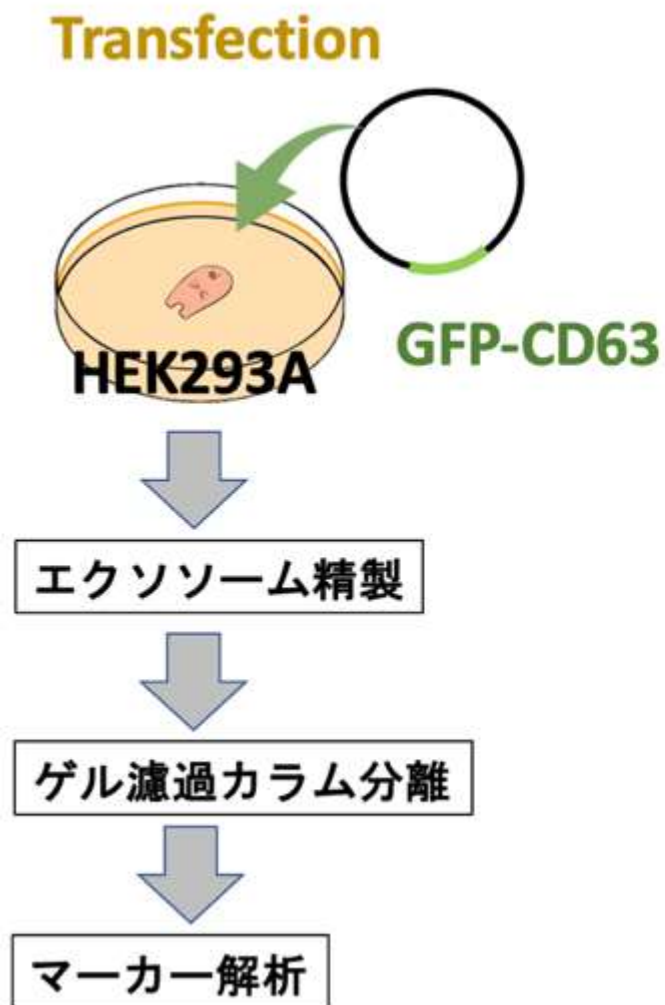
エクソソームをより詳しく解析したい



エクソソームと
タンパク質を
最大5 mLの違い
で分離可能



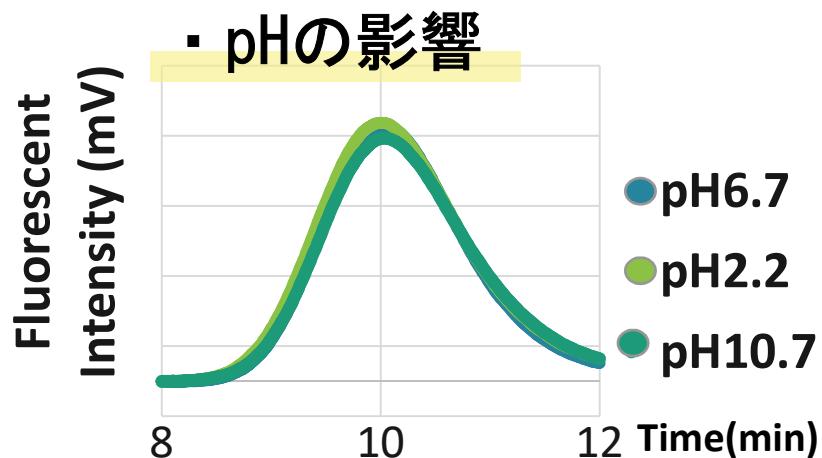
エクソソームをより詳しく解析したい



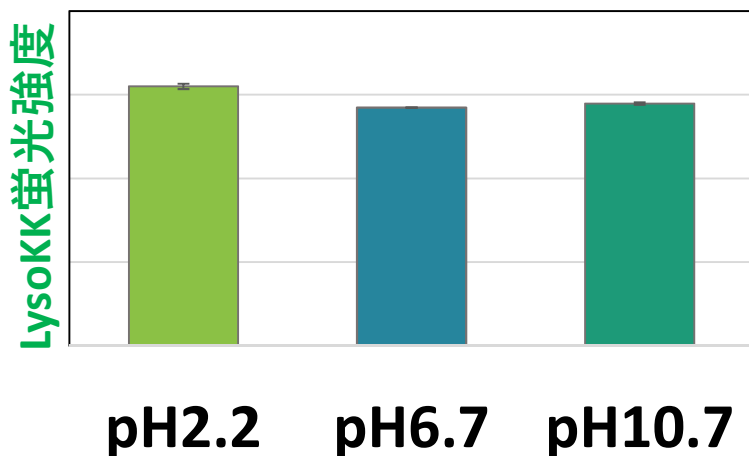
エクソソームマーカーと一致する

エクソソームは熱にやや弱い

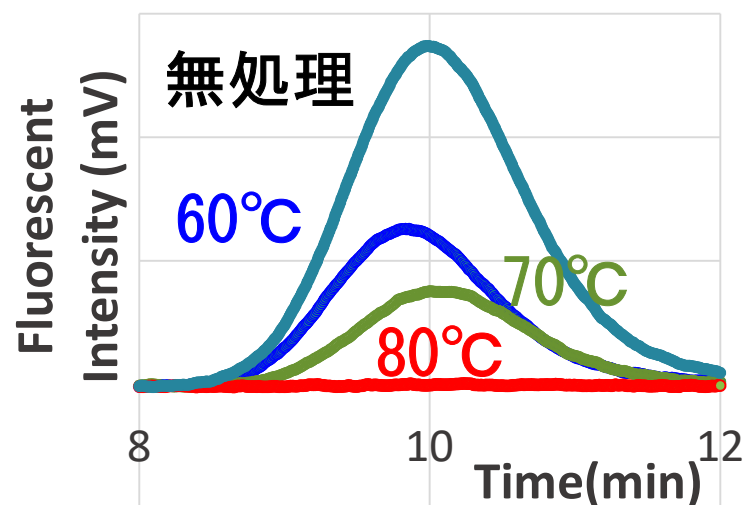
HPLC-ゲル濾過法



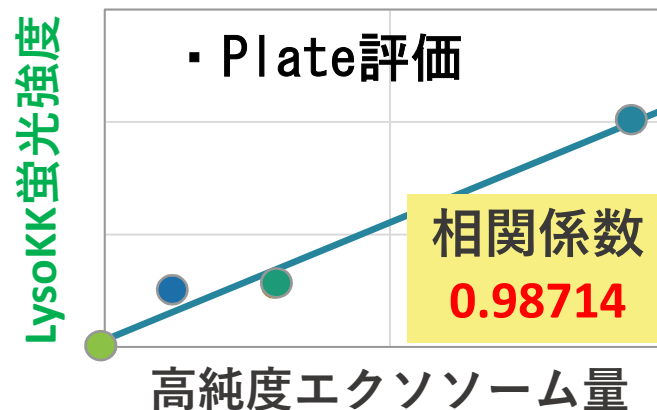
プレートリーダー



・ HPLC-ゲル濾過評価



・ Plate評価



エクソソーム精製の簡単確認

夾雑物の除去

0.45 0.8 1.2 μ m



濃縮

0.1 μ m

・ milk



1000K

- ・ 乳酸菌
- ・ 培養細胞



300K

- ・ 乳酸菌
- ・ 原生動物

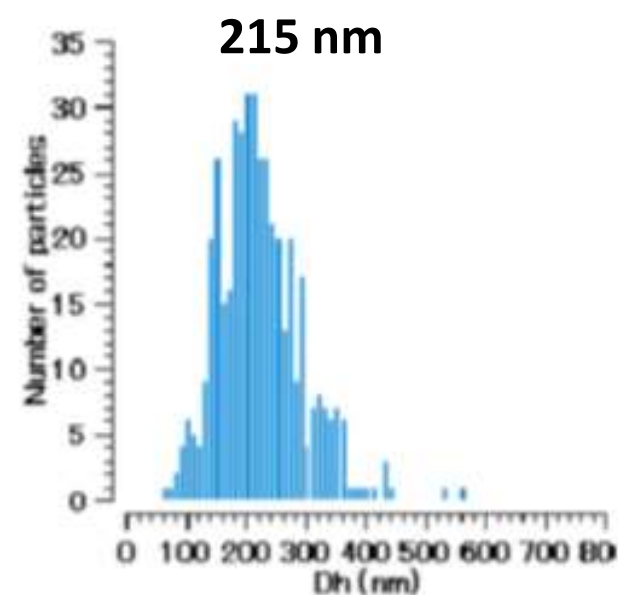
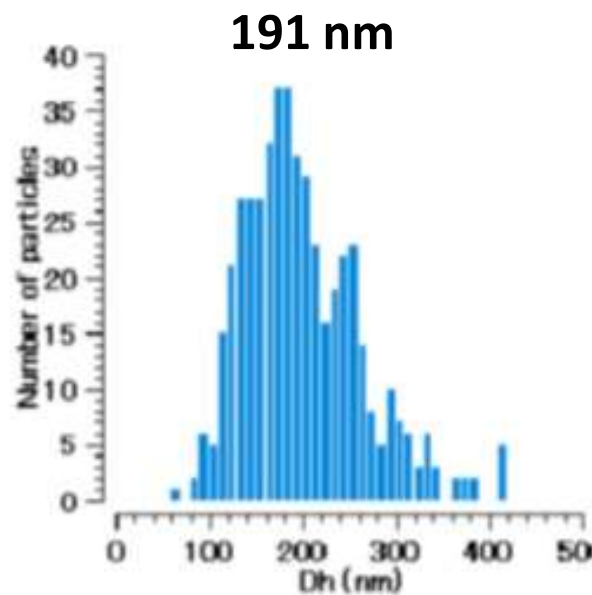
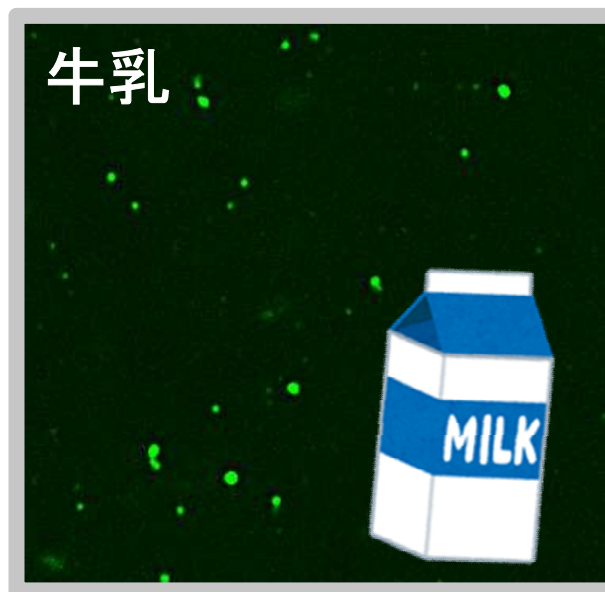
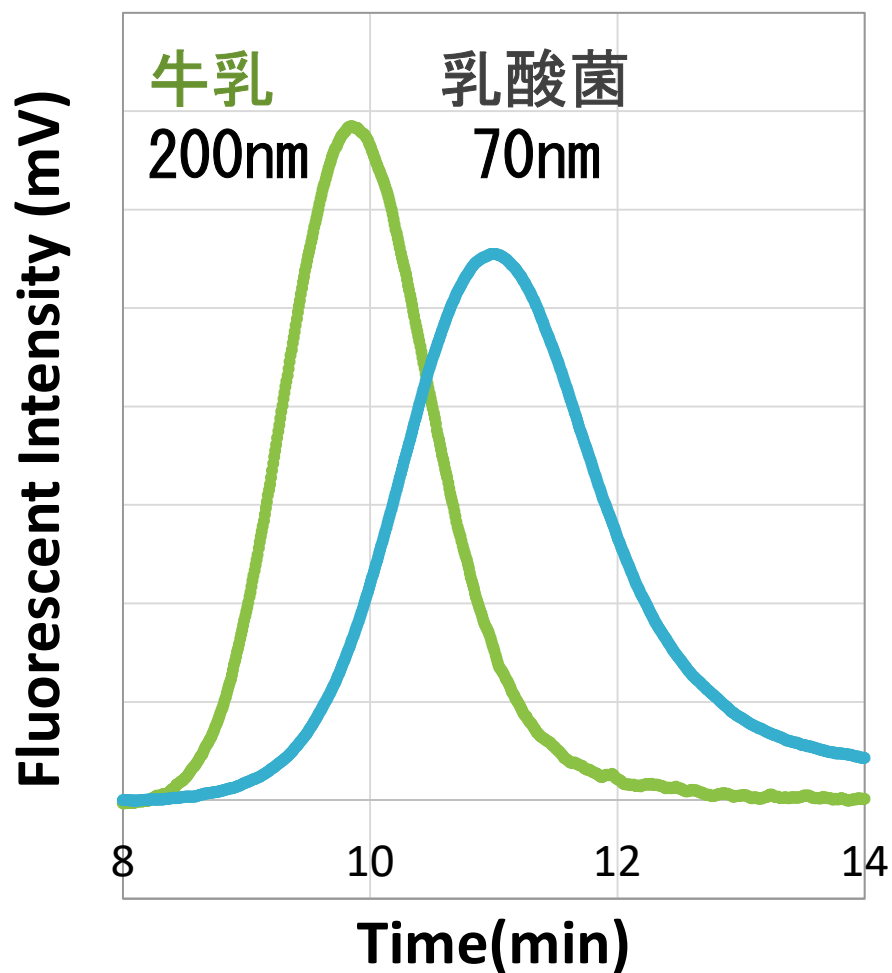
GIF-2250蛍光強度測定

HPLC-ゲル濾過法



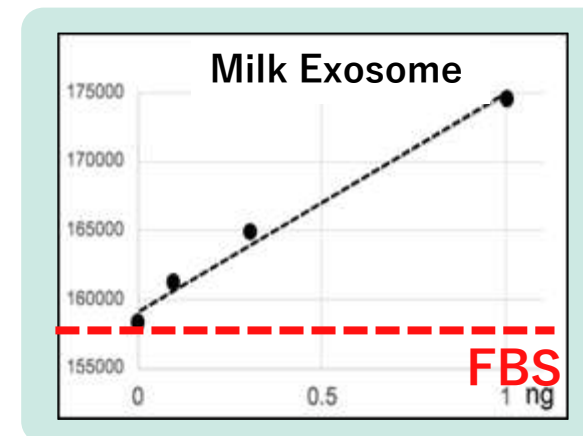
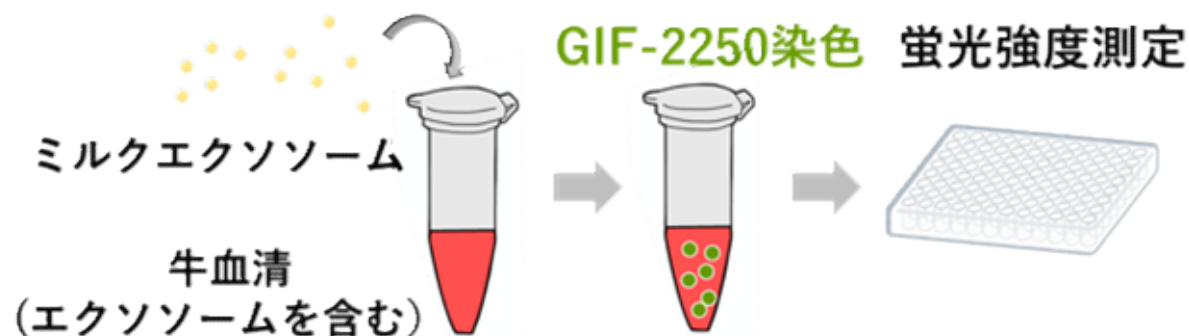
エクソソーム精製の簡単確認

・ 様々な生物種

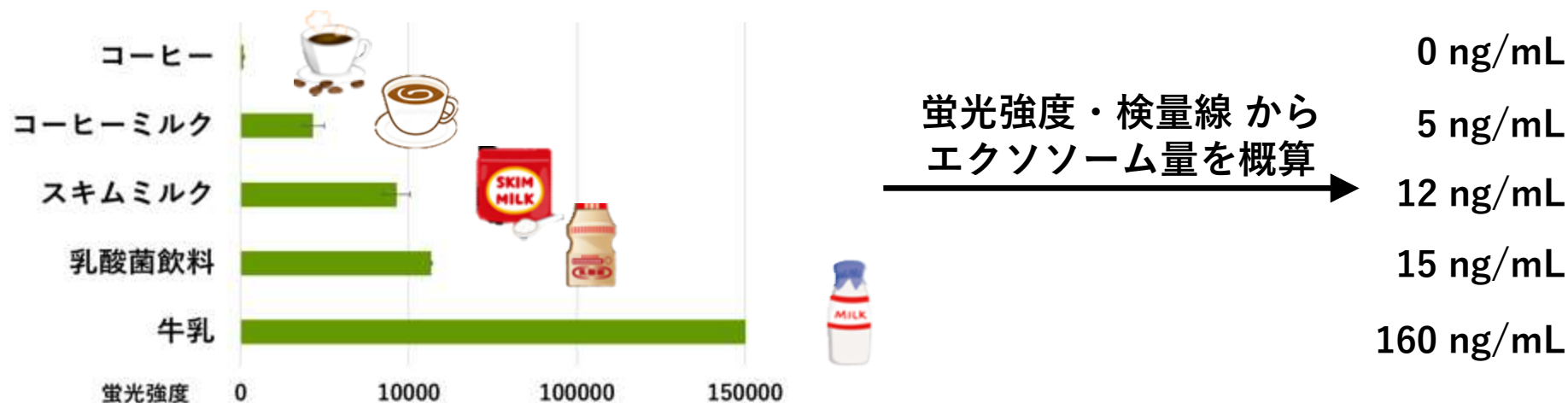


想定される用途

エクソソーム検量線の作成



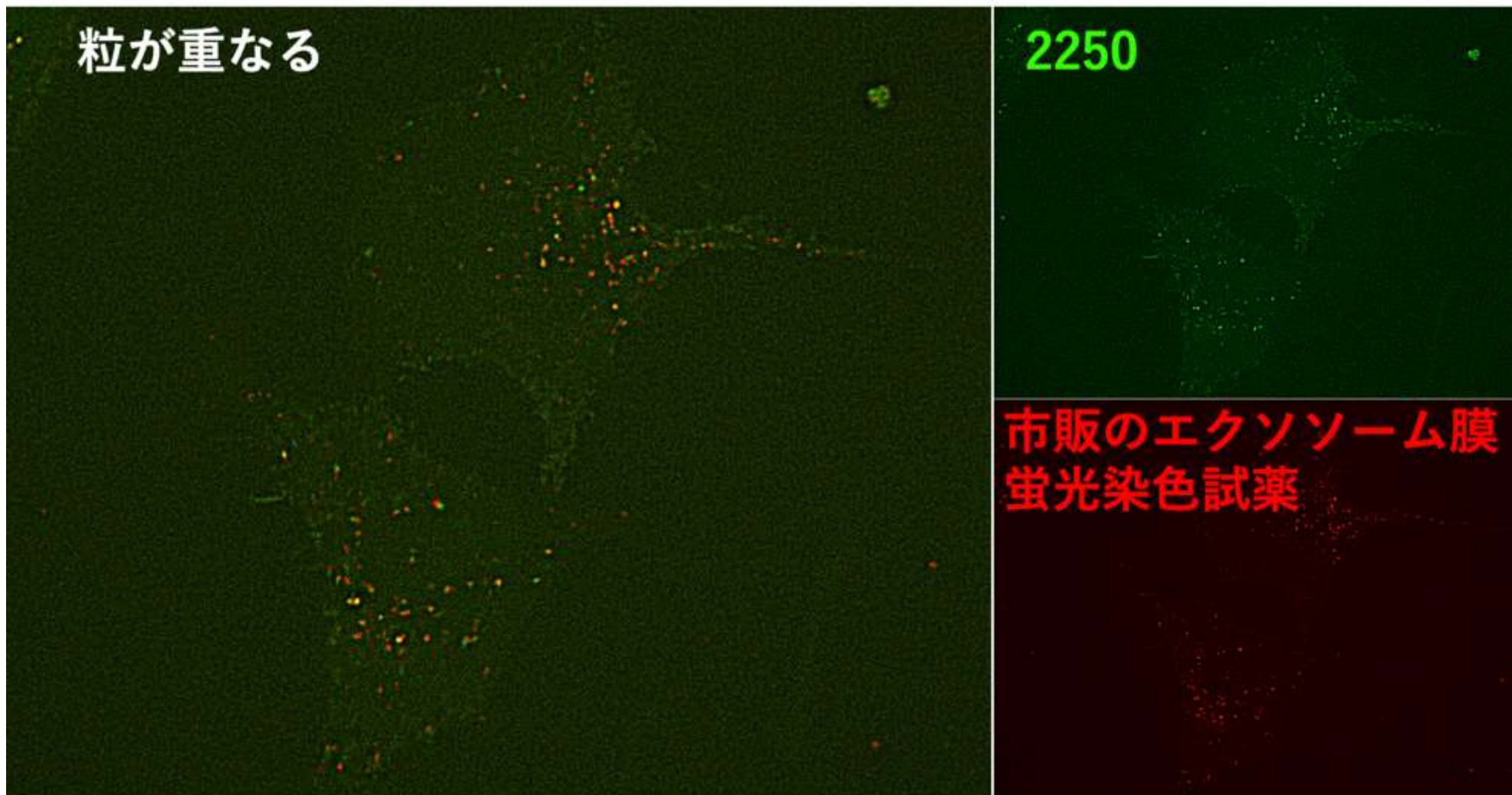
市販飲料に含まれるエクソソームの定量



簡単にエクソソームの定量が可能

想定される用途

ラベルエクソソームの細胞導入例



➡ 薬物送達システム (DDS) への応用

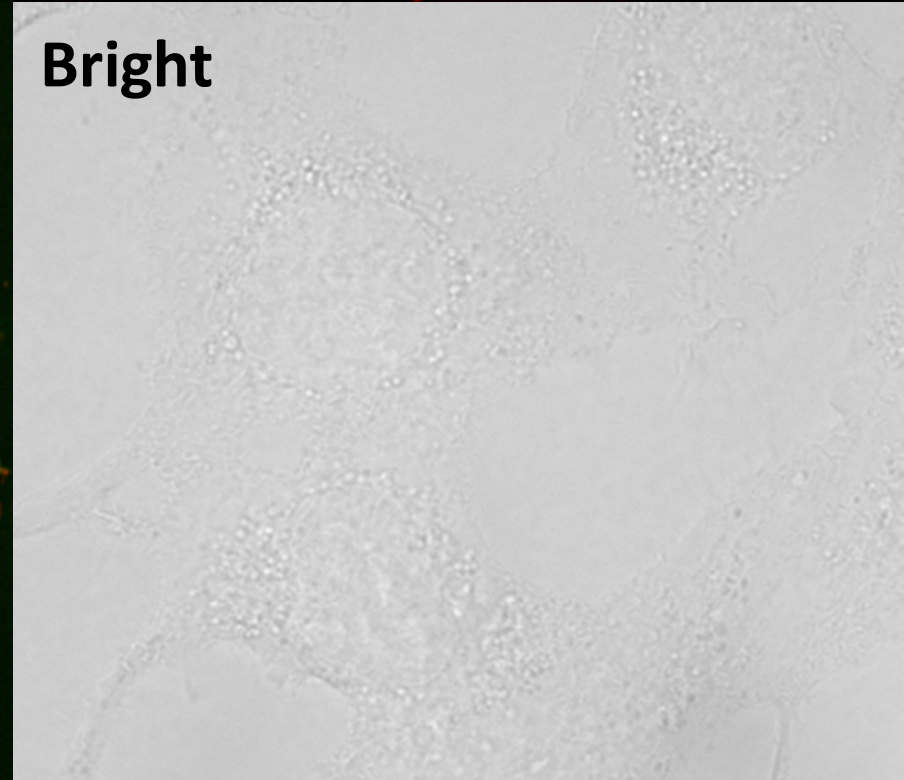
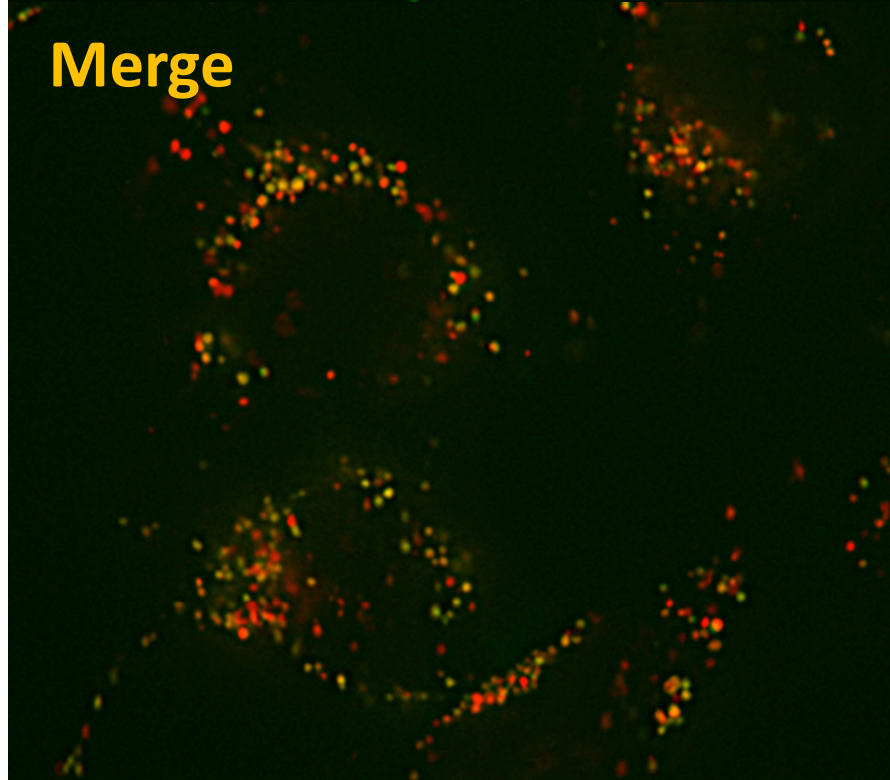
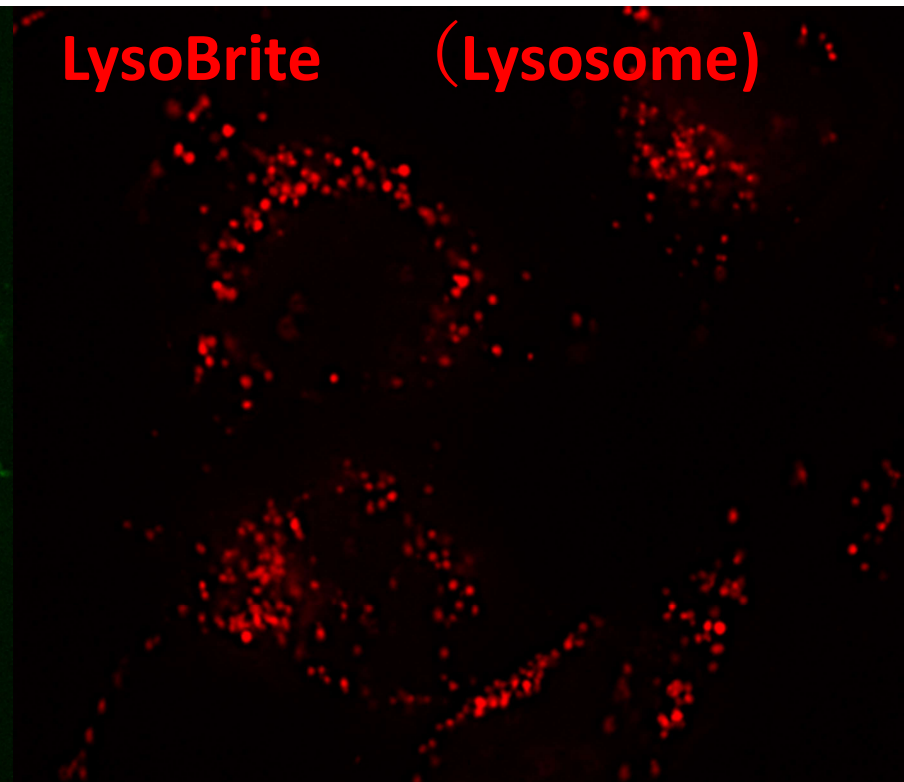
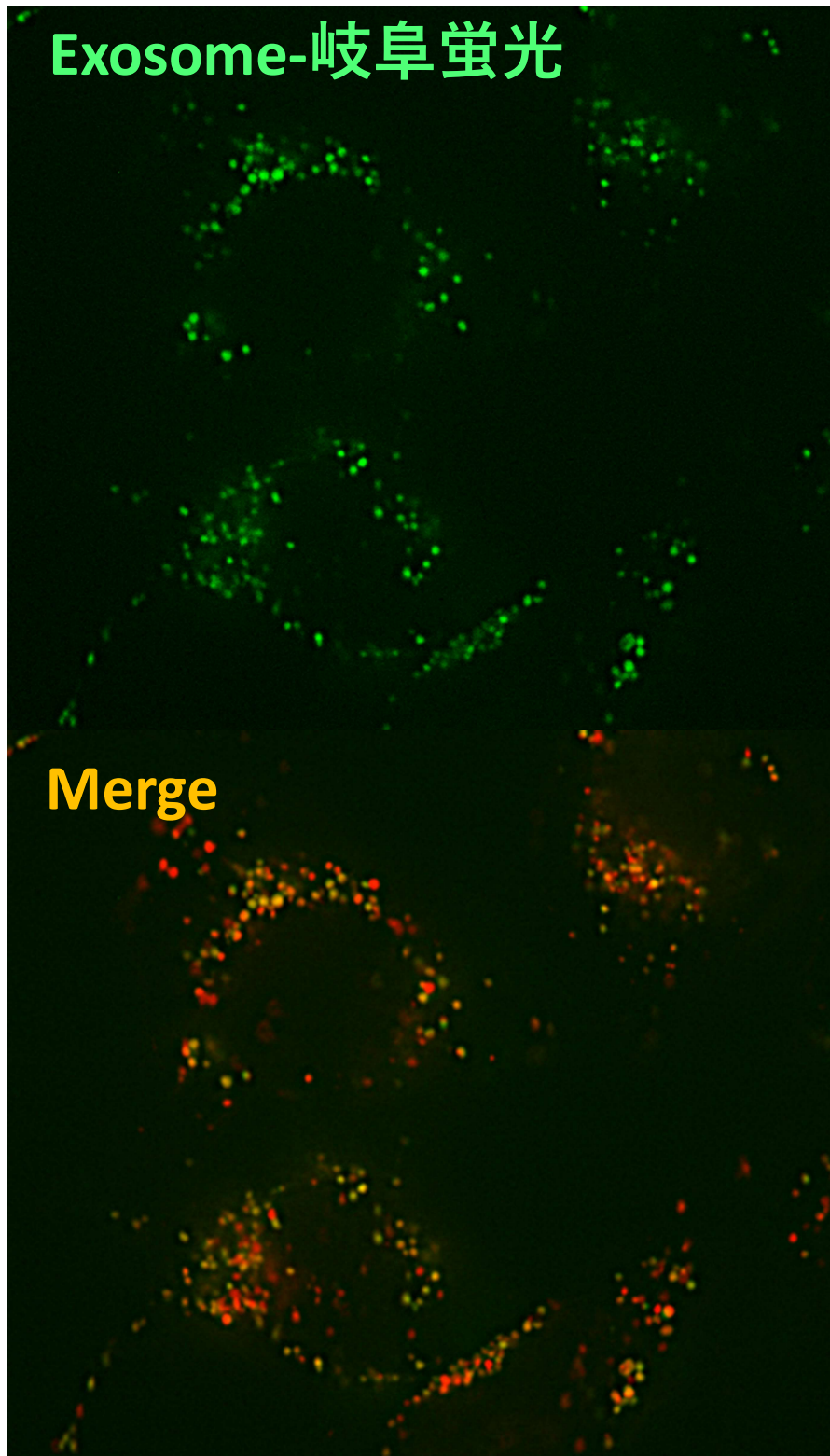
HEK293細胞

Exosome-岐阜蛍光

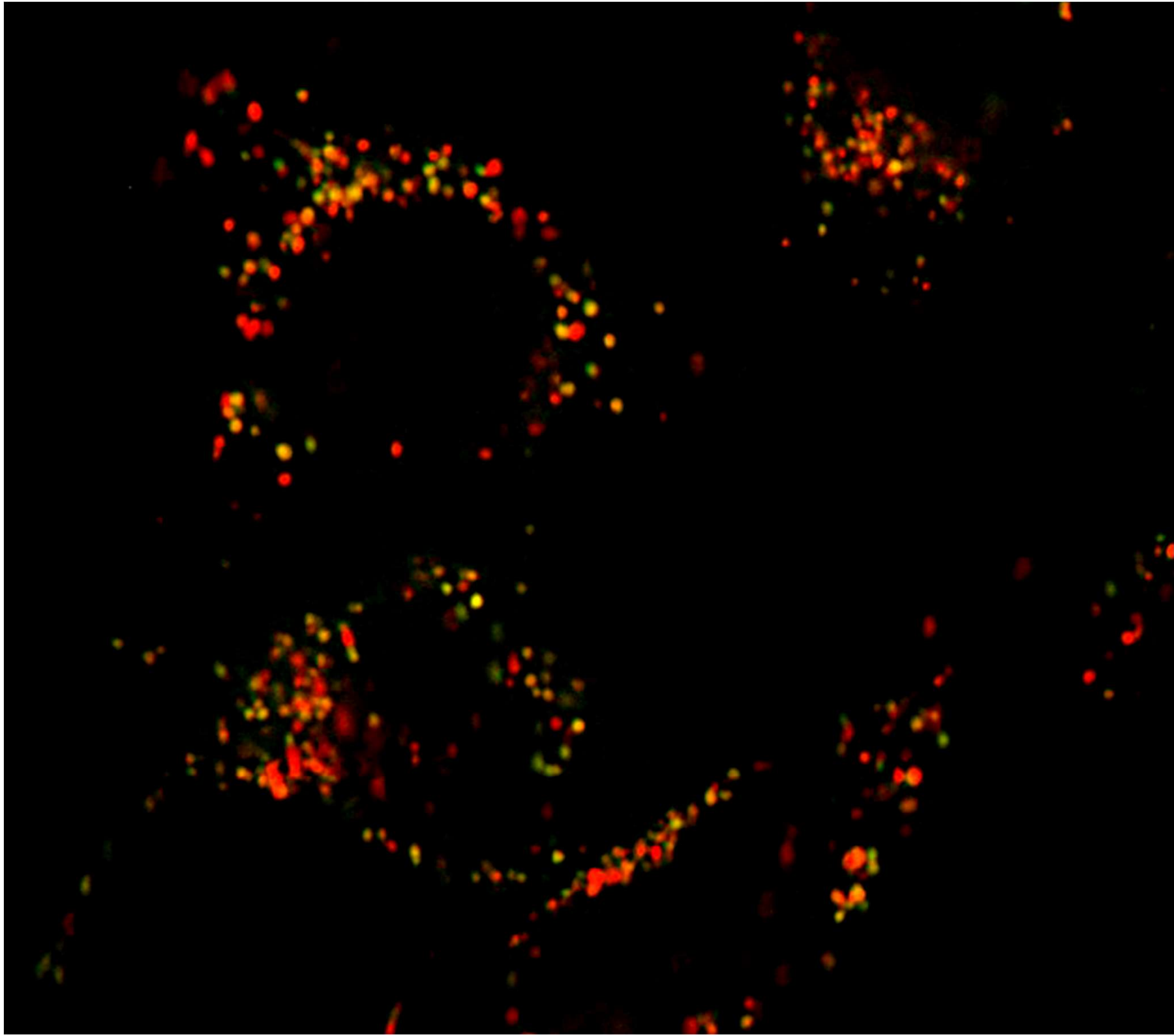
LysoBrite (Lysosome)

Merge

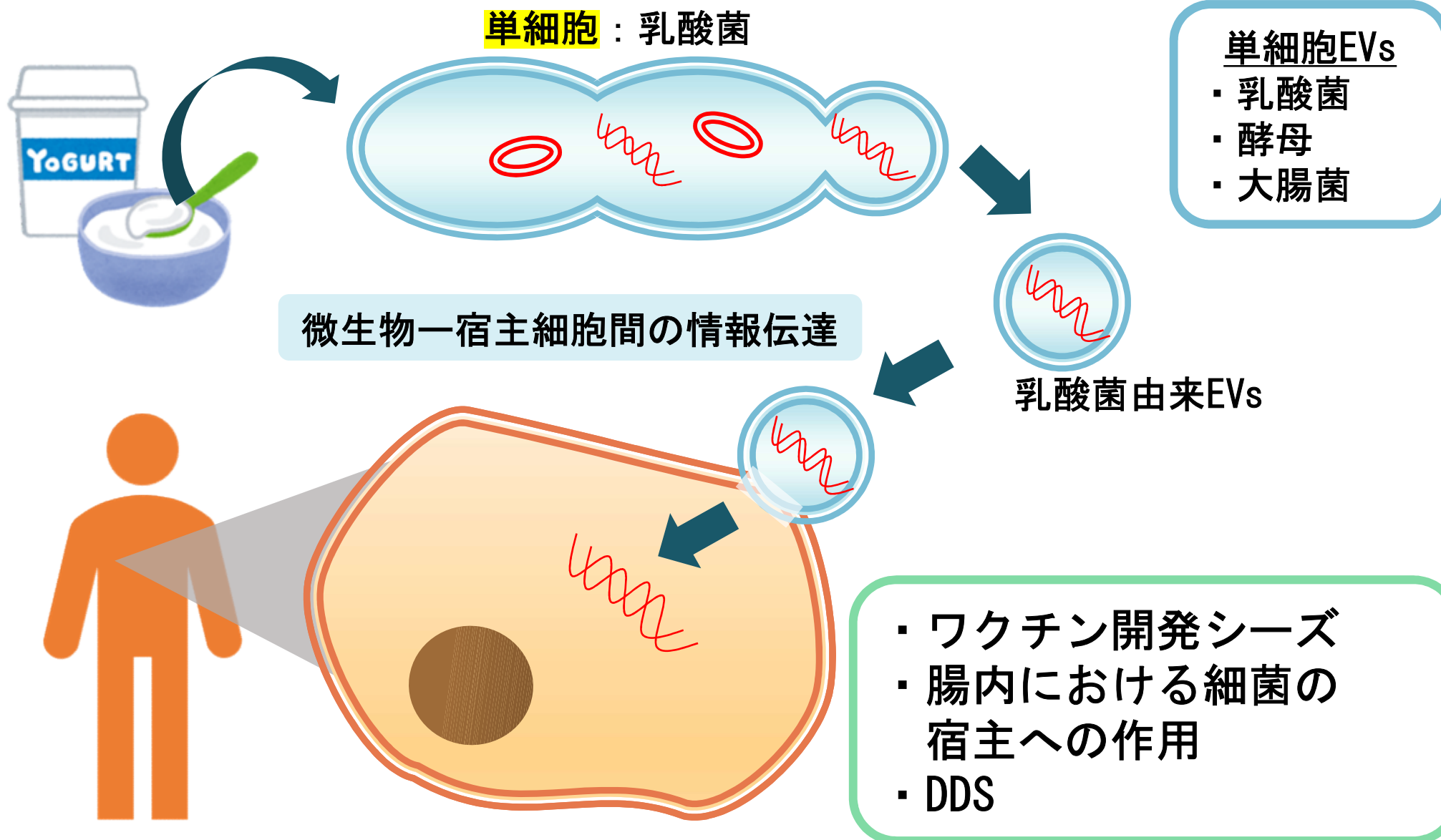
Bright



HEK293細胞



エクソソームの人工改造（将来）



実用化に向けた課題

- ・ 多くの生物種での検証
- ・ 多くの生鮮食品での検証
- ・ 定量データと薬効相関の検証

企業への期待

- 多くのエクソーム試料での相互検証。
- 多くの食品での検証。

共同研究費：100万円から

- 化合物のサンプル提供から購入に至ったケース有り（通常実施）。 1mg: 50万円

企業への期待

	業界	分野	実績	備考	
試薬供給	化粧品		大手化粧品企業	非独占	
0.1 mg: 3万円	食品		(-)		
実販売 (0.01mg:1.5万円)	その他		大手機械メーカー	ある化合物を独占	
	試薬メーカー		大手試薬メーカー	協議中	
共同研究 他	食品	牛乳	(△)	共同研究費を頂いていない	
確認 (ある)		乳酸菌	岐阜大学	独自	
確定 (どのような)		発酵食品	共同研究中	* 要調整	
大量増産法		原生動物	共同研究中	* 要調整	
品質管理		植物	(-)	野菜ジュースなど	
薬効		酵母	(-)	納豆・醤油・パン・ビール	
物質確定 (特許化)		肉類	(-)		

企業への期待

共同研究 他	化粧品	メラノソーム	ベンチャーさん受託	輸送研究	
		メラノサイト	(-)		
		ケラチノサイト	(-)		
		毛髪	(-)		
		その他	(-)		
共同研究 他	医薬品	薬物送達	大手試薬メーカー	協議中	
		ワクチン	(-)		
		臨床検査	(-)		

企業への期待



ヌマダイコンの商標

自社商品製造・販売

岐阜県企業連合による新商品開発

関市

岐阜市



・廃棄原料供給 ・乳酸球菌/ヌマダイコン



・独自乳酸菌株



・エクソソーム食品管理基準(JAS規格)
・機能明示の高付加価値化(将来)



地域サポーターへ支援もお願いする!!

・機能性ヨーグルト・機能性化粧品原料

新規発酵食品・飲料・サプリーはいかがでしょうか!!

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 化合物、細胞性小胞染色剤
 および細胞性小胞の蛍光染色方法
- 出願番号 : 特願2021-012443
 (PCT/JP2022/1692)
- 出願人 : 岐阜大学(東海国立大学機構)
- 発明者 : 竹森洋、古田享史、森田洋子

産学連携の経歴

- 2021年 化粧品ベンチャーから受託研究
- 2022年 大手化粧品企業へ通常実施（特許成立前）
- 2022年 食品・化粧品ベンチャーとの共同研究
- 2022年 食品企業との共同研究
- 2022年 地元牛乳企業と共同研究予定

- 2022年～ 化合物販売企業を探している

お問い合わせ先（必須）

岐阜大学

学術研究・産学官連携推進本部

TEL：058-293-2034

Mail：sangaku@gifu-u.ac.jp

研究室の検索は、

Google “美肌菊” または “竹森研”

新技術説明会

New Technology Presentation Meetings!

2022. 3. 31 M2小林君の美肌菊®の論文が Phytochemistry Letters 誌に受理されました。

「Adenostemmaic acid B suppresses NO production by downregulating the expression and inhibiting the enzymatic activity of iNOS」

2022. 3. 25 卒業式・修了式が行われました。

M2前田さん・B4古川さんが学長表彰・学部長表彰を頂きました。

2022. 3. 11 M1溝口さんが、日本病態栄養学会の座長賞を頂きました。

2022. 1. 28 M1溝口さんが25回日本病態栄養学会で糖尿病薬の下痢と整腸作用について発表しました。

2022. 1. 16 M1川口さんが第7回白斑・白皮症研究会でメラノサイト評価法を講演しました。

2022. 1. 13 M1川口さん・濱本助教が第12回国際化粧品開発展(東京)でエクソソーム・美肌菊®を発表しました。

2022. 1. 1 ヌマダイコンの商標「美肌菊®」が商標登録されました。 Facebook「ヌマダイコン」

2021. 12. 27 M2渡邊さんのメラノソーム分泌促進剤の論文が Molecules 誌に受理されました。

「GIF-2209, an oxindole derivative, accelerates melanogenesis and melanosome secretion via the modification of lysosomes in B16F10 mouse melanoma cells」

2021. 12. 9 新規ミトファジー可視化剤(LysoKK)の論文が

Mitochondrion 誌に受理されました。

「Visualization of mitophagy using LysoKK, a 7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole-(arylpropyl)benzylamine derivative」

2021. 12. 8 M1 溝口さんの「腸内細菌DNAの簡便抽出法」が試薬メーカーのWebで紹介されました。

2021. 12. 1 M2・B4が第44回日本分子生物学会で発表しました。

2021. 11. 25 濱本助教とM1がアグリビジネス創出フェア2021で

美肌菊やエクソソームを発表しました。

2021. 11. 5 M1道前さん・溝口さんが第94回日本生化学会で

メトホルミン下痢やエクソソーム転送について発表しました。

2021. 10. 23 M1川口さんが第30回日本色素生物学会でメラノソーム分解について発表しました。

2021. 10. 22 M2早崎君が第3回日本白斑学術大会でゼブラフィッシュ白斑モデルを発表しました。

2021. 9. 29 第2回化粧品開発展(アカデミックフォーラム)で発表しました。

2021. 9. 19 M1田中さん・鈴木さんが第67回日本生薬学会で美肌菊®を発表しました。

2021. 9. 9 M2前田さん・M1川口さんが

第30回日本バイオイメージング学会で新規ライブイメージャーを発表しました。

2021. 9. 8 M1鈴木さん・田中さんがPIM International Symposiumで美肌菊®を発表しました。

2021. 8. 30 M2前田さんの「美肌菊®」の論文が J Natural Medicines 誌に受理されました。

「Diversity of Adenostemma lavenia, multi potential herbs, and its kaurenoic acid composition between Japan and Taiwan」

2021. 8. 23 イノベーションJapan2021(大学見本市Online)でエクソソームスクナーを紹介しました。

2021. 8. 12 森田研/古田研のお手伝い(M2渡邊さん/早崎君・M1川口さん)の論文が Free Radic Biol Med 誌に受理されました。

「Identification of novel neuroprotective N,N-dimethylaniline derivatives that prevent oxytosis/ferroptosis and localize to late endosomes and lysosomes」

2021. 7. 17 M2早崎君と濱本助教のゼブラフィッシュ白斑モデルの論文がPigment Cell Melanoma Res 誌に受理されました。

「Zebrafish as a new model for rhododendrol-induced leukoderma」

2021. 7. 16 我々のエクソソーム染色剤が化学工業日報に新しい化粧品素材評価方法で紹介されました。

2021. 5. 19 M1川口さんがCiteJapan2021(第10回化粧品産業技術展)でエクソソームを紹介しました。

2021. 5. 12 M2前田さんのミトコンドリア染色剤(MitoMM)の論文がBBRC誌に受理されました。

「The New Live Imagers MitoMM1/2 for Mitochondrial Visualization」

2021. 4. 1 新4年生が配属されました。



化粧品開発展 東京
COSME Tech 2022 TOKYO



Agribusiness Creation Fair 2021
アグリビジネス創出フェア



大学見本市

Dates: Sep. 29 [Wed] - Oct. 1 [Fri], 2021
Venue: INTEX Osaka, Japan



CITE JAPAN 2021
The Worldwide New Trend

New Step for Cosmetic Ingredients & Technology
第10回化粧品産業技術展



ご静聴ありがとうございました。