

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第3部門第2区分
 【発行日】令和3年10月7日(2021.10.7)

【公開番号】特開2019-52145(P2019-52145A)
 【公開日】平成31年4月4日(2019.4.4)
 【年通号数】公開・登録公報2019-013
 【出願番号】特願2018-165218(P2018-165218)
 【国際特許分類】

A 6 1 K 8/9789 (2017.01)
 A 6 1 K 8/9794 (2017.01)
 A 6 1 K 8/99 (2017.01)
 A 6 1 K 8/63 (2006.01)
 A 6 1 K 8/44 (2006.01)
 A 6 1 K 8/60 (2006.01)
 A 6 1 K 8/67 (2006.01)
 A 6 1 K 8/46 (2006.01)
 A 6 1 K 8/43 (2006.01)
 A 6 1 K 8/49 (2006.01)
 A 6 1 K 8/42 (2006.01)
 A 6 1 K 36/61 (2006.01)
 A 6 1 K 36/899 (2006.01)
 A 6 1 K 36/756 (2006.01)
 A 6 1 K 36/51 (2006.01)
 A 6 1 K 36/185 (2006.01)
 A 6 1 K 36/65 (2006.01)
 A 6 1 K 36/736 (2006.01)
 A 6 1 K 31/197 (2006.01)
 A 6 1 K 31/185 (2006.01)
 A 6 1 K 31/155 (2006.01)
 A 6 1 K 31/165 (2006.01)
 A 6 1 K 31/565 (2006.01)
 A 6 1 K 31/706 (2006.01)
 A 6 1 K 31/525 (2006.01)
 A 6 1 K 31/455 (2006.01)
 A 6 1 Q 7/00 (2006.01)
 A 6 1 Q 19/08 (2006.01)
 A 6 1 P 17/00 (2006.01)
 A 6 1 P 43/00 (2006.01)
 A 6 1 K 8/9728 (2017.01)
 A 6 1 K 36/07 (2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 8/9789
 A 6 1 K 8/9794
 A 6 1 K 8/99
 A 6 1 K 8/63
 A 6 1 K 8/44
 A 6 1 K 8/60
 A 6 1 K 8/67
 A 6 1 K 8/46

A 6 1 K 8/43
 A 6 1 K 8/49
 A 6 1 K 8/42
 A 6 1 K 36/61
 A 6 1 K 36/899
 A 6 1 K 36/756
 A 6 1 K 36/51
 A 6 1 K 36/185
 A 6 1 K 36/65
 A 6 1 K 36/736
 A 6 1 K 31/197
 A 6 1 K 31/185
 A 6 1 K 31/155
 A 6 1 K 31/165
 A 6 1 K 31/565
 A 6 1 K 31/706
 A 6 1 K 31/525
 A 6 1 K 31/455
 A 6 1 Q 7/00
 A 6 1 Q 19/08
 A 6 1 P 17/00
 A 6 1 P 43/00 1 0 5
 A 6 1 K 8/9728
 A 6 1 K 36/07

【手続補正書】

【提出日】令和3年8月25日(2021.8.25)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

ボタンピ抽出物、モモ抽出物、ハマメリス抽出物、ナイアシンアミド、オウバク抽出物、オウレン抽出物、コメヌカ発酵エキス、センブリ抽出物、ユーカリ抽出物、タモギタケ抽出物、 β -エストラジオール、5-アミノレブリン酸、ニコチンアミドモノヌクレオチド、リボフラビン、チオタウリン、MA5、メトホルミン、ウロリチンA、及びD-パンテノールからなる群から選ばれる少なくとも一種を含有することを特徴とするMITOL減少抑制または産生促進剤。

【請求項2】

MITOL産生を促進する成分を有効成分として含有する、表1に記載の因子の産生促進用又は表2に記載の因子の産生抑制用組成物。

【請求項3】

MITOL産生を促進する成分がコメヌカ発酵エキス、オウバク抽出物、オウレン抽出物、センブリ抽出物、ハマメリス抽出物、ボタンピ抽出物、モモ抽出物、ユーカリ抽出物、タモギタケ抽出物、 β -エストラジオール、5-アミノレブリン酸、ニコチンアミドモノヌクレオチド、リボフラビン、チオタウリン、MA5、メトホルミン、ウロリチンA、ナイアシンアミド、及びD-パンテノールからなる群から選ばれる少なくとも一種である、請求項2に記載の組成物。

【請求項 4】

毛包幹細胞、色素幹細胞、毛包若しくは表皮角化細胞、又は真皮線維芽細胞の減少抑制、増殖促進又は活性化用である、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 5】

表 1 に記載の因子が、COL17A1、SOD2、LOXL-1である、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 6】

表 1 に記載の因子が、COL17A1である、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 7】

白髪予防又は改善用である、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 8】

表 1 に記載の因子が、COX4I1、TNNI1、MBである、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 9】

ハマメリス抽出物、又はユーカリ抽出物を含有することを特徴とする、遅筋化促進用、又は筋持久力の向上用の組成物。

【請求項 10】

表 2 に記載の因子が、MMEである、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 11】

MITOL産生促進作用を指標とする、毛包幹細胞、色素幹細胞、毛包若しくは表皮角化細胞、又は真皮線維芽細胞の減少抑制、増殖促進又は活性化剤のスクリーニング方法。

【請求項 12】

MITOL産生促進作用を指標とする、COL17A1、SOD2、LOXL-1、COX4I1、TNNI1又はMBの減少抑制又は産生促進剤のスクリーニング方法。

【請求項 13】

MITOL産生促進作用を指標とする、MMEの減少促進又は産生抑制剤のスクリーニング方法。

【請求項 14】

MITOL産生促進作用を指標とする、表 1 に記載の因子の産生促進剤又は表 2 に記載の因子の産生抑制剤のスクリーニング方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0039

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0039】

(試験例 5) 真皮線維芽細胞に対するMITOL遺伝子発現促進作用の評価

真皮線維芽細胞(倉敷紡績製)を培地FibroLife BM(倉敷紡績製, 添付サプリメントを添加)にて 1.0×10^5 cells/mLの細胞密度に調製し、24穴プレートに0.5mLずつ播種し、37℃、CO2 5%にセットしたインキュベーター内で培養した。翌日、培地を吸引除去し、培地FibroLife BM(倉敷紡績製, FBS及びFGF以外の添付サプリメントを添加)に交換し、更に24時間培養した。培地を吸引除去し、被験物質を含有する培地に交換し、24時間培養した。培養終了後、培地を除去し、ライセートバッファーを添加して細胞を溶解し、細胞溶解液を回収した。細胞溶解液より、RNeasy Mini Kit(キアゲン)を用いて添付のプロトコールに従いRNAを回収し、これを鋳型として、Prime Script RT Master mix(タカラバイオ)を用いた逆転写反応によりcDNAを合成した。合成したcDNAから、リアルタイムPCRシステム(Step One Plus、サーモフィッシャーサイエンティフィック)により、GAPDH、MITOLそれぞれのmRNAの発現量を測定し(SYBR Green法)、MITOLの発現量をGAPDH発現量により補正した。プライマーは、次の型番のものを用いた。GAPDH: HA067812、MITOL: HA192576(いずれもタカラバイオ)。測定したmRNA発現量をコントロール群(被験物質を含有していない培地)と比較し、被験物質によるMITOL遺伝子発現促進作用を評価した。

<試験結果>

結果を図5に示す。コメヌカ発酵エキス、オウバク抽出液、オウレン抽出液、モモ抽出

液、タモギタケ抽出液、 β -エストラジオール、5-アミノレブリン酸、 β -ニコチンアミドモノヌクレオチド、リボフラビン、チオタウリン、MA-5、メトホルミン、ウロリチンA、ナイアシンアミド及びD-パンテノールによりMITOLのmRNA発現量が上昇することが確認された。これらの物質はMITOL産生を促進する成分をスクリーニングする際に、ポジティブコントロールとして用いることができる。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0042

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0042】

(試験例8) 素材が真皮線維芽細胞における遺伝子発現に与える影響評価

真皮線維芽細胞(倉敷紡績製)を培地FibroLife BM(倉敷紡績製, 添付サプリメントを添加)にて 1.0×10^5 cells/mLの細胞密度に調製し、24穴プレートに0.5mLずつ播種し、37℃、CO₂ 5%にセットしたインキュベーター内で24時間培養した。培地を吸引除去し、培地FibroLife BM(倉敷紡績製, FBS及びFGF以外の添付サプリメントを添加)に交換し、更に24時間培養した。培地を吸引除去し、被験物質を含有する培地に交換し、24時間培養した。培養終了後、培地を除去し、ライセートバッファーを添加して細胞を溶解し、細胞溶解液を回収した。細胞溶解液より、RNeasy Mini Kit(キアゲン)を用いて添付のプロトコールに従いRNAを回収し、これを鋳型として、Prime Script RT Master mix(タカラバイオ)を用いた逆転写反応によりcDNAを合成した。合成したcDNAから、リアルタイムPCRシステム(Step One Plus、サーモフィッシャーサイエンティフィック)により、GAPDH、LOXL-1およびMMEそれぞれのmRNAの発現量を測定し(SYBR Green法)、LOXL-1およびMMEの発現量をGAPDH発現量により補正した。プライマーは、次の型番のものを用いた。GAPDH: HA067812、LOXL-1: HA230268及びMME: HA211733(いずれもタカラバイオ)。測定したmRNA発現量をコントロール群(被験物質を含有していない培地)と比較し、被験物質による各種遺伝子発現促進作用を評価した。

< 試験結果 >

結果を図8に示す。タモギタケ抽出液及び β -ニコチンアミドモノヌクレオチドによりLOXL-1のmRNA発現量が上昇することが確認された。また、モモ抽出液及びリボフラビンによりMMEのmRNA発現量が減少することが確認された。以上のことから、MITOL産生を促進する成分は表1記載因子の産生促進剤及び表2記載因子の産生抑制剤に活用可能である。また、表1に記載の因子の産生促進剤及び表2に記載の因子の産生抑制剤をスクリーニングする際に、MITOL産生促進作用を指標に用いることができる。