



次世代のエイジングケア化粧品原料

# プロテオグリカンAQA-LS<sup>TM</sup>

(水溶性プロテオグリカン)

ENECO 株式会社ENECOJAPAN

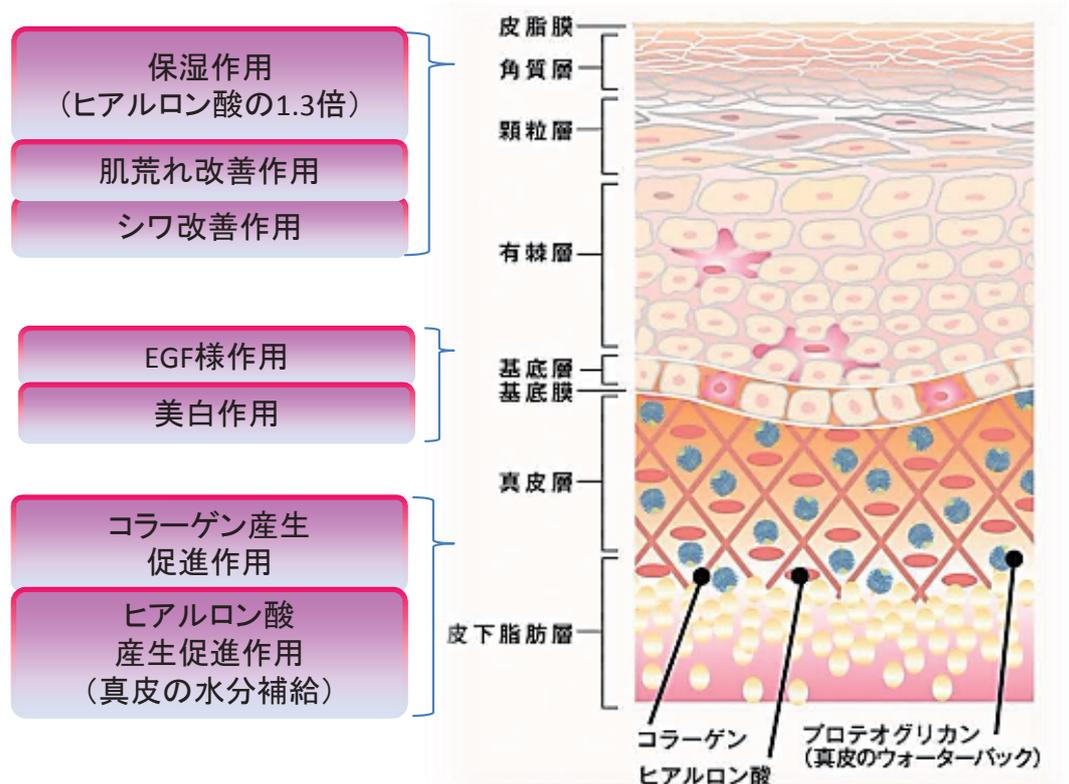
# プロテオグリカンAQAの概要

## プロテオグリカンとは？

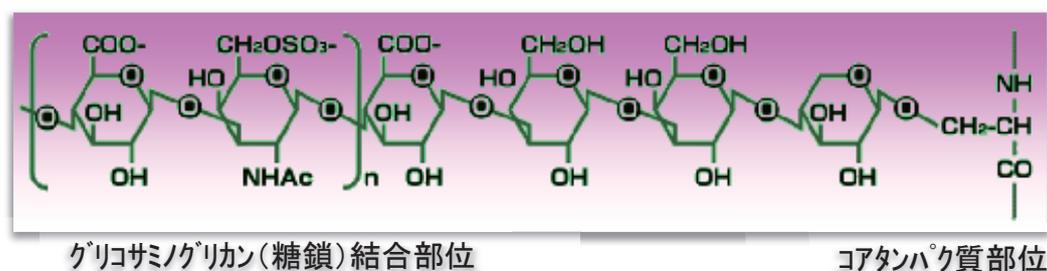
プロテオグリカンは、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸、ヘパラン硫酸、ヘパリン、ケラタン硫酸などのグリコサミノグリカンと呼ばれる硫酸化多糖がタンパク(コアタンパクと呼ばれる)に共有結合してできる広義糖タンパクの一種です。

プロテオグリカンは動物の細胞外マトリックスや細胞表面に存在し、ヒアルロン酸やコラーゲン等の繊維質のマトリックスタンパク質と複合体を形成しています。

## プロテオグリカンAQAの有効性(期待される効果)



## プロテオグリカンの構造式



## プロテオグリカンの基原

プロテオグリカンAQAは北海道産サケから取り出した軟骨を活用した化粧品向け高純度・高精製プロテオグリカン水溶液です。

## プロテオグリカンAQAの有効性1

### EGF様作用(ヒト皮膚線維芽細胞増殖促進作用)

#### 【原材料】

Proteoglycan LS：株式会社リナイス

ヒト皮膚線維芽細胞：CELL SYSTEM 社

基本培地 (Dulbecco's Modified Eagle Medium; D-MEM)：GIBCO 社

組換えヒト EGF：Roche 社

EGF (Epidermal Growth Factor) 上皮細胞増殖因子のこと。細胞の成長と増殖の調整に重要な役割を担っている。年齢を重ねるごとにEGFは減少していくことがわかっており、これにより皮膚の新陳代謝や再生能力が衰えると考えられている。

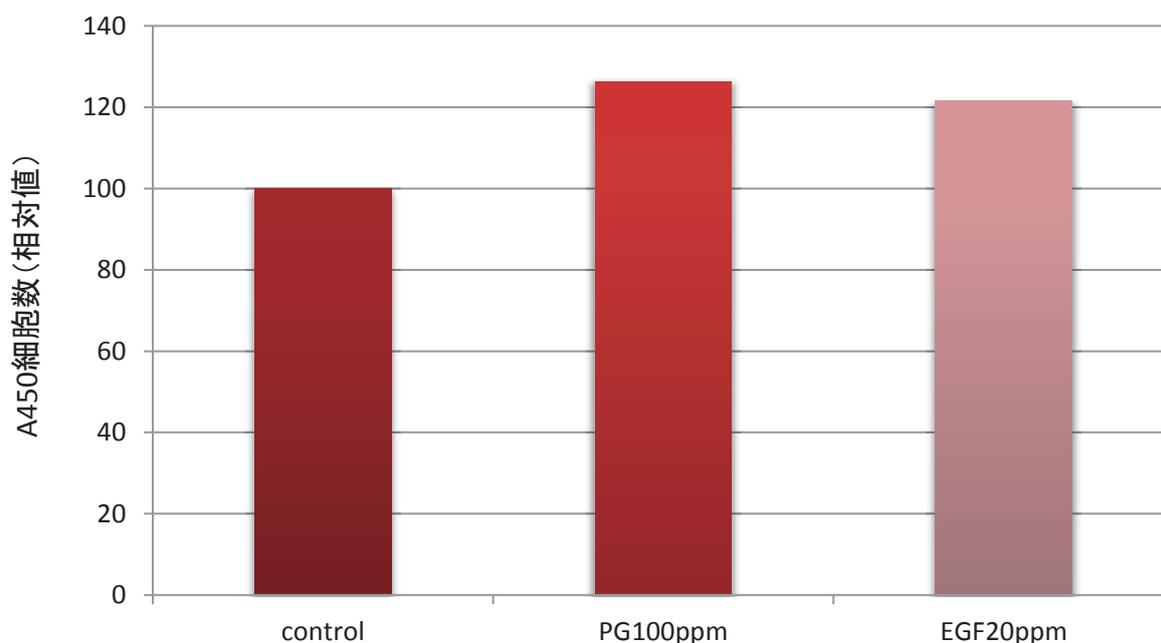
#### 【実験方法】

100mm シャーレ内でヒト皮膚線維芽細胞を 10% fetal bovine serum (FBS) を含む D-MEM 中、5% CO<sub>2</sub>、37°Cの条件でコンフルエントになるまで培養した後、96 ウェルマイクロプレートに  $6.3 \times 10^3$  cells / well となるように播種した。

その後、10%の FBS を含む D-MEM に Proteoglycan LS (以下、PG-LS と略す) を終濃度 100ppmm となるように添加した培地で培養した。

さらに、組換えヒト EGF を培地 100  $\mu$ L に対して 20ng を添加した培地を用い、同時に試験を行った。比較対象は、10%の FBS を含む D-MEM のみでの培養結果とした。

培養開始 10 日後に、各ウェルに 10%濃度の WST-1 を添加し、4h 後 450nm の吸光度を測定した。



#### 【結論】

PG-LS は、ヒト皮膚線維芽細胞の増殖に対し影響を与えることが確認された。その活性は組み換えヒト EGF と同等以上の活性を有することが明らかとなった。

## プロテオグリカンAQAの有効性2

### 乾燥肌荒れマウスに対する保湿作用

#### 【目的】

アセトン/エーテル・水処理による乾燥肌荒れマウスモデルを用いて Proteoglycan LS (以下 PG-LS と表記) の保湿効果について評価を行った。

#### 【実験材料及び方法】

##### 1. 試験試料

PG-LS は1%濃度となるように 50%(v/v)エタノール水溶液に溶解した。

##### 2. 試験動物

8週齢の Hos:HR-1 系雌性マウスを使用。健康状態が良好であることを確認し、使用した。

##### 3. 群構成

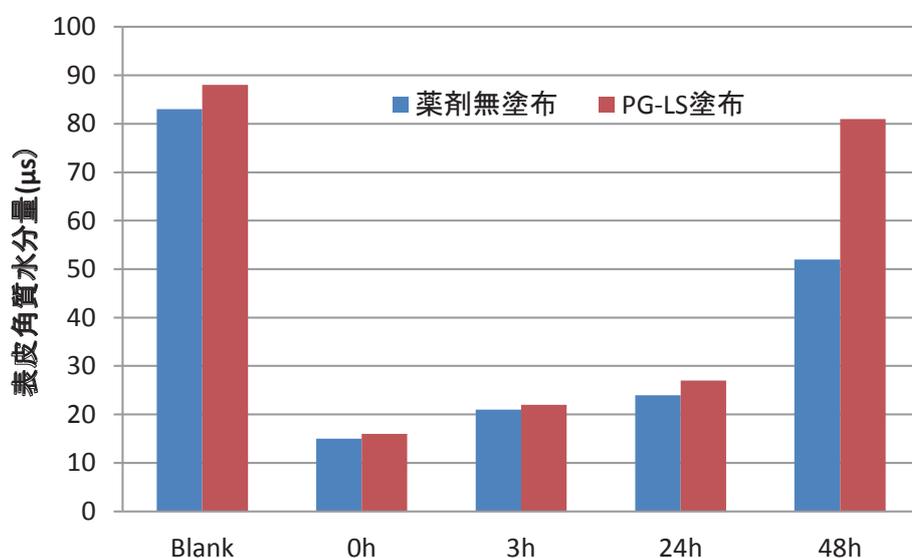
使用動物 16 匹は、薬剤無塗布群と PG-LS 群の 2 群に割付けた。

##### 4. 実験方法

Hos : HR-1 系雌性マウスにアセトン及びジエチルエーテル (1 : 1) 混合液に浸した脱脂綿を 30 秒間背部にあて、その 10 秒後に水に浸した脱脂綿で同様に 30 秒間処理した。この処理をそれぞれの群に 1 日目及び 2 日目は 2 回/日行った。3 日目は、同様の処理を 1 回だけ行い、乾燥肌荒れマウスを作製した。被験物質の投与は 3 日目の処理後から開始し、2 回/日、100  $\mu$ L をマウスの背部に塗布した。表層の角層の水分測定は、皮表角層水分量測定装置 (SKICON-200EX) を用いて行った。

#### 【結果】

PG-LS 群は 3 日目の乾燥肌荒れ処理から 48 時間後において無薬剤塗布群に対して皮膚角質水分が優位に増加した。



プロテオグリカンAQAの乾燥肌荒れマウスモデルに対する保湿作用

## プロテオグリカンAQAの有効性3

### ヒアルロン酸結合活性

#### 【目的】

鯨鼻軟骨由来のコンドロイチン硫酸型プロテオグリカンである Proteoglycan LS (以下 PG-LS と表記のコアタンパク質に存在すると言われていたヒアルロン酸結合活性 (溶液状態の固相化ヒアルロン酸に対する) について評価を行った。

#### 【試験試料】

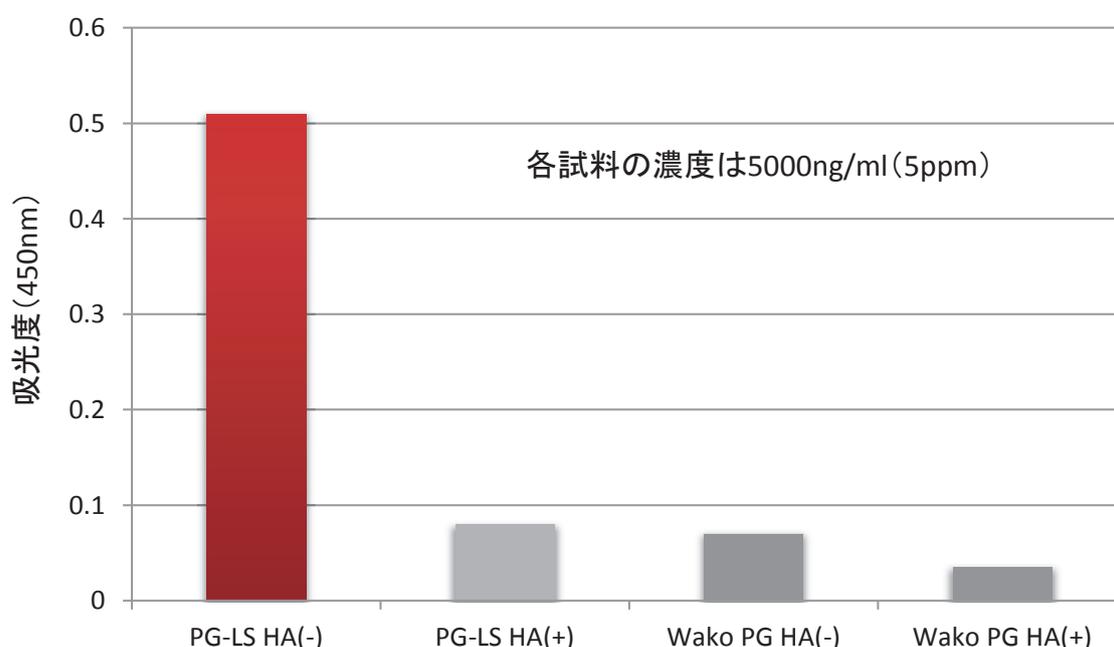
(株)リナイス : Proteoglycan LS  
和光純薬(株) : プロテオグリカン試薬

#### 【方法】

各種のプロテオグリカン試料を 5000 (ng/ml) に調整後、2 等分し、一方は阻害用ヒアルロン酸を添加、他方は非添加とし、1 時間反応させた。ELISA プレーットのウェルにヒアルロン酸を固定化し、このウェルに上記の溶液を添加し、1 時間反応させた後、洗浄を行った。次に抗 CS 抗体溶液を添加し、さらに 1 時間反応させた後、再度洗浄を行った。次に HRP 標識 2 次抗体溶液を添加し、さらに 1 時間反応させた後、洗浄した。発色基質溶液を添加し 30 分間反応させた後、反応停止し、吸光度を測定した。

#### 【結果】

当社プロテオグリカンは、ヒアルロン酸に対する結合活性を有することが明らかとなった。  
(比較対象の他社プロテオグリカンにはその活性がない。)



# プロテオグリカンAQAの概要

## プロテオグリカンAQAの規格

表示名称(化粧品)	組成	INCI Name
水溶性プロテオグリカン	12.5% ※1	Soluble Proteoglycan
BG	30.0%	Butylene Glycol
水	57.5%	Water

※1 プロテオグリカン濃縮原液(プロテオグリカン固形分として8%)を12.5%配合

包装単位	1kg	PEボトル容器
------	-----	---------

試験項目		規格	試験方法
性状		淡黄色液 わずかに特異な臭いがある	官能評価
純度試験	重金属(鉛)	20ppm以下	硫化ナトリウム比色法
	ヒ素	2ppm以下	原子吸光光度計
微生物	一般細菌数	300以下/g	標準寒天培地法
	大腸菌群	陰性	LB-BGLB法