

01 第一場

2024 / 03 / 20 集思北科大會議中心感恩廳

創新生物藥開發與 先進技術製造法規指導原則 制訂觀點分享

指導單位



衛生福利部

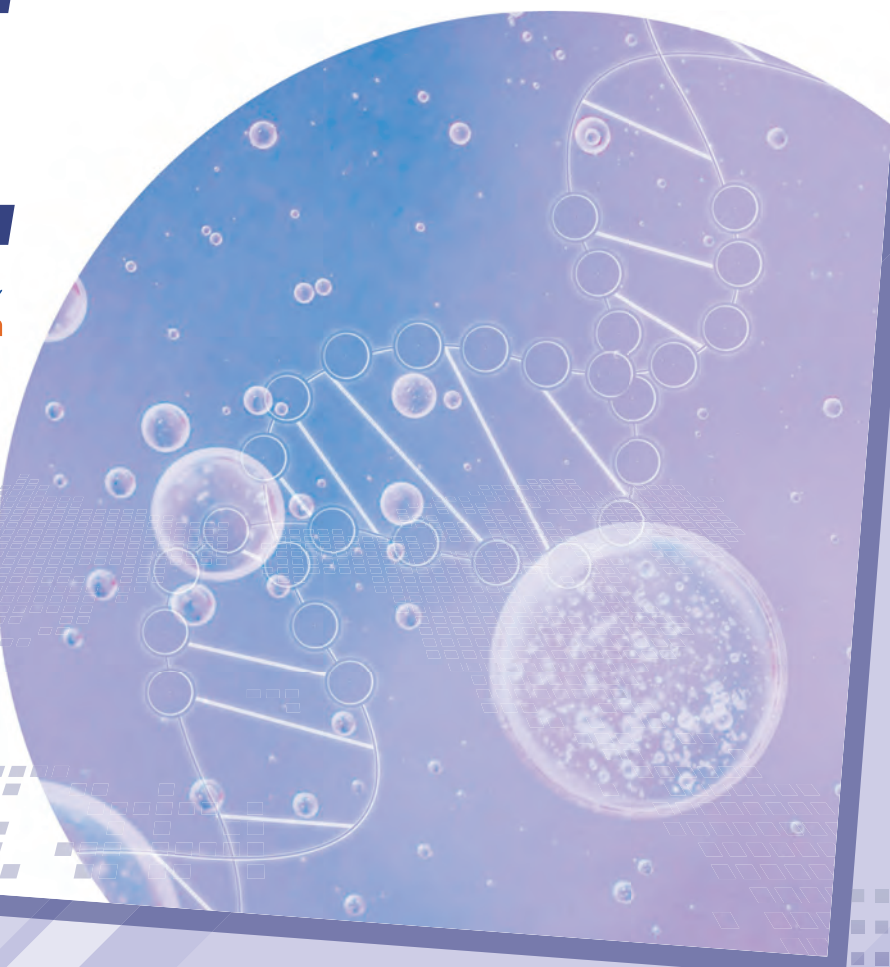
Ministry of Health and Welfare

主辦單位



財團法人醫藥品查驗中心

Center For Drug Evaluation



「創新生物藥開發與先進技術製造法規指導原則 制訂觀點分享(1)」

- 活動日期：113年3月20日(星期三)
- 活動地點：集思北科大會議中心感恩廳
- 指導單位：衛生福利部
- 主辦單位：財團法人醫藥品查驗中心
- 活動議程：

時間	講題	講者
13:30-14:00	報到	
14:00-14:10	開場致詞	醫藥品查驗中心
14:10-14:50	細胞外囊泡製劑之製造管制研發 策略指導原則(草案)	醫藥品查驗中心 李倍慈小組長
14:50-15:30	間質幹細胞釋出之外泌體具潛力 成為治療退化性關節炎之再生醫 療製劑	高雄醫學大學再生醫學與 細胞治療研究中心 何美冷執行長
15:30-15:50	中場休息	
15:50-16:30	外泌體於再生醫療與精準治療之 發展趨勢經驗分享	訊聯生物科技股份有限公司 蔡政憲董事長
16:30-17:00	綜合討論	

- ◆ 「細胞外囊泡製劑之製造管制研發策略指導原則(草案)」影片連結：
<https://youtu.be/gvv1NXMoczw>
- ◆ 「間質幹細胞釋出之外泌體具潛力成為治療退化性關節炎之再生醫療製劑」
影片連結：
<https://youtu.be/YmqtpgUzesI>
- ◆ 「外泌體於再生醫療與精準治療之發展趨勢經驗分享」影片連結：
<https://youtu.be/rr3ysFjuV34>

細胞外囊泡製劑之製造管制 研發策略指導原則(草案)

醫藥品查驗中心
李倍慈小組長

李倍慈 BIO CMC 小組長

現職：

財團法人醫藥品查驗中心 BIO CMC 小組長

學歷：

國立清華大學 生物資訊與結構生物研究所 博士

國立臺灣大學 生化科學研究所 碩士

主要經歷：

- 財團法人醫藥品查驗中心 BIO CMC 審查員
- 潤惠生技股份有限公司 研究員
- 潤宏生物科技股份有限公司 研究員
- 國立台灣大學 生化科技學研究所 博士後研究員

2024.03.20_創新生物藥開發與先進技術製造法規指導原則制訂觀點分享(1)

創新生物藥開發與先進技術製造法規指導原則制訂觀點分享
(第1場)

細胞外囊泡製劑製造與管制之 研發策略指導原則(草案)

李倍慈
CDE 藥劑科技組
Bio CMC 小組長
2024.03.20

DISCLAIMER

本研發策略指導原則係參考國際上相關規範與審查經驗，亦代表醫藥品查驗中心對此議題的當前想法，如果未來有相關的科學證據，則會進一步修訂此指導原則。

本指導原則非審查基準，若有不同的研發方式，建議可透過諮詢管道與查驗中心討論。

凡涉及政策方向及法規解釋與適用，應依中央衛生主管機關之指示為準。

研發策略指導原則(草案)研擬歷程

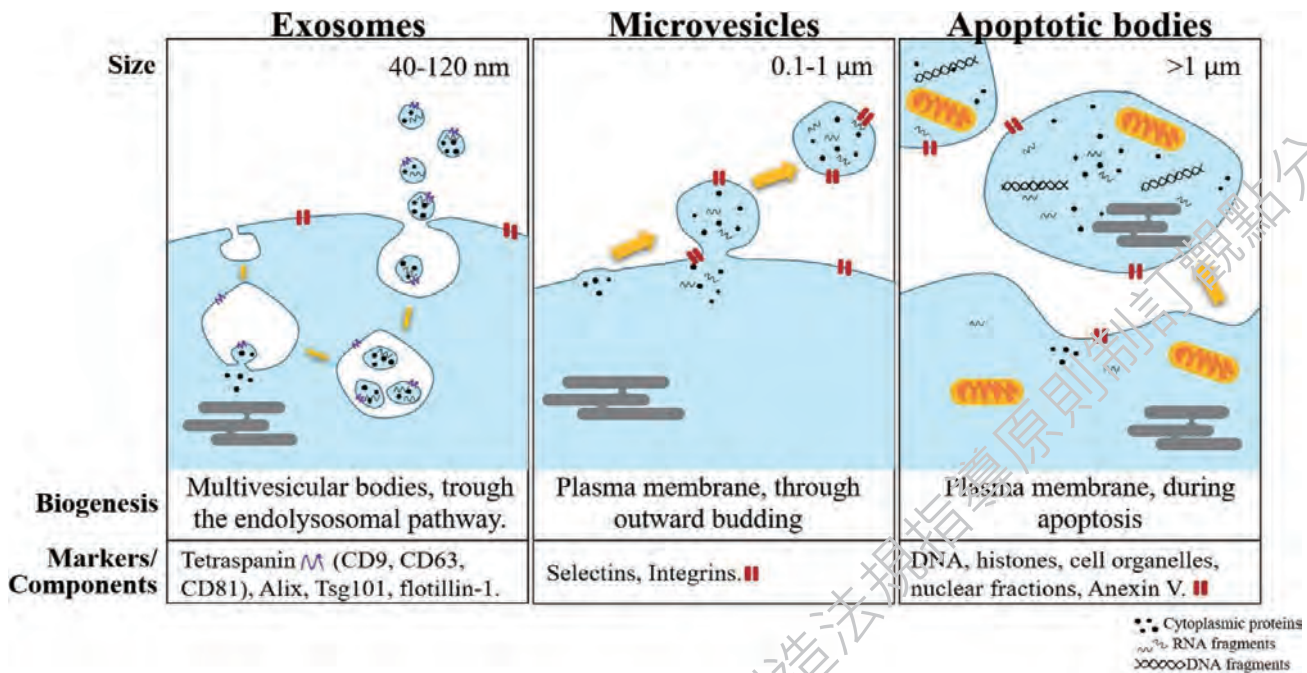
~2023/07	初版草擬
2023/08	諮詢專家
2023/09-11	公告草案(第一版)，徵求建言
2024/01	舉辦專家會議
2024/02-03	公告草案(第二版)，徵求建言
2024/03/20	舉辦交流會議

研發策略指導原則(草案)研擬參考資料

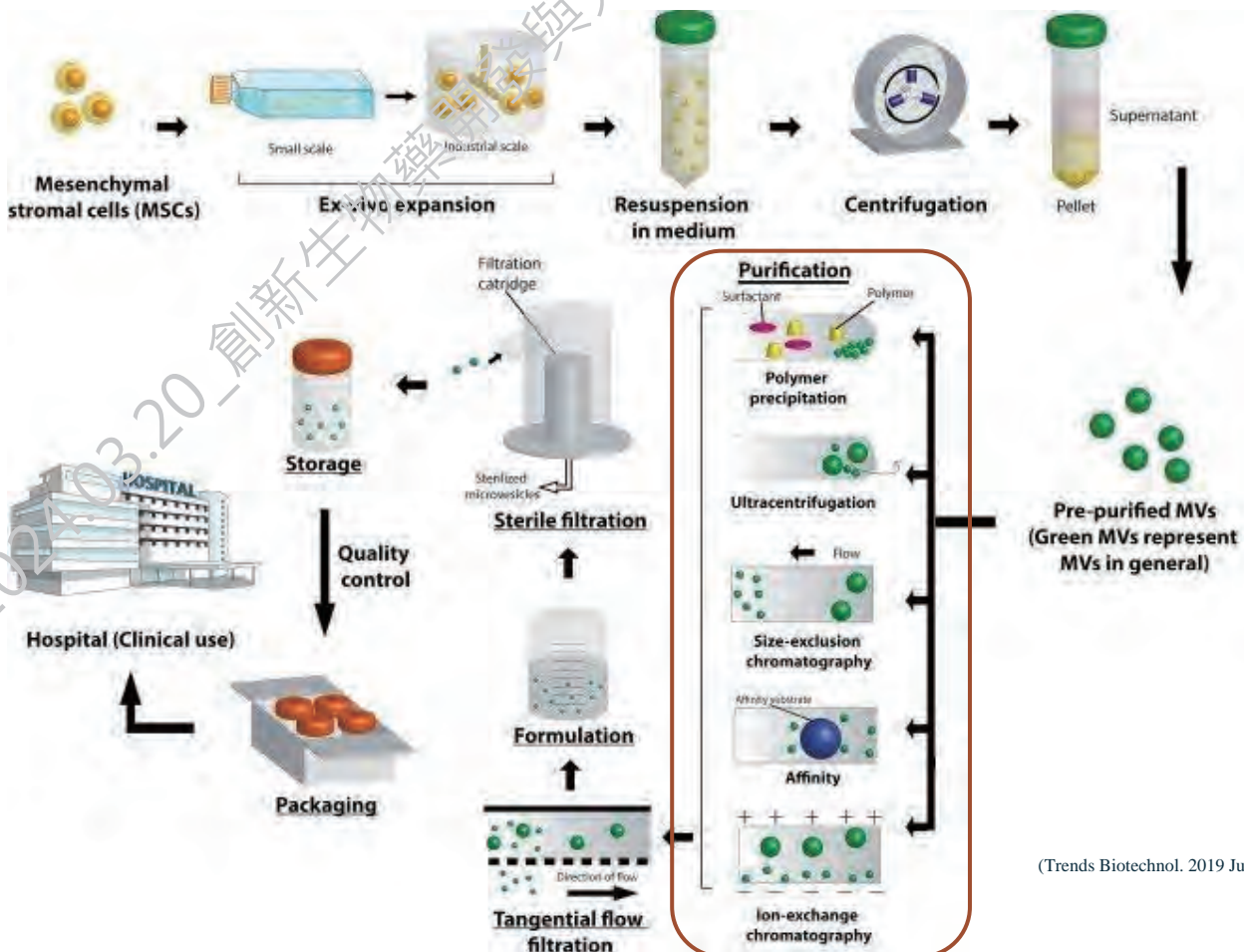
- 中心審查經驗
- ISEV: Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018, 2022 (draft), 2024
- PMDA エクソソームを含む細胞外小胞 (EV) を利用した治療用製剤に関する専門部会：エクソソームを含む細胞外小胞 (EV) を利用した治療用製剤に関する報告書 (PMDA 使用包括外泌體在內的細胞外囊泡治療製劑專家委員會:使用包括外泌體在內的細胞外囊泡治療製劑之相關報告書)
- MFDS: 세포외소포치료제 품질, 비임상 및 임상 평가 가이드라인 [민원인 안내서] (Guideline on Quality, Non-clinical and Clinical Assessment of Extracellular Vesicles Therapy Products)

Extracellular vesicles (EVs) are particles that are released from cells, are delimited by a lipid bilayer, and cannot replicate on their own.

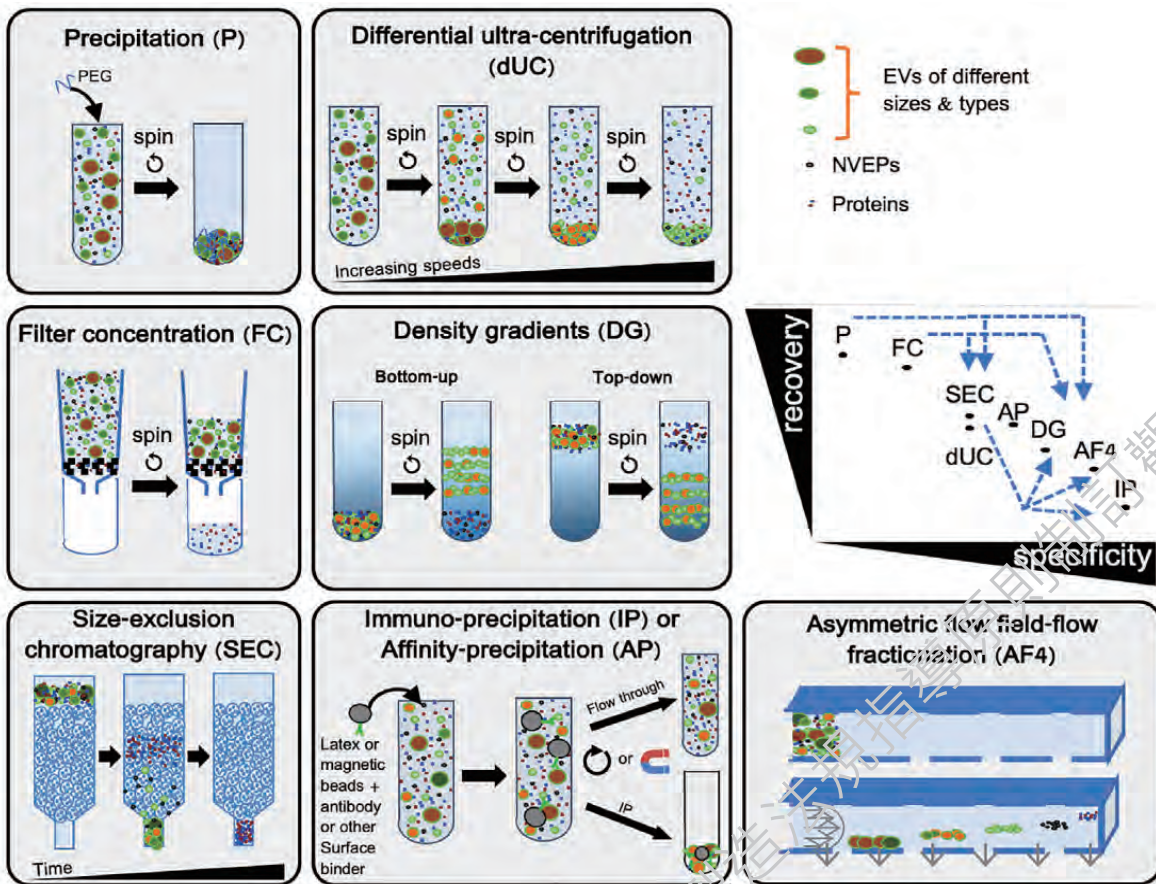
Three main subtypes of EVs:



EVs manufacturing process (example)



Some EV separation and concentration methods



細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略指導原則 (草案)

- 適用範圍
- 製造與管制考量
 - 原物料
 - 製備、分離和純化
 - 特性分析
 - 品質管控
 - 安定性分析

細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略指導原則 (草案)

- 適用範圍
- 製造與管制考量
 - 原物料
 - 製備、分離和純化
 - 特性分析
 - 品質管控
 - 安定性分析

適用範圍

- 藉由分離和純化之**人源**細胞分泌物而製得的具有**雙脂層結構**的細胞外囊泡製劑。
 - ➔ 非屬本指導原則適用範圍部分，例如但不限於使用非人源細胞製得的細胞外囊泡製劑等，建議若需要，可透過諮詢管道與查驗中心討論。
- 相關建議及要求為申請臨床試驗時所需。
- 請同時參考「藥品臨床試驗計畫-技術性文件指引」、「人類細胞治療製劑臨床試驗申請作業及審查基準」。
- 若使用經基因修飾之細胞製造細胞外囊泡製劑，請同時參考「人類基因治療製劑臨床試驗審查基準」、「嵌合抗原受體 (Chimeric Antigen Receptor, CAR) T細胞製劑研發策略基準」。

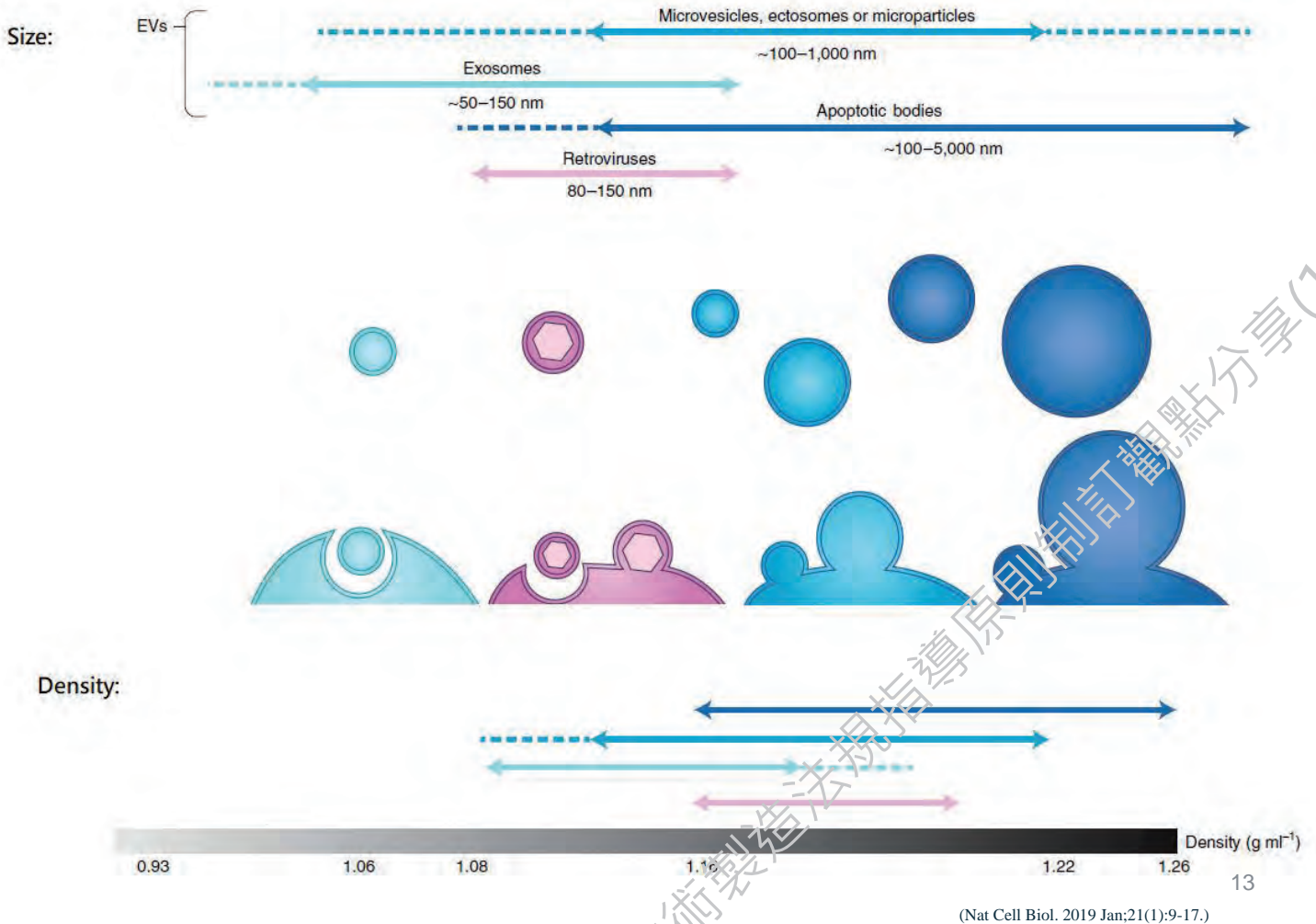
細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略指導原則 (草案)

- 適用範圍
- 製造與管制考量
 - 原物料
 - 製備、分離和純化
 - 特性分析
 - 品質管控
 - 安定性分析

起始物

- 自體或同種異體之組織或細胞
 - 請參照「人類細胞治療產品捐贈者合適性判定基準」
 - 為維持品質之一致性，建立細胞庫系統有其必要性
 - 細胞庫之建立之細胞庫及管控，請參照「人類細胞治療製劑臨床試驗申請作業及審查基準」、ICH Q5A、ICH Q5D 之相關說明。

The size and density ranges of EVs



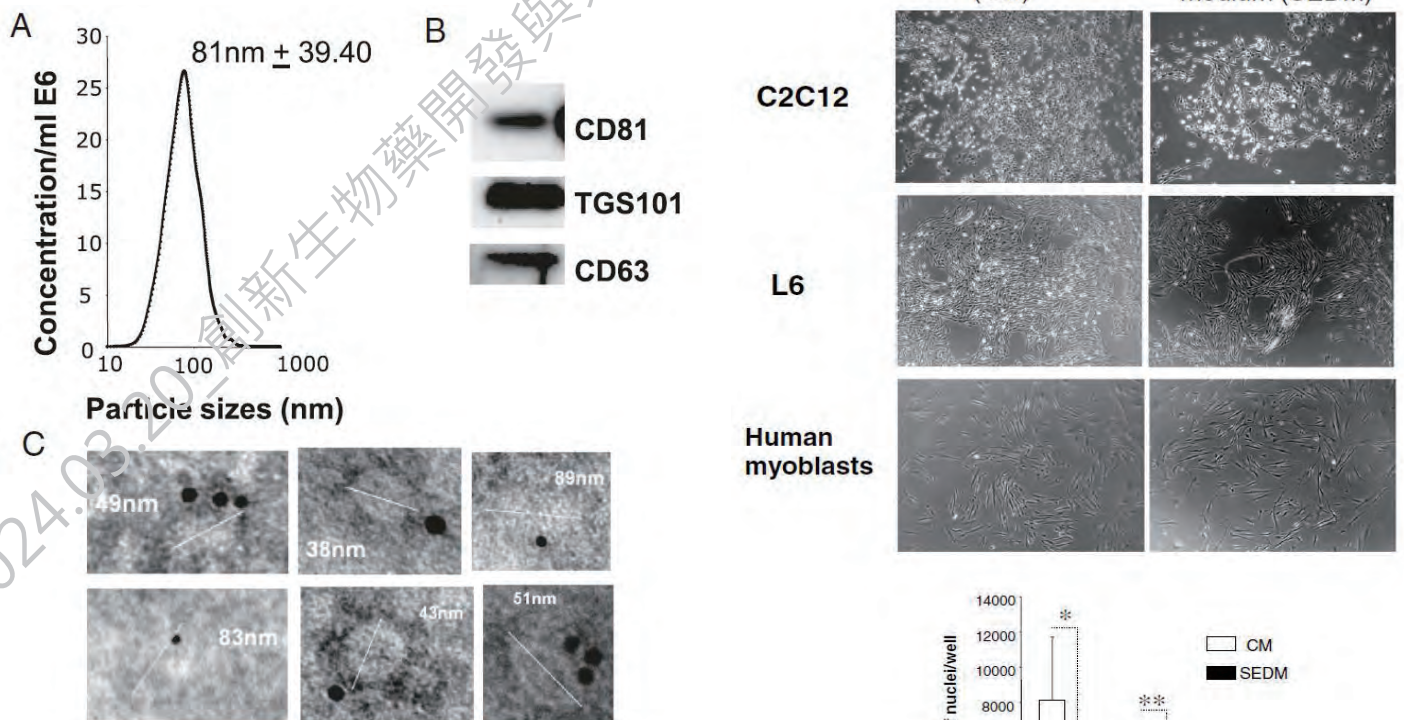
起始物 (cont'd)

- 細胞外囊泡製劑之粒徑等特性可能類似於病毒，且不易移除及/或去活化
 - ➔ 請參照ICH Q5A進行病毒安全性檢測，包含例如：
反轉錄病毒試驗、體內 (*in vivo*)、體外 (*in vitro*) 外來病毒試驗，及人類及/或動物特定病毒檢測等。
- Limit of *in vitro* cell age 的細胞
 - ➔ 須進行特性分析及病毒相關試驗
 - ➔ 若因特定培養條件驅使之特性改變，亦應確認該變化於在不同批次間之一致性。

其他原料 (包含試劑、賦形劑等)

- 若需使用生物性來源原料，可參考「製程中使用生物性原料之研發策略指導原則」，包含須有外來病原安全性之評估資料。
- 血清或血小板裂解液等，可能會含有其本身之細胞外囊泡，而影響細胞外囊泡製劑之品質特性，若無法避免使用，建議於例如但不限進行細胞外囊泡數量、鑑別、純度、效價之分析時，納入模擬細胞外囊泡 (mock extracellular vesicle) 對照組。
 → 例如但不限於將包含該試劑，但未進行細胞培養的培養基進行分離/純化

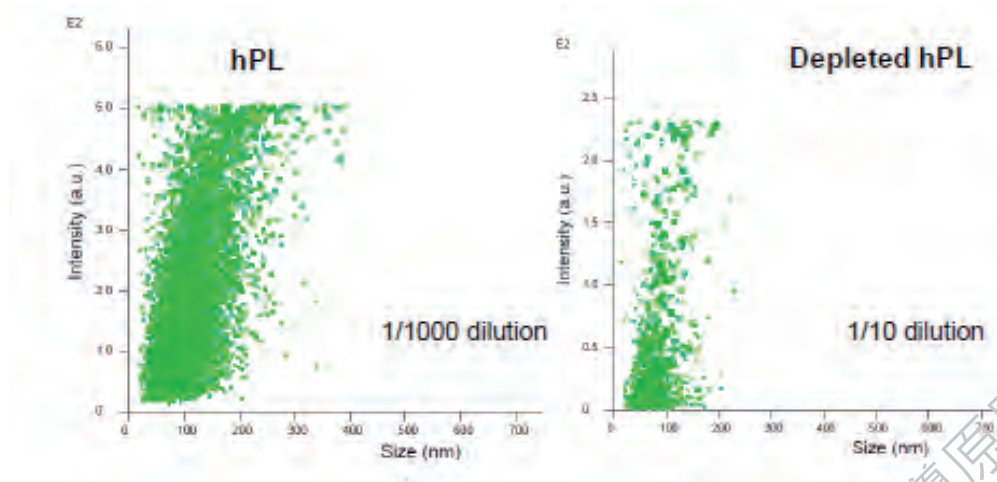
EVs in fetal bovine serum (FBS)



FBS-EV size distributions measured by NAT. ; TEM images of purified FBS-EVs. Nanovesicles are labeled with anti-CD81 gold particles.

EVs in human platelet lysate (hPL)

Nanoparticles were analyzed by NTA



(AventaCell - 2023 ISCT poster)

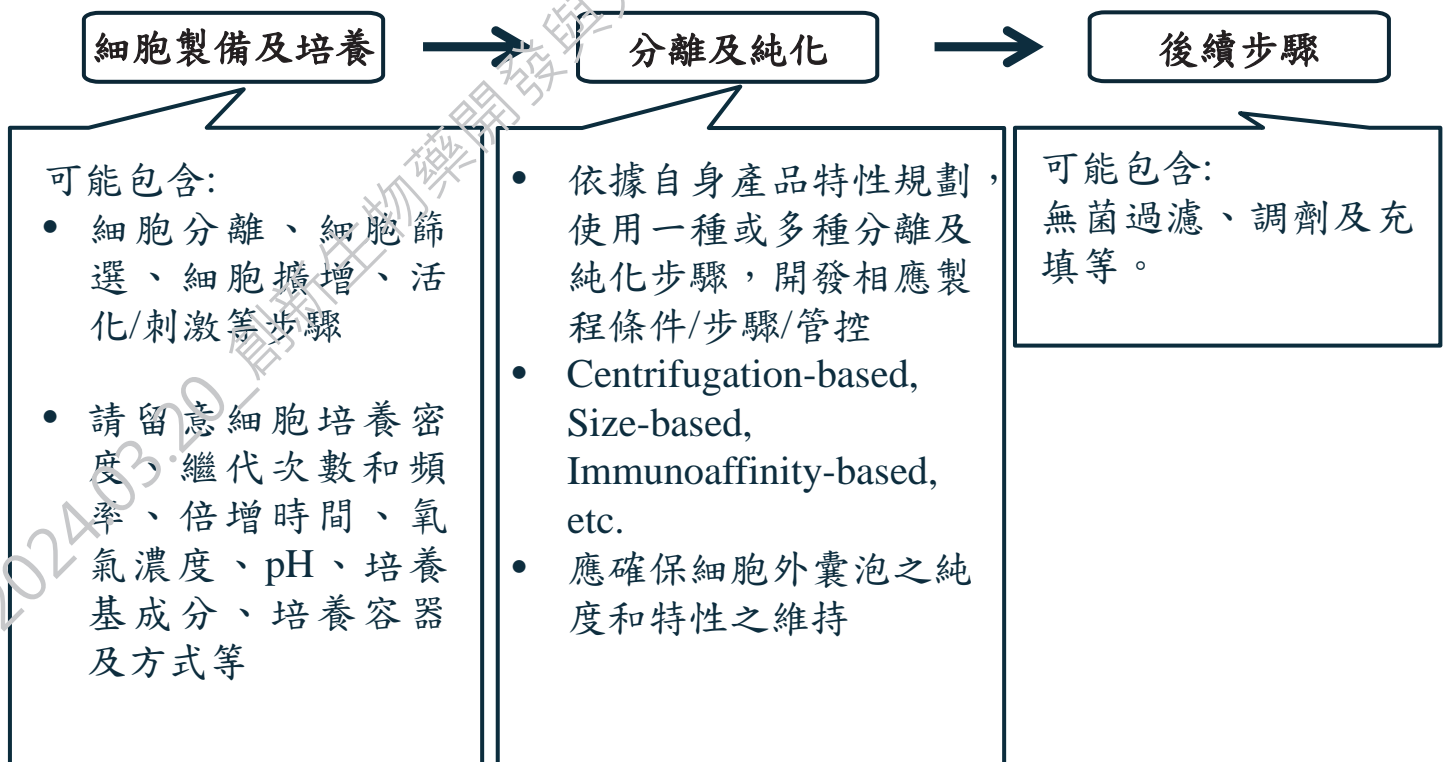
其他物料

- 製程中使用之可能與藥品接觸和包裝設備的組件和組成材料，以及一級和二級包裝組件與系統
 - 可參考中華藥典或藥品查驗登記審查準則所載之十大醫藥先進國藥典之相關規定
例如但不限於中華藥典下列章節等：
(4661) 容器-玻璃、
(4663) 注射劑玻璃容器檢測、
(4665) 注射劑塑膠容器檢測、
(4667) 注射劑彈性塞蓋檢測、
(5044) 細胞、基因及組織工程製劑用輔助材料等。

細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略指導原則 (草案)

- 適用範圍
- 製造與管制考量
 - 原物料
 - 製備、分離和純化
 - 特性分析
 - 品質管控
 - 安定性分析

製造過程



任何操作步驟均應詳細說明並嚴格控管，包含建立IPCs、CPPs與相應允收標準/行動限量

細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略指導原則 (草案)

- 適用範圍
- 製造與管制考量
 - 原物料
 - 製備、分離和純化
 - 特性分析
 - 品質管控
 - 安定性分析

特性分析

應針對產品特性嚴謹分析以確認CQA，例如但不限於：

- > 細胞外囊泡的組成(包含蛋白質、RNA和脂質等)和數量進行 profile analysis
- > 細胞外囊泡功能活性 (functional activity)的定量分析方法 (quantitative analysis)，該功能活性應能反應與適應症之有效性相關聯

Component profile analysis及功能活性等之分析結果，為製程變更(若有)前後可比性的重要資料

細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略指導原則 (草案)

- 適用範圍
- 製造與管制考量
 - 原物料
 - 製備、分離和純化
 - 特性分析
 - 品質管控
 - 安定性分析

品質管控

應包含數量、尺寸、鑑別、純度、不純物和效價的分析，一般常規檢驗(如黴漿菌、無菌、內毒素、外觀等)，以及由產品特性分析等結果推斷出重要的品質參數。

請特別留意例如：

- > 細胞外囊泡**特異性標記**(若有)
- > 細胞外囊泡的**蛋白質、RNA或脂質**等組成，應根據特性分析結果選擇，並至少以半定量 (semi-quantitative) 方式呈現結果
- > 外源性**病毒**檢測
 - 建議檢測時機可為分離和純化細胞外囊泡之前的階段，例如最終培養完成時，進行unprocessed bulk harvest和end of production cell之外源性病毒檢測

品質管控 (cont'd)

- 應對細胞外囊泡製劑中與療效相關之成分之**純度**，以及可能存在之**不純物**進行含量分析，例如但不限於：
 - 應包含可能存在於細胞核、粒線體、高基氏體、內質網、自噬小體 (autophagosome)，與細胞骨架等之蛋白質；及
 - 可能附著於細胞外囊泡的分泌性蛋白質成分，例如生長因子、細胞激素、細胞外基質 (extracellular matrix) 等細胞外囊泡的蛋白質、RNA 或脂質等組成；及
 - 製程中使用試劑，例如但不限於易與一同被分離之蛋白質、試劑中之細胞外囊泡等
- 若細胞外囊泡製劑之規格有**限定囊泡大小**等，則不符該尺寸範圍之細胞外囊泡，應視為不純物。
- 應根據特性分析結果選擇，並至少以半定量 (semi-quantitative) 方式呈現結果

整體應依據**產品整體設計規劃**定義純度及不純物，並進行相關分析鑑定並提供殘留量分析數據。

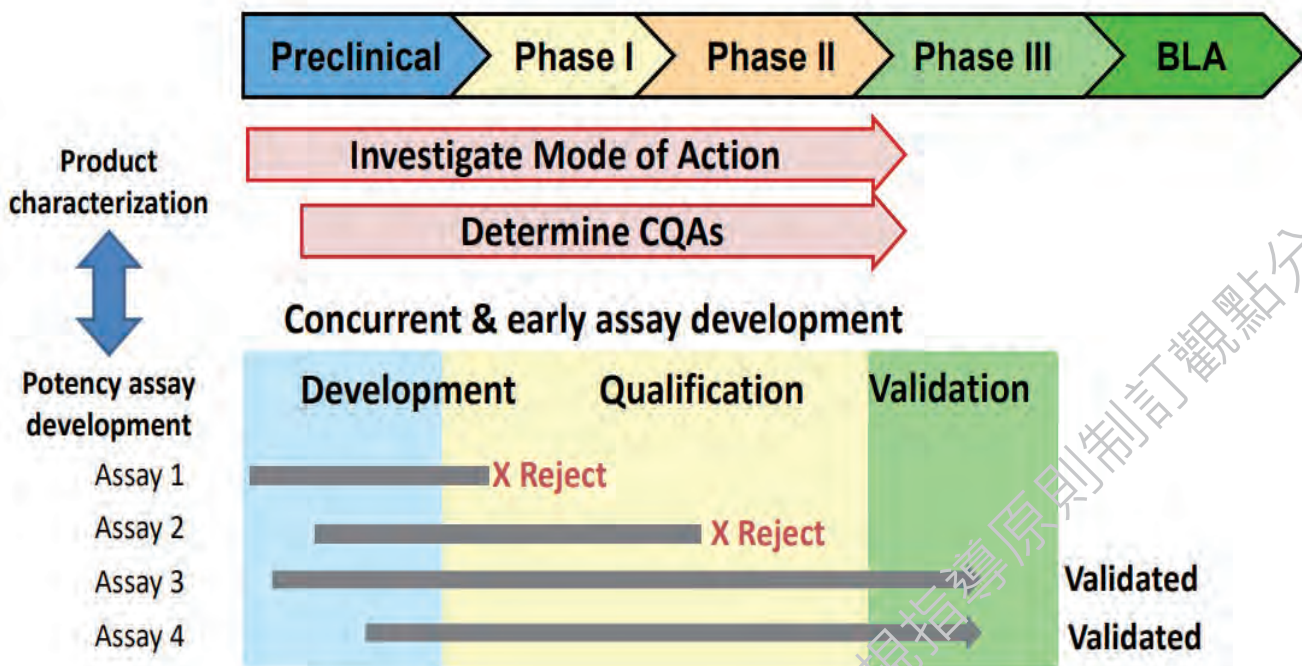
25

品質管控 (cont'd)

- 於first in human臨床試驗時，宜有療效活性成分作用機轉之說明，含體外(*in vitro*)及/或體內(*in vivo*)試驗。
- 應盡可能於早期臨床試驗階段建立**效價測試**方法
 - ➔ 於早期臨床試驗，可依可能作用機制及特性分析結果，評估設定**多個功能活性分析項目**。
 - ➔ 於**第二期人體試驗結束**時，應實施一個包含體內檢測或體外檢測的效價分析 (該活性分析方法應能反映預期的細胞外囊泡作用機制及與適應症有效性相關聯)

Potency assay development

Well designed example



(Anna Kwilas, Ph.D. June 8, 2020 CMC Reviewer and Team Lead, Division of Cellular and Gene Therapies, Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration)

Remestemcel-L (example)



- MSCs for the Treatment of Pediatric Patients Who Failed to Respond to Steroid Treatment for Acute Graft-versus-Host Disease
- MoA of Remestemcel-L: the Applicant states that “Remestemcel-L has immunomodulatory properties and a multimodal mechanism of action that counteract inflammatory processes associated with steroid refractory acute graft vs host disease (SR aGVHD)”
- Potency assay: Tumor Necrosis Factor Receptor 1 (TNFR1) expression
 - ➔ No clear relationship between TNFR1 levels and clinical effectiveness.
 - ➔ No clear relationship between TNFR1 levels and proposed MoA.
 - TNFR1 levels of remestemcel-L lots do not correlate with *in vitro* immunomodulatory activity.
 - ➔ FDA Denies Approval of Remestemcel-L for Pediatric SR-aGVHD · requires the company to solve the CMC problem before resubmitting the BLA.

> 效價測試方法

- ➔ 若擬以細胞外囊泡中的活性成分 (例如但不限於特定的miRNA、mRNA、蛋白質等)來取代功能活性的定量分析，應有例如檢測細胞增殖、遷移、毒殺效果、免疫細胞活性、基因表達調節、信號傳遞等之細胞活性評估之數據或臨床數據來支持與臨床有效性相關聯。
- ➔ 應根據劑量進行劑量反應關係 (dose-response relationship)的定量分析

放行檢測項目列表 (例如但不限於)

檢測項目

- | | |
|----------------------------|---------------------------------------|
| • Particle quantification | • Particle diameter |
| • Total protein | • DNA content |
| • RNA content | • Specific proteins/ RNAs/ lipids |
| • EVs surface makers | • Impurities (residual Albumin, etc.) |
| • Sterility | • Mycoplasma |
| • Endotoxin | • Virus testing |
| • Potency tests (in vitro) | • Potency tests (in vivo) (if any) |
| • Appearance | • pH |
| • Osmolarity | • ... |

安定性分析

- 評估細胞外囊泡在貯藏條件（溫度及時間等）下的品質安定性，檢測項目應包含由產品特性分析結果等推斷出之重要的品質參數。
- 製程中、原料藥、成品安定性測試等
- 應說明產品之運送/接收及於施予場所之處理方式
- 建議參考ICH Q5C進行安定性試驗之規劃

結論

- 細胞外囊泡製劑為通過分離和純化細胞分泌於細胞外的雙脂層囊泡而製造的藥物，其中應不含細胞，然因細胞外囊泡為衍生自細胞，故同時須考量來源細胞的品質特性進行額外評估及控管。
- 應依產品特性，整體考量製程設計、安全性與功效，並嚴謹訂定關鍵製程參數及重要的品質參數，以確保製程一致性。

CDE諮詢服務

- 臨床試驗諮詢：
 - 在臨床試驗規劃階段之藥品研發案
 - 針對特定議題
- 臨床試驗申請案預審：
 - 依申請者需求，分為例如品質、非臨床部分，或所有技術性資料預審
- 書面意見及/或會議記錄具約束力(binding)，於IND正式送件時檢附，可做為中心日後審查之重要參考依據

THANK YOU

敬請指教

起始物 (Starting materials) (cont'd)

細胞

- 依「人類細胞治療產品捐贈者合適性判定基準」，需使用法規單位核准之試劑檢測：
 - HIV type 1&2、HBV、HCV篩檢，並應搭配NAT篩檢用試劑
 - 若富含白血球活細胞之細胞或組織，另需HTLV type 1&2與CMV篩檢
 - 篩檢或診斷用梅毒螺旋體檢測試劑

間質幹細胞釋出之外泌體
具潛力成為治療退化性關節炎
之再生醫療製劑

高雄醫學大學再生醫學與
細胞治療研究中心
何美泠執行長

何美玲 特聘教授

Distinguished Professor Mei-Ling Ho, Ph.D.

現職：

高雄醫學大學 生理學/骨科學研究中心 特聘教授

高雄醫學大學 再生醫學與細胞治療研究中心 執行長

通訊地址：807 高雄市十全一路 100 號

E-mail：homelin@kmu.edu.tw

學歷：

高雄醫學大學 醫學研究所 博士

高雄醫學大學 醫學研究所 碩士

高雄醫學大學 藥學系 學士

經歷：

高雄醫學大學 產學營運處 處長

高雄醫學大學 醫學院 副院長

高雄醫學大學 骨科學研究中心 主任

高雄醫學大學 醫學系 生理學科 主任

Research Fellow, Department of Orthopaedics, University of Virginia, USA.

學會服務/社會服務：

1. 衛福部 再生醫學及細胞治療發展諮議會 委員
2. 衛福部 食品藥物管理署再生醫學諮議小組 委員/副召集人
3. 衛福部 食品藥物管理署【藥品類-羊膜粉(羊膜異體移植物基質)注射劑型臨床應用及管理方式】 書面諮詢委員
4. 經濟部工業局「生技醫藥產業發展條例相關事項審議會」之專家委員
5. 經濟部工業局產業升級創新平台輔導計畫 專審委員
6. 經濟部中小企業處「小型企業創新研發計畫(SBIR)」生技製藥領域 審查委員
7. 經濟部提供科技事業或文化創意產業具市場性意見書評估小組 專案委員
8. 教育部教學實踐研究計畫初(書)審委員
9. 國科會「傑出研究獎」(生科處基礎醫學組)初審委員
10. 財團法人醫藥品查驗中心 委員
11. 財團法人醫藥品查驗中心「創新生物製造整合技術運用藥物研發聯盟」之專家學者
12. 南臺灣產業跨領域創新中心醫材領域 召集人
13. 金屬中心創新前瞻技術研究計劃 指導委員
14. 台灣再生醫學學會理事/第九屆常務理事
15. 台灣骨科研究學會監事/常務理事
16. 中華民國骨科醫學會 第 21 屆 FJMD 編輯委員會 委員

重要獲獎：

1. 2019 年 高醫藥學文教基金會第九屆傑出校友-學術類傑出校友



2. 2018 年 科技部傑出研究獎
3. 107-109、111 學年度專利獲證卓越獎
4. 110 年度-產學合作優良獎
5. 2018 年 教育部服務 40 年資深優良教師獎
6. 2017、2018、2020、2021 年研究績優教師
7. 2017 年 第十四屆國家新創獎/2016 年 第十三屆國家新創獎/2011 年 第八屆國家新創獎
8. 台灣骨科研究學會 2014 年第八屆 SCI 優秀論文比賽第二名/2013 年第七屆 SCI 優秀論文比賽第一名/2011 年第五屆 SCI 優秀論文績優比賽第三名/2010 年第四屆論文績優比賽第二名

研究表現:

領導高醫骨科學研究中心的肌肉骨骼關節之再生醫學研究達 21 年；已完成下列項目:

1. 116 篇研究論文
2. 63 件專利
3. 10 件技轉案
4. 新創公司-韶宇醫學科技股份有限公司，

已於 2021.10.08 與上櫃公司博晟生醫合併，繼續走向產品上市之路。

2024.03.20_創新生物藥開發與先進技術製造法規指導原則制訂觀點分享(1)

間質幹細胞釋出之外泌體具潛力成為 治療退化性關節炎之再生醫療製劑

MSC-derived exosomes may be a potential regenerative
product for osteoarthritis treatment

Distinguished Prof. Mei-Ling Ho, PH.D.
何美玲 特聘教授\執行長

醫學系生理學科、骨研中心\
再生醫學與細胞治療研究中心
高雄醫學大學



Content

- **Exosomes vs. Cell Therapy**
- **Definition of Exosomes**
- **Test for the Efficacy of MSC-exosome on Osteoarthritis**
- **Difficulties may be faced for clinical application of Exosomes to be Regenerative Products**

再生醫療製劑

外泌體 exosome: 細胞衍生物，細胞治療製劑

再生醫療定義

再生醫療：指利用**基因**、**細胞及其衍生物**，用以治療、修復或替換人體細胞、組織及器官之製劑或技術。

再生醫療製劑

指含有基因、組織、細胞及其衍生物，供人體使用之藥品。

分類如下：

- 一、基因治療製劑
- 二、細胞治療製劑
- 三、組織工程製劑
- 四、複合製劑

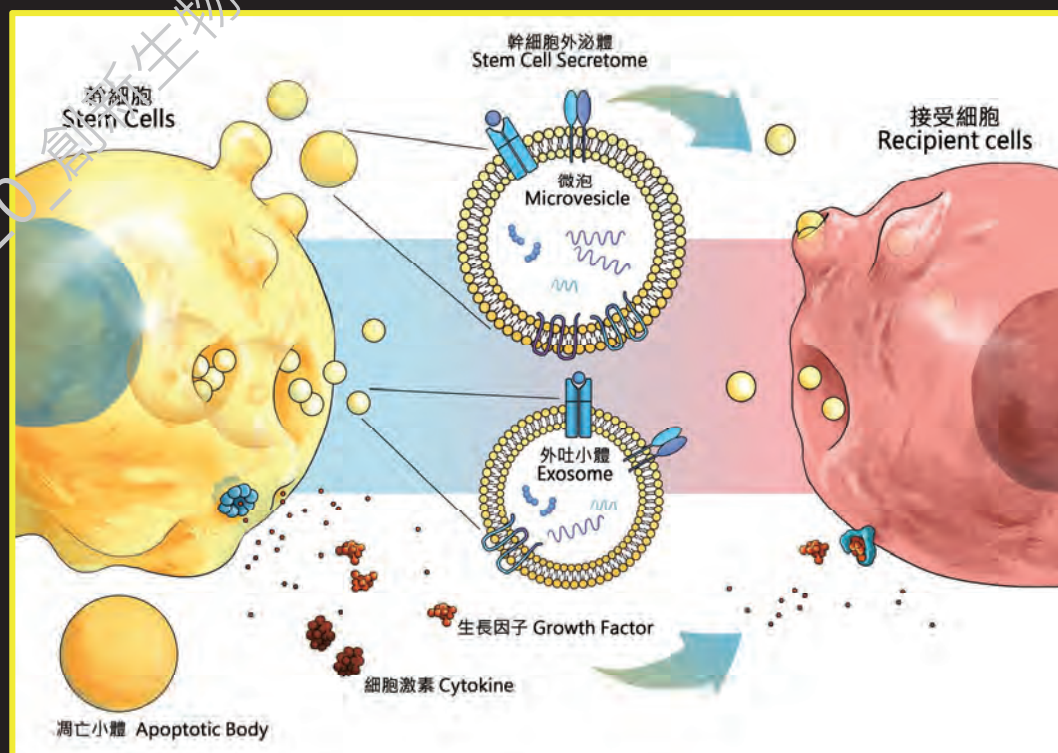
再生醫療技術

於人體施行再生醫療之技術，但下列技術，不包括在內：

- (一) 輸血。
- (二) 使用血液製劑。
- (三) 骨髓造血幹細胞移植、周邊血造血幹細胞移植。
- (四) 人工生殖。
- (五) 其他經中央主管機關公告之項目。

3

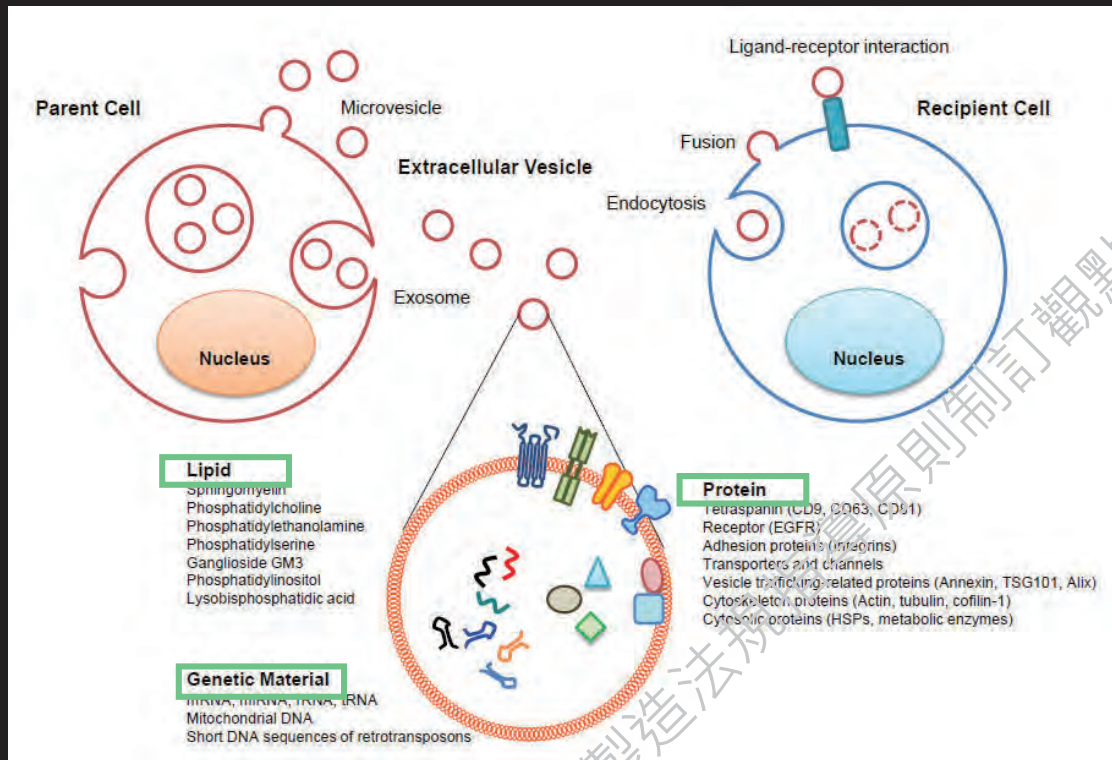
The Role of Stem Cell-derived Exosomes: Communicate with the Surrounding Cells



2024.03.20 創生生物藥學與先進技術製劑

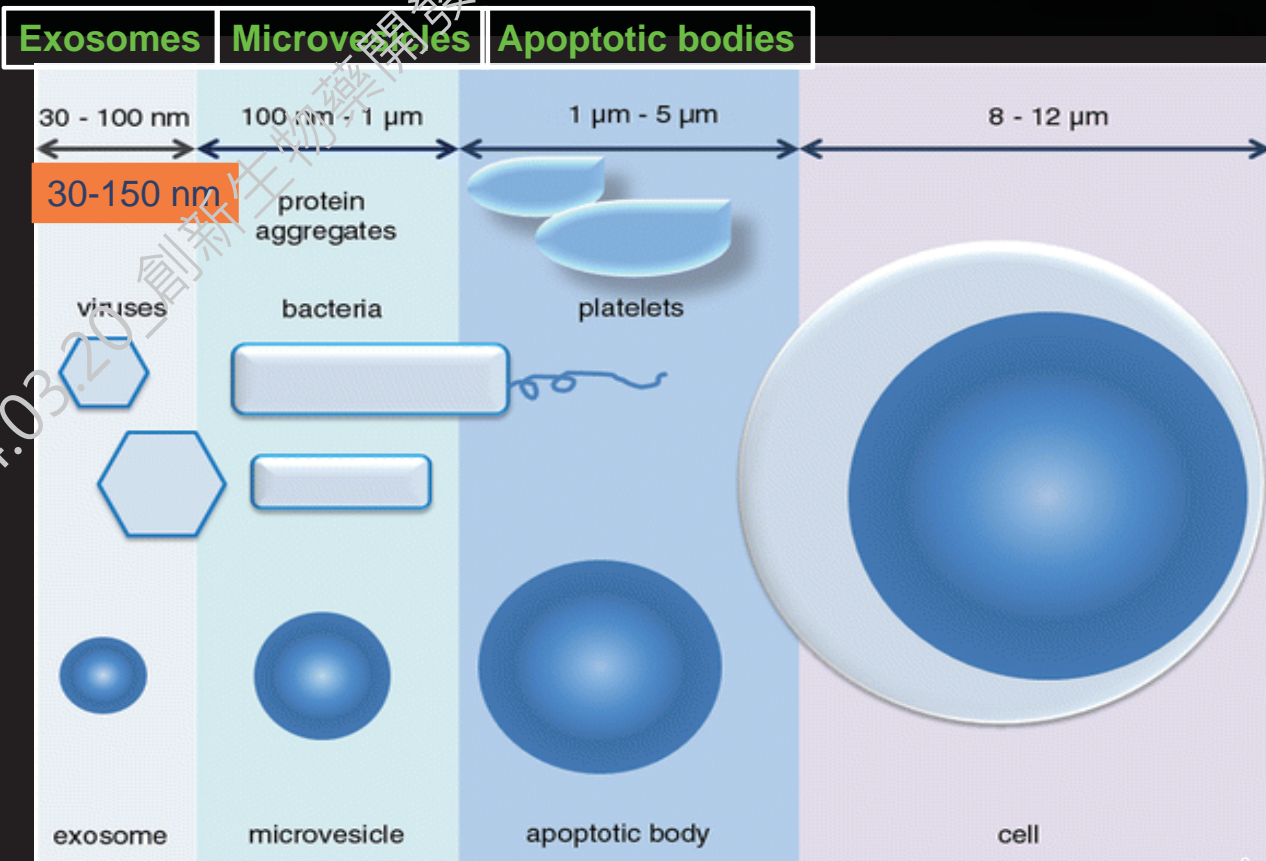
原研藥訂製點分享(1)

Extracellular Vesicles as inter-cellular communicasomes carrying proteins, lipids & genetic materials



Y. S. Gho et al. BMB Rep, 2014

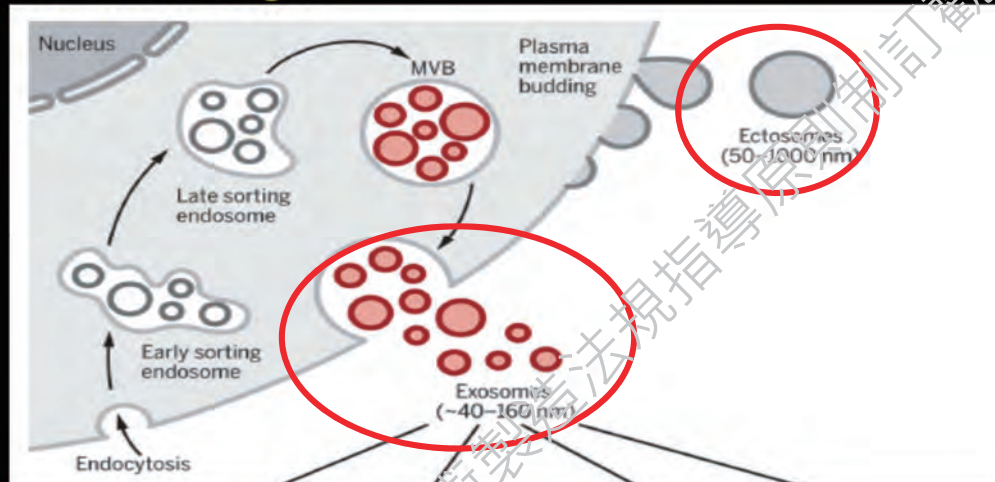
Sizes of Extracellular Vesicles (EVs)



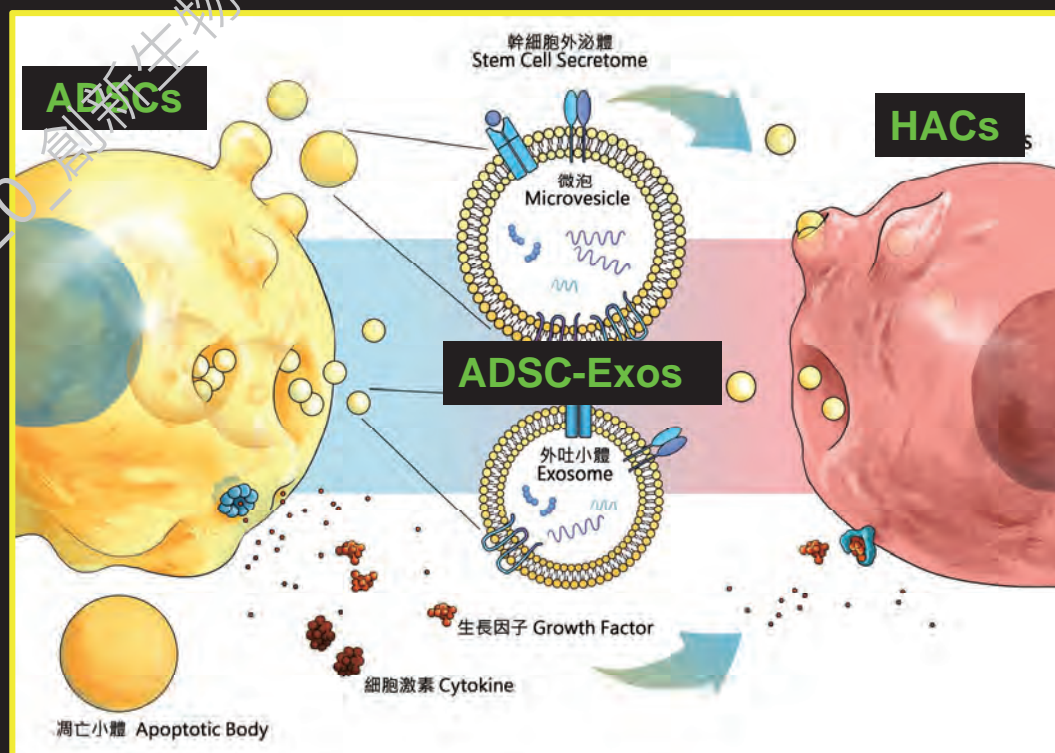
Definition from Science, 2020

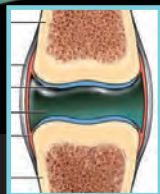
The biology, function, and biomedical applications of exosomes;
Raghu Kalluri, Valerie S. LeBleu

- **Ectosomes:** pinch off the surface of the plasma membrane via outward budding include microvesicles, microparticles, and large vesicles in the size range of ~50 nm to 1 μ m in diameter.
- **Exosomes:** size range of ~40 to 160 nm (average ~100 nm) with an **endosomal origin**.



Effect of Adipose-derived Stem Cells (ADSCs) released exosomes (ADSC-Exos) on human articular chondrocytes (HACs)

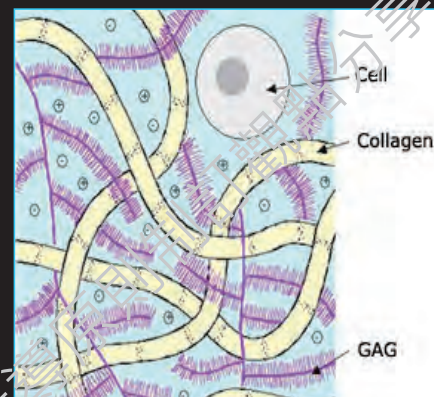




Articular Cartilage

lack of stem cells & vascularization

- Cells: **Chondrocytes (no mitosis)**
- Matrix: **hyaline cartilage**
 - **Glycosaminoglycan (GAG)**
 - **Collagen type II**
 - **Water: 65-80%**
of total weight



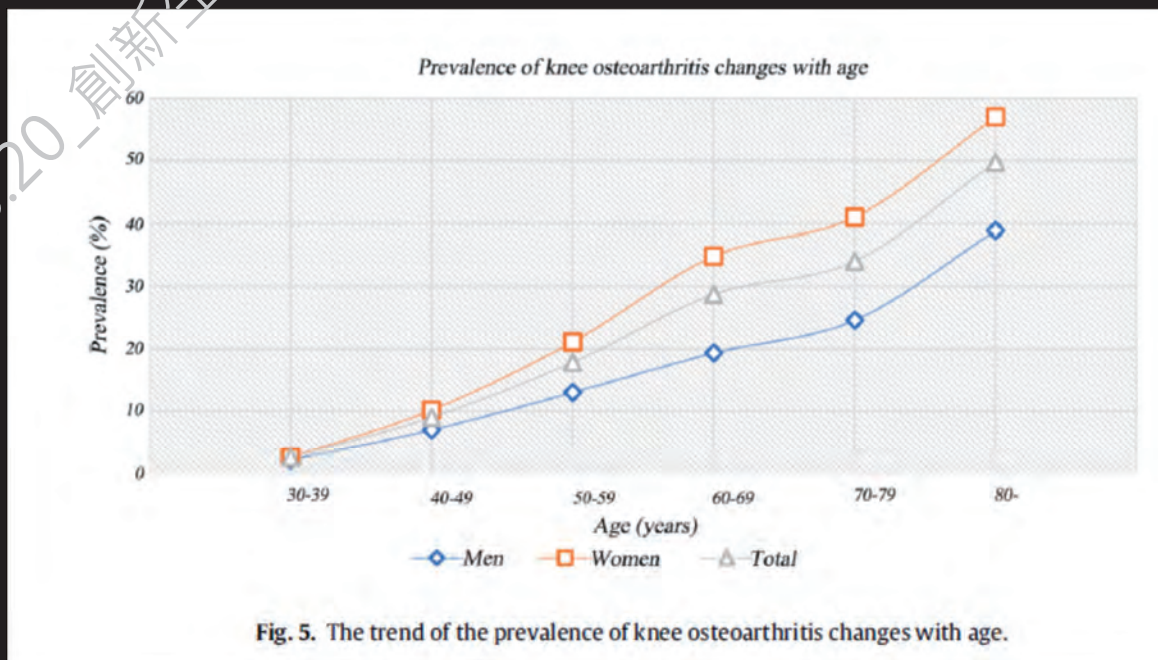
@ If damage, difficult to self-repair
 @ If not repair, develop osteoarthritis eventually

Cartilage



Osteoarthritis (OA)

Higher incidence of OA in elderly



Post-traumatic OA (PT-OA)

- **Ligamentous or capsular injury** in joint: increase >10-fold of OA risk
- **Articular fracture:** increase > 20-fold of OA risk
- In USA: 6 million PT-OA p'ts
3 billion USD for treating PT-OA

Anderson et al, JOR 2011

Osteoarthritis (OA) Aging & chronic inflammation with SASP

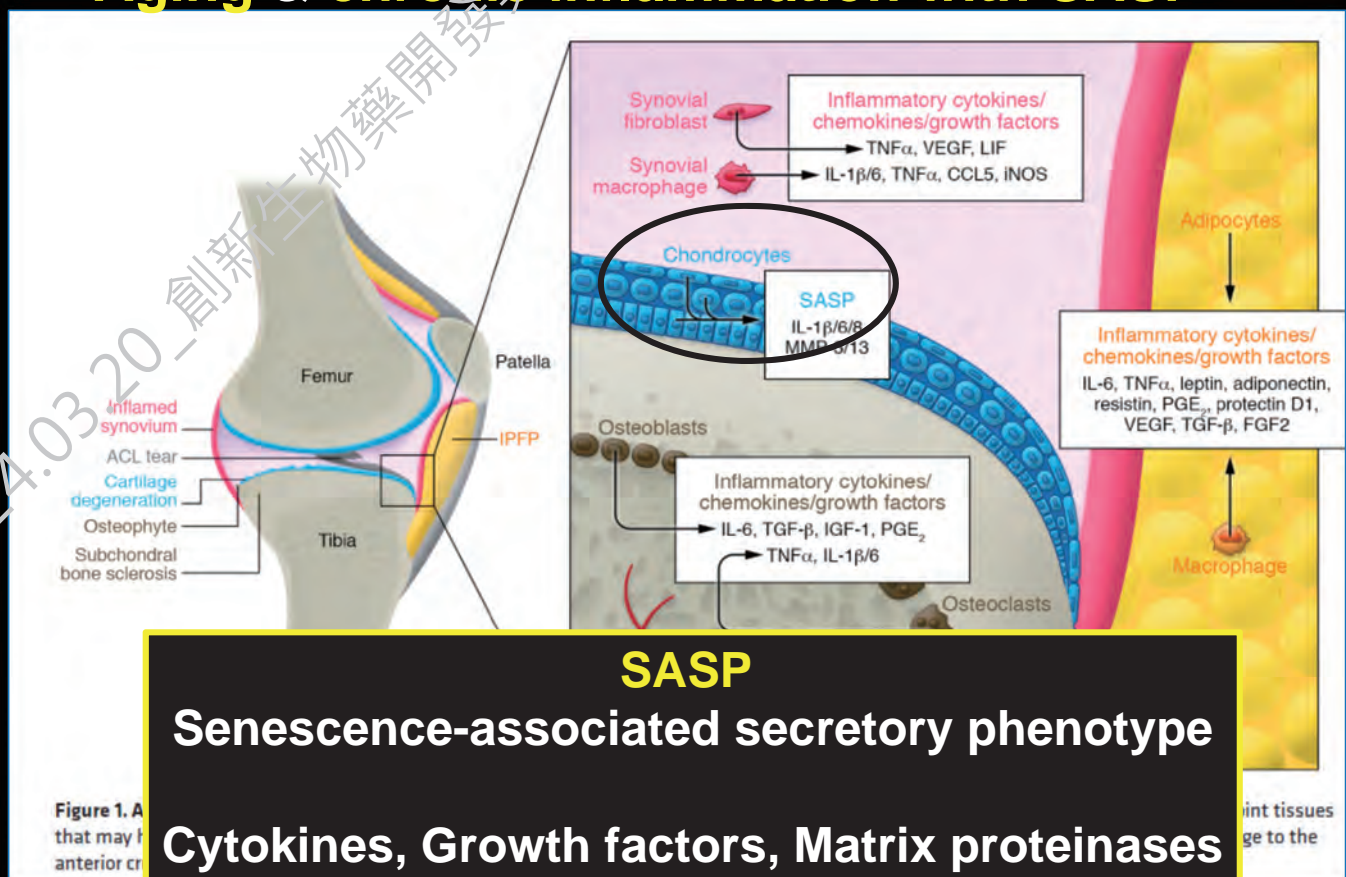


Figure 1. A that may anterior cr

Osteoarthritis (OA) treatment

- Current treatments for OA primarily involve the use of anti-inflammatory drugs, analgesics, and lubricating supplements.

@ MSC therapy for OA is developing with clinical trials.

13

The Efficacy of Stem Cell Therapy

may be from:

- Cell itself
- **Cell secretome**

@ Whether stem cell secretome component can improve chondrocyte function remains undefined

Verma RS, et al, (2019) *Cytokine and Growth Factor Reviews* 46
Zhang R, et al, (2019) *Am J Transl Res* 11(10), 6275-6289

14

miRNAs in Exosomes from MSCs have beneficial effects on articular chondrocytes

Paper	Author/Journal
Exosomes derived from miR-140-5p -overexpressing human synovial mesenchymal stem cells enhance cartilage tissue regeneration and prevent osteoarthritis of the knee in a rat model	SC Tao, et al, Theranostics. 2017 Jan 1;7(1):180-195.
Exosomes derived from miR-92a-3p overexpressing human mesenchymal stem cells enhance chondrogenesis and suppress cartilage degradation via targeting WNT5A	G Mao, et al, Stem Cell Res Ther. 2018; 9: 247
TGF- β 1 promoted chondrocyte proliferation by regulating Sp1 through MSC exosomes derived miR-135b	H Xu, et al, Cell Cycle. 2018 Dec 11;17(24):2756-2765.
miR-100-5p-abundant exosomes derived from infrapatellar fat pad MSCs protect articular cartilage and ameliorate gait abnormalities via inhibition of mTOR in osteoarthritis	J Wu, et al, Biomaterials. 2019 Jun;206:87-100.
Exosomes from adipose-derived stem cells promote chondrogenesis and suppress inflammation by upregulating miR-145 and miR-221	C Zhao, et al, Mol Med Rep. 2020 Apr; 21(4): 1881–1889.

15

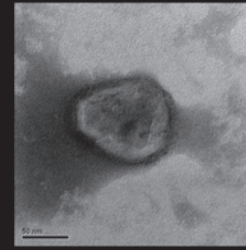
Established a testing platform & found ADSC-Exos increase normal function of Human Articular Chondrocytes (HACs)

- **Isolation** by ultracentrifugation
- **Identification**: ISEV suggestion
 - protein markers, vesicle size, quantification
- ◆ **ADSC-Exos** up-taken by **HACs**
- ◆ **ADSC-Exos** increase **HACs** function

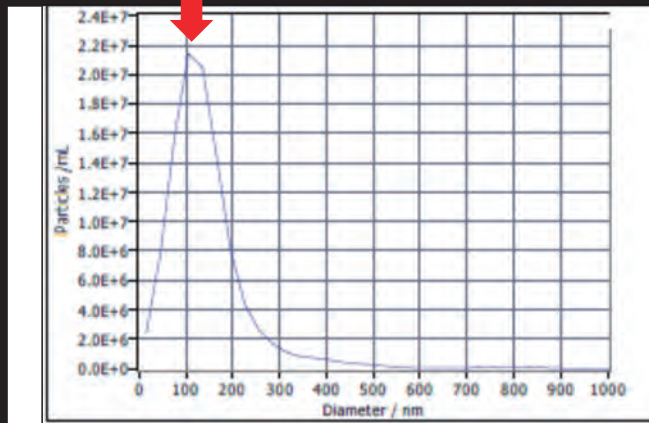
16

Single Vesicle Analysis & Quantification of ADSCs-Exos

- Transmission Electron Microscopy (TEM)



- Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) size distribution & particle number



ADSC-Exos Particle size Distribution

Diameter at Peak :
115.9 nm

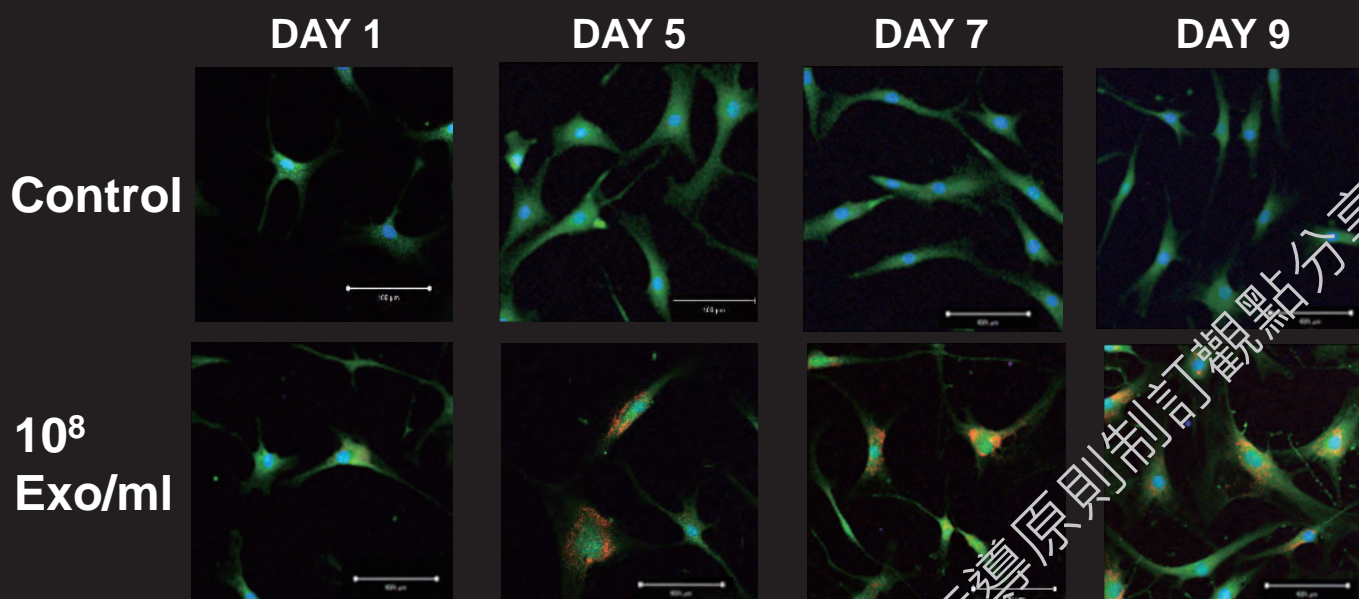
2.9×10^{10} Exos /ml
 7.5×10^3 Exos/ADSC

ADSC-EVs showed marker protein compositions of Exosomes

Western blot analysis

	ADSCs (20µg)	ADSC-Exos 2x10 ¹¹ EVs (40µg)	
At least 3 Positive of Transmembrane	CD 9		(23~27kDa)
	CD 63		(28~35kDa)
	CD 81		(22kDa)
Cytosolic protein/Lipid-bound protein	ALIX		(96kDa)
	TSG101		(46kDa)
At least one negative	α-tubulin		(55kDa)

ADSC-Exos up-taken by Chondrocytes



Articular chondrocyte stained Green by cell tracker
 Exosomes stained Red by CM-Dil
 Cell nucleus stained Blue by DAPI,

ADSC-Exos increase functional markers and decrease degeneration markers of Human Articular Chondrocytes

- Human Articular Chondrocytes: NHAC-kn®

- HAC Function:

@ MTT: Viability (day 1, 3, 5) ↑

@ Hyaline cartilage markers (day 12):

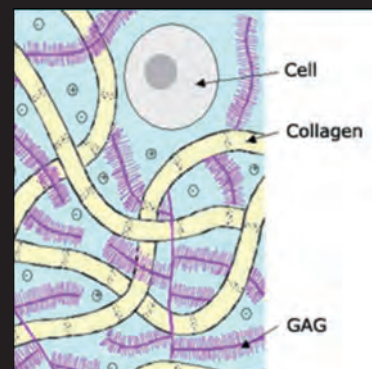
Collagen II & GAG ↑

@ Fibrous cartilage marker:

Collagen I ↓

@ Degenerative cartilage marker:

Collagen X ↓



Study- I

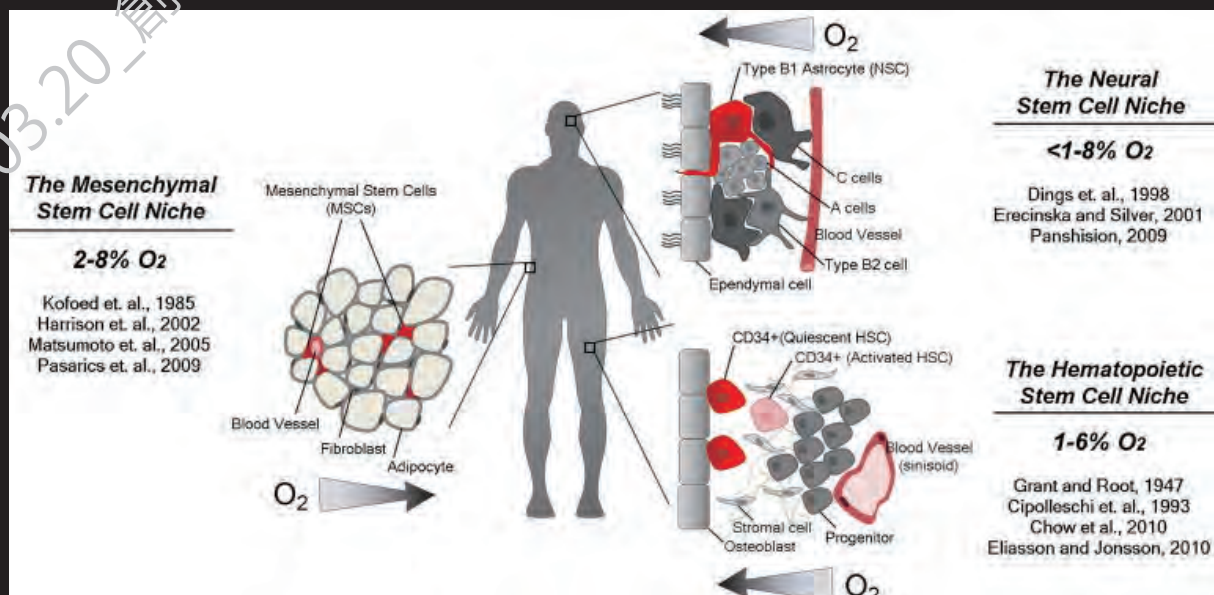
What is the **better culture conditions** for ADSCs to release more effective exosomes?

- Search for the **culture conditions for ADSCs** to release better ADSC-Exos
- Evaluate by testing ADSC-Exos function **on normal human articular chondrocytes (HACs)**

21

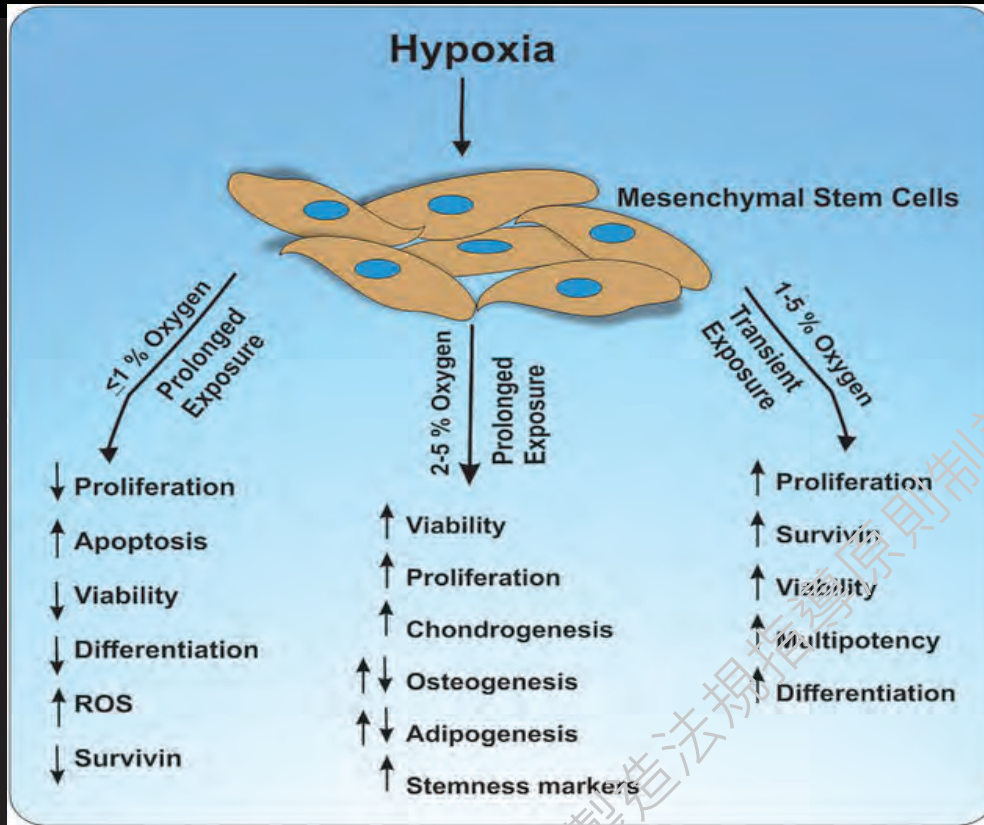
Low Oxygen Tension in Stem Cell Niches MSCs: 2-8% O₂

Articular cartilage: **superficial zone around 6% O₂**
deep zone less than 1% O₂



2

Hypoxia-cultured MSCs have more effective functions



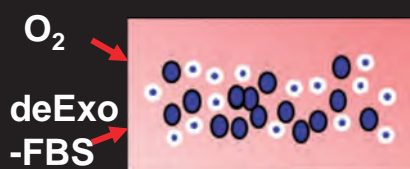
Samal JRK et al., Adv. Healthcare Mater., 2021

The culture conditions of ADSCs were altered in O₂ and FBS concentrations

Induction of ADSC-Exos

Induction Groups	Medium	Serum	O ₂
Normoxia-Exo-F2	Basal medium (DMEM)	2% deExo FBS	20%
Hypoxia-Exo-F2	Basal medium (DMEM)	2% deExo FBS	1%
Normoxia-Exo-F10	Basal medium (DMEM)	10% deExo FBS	20%
Hypoxia-Exo-F10	Basal medium (DMEM)	10% deExo FBS	1%

Exosomes characterization:

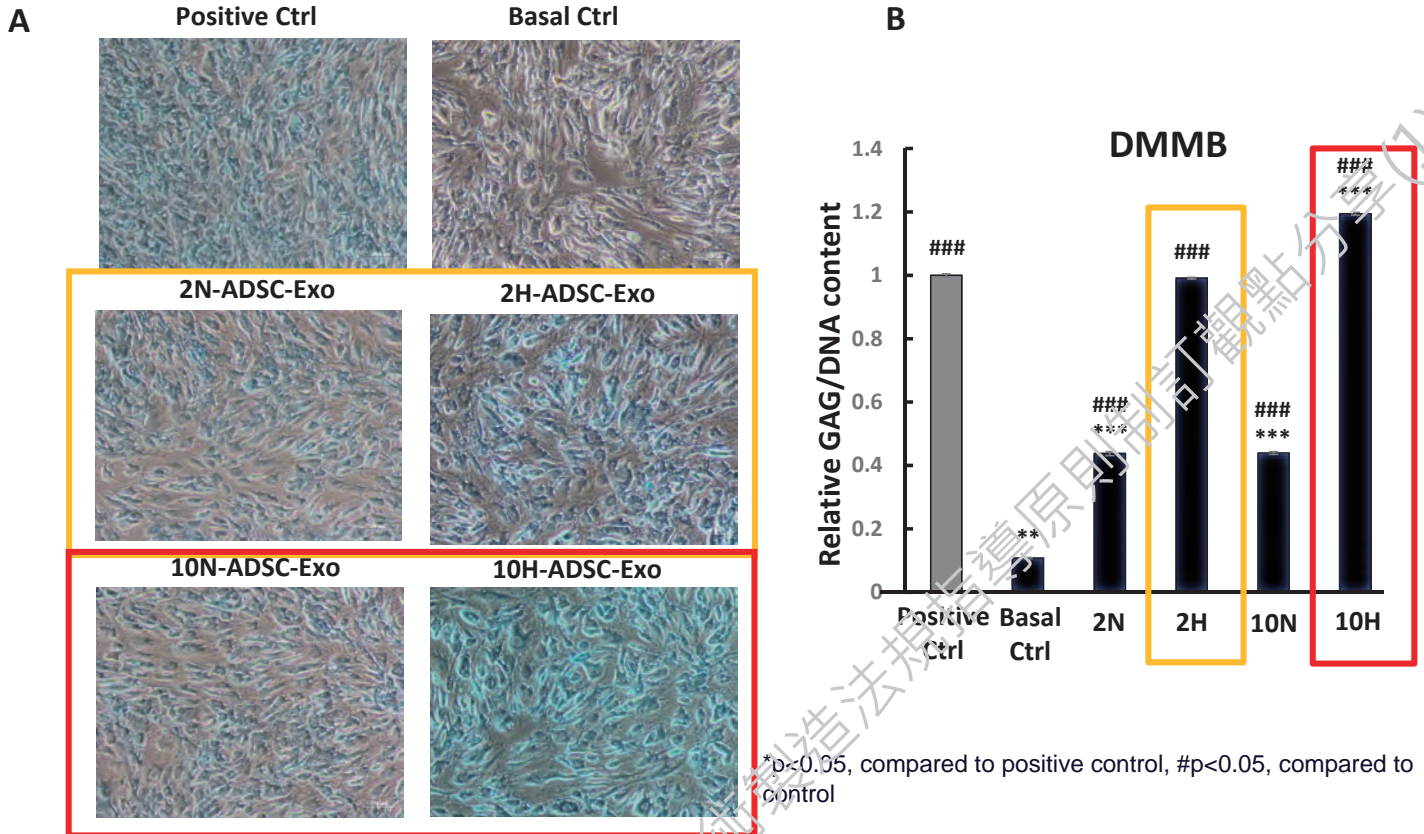


- Morphology determination of Exosomes by Transmission electron microscopy (TEM)
- Quantification of Exosomes by NTA techniques
- Protein composition of Exosomes by WB analysis

Hypoxia & 10% dExo-FBS induced ADSC-Exos showed optimal effects on HAC GAG formation

Alcian blue stain

HAC GAG formation

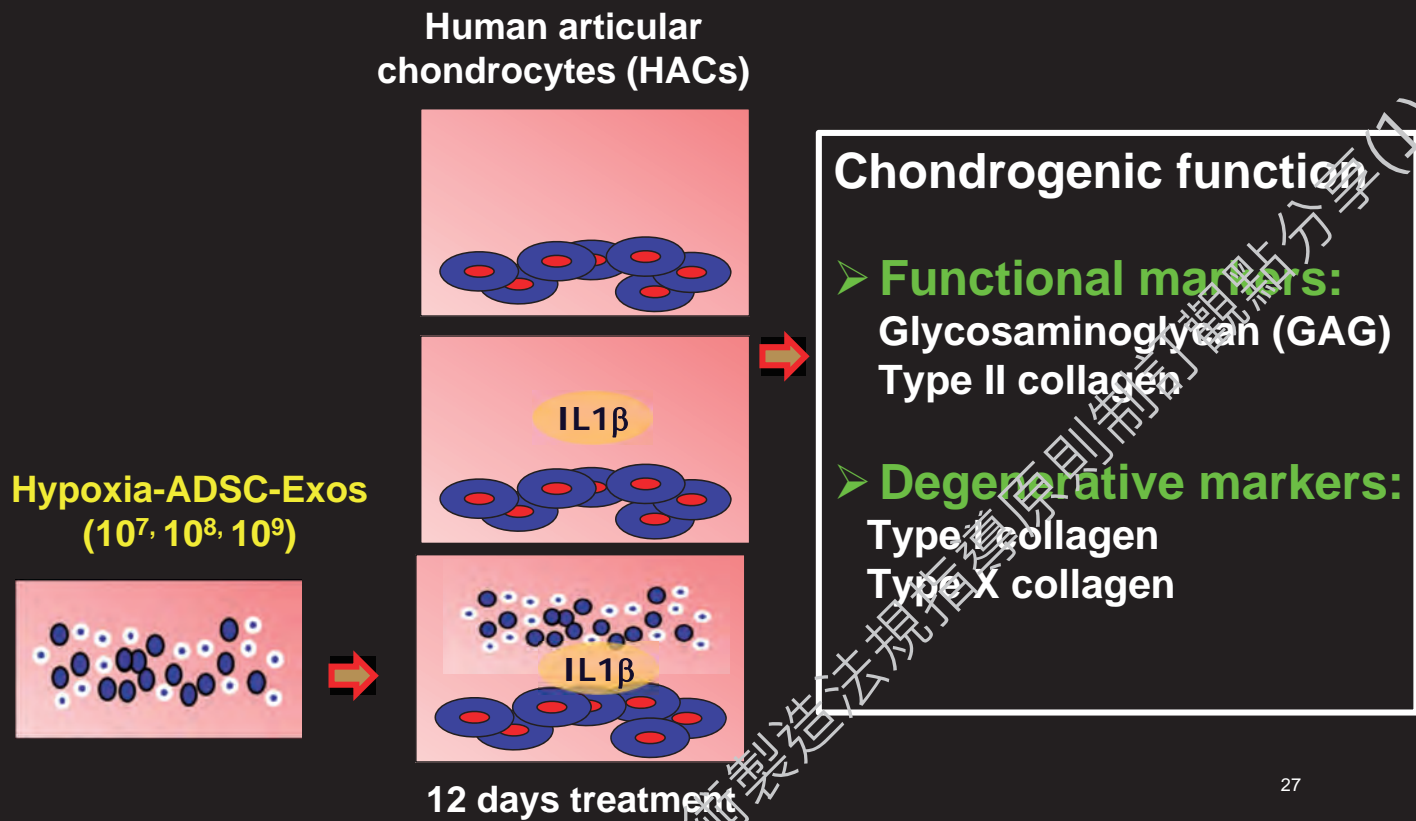


Study- II

Whether ADSC-Exos have beneficial effect on **inflammaging** articular chondrocytes?

Test **Hypoxia-ADSC-Exos** function on **IL-1 beta** induced **inflammaging** human articular chondrocytes (HACs) / **OA-like HACs**

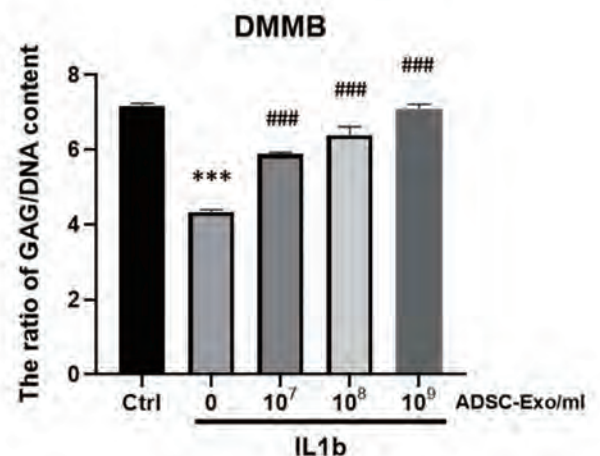
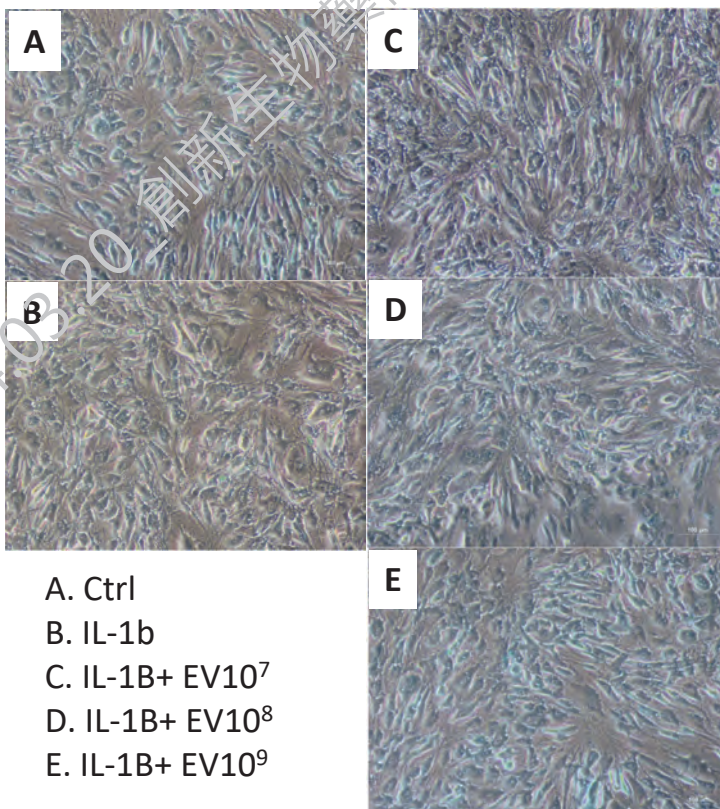
Dose dependent test of Hypoxia-ADSC-Exos on IL-1 beta induced human articular chondrocytes



Dose selection for Hypoxia-ADSC-Exos effect on GAG Formation in OA-like HACs

Alcian blue stain

12 Days



*** $p < 0.01$, compared to ctrl,
$p < 0.01$, compared to IL1-b

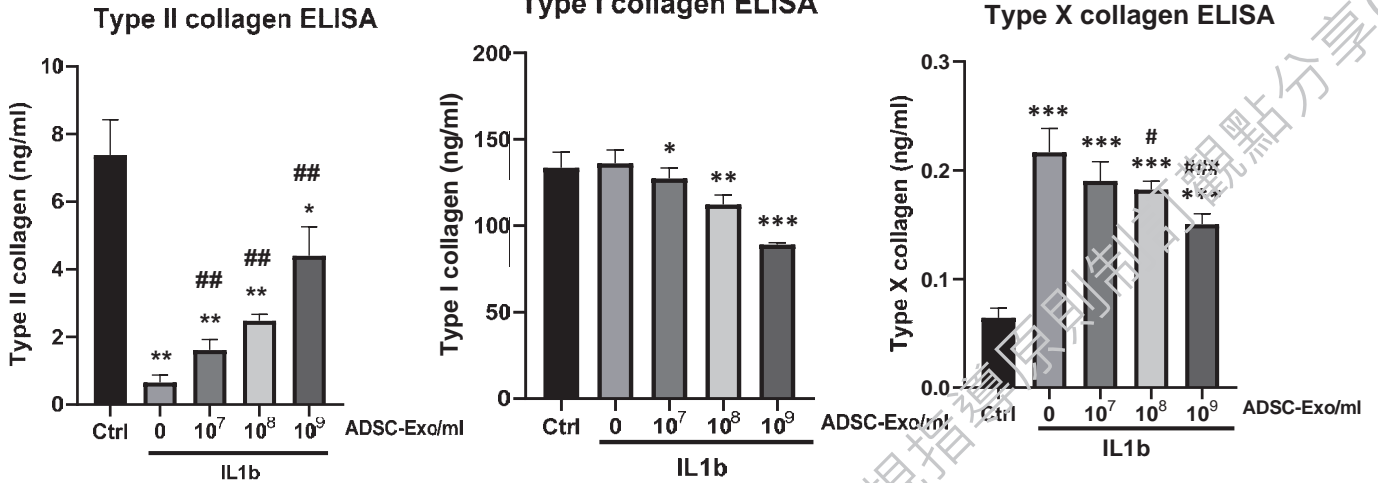
Dose selection for Hypoxia-ADSC-Exos on Functional (Collagen type II) and Degenerative markers (Collagen type I & X) in OA-like HACs

12 Days

Protein levels

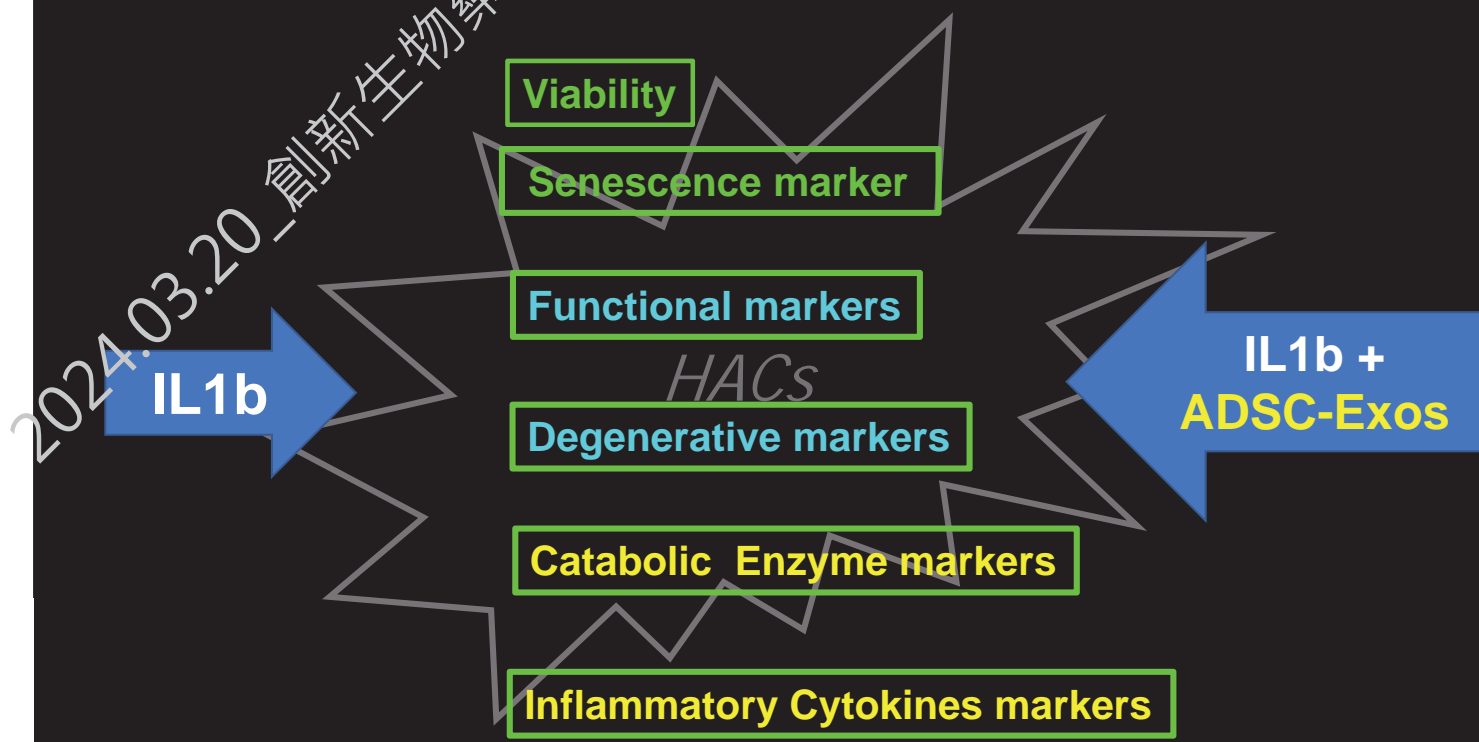
Functional marker ↑

Degenerative markers ↓

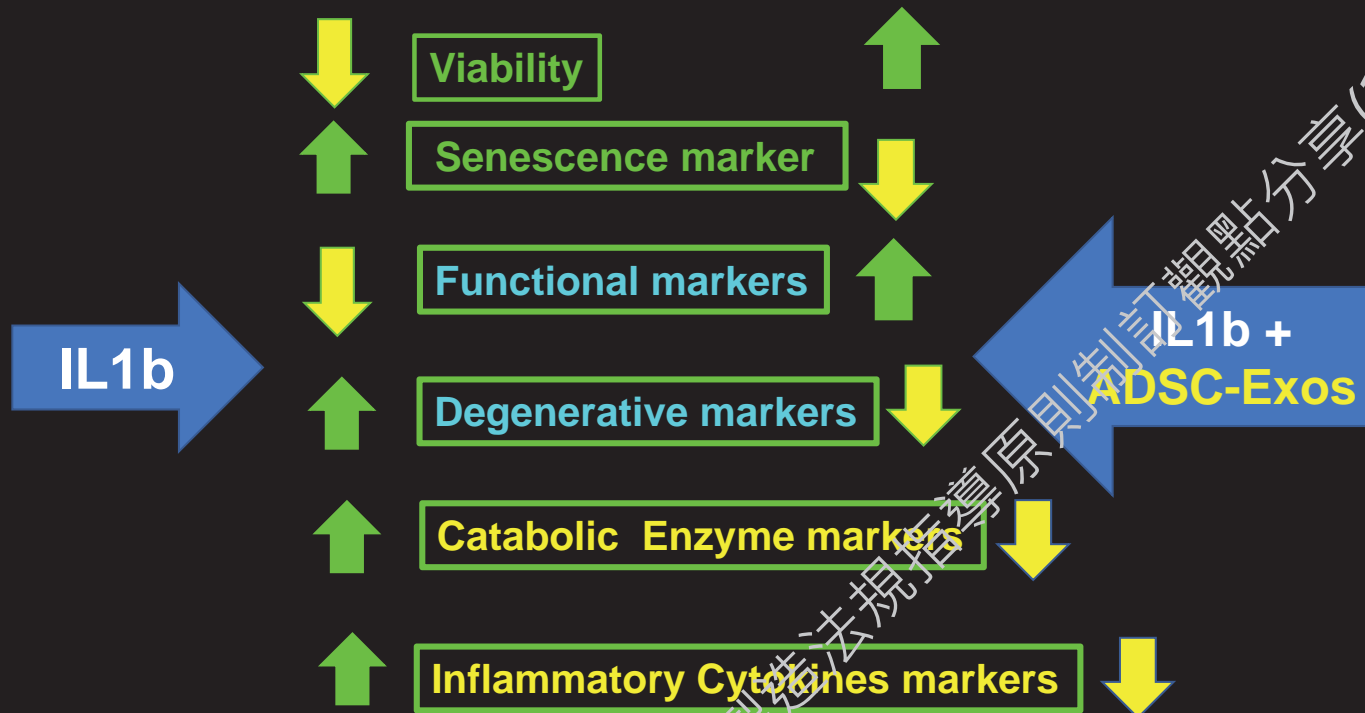


*p<0.05, compared to Ctrl, #p<0.05, compared to IL1b

Effects of Hypoxia-ADSC-Exo (1x10⁹)/ml on IL1b-HACs (OA-like HACs)



Test Effects of Hypoxia-ADSC-Exo on IL1b-HACs



31

Summary-in vitro study

- The culture condition of **1% O₂ plus 10%FBS** induces the **optimal effective ADSC-EVs** on increasing normal and decreasing degenerative matrix formation in HACs.
- **The hypoxia-ADSC-EVs**
 - **Reduce senescent markers, catabolic enzymes, and inflammatory cytokines** in IL-1b induced OA-like HACs
 - **Promote chondrogenic and Decrease degenerative marker genes** in OA-like HACs

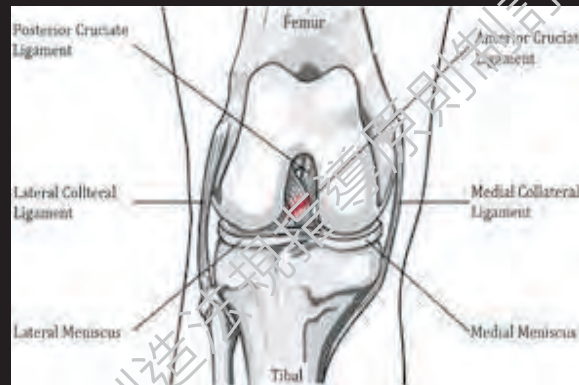
32

Study- III

Whether ADSC-Exos can alleviate OA progression?

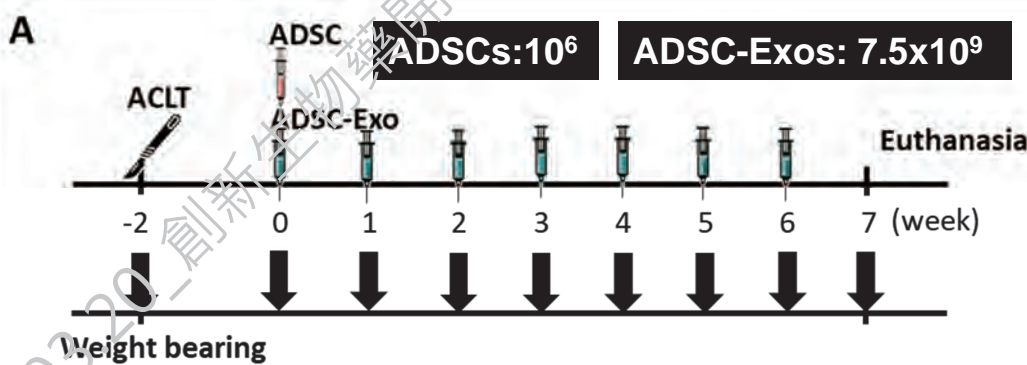
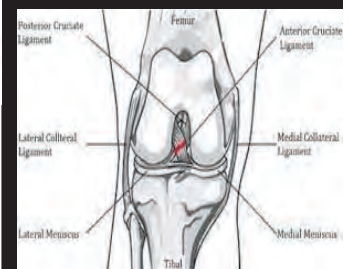
➤ Test efficacy of ADSC-EVs on OA in an ACLT-OA rat model

Anterior Cruciate Ligament Transection
a PT-OA model

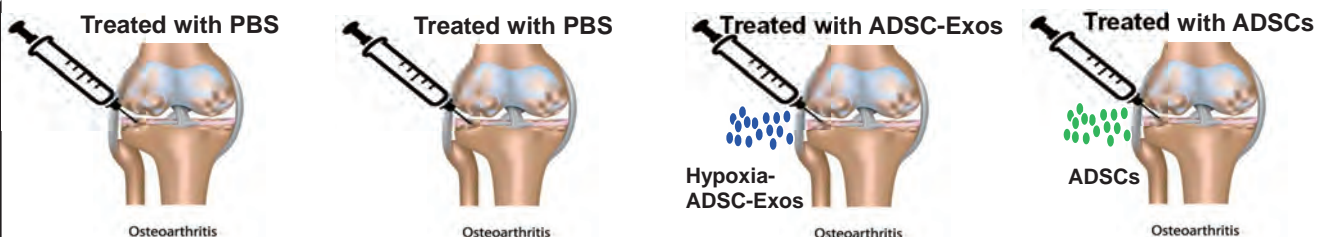


Test the efficacy of Hypoxia-ADSCs-Exos in ACLT-OA SD rats

ACLT model



Study groups



Sham Ctrl group

n=7-8

OA group

OA+Exo group

Weekly inj.

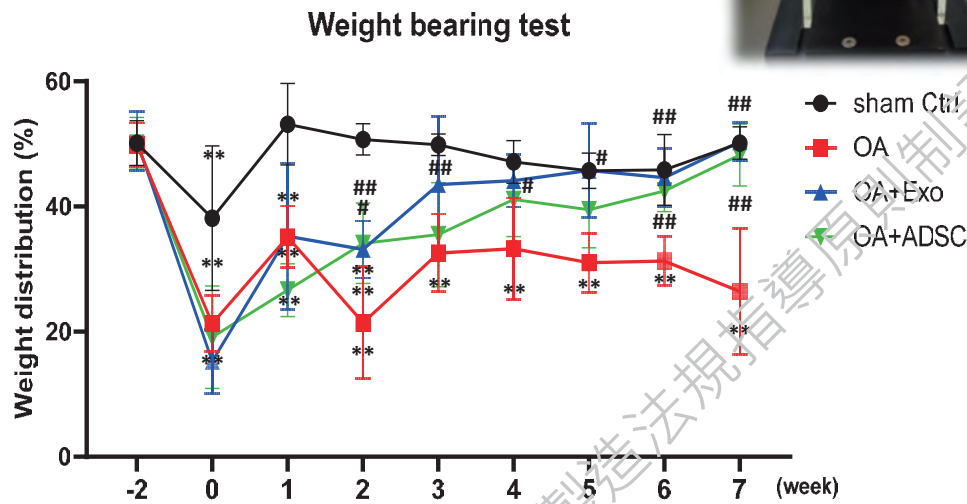
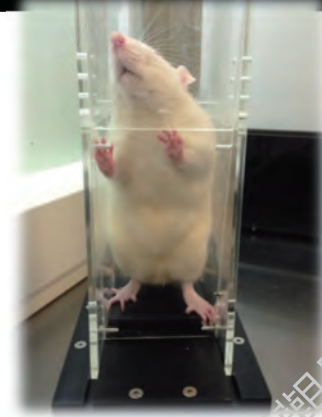
OA+ADSC group

One inj.

Hypoxia-ADSC-Exo and ADSCs improved weight-bearing function of knees in ACT-OA rats

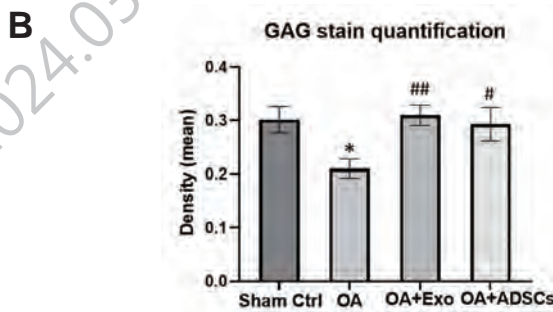
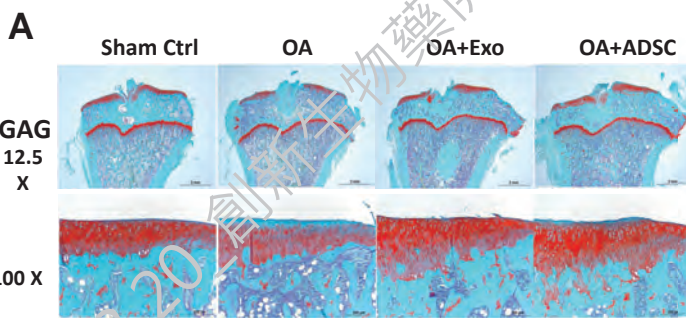
Functional Test:
Weight-bearing test

% R/R+L

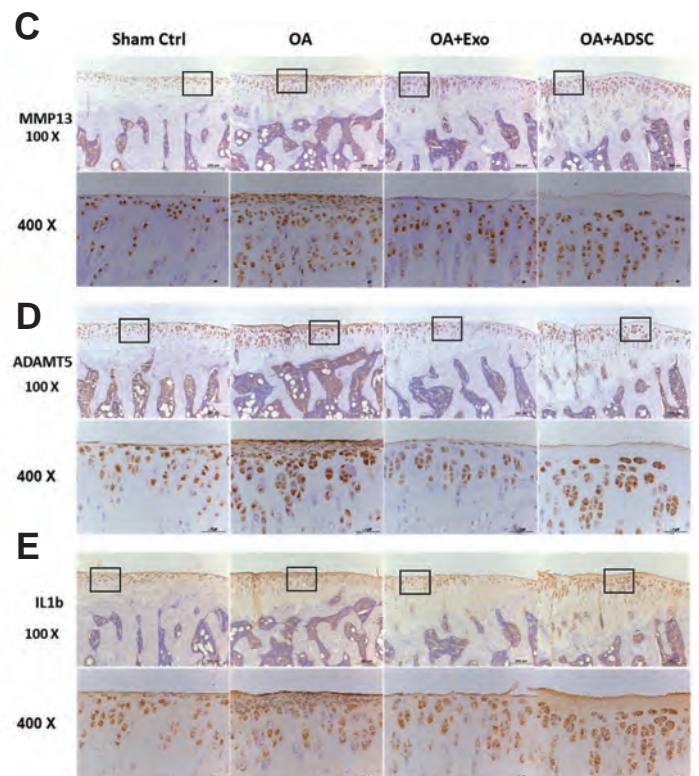


*p<0.05, **p<0.01, compared to control, #p<0.05, ##p<0.01 IL1-b compared to IL1-b+ADSC-Exos

Hypoxia-ADSC-Exo alleviates OA progression



*p<0.05, **p<0.01, compared to control, #p<0.05, ##p<0.01 IL1-b compared to IL1-b+ADSC-Exos



Summary-in vivo study

- The intra-articular treatment of hypoxia-ADSC-Exos alleviates OA progression in ACLT-OA rats with similar effect as ADSC therapy
 - Improve knee weight-bearing function
 - Maintain articular cartilage integrity & normal matrix (collagen type II and GAG)
 - Decrease matrix degradative enzymes (MMP13 and ADAMP5)
 - Decrease inflammatory cytokine IL-1 β

37

Conclusion

Hypoxia-ADSC-Exos not only improve the normal HACs function, but also alleviates HACs inflammaging and OA progress.

38



Article

Exosomes Derived from Hypoxia-Cultured Human Adipose Stem Cells Alleviate Articular Chondrocyte Inflammaging and Post-Traumatic Osteoarthritis Progression

Ling-Hua Chang ^{1,2}, Shun-Cheng Wu ^{1,2,3}, Chung-Hwan Chen ^{1,2,4,5}, Jhen-Wei Chen ^{1,2}, Wan-Chun Huang ^{1,2},
Che-Wei Wu ^{1,2}, Yi-Shan Lin ^{1,2}, Yu-Ju Chen ^{1,2}, Je-Ken Chang ^{1,2,4,5} and Mei-Ling Ho ^{1,2,5,7,8,9,10,*}

IF: 5.6

Ranking: 23% Biochemistry & Molecular Biology

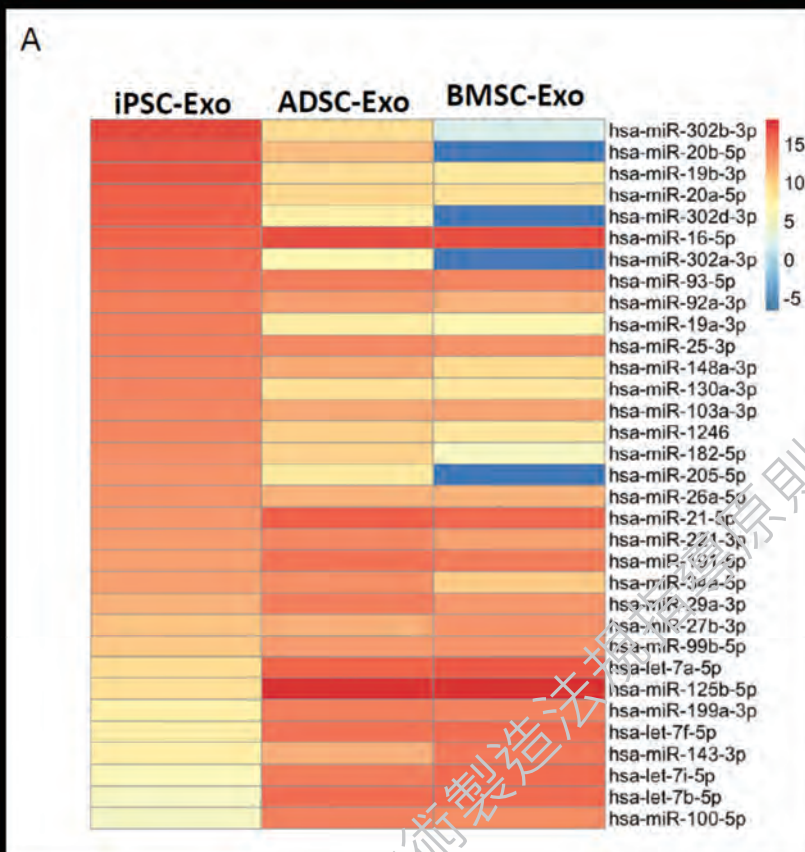
39

Which kind of MSCs or stem cells is better ?

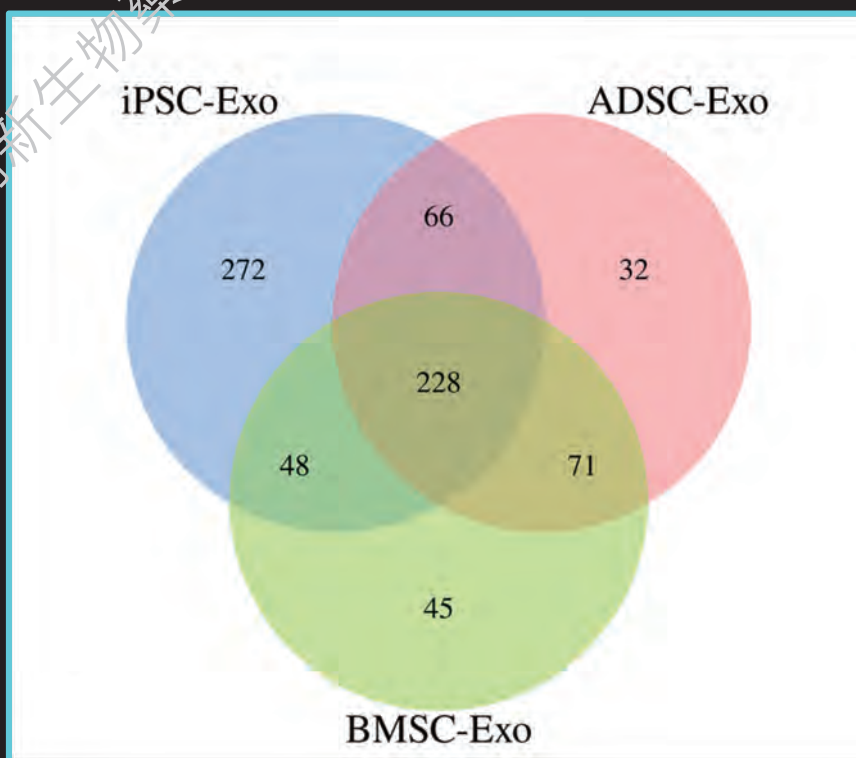
40

ADSC-Exo vs. BMSC-Exo vs. iPSC-Exo

Heatmap of miRNA expression profile



Comparisons of miRNA among ADSC-Exo, BMSC-Exo and iPSC-Exo



2024.03.20 會新生物藥研發先進技術製造法

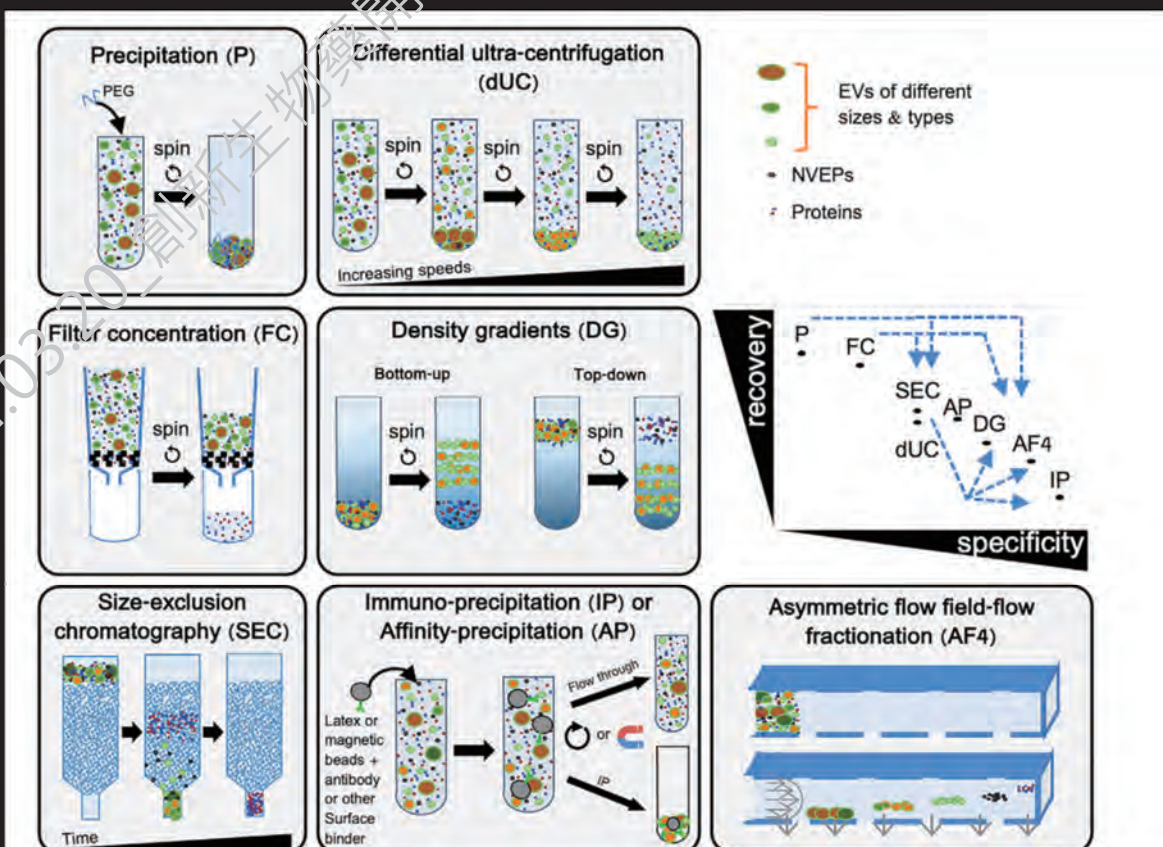
Difficulties for be a product: TFDA Regulation

製劑

- **Manufacture:** yield vs. specificity, stable quality, storage..
- **CMC:** appropriate QC markers, batch bridging...
- **Pharmacology:** efficacy standard, dose-effective control...

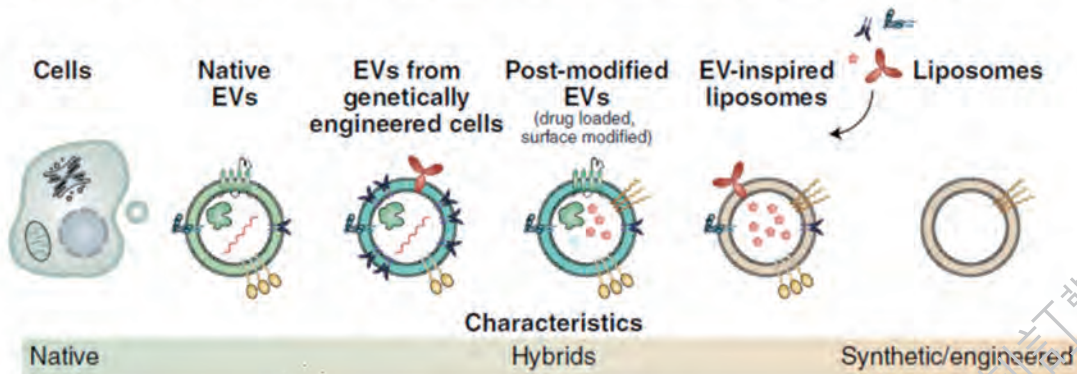
EV Separation and Concentration Methods

Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023):
From basic to advanced approaches, ISEV2023



未來挑戰

- 了解外泌體或細胞外囊泡研究及治療產品開發趨勢及優勢



- 建立外泌體或細胞外囊泡製劑之審查考量

- 國際間尚無明確定義及管理規範
- 分離、純化、鑑別方法持續發展中，尚無標準化或公認的方法
- International Society of Extracellular Vesicles (ISEV)
 - "Minimal information for the studies of EV (MISEV)"

法規管理面的作為

- 明確定義管理範圍

- International Society for Extracellular Vesicles (ISEV)建議，若無法清楚鑑別次群體，則統稱為extracellular vesicle。
- EV、exosome、secretome的名詞定義

- 明確區分產品屬性及制定適用之管理規範

例如，依活性成分認定：

- Native EVs (例如MSC-derived EV, engineered-cell-derived EV)，以EV本身為活性成分
 - 如經加工製造，屬於再生醫療製劑 非細胞治療或基因治療，屬取自胞器之再生醫療製劑)
- EVs as drug vehicle，以所裝載治療藥物為活性成分
 - 攜帶siRNA、mRNA、小分子藥物，屬於生物製劑 (考量上游製程)
 - 攜帶重組基因，以進行修復、置換、取代目標基因缺損，屬於基因治療製劑

Secretome可否比照Native EV的考量? 純度及效價規格如何制定?

Acknowledgements

Grants: NSC, KMU

Members: ORC, RCC

Information: TFDA

Thank You for Your Attention



2024.03.20_創新生物藥開發與先進技術製造法規研習會(上)

外泌體於再生醫療與精準治療 之發展趨勢經驗分享

訊聯生物科技股份有限公司
蔡政憲董事長

蔡政憲 董事長

現職：

訊聯生物科技股份有限公司 董事長
訊聯基因數位股份有限公司 執行長
訊聯細胞智藥股份有限公司 董事長
麗嬰房股份有限公司 獨立董事
凱美電機股份有限公司 獨立董事
三和合成股份有限公司 董事

學歷：

美國明尼蘇達大學 化工與材料學 博士
國立臺灣大學 化工系 學士



主要專業、協會經歷：

- 2003~2005 亞洲臍血銀行聯盟 主席
(Asia Pacific Cord Blood Bank Consortium, APCBBC)
- 2012~2013 Regional Vice President of International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT)
- 2013~2015 ISCT advisory board
- 2014 年起~迄今 台灣生物產業發展協會 理事
- 2023 年起~迄今 台灣外泌體產學聯盟(TAEV) Steering committee
- 2023 年起~迄今 台灣精準醫療產業發展協會(PMIA) 理事長

主要獎項：

- 2008 Ernst & Young Entrepreneur of The Year, Country Winner
- 中華民國第廿八屆創業楷模
- 第四屆台灣企業獎傑出青年企業家獎

外泌體於再生醫療與精準治療之 發展趨勢經驗分享

訊聯生技 蔡政憲 博士

BiONET 訊聯生技

BiONET THERAPEUTICS
訊聯細胞智藥

訊聯基因數位

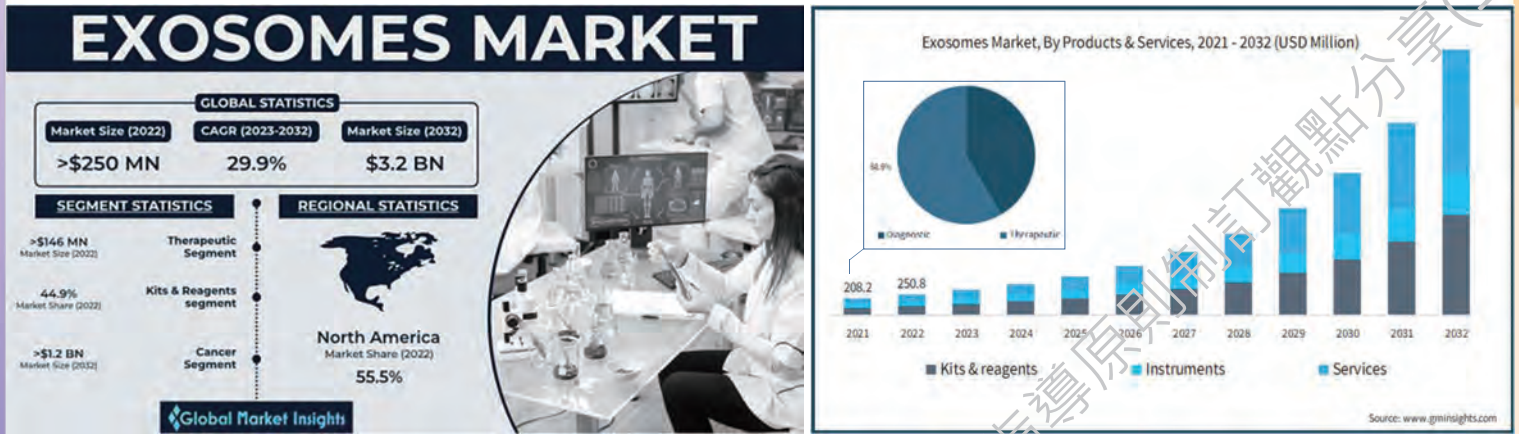
分子數位中心
Molecular Sciences & Digital Innovation

Begin With the End in Mind

外泌體市場規模

■ 外泌體市場在未來十年的長期年複合成長率(CAGR)近30%

全球外泌體市場在 2022 約為2.508億美元，預估將以年複合成長率(CAGR)近30%的速度，在2032年達到32億美元



訊聯外泌體 Meta Exosome

3 <https://www.gminsights.com/industry-analysis/exosomes-market>

外泌體臨床試驗

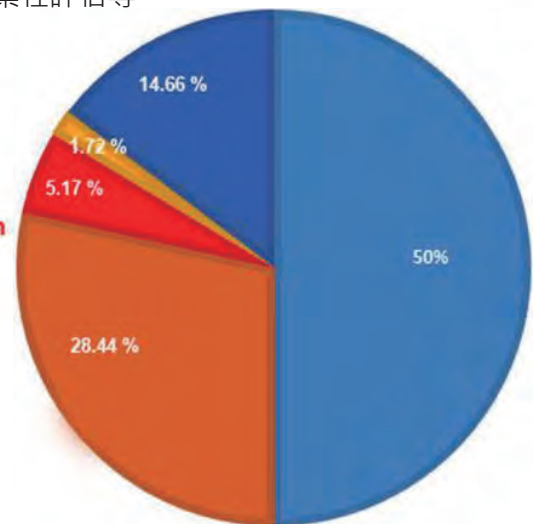
■ 外泌體的主要應用總共記錄了116項試驗：

- 58項 (50%) 屬於生物標記：用於診斷、預後、疾病進展和化療後抗藥性評估等
- 33項 (28.44%) 治療
- 17項 (14.66%) 基礎分析
- 6項 (5.17%) 藥物遞送系統
- 2項 (1.72%) 疫苗研究



市場相對應需要：

1. 儀器試劑耗材需求上升
2. 純化分離技術需求上升



1. Cell Commun Signal.2022 Sep 19;20(1):145

A review on exosomes application in clinical trials: perspective, questions, and challenges

訊聯外泌體 Meta Exosome

4

Advanced technologies for molecular diagnosis of cancer: State of pre-clinical tumor-derived exosome liquid biopsies

- 作為醫師開立的實驗室自主開發測試(LDTs)+實驗室CLIA (規範準確性、精確性、分析敏感性、分析特異性、可報告範圍和參考區間)^{ab}

Biological Dynamics的ExoVita™ 完成LDT，在CAP/CLIA實驗室執行，走RUO。因有自己的分離設備，有機會也可以申請變成IVD

- LDT開發，被FDA approved並被列管就變成IVD試劑，作為診斷或伴隨式診斷或預防等等用途
=>其安全性和臨床有效性受FDA監管^{ab} => 檢測具有臨床意義就很重要

Bio-TECHEN的ExoDx走CE-IVD並跟FDA做Premarket Approval (PMA)

a. Laboratory Developed Tests
b. Mater Today Bio. 2022 Dec 29:18:100538.
c. Medical Devices; Laboratory Developed Tests
d. Proposed Rule: Medical Devices; Laboratory Tests

訊聯外泌體 Meta Exosome

5

外泌體檢測技術於癌症診斷之法規管理現況^a

■ 美國與歐盟：

實驗室取得臨床實驗室改進修正案(Clinical Laboratory Improvement Amendments, CLIA)認證，以實驗室自行研發檢驗技術(laboratory developed tests, LDTs)形式提供臨床服務。

舉例：

Exosome Diagnostics Inc. [美國]

- ExoDx Prostate Test (EPI)服務在有CLIA之實驗室執行。

- 2019年被FDA賦予突破性醫療器材資格(Breakthrough Device Designation)，成為第一個取得突破性醫療器材資格之外泌體液態切片檢測(liquid biopsy)，若在美國提交體外診斷醫療器材(In vitro diagnostic, IVD)之上市申請，應可加速其上市前核可(Premarket Approval, PMA)之審查程序。

■ 台灣：

實驗室依據特管辦法第37條第一項要求，取得中央主管機關認證，以實驗室自行研發檢驗技術(LDTs)形式提供臨床基因檢測服務。

說明：

若外泌體檢測、分析技術是由醫療機構或特定實驗室自行建立與使用，且檢測內容符合「特定醫療技術檢查檢驗醫療儀器施行或使用管理辦法(以下簡稱特管辦法)」，附表四所載項目(項二：癌症篩檢、診斷、治療及預後之基因檢測)，則符合LDTs定義，自111年7月1日起，執行LDTs之醫療機構或特定實驗室，須依據特管辦法第37條第一項要求，取得中央主管機關認證。

a. CDE 2024年03月 161月刊-外泌體檢測技術在癌症診斷之應用與法規考量

Liquid biopsy

	外泌體 ^a	CTC ^a	ctDNA ^b
癌症患者體內含量	~10 ⁴ tEVs/ ml in blood ^e 健康人： ~ 10 ⁹ particles/mL in blood ~10 ⁸ -10 ¹⁰ particles/mL in urea	<10 cells/ mL in blood samples	0~5 or 0~1000 ng/mL(腫瘤類別與含量有關) 健康人：0~100 ng/mL
來源	活細胞分泌	轉移細胞	凋亡或死亡腫瘤細胞
穩定性	脂雙層穩定性高，檢體可保存	分離細胞有機會培養	ctDNA片段的半衰期很短，不到2小時
檢體來源	血液、尿液、各種體液	血液	血液
挑戰	1. 分離方式(來自腫瘤的含量少) 2. 高靈敏度和特異性檢測技術需求	1. 準確抓出細胞(EpCAM會隨轉移時間下降)	1. ctDNA濃度是不可控 ^b 2. 高靈敏度和特異性檢測技術需求 3. 一致性低(以NGS評估約為25%) ^b

訊聯外泌體 Meta Exosome

- a. Mol Cancer. 2022 Feb 18;21(1):56
b. Crit Rev Oncol Hematol. 2020 Nov;155:103109
c. Talanta. 2022 Mar 1:239:123089.
d. 2020 Dec;4(12):e1900305.
e. Front Oncol. 2020 Jun 4:10:608.

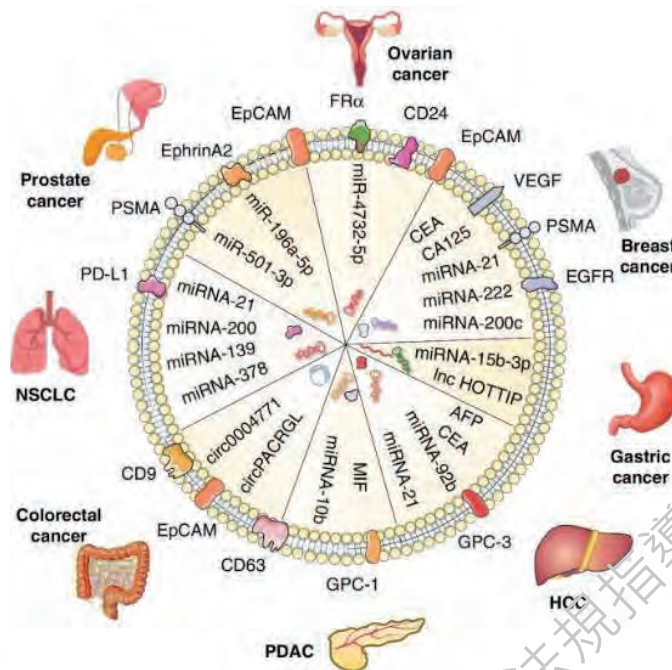
7

Exosome-based 檢測廠商

- 以癌症早篩為主，大多還處於臨床試驗階段來確認檢測的臨床意義
- 檢測幾乎都是美國廠商，在有認證的實驗室下執行檢測
- 要有分離目標exosome的平台，分離平台多都為自己開發，Capture方式可能是knowhow

定位	癌症早期篩檢(“當前”風險和“未來”風險)	癌症早期篩檢	癌症早期篩檢	癌症早期篩檢	癌症早期篩檢	癌症早期篩檢	神經退化性疾病
國家	日本	美國	美國	美國(在以色列、加拿大和波多黎各設有子公司)	美國	韓國	美國
公司	CRAIF	BIO-TECHNE (2018年收購ExosomeDx)	Biological Dynamics	miR Scientific	Mercy BioAnalytic	Exosomeplus	Neurodex Inc.
成立時間	2018	Bio-technique 1976年	2010	2013	2018	2018	2019
檢測名稱	miSignal	CytoDx™ Prostate Test CytoDx 前列腺測試 + mpMRI (新的合併應用)	ExoVita®	miR Sentinel™	Mercy Halo™	-	-
情況	上市檢測	上市檢測	臨床研究案，可由醫師送件	臨床研究案，可由醫師送件	還在臨床開發階段	我們將成為一家提供利用體液中的外泌體診斷 11 種主要癌症的平台的公司(未有詳細資料)	-
檢測項目	7種癌症(大腸癌、肺癌、胃癌、乳癌、胰癌、肝癌、卵巢癌)	前列腺癌	-	-	-	-	-
開發中	尿路上皮癌、鼻咽癌、腎癌、前列腺癌	-	胰腺癌(臨床試驗) 卵巢癌和肺癌(還再做最後validation) 其他發展中(神經退化、敗血症、心血管)	前列腺癌	卵巢/肺	-	路易體癱瘓、阿茲海默症、帕金森氏症、ALS 和其他神經退化性疾病
檢體類型	尿液	尿液	血液	尿液	血液	-	血液
檢測標的	exosome內的miRNA	exosome內的RNA (PCA3, SPDEF, ERG)	protein (標靶: 7個marker 肺癌: 13個marker)	exosome內的snRNA	exosome表面marker抓取，再做qPCR	-	-
平台	NGS	qPCR	digital fluorescence microscopy	OpenArray™ 系統	immuno digital droplet polymerase chain reaction (dddPCR)	-	-
Exosome分離平台	專利，自己的平台(微流體處理)	-	ExoVita™ Pro - 自己的分離平台(AC Electrokinetics (ACE) technology)	-	antibody-functionalized magnetic beads	-	ExoSORT (combination of deterministic lateral displacement (DLD) and dielectrophoretic forces (DEF))
實驗室認證	衛生檢查中心的正式註冊	CLIA 和 CAP	CAP/CLIA 認證臨床實驗室 (ExoVita™ 完成美國LDT的分析和臨床試驗)	-	-	-	-
檢測	-	EE-IVD	-	-	-	-	-
臨床試驗	和各醫院進行IRB中	兩項臨床試驗，涉及 1,022 名患者。自首次推出以來已用於 30,000 多名患者。	NCT05625529 (1000人，預計到2027年)	進行中； 美國：NCT04100811 波多黎各：NCT04661176	-	-	-
Approve	-	2019/05 - ExoDx 前列腺檢測已獲納入 NCCN 指南	-	-	-	-	8

外泌體在各種癌症Liquid biopsy於研究中的應用



<https://link.springer.com/article/10.1186/s12943-022-01509-9>

9

Protein markers in exosome-based tumor diagnosis

Tumor category	Protein markers in exosome	Change in tumorigenesis
colorectal cancer	Copine III [11]	up-regulation
	CD147 [12]	up-regulation
pancreatic ductal adenocarcinoma	GPC-1 [13, 14]	up-regulation
Gastric cancer	HER-2/neu, EMMPRIN, MAGE-1, C-MET [15]	up-regulation
	TRIM3 [16]	down-regulation
Prostate cancer	PSA [17]	up-regulation
	ephrinA2 [18]	up-regulation
	survivin [19]	up-regulation
melanoma	(phospho)Met [20]	up-regulation
	caveolin-1 [21]	up-regulation
Renal cell carcinoma (RCC)	MMP-9, DKP4, EMMPRIN, PODXL [22]	Expression alone in the tumor derived exosomes
non-small-cell lung carcinoma	EGFR, KRAS, claudins and RAB-family proteins [23]	up-regulation
	CD151, CD171 and tetraspanin 8 [24]	up-regulation

Nucleic acid biomarkers in exosome for tumor diagnosis

Tumor category	Nucleic acid markers in exosome	Change in tumorigenesis
Pheochromocytoma and paraganglioma.	dsDNA with RET, VHL, HIF2A, and SDHB mutations [42]	mutation
Pancreatic cancer	miR-1246, miR-4644, miR-3976 and miR-4306 [43]	up-regulation
	miR-17-5p and miR-21 [44]	up-regulation
	circ-IARS (RNA) [45]	up-regulation
Lung cancer	miR-378a, miR-379, miR-139-5p, and miR-200b-5p [46]	up-regulation
	let-7 g-5p, mir-24-3p, mir-223-3p [47]	up-regulation
	mir-7-5p, mir-424-5p [47]	up-regulation (exosome in bronchoalveolar lavage)
Primary central nervous system lymphoma	miR-21 [48]	up-regulation
Glioblastoma multiforme	RNU6-1 (noncoding RNA), miR-320, miR-574-3p [49]	up-regulation
Endometrial cancer (EC)	hsa-miR-200c-3p [50]	up-regulation (exosome in urine)
Cervical squamous cell carcinoma	miR-221-3p [51]	up-regulation
Bladder cancer	lncRNA (MALAT1, PCAT-1 and SPRY4-IT1) [52]	up-regulation (exosome in urine)
	lncRNA PTENP1 [53]	down-regulation
Urothelial carcinoma of the bladder	Circ RNA circPRMT5 [54]	up-regulation
Gastric cancer	circ-KIAA1244 [55]	down-regulation
	LncRNA HOTTIP [56]	up-regulation
Colorectal carcinoma	LncRNA UCA1 [57]	down-regulation
	miR-6803-5p [58]	up-regulation
Pheochromocytomas (PCCs) and paragangliomas (PGLs)	RET, VHL, HIF2A, and SDHB [42]	mutations
Hepatocellular Carcinoma	mir-21 and mir-144 [59]	up-regulation
	LINC00161 [60]	up-regulation
	mRNA hnRNPH1 [61]	up-regulation
(HCV-related)	lncRNA-HEIH [62]	up-regulation
Female patients	lncRNA Jpx [63]	up-regulation
Liver cancer	tRNA-ValTAC-3, tRNA-GlyTCC-5, tRNA-ValAAC-5 and tRNA-GluCTC-5 [41]	up-regulation

11

外泌體
研發、產品化
到製藥




消費者市場·CRDMO




診斷開發·醫療使用



新藥開發·醫療使用



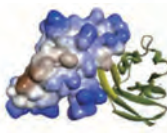


選 INCI Name
評級絕外海越標化科活藥科

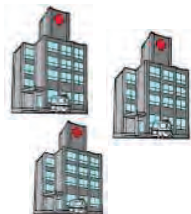
原料、半成品、成品
海內、外市場

化妝品·GMP級

SkinCare/HairControl



LDTs / IVD



BU-01
ExoTear

臨床·醫藥級·
PIC/S GMP級

12

Begin With the End in Mind

外泌體成為台灣繼晶圓代工之後，
另一個具強勢國際競爭力的CRDMO領域

製程技術、規模化、持續創新的差異化技術、國際佈局、
國際認證、品質、醫學實證、智慧研發
與細胞治療產生綜效的策略...

訊聯外泌體 Meta Exosome

13

Extracellular Vesicle法規

Ref.1



- 細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略
指導原則第二版草案

Ref.4

EVOLVE France

- Extracellular vesicle translation to
clinical perspectives

Ref.2



- MISEV2018 guidelines
- MISEV2022 draft guidelines
- Report on the "massivEVs" ISEV
workshop 2022
- MISEV2023 guidelines

Ref.5



- White Papers in Bioanalysis from 14th WRIB

Ref.6



International Association of
Neurorestoratology

- Preparation and quality control standard of
clinical-grade neural progenitor/precursor cells-
derived exosomes (2022 China version)

Ref.3



- Towards defining reference materials for
measuring extracellular vesicle refractive
index, epitope abundance, size and
concentration

Ref.7



- エクソソームを含む細胞外小胞 (EV*)
を利用した治療用製剤に関する報告書

訊聯外泌體 Meta Exosome

14

MISEV2022

1 What MISEV IS and IS NOT

Since MISEV2018 appeared, there has been much discussion of what the Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles (MISEV) guidelines mean to the extracellular vesicle (EV) field and where they should or should not be applied. Informed by that discussion, here is a summary of what MISEV IS and IS NOT.

MISEV IS:

1. a set of recommendations to increase rigor and reproducibility during study design and reporting
2. a tool for reviewers and editors to assess the strengths and weaknesses of proposals, funding applications, conference presentations, and manuscripts
3. a source of strength and validation when thoughtfully applied to an individual project
4. a wealth of examples of various techniques and measurements that are listed and briefly reviewed
5. a support for innovative research to cross new boundaries and enable the field to move forward
6. a document applicable to all sorts of EV research, not just academic "basic science" or studies of mammals
7. an indication of current, broad consensus in the EV field, as well as areas of uncertainty and growth

MISEV2023

1.2 | What MISEV IS and IS NOT

Since MISEV2018 appeared, there has been much discussion of what the guidelines mean and how they should or should not be applied. Informed by that discussion, what MISEV IS, and IS NOT, is summarised below.

MISEV IS:

1. An introduction to EV research.
2. A set of recommendations that are meant to increase rigor, reproducibility, and transparency during EV study design, execution and reporting.
3. A tool to assist reviewers and editors, using their own expert knowledge, in assessing the strengths and weaknesses of EV-related proposals, funding applications, abstracts and manuscripts.
4. A non-exhaustive set of examples of various useful EV techniques and platforms.
5. A rigor and standardisation framework that supports innovative EV research and applications and parties ranging from product developers to regulators.
6. An indication of current, broad consensus in the EV field as well as some areas of uncertainty and growth.
7. Relevant to translational and clinical research and applications, including production and initial evaluation of therapeutic EVs.
8. Applicable to all sorts of EV research and applications, not just those involving mammalian EVs. Although examples provided in MISEV may be specific to mammalian EVs, the basic principles are most likely applicable to all EV sources. These include informative nomenclature, definition of sources, description of separation/concentration techniques, and characterisation of EVs, properly controlled functional studies, and comprehensive reporting.

MISEV: Minimal information for studies of extracellular vesicles

What MISEV is NOT

1. A one-size-fits-all blueprint, a comprehensive checklist of 'dos and don'ts', or a substitute for careful expert judgement. There is no technique or platform that is absolutely required or prohibited by MISEV. Similarly, MISEV does not mandate use of any particular marker or markers, enriched or depleted. Chosen techniques and targets should be fit for purpose, appropriate for the experimental system, contributing to overall MISEV compliance, and properly reported. Importantly, no research group has access to all techniques and platforms.
2. A barrier to innovation. When introducing a new technique or new application of EVs, it is possible that some aspects of the approach do not fit perfectly into the existing MISEV framework, or more likely, into a reviewer's interpretation of it. See above on absolute mandates and invoke the exceptions if you must. MISEV should not stifle innovation, but rather inform how innovative or new techniques are presented and validated.
3. A means to prevent publication or funding of a particular project. Just as MISEV should not stifle innovation, it should not be used to prevent research from being shared with the community. For example, an 'exosome' or 'ectosome' study that does not prove biogenesis can be presented instead as about EVs, or an 'EV' report without full characterisation as a broader extracellular particle study. Proper controls might be needed to prove the contribution of EVs to an effect, but if they cannot be done, it might suffice to acknowledge the caveats.
4. A comprehensive collection of citations, each of which entirely embodies the recommendations of MISEV. The MISEV document is not a literature review or compendium. Only a small percentage of the EV literature is cited here, and each citation is made for a specific purpose. Citation in MISEV does not imply endorsement of a report, author team, journal or publisher by ISEV, nor does it suggest primacy or perfection of the cited study. Some cited studies may contain aspects that are inconsistent with MISEV recommendations. Also, many excellent studies are not cited in this document.

In summary, the spirit of MISEV is embodied in just a handful of questions:

1. What terms do you use, and what do they mean?
2. From what/where did you obtain your EVs?
3. How did you separate, concentrate, characterise and store them?
4. How confidently can you attribute a function or biomarker to EVs versus other components?
5. Have you shared data and reported methods in sufficient detail to enable others to replicate or reproduce your results?

國內外法規



細胞外囊泡製劑製造與管制之
研發策略指導原則
第二版
(草案)

中華民國 113 年 02 月 15 日
財團法人醫藥品查驗中心



JOURNAL OF EXTRACELLULAR VESICLES
2018, VOL. 7, 1535750
<https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750>



OPEN ACCESS Check for updates

Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018):
a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and
update of the MISEV2014 guidelines

Title

Minimal information for studies of extracellular vesicles 2022 (MISEV2022): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2018 guidelines.

Authors and affiliations

- MISEV2022是在MISEV2018基礎上，根據細胞外囊泡(EV)研究領域的最新進展和挑戰，提供更多指導和建議，涵蓋從基礎到進階的方法和技術

- MISEV2023新增關於EV釋放(release)和攝取(uptake)部分，以及研究 **EV in vivo方法** 簡要討論
- MISEV2023提供有關從多個來源(包括細胞培養、體液和固體組織)生產、分離、分析和表徵(characterization) EV 的方法的可用方法及其優缺點

J Extracell Vesicles. 2024 Feb;13(2):e12404. doi: 10.1080/jev.2.12404.

Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches

訊聯外泌體 Meta Exosome

MISEV: Minimal information for studies of extracellular vesicles

17

由專利申請動態，觀測趨勢與產業策略;

由外泌體guideline之逐年修正方向，
洞悉該領域之演進

訊聯外泌體 Meta Exosome

18

外泌體生產過程中的 6 個要素



Materials/Equipment Preparation

The usage and preparation process of raw materials and equipment in whole process, including cell banking management.

Upstream Process

The process from a bank source to production stage.

Downstream Process

The process for obtaining Exosome concentrate.

Fill Finish

Process including filling, capping, lyophilizing and storage.

Quality Control

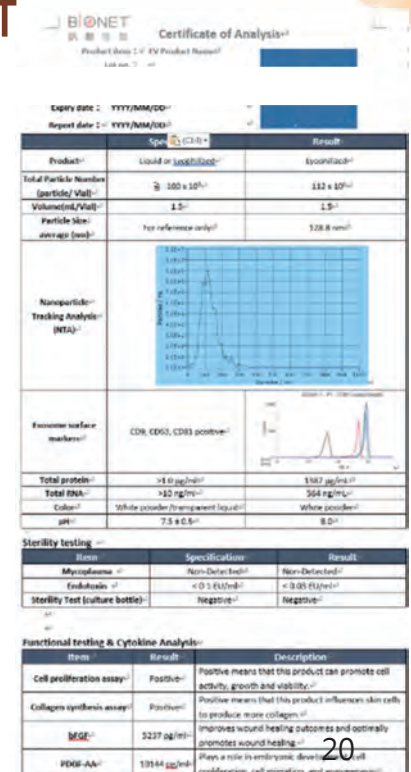
Actions undertaken to inspect, test, and measure products, ensuring they meet predefined standards.

Quality Assurance

Process or set of activities that are designed to ensure that products meet specified quality requirements.

外泌體品質控制與分析

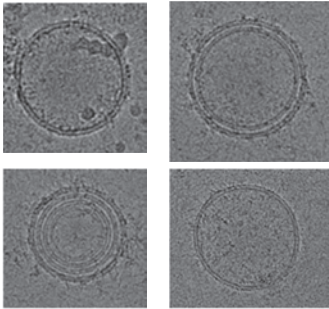
	Testing items	Method
Exosome characterization	Particle number Particle size Particle distribution Purity (50~200nm)	NTA
Total protein	BCA protein assay	Colorimetric
Biomarker analysis surface	CD9, CD63, CD81	Bead based FACS
Protein profile analysis	Cytokine/Growth factor profile; Individual cytokines	Array, ELISA
Total RNA	total RNA level, Quantitative Analysis	Fluorimetric method
Total miRNA	total miRNA level, Quantitative Analysis	Fluorimetric method
Safety	Mycoplasma testing Sterility testing (無菌試驗) Endotoxin testing	PCR BacT Gel clot
Product	pH, colour	
Functional assays	MTS Collagen	Colorimetric ELISA



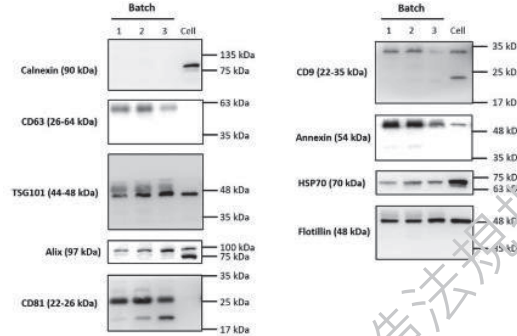
外泌體 QC 驗證

	Testing items	Method
Biomarker analysis	biomarker expression, Qualitative Analysis: Alix, TSG, flot1, HSP70, annexin	Western Blot
Biomarker analysis impurities	Exosome impurity, Qualitative Analysis: Nucleus, Mitochondrial, ER, Golgi markers; Cytoskeleton proteins;	Western Blot
Protein profile analysis	Cytokine/Growth factor profile; Individual cytokines	Array, ELISA
Lipid profile analysis	Lipid ratio	LC-MS/MS
Characterization of EV morphology (lipid-bilayer)	Exosome structure	Cryo Electron Microscopy
Stability	Storage stability	

Cryo EM



Western Blot

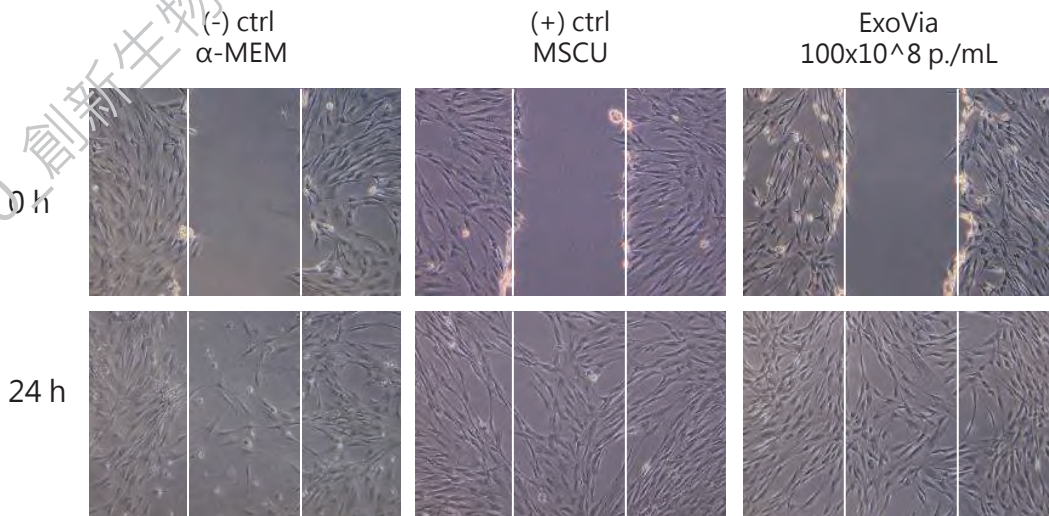


Lipid composition



Functional Studies

功效性試驗 傷口癒合：scratch assay 刮痕分析



海外法規/保養品品質要求

	美國	歐盟 (28 會員國)	日本	東協 (10 國)
管理機關	US FDA	各國衛生主管機關	厚生勞動省 (MHLW)	各國衛生主管機關
主要法規	Modernization of Cosmetics Regulation Act of 2022 (MoCRA)	Regulation(EC) No.1223/2009	日本藥事法	ASEAN Cosmetic Directive
檢驗差異	鉛 < 10 ppm 汞 < 1 ppm 砷 < 3 ppm	鉛 < 2 ppm 砷 < 0.5 ppm 汞 < 0.1 ppm 鎘 < 0.1 ppm 銻 < 0.5 ppm 鎳 < 10 ppm	鉛 < 20 ppm 汞：不得檢出 砷 < 2 ppm	鉛 < 10 ppm 汞 < 1 ppm 砷 < 2 ppm 銻 < 10 ppm
外泌體原料	INCI列冊原料可添加	EC CosIng 資料庫列冊原料；人體來源列於 Annex II/416項，應用規範依各國法規要求	INCI列冊資料，符合添加原料規範	目前尚未規範
出口文件	MSDS、TDS、CoA、COO、BSE、生產工廠ISO 22716、化妝品GMP等文件 (其他按各國法規而不同)			

23

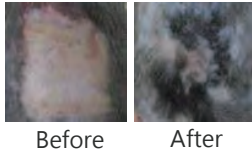
出口要求 (以韓國為例)

文件名稱	文件說明
CoA	同為 INCI申請檢附文件資料
TDS/SPEC	同為 INCI申請檢附文件資料
MFC (manufacturing flow chart)	同為 INCI申請檢附文件資料
MSDS	同為 INCI申請檢附文件資料
Ingredient list	同為 INCI申請檢附文件資料
CFS (certificate of free sale)	1. 產品需先在“非登不可”完成註冊 2. 申請方式有2種，為食藥署臨櫃辦理(需提前預約)，亦或平信郵寄辦理(需21個工作天)
BSE (Bovine spongiform encephalopathy)	1. 產品有出口需求，向農委會委託檢測 2. 廠家自行檢附資料，自主說明產品為BSE free
COO (Country of Origin)	1. 產品必須要有真實出口紀錄 2. 並在出口的時候與海關(台灣進出口商會)申請證書
Exosome 產品申請規格	目前exosome保養品分2種等級登記註冊，上述文件完備可申請一般保養品進口註冊，若是醫美應用或人體來源的規格，需另外檢附9大需求文件(人體組織培養機安全標準)

24

累積25年研發動能奠定技術商品化

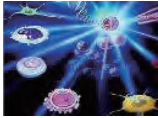
17-yr experience in wound healing research



Before After

25-yr regeneration research experience

- 2002 ~
- Liver repair
 - Neuron diseases
 - Cartilage repair
 - Cornea repair
 - Hematological diseases



2007 ~ 2015

- scrape
- Diabetes wound
- Burns
- Postoperative wound

2015 Develop RE.O product by stem cell technology



2017 Established first RE.O direct branch stores



2018

Launch new products "Stem-Activating Complex/Sensitive Skin 煥顏舒敏精萃" to promote new concepts



獲 INCI Name

幹細胞外泌體國際化妝品原料

訊聯外泌體通行國際

8項國際幹細胞外泌體(截至2023.10.23)

1. Human Adipose Derived Mesenchymal Stem Cell Exosomes
 2. Human Adipose Derived Mesenchymal Stem Cell Exosomes
 3. Human Adipose Stromal Cell Exosomes
 4. Human Amniotic Fluid Mesenchymal Stem Cell/Trophectoderm Cell Exosomes
 5. Human Umbilical Mesenchymal Stem Cell Exosomes
 6. Human Umbilical Mesenchymal Stem Cell Exosomes
 7. Human Umbilical Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cell Exosomes
 8. Pig Umbilical Mesenchymal Stem Cell Exosomes
- Bionet ExoVia
 → Bionet Anikine

INCI 經驗分享

Personal Care Products Council
Committed to Safety, Quality & Innovation

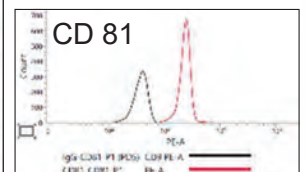
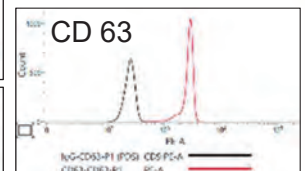
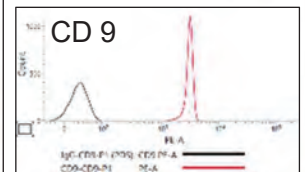
Application Number: 2023-10329
Submitted By: ImDerma Laboratories
Manufactured By: Bionet Corp.
Tradename: EXOVIA

If a tradename is not provided on the application, or the tradename field on the application is marked proprietary, the INCI name is published without a tradename or reference to the manufacturer.

If the assigned INCI name is a mixture, the components are listed in the table below in descending order of predominance.

Assigned INCI Name(s):

Mono ID	INCI Name(s)
35046	Human Umbilical Mesenchymal Stem Cell Exosomes



美國個人護理產品協會核發文件

認證訊聯生產的Anikine

Personal Care Products Council
Committed to Safety, Quality & Innovation

Application Number: 2023-10336

Manufactured By: Bionet Corp.

Tradename: Anikine

If the assigned INCI name is a mixture, the components are listed in the table below in descending order of predominance.

Assigned INCI Name(s):

Mono ID	INCI Name(s)
38293	Pig Umbilical Mesenchymal Stem Cell Exosomes

認證訊聯生產的EXOZIA

Personal Care Products Council
Committed to Safety, Quality & Innovation

Application Number: 2023-10329

Manufactured By: Bionet Corp.

Tradename: EXOZIA

If a tradename is not provided on the application, or the tradename field on the application is marked proprietary, the INCI name is published without a tradename or reference to the manufacturer.

If the assigned INCI name is a mixture, the components are listed in the table below in descending order of predominance.

Assigned INCI Name(s):

Mono ID	INCI Name(s)
35046	Human Umbilical Mesenchymal Stem Cell Exosomes

訊聯外泌體 Meta Exosome

27

安全性檢測報告 無細胞毒性、無眼睛或皮膚刺激性

EXOZIA (Mono ID:35046)

試驗名稱： 樣品對三種主要皮膚細胞(角質形成SC)、成纖維細胞、黑色素細胞之毒性劑量試驗

檢測結果： 訊聯生物科技股份有限公司提供之EXOZIA (FS23011601SS)對三種主要皮膚細胞(人類正常角質形成細胞株 HaCaT、人類纖維母細胞 Hs68 以及小鼠黑色素瘤細胞株 B16F10)在 125%~50% (v/v) 時均無細胞毒性。

試驗名稱： 樣品對人類角膜的刺激性評估；重組人類角膜組織模型體外測試

檢測結果： 依據 OECD TG 492 Eye Irritation Test 指引，進行 EXOZIA (FS23011601SS) 在重組人類角膜組織模型之眼睛刺激性體外測試。

結果：訊聯生物科技股份有限公司所提供之 50% (v/v) EXOZIA (FS23011601SS) 無眼睛刺激性 (NI, Non-Irritant)。

試驗名稱： 樣品對人類皮膚的刺激性評估；重組人類皮膚模型體外測試

檢測結果： 依據 OECD TG 419 Skin Irritation Test 指引，進行 EXOZIA (FS23011601SS) 樣品在重組人類皮膚模型體外測試。

結果：訊聯生物科技股份有限公司所提供之 50% (v/v) EXOZIA (FS23011601SS) 無皮膚刺激性 (NI, Non-Irritant)。

圖 1. 人類正常角質形成細胞株 HaCaT 在不同濃度 EXOZIA 溶液作用 24 小時後之細胞活性影響 (n=3, 平均值±標準差)

圖 2. 人類纖維母細胞株 Hs68 在不同濃度 EXOZIA 溶液作用 24 小時後之細胞活性影響 (n=3, 平均值±標準差)

圖 3. 小鼠黑色素瘤細胞株 B16F10 在不同濃度 EXOZIA 溶液作用 24 小時後之細胞活性影響 (n=3, 平均值±標準差)

圖 1. 50% EXOZIA 進行重組人類眼角膜組織模型眼睛刺激性體外測試之實驗結果 (n=3, 平均值±標準差, *p<0.05)

圖 1. 50% EXOZIA 進行重組人類皮膚模型體外測試之實驗結果 (n=3, 平均值±標準差)

28

功效檢測報告-生長因子含量檢測、修護及舒緩測試

EXOZIA (Mono ID:35046)



檢測項目：樣品中各項生長因子含量檢測 (EGF, TGF-β1, PDGF-BB)

檢測結果：
EGF value: 69.52 ± 2.65 pg/mL
TGF-β1 value: 2839.79 ± 1007.13 pg/mL
PDGF-BB value: 121.81 ± 11.04 pg/mL



試驗名稱：經乙型肝炎病毒表面抗原一型膠體金白蛋白 (Type I Procollagen) 的影響

試驗結果：
以微體生物技術股份有限公司提供之 EXOZIA (FS23011601S8) 進行人類纖維母細胞產生第一型膠體金白蛋白 (Type I Procollagen) 試驗。
結果：以濃度為 50% (w/v) 之 EXOZIA (FS23011601S8) 為測試之系列實驗組，其細胞活性可達 95% 以上，以如的活性與第一型膠體金白蛋白 (Type I Procollagen) 的表現量進行校正 (Normalization)，數據顯示 EXOZIA (FS23011601S8) 經 24 小時後，實驗細胞所產生之 Type I Procollagen 表現量較於未經處理之細胞 (control) 有明顯提升，且為控制組 (NC) 的 2.5 倍。

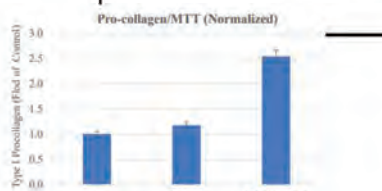


圖 1. Hs68 細胞與 EXOZIA (FS23011601S8) 共同作用 24 小時後，以細胞活性對細胞所產生出 Type-1 Procollagen 表現量校正後所得之統計圖 (n=3)



檢測項目：體外 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 炎症因子含量測定；脂多糖誘導巨噬細胞 Raw264.7 測定

試驗結果：
以微體生物技術股份有限公司提供之 EXOZIA (FS23011601S8) 以 RAW264.7 小鼠巨噬細胞 LPS 誘導的炎症因子進行比較試驗，結果為：5% EXOZIA (FS23011601S8) 可以顯著降低 0.1 μg/mL LPS 誘導的 TNF-α 表現量達 66.9%，降低 IL-6 表現量達 57.0% 以及降低 IL-1β 表現量達 72%。上述數據性與對照組比較，其實驗組均為 1 μM Dexamethasone 作為陽性對照組，實驗結果顯示 5% EXOZIA 表現量，其細胞活性良好且無毒性現象。

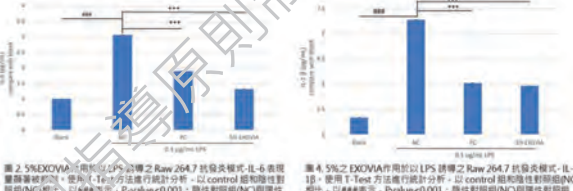


圖 2. EXOZIA (FS23011601S8) 與 LPS 共同作用 24 小時後，以細胞活性對細胞所產生出 TNF-α 表現量校正後所得之統計圖 (n=3)
圖 4. 5% 之 EXOZIA 作用於 LPS 誘導之 Raw 264.7 於發炎因子 IL-1β、IL-6 表現量校正後所得之統計圖 (n=3)

訊聯間質幹細胞外泌體原料獲肯定

1 訊聯間質幹細胞外泌體獲美國 PCPC^{註1} 核發 INCI name^{註2}
【審查通過，核發國際化妝品原料 (INCI name) (Mono ID:38293、35046)】

2 截至 2023/12 全球僅 9 項間質幹細胞分泌之外泌體通過核可。其中 2 項為訊聯研發之外泌體原料



Pig Umbilical Mesenchymal Stem Cell Exosomes



Human Umbilical Mesenchymal Stem Cell Exosomes

獲 INCI Name
幹細胞外泌體國際化妝品原料

訊聯外泌體通行國際

- 賦活修復
- 皮膚保養
- 毛髮養護

全球供應鏈會認知訊聯研發的 Exosome 原料是原廠、取得美國的 INCI

註1. 美國個人護理產品協會 (PCPC)；註2. Pig Umbilical Mesenchymal Stem Cell Exosomes

高安全

- 無細胞毒性
- 無眼睛或皮膚刺激性

三大功效

- 多種生長因子，賦活修復
- 緩解肌膚不適

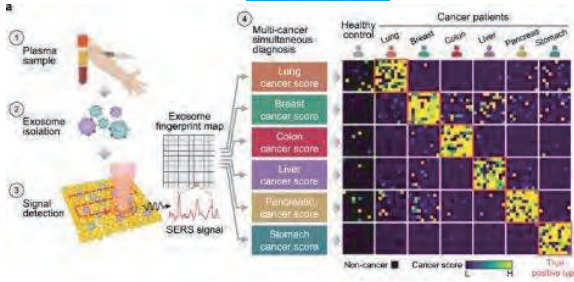
可添加

- 原料已納入衛福部食藥署化妝品產品登錄平台系統資料庫

*僅限 Mono ID: 38293

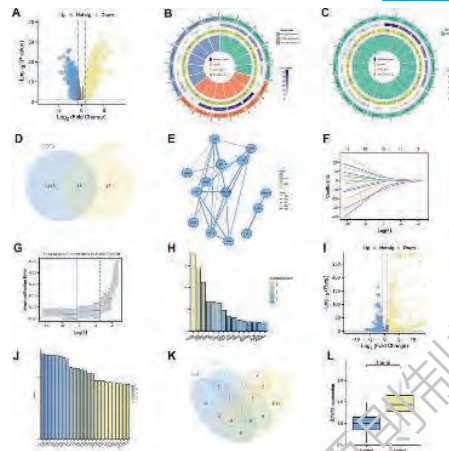
AI模擬運用範例

精準檢測：找出Biomarker



- 如：exosome表面蛋白產生的拉曼訊號進行分類，依照癌症患者類別作區分，幫助發展exosome-based的癌症早篩

功能性評估：找出exosome有效物質



- 如：找出感染性休克患者和對照組表現有差異的基因和骨髓間質幹細胞(BMSCs)外泌體表現高的miRNA，再利用AI模擬預測的miRNA標靶基因之間的交互作用，找出真正有幫助的miRNA

31

結合多體學與模擬技術，應用於抗COVID19中草藥藥效分析



- In Silico Target Analysis of Treatment for COVID-19 Using Huang-Lian-Shang-Qing-Wan, a Traditional Chinese Medicine Formula
- Study of Baicalin towards COVID-19 treatment: In silico target analysis and in vitro inhibitory effects on SARS-CoV-2 proteases

- ✓ 以虛擬藥物模擬工具，大量比對中草藥方科學成份潛在作用標的，再輔以多體學系統生物分析技術，組織出作用標的影響的細胞功能，進而解釋並優化**中草藥方對抗COVID19療效**。研究已於2021年陸續發表於**Natural Product Communications, Biomedicine Hub**等期刊。

訊聯外泌體 Meta Exosome

32

西藥標靶藥物概念應用於中藥科學成份

西藥



標靶藥物:標靶藥物包含所有可鎖定腫瘤細胞的療法，像是：荷爾蒙療法：鎖定驅動癌細胞生殖的荷爾蒙，阻斷其生成機制、受體、或下游訊息傳遞路徑

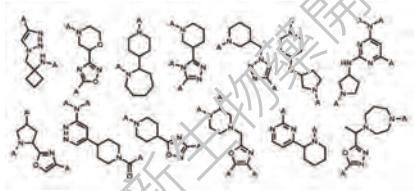
中藥



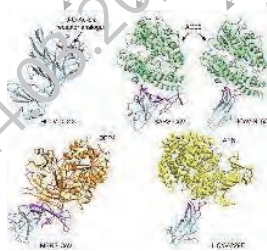
複方是由多味中藥材所組成的處方，以中醫典籍中的成方，或經驗成方來製成藥粉，由多種藥物搭配，得到更好的治療效果，經驗累積後，慢慢形成複方。

33

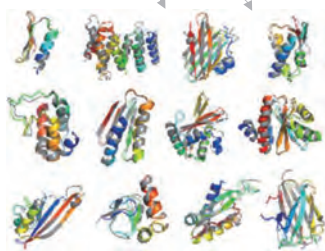
大量科學成份及其標靶作用方式



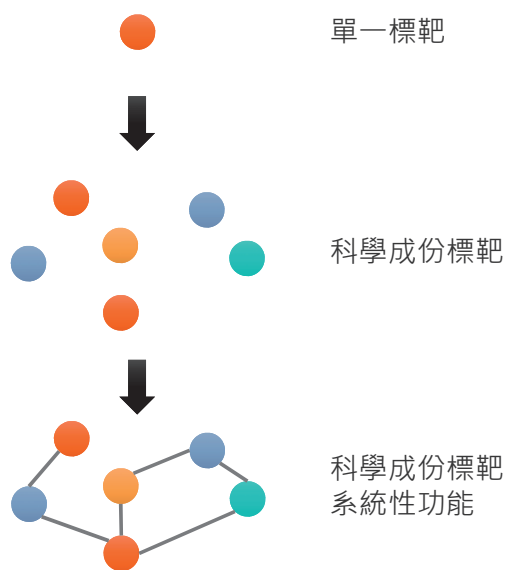
中草藥科學成份化合物



病原蛋白質標靶



人體蛋白質標靶



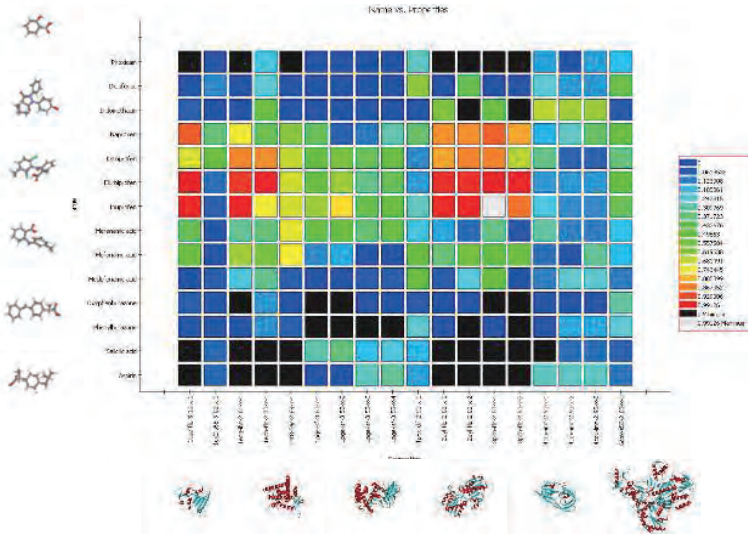
研發目標

快速找出中草藥複方中，針對COVID19病原以及引發症狀治療的有效成份

訊聯外泌體 Meta Exosome

34

透過電腦模擬計算，篩選科學成份作用標靶



Pharmacophore ID	Fit value	Gene Name	KEGG ID	Target class	Class	Function
1baa	0.93	HEM8_HUMAN	K01772	Enzymes	Lymes	Sole sub-subclass for lymes that do not belong in the other subclasses
2axz	0.91	KDM6B_HUMAN	K11448	Enzymes	Oxidoreductases	Acting on paired donors, with O ₂ as oxidant and incorporation or reduction of oxygen
589z	0.87	CAH2_HUMAN	K01672	Enzymes	Lymes	Carbonate dehydratase
1m3j	0.85	PDPK1_HUMAN	K06276	Enzymes	Transferases	Protein-serine-threonine kinases
299z	0.84	HIF1N_HUMAN	K09476	Enzymes	Oxidoreductases	Acting on paired donors, with O ₂ as oxidant and incorporation or reduction of oxygen. The oxygen incorporated need
1w0b	0.83	ERH_HUMAN	not found	Others	Others	Others
1au	0.82	CAH9_HUMAN	K01672	Enzymes	Lymes	Carbonate dehydratase
20v	0.81	RET_HUMAN	K05126	Enzymes	Receptor tyrosine kinase	RTK, class I (RET receptor family)
296t	0.81	BACE1_HUMAN	K04521	Enzymes	Hydrolases	Acting on peptide bonds (peptidases)
294o	0.80	KCC4_HUMAN	K05869	Enzymes	Transferases	Ca ²⁺ -calmodulin-dependent protein kinase
2da	0.80	HSP90A_HUMAN	K04879	Proteins	Enzymes, proteasome	HSP90A, molecular chaperone ; Assembling factors
3c3j	0.79	GSTP1_HUMAN	K00739	Enzymes	Transferases	Glutathione transferase: Transferring alkyl or aryl groups, other than methyl groups

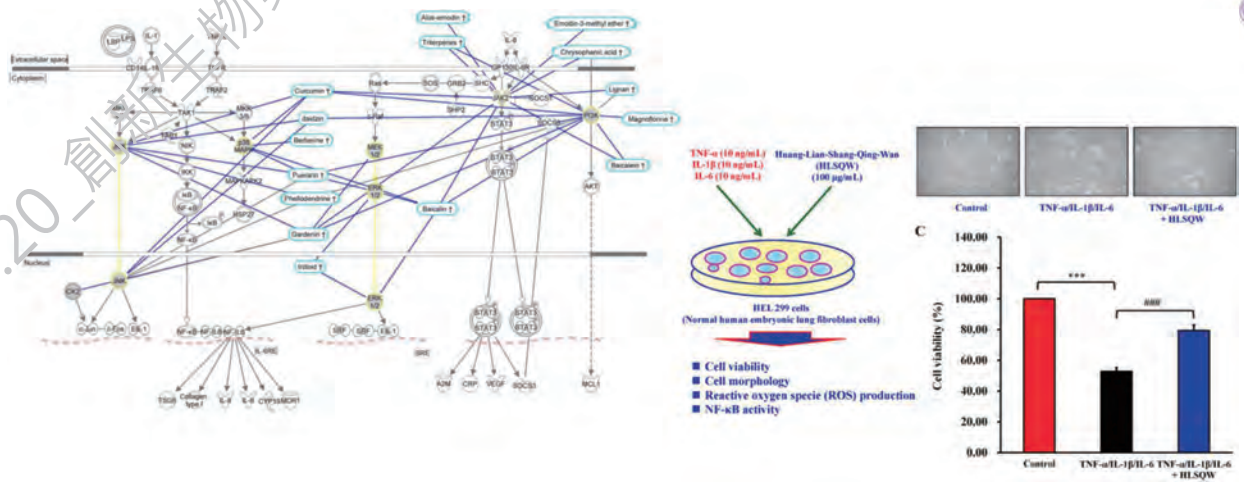


標靶篩選

- ① 24小時內完成40個科學成份 vs 17000多個人體與COVID19蛋白質標的配對
- ② 共挑選出200個可能的潛在作用蛋白質

訊聯外泌體 Meta Exosome

建構多體學作用機制，作為治療策略參考



機制確認

- ① 8小時內找出多個科學成份可抑制IL-6引發的Cytokine Storm
- ② 於IL-6 induced細胞實驗中證實這些科學成份能有效降低發炎反應，提升細胞存活率

用生技與數位的力量，啟動精準健康

以中草藥科學成份藥效分析為例

篩選

透過電腦輔助計算，**配對大量科學成份與潛在標的**，大幅縮短實驗時間。

分析

以**多體學分析工具建構訊息路徑分析網路**，理解中草藥各成份作用方式。

治療

用於治療COVID19 **抑制病毒活性，降低細胞激素風暴(cytokine storm)**

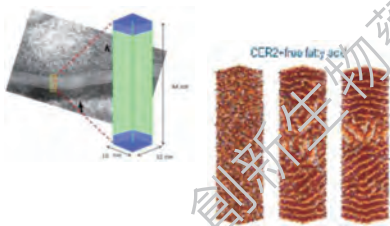


未來應用

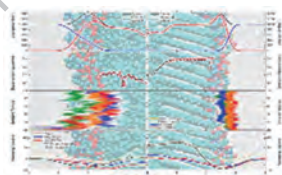
- ① 可優化複方成份，提升藥效
- ② 透過系統性分析，評估用於治療其他疾病可能性
- ③ 可應用於雞尾酒療法，增加療效或者降低副作用

37

多尺度化妝品原料特性模擬

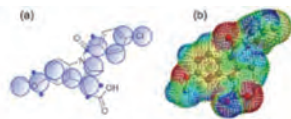


根據不同年齡層皮膚含水量多寡以及生物分子配方組合，組建出細胞間質分子模型。



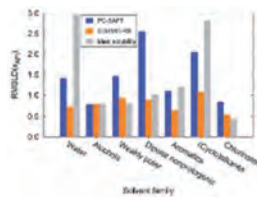
比較不同化妝品成分於脂雙層或細胞間質間的移動情形

PC-SAFT COSMO-RS



$$RMSLD = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\log_{10} x_{API,i}^{pred} - \log_{10} x_{API,i}^{exp})^2}$$

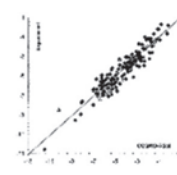
根據熱力學定理，計算小分子化合物化學勢 μ ，以及其他特性。



可用於挑選化妝品或者API藥物的理想溶劑模型

Blend	Glycerol	PropyleneGlycol	Water	Solubility(mg/ml)
1	0.3915	0.5	0.1065	43.54
2	0.348	0.5	0.152	42.24
3	0.261	0.5	0.239	31.5
4	0.174	0.5	0.326	23.22
5	0.087	0.5	0.413	18.25
6	0	0.5	0.5	13.11
7	0.5655	0.3	0.1345	24.36
8	0.522	0.3	0.178	21.16

利用機器學習方法(ML)，結合實驗數據，建立預測模型



可用於Formulation調整、皮膚滲透度預測



訊聯外泌體 Meta Exosome

38

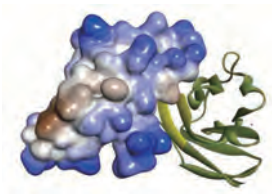
以模擬計算方式設計創新癌症免疫檢查點PD1/PD-L1抑制劑

Structure-Guided Discovery of PD-1/PD-L1 Interaction Inhibitors: Peptide Design, Screening, and Optimization via Computation-Aided Phage Display Engineering

利用噬菌體表達平台以及模擬計算工具進行PD-1/PD-L1抑制胜肽設計，2024年發表在 *Journal of Chemical Information and Modeling*

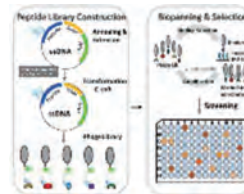
2022 IF: 5.6

Journal Ranking: 18.3% (11/60) in Chemistry, Medical



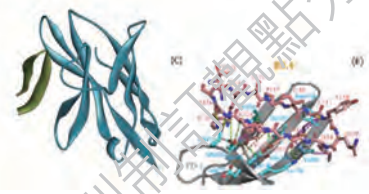
尋找設計標的

以PD-1/PD-L1交互作用區域作為設計模板



胜肽重組表達、篩選

利用噬菌體平台進行多胜肽位點突變表達，以及與PD-L1的親和力測試



機制解釋、設計優化

以分子動力學方式進行結構驗證，結合模擬工具預測胜肽接合預測

訊聯外泌體 Meta Exosome

39

新穎模擬技術應用於OA治療



Functionalized osteoarthritis targeting peptides for MRI, lubricant and regenerative medicine

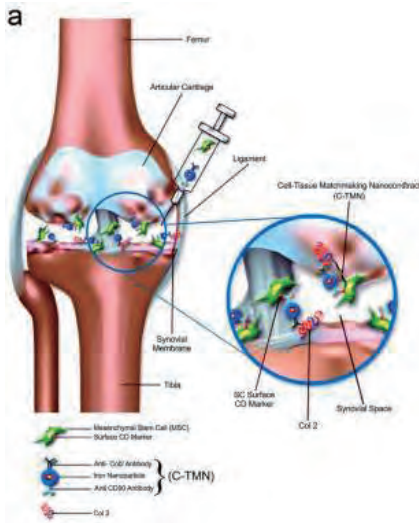
利用分子模擬技術與實驗開發應用於退化性關節炎治療的新型短鏈胜肽，研究預計於2022年(已接受)發表於 *Nature Biomedical Engineering*。

2021-2022 IF 25.671, 2022 Q1 SJR 5.635
Journal Ranking

SUBJECT AREA AND CATEGORY	Rank
Biochemistry, Genetics and Molecular Biology/Biotechnology	3
Chemical Engineering/Bioengineering	5
Computer Science/Computer Science Applications	3
Engineering/Biomedical Engineering	3

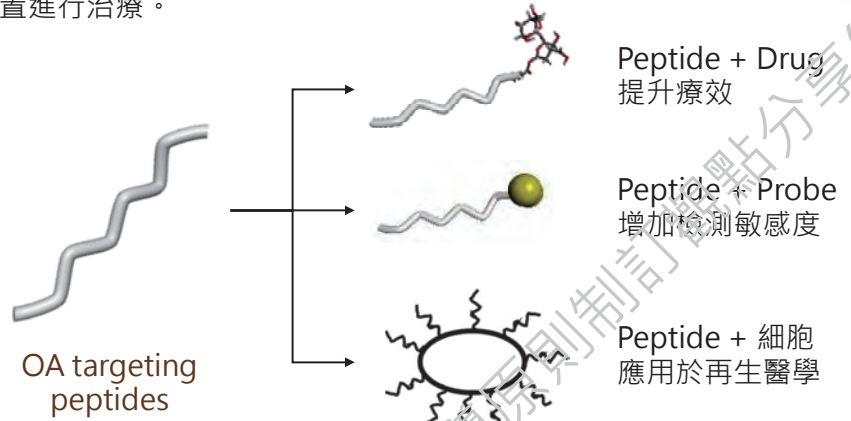
40

研發應用



Targeted mesenchymal stem cell therapy equipped with a cell-tissue nanomatchmaker attenuates osteoarthritis progression. *Scientific Report*, 2022.

Antibody Drug Conjugate (ADC)藥物問世以來，證實功能性標靶分子結合藥物的治療概念可行。功能性胜肽相較於抗體分子具有合成容易、分子量小等優勢，可作為載體攜帶藥物甚至是細胞至標靶位置進行治療。



研發目標 結合功能性胜肽攜帶玻尿酸協助退化性關節炎之診斷，潤滑與再生

PIC/S GMP擴建，技術與產能兼備

高品質生產

臨床·醫藥等級



- 國內外法規
- 臨床級高規格
- 擴大產能高效率
- 軟硬體設備升級
- 海內外接單量產



BIONET THERAPEUTICS
訊聯細胞智藥 5項新藥進展

- 間質幹細胞治療肺部纖維化 取得臨床二期核准執行
- 外泌體治療乾眼症 臨床前試驗顯示能抑制角膜發炎加速修復

On going Product Pipeline

Product	Source	Indication	Preclinical	phase I	phase II	phase III
BU-01	Allo UCMSC	肺纖維化 Lung Fibrosis	● 取得臨床二期核准執行			
BU-01	Allo UCMSC	急性呼吸窘迫症候群 ARDS	● Phase I 成果已發表於SCI期刊 · Phase II 收案中			
BU-01	Allo UCMSC	慢性腎衰竭 Chronic Kidney Disease				
ExoTear	Exosome	乾眼症 Dry Eye	● 核准為指標性案件 (CDE 案號: 113IDX03007)			
BU-01	Allo UCMSC	慢性傷口 Chronic Wound				

43

發揮三大核心綜效 從五大登山口切入 結集攻頂

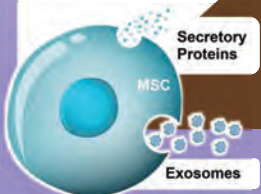
BIONET 訊聯生技
醫療應用
建立 Guideline
CRDMO

分子數位中心
Molecular Sciences & Digital Innovation
生產/培養條件
智慧研發/數位模擬

BIONET 訊聯細胞智藥
新藥製劑
開發

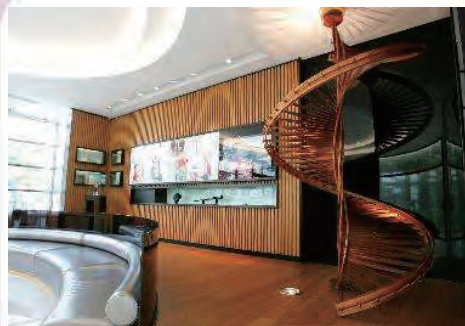
訊聯基因
數位GGA
定性定量
研究分析

訊聯基因
數位GGA
疾病診斷/分析
基因編輯/模擬



引領跨域新科技，創新價值

44



讓我們用生技的力量，創造更美好的生命品質

Improving the Quality of Life Through the Power of Biotechnology

感謝您的聆聽~~~



訊聯外泌體 Meta Exosome

45

2024.03.20_創新生物藥開發與先進技術製造法研討會(1)



2024 / 03 / 20 **01** **第一場**

**創新生物藥開發與
先進技術製造法規指導原則
制訂觀點分享**