

(1) 研究テーマ

ラッキョウ抽出物の細胞培養因子への適用

(2) 研究代表者及び分担者（職・氏名）

代表者 工学研究科 生物応用化学専攻 ・ 助教授 ・ 寺田 聡

分担者 福井県 食品加工研究所 ・ 主任研究員 ・ 小林 恭一

(3) 研究成果の概要

【緒言】 動物細胞を培養する際、増殖因子として哺乳動物由来因子が添加される。また、細胞を凍結する際にも、細胞保護材として動物由来因子が利用されている。これらの目的で、特にウシ胎仔血清（FBS）が汎用されている。しかし人畜共通感染症が懸念されるため、医薬品生産・再生医療目的での培養では哺乳動物因子の代替が強く望まれている。そこで我々は、植物であるラッキョウ由来のフルクタンが動物細胞培養に対して有効な添加因子となり得るか検討した。

フルクタンはフルクトースをモノマーとする多糖であり、 β -2,6 結合のレバンと β -2,1 結合のイヌリンに分類される。一般にレバンは微生物から、一方イヌリンは植物の塊茎から得られる。われわれが利用したラッキョウフルクタンは、レバン型とイヌリン型がほぼ 3 : 1 の割合で混じった独特の組成に特徴がある。

【方法】 ラッキョウよりフルクタン（分子量分布：6 kDa～100 kDa）を抽出した。これを動物細胞の培養液に添加し、細胞の増殖を検討した。また、フルクタンを含有する細胞凍結液を作成し、細胞凍結に対する保護効果も検討した。検討した株は、モノクローナル抗体生産細胞のモデルとしてマウスハイブリドーマ 2E3 株を、組み換えタンパク質生産のモデルとしてハムスター腎細胞 BHK 細胞を、再生医療・人工臓器のモデルとしてヒト肝細胞株 HepG2 を利用した。

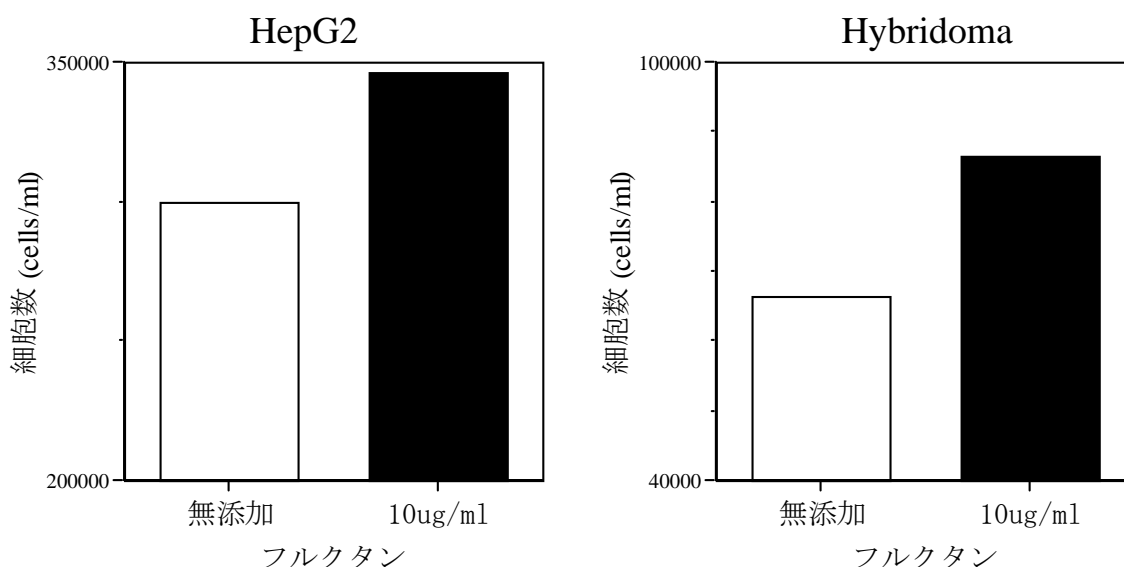
【結果】 ラッキョウフルクタンの添加により、検討した全ての細胞増殖が促進された。特にフルクタン濃度 $10 \mu\text{g/ml}$ が最適であった。下に、バイオ人工肝臓に利用される HepG2 細胞と、有用タンパク質生産細胞であるハイブリドーマでの結果を示す。また、細胞凍結にも、有効であった。これらのことより、フルクタンが培地の新規添加因子としての利用が期待される。

【展望】

現在用いているフルクタンは、粗抽出物であり、まだまだ不純物の含量が多いと思わ

れる。そこで、フルクタンの一層の精製を行い、純粋なフルクタンを調製することで、明確な効果を見いだされよう。これが平成19年度の一つ目の課題である。

さらに、フルクタンは多糖であり、その枝分かれ構造は多岐にわたり、分子量も広く分布している。そこで、フルクタン標品の分画をすすめ、有効な画分を見だし、細胞培養への実用化を実現する。



(4) 配分額及び経費の支出額内訳

配分額 円

支出の内訳 円

円

(5) その他特記事項

【国際学会発表】 1件

• **Fructan as a novel effective factor for mammalian cell culture, 20th Meeting of European Society for Animal Cell Technology, Dresden, Germany, June 2007**

【国内学会発表】 2件

・フルクタンを利用した細胞培養 日本農芸化学会 2007年大会 2007年3月 東京

・植物由来多糖を用いた細胞培養技術 動物細胞工学会年会 2007年7月 高崎

【特許】 1件

・培地添加因子 特願2007-069284 (2007年3月16日)