

ラクキョウフルクタン[®]の細胞培養・再生医学への利用

【共同研究機関】 福井大学、鈴鹿工業高等専門学校、株式会社エル・ローズ

1 背景

現在、動物細胞培養によってバイオ医薬品(特に抗体医薬)が生産され、さらに再生医療や細胞治療などの研究が盛んになり実用化が進んでいます。動物細胞培養では、細胞が生きていくために必要な栄養分や細胞が増殖するために必要な増殖因子を培地に添加します。この、増殖因子は牛血清など動物由来因子が利用されていますが、牛の病気(BSEなど)の感染や、牛の個体差により製品の品質が安定しない、高価であるなど課題があります。また、動物細胞培養において、凍結保存技術が重要です。その細胞凍結液の主成分は牛血清など動物由来因子が利用されています。

そこで、牛血清にかわるものとして、ラクキョウから抽出したフルクタンを利用して、動物の感染症の危険がない、安全で品質が安定し安価な動物細胞培養液と細胞凍結液の開発を産学官の共同で行いました。

2 フルクタンの精製

食品用素材のフルクタンは、医療用途としては不純物が多いことから、限外濾過膜による精製で分子量の低い物質を取り除き、フルクタンの純度を90%以上に高めることができました。

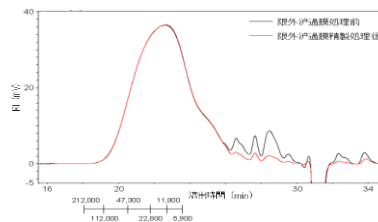


図1. 限外濾過膜により精製されたフルクタンの分子量分布図



図2. フルクタン粉末

3 フルクタンの動物細胞培養液

動物細胞(ハイブリドーマ 2E3-0 株)で培養を行った結果、細胞増殖に最適なフルクタン濃度は10 µg/mLでした(図3)。

肝臓由来 HepG2 株・腎臓由来 BHK21 細胞で培養を行った結果、フルクタン添加により細胞増殖が促進されました(図4)。

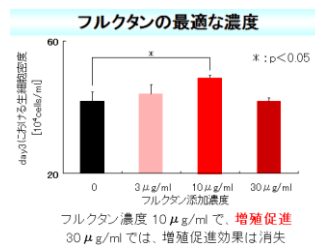


図3. フルクタンの最適な濃度

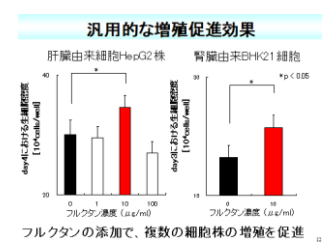


図4. 汎用的な増殖促進効果

4 フルクタンの細胞凍結保存液

動物細胞の保存を行う場合、牛の血清と DMSO (ジメチルスルホキシド) を主成分とする保存液を用います。DMSO は不凍液の役割を担いますが、細胞に対し毒性があります。そこで、牛の血清と DMSO に替えてフルクタンを添加し動物細胞(ハイブリドーマ 2E3-0 株)を凍結し1週間保存後に解凍し細胞の生存を確認した結果、かなりの細胞が生存していました(図5)。

しかし、フルクタンを含んでも DMSO が無い凍結保存液は、従来型凍結保存液より性能が劣るため、DMSO の代わりにエチレングリコールとプロピレングリコールを用いることを検討した結果、フルクタン濃度30%溶液にエチレングリコールを濃度5%またはプロピレングリコールを濃度4%で添加することで、従来型凍結保存液と同等の性能にすることができました(図6)。

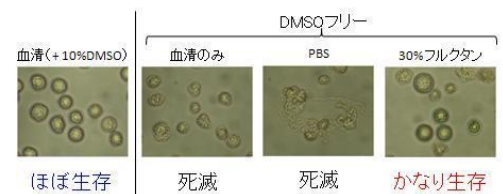


図5. 凍結保存後の細胞の顕微鏡写真

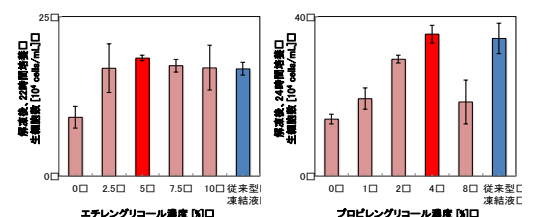


図6. 従来型凍結保存液との比較