

# 絹タンパク質セリシンを用いた、動物細胞のための培養液の開発

育成研究：JSTイノベーションプラザ滋賀 平成18年度採択課題  
「セリシンを利用した新しい細胞培養のための添加剤の開発」

代表研究者：〔福井大学 大学院 工学研究科  
生物応用化学専攻 准教授 寺田 聡〕



## ■ 研究概要

動物細胞培養により、バイオ医薬品が生産され、細胞治療も現実になりつつある。培養液に牛血清など哺乳動物因子が利用されているが、狂牛病・人畜共通感染症が懸念され、これらを含まない培地が求められている。我々は絹タンパク質セリシンを利用して哺乳動物因子不含の培地を開発、市販した。

## ■ 研究内容、研究成果

セリシン加水分解物（以下、セリシン）には、細胞の増殖を促進する作用がある。本プロジェクトでは、このセリシンを無血清培地に添加することで、組み換えタンパク質生産でもっとも広範に利用される工業用細胞 CHO(Chinese hamster ovary)の増殖を促進し、組み換えタンパク質の生産を向上することに成功した。さらに、工業的な生産のスケールダウンモデルとして、攪拌型培養装置を用いた検討でも、セリシンを無血清培地に添加することがタンパク質生産に有効であった。これら成果をふまえ、セリシンを利用することで、動物由来因子を全く含まない無血清培地の構築に成功し、セリシン GIT 培地として市販した。このセリシン GIT 培地は従来型の血清を含む培地や動物由来因子を含む GIT 培地にはやや劣ってはいたものの、その他の市販の無血清培地には大きく優っていた。続いて、セリシンがどのように細胞に作用しているかを検討するために、セリシンを蛍光標識して蛍光顕微鏡で観察したところ、細胞質のリソソーム画分へと運搬されていることを見いだした。

本研究開発の独自性としては、バイオ医薬品生産や再生医療といった医療への適用を目指した動物細胞培養では、感染源とならない安全性が何より求められる。セリシンは絹糸の精練過程で得られるものであり、人畜共通感染症の懸念も無い。さらに、他の生理活性因子では耐えられない、確実性の高い滅菌法である高圧蒸気滅菌にて滅菌することができる。このように、大変安全性の高い因子であり、われわれの技術の利点がある。さらに、これまでの動物細胞培養に関わる因子はほとんどが欧米産であるため、供給や品質の保持に懸念が残されていたが、セリシンは国産品であるため、そのような懸念が無い。

## ■ 今後の展開、将来の展望

産業の観点から述べると、動物細胞培養を用いた産業で最も大きな成長が見込めるのは再生医療の分野である。そこで、セリシンを再生医療用の細胞培養に適用するべく、開発を行う。まず、幹細胞を対象に、セリシンを用いた無血清培養を実現する。幹細胞としては、ES細胞やiPS細胞のような「万能」な多能性幹細胞に加えて、間葉系幹細胞・造血幹細胞といったものを対象に実現していきたい。ところで、このような細胞培養においては、一層の厳格な品質管理が求められる。すなわち現行のセリシンは多様なペプチドからなる混合物であり、有効な成分と無効な成分とが含まれていると考えられる。実際、陰イオン交換クロマトグラフィーにより分画したところ、有効な画分と効果のほとんどない画分とが得られた。そこで、今後はセリシンの分画を進めながら、再生医療/幹細胞への適用を目指した検討を行っていく。そのために、京都大学再生医科学研究所と米国アーカンソー大学でES細胞の分化誘導研究に従事した経験者をポスドク研究員として研究グループに迎えた。一層の展開のために、JSTにはご助言・ご助力を切望いたします。

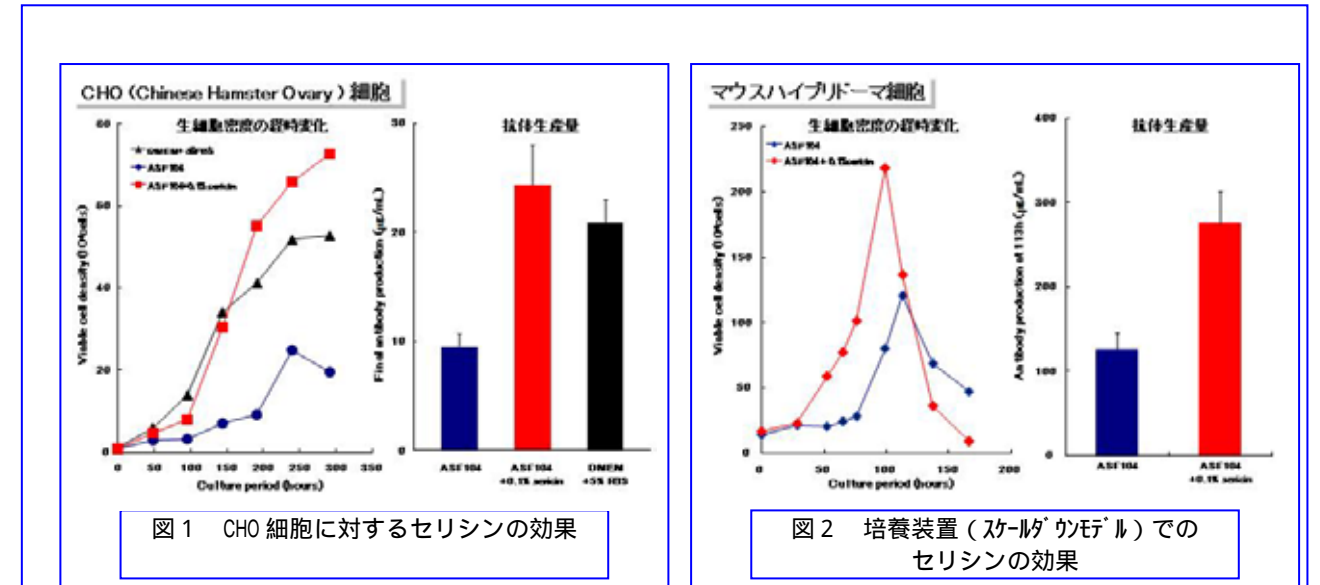


図1 CHO細胞に対するセリシンの効果

図2 培養装置（スケールアップ）でのセリシンの効果

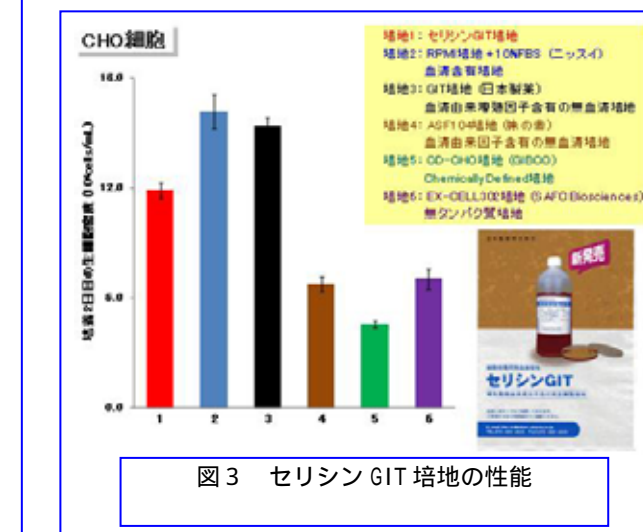


図3 セリシン GIT 培地の性能

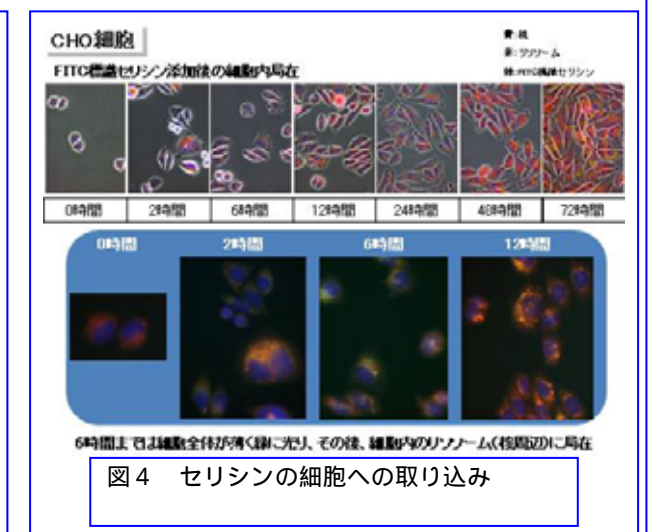


図4 セリシンの細胞への取り込み

## ■ 研究体制

- ◆ 代表研究者  
〔福井大学 大学院 工学研究科 生物応用化学専攻 准教授 寺田 聡〕
- ◆ 研究者  
佐久間 紹子( JSTイノベーションプラザ滋賀 ) 山田 英幸( セーレン株式会社 ) 佐々木 真宏( セーレン株式会社 ) 辻本 和久( セーレン株式会社 )
- ◆ 共同研究機関  
セーレン株式会社

## ■ 研究期間

平成19年1月 ~ 平成21年12月