

第1章 動物細胞工学とは？

1.1 細胞培養(Cell culture)の歴史

○組織培養の始まり

- ・1907年、ハリソンがオタマジャクシの脊索から取った神経組織をカエルの凝固リンパ液中で培養し、神経細胞から神経線維が形成されたことを数週間にわたって観察したことに始まる。
- ・1912年、カレル(外科医)がニワトリの胚の線維芽細胞の長期培養に成功。このとき、胚の抽出物中に細胞増殖を促進する物質が含まれることを発見。
- ・1920年代には、培養液にニワトリの血漿を添加することで長期継代培養が可能になった。
- ・1952年、ヒト子宮頸ガン由来の上皮細胞株、HeLa細胞の樹立。

○初期の組織培養の問題点

- ・血清の入手が困難。
- ・正常細胞の有限増殖。(ガン細胞は無限増殖)

○培地の開発

- ・Ham や Eagle などがアミノ酸、ビタミン、無機塩類などからなる基本合成培地の開発に成功。1950～60年代にかけて動物細胞を用いた研究が大きく進展した。
- ・血清添加を前提とした培地。

○無血清培地(Serum-free culture)の開発

- ・1970年代、血清の代わりに必要なホルモンだけを添加する無血清培地が開発された。
- ・血清の役割は、栄養分の供給よりもむしろホルモンの供給にある。

1.2 細胞培養の目的・展望

○新規生理活性物質の発見

- ・新規生理活性物質が細胞機能の制御、培養法の改良によって見いだされる。
- ・既知物質の新規生理機能も見いだされる可能性がある。従来から知られている機能よりも重要である可能性もある。

○生理活性物質の生産技術の開発

- ・培養システムの開発。
- ・大量凍結技術による大量培養の効率化。

○天然生理活性高分子からの誘導体の製造

- ・生体の恒常性維持物質としての天然生理活性高分子が必ずしも高分子医薬として最適であるとは限らない。遺伝子組換え作業によって天然には存在しない生理活性物質を作る。(例:キメラ抗体、ヒト化抗体)

- 自動制御細胞培養システムの開発
 - ・生理活性物質を細胞を用いて効率的にしかも大量に生産するためには自動化された高密度大量培養システムの開発が不可欠。
- 治療用細胞の生産
 - ・移植に於ける拒絶反応の観点から、自分の細胞を治療用細胞として使用することが望ましい。
 - ・皮膚移植用の上皮細胞。
- 人工臓器
 - ・人工肝臓。
 - ・肝臓は、その生理機能を発現するためには3次元的構造を必要とするため、細胞の支持体の構造も重要。
- バイオセンサー
 - ・味覚、臭覚等の官能試験に頼らざるをえない対象に対して、細胞を用いたバイオセンサーの開発が望まれる。
- 食品の生物機能の解析
 - ・食品の栄養的特性および生物機能調節能を細胞を用いて解析する。
 - ・食品添加物の安全性試験。(変異原性試験、催奇形性試験)
- 生命現象の解明
 - ・免疫、老化、発生、ガン化のメカニズムを解明する。
- 遺伝子機能の解明
 - ・培養細胞は高等生物の遺伝子調節機構を解明する最も単純化された生命単位である。
 - ・遺伝子改変、調節操作は遺伝子機能の解明に重要な情報を与える。
- 産業用動物の育種
 - ・クローン動物の作出。家畜、魚類等の食用資源の効率的生産。
 - ・動物体内での医薬品の生産。動物工場。
- 医薬品等の機能評価
 - ・毒性試験等。
 - ・動物実験の代替。例：シャンプーの開発に当たってのドレーズ試験。
- 微生物代謝物による細胞機能の調節

1.3 細胞培養について

- 生体内で起こっている生命現象を生体外により簡略化された形で再現する。
- 通常細胞は、単一種、クローンで培養されている。しかし、生体は様々な細胞から成り立つ複合系であるため、生体外での培養も複合培養系で考慮する必要がある。

1.4 動物細胞による組換えタンパク質の生産

微生物には複合タンパク質を作る機能が無い。糖タンパク質やリポタンパク質等の複合タンパク質は真核細胞しか作れない。

○糖タンパク質

●エリスロポエチン (Erythropoietin: EPO)

- ・赤血球の形成に関与する糖タンパク質。
- ・腎臓で生合成される。
- ・赤血球による組織への酸素供給量は腎臓で感知される。酸素供給量が低下するとEPOの mRNA 転写が促進され、血中EPO濃度が上昇し、赤血球形成が促進される。
- ・標的細胞上の特異的レセプターに結合して細胞の生存を支持し、分化と増殖を促進する。
- ・組換え型ヒトEPOは腎疾患に伴う貧血の治療薬として使われている。
- ・電気泳動上では、35 kDaの分子量を示すが、ペプチド鎖は165個のアミノ酸からなり、その分子サイズは18 kDaである。残りは、糖鎖に由来する。
- ・糖鎖構造は動物種によって微妙に異なる。ヒトのEPOをチャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO細胞)、幼若ハムスター腎臓細胞(BHK細胞)、昆虫細胞、植物細胞などで発現させたが、生体内で抗貧血活性を示すのは哺乳動物由来の生産物だけ。
- ・ヒトEPOは24、38、83番目のアスパラギン残基にN結合型糖鎖を、126番目のセリン残基にO結合型糖鎖を持つ。