

1141 無血清培養下における CHO 細胞のタンパク質生産に及ぼすリン脂質の効果

(神戸大院・自) ○坂井 健太郎, 福田 秀樹
(神戸大・工) 松永 敏朗, 山地 秀樹

【目的】動物細胞培養用の低タンパク質無血清培地を開発することを目的として、ホスファチジン酸 (PA) やリゾホスファチジン酸 (LPA) などのリン脂質が Chinese hamster ovary (CHO) 細胞の増殖や組換えタンパク質生産に及ぼす影響について検討を行った。

【方法および結果】組換え CHO 細胞 (H1F-D, ATCC CRL8200, ヒトインターフェロン γ (hIFN- γ) 産生株) を、透析処理した牛胎児血清を 10% の濃度で添加した α -MEM 培地を用いて CO₂ incubator (5% CO₂, 37°C) 内で T-flask にて増殖させた後、タンパク質を添加していない α -MEM 培地に培地交換した。その後、細胞を PA または LPA を添加した無血清培地とともにペトリディッシュに播種して静置培養を行い、生細胞密度は血球計数盤を用いて、hIFN- γ 産生量は酵素免疫測定法 (ELISA) によって測定した。

insulin, transferrin, ethanolamine, および sodium selenite (ITES) を含む UC212 培地に不飽和のアシル基を有する dioleoyl-PA (C18:1) または 1-oleoyl-LPA (C18:1) を添加して培養を行ったところ、細胞の比増殖速度および到達細胞密度が増加した。また、hIFN- γ 産生量も増大したことから、dioleoyl-PA や 1-oleoyl-LPA などのリン脂質は CHO 細胞の増殖のみならず組換えタンパク質生産も促進し得ることがわかった。

Effects of Phospholipids on Protein Production by CHO Cells in Serum-Free Culture

○Kentaro Sakai, Toshio Matsunaga, Hideki Yamaji, Hideki Fukuda (Kobe University)

【Key Words】 phospholipid, CHO cell, protein production, serum-free culture

1142

ヒト皮膚繊維芽細胞への加圧刺激による
インターロイキンおよびサイトカインの産生
(海洋科技センター¹, 東工大・生命理工²) ○小山純弘¹、
相澤益男^{1,2}

【目的】細胞は外部環境の急激な変化に順応するため、様々な防御機構を発現する。本研究では、ヒト皮膚繊維芽細胞に超高水圧刺激を加えたときの各種サイトカイン発現について検討した。その結果、ヒト皮膚繊維芽細胞は 70MPa (1atm=0.1MPa), 1hr の加圧環境下でも生存し、インターロイキン (IL)-6, IL-8, そして単球走化性因子-1 (MCP-1) を産生することを見いだした。

【方法及び結果】ヒト皮膚繊維芽細胞を 3.5cm シャーレ上で細胞密度 3×10^4 cells/cm² に達するまで培養後、無血清培地培養で細胞周期を G₀ 期に同調させた。細胞を 5-70MPa の条件で 20 分間加圧し、加圧刺激によって誘導される各種サイトカインの遺伝子発現およびタンパク質産生量を、RNase Protection Assay 法および ELISA 法により、それぞれ測定した。実験の結果、細胞への加圧刺激は、IL-6 および IL-8 を分泌促進させることを見いだした。70MPa 以上の加圧刺激による IL-6 および IL-8 産生は、40MPa 加圧時の遺伝子発現量と同レベルであるにも関わらず、非加圧時の約 130 倍、40MPa 加圧時の約 10 倍の産生量を示した。一方、IL-1 α , IL-1 β , IL-12 mRNA も加圧誘導されたものの、これらのタンパク質産生は検出できなかった。また、MCP-1 は加圧刺激により mRNA 発現が促進されたものの、タンパク質産生は 30MPa を谷とする抑制効果が得られた。

以上の結果から、加圧刺激によって誘導されるこれらのサイトカイン産生は転写後に細胞側から制御されることを明らかとした。

Hydrostatic pressure stimulated interleukins and cytokines production by human dermal fibroblast.

○Sumihiro Koyama¹, Masuo Aizawa^{1,2}, (¹JAMSTEC, ²Dept. Bioeng., Tokyo Inst. Tec.)

【Key words】 Interleukin, Cytokine, Hydrostatic pressure, human skin fibroblast