2H13-4.5 招待講演

Effect of N-acetylcysteine on production and glycosylation of recombinant erythropoietin

OJung Hoe KIM, Kern Hee CHANG, Bo Sup CHUNG, One CHOI, Yeon Tae JEONG (Dept. of Biological Sciences, KAIST)

To investigate the effect of thiol reducing agent, N-acetylcysteine (NAC), on the production and glycosylation of EPO, recombinant CHO cells which produce EPO were cultured in the medium supplemented with 20mM of NAC. The NAC treatment enhanced the production rate of EPO two fold, compared with that of the culture without NAC supplementation. For the analysis of oligosaccharide structure of EPO, the culture supernatant was withdrawn for purification of EPO. The isolated oligosaccharides from the purified EPO were labeled with fluorescent dye, 2-aminobenzamide. Labeled with analyzed oligosaccharide was anion-exchange chromatography (MonoQ). As the result, the relative amount of sialylated oligosaccharide in NAC-treated EPO was lower than in EPO obtained from the sample without NAC treatment. This implies that the activity of the sialyltransferase in the cell may not be sufficient enough to fully backup the increased secretion rate of EPO in NAC-treated cells, thereby produce less sialylated EPO. Therefore the human 2,3-sialyltransferase (ST) was expressed in CHO cells and the glycosylation pattern was analyzed. As the result, more sialylated glycans were produced. In specific, the amount of tri-sialylated glycans was significantly increased.

Effect of N-acetylcysteine on production and glycosylation of recombinant erythropoietin

OJung Hoe KIM, Kern Hee CHANG, Bo Sup CHUNG, One CHOI, Yeon Tae JEONG

(Dept. of Biological Sciences, KAIST)

Key words N-acetylcysteine, Chinese hamster ovary cells, Glycosylation, Erythropoietin

2H14-1 抗腫瘍活性を示すCladosporium sp. S-9由来多糖の 分画と性質

〇原川 広野 1 , 高橋 \hat{e}^{1} , 進藤 \hat{A}^{1} , 森 哲也 1 , 角田 潔和 1 , 小泉 武夫 1 斉^I,鈴木 和春², (1 東農大応生科・醸造,2 東農大応生科・栄養)

【目的】前報 $^{1)}$ までに β -1,3-glucan 高含有糸状菌の検索を目的に分離し、 アガリクス子実体以上の含有量かつ抗腫瘍活性にも優れた Cladosporium sp. S-9を選抜した。本報では本株由来多糖の抗腫瘍活性保有画分の抽出を 試みた。さらに分画を行い調製した画分の抗腫瘍活性について検討した。 【方法および結果】GYP(10:1:1) 培地にてpH 7.0、30℃、4日間振とう培 養した菌体を破砕後、熱水、1%シュウ酸アンモニウム溶液、5%NaOH溶 液にて順次抽出して粗多糖 I、II、III-1、III-2 に大別した。抗腫瘍活性は マウスにSarcoma 180腹水型腫瘍細胞を移植後、試料(10 mg/kg mice)を 1日1回連続10日間腹腔内投与し、移植14、20日後の腫瘍サイズより求め た。本株由来多糖の抗腫瘍活性はIII-2画分が最も高く、腫瘍抑制率が80~ 95%とアガリクス由来多糖の同画分(60~75%)と比較しても高い抑制率 であった。さらに、構造解析よりすべての画分がヘテログリカンおよびそ のタンパク質複合体であることが明らかとなり、III-2画分はタンパク質含 有量が10%程度と低く、構成糖の90%以上がGlcのヘテログルカンであり、 本画分に β -1,3-glucanが抽出されていると考えられた。さらに免疫学的効 果についても報告する。

1) 高橋ら:2003年度生物工学会大会講演要旨集、p107

Fractionation and characterization of antitumoral polysaccharide from Cladosporium sp. S-9

OHirono HARAKAWA¹, Ryo TAKAHASHI¹, Hitoshi SHINDO¹, Kazuharu SUZUKI², Tetsuya MORI¹, Toshitaka KAKUTA¹, Takeo KOIZUMI¹ (¹Dept. Fermentation, Tokyo Univ. of Agri., ²Dept. Nutritional Science,

Tokyo Univ. of Agri.)

Key words antitumor activity, fraction of polysaccharide, Cladosporium sp.

2H14-2 シソの葉はマウスモデルにおいてアトピー性皮膚 炎を抑制する

善敬1, 重田 征子1, 馬場 堅治2, 本山 純², 庸裕1, 小埜 和久1 (¹広島大院・先端・生命機能,²三島食品株式会社)

【目的】古来から風邪、喘息の漢方薬として馴染み深い紫蘇について、アレ ルギー特に、アトピー性皮膚炎(AD)の予防効果およびそのメカニズムつい て検討した。

【方法】微粉砕精製した紫蘇を、0.2%、1%、5%の含量で餌に混ぜ、アレル ギーモデルマウスであるNC/Ngaマウスに18週間自由摂取させ、2週間ごと に掻痒数のカウント、スコアリング、ELISA法によるIgE測定によりADの 予防効果を検討した。また、マウス脾臓細胞のFACS解析により Tcellの分 化率についても検討した。

【結果】紫蘇1%、5%含量について掻痒数のカウント、スコアリングの有意 な低下が、5%含量についてIgEの有意な低下が確認できた。また、FACS解 析により、IL-4産生細胞の有意な低下が確認でき、TH2型細胞を抑制する ことにより、アレルギーを抑えているという可能性が示唆された。

Leaves of Perilla frutescens inhibit atopic dermatitis in a mouse model

OYoshinori MISAKI 1 , Seiko SHIGETA 1 , Kenji BABA 2 , Jyunn MOTOYAMA 2 , Tsunehiro AKI 1 , Kazuhisa ONO 1

¹Dept. Mol. Biotech., Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ., ²Mishima foods business corporation)

Key words allegy, inflammation, atopic dermatitis, Perilla frutescens