

# 細胞治療に役立つカレイ由来不凍タンパク質 膵島細胞の120時間チルド保存を可能に



津田 栄

つだ さかえ  
s.tsuda@aist.go.jp

生物プロセス研究部門  
上級主任研究員  
(北海道センター)

北海道大学生命科学院客員教授 (兼)

専門は核磁気共鳴 (NMR) 法によるタンパク質の構造機能解析。産業や医学の分野で広範な技術応用が期待される不凍タンパク質 (AFP) を国内に生息する魚類や芝生に付着している菌類などから抽出する事に成功しました。今後はさまざまな科学技術を駆使して AFP の氷結晶結合と細胞膜結合の両メカニズムを解明し、環境に優しい低温バイオ技術を創生することを目指します。

## 関連情報：

● 共同研究者

小泉 雄史、井上 敏文 (株式会社ニチレイフーズ)、坂下 真実、西宮 佳志 (産総研)

● 参考文献

Kamijima *et al.*: *PLoS ONE*, 8(9), e73643 (2013).

● 用語説明

\* 膵島細胞：血液中のブドウ糖 (血糖) を調整するインスリンなどのホルモンを分泌する細胞。膵臓組織の中で集団を形成している。

\*\* 不凍タンパク質：氷の表面に結合してその成長を止めるタンパク質。

● プレス発表

2013年9月20日「カレイ由来の不凍タンパク質により細胞保存期間を延長」

● この研究開発は、独立行政法人日本学術振興会の科学研究費補助金 (基盤研究B) を受けて行っています。

## 細胞治療分野に貢献する技術

身体から取り出した細胞や培養した細胞はさまざまな病気の治療に用いられています。例えば膵島細胞\*移植は、酵素により膵臓をバラバラにして得た膵島細胞を患者の肝臓の血管内に注入する方法であり、それにより患者のインスリン分泌が再開することが知られています。しかし日本では臓器の提供数の少ないことが問題です。もしも細胞を数日間非凍結温度で保存 (チルド保存) できれば、空輸などの手段で離れた医療現場の間で細胞治療が行えると考えられます。

## カレイ由来の不凍タンパク質の能力

今回、タンパク質を含まない市販の細胞保存液に、各種の不凍タンパク質\*\*を溶かし、この細胞保存液を用いた場合のマウス膵島細胞の生存率を調べました。不凍タンパク質として、国産のカレイ類の魚肉から精製した不凍タンパク質 (AFPI)、ワカサギ (AFPII) やタラ (AFGP) がもつ不凍タンパク質を用いました。対照実験には、ウシ血清アルブミンやトレハロースを細胞保存液に溶解したものを用いました。

実験は、37℃で培養したマウス膵島細胞を10 mg/ml濃度の不凍タンパク質を含む細胞保存液に浸し、4℃の冷蔵庫内で保存して行いました。実験の結果、カレイ類がもつ不凍タンパク質

(AFPI) を用いたときに、120時間後で約60%の高い生存率が得られました (図1)。これに対し、ウシ血清アルブミンやトレハロースを用いたときには、膵島細胞は72時間以内にほぼ死滅しました。また、AFPIを含む細胞保存液を用いて120時間非凍結温度下で保存した膵島細胞を体温付近 (37℃) に戻したところ、保存前と同レベルのインスリン分泌能力を保持していました。

さらに、AFPIを蛍光物質で標識した溶液に膵島細胞を浸して1時間経過した後の様子を、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察したところ、AFPIが膵島細胞に吸着する様子を確認できました (図2左)。また、蛍光色素でウシ血清アルブミンを標識したものを用いて実験を行ったところ、カレイ由来の不凍タンパク質 (AFPI) の細胞膜への吸着能力はウシ血清アルブミンよりもはるかに優れていることが判明しました (図2右)。

## 今後の予定

今回の不凍タンパク質による細胞保存期間の延長効果をヒトの膵島細胞や血小板に応用することを目指します。その一方で、不凍タンパク質の分子構造のどの部分が細胞膜保護に関与しているのかの作用メカニズムの解析も進めています。

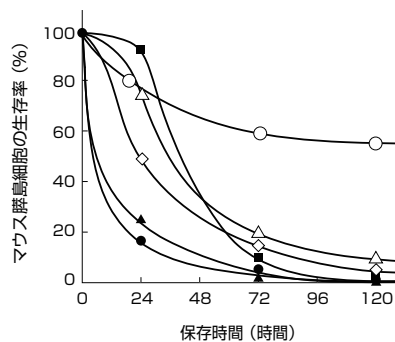


図1 マウス膵島細胞の生存率の経時変化  
市販の細胞保存液 (●) に AFPI (○)、AFPII (△)、AFGP (◇)、トレハロース (■)、ウシ血清アルブミン (▲) を溶かしたものを調製し、おのおのに約100,000個のマウス膵島細胞を浸漬したときの生存率の時間依存性

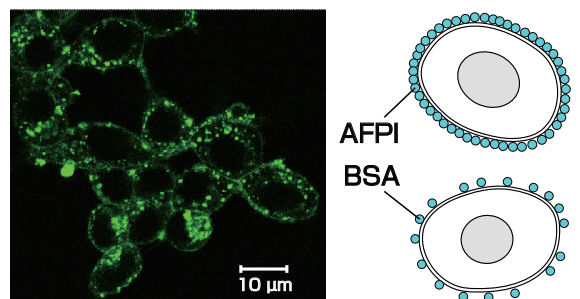


図2 共焦点レーザー顕微鏡による細胞観察結果

左：マウス膵島細胞の膜に吸着した蛍光ラベル不凍タンパク質 (AFPI) の様子

右：AFPIとウシ血清アルブミン (BSA) の細胞膜吸着能力の違いを表す模式図