

■キーワード

神経細胞 分化 細胞の整列 徐放剤

神経細胞を一列に並べることができます  
昆虫ウイルス多角体を用いた神経細胞の分化制御

■研究の概要

昆虫ウイルスが作るタンパク質微結晶である多角体は様々なタンパク質を内包化させることができます。また、これを細胞の培養時に添加すると、タンパク質の徐放剤としても利用できます。

今回、神経成長因子(nerve growth factor, NGF)をこの多角体に内包化し、培養容器にスポットさせ、神経細胞分化のモデルとして広く使われているPC12細胞を播種した所、PC12細胞はNGF多角体のスポットの回りを取り囲むように、軸索を伸展させて一列に並ぶという現象が観察されました。

また、神経細胞の分化マーカーであるtau, neurofilament, GAP-43の発現を確認しました。さらに、軸索間でconnexin 43の発現が確認されたことから、細胞間でのギャップ結合の形成が示唆されました。一方、走査型電子顕微鏡観察の結果では、軸索間で糸状仮足を互いに伸展させ、接触している様子も観察されました。

NGF多角体のスポットは、直径約3ミリ程度であることから、約1センチ程度の神経細胞の線維が得られることとなります。神経線維の断裂の修復では、その断裂が5ミリ以上の場合、修復することができませんが、このNGF多角体を使って神経細胞を一列に並べる技術は、こういった神経線維の断裂修復にも利用できるのではないかと考えられます。

また、この培養系は神経細胞に影響を与える物質のスクリーニングにも活用できると考えられます。

■研究・技術のプロセス/研究事例

NGFのN末にはH1タグを、あるいはC末にはVP3タグを付加し、NGFを多角体に内包化しました。このいずれのNGF多角体もPC12細胞を並べる、神経細胞へと分化させる活性を持っています(図1)。

一列に並んだPC12細胞は軸索を伸展させ(図2)、神経細胞分化マーカーの発現も確認されました(図3)。また、軸索の末端には成長円錐と見られる構造物や糸状仮足が観察されました(図4)。

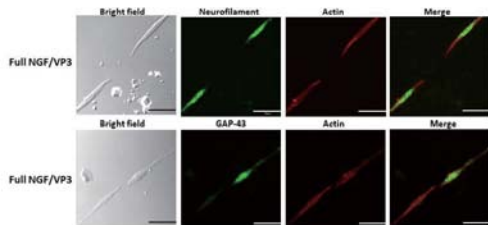


図3. 神経細胞分化マーカーの発現

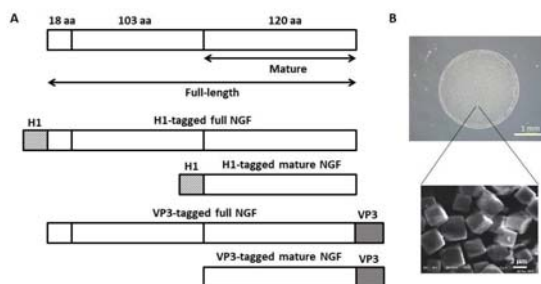


図1. NGF多角体の作製

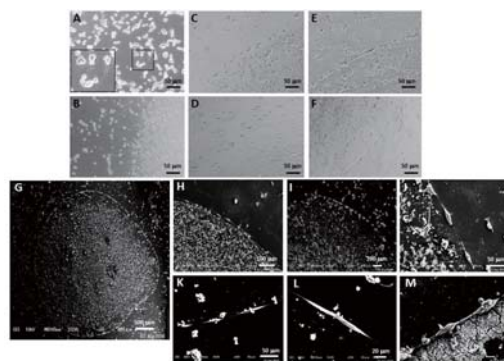


図2. NGF多角体のスポットの周囲に並んだPC12細胞

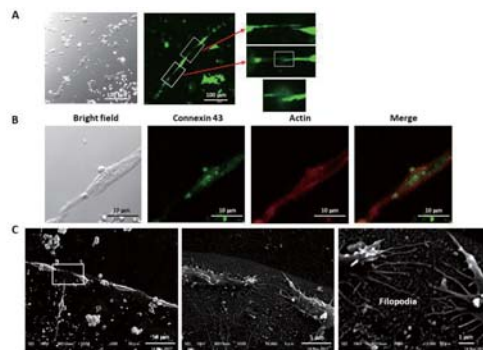


図4. 軸索間の様子

■セールスポイント

NGF多角体から、非常にゆっくりとNGFが徐放されることで、培養器内にNGFの濃度勾配が形成され、そのNGFの濃度勾配によってPC12細胞が一列に並ぶのではないかと考えております。培地中にNGFを添加した場合、こういった濃度勾配は形成されないため、細胞を並べるということができません。



名称：ウイルス性の多角体複合体と使用の方法  
登録番号：特許 5234830 (共願人：株式会社プロテインクリスタル)