厚生労働科学研究費補助金
（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業）
分担研究報告書

我が国における今後の国際標準獲得推進（医療機器分野）を担う人材育成推進事業（24KC5001）
４．医療機器・再生医療等製品基準策定のための実証研究
4-2.脱細胞化生体組織を活用して再生医療の補完機能を果たす医療機器に関する研究

研究分担者　野村祐介　　国立医薬品食品衛生研究所　医療機器部　室長
研究協力者　岡本悠佑　　国立医薬品食品衛生研究所　医療機器部　研究員
研究協力者　長谷川　千恵　　国立医薬品食品衛生研究所　医療機器部　期間業務職員
研究協力者　酒井崇匡　　東京大学大学院　工学系研究科　教授
研究協力者　藤澤彩乃　　東京大学大学院　工学系研究科　特任助教
研究協力者　増井公祐　　ジェリクル株式会社　代表取締役 CEO
研究協力者　鎌田宏幸　　ジェリクル株式会社　CTO

研究要旨：
日本における再生医療は iPS 細胞等を利用した再生医療等製品が中心に考えられているが，欧米における再生医療戦略の多くは，医用材料と増殖因子（タンパク質）を組み合わせたものが検討されている．当該戦略においては増殖因子の安定性，材料の生体適合性及び機能性の向上等の課題がある．それ故，表面に機能性分子コート等の処理を施した脱細胞化組織やゲル素材等の開発が国際的にも進められている．一方で，その特性を踏まえた国際標準としての評価法が存在していないため，日本発製品の上市遅延の要因ともなっている．また，現在の評価法は従来の人工材料（合成高分子，金属，セラミック等）を対象として開発・整備されてきた経緯から，生体由来材料である脱細胞化組織には適していない場合があるため，適切な評価法の開発・改良が必要である．
本研究では当該革新的材料を的確に評価することを目指し，品質，安全性及び有効性に係る試験法構築を目指した．

A. 研究の背景・目的

日本ではiPS細胞をはじめとした細胞を利用した再生医療への期待が高まっているが，その実用化までには課題が存在する．欧米における再生医療戦略の多くは，人工材料と増殖因子（タンパク質）を組み合わせたものであるが，増殖因子の安定性，材料の生体適合性及び機能性の向上等の課題がある．これらの課題解決を目指し，表面にペプチドコート等の処理を施し機能性等を向上させた脱細胞化組織やゲル素材等の開発が促進されているが，その特性を踏まえた国際標準としての評価法が存在していないため，日本発製品の上市遅延の要因となっている．また，人工材料を対象とした従来の生物学的安全性（生安性）試験は脱細胞化組織に不適であることが確認されており，適切な評価法の開発が求められている．各種評価法を開発し国際標準

化を推進することは，日本発の脱細胞化組織機器の世界展開を促進する上で重要な施策となる．また，当該製品は再生医療を目的とした細胞との併用も有用であり，国際的に再生医療の主軸となりうることから，本評価法開発は，再生医療分野における国際的な優位性獲得にも役立つ．

本研究では当該革新的材料の特性や品質を的確に評価する試験法開発を目的とした．

B. 研究方法

B-1. 脱細胞化組織の調製

[試験方法]

1. 試薬・試液及び検体試料

1.1 試薬

- 塩化ナトリウム：特級（富士フイルム和光純薬株式会社製）
- 水酸化ナトリウム：和光特級（富士フイルム和光純薬株式会社製）
- DNase：DNase I, Grade II, bovine pancreas 由来（Roche 社製）
- RNase：bovine pancreas 由来（Roche 社製）
- 塩化マグネシウム六水和物：和光一級（富士フイルム和光純薬株式会社製）
- ペニシリン/ストレプトマイシン混合溶液：10,000 U/mL（Thermo Fisher Scientific 社製）
- ゲンタマイシン：（Biomedal Life Science 社製）
- トリス塩基：（シグマ・アルドリッチ社製）
- トリス塩酸：1M Tris-HCl (pH7.5)（ニッポン・ジーン社製）
- EDTA･2Na：（同仁化学研究所製）
- 寒天：特級（富士フイルム和光純薬株式会社製）
- ウシ血清アルブミン（BSA）：（シグマ・アルドリッチ社製）
- トリプシン：porcine pancreas 由来（Thermo Fisher Scientific 社製）
- クエン酸：和光特級（富士フイルム和光純薬株式会社製）
- クエン酸ナトリウム三ナトリウム二水和物：アミノ酸自動分析用（富士フイルム和光純薬株式会社製）
- エタノール：JIS special grade, 純度≧99.5%（シグマ・アルドリッチ社製）
- 生理食塩水：日本薬局方生理食塩液（光製薬株式会社製）
- PBS：Phosphate Buffered Salts Tablets（タカラバイオ社製）
- イソジン液：10 w/v%ポピドンヨード溶液（塩野義製薬株式会社製）
- ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）：生化学用（富士フイルム和光純薬株式会社製）
- デオキシコール酸ナトリウム（SDC）：生化学用（富士フイルム和光純薬株式会社製）
- グリセリン：試薬特級（富士フイルム和光純薬株式会社製）
- トレハロース二水和物：和光特級（富士フイルム和光純薬株式会社製）
- ポリビニルアルコール 3,500，部分けん化型：和光一級（富士フイルム和光純薬株式会社製）

1.2 試液

- DNase 及び塩化マグネシウム含有生理食塩水：塩化マグネシウム六水和物 10.16 g を生理食塩水 900mL で溶解し，DNase 200mg，ペニシリン/ストレプトマイシン混合溶液を 10 mL 加え，生理食塩水で 1L に定容した．0.22μm フィルターで濾過をし，調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した．
- 80 vol%エタノール含有生理食塩水：生理食塩水 200mL にエタノール 800 mL を加え，0.22 μm フィルター濾過した．調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）

した.

- ペニシリン/ストレプトマイシン含有クエン酸緩衝液 : クエン酸三ナトリウム二水和物 14.7 g 及び塩化ナトリウム 9.0 g をそれぞれ秤量し，超純水 800 mL に溶解した． 0.1 M クエン酸溶液を加え，pH 7.4 に調製した．ペニシリン/ストレプトマイシン混合溶液を 10 mL 加え，超純水を加えて 1 L に定容した後， 0.22 μm フィルター濾過した. 調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.
- ペニシリン/ストレプトマイシン含有生理食塩水 : クリーンベンチ内で生理食塩水 990mL にペニシリン/ストレプトマイシン混合溶液 10mL を加えた．調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.
- 0.5 w/v% SDS 及び 0.5 w/v% SDC 混液 : SDS 5.0 g 及び SDC 5.0 g をそれぞれ秤量し，超純水で 1 L に定容した後，0.22 μm フィルター濾過した．調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.
- 10 w/v% グリセリン溶液 : グリセリン 100 g を秤量し，超純水で 1 L に定容した後，0.22 μm フィルター濾過した．調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.
- 10 w/v% トレハロース溶液 : トレハロース二水和物 100 g を秤量し，超純水で 1 L に定容した後，0.22 μm フィルター濾過した．調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.
- 1 w/v% PVA 溶液 : ポリビニルアルコール 10 g を秤量し，高温水で可溶した．1L に定容した後，0.22 μm フィルター濾過した．調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.
- ペニシリン/ストレプトマイシン含有 PBS 溶液 : PBS 10 錠を超純水 990 mL に溶解した後，121℃で 20 分間オートクレーブ滅菌した. 滅菌後，ペニシリン/ストレプトマイシン混合溶液を 10 mL 加えた．調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.
- 1 w/v% ゲンタマイシン含有生理食塩水 : ゲンタマイシン 5.0 g を秤量し，生理食塩水 500 mL に溶解した後，0.22 μm フィルター濾過した. 調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.
- EDTA 含有トリス緩衝液 : EDTA･2Na 1.3 g 及びトリス塩基 1.57 g をそれぞれ秤量し，超純水 1.3L に定容した後，0.22 μm フィルター濾過した．調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.
- EDTA 含有 PBS 溶液 : EDTA･2Na 100 g を秤量し， 超純水 800 mL に溶解した．撹拌後，1.0 M 水酸化ナトリウム水溶液を加え，pH 8.0 に調製した．この溶液に超純水を加えて 1 L に定容した後，0.22 μm フィルター濾過した．超純水 900mL に濾過後の 10 w/v% EDTA 溶液 100 mL，PBS 10 錠を加え，121℃で 20 分間オートクレーブ滅菌した. 調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.
- 寒天及びトリプシン混液 : 寒天 5.0 g を秤量し，超純水 1L に加えた後，121℃で 20 分間オートクレーブ滅菌した．撹拌しながら室温まで降温した後，トリプシン 1.25 g を溶解した．調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.
- SDS 及び EDTA 含有トリス緩衝液 : SDS 10 g, EDTA 1.0 g 及びトリス塩基 1.21 g をそれぞれ秤量し，超純水で溶解し 1 L に定容した後，0.22 μm フィルター濾過した. 調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.
- DNase 及び RNase 含有トリス塩酸緩衝液 : 1 M トリス塩酸 50 mL, 塩化マグネシウム六水和物 2.03 g, BSA 50 g, DNase 50,000 Units 及び RNase 1000 Units をそれぞれ秤量し，超純水で溶解し 1 L に定

容した後, 0.22 μm フィルター濾過した. 調製液は使用時まで冷蔵保存（4℃以下）した.

1.3　検体試料

- 豚の血管：東京芝浦臓器株式会社より購入した大動脈組織を脱細胞化処理後，凍結乾燥した.

2.　脱細胞化組織の調製

2.1　調製方法の概要

2.1.1 凍結融解処理

豚大動脈より可能な限り脂肪を除いた. 当該組織を超純水，10 w/v% グリセリン溶液, 10 w/v% トレハロース溶液及び 1 w/v% PVA 溶液のいずれかの溶液に浸し，-80℃で保存, 凍結した. 凍結した溶液を室温で混和しながら解凍した．当該操作を 5,10,15 回繰り返した．処理後，DNase 及び塩化マグネシウム含有生理食塩水を加えて，4℃で振盪しながら 7 日間洗浄（隔日ごとに洗浄液を交換）を行った. 更に, 80 vol%エタノール含有生理食塩水により 3 日間 4℃で振盪した後，ペニシリン/ストレプトマイシン含有クエン酸緩衝液に置換して 3 日間 4℃で振盪した（1 日ごとに洗浄液を交換）．洗浄後，ペニシリン/ストレプトマイシン含有生理食塩水に浸漬した.

2.1.2 組織解析

凍結融解処理は新たな試みであったことから、当該組織を利用し、組織切片の作製及び、組織解析に供した．染色は HE を適用した.

[結果及び考察]

調製した検体は, 試験に十分な量を準備することができた.

B-2. プロテオーム解析による脱細胞化指標ペプチド候補の探索

[試験方法]

1.　試薬・試液及び検体試料

1.1.　試薬

- アセトニトリル：LC 用（シグマ・アルドリッチ社製）
- エタノール：LC 用（関東化学株式会社製）
- 蒸留水：LC 用（関東化学株式会社製）
- 塩化ナトリウム：残留農薬・PCB 試験用（富士フイルム和光純薬株式会社製）
- ギ酸：LC-MS 用（富士フイルム和光純薬株式会社製）
- Protein Extraction Reagent Type 2：C-0606-4BTL（シグマ・アルドリッチ社製）
- タンパク質定量キット：XL-Bradford（アプロサイエンス社製）
- 炭酸水素アンモニウム：LC-MS 用（Fluka 社製）
- トリブチルホスフィン：T7567-10VL（シグマ・アルドリッチ社製）
- ヨードアセトアミド：A3221-10VL（シグマ・アルドリッチ社製）

1.2.　検体試料

- 豚の血管：東京芝浦臓器株式会社より購入した大動脈組織を脱細胞化処理後ビーズ破砕機を用いて細切均質化した.

2.　装置

MS 装置：Synapt-XS（Waters 社製）

LC 装置：ACQUITY UPLC M-class system（Water 社製）

データ処理（ｿﾌﾄｳｪｱ）：MassLynx, Progenesis QI for proteomics（Waters 社製）

3.　測定条件

3.1　LC-QTOFMS 条件

LC 条件

カラム：nanoEase M/Z HSS C18 T3（内径 75 μm，長さ 100 mm，粒子径 1.8 μm，Waters 社製）

移動相流速：0.4 μL/min

注入量：5 μL

カラム温度：40℃

移動相　A 液：0.1 vol%ギ酸

　　B 液：0.1 vol%ギ酸アセトニトリル溶液

グラジエント条件：

時間（分）	A 液（%）	B 液（%）
0.0	99	1
45.0	60	40
47.0	15	85
49.0	15	85
50.0	99	1
60.0	99	1

MS 条件

測定モード：Data Independent Acquisition (DIA)

スキャンモード：Sensitivity mode

イオン化モード：ESI（＋）

キャピラリー電圧：3000 V

脱溶媒温度：250℃

脱溶媒ガス流量：600 L/hr

コーンガス流量：50 L/hr

コーン電圧：30 V

コリジョン電圧：4 eV (Trap), 2 eV (Transfer)

イオンソース温度：80℃

スキャン範囲：50-2000 *m/z*

4.　試験溶液の調製

4.1　調製方法の概要

4.1.1 タンパク抽出

検体試料に Protein Extraction Reagent Type 2 を添加反応した後, 遠心し上清を回収した. 得られた溶液を比色定量法によりタンパク質濃度を測定した.

4.1.2 還元アルキル化

抽出操作により得られたタンパク質溶液にトリブチルホスフィンを加えて室温で反応させた後, ヨードアセトアミドを加えて室温で反応させた.

4.1.3 トリプシン処理

還元アルキル化タンパク質溶液に Trypsin Enhancer 及び Trypsin を添加し，炭酸水素アンモニウム水溶液で調製した後, 緩やかに撹拌及び遠心し，酵素反応を行った．反応を停止し, アセトニトリル溶液により調製したものを試験溶液とした.

[結果及び考察]

脱細胞化組織調製法として物理処理（超音波，加圧，凍結融解等），化学処理（界面活性剤等），酵素処理（トリプシン, DNase, α-ガラクトシダーゼ等）が用いられる．しかしながら, 処理ごとに得られる脱細胞化組織におけるタンパク質の組成及び残留の差異により医療機器製品の安全性・有効性及び品質に影響を与える可能性がある．一方，これらタンパク質（ペプチド断片）は，十分な水準における検出且つ量的変動の追跡が可能な場合，評価指標となりうる．昨年度は, HHP 処理及び SDS 処理に供した脱細胞化組織についてプロテオーム解析を行った．本年度は，凍結融解処理試料におけるプロテオーム解析結果について報告する.

超純水, 10 w/v% グリセリン溶液, 10 w/v% トレハロース溶液及び 1 w/v% PVA 溶液を用いた各種凍結融解処理において，Bradford 法によるタンパク質の定量結果を図 1 に示した．脱細胞化効率は，病理解析及び核酸定量等の総合的な判断を要するが, 各種タンパク質の除去・残留に関しては各処理共に 5 回以降の量的変動は小さく， 15 回で十分に達成

されると示唆された. 各凍結融解処理に得られたブタ血管組織試料のタンパク濃度を一定に調製した試験溶液を LC-QTOFMS に供し, プロテオーム解析により同定スコアの高いタンパク質 30 種を選出した（表 1）. HHP 処理及び SDS 処理と同様に Actin や Vimentin 等の細胞, 細胞膜及び骨格筋の維持に関与する普遍的なタンパク質をはじめ, Hemoglobin や Serum albumin といった循環器系血管組織に起因するタンパク質は凍結融解処理においても検出可能であった. 各凍結融解処理において, 未処理組織検体に対し共通して増加傾向（処理/未処理比 ＞2）のタンパク質は 8 種，減少傾向（処理/未処理比 ＜0.5）のタンパク質は 2 種であった. また，凍結融解処理は Collagen type VI alpha 2 chain, Fibulin-5 及び Biglycan 等の細胞外マトリックス構成成分タンパク質の保存が顕著であった. 一方，Albumin 及び Tropomyosin 2 は効率良く除去されていた. 以上のタンパク質群は，細胞除去や組織状態の評価における指標タンパク質として有用であると推察された. 一方，今回同定されたその他タンパク質群においても, 細分化された脱細胞化処理の手法別の比較に有用であることが示唆された.

B-3. TTC 除外規定不純物（N-ニトロソ化合物）の分析法開発

[試験方法]

1. 試薬

- N-ニトロソ化合物標準品

2. 装置

LC-QTOFMS

MS 装置：X500R QTOF（AB SCIEX 社製）

LC 装置：Nexera LC-30 HPLC system（Shimadzu 社製）

LC-MS/MS

MS 装置：Xeno TQ-S micro（Waters 社製）

LC 装置：ACQUITY UPLC H-Class system（Waters 社製）

3. 測定条件

3.1 LC-QTOFMS 条件

LC 条件

カラム：Inert Sustain C18（内径 2.1 mm，長さ 150 mm, 粒子径 1.8 μm, GL Sciences 社製）

移動相流速：0.2 mL/min

注入量：1 μL

カラム温度：40℃

移動相 A 液：0.1 vol%ギ酸

B 液：0.1 vol%ギ酸アセトニトリル溶液

グラジエント条件：

時間（分）	A 液（%）	B 液（%）
0.0	80	20
3.0	80	20
8.0	5	95
15.0	5	95
18.0	80	20
20.0	80	20

MS 条件

測定モード: Data Independent Acquisition (DIA, SWATH®)

イオン化モード：ESI（＋）

スプレー電圧：5500 V

イオンソース温度：400℃

イオンソースガス：60 psi

カーテンガス：30 psi

CAD ガス：7

コーンガス流量：50 L/hr

DP 電圧：60 V

コリジョン電圧：35V (定量), 55V (定性)

3.2 LC-MS/MS 条件

LC 条件

「3.1 LC-QTOFMS 条件」と同条件

MS 条件

測定モード：Multiple reaction monitoring (MRM)

イオン化モード：ESI（＋）

キャピラリー電圧：3500 V

ソース温度：150℃

脱溶媒温度：600℃

脱溶媒ガス流量：1000 L/hr

コーン電圧：40 V

コーンガス流量：50 L/hr

[結果及び考察]

医療機器関連の ISO の動向を見る限り, 化学分析を利用した生安性評価は国際標準になりつつある. 材料メーカが全情報を開示しないことから, 医用材料に含まれる化合物の網羅的な同定，定量は事実上不可能であり, 毒性学的懸念の閾値（TTC）の概念を導入した分析が検討されている. 脱細胞化組織も全組成の評価は非常に困難であることから，TTC の概念は将来的に利用される可能性が高い. TTC の概念は，まず除外規定化合物である，N-ニトロソ化合物，アゾキシ化合物，ステロイド類，アフラトキシン類，ダイオキシン類を検出することが前提である. 当該化合物の化学分析による検出法は, 当部でも開発が進められており，本分析法により N-ニトロソ化合物標準品において高感度な検出が可能であった. また，本分析法は未知化合物を含む網羅的分析法としての有用性が高い（特許出願中）. しかしながら，多種多様な医用材料及び適用方法（埋植等）により暴露経路における毒性に関する知見や評価法については未整備の状態にある. 現時点で脱細胞化組織は, 新規性の高い材料であることから, 化学分析を利用した評価を実施するには時期尚早であるが, 将来的には動物実験削減につながる分析による評価が基本となる可能性もあることから, 引き続きデータを収集し, その必要性についても議論を進めて行く必要がある.

B-4.革新的医用材料の機能性評価

[試験方法]

1. 材料

- RNAApt 及び RNAApt 変異体

2. 機能性評価

2.1 標的分子捕捉能評価

- Octet を利用した，RNAApt 及び RNAApt 変異体と標的分子の分子間相互作用解析から，材料の機能を評価した.

[結果及び考察]

革新的な医用材料の機能評価は in vivo 試験が有用ではあるが, 革新的医用材料は複合的な作用により, 有効性を示すことが多いため, 動物実験だけでは詳細な機構が不明である．本研究では Octet を利用した，分子間相互作用解析を実施した. 試験の結果, RNAApt では標的分子に強い結合能を示したが，RNAApt 変異体では結合能が低下した. Octet を利用した試験系では，同様な装置である BIAcore と異なり，ウェルプレート上で試験可能であることから, 血清成分含有条件のようなクルードなサンプルでの評価にも有用であった. 当該試験を実施することで，詳細な情報を取得でき, 動物実験や臨床試験の削減につながる.

B-5. 脱細胞化組織におけるエクソソーム評価

[試験方法]

1. 材料

芝浦臓器よりブタ大動脈を購入し, 以下の検体を作製した.

超純水, 10 w/v% グリセリン溶液, 10 w/v% トレハロース溶液及び 1 w/v% PVA 溶液を用

いた各種凍結融解処理検体.

検体は凍結乾燥後，ビーズ破砕機を用いて細切均質化した.

2. 調製及び抽出

試料に滅菌水を加え，振盪後，遠心分離を行い，液体を取り除いた．コラゲナーゼ等の処理した. 処理溶液からエクソソームを回収した．エクソソーム溶液は NANOSIGHT によって解析した.

[結果及び考察]

NANOSIGHT の解析結果より，超純水，10 w/v% グリセリン溶液，10 w/v% トレハロース溶液及び 1 w/v% PVA 溶液を用いた各種凍結融解処理脱細胞化組織のいずれにおいてもエクソソームの粒子径, 粒子数を評価できた．また，脱細胞化処理後でもエクソソームが検出できたことから, 脱細胞化組織を利用した医療機器においては, 動物由来エクソソームが人体に移行する可能性が示唆された. 凍結融解に利用した溶液の評価を実施した結果，溶液毎に挙動が異なり，最終製品での機能性に影響を与えると考えられた.

B-6. 国際標準化活動

ISO TC194/WG19 において「Medical devices utilizing bioengineered biological substances — Application of risk management」の文書作成が進められている. 当該 WG の会議に参加し，情報を収集した．今後，必要に応じて本研究の成果を今後共有し, 標準化を進めていきたい.

C. 結論

本研究では脱細胞化組織をはじめとした革新的材料の特性や品質を的確に評価する試験法構築を目指し，「プロテオーム解析による脱細胞化指標ペプチド候補の探索」，「TTC 除外規定不純物(N-ニトロソ化合物)の分析法開発」,「革新的医用材料の機能性評価」,「脱細胞化組織におけるエクソソーム評価」の評価法を開発したと共に「国際標準化活動」を推進した．これらの成果を次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業の脱細胞化組織利用機器審査 WG に共有し，当該製品の評価指標を作成した. 当該指標は通知として発出されたため, 国内における製品開発促進に貢献できた.

当該材料は, 再生医療にも利用可能であり，日本発の当該医療機器開発と国際展開を促進するためには，品質，安全性を評価する手法の開発と国際標準化がまずます重要となってくる. 国際標準獲得には評価法の再現性, 妥当性評価及び査読を受けた論文化が必須となると共に, 標準化までの期間に技術を確保するための特許出願も戦略として重要である. 今後も継続して活動を進めていく予定である.

D. 研究発表

1. 次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業（厚生労働省），令和 6 度脱細胞化組織利用機器審査 WG 報告書
2. 脱細胞化組織を利用した医療機器の評価、野村祐介 、加藤玲子、長谷川千恵、山本栄一、日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2024、2024/10/29、国内、口頭

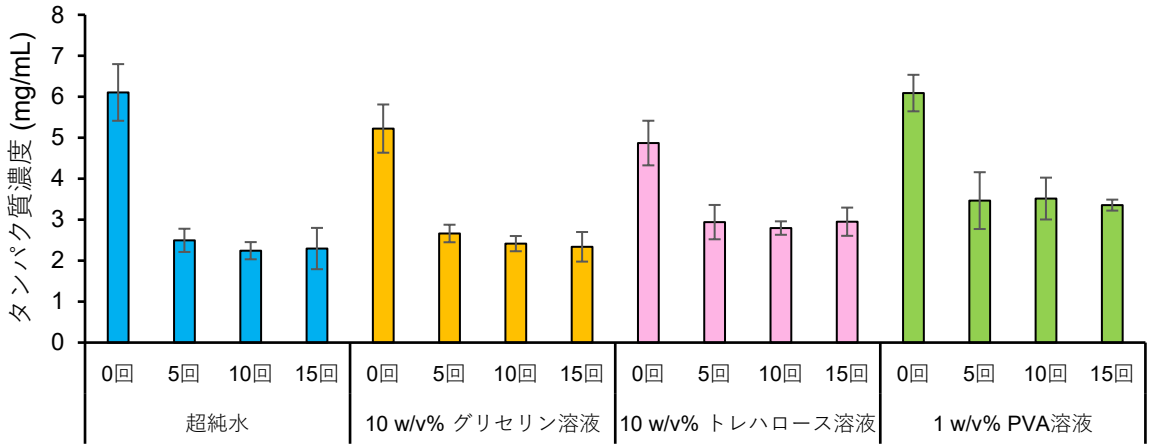
E. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む.）

１．特許取得

- 特願　WO/2025/058014 核酸アプタマー及び当該核酸アプタマーを含む骨再生誘導材
- 特願 2025-063598　Ｎ－ニトロソ化合物の分析法

２．実用新案登録	
３．その他	令和 6 年 11 月 29 日付け薬生機審発 1129 第 2 号：厚生労働省医薬局医療機器審査管理課長通知「次世代医療機器評価指標の公表について」別紙 1「脱細胞化組織利用機器の品質及び安全性に関する評価指標」



(n=4)

図 1. 凍結融解処理別及び処理回数における残留タンパク質の濃度比較

表 1 脱細胞化指標ペプチド候補の探索

No.	推定タンパク質 Proteome ID: UP00000827 (Sus scrofa (Pig) / Duroc), Taxon ID: 9823	データベース登録番号	同定スコア	タンパク質計量値（平均値，n=4）												
				超純水			10 w/v% グリセリン溶液			10 w/v%トレハロース溶液			1 w/v% PVA溶液			BSA
				未処理	処理	Rate	未処理	処理	Rate	未処理	処理	Rate	未処理	処理	Rate	（背景値）
1	Myosin-11 ［GN=MYH11 PE=1 SV=1］	A0A287ASK1	579.8	3.0E+05	3.3E+06	11	4.4E+05	4.7E+06	11	5.0E+05	5.7E+06	11	2.3E+05	4.0E+06	17	1.8E+04
2	Actin alpha 2_ smooth muscle ［GN=ACTA2 PE=3 SV=1］	F6Q364	382.5	3.7E+06	6.2E+06	1.6	5.5E+06	7.4E+06	1.3	6.4E+06	9.7E+06	1.5	1.1E+07	9.4E+06	0.9	9.4E+04
3	Uncharacterized protein ［GN=ACTG1 PE=1 SV=1］	A0A287AA77	289.9	5.9E+05	1.4E+06	2.4	8.4E+05	1.9E+06	2.3	1.3E+06	1.6E+06	1.2	1.8E+05	1.4E+06	7.7	1.5E+04
4	Vimentin (Fragments)	P02543	260.2	4.8E+05	1.5E+05	0.3	5.7E+05	1.1E+05	0.2	6.6E+05	2.6E+05	0.4	3.3E+05	1.9E+05	0.6	2.9E+06
5	Albumin ［GN=ALB PE=1 SV=2］	A0A287BAY9	142.3	4.4E+05	3.0E+04	0.1	3.0E+05	1.7E+04	0.1	4.9E+05	3.2E+04	0.1	3.7E+05	3.0E+04	0.1	5.0E+07
6	Serum albumin precursor (Allergen Bos d 6).	P02769	140.3	2.3E+04	5.9E+04	2.6	3.7E+04	7.3E+04	2.0	7.6E+04	8.5E+04	1.1	2.5E+04	6.0E+04	2.5	2.8E+08
7	Myosin regulatory light chain 2_ smooth muscle iso	P29269	97.7	2.8E+05	1.1E+06	3.8	5.3E+05	1.7E+06	3.2	9.1E+05	2.2E+06	2.4	2.1E+05	1.8E+06	8.5	1.1E+04
8	Transgelin ［GN=TAGLN PE=1 SV=1］	A0A287AZK2	96.4	1.3E+06	5.5E+05	0.4	2.1E+06	4.6E+05	0.2	3.0E+06	9.2E+05	0.3	1.2E+06	7.1E+05	0.6	2.5E+06
9	Tropomyosin 2 ［GN=TPM2 PE=1 SV=2］	A0A287AD38	84.1	6.5E+05	7.7E+04	0.1	5.0E+05	6.5E+04	0.1	6.9E+05	7.3E+04	0.1	1.3E+06	9.7E+04	0.1	6.0E+03
10	Microfibril associated protein 4 ［GN=MFAP4 PE=4 SV=1］	A0A287AZP0	78.8	1.4E+06	1.5E+06	1.1	9.8E+05	6.3E+05	0.6	3.6E+06	1.7E+07	4.7	1.9E+05	2.5E+06	13	5.9E+03
11	Myosin regulatory light chain 12A isoform 2 ［GN=MYL12A PE=1 SV=2］	F2Z5V6	78.1	6.0E+04	7.1E+04	1.2	5.6E+04	9.8E+04	1.7	7.6E+04	1.2E+05	1.5	6.7E+04	1.1E+05	1.6	9.5E+02
12	Uncharacterized protein ［GN=ACTN1 PE=1 SV=1］	I3LLY3	74.7	5.2E+04	6.6E+05	13	3.4E+05	6.0E+05	1.8	2.0E+05	7.2E+05	3.6	1.4E+05	6.0E+05	4.4	6.7E+04
13	Hemoglobin subunit beta ［GN=HBB PE=1 SV=1］	A0A5G2QRW3	70.3	2.0E+05	1.1E+05	0.5	1.1E+06	1.1E+05	0.1	7.5E+05	4.1E+04	0.1	3.4E+05	6.9E+04	0.2	4.5E+06
14	Myosin motor domain-containing protein ［GN=MYH10 PE=1 SV=4］	F1SSA6	58.5	2.2E+04	3.9E+05	17	3.3E+04	3.5E+05	10	4.1E+03	6.2E+05	149	2.3E+04	5.1E+04	2.2	2.5E+03
15	Tubulin alpha chain ［GN=LOC100158003 PE=3 SV=1］	A0A5G2QX54	50.5	8.6E+04	2.2E+05	2.5	1.7E+05	1.5E+05	0.9	1.8E+05	1.7E+05	1.0	8.0E+04	4.3E+05	5.3	1.4E+03
16	Trypsinogen isoform X1 ［GN=LOC100302368 PE=4 SV=1］	A0A287B5W2	49.8	5.7E+05	3.3E+05	0.6	4.0E+05	2.1E+05	0.5	4.5E+05	3.5E+05	0.8	4.2E+05	6.2E+05	1.5	2.5E+05
17	Tubulin alpha chain	P02550	49.8	5.9E+04	8.2E+04	1.4	6.4E+04	8.2E+04	1.3	1.1E+05	7.1E+04	0.7	3.6E+04	2.1E+05	5.7	7.4E+02
18	Tubulin beta 4B class IVb ［GN=TUBB4B PE=1 SV=2］	A0A287A217	41.8	6.5E+04	4.9E+05	7.4	2.1E+05	6.6E+05	3.1	1.6E+05	5.9E+05	3.6	1.6E+05	7.1E+05	4.5	2.1E+04
19	Histone H4 ［PE=1 SV=2］	P62802	32.9	1.0E+05	1.7E+05	1.6	1.6E+05	3.5E+05	2.1	1.8E+05	4.5E+05	2.6	9.3E+04	3.4E+05	3.6	1.1E+04
20	Calponin H1_ smooth muscle (Basic calponin)	Q08092	32.8	1.6E+05	1.4E+05	0.9	1.4E+05	6.9E+04	0.5	1.4E+05	9.3E+04	0.7	3.4E+05	9.9E+04	0.3	1.3E+05
21	Uncharacterized protein ［GN=COL6A1 PE=1 SV=1］	A0A5G2QW87	32.8	2.6E+05	1.8E+06	6.8	5.3E+05	8.5E+05	1.6	2.9E+05	1.0E+06	3.6	2.4E+05	2.2E+06	9.3	5.1E+05
22	Uncharacterized protein ［GN=MYL6B PE=1 SV=1］	A0A5G2QF69	32.8	2.4E+05	5.0E+05	2.1	7.1E+04	7.5E+05	11	9.3E+04	2.0E+06	21	7.1E+04	3.6E+05	5.0	1.1E+05
23	Histone H2B ［GN=H2BC11 PE=3 SV=1］	A0A287A7G8	26.6	1.5E+05	3.8E+05	2.6	7.1E+05	2.1E+05	0.3	1.2E+05	2.2E+06	19	1.6E+05	6.7E+05	4.2	9.1E+03
24	Collagen type VI alpha 2 chain ［GN=COL6A2 PE=1 SV=3］	I3LQ84	24.5	8.4E+04	5.2E+05	6.3	1.6E+05	1.7E+06	10	2.4E+05	1.2E+06	5.2	1.3E+05	1.6E+06	12	6.5E+04
25	Fibulin-5 ［GN=FBLN5 PE=1 SV=3］	F1SD87	24.3	3.1E+05	6.4E+05	2.0	4.0E+05	9.8E+05	2.5	4.0E+05	1.5E+06	3.8	2.0E+05	7.3E+05	3.7	1.0E+05
26	Fibromodulin ［GN=FMOD PE=1 SV=3］	F1S6B5	18.3	3.2E+04	3.7E+05	12	2.2E+05	5.8E+05	2.6	9.1E+05	5.6E+05	0.6	9.5E+04	4.9E+05	5.2	4.1E+02
27	Biglycan ［GN=BGN PE=1 SV=1］	A0A5K1UKC5	17.1	3.1E+04	4.7E+05	15	2.3E+05	1.1E+06	5.0	8.8E+04	1.1E+06	13	1.1E+05	8.0E+05	7.3	1.5E+03
28	Galectin ［GN=LGALS1 PE=1 SV=1］	A0A5G2Q797	16.7	4.3E+04	3.2E+05	7.4	8.5E+04	5.0E+05	5.9	7.6E+05	3.0E+05	0.4	6.7E+05	4.6E+05	0.7	7.3E+04
29	Histone H2A ［GN=H2AJ PE=3 SV=1］	A0A287ANS6	16.5	4.4E+03	7.8E+03	1.8	6.3E+03	4.2E+04	6.7	5.7E+04	5.2E+03	0.1	2.8E+03	4.6E+03	1.6	0
30	Histone domain-containing protein ［PE=1 SV=3］	F2Z581	16.5	2.2E+04	9.9E+04	4.6	2.0E+04	2.9E+05	14	3.3E+05	4.8E+04	0.1	6.4E+03	2.3E+04	3.6	4.7E+02

青字 (Rate > 2), 赤字 (Rate < 0.5).