



Production of scFv-Fc Fusion Protein Using Genetically Manipulated Quails

遺伝子組換えウズラによる scFv-Fc 融合タンパク質の生産

(JBB, Vol. 102, No. 4, 297-303, 2006)

河邊 佳典・上平 正道*・小野健一郎・京極 健司・西島 謙一・飯島 信司

近年急速に需要が高まってきている抗体医薬に代表されるモノクローナル抗体やエリスロポエチン (EPO) といった医薬品タンパク質 (バイオロジクス) は、遺伝子組換えされたチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞などの細胞培養によって生産されているが、高い生産コストや対象の多様化にともなう生産能力の限界といった問題が指摘されるようになり、細胞培養にかわるバイオロジクス生産のための実用的なプラットホームの開発が望まれている。21世紀に入ってバイオロジクス生産のための新しいプラットホームとして、トランスジェニック動植物による生体バイオリアクターが注目されており、安価に生産できるシステムとして、ニワトリの卵への生産が期待されている。しかし、ニワトリなどの鳥類では、卵殻中で胚発生が進行するため、哺乳類と同じ手法によるトランスジェニック作製が困難であること、目的遺伝子の効率的な導入発現システムを新規に構築する必要があることなどから、生産システムとしては技術的にまだ確立されていない。ニワトリを生体バイオリアクターとして用いる先駆的な例として、ニワトリ由来のレトロウイルスベクターを用いて作製したトランスジェニックニワトリで導入遺伝子 (ヒトインターフェロン α -2b) が血中や卵で発現されたことが報告されているが、その発現レベルは低く (数 $\mu\text{g/ml}$)、また子における遺伝子の伝播効率も0.06-0.7%であり、実用には程遠いものだった²⁾。近年、レンチウイルスベクターによるトランスジェニック鳥類作製が報告されており、オポアルブミンの制御領域の一部を使用した卵白特異的な発現の報告がなされているが、発現量の点でまだ不十分 (10-100 $\mu\text{g/ml}$) である³⁾。

このような状況下我々は、胚への遺伝子導入において、ヒトの遺伝子治療に使われているものと同タイプ (MoMLV) のレトロウイルスベクターを用い、VSV-Gを外皮タンパク質に利用し、超遠心により濃縮したウイルス溶液を胚へ微量注入することによって、100%の効率で導入遺伝子を体組織に有しており、さらに80%以上の頻度で導入遺伝子を子に伝播可能な方法を開発した⁴⁾。さらに、導入遺伝子発現を最大化するためにウイルス注



図1. トランスジェニックウズラ

入する胚発生段階の最適時期の決定を行い、ニワトリ胚では孵卵55時間目、ウズラ胚では孵卵48時間目が最適であることを見いだした。実用タンパク質生産の例として、Fc融合型一本鎖抗体 (scFv-Fc) の生産を試み、胚操作して誕生させたウズラ・ニワトリにおいて、血清中で mg/ml オーダーでの高発現に成功した。また卵中での高発現も見られ、卵白中で平均5.6 mg/ml での生産が可能であった。さらに、導入遺伝子は子孫への伝播も可能であり、高発現も観察された⁵⁾。本研究におけるトランスジェニック鳥類作製技術は、これまでに報告がないほど高発現・高頻度であり、はじめて鳥類が生体バイオリアクターとして実用可能な発現レベルに到達したものである。他にも全抗体やEPOを生産するニワトリの作製にも成功している。今後は、バイオロジクス生産のためのプラットホームとして本システムの実用化を促進するために、目的遺伝子を安定して高発現可能なシステムの開発、生産物の糖鎖構造の制御による生物活性の向上、鳥類ならではのバイオロジクス生産などの検討が必要である。

- 1) Dove, A.: *Nat. Biotechnol.*, **20**, 777 (2002).
- 2) Rapp, J. C. *et al.*: *Transgenic Res.*, **12**, 569 (2003).
- 3) Lillico, S. G. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 1771 (2007).
- 4) Mizuarai, S. *et al.*: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **286**, 456 (2001).
- 5) Kamihira, M. *et al.*: *J. Virol.*, **79**, 10864 (2005).

* 著者紹介 九州大学大学院工学研究院化学工学部門 (教授) E-mail: kamihira@chem-eng.kyushu-u.ac.jp