

微生物発現系の最前線～現状と課題

特集によせて

幸田 明生¹・橋本 義輝²

遺伝子組換えによるタンパク質発現技術は、医薬用途、工業用途など幅広い分野において必要不可欠な技術として貢献してきた。組換えタンパク質生産の宿主としては、大腸菌、酵母、昆虫細胞、植物細胞、動物細胞、トランスジェニック動物などのさまざまな系が開発されてきたが、それぞれ長所短所を有し、生産させようとする目的タンパク質によって使い分けられているのが現状である。たとえば、抗体医薬などの医薬品としての用途であれば、目的の生理活性の保持だけでなく、糖鎖構造の同一性、均一性や、関連して抗原性などが重要なポイントとなる。そのため、タンパク質の構造に依存した生理活性の確認などが目的の場合には大腸菌を宿主とする生産、同一の糖鎖構造を持つタンパク質の調製などが目的の場合には真核生物を宿主とする生産を行う。他方、工業用途としての酵素タンパク質の生産の場合は、目的の活性を有しさえすれば、糖鎖構造などは厳密な制御が求められるケースも多い。そこでは、低コストで大量供給できるかという視点がより重要となる。さらに例をあげると、体外診断薬の原料として酵素タンパク質を用いる場合は、目的の活性を有する状態での生産に加え、夾雑タンパク質の混入を極力抑えなければならないケース、つまりタンパク質純度がきわめて重要となる場面もある。このように、用途によって生産する酵素・タンパク質に求められる性質はかなり異なるため、それらすべてに対して万能な宿主-発現系は現在のところ存在しないというのが事実である。だからこそ、さまざまな特性を有する宿主-発現系が開発・発展してきており、我々は、それらの特性を理解したうえで選択する必要がある。

本特集では、微生物の発現系に改めてスポットを当て、実験レベルのツールとして研究者が最初に選択するであろう大腸菌でのタンパク質発現から、工業レベルでのタンパク質生産も視野に入れ、各宿主-発現系の特徴を最新の知見を交えながら紹介いただいた。各系の利点だけでなく、課題にも触れていただき、今後、工業生産を検討する際の一助となることを目指した。

まず上垣ら(産業技術総合研究所)は、汎用されている大腸菌発現系において、導入遺伝子のコピー数を制御する観点から、その応用技術について述べている。大腸菌での発現系では封入体が形成されてしまうケースも多

いが、導入遺伝子のコピー数を制御して、つまり染色体導入型ワンコピー発現系を利用することでその問題をクリアできるケースがあることを紹介している。松田ら(味の素)は、アミノ酸の工業的生産菌として長年利用されてきた *Corynebacterium glutamicum* が、実は優れたタンパク質分泌能を有していることを見だし、本菌を用いたタンパク質生産システム「CORYNEX[®]」を開発した。本システムは、バイオ医薬品の新規生産系としても注目されている。花方ら(ヒゲタ醤油)の開発した *Brevibacillus* 発現システムは異種タンパク質を効率的に分泌生産できる特長を有している。さらに、BIC (*Brevibacillus in vivo cloning*) 法と名付けられた簡便なクローニング手法により複数の発現様式を容易に試験することも可能となっている。小林ら(筑波大学大学院)は、さまざまな抗生物質の生産菌として知られる *Streptomyces* 属放線菌で機能する誘導型高発現系 (PnitA-NitR システム) シャトルベクターを開発した。増殖の早い大腸菌での発現プラスミド構築など研究の迅速化が可能となった。正木ら(岐阜県産業技術センター)は、生デンプンを分解できるアミラーゼなど、魅力的な酵素生産酵母として酒類総合研究所にて単離された担子菌酵母 *Cryptococcus* sp. S-2 について、タンパク質発現宿主としての可能性を紹介している。高密度培養技術など関連する特長についても紹介している。坪井ら(大関)は、我が国において長年にわたり発酵産業に利用されてきたカビ(麹菌)にスポットを当て、その特長を紹介している。麹菌のタンパク質分泌能力は真核生物の中でもきわめて高く、酵素タンパク質によっては数十グラム/L以上の生産性を示すケースもあり、課題も含めて概説している。

既存の発現系を試して有効でなかった場合には、独自の宿主-発現系を新たに構築せざるをえないことも多い。新たな宿主-発現系を開発するには、発現カセットの宿主微生物での転写・翻訳の可否、その発現カセットに関与する宿主由来因子の有無、宿主で複製可能なプラスミド利用の可否などさまざまな問題点がある。本特集には、新たな宿主-発現系の開発の際の有益な情報も多く含まれており、一助となれば幸いである。

著者紹介 ¹大関株式会社 商品戦略部 (部長) E-mail: akio.kouda@ozeki.co.jp

²筑波大学大学院 生命環境科学研究科 (准教授) E-mail: hashimoto.y.gu@u.tsukuba.ac.jp