

新規バイオ医薬品生産宿主の開発 —出芽酵母の糖鎖構造改変—

SATテクノロジー・ショーケース2014

■ はじめに

バイオ医薬品とはタンパク質等から成る医薬品を指し、世界的に大幅な需要増加の傾向にある。現在、バイオ医薬品は主に哺乳動物培養細胞を宿主として生産されているが、培養コストが高いこと、ヒト感染性ウイルスを含む危険性があること等が問題となっている。一方酵母は優良な宿主であるが、タンパク質に付加される「糖鎖」の構造がヒトと大きく異なり、免疫応答を引き起こす等の問題がある。そこで、酵母によるバイオ医薬品生産系開発を目指し、酵母型糖鎖をヒト型へと変換する技術の開発に取り組んだ。

また酵素固定化酵母を用いた*in vitro*でのヒト型糖鎖合成系の開発も行った。

■ 活動内容

1. 酵母のN-結合型糖鎖構造改変

酵母型糖鎖はヒトに対し免疫応答を引き起こすため、これをヒト型に改変するべく3つの糖鎖合成関連遺伝子の破壊とマンノシダーゼ遺伝子の導入を行った。その結果、酵母型糖鎖をヒト型糖鎖中間体へと改変することに成功した。

2. 酵母のO-結合型糖鎖量の低減

組換えタンパク質の分泌阻害等をもたらすO-結合型糖鎖の量を低減するため、N-結合型糖鎖構造改変酵母のPMT1遺伝子(O-結合型糖鎖合成に必須)を破壊した。しかし、その結果酵母の増殖能が著しく悪化した。

3. 不均衡変異導入法による増殖回復変異体の選抜

増殖能悪化の問題を解決するため、変異型DNAポリメラーゼ遺伝子を用いた不均衡変異導入法により、変異体の選抜を行ったところ、増殖回復変異体を得ることに成功した。これにより、N-結合型・O-結合型両糖鎖改変酵母の樹立が可能となった。

4. 酵素固定化酵母によるヒト型糖鎖合成系の開発

酵母細胞壁に共有結合するPIR1タンパク質と、糖転移酵素の融合タンパク質を発現する酵母を樹立した。この酵母を固定化酵素ビーズとして用いて基質と反応させることで、細胞外にて糖鎖合成を行うことに成功した。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

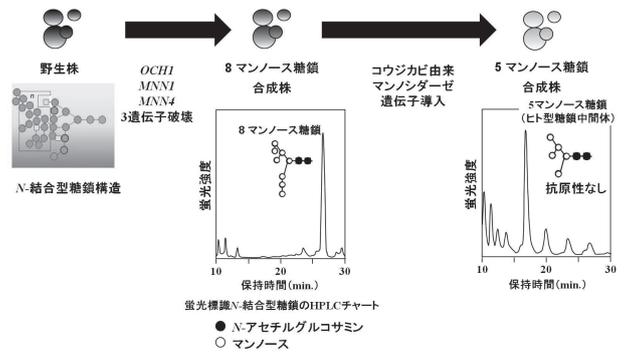
特許公開 2012-152211 (2012/8/16)

「糖鎖改変酵母及びそれを用いた糖タンパク質の製造方法」

特許第 5119466 号 (2012/11/2)

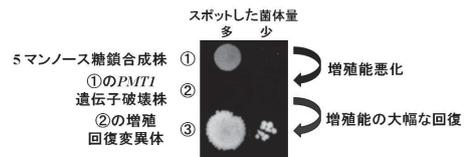
「酵母の製造方法、酵母、及び糖タンパク質又はβ-グルカンの製造方法」

※本研究は平成 21 年度 NEDO 若手研究グラントによって実施された。

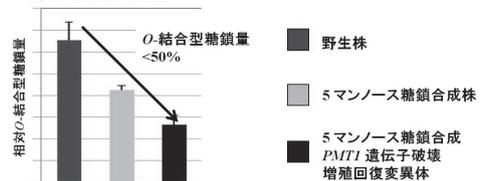


酵母の N-結合型糖鎖構造改変

平板培地上に一定数の酵母をスポットし、高温で培養した結果



O-結合型糖鎖の定量



酵母の O-結合型糖鎖合成遺伝子の破壊と変異体選抜

代表発表者 **富本 和也(とみもと かずや)**
 所属 **(独)産業技術総合研究所 健康工学研究部門
 細胞分子機能研究グループ**
 問合せ先 〒661-0974 兵庫県尼崎市若王寺 3-11-46
 TEL:06-6494-7809
 k-tomimoto@aist.go.jp

■キーワード: (1)バイオ医薬品
 (2)糖タンパク質
 (3)出芽酵母