

ヒトに優しいものづくり ～糖の鎖を介して～

三 崎 亮*

研究室紹介

Production of human available proteins with sugar chain

Key Words : Glycan, Bioreactor, Biopharmaceutical, Plant, Yeast

1. はじめに

昨年(平成21年)に発足した藤山研究室(生物学国際交流センター・応用微生物学領域)では、藤山和仁教授の下で、タンパク質翻訳後修飾の一つ糖鎖付加に着目した高付加価値医療用タンパク質生産を可能とする異種生物(植物、昆虫、微生物)有用バイオリアクターの構築を目指している。また、1978年に設置され30年以上の歴史を持つ生物学国際交流センターに居を構える我々は、前任の関達治教授より受け継いだ海外学術機関との交流を日々継承・発展させている。特に東南アジアは微生物資源が非常に豊富であり、応用微生物学領域に位置付けられる当研究室では有用微生物の探索にも力を注いでいる。研究室スタッフとしては、昨年8月に筆者が加入し、本年9月より大橋貴生助教を迎え、若い研究室ながらも充実した研究体制が整ってきた。

2. 研究紹介

2-1. バイオリアクターの利点と問題点

近年のバイオテクノロジー技術の進歩に伴い、動物細胞以外でも微生物や植物などの様々な宿主で医療品をはじめとした人類に役立つタンパク質が生産されてきている。これまでに、我々も植物を生物工場、すなわちバイオリアクターとして抗体やリソソーム酵素などの医療タンパク質の生産を行ってきた。

植物を宿主とした組換えヒトタンパク質生産を考えてみた時に「(太陽)光エネルギーを利用できる」「容易なスケールアップからの低コスト化が見込める」「動物病原体の汚染がない」「食することや種子での保存が可能である」といった利点を持つ。このように、異種生物をタンパク質生産の場とすることで有用タンパク質の大量かつ安価な生産が可能である。しかしながら、良いことばかりではない。実は、この様にして生産されたタンパク質は、「ヒト」と「ヒトではない」という宿主間の翻訳後修飾機構の違いから期待される効果を発揮できないことがある。

2-2. 糖鎖への注目

重要な翻訳後修飾機構として糖鎖付加がある。糖鎖は文字通り糖が鎖のように連なったものであるが、生体内では「タンパク質の分解からの保護」「タンパク質のフォールディング」「タンパク質の輸送」「細胞間接着」など多くの大切な働きを担っている。糖鎖は、基本的にタンパク質アミノ酸のアスパラギンに結合したN-結合型糖鎖と、セリンもしくはスレオニンに結合したO-結合型糖鎖に大別される。特に研究の進んでいるN-結合型糖鎖に注目すると、タンパク質が小胞体、ゴルジ体を經由する過程で様々な糖鎖合成酵素により修飾を受け成熟する(図1)が、この糖鎖修飾機構が生物種の間で異なる。例えば、植物では真核生物タンパク質翻訳後修飾機構を持つものの、糖鎖修飾は動物のそれと異なる。動物型糖鎖では分岐パターンが異なっていたり、その非還元末端にガラクトースやシアル酸の付加が認められる。一方で、植物型ではキシロース結合が存在し還元末端側のフコースも動物型の $\alpha 1,6$ ではなく $\alpha 1,3$ 結合である(図2)。とりわけ、これら植物特有の糖鎖構造は生体内においてアレルゲンとして作用することも指摘されている。植物を宿主として生産した



* Ryo MISAKI

1975年1月生

大阪大学大学院・工学研究科・応用生物学専攻(2004年)

現在、大阪大学・生物学国際交流センター 助教 工学博士 糖鎖工学・生化学・細胞生物学

TEL : 06-6879-7238

FAX : 06-6879-7454

E-mail : misaki@icb.osaka-u.ac.jp

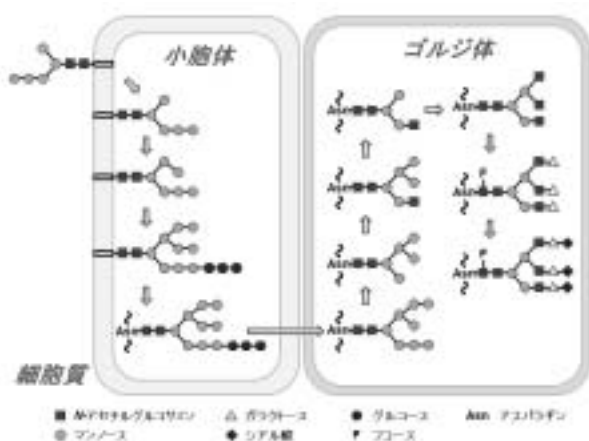


図1 動物細胞内でのN-結合型糖鎖合成経路



図3 植物糖鎖合成経路のヒト型への変更

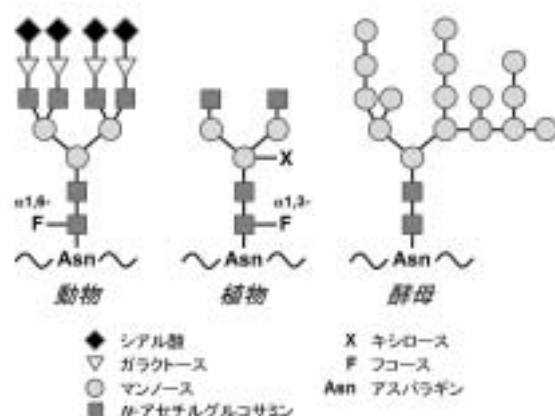


図2 動物、植物、酵母に見られる典型的なN-結合型糖鎖構造

動物タンパク質には実際には植物型の糖鎖が付加されるため、生体内において本来の活性を発揮できない可能性があるというわけである。このことから、バイオリアクターを用いて生産された有用タンパク質が、よりホンモノに近い効果を発揮できるようによりホンモノに近い翻訳後修飾を受ける環境を構築する必要がある。

2 - 3 . ヒト型糖鎖付加機能を持つバイオリアクターの開発

植物や昆虫、微生物の持つバイオリアクターとしての魅力を生かしつつ、その糖鎖合成経路を動物適合型に改変できないだろうか。我々は、遺伝子組換え的手法を用いてこの切り口から問題を解決しようとしている(図3、4)。アプローチの一つとして、動物型糖鎖を合成するために必要な糖鎖修飾酵素(例えばガラクトース転移酵素、シアル酸転移酵素)の

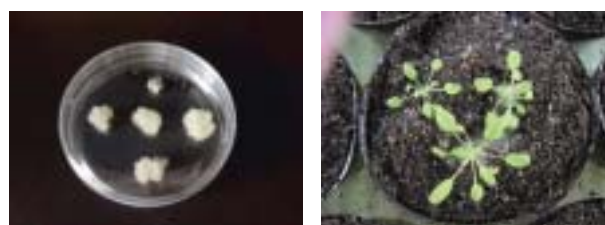


図4 動物由来糖鎖修飾酵素遺伝子を導入したタバコ培養細胞(左)とシロイヌナズナ(右)

遺伝子をモデル植物に導入し発現させる。一方で、モデル植物より植物特有の糖鎖を合成する β 1,2-キシロース転移酵素あるいは α 1,3-フコース転移酵素の遺伝子レベルでの発現抑制を行っている。この結果、タンパク質大量生産工場としての魅力と、重要な翻訳後修飾機構である動物型糖鎖合成能を持つ宿主植物を構築できる。この優秀なバイオリアクターを利用することで、動物細胞を経由せずとも効果の高い医療用タンパク質の大量生産が期待できるというわけである。我々の研究室では、高速液体クロマトグラフィーや質量分析装置(図5)を用いた詳細な糖鎖構造を推定する技術と、これまでに蓄えた糖鎖に関する莫大な知見を駆使し研究を行ってきた。この結果、我々はヒト由来ガラクトース転移酵素



図5 糖鎖構造解析に用いる液体クロマトグラフ質量分析装置(LC/MS)

伝子を導入したタバコ培養細胞では、タンパク質糖鎖へのガラクトース付加能力を持つこと、この細胞を利用して生産させた抗体が実際にガラクトースの付加した糖鎖を持つことを証明している。また、動物型糖鎖合成に必要な他の酵素群のいくつかについても植物細胞内で活性を保持することを示している。また、我々は微生物サイドからのアプローチとして酵母を利用した糖鎖修飾経路の改変も試みている。図2に示すように、酵母の基本となる *N*-結合型糖鎖は多数のマンノース残基から成るハイパーマンノース結合を含む。糖鎖構造をヒト型化するにあたりこれは不必要である。よって、まず不必要な糖鎖修飾酵素を遺伝子レベルで破壊したところ、ハイパーマンノース結合を持たない酵母が出てきた。現在は、この有望酵母に逆に必要な糖鎖修飾酵素遺伝子を導入し、効率的にヒト型糖鎖を生合成できる酵母の構築を目指す試みが始まっている。

翻訳後修飾を整えたホンモノに近い医療タンパク質を生み出す。我々の夢は「ヒトに優しい医療タン

パク質」の創作である。

3. 国際交流センターとして

当研究室が所属する生物学国際交流センターは、長年に渡り海外、特に東南アジア諸国と学術的交流を深めてきた歴史と実績がある。現在も留学生が多数在籍し、日々研究に励んでいる。留学生が日本で学んだことを母国に還元できること、また日本で学んだ留学生が、日本で交流を深めた先生方や友人との関係を保ち、発展させ将来の国際交流のパイプとなることを期待している。サイエンスは国境を越える。学生のみならず研究員やスタッフも、グローバル化の中で自分達の持つ色を国際社会に示し伝えることのできる能力を日々磨いている。

当研究室にご興味のある方は、下記ホームページをご覧ください。幸いです。

http://www.icb.osaka-u.ac.jp/fujiyama_lab/

index.html

