



植物細胞におけるタンパク質 大量発現「つくばシステム」

筑波大学 生命環境系 生物科学

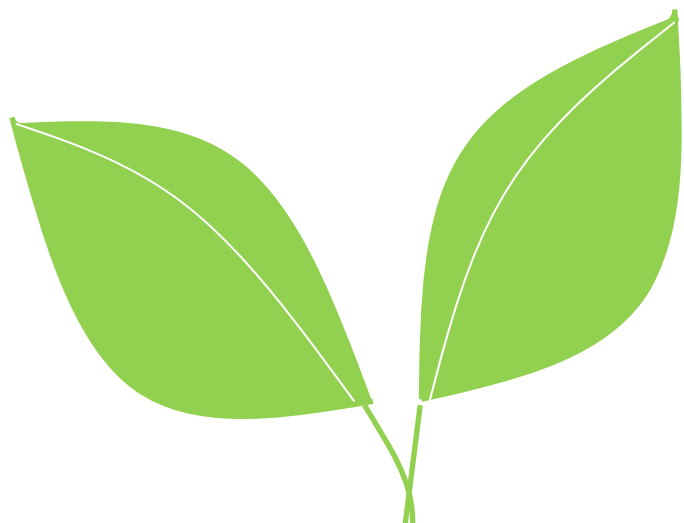
教授 三浦 謙治

(つくば機能植物イノベーション研究センター(T-PIRC) 副センター長)

論文未公表のデータがあるため、予稿集に掲載していないデータ有

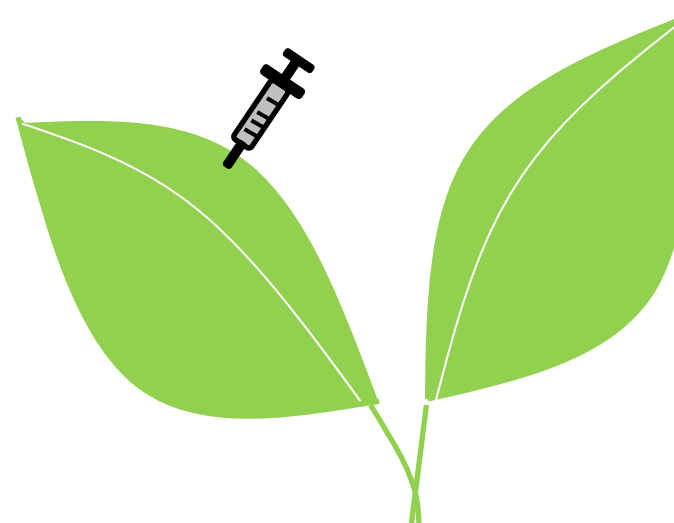
2020年1月20日

背景) 植物細胞にてタンパク質を作製する



通常 of 形質転換植物

タンパク質生産少
作製までに時間がかかる



一過的発現系
(アグロインフィルトレーション)

タンパク質生産大
植物があれば3~10日で可能



アグロインフィルトレーション の方法 (vacuumを用いる方法)



背景) 異種タンパク質発現システムとの比較

植物を用いた生産

製造スピードが早く、**製造コストの削減**

植物工場での製造のため、**イニシャルコストが低い**

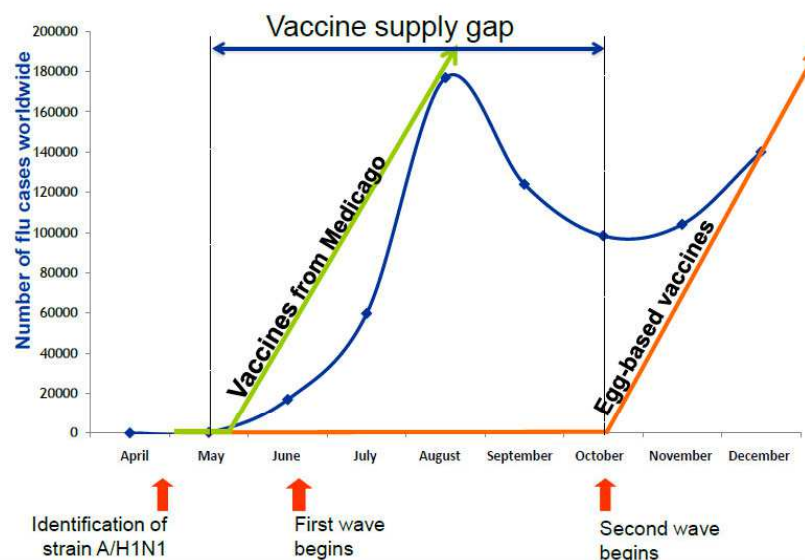
スケールアップ可能

大腸菌で作製が難しいタンパク質の作製が可能な場合もある

大腸菌、動物細胞を用いた生産

大規模な培養タンクをはじめとする高額機械装置、大規模プラントが必要

イニシャルコストが高い



従来技術とその問題点

植物細胞にてタンパク質を発現させるシステム

- ・magnICONシステム(タバコ属にのみ利用可)
- ・Genewareシステム(ウイルスを利用)

magnICONシステムは大腸菌などの異種タンパク質発現システムと同等の収量は得られるが、7~10日必要。また、タバコ属にのみ利用可能。

Genewareシステムは植物ウイルスを用いるため、ウイルスが蔓延すると、その不活化が非常に大変。

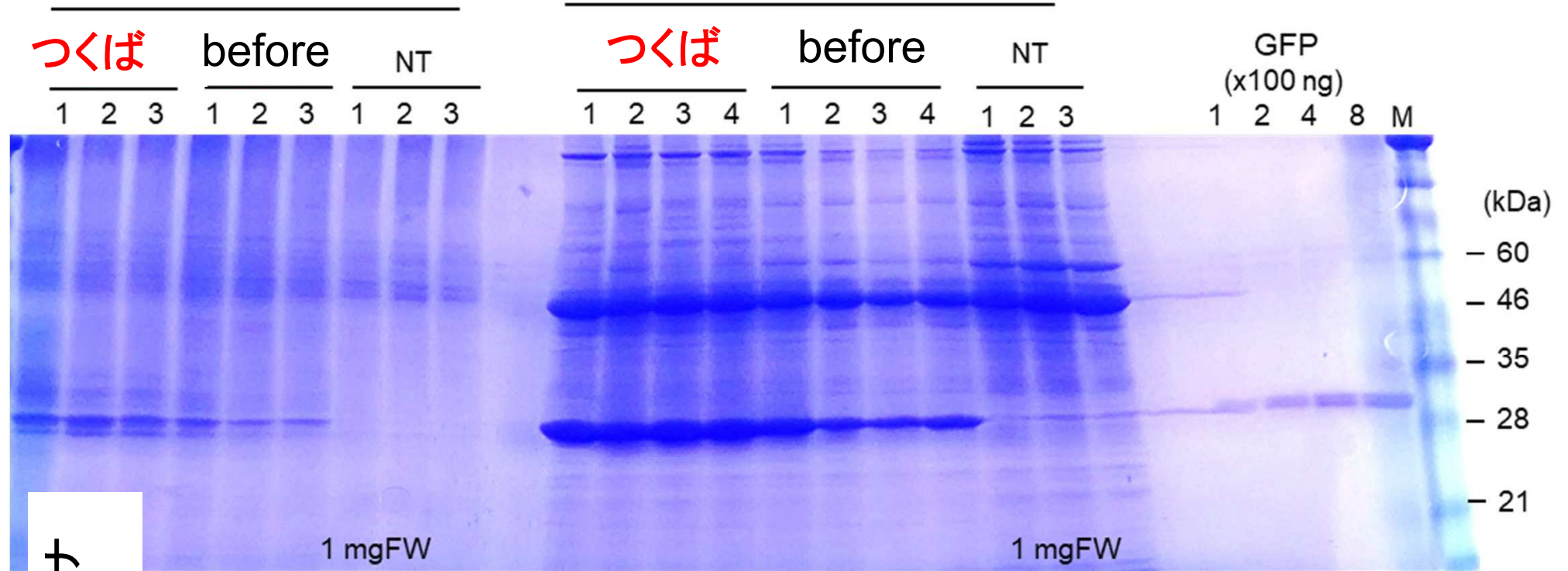
新技術の特徴・従来技術との比較

- 「つくばシステム」の収量(4mg/g新鮮重)は大腸菌などの異種タンパク質発現システムに匹敵
- 大腸菌では作製困難なサイズの大きいタンパク質でも作製できる場合がある。
- 従来技術(magnICON)よりも早く(3~5日)で目的のタンパク質を得ることが可能。
- 作製するタンパク質によっては壊疽を引き起こすが、壊疽を抑制して、収量を増加可能。
- タバコ属以外(ナス科、キク科、ウリ科、マメ科など)の植物へ適用可能。

タンパク質の発現量 $\sim 4\text{mg/gFW}$ 新技術説明会 New Technology Presentation Meetings!

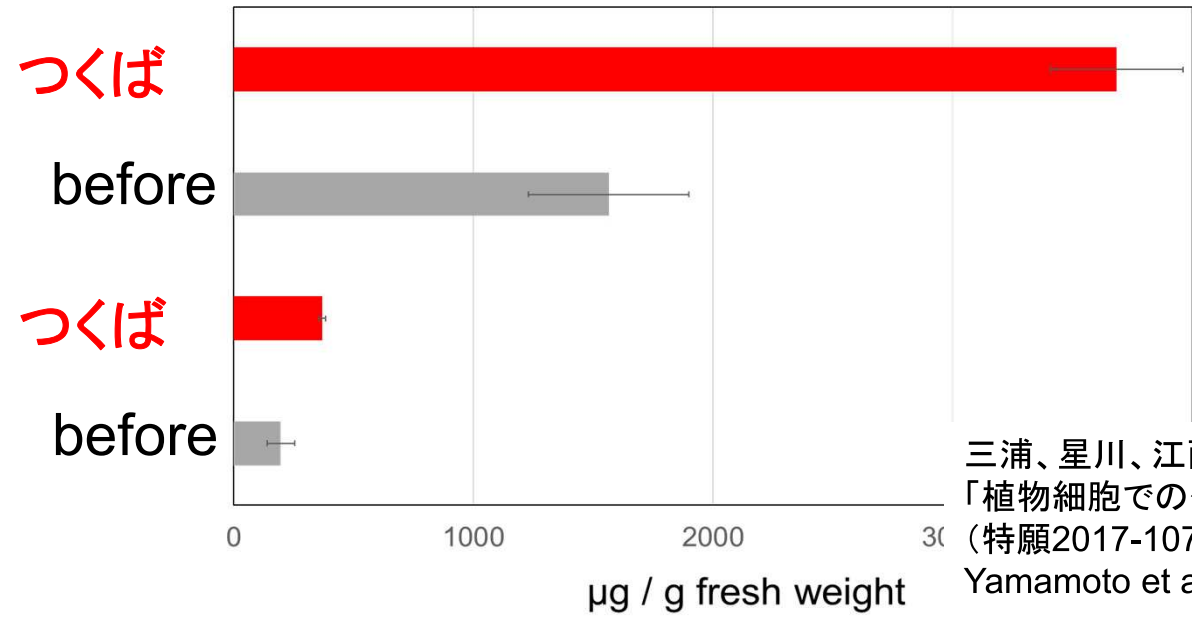
レタス

ベンサミアタバコ



ベンサミアタバコ

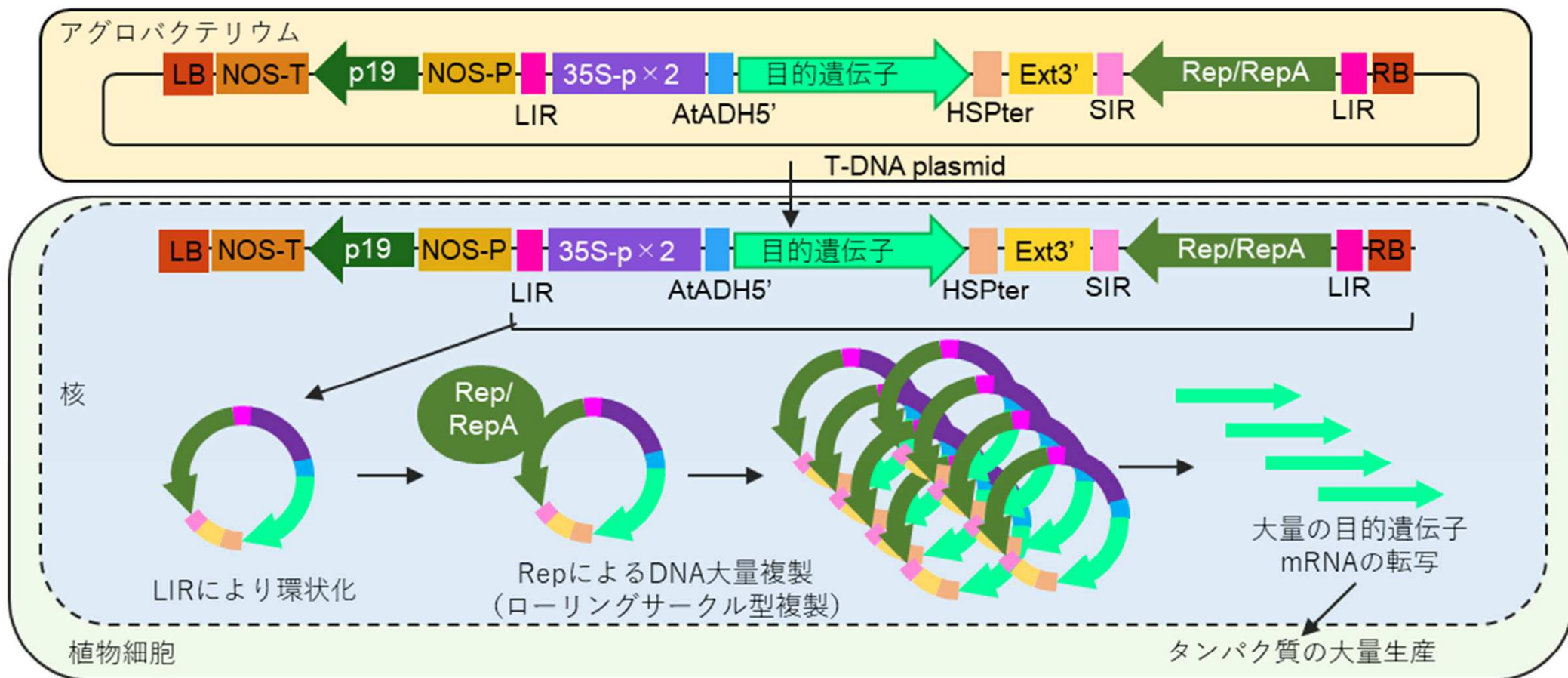
レタス



$\sim 4\text{ mg/gFW}$

三浦、星川、江面
「植物細胞でのタンパク質発現システム及びその使用」
(特願2017-107965, 国際出願PCT/JP2018/008512)
Yamamoto et al., Sci Rep 2018

ローリングサークル型複製 + ダブルターミネーター

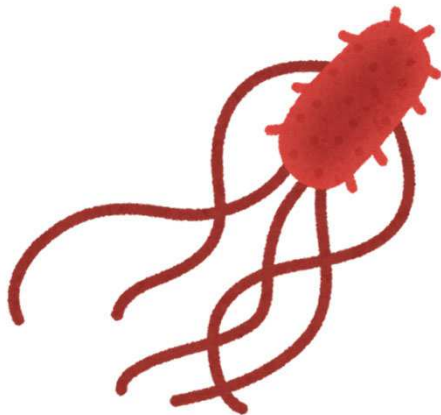


タンパク質の収量を比較

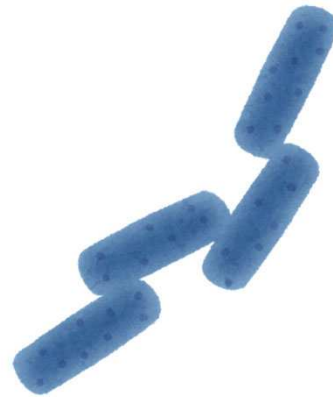
~4mg/gFW



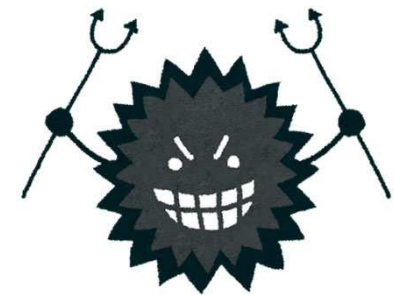
ベンサミアナタバコ
GFP: 4 mg/gFW



大腸菌
GFP-ELS: 1.6 mg/mL



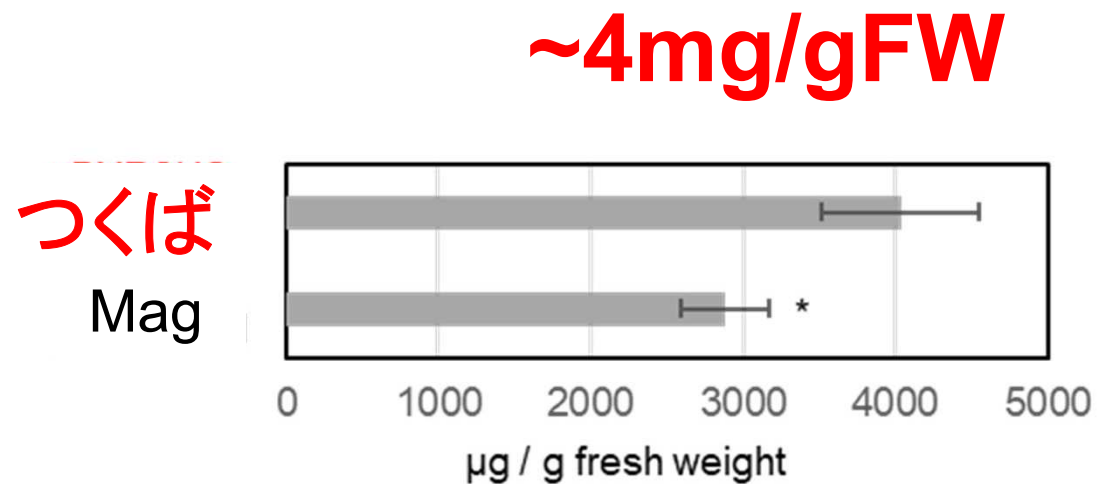
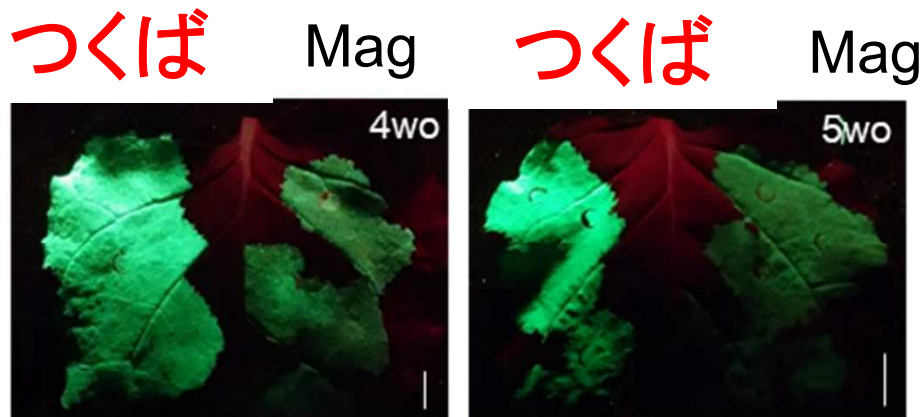
ブレヴィバチルス
 α -amylase: 3.7 mg/mL
hEGF: 1.5 mg/mL



昆虫細胞
GFPuv: 6.9 mg/mL

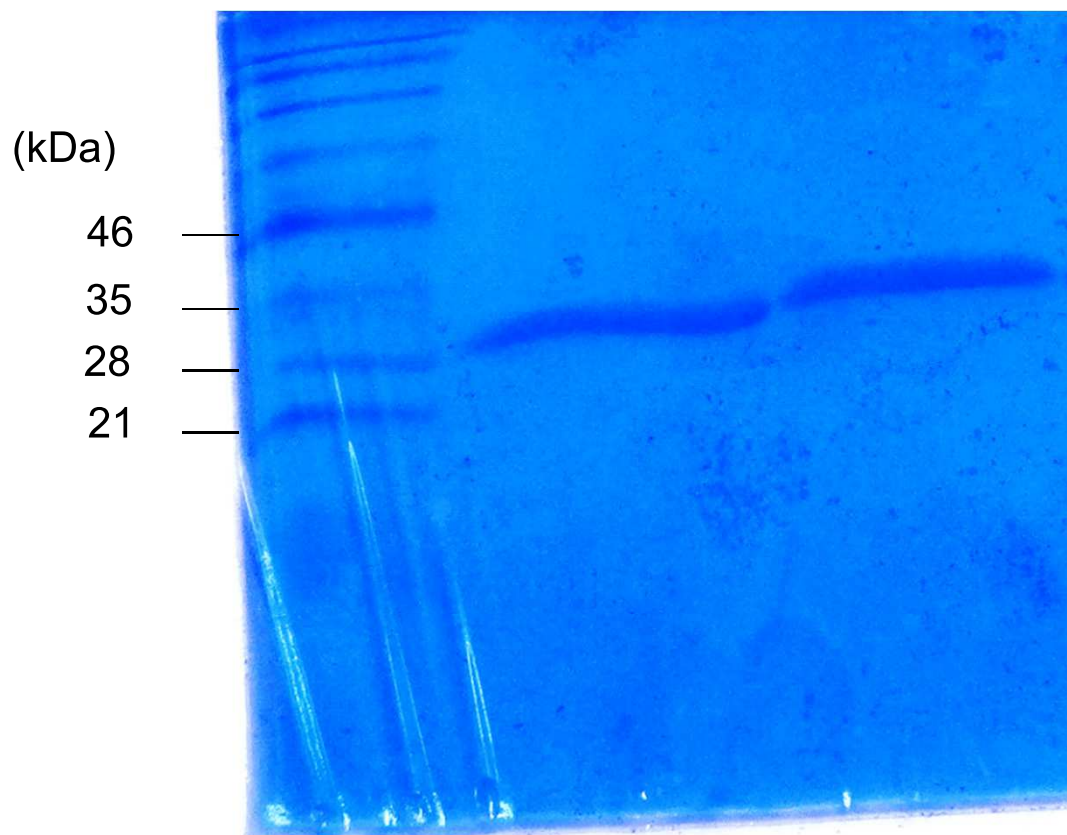
商用で用いられているmagnICONシステム よりも短期間で発現可能

magnICONよりも早く(3~5日)、目的のタンパク質を得ることが可能。

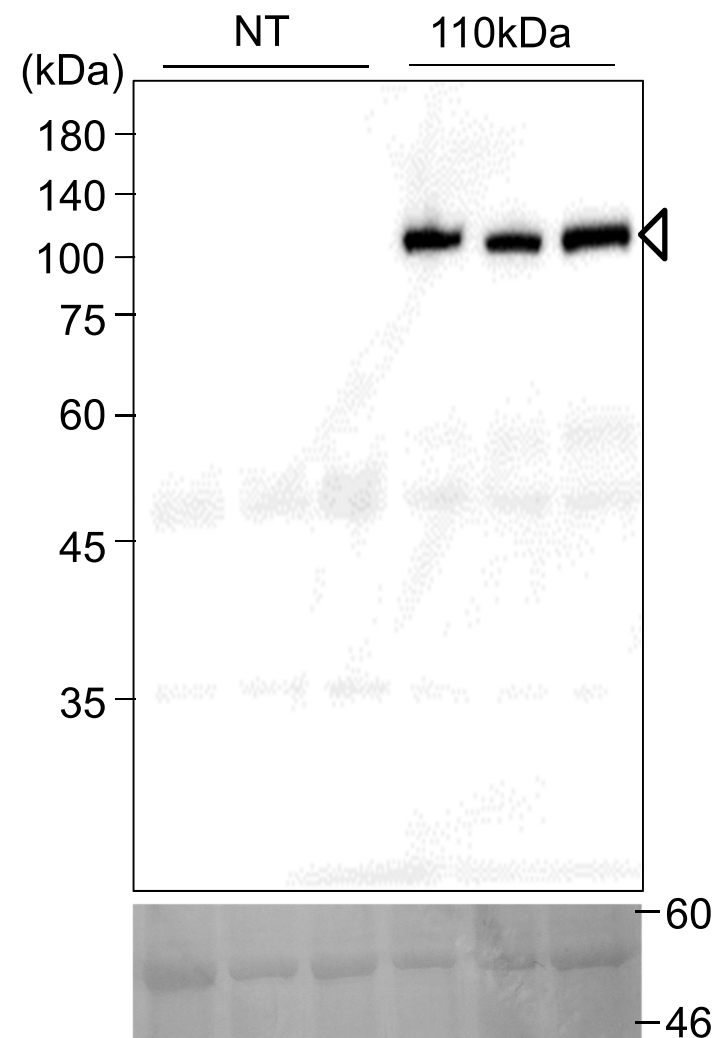


三浦、星川、江面
「植物細胞でのタンパク質発現システム及びその使用」
(特願2017-107965, 国際出願PCT/JP2018/008512)
Yamamoto et al., Sci Rep 2018

タンパク質産生の例

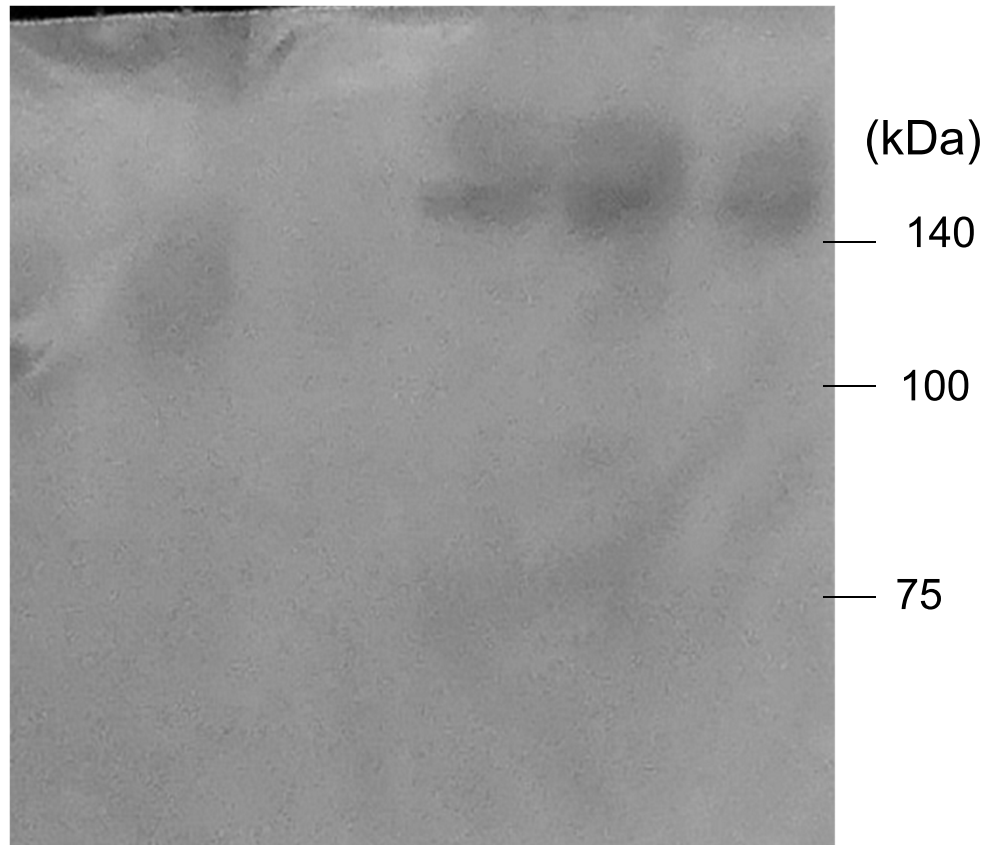


精製例

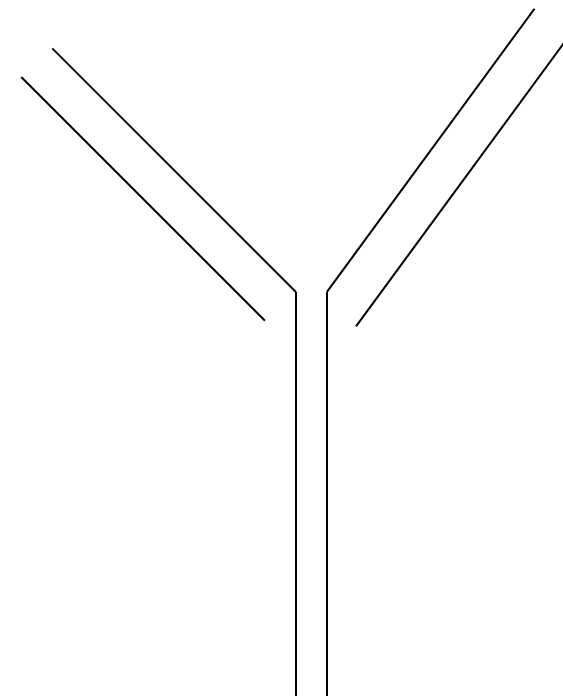


サイズの大きいタンパク質の生産例

タンパク質産生(抗体)の例



非還元状態



サイズの大いタンパク質
や複合体も生産可能

新技術の特徴・従来技術との比較

- 「つくばシステム」の収量(4mg/g新鮮重)は大腸菌などの異種タンパク質発現システムに匹敵
- 大腸菌では作製困難なサイズの大きいタンパク質でも作製できる場合がある。
- 従来技術(magnICON)よりも早く(3~5日)で目的のタンパク質を得ることが可能。
- 作製するタンパク質によっては壊疽を引き起こすが、壊疽を抑制して、収量を増加可能。
- タバコ属以外(ナス科、キク科、ウリ科、マメ科など)の植物へ適用可能。

生産するタンパク質によっては壞疽を引き起こす



活性酸素の蓄積

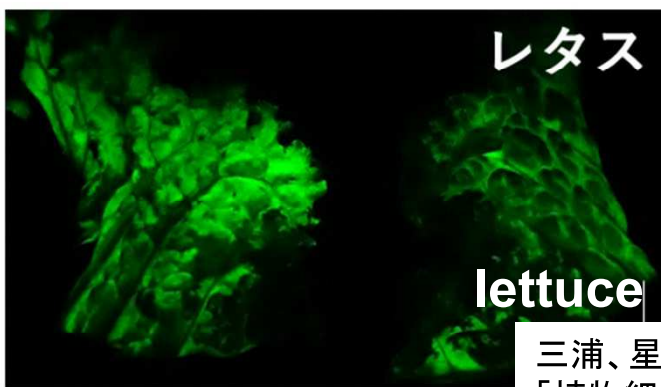
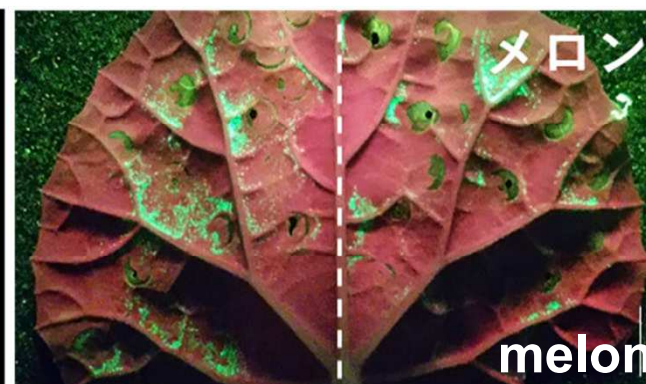
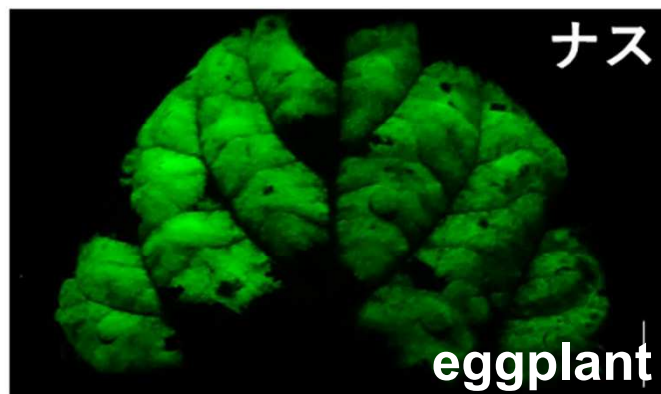
壞疽により目的タンパク質
の収量が大幅低下

壞疽抑制については論文未発表
のため当日紹介

新技術の特徴・従来技術との比較

- 「つくばシステム」の収量(4mg/g新鮮重)は大腸菌などの異種タンパク質発現システムに匹敵
- 大腸菌では作製困難なサイズの大きいタンパク質でも作製できる場合がある。
- 従来技術(magnICON)よりも早く(3~5日)で目的のタンパク質を得ることが可能。
- 作製するタンパク質によっては壊疽を引き起こすが、壊疽を抑制して、収量を増加可能。
- タバコ属以外(ナス科、キク科、ウリ科、マメ科など)の植物へ適用可能。

様々な植物で適用可



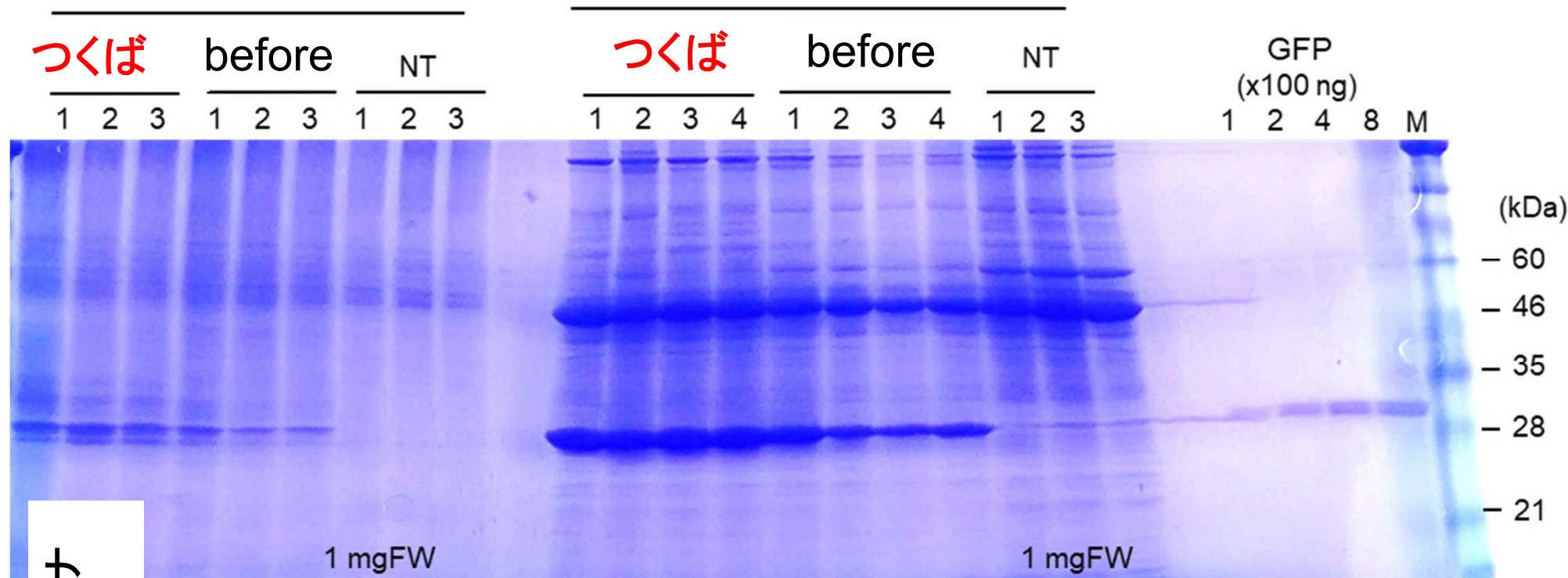
Left: **Tsukuba system**
Right: before improvement

三浦、星川、江面
「植物細胞でのタンパク質発現システム及びその使用」
(特願2017-107965, 国際出願PCT/JP2018/008512)
Yamamoto et al., Sci Rep 2018

タンパク質の発現量 $\sim 4\text{mg/gFW}$

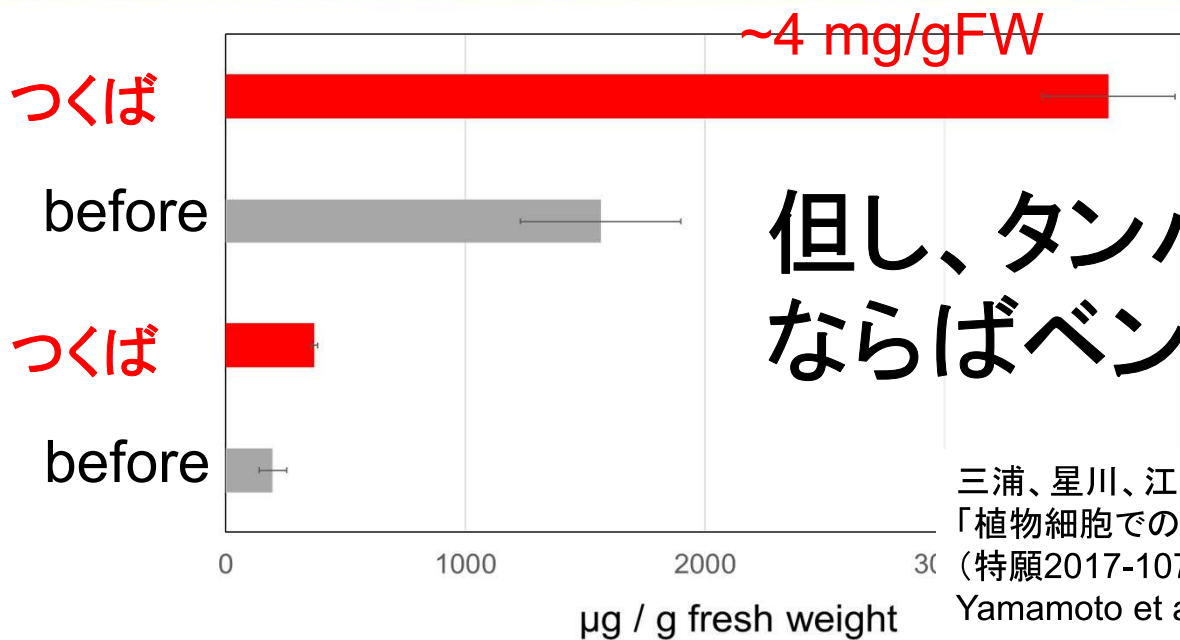
レタス

ベンサミアナタバコ



ベンサミアナ
タバコ

レタス

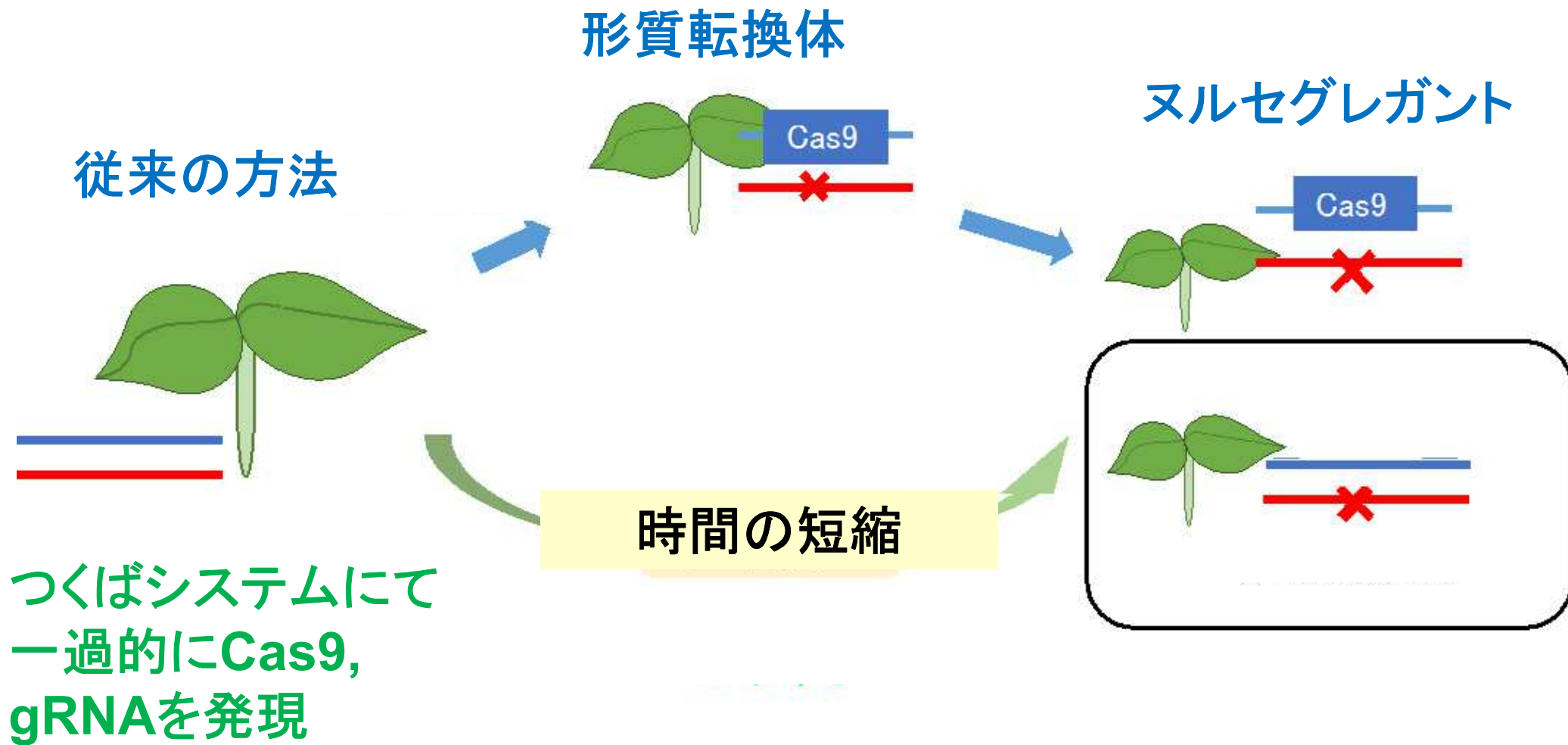


但し、タンパク質生産目的
ならばベンサミアナタバコ

三浦、星川、江面
「植物細胞でのタンパク質発現システム及びその使用」
(特願2017-107965, 国際出願PCT/JP2018/008512)
Yamamoto et al., Sci Rep 2018

つくばシステムをゲノム編集作物作製に適用

様々な植物において一過的にタンパク質を発現できることを利用して



論文未発表のため詳細は当日紹介

想定される用途

- 本技術の特徴を生かすためには、医薬用タンパク質製造に適用することで、コスト削減のメリットが大きいと考えられる。
- 代謝酵素を大量発現させることで植物二次代謝産物などの代謝産物を大量に作製可能。
- ゲノム編集といった植物育種分野にも貢献できる可能性あり。

実用化に向けた課題

- 現在、タンパク質大量生産について、比較的少量での生産が可能なところまで開発済み。しかし、スケールアップの過程で出ると思われる問題点については、場所的な問題もあり未検証。
- 今後、作製可能なタンパク質についてデータを取得し、ほかの異種タンパク質発現システムとの違いを明確にする。
- 実用化に向けて、精製の方法を向上できるように技術を確立する必要もあり。

企業への期待

- タンパク質生産：大腸菌などで作製困難だが有用なタンパク質の候補
- 代謝産物：有用な植物二次代謝産物の探索と大量生産
- ゲノム編集：難形質転換植物の培養系確立とゲノム編集の導入

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 植物細胞における発現システムとその利用
- 出願番号 : 特願2017-107965
- 出願人 : 筑波大学
- 発明者 : 三浦謙治、星川健、江面浩

- 発明の名称 : 細胞死抑制剤及び細胞死抑制方法
- 出願番号 : 特願2019-142038
- 出願人 : 筑波大学
- 発明者 : 三浦謙治、鶴田文憲

産学連携の経歴

- 2013年-2015年 製薬会社と共同研究実施
- 2014年-2018年 内閣府SIP事業(代表:江面浩)に採択
- 2018年-現在 化学会社と共同研究実施
- 2018年-現在 内閣府SIPII事業(代表:江面浩)に採択
(サナテックシード株式会社と共同研究)
- 2019年-現在 JST-OPERA事業に採択
- 2019年-現在 食品会社と共同研究実施

食の未来を拓く革新的先端技術の創出

領域統括 筑波大学つくば機能植物イノベーション研究センター 教授/センター長 江面 浩

研究開発課題1

1.作物変異集団大規模フェノタイピングによる有用素材開発

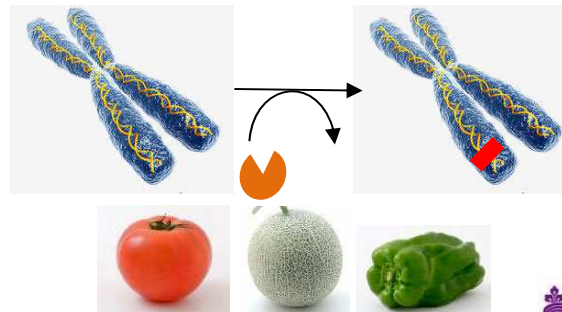


- ・高付加価値を示す素材の単離
- ・流通に適した品種開発



研究開発課題2

2.作物ゲノム編集技術の汎用化



- ・形質転換を経ない方法
- ・迅速なゲノム編集作物作製技術開発



研究開発課題3

3.省力型生産技術による高付加価値作物の生産



- ・栽培しづらい高付加価値作物の高収量・高品質化
- ・非侵襲により高品質作物を自動で選別
- ・未利用品種の普及促進・ブランド化促進



研究開発課題4

4.先端技術により作出された作物の理解と普及



- ・先端技術の社会的課題の整理と社会受容の促進
- ・国民の理解を進める為のプログラムの実施



- ・食料生産技術革新による高機能性、高付加価値作物の迅速な改良技術
- ・栽培技術の高度化による栽培しづらい高付加価値作物の高収量化
- ・食品としての価値を高めることによるブランド化
- ・2030年までに1.5倍に拡大する世界の食市場のシェア獲得



**高品質作物の輸出拡大
ブランド化作物生産**

お問い合わせ先

研究について

筑波大学生命環境系/T-PIRC

教授/副センター長 三浦謙治

TEL 029-853-6401

e-mail miura.kenji.ga@u.tsukuba.ac.jp

産学連携について

筑波大学国際産学連携本部

産学連携企画課 民間資金・学術指導契約担当

TEL 029-859-1647

e-mail kyo-dok@ilc.tsukuba.ac.jp