

微生物遺伝子工学の新開拓

鳥取大学 工学部 化学バイオ系学科
准教授 鈴木 宏和

紹介する技術

1. 新しいクローニングベクター(出願済みの技術)

- ▶ 安価にDNAを集めてくるためのツール
- ▶ 基礎研究用の商品として販売

2. タンパク質生産のための新たな微生物

- ▶ タンパク質を分泌生産できる(1 g/L培地)
- ▶ 有用タンパク質の産業生産

3. 任意タンパク質を頑丈にするための技術

- ▶ 有用タンパク質の実用化促進

紹介する技術

1. 新しいクローニングベクター(出願済みの技術)

- ▶ 安価にDNAを集めてくるためのツール
- ▶ 基礎研究用の商品として販売

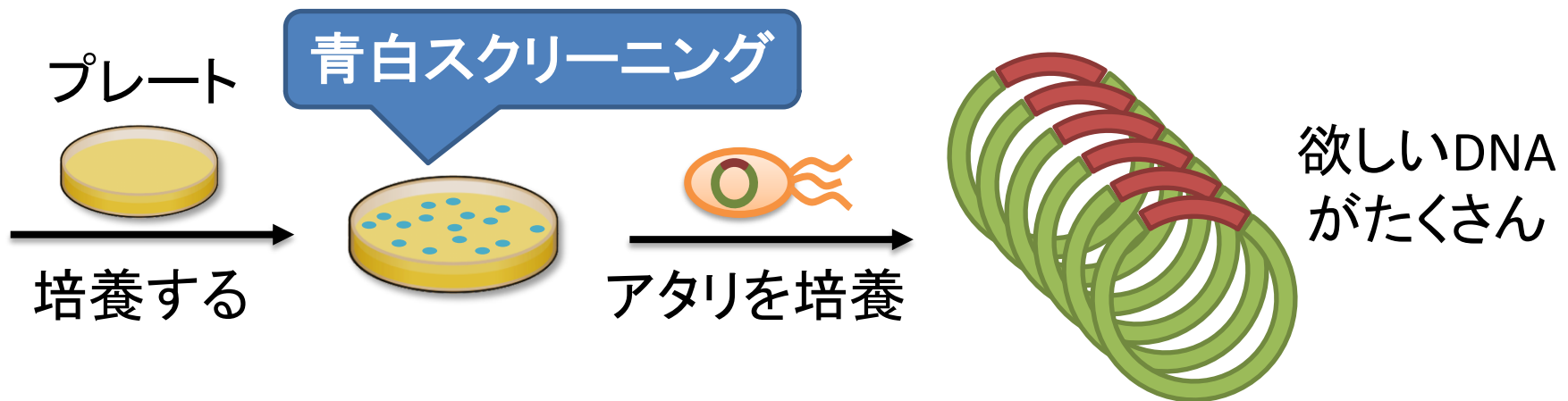
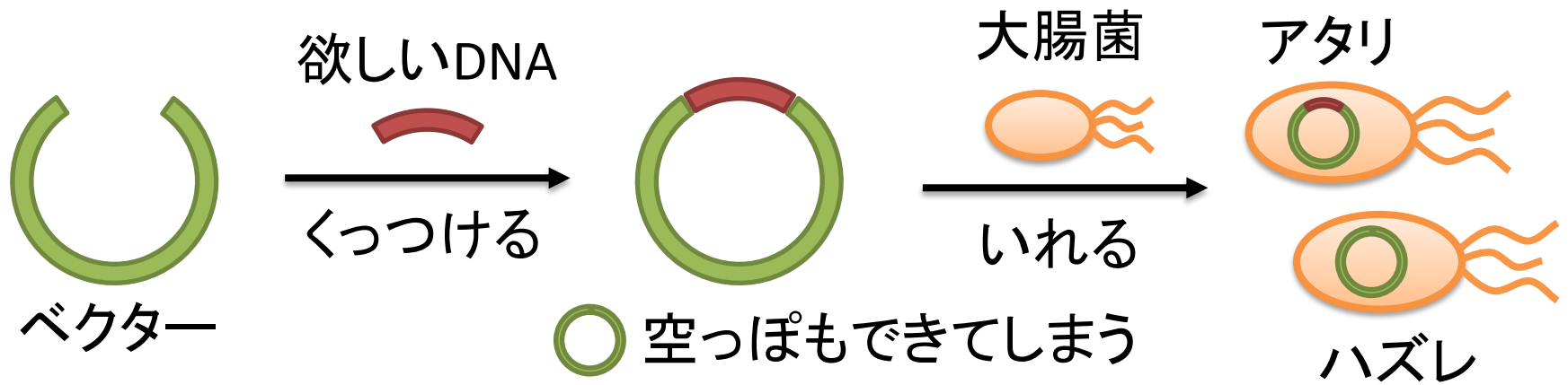
2. タンパク質生産のための新たな微生物

- ▶ タンパク質を分泌生産できる(1 g/L培地)
- ▶ 有用タンパク質の産業生産

3. 任意タンパク質を頑丈にするための技術

- ▶ 有用タンパク質の実用化促進

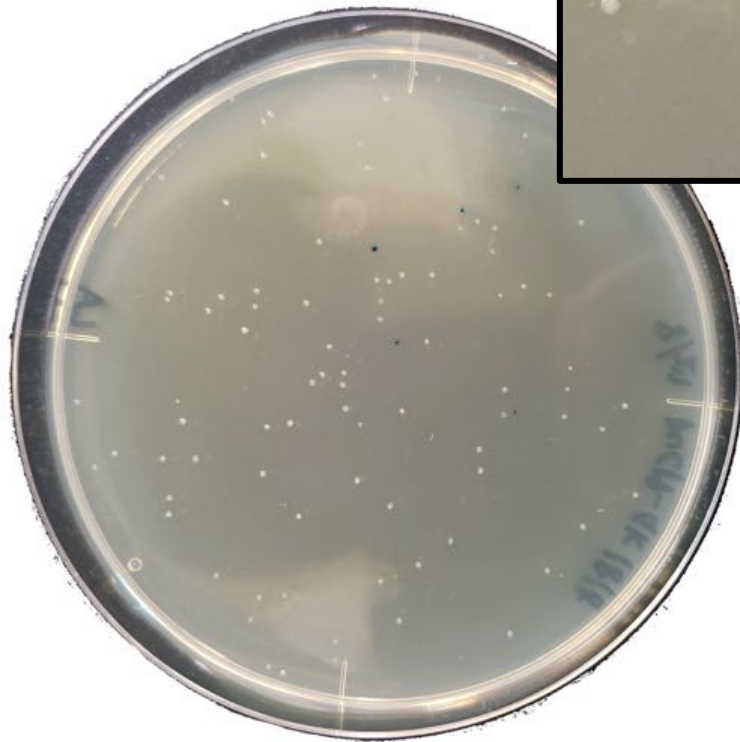
分子クローニング



従来技術と問題点

○ アタリ(欲しいDNAを含んでいる)

● ハズレ(空っぽ)

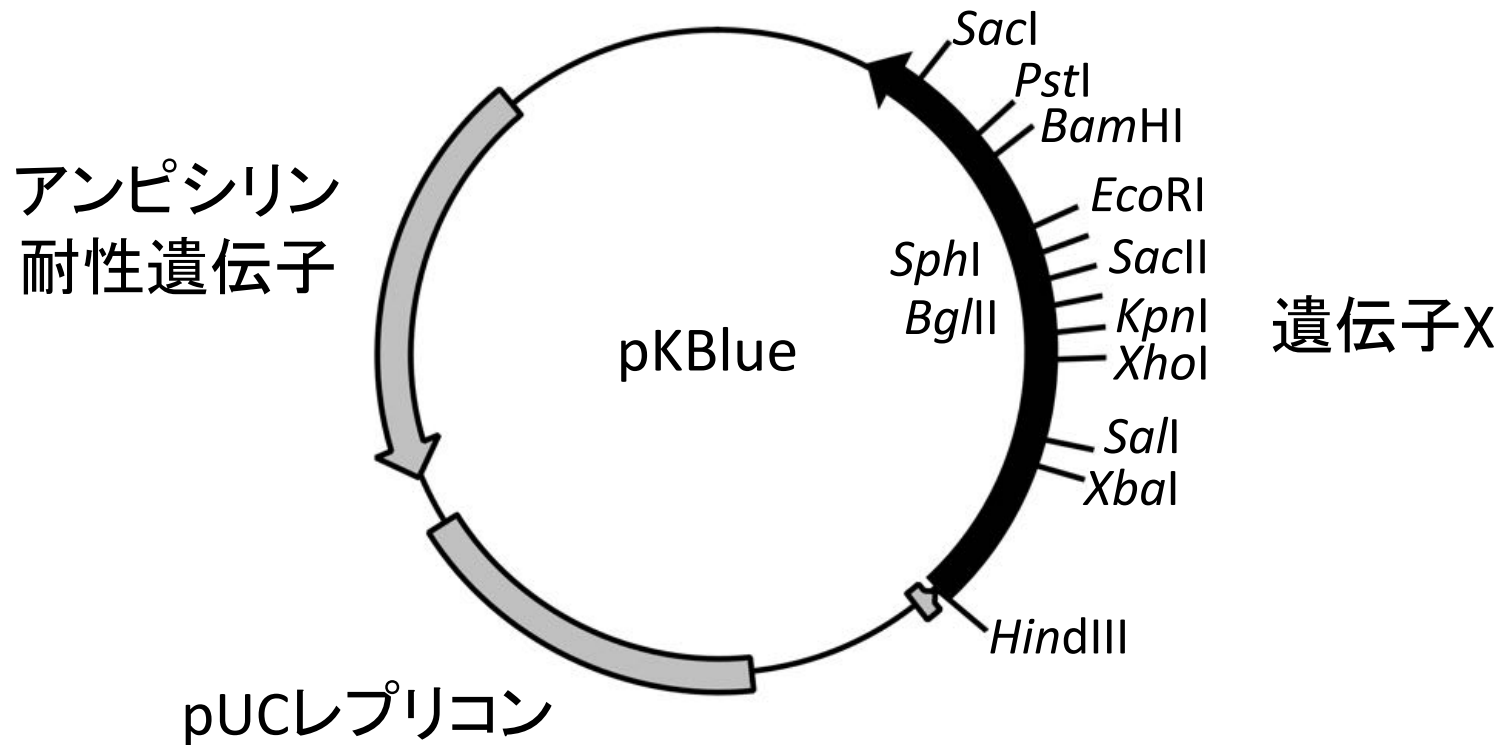


プレート1枚当たりのコスト

培地成分	9円
寒天	6円
シャーレ	15円
発色基質	58円
合計	88円

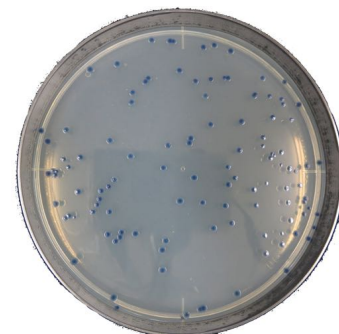


新技術



新技術

- ▶ ハズレは青くなり, アタリは白くなる(従来法と同様)
- ▶ 発色基質が安い
- ▶ 5,000枚あたり310,000円を削減
- ▶ 大規模に利用するほど効果大



プレート1枚当たりのコスト

培地成分	5円
寒天	6円
シャーレ	15円
発色基質	0円
合計	26円



¥376 /g



¥5,980 /g



¥1,132 /g



¥1,680 /g

従来技術との比較

	従来品	新技術
指示薬	X-gal	5-ブロモインドール
指示薬	～58円	0.2円
大腸菌	<i>lacZα</i> 欠損株	あらゆる大腸菌
呈色開始	培養初期から	16時間以上
呈色判定	16時間あれば	20時間は欲しい
液体培養	変化なし	インディゴ生成
ベクター長	2.7 kb	3.4 kb
他生物への適用	難しい	可能

想定される用途

- ▶ クローニングベクターとして販売（使いまわせる）

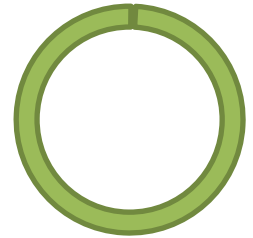


- ▶ TAクローニングベクターとして改良（使い捨て）

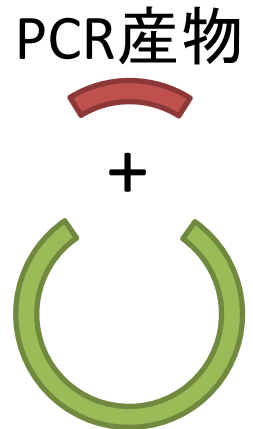


企業への期待など

- ▶ クローニングベクターとしては完成している
 - ▶ 販売に興味はないですか？
 - ▶ バイオ分野の基礎研究ツールを販売する企業など
 - ▶ 販売経路に乗せてほしい
 - ▶ 生産コストや維持費は極めて低い



- ▶ TAクローニングベクターとしての改良
 - ▶ TAベクターにできるとシェアが上がる
 - ▶ 高需要・使い捨て
 - ▶ さらなる研究開発が必要
 - ▶ それに興味をもつ企業との共同研究を希望



産学連携の経歴

- ▶ 1998年～2004年 サントリー株式会社との共同研究に参画
- ▶ 2004年～2007年 東洋紡株式会社との共同研究に参画
NEDOプロジェクトの一環

 機能性ポリマー原料の微生物による発酵生産システムの開発

- ▶ 2008年～2011年 フジッコ株式会社との共同研究に参画
MEXTプロジェクトの一環

●文部科学省 先端融合領域イノベーション創出拠点形成プログラム

- ▶ 2017年～2018年 イムラ・ジャパン株式会社との共同研究を実施

本技術に関する知的財産権

- ▶ 発明の名称：
分子クローニングにおける青白スクリーニングを
安価に行えるプラスミドベクター
- ▶ 出願番号： 特願2019-089190
- ▶ 出願人： 国立大学法人鳥取大学
- ▶ 発明者： 鈴木 宏和, 大城 隆, 栗山 克

紹介する技術

1. 新しいクローニングベクター(出願済みの技術)

- ▶ 安価にDNAを集めてくるためのツール
- ▶ 基礎研究用の商品として販売

2. タンパク質生産のための新たな微生物

- ▶ タンパク質を分泌生産できる(1 g/L培地)
- ▶ 有用タンパク質の産業生産

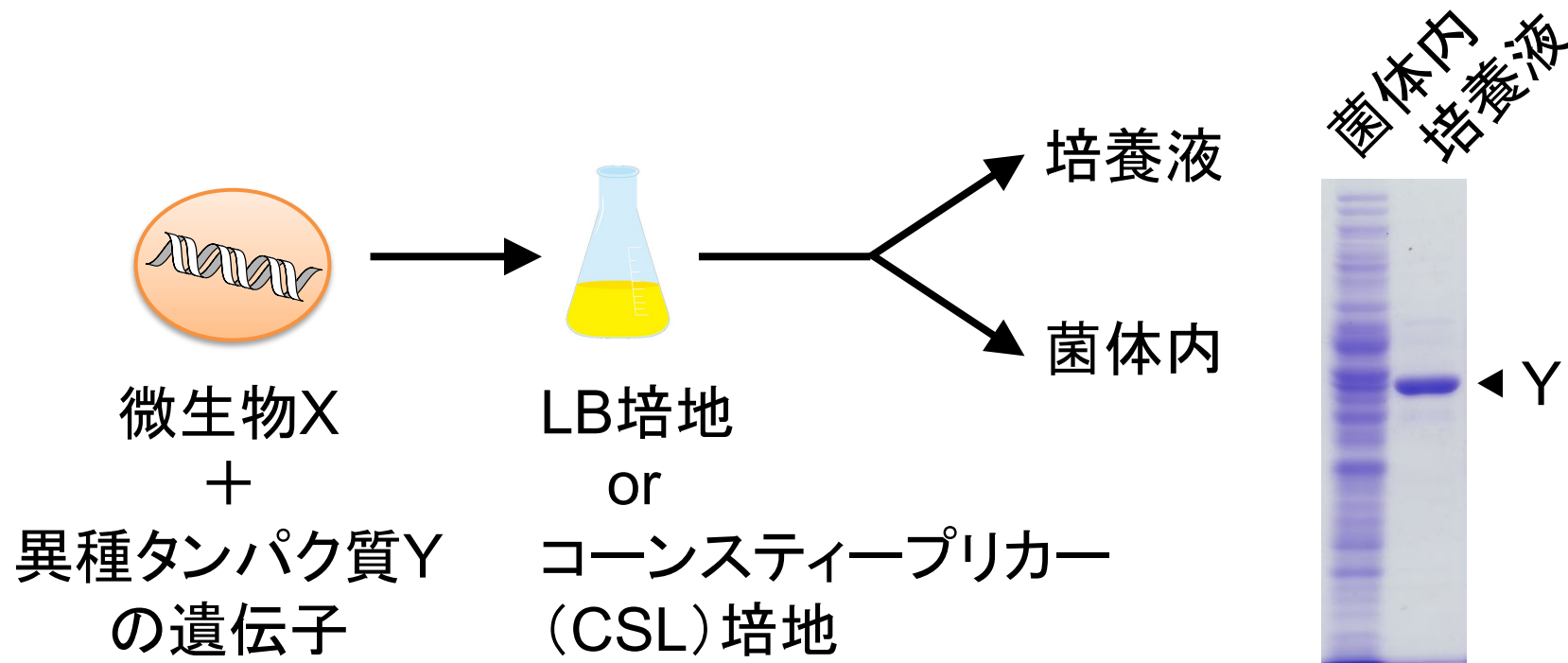
3. 任意タンパク質を頑丈にするための技術

- ▶ 有用タンパク質の実用化促進

従来技術と問題点

- ▶ タンパク質生産は産業的に重要
- ▶ タンパク質生産システムは色々
 - ▶ 大腸菌
 - ▶ 枯草菌
 - ▶ ブレヴィバチルス
 - ▶ 麹菌
 - ▶ 酵母
 - ▶ 昆虫細胞
 - ▶ カイコなど
- ▶ 生産レベルは相性による
- ▶ 培地などのコストが高い場合がある
- ▶ タンパク質生産のための宿主は多いに限る
- ▶ 知的財産として保護されている

新技術



培地	生産レベル(g/L培養液)		純度(%)	
	1日目	4日目	1日目	4日目
LB培地	0.8	1.0	80	74
CSL培地	0.6	0.9	72	84

新技術

タンパク質	生産レベル(mg/L培地)		
	菌体内	培養液	合計
A	100	80	180
B	110	42	150
C	37	108	150
D	98	67	170
E	110	22	130
F	46	67	110
G	56	34	90
H	40	35	75
I	28	36	64

CSL培地, 培養1日目

従来技術との比較

生産システム	新規性	生産量	分泌	培地	修飾
微生物X	○	○	○	◎	×
大腸菌	×	△	×	○	×
枯草菌	×	○	○	○	×
ブレビバチルス	×	○	○	○	×
麹菌	×	○	○	△	△
酵母	×	○	○	△	△
昆虫細胞	×	○	×	×	○
カイコ	×	○	×	×	○

企業への期待など

- ▶ タンパク質の製造に利用しませんか？
 - ▶ 検証だけならすぐにできる
- ▶ 生産レベルは相性による
 - ▶ 従来技術と同等以上の生産が可能かもしれない
- ▶ 知的財産として保護されている
 - ▶ 知財の侵害が起こらない独自の生産システム
- ▶ 培地などのコストが高い場合がある
 - ▶ 安価な培地
- ▶ 分泌生産の汎用化は今後の課題
 - ▶ 興味をもつ企業との共同研究を希望

紹介する技術

1. 新しいクローニングベクター(出願済みの技術)

- ▶ 安価にDNAを集めてくるためのツール
- ▶ 基礎研究用の商品として販売

2. タンパク質生産のための新たな微生物

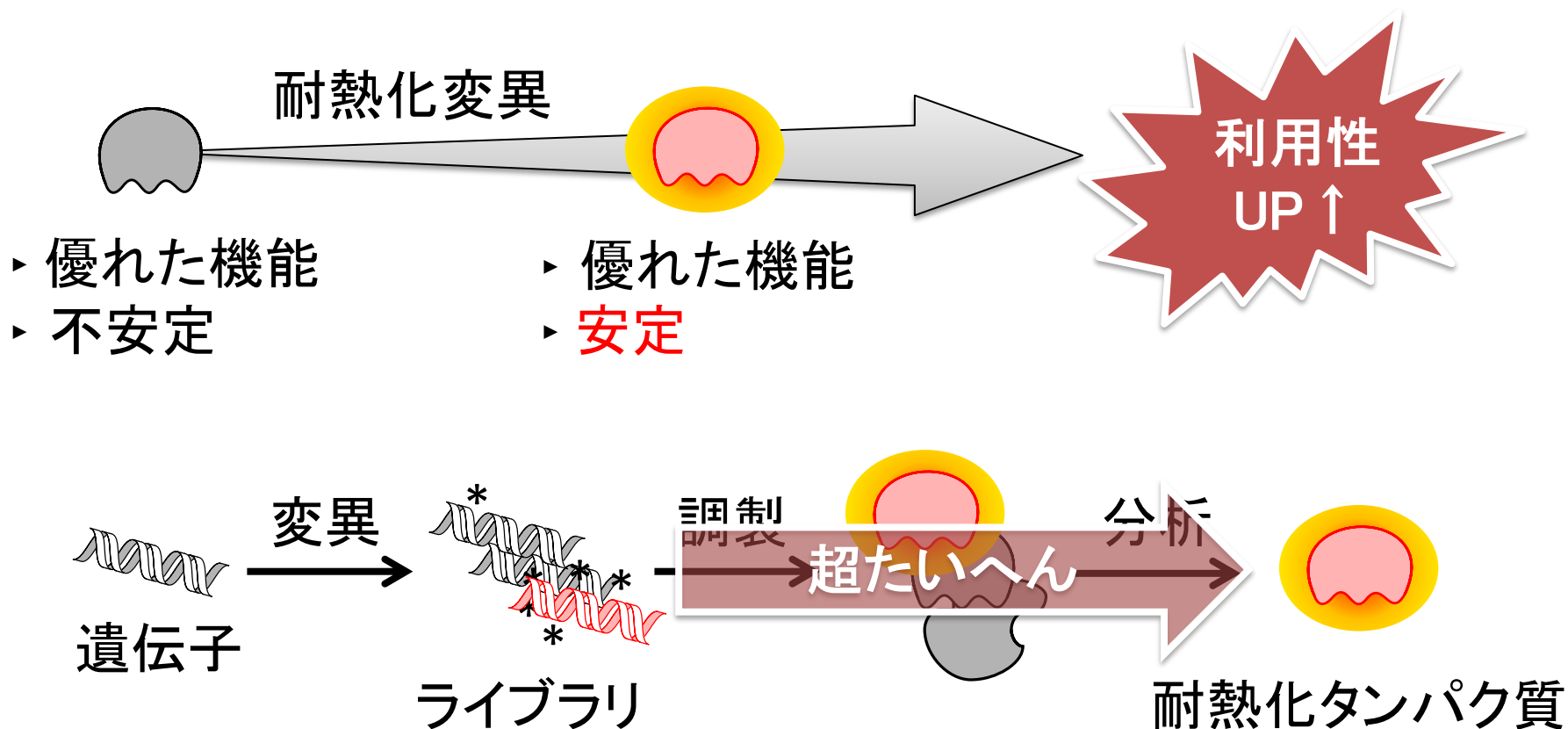
- ▶ タンパク質を分泌生産できる(1 g/L培地)
- ▶ 有用タンパク質の産業生産

3. 任意タンパク質を頑丈にするための技術

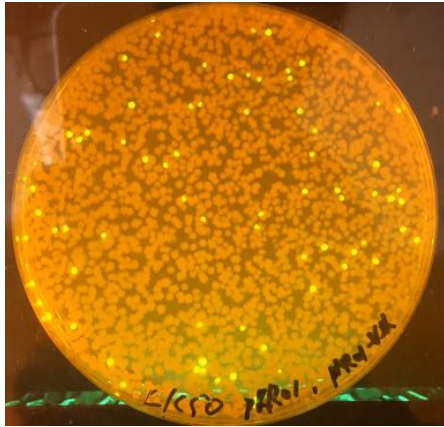
- ▶ 有用タンパク質の実用化促進

従来技術と問題点

- ▶ タンパク質は産業的に重要
- ▶ タンパク質は概して不安定で使用しにくい
- ▶ タンパク質は耐熱化変異するとより安定になる



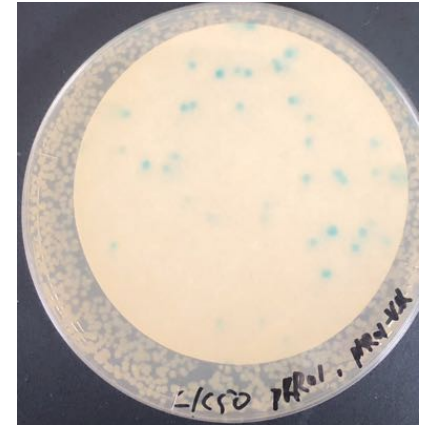
新技術



ライブラリ



試薬を噴霧

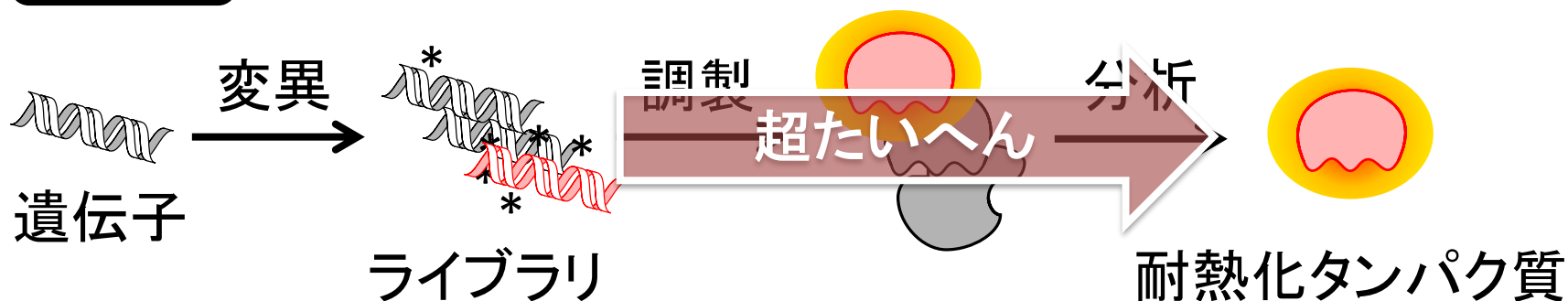


呈色

- ▶ 上図はモデル実験の様子
- ▶ 光っている菌群が耐熱化タンパク質を生産
- ▶ 耐熱化タンパク質を汎用的に選別できる
- ▶ タンパク質を調製せずに選別できる
- ▶ 従来的一般手法よりはるかに簡便

従来技術との比較

従来法



新手法



企業への期待など

- ▶ 寝かしている有用タンパク質をもっている
- ▶ コストパフォーマンスが低くて困っている
- ▶ その欠点を改善したい
- ▶ 耐熱化タンパク質の創出を共同研究として行う
- ▶ 手法の実証は直近の課題

紹介する技術

1. 新しいクローニングベクター(出願済みの技術)

- ▶ 安価にDNAを集めてくるためのツール
- ▶ 基礎研究用の商品として販売

2. タンパク質生産のための新たな微生物

- ▶ タンパク質を分泌生産できる(1 g/L培地)
- ▶ 有用タンパク質の産業生産

3. 任意タンパク質を頑丈にするための技術

- ▶ 有用タンパク質の実用化促進

お問い合わせ先

国立大学法人鳥取大学
研究推進機構

TEL: 0857-31-5703

FAX: 0857-31-5571

e-mail: sangakucd@ml.cjrd.tottori-u.ac.jp