

組換え蛋白質の超高効率生産を 実現する鶏卵バイオリアクター

国立研究開発法人産業技術総合研究所
健康医工学研究部門
部門長 大石 勲

2024年5月21日

新技術の要旨

- ・ 組換え蛋白質の大量生産技術
- ・ ニワトリを遺伝子組換えし、卵白に蛋白質を分泌させる
- ・ 鶏卵は清潔、安価、大量生産容易なため組換え蛋白質生産の新たなプラットフォームになり得る

研究の背景

- ・ 組換え蛋白質の需要は拡大を続けている
- ・ バイオ医薬品、再生医療等培地サプリメント、産業用酵素など市場、製品数が増加
- ・ 培養肉など将来の巨大市場予測も

組換え蛋白質生産の課題

- ・ 組換え蛋白質生産は高コスト
- ・ 培養細胞を用いる場合、高額な培養タンクや設備、施設、マネジメントコストが主な要因
- ・ 知財利用料（特許の藪）もコスト要因

生物工場による組換え蛋白質生産

- ・ 培養細胞を用いずに、組換え動物や植物に蛋白質を発現させる試み
- ・ 乳汁（動物）や果実、葉（植物）などに組換え蛋白質を発現
- ・ 組換えヤギ乳汁由来ヒトアンチススロンビン(ATryn)など医薬品承認の事例も

ニワトリによる組換え蛋白質生産の特徴

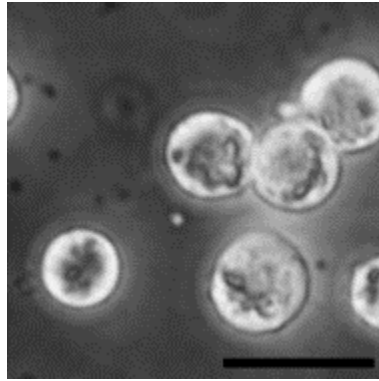
- ・ 鶏卵は「物価の優等生」であり低コストの組換え蛋白質生産が期待できる
- ・ 組換え植物（花粉）やカイコ（若齢幼虫）などに比べ拡散防止措置が容易
- ・ 大型動物より飼育施設が簡易で組換え個体の繁殖も容易

始原生殖細胞を用いたニワトリ遺伝子操作技術

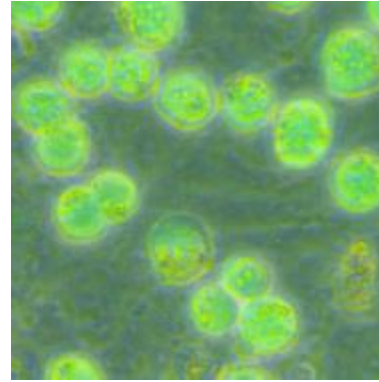
ニワトリ初期胚



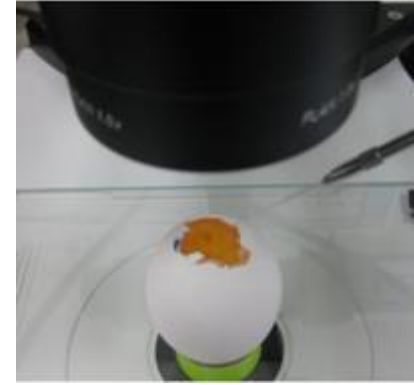
始原生殖細胞



遺伝子操作/ゲノム編集



レシピエント胚に移植



生殖巣キメラヒヨコ(G0)



生殖巣キメラニワトリ(G0)

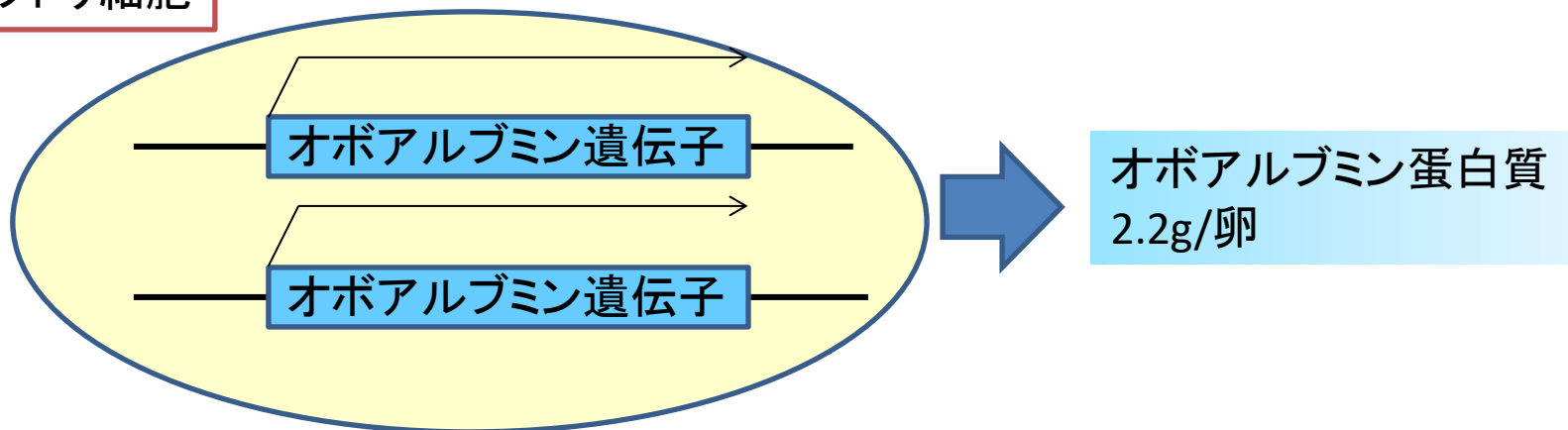
遺伝子改変ニワトリ(G1)



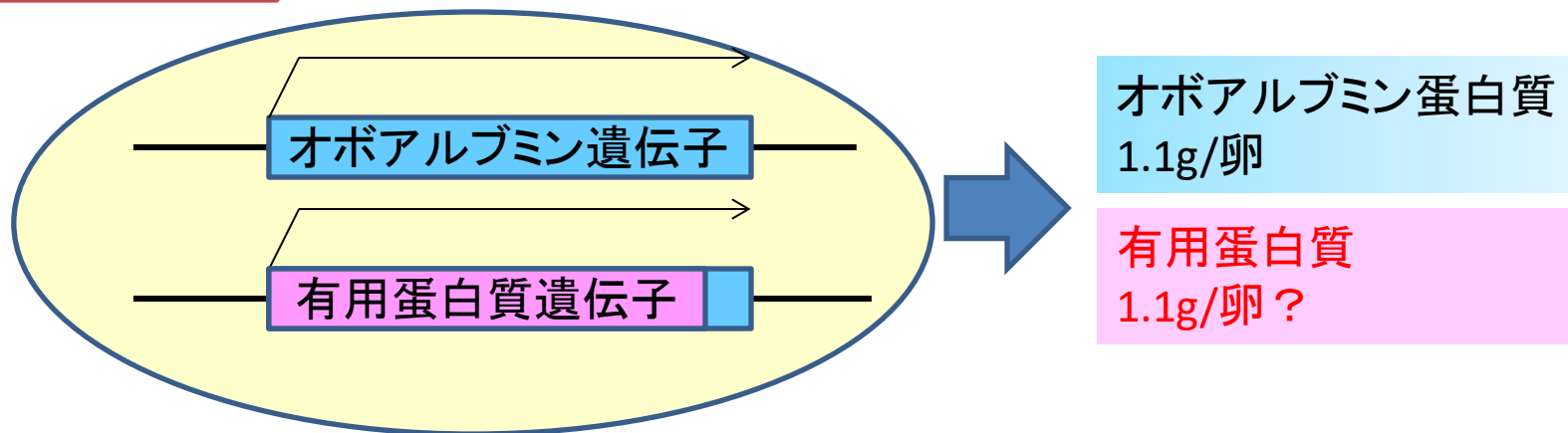
鶏卵に有用組換え蛋白質を量産する方法

卵白最大成分の遺伝子座にノックインし大量生産

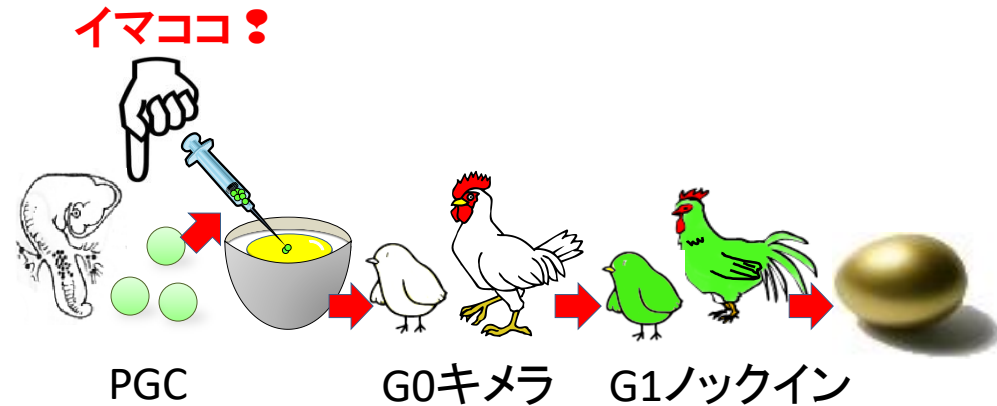
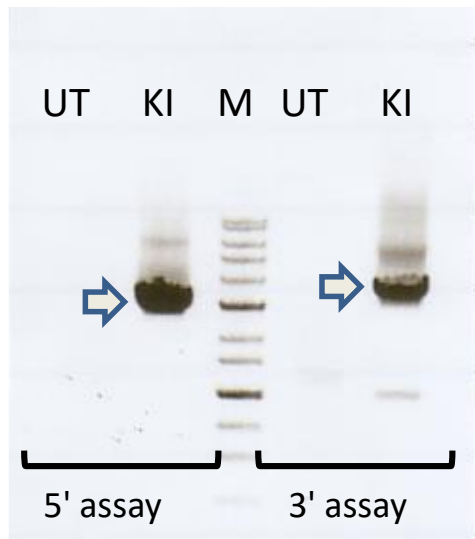
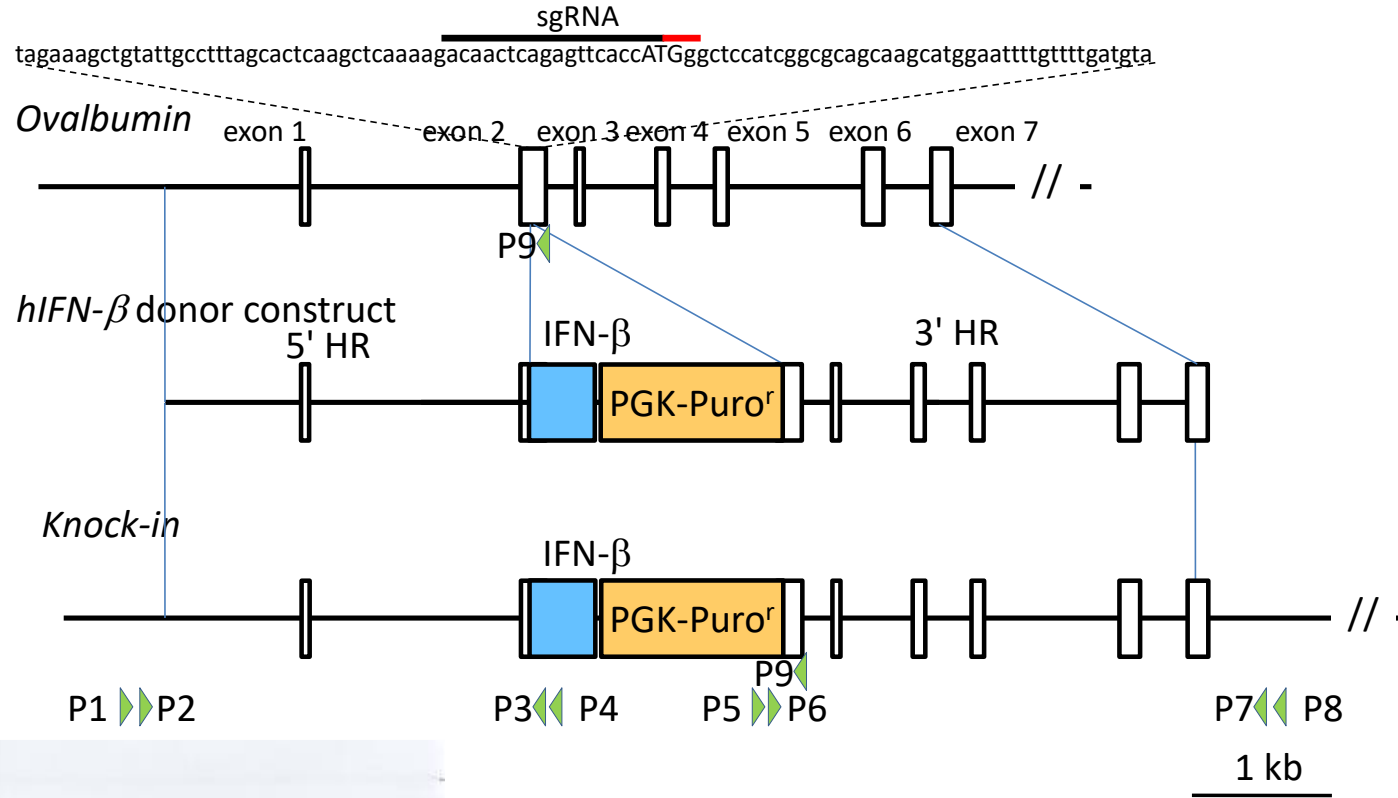
野生型ニワトリ細胞



ノックインニワトリ細胞



ヒトインターフェロンβをオボアルブミン翻訳開始点にノックイン

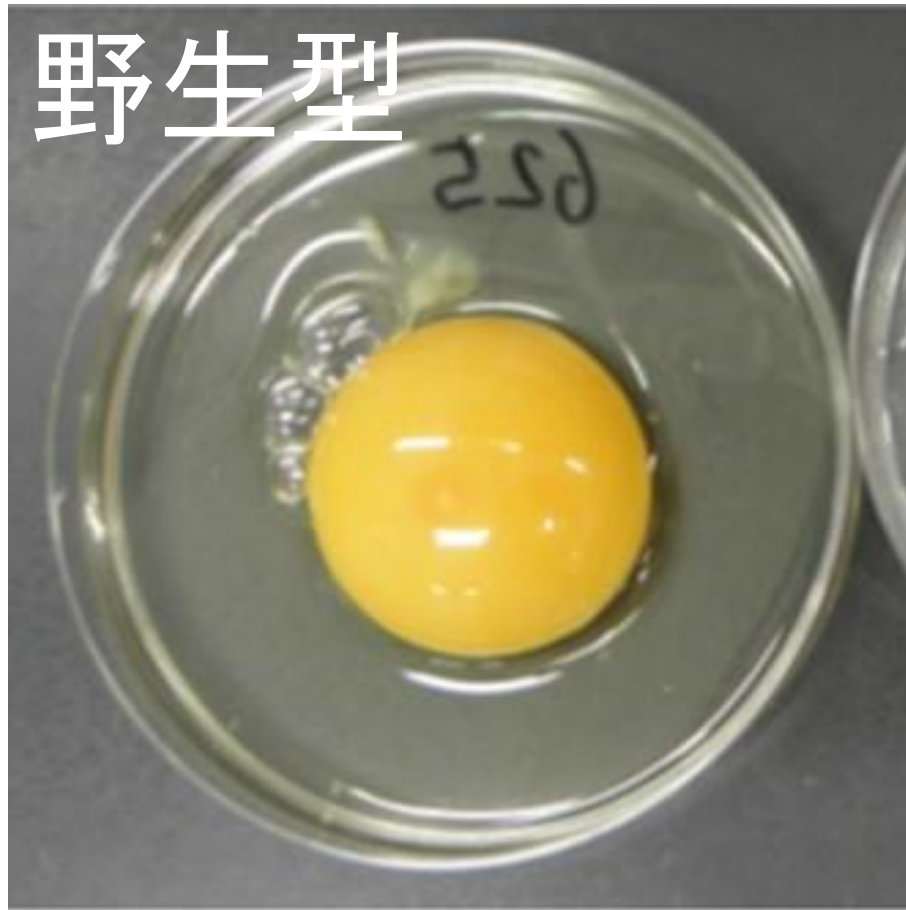


ヒトインターフェロン β ノックインニワトリ

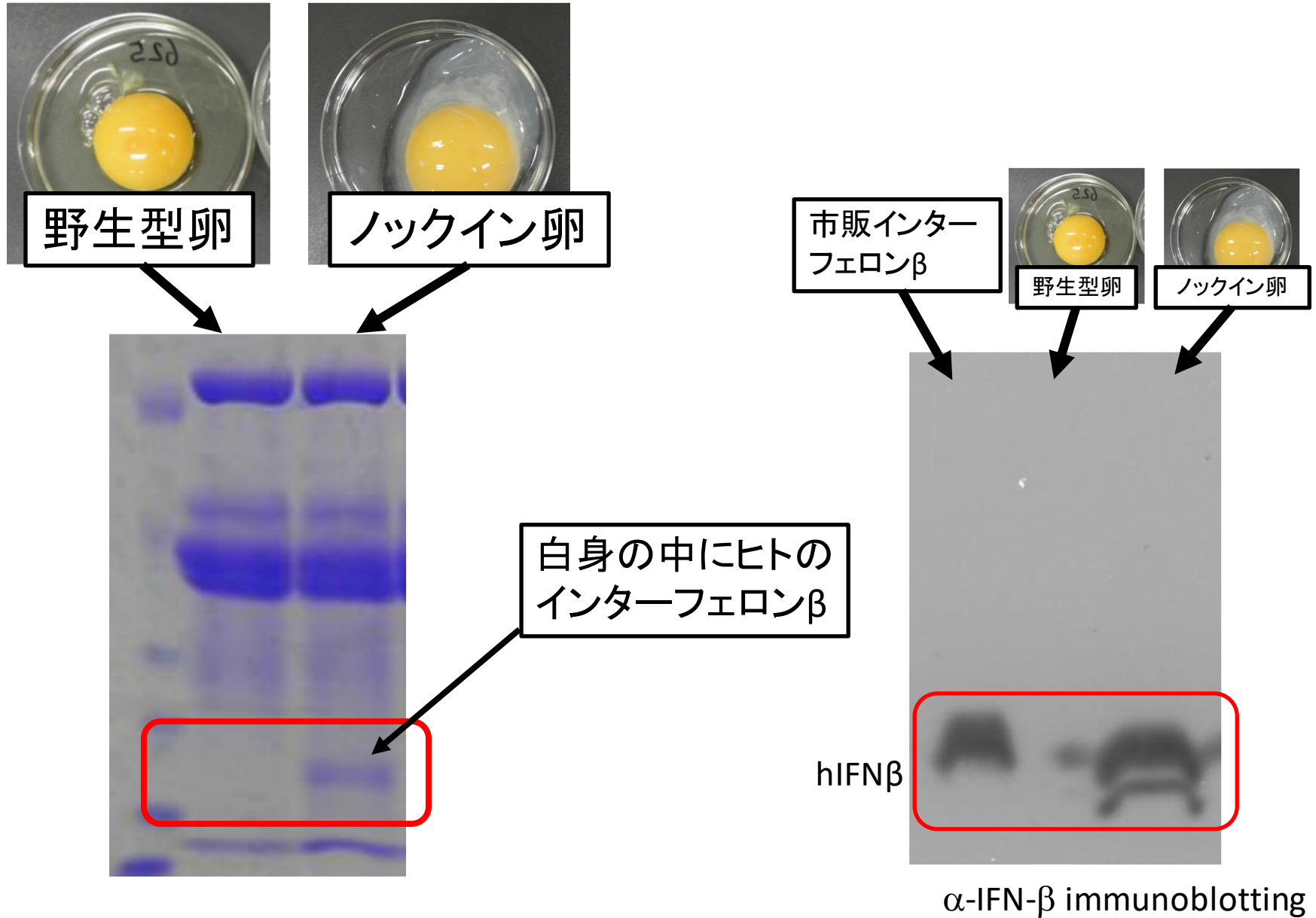
正常、健康で遺伝子ノックインによる悪影響は認められない



ヒトインターフェロン β ノックイン鶏卵



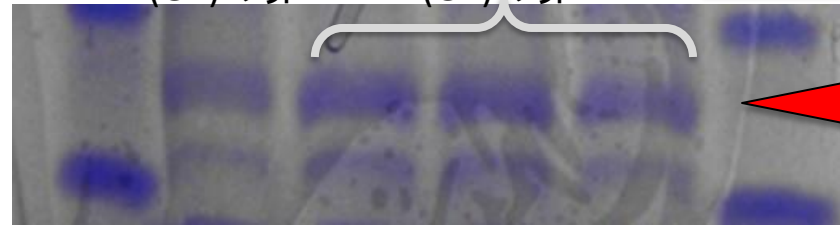
大量のヒトインターフェロンβを発現



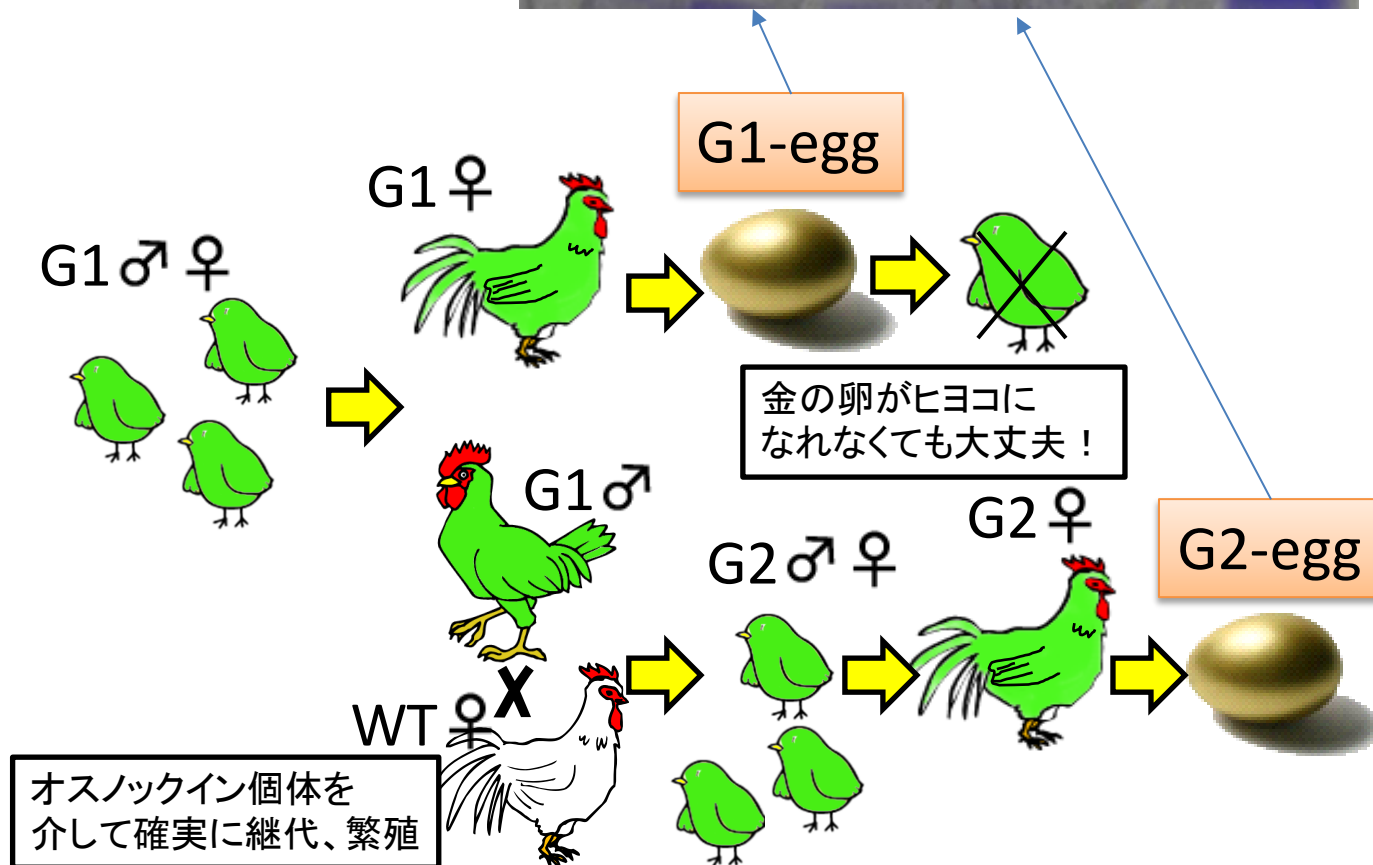
ノックインニワトリは繁殖可能、後代に形質を維持

➤ 継代や大量生産が可能

第一世代 (G1)の卵 第二世代 (G2)の卵



ヒトインターフェロンβ



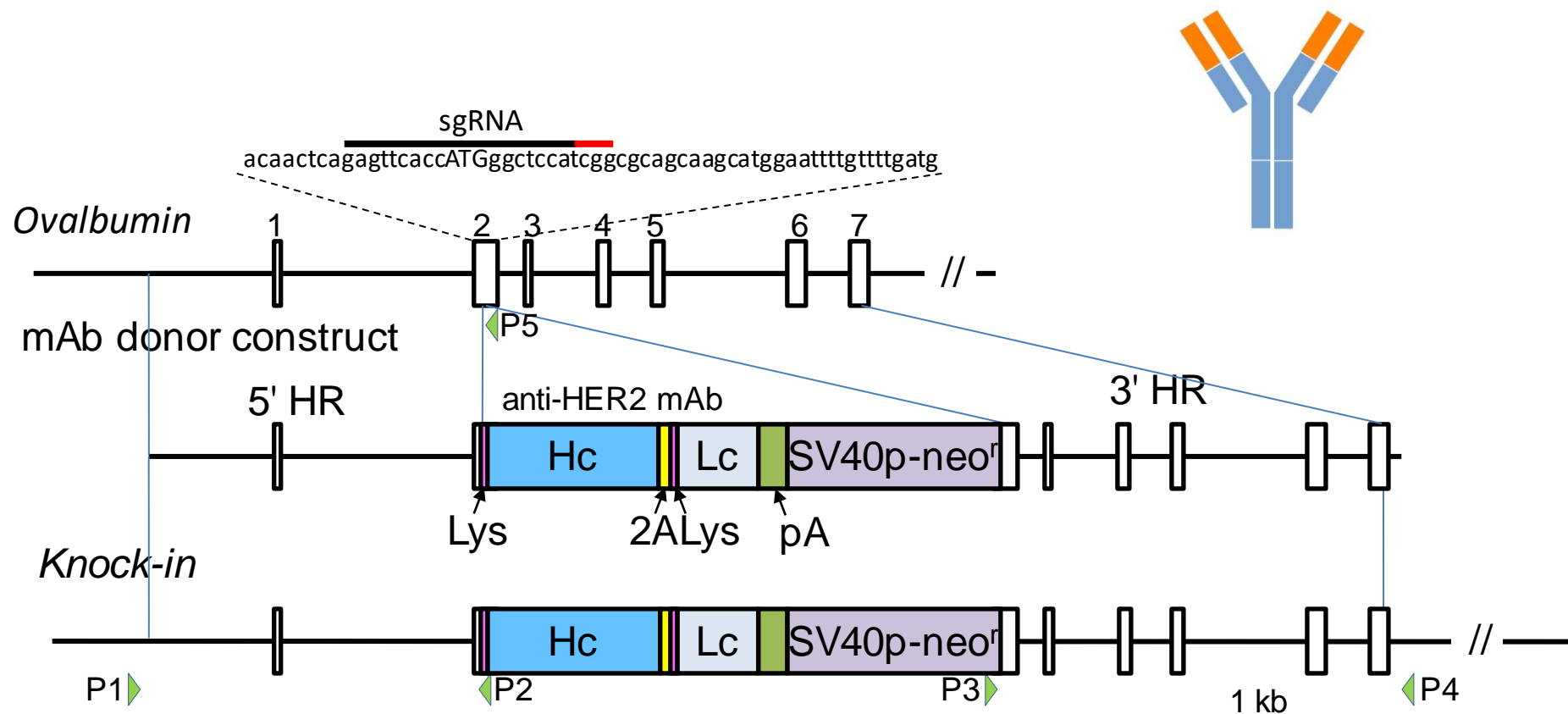
鶏卵バイオリアクター技術まとめ

- ・ 卵白オボアルブミン翻訳開始点に外来遺伝子をノックインし、卵白特異的に有用組換え蛋白質を生産する
- ・ ヒトインターフェロン β モデルにPOCを実施
- ・ 組換え蛋白質の低コスト大量生産技術として十分なポテンシャルを有すると考えられる。

実用化に向けた取り組み

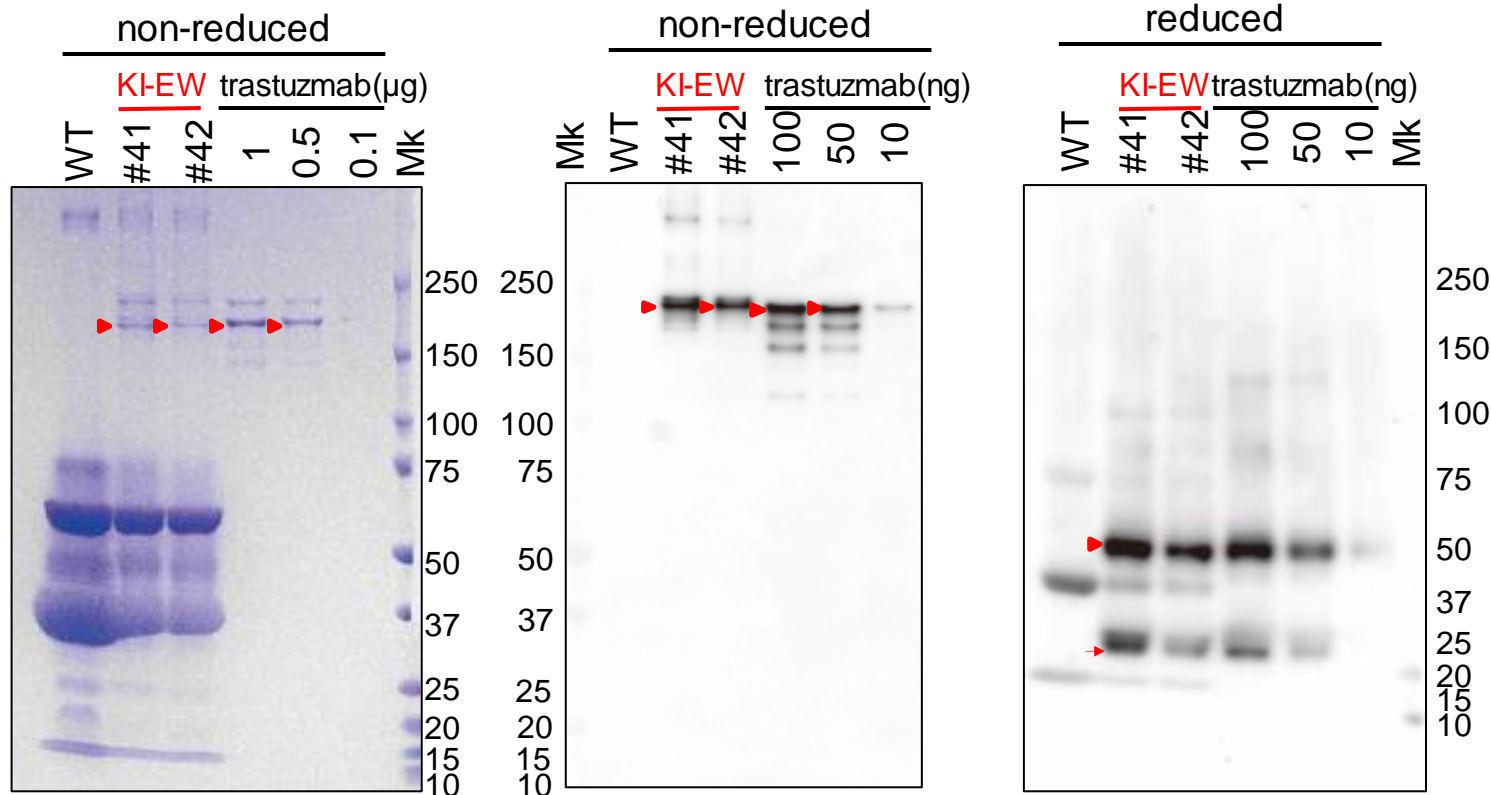
- ・ 企業連携し、複数の組換え蛋白質生産を実現
- ・ 試薬などに製品化可能なレベルの純度や活性をもつ精製法を開発
- ・ 生産技術の改良により卵1個に数百mgの組換え蛋白質生産を実現（現時点で0.5g/卵の安定発現を実現している）

鶏卵を用いたヒト抗体複合体の生産

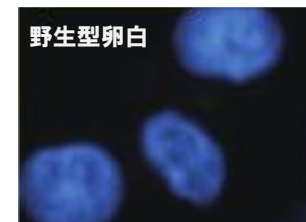
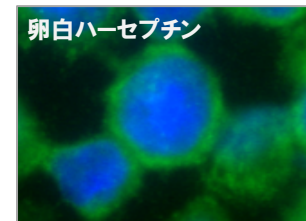
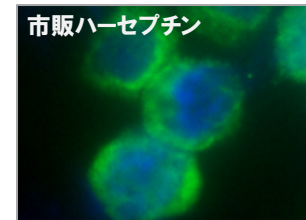


鶏卵でヒト抗体生産を実現

- ・ヒトHer2抗原を認識する全抗体(H2L2)を生産
- ・～60mg mAb/卵

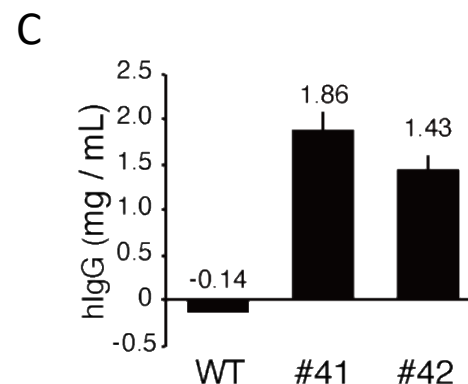
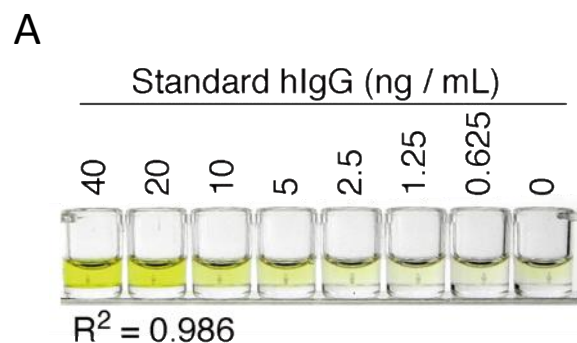
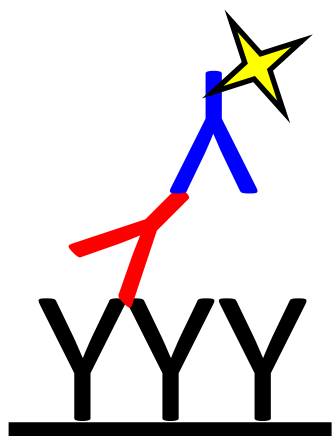


Immunostaining of HER2(+) cells

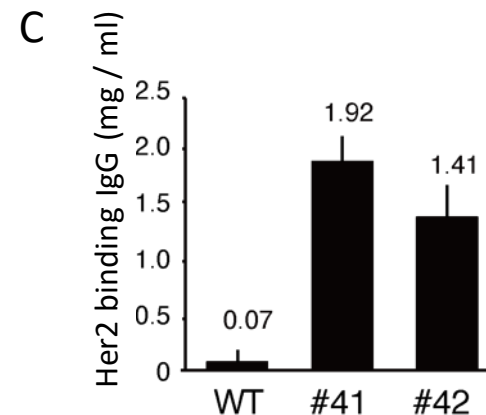
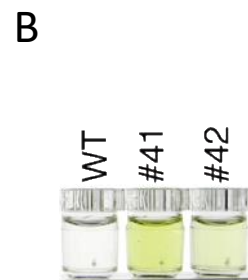
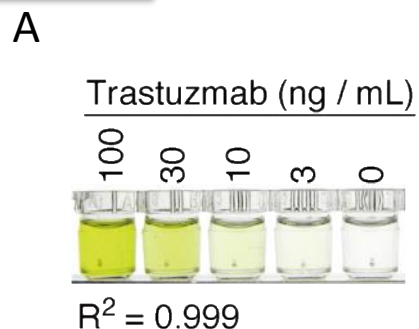
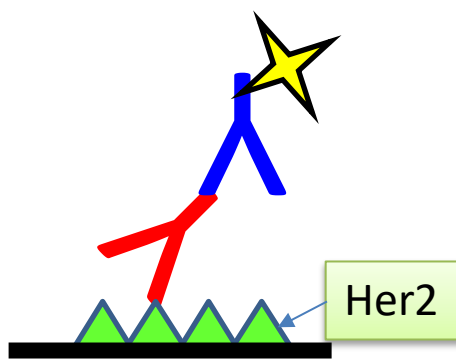


卵由来ヒト抗体は市販医薬品(Trastuzumab)と同等の抗原親和性を示す

hIgG ELISA



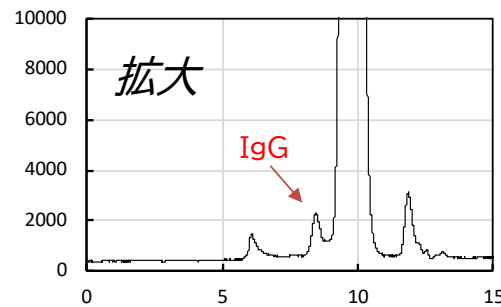
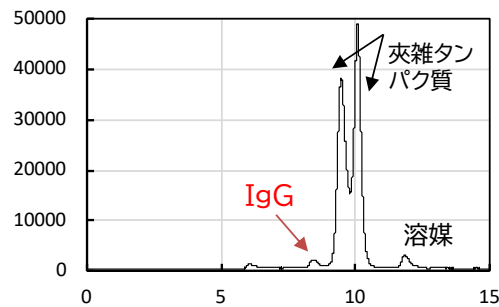
Her2 binding ELISA



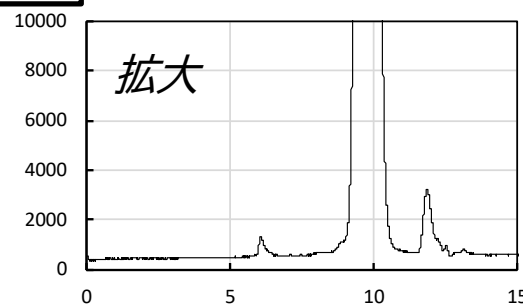
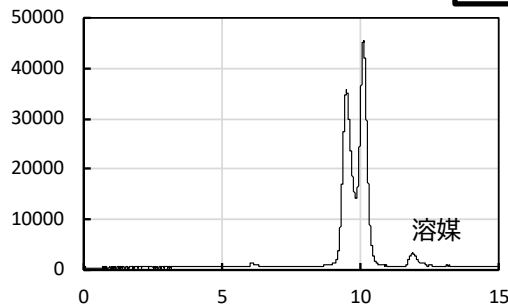
ProteinAで95%程度の純度で精製可能

HPLC分析

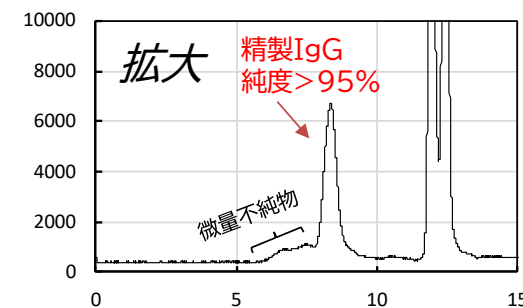
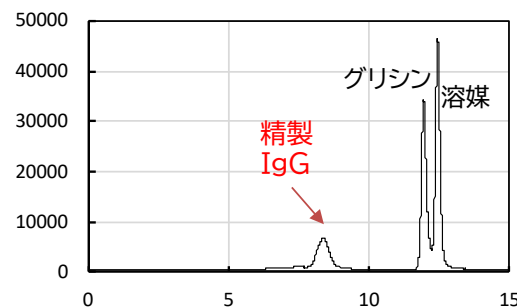
10倍希釈卵白



吸着上清

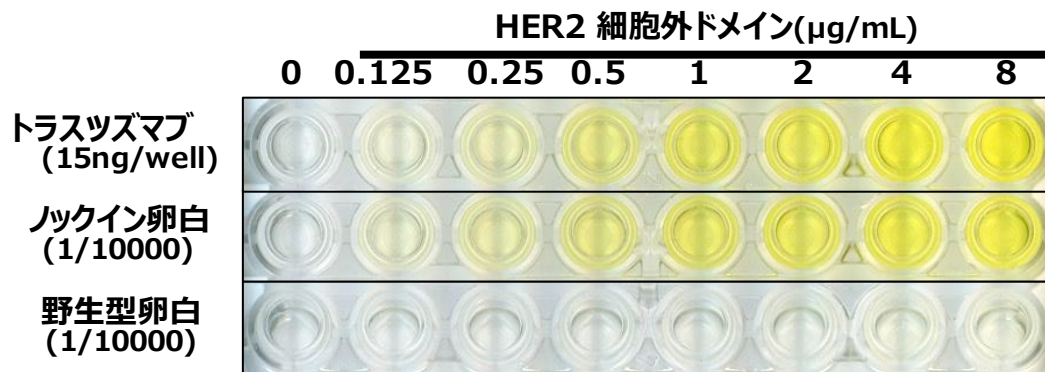
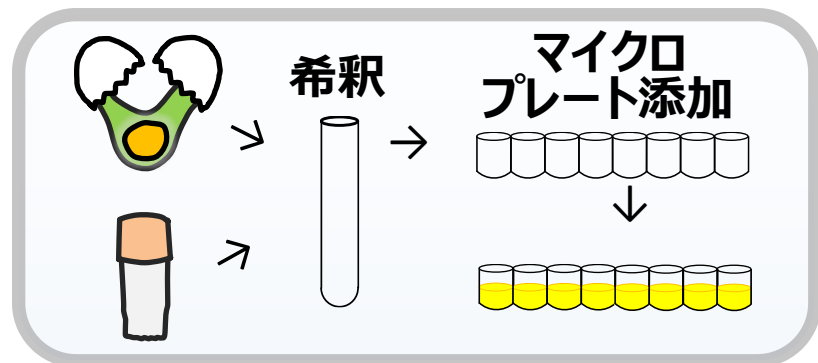


溶出精製IgG

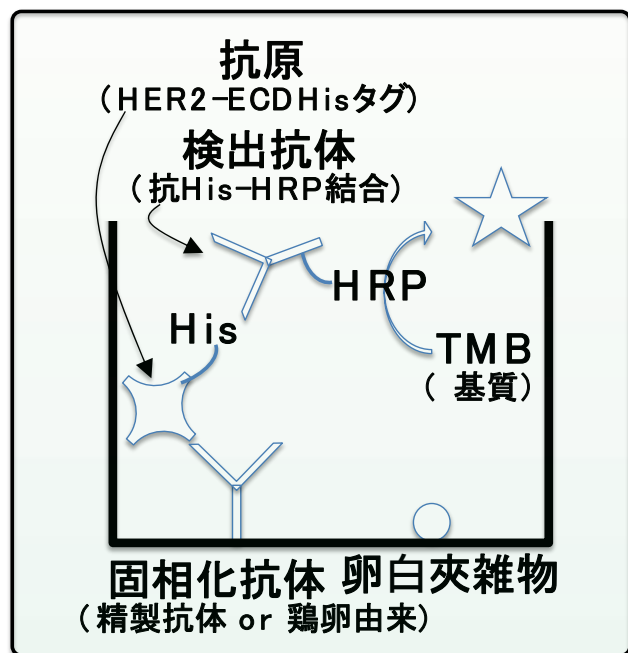


HPLC定量
~0.8mg/mL

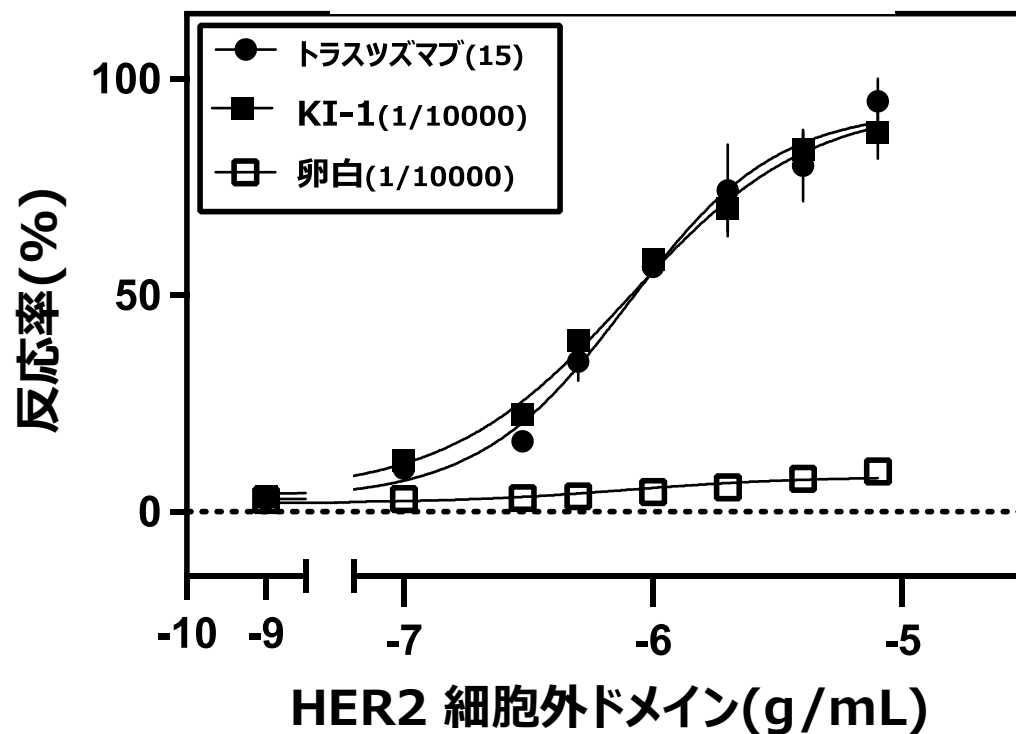
アプリケーション事例 (卵白抗体用いたELISA)



実験2-4モデル抗原の検出



容量依存性の確認



鶏卵バイオリアクターによる 組換えモノクローナル抗体生産

- ・ 卵白中に抗原認識する複合体分子（全抗体）を60mg/卵生産
- ・ 精製せずに卵白を希釈するのみで市販抗体と同等の結合親和性を呈する。ELISAなどにも利用可能。
- ・ 精製も可能、技術改良により生産量の増加も期待

新技術の特徴・他の技術との比較

	組換えニワトリ	培養細胞	微生物	組換え植物	組換え動物
生産コスト	◎極めて安価	X一般に高額	○~◎ 比較的安価	○比較的安価	△中程度
生産設備	◎P1A鶏舎 拡散防止容易	X培養タンク必用 複雑、高コスト	△複雑、高コスト、 廃棄時不活化処 理必要	X閉鎖系の圃場や 植物工場	△閉鎖系農場
大量生産	◎大量生産容易	△大規模培養施 設は限定的	○従来実績あり	X大型の閉鎖系圃 場は困難	○一頭当たりの生 産量多い
生産コントロール	◎ 極めて容易、 繁殖も迅速	X 煩雑、事前計 画重要	△ 培養細胞より は容易	X 迅速対応困難	X 迅速対応困難、 繁殖遅い
複雑な蛋白質の 生産	◎可能	◎可能	X限定的	◎可能	◎可能
糖鎖修飾	○ヒト型に近い	○哺乳動物型	Xなし/酵母型	X植物型	○哺乳動物型
製品生産の実績	△実績少ない 医薬品あり	◎実績多い バイ オ医薬はほぼ独占	◎試薬等 実績多い	△実績少ない	△実績少ない 医薬品あり

組換えニワトリ卵を用いた バイオものづくり製品事例

カヌマ[®] (セベリパーゼ アルファ), Alexion

- ・組換えニワトリ卵由来のヒトライソゾーム酸性リパーゼ (LAL)
- ・LAL欠損症の治療薬 (酵素補充療法)
- ・米国、日本、EUで承認

エポベット[®], 日本全薬工業

- ・組換えニワトリ卵由来のネコエリスロポエチン (EPO)
- ・猫腎性貧血の治療薬
- ・ネコEPOにポリエチレングリコールを付加し、血中滞留性を向上
- ・世界初のネコ専用エリスロポエチン製剤

想定される用途

- 低コスト性、大量生産性を生かした組換え蛋白質の製造
- ヒトや動物用のバイオ医薬品、診断薬など
- IgA医薬品など新規モダリティにも可能性
- 低コスト性に着目した組換え蛋白質によるオーラルケア、ヘアケア、スキンケア用品
- 微生物では生産困難な産業用酵素
- 培養肉培地や再生医療用培地 など

実用化に向けた課題

- 組換えニワトリの樹立まで2世代が必要であり、組換え卵を得るのに時間が必要（1年半程度）
- 家禽培養細胞を用いた組換え蛋白質の生産は可能なため、組換え蛋白質の機能性などの予測は可能
- 医薬品用途の想定でバイオシミラーの場合治験が必要と考えられ、メリットは限られる。新規製品が望ましいと予想。

企業への期待

- 組換え蛋白質の製造コストがCHO細胞利用時の1/10～1/100以下になると想定して、ヒト医薬品に限らず新たな製品やサービスが考えられれば相談して欲しい。
- 微生物生産では困難な組換え蛋白質（複合体など）も良い候補と考える。
- 大規模鶏舎での飼養ができれば年間数百トンの生産も理論上は可能。逆に単一鶏舎で多品種の組換えニワトリ飼育も可能。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 遺伝子改変家禽卵
- 特許番号 : 特許第 6710825 号
- 出願人 : 産業技術総合研究所
- 発明者 : 大石勲、吉井京子

お問い合わせ先

株式会社 AIST Solutions
(産業技術総合研究所 新技術説明会事務局)

URL : <https://www.aist-solutions.co.jp/contact/form.html>