

**研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム**  
**FS ステージ シーズ顕在化タイプ 事後評価報告書**

研究開発課題名	: 効率的な mRNA 核外輸送法の開発による革新的タンパク質生産法
プロジェクトリーダー	: タカラバイオ(株)
所属機関	
研究責任者	: 増田誠司(京都大学)

## 1. 研究開発の目的

動物細胞を用いて生産したタンパク質は、医薬品や基礎研究に使用する研究用試薬としてそれぞれ製薬業界、バイオ産業界において大きな需要を持つ。しかし動物細胞のタンパク質生産性は低く、この生産性を改善するブレイクスルーが期待されている。このような状況の中、研究責任者は、現在の動物細胞におけるタンパク質生産の律速段階が mRNA の核から細胞質への輸送段階(核外輸送)にあることを発見した。本課題は、この発見を事業化に結びつけるための基盤研究を行う。すなわち mRNA の核外輸送を促進する仕組みを導入した発現ベクターならびに細胞を創成し、従来法に比べ、安定して3-5倍の生産性をもつ動物細胞タンパク質生産法を開発する。

## 2. 研究開発の概要

### ①成果

目標:mRNA 核外輸送がタンパク質生産を促進する事を証明する。Tap-MS2、REV-RRE システムの内、効果の高い方法を決定する。過剰発現株を取得し、発現ベクターを開発する。

実施内容:

1. mRNA 核外輸送の効率化が、タンパク質生産性を促進することを証明する
2. Tap-MS2 ならびに Rev-RRE を用いた mRNA 核外輸送システムのうち、効果の高い方法論を決定する。
3. レンチウイルス法により過剰発現株を作製し、ベクターを構築する。

達成度:

1. 試した細胞種においてタンパク質生産性の向上を確認した。
2. 細胞ごとに生産性の良い方法は異なったが、いずれも同等の効果を示した。
3. 過剰安定発現株を作製し、Tap-MS2 あるいは RRE を搭載した市販型発現ベクターを構築した。

研究開発目標	達成度
①mRNA 核外輸送がタンパク質生産を促進する事を証明する。	①タンパク質生産性に関し、ヒト細胞で4-8倍、ハムスター細胞で4-7倍、マウス細胞で約3倍、ラット細胞で約2倍の向上を確認した。
②Tap-MS2、REV-RRE システムの内、効果の高い方法論を決定する。	②細胞ごとに生産性の良い方法は異なったが、いずれも同等の効果を示した。
③過剰発現株を取得し、発現ベクターを開発する。	③CHO 細胞で過剰安定発現株を作製し、タンパク質生産性を確認したところ、Tap-MS2 で約1.3倍、REV-RRE で約2倍の向上を確認した。Tap-MS2 あるいは RRE を搭載した市販型発現

ベクターを構築した。
------------

## ②今後の展開

本技術の方法論が、最も広く利用されている CHO 細胞や HEC293 細胞においても適応可能である事を確認することができた。発現ベクターに搭載する遺伝子構造の至適化や過剰発現細胞株の改良育種を行うことにより本技術の実用性をさらに高める事が出来る。さらに、複数遺伝子を用いた評価を行い、結果をフィードバックしながら汎用性を高めることが重要である。

## 3. 総合所見

目標通りの成果が得られ、イノベーション創出が期待される。動物細胞を利用した組換えタンパク質の技術として、産業場有用性の高いものと思う。今回、本研究戦略の妥当性を実証し、顕在化構想が達成されたと考える。

以上