

ウイルスベクター産生植物細胞によるタンパク質生産

- 発現効率が高い！ 大規模生産に対応可能！
- S-S結合等の翻訳後修飾を有する複雑な構造を持つタンパク質の生産にも対応可能！

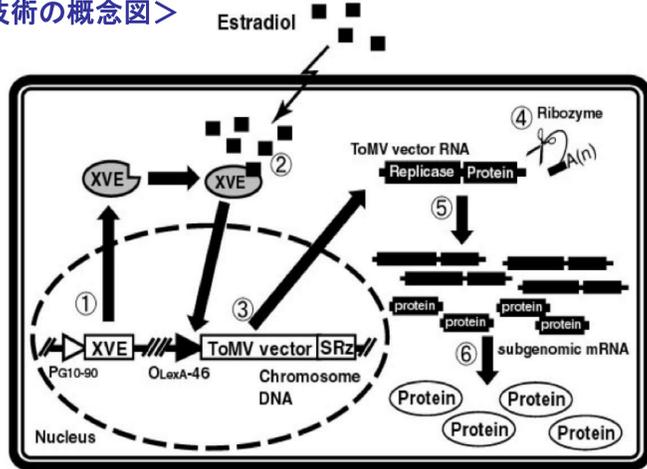
【技術の概要】

植物体および植物培養細胞は、動物の病原体の混入がないこと、生産コストが低いこと、高度な翻訳後修飾が可能であることなど、有用タンパク質生産に適した性質を有しているため、多くのウイルスベクターが構築されてきた。ウイルスベクター系は細胞あたりの発現量が非常に高いものの、煩雑な接種作業が必要なため大規模な生産系には適していなかった。また、外来遺伝子の脱落、複製の際に変異が導入されやすいという欠点を有していた。本技術は、ウイルスベクター遺伝子をcDNAの形で誘導プロモーターと連結した後、植物染色体に導入することを特徴とする。本技術により作成した形質転換植物および培養細胞に誘導物質を処理することで、有用タンパク質の高発現に成功した。

註) 本技術の詳細については右記URLをご参照ください

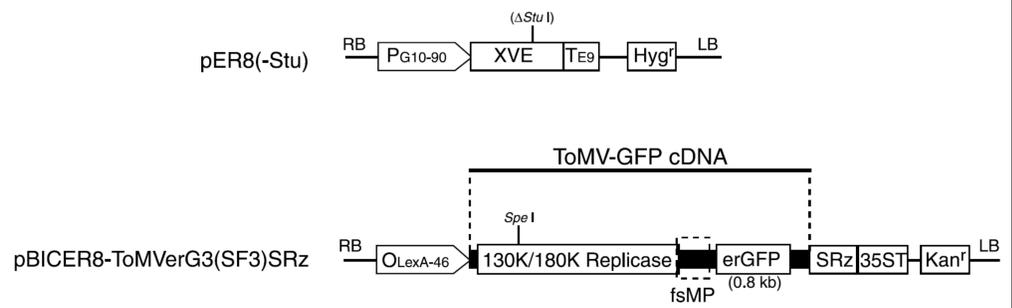
<http://www.jst.go.jp/chizai/news/biojapan2017.html>

<本技術の概念図>

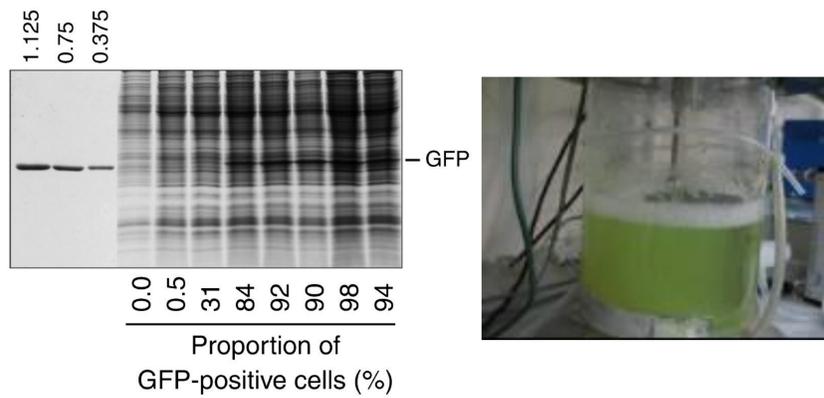


①転写活性化因子XVEの恒常的発現、②エストロゲンによるXVEの活性化、③ToMVゲノムRNAの誘導特異的転写、④ウイルスRNAの複製、⑤導入した外来タンパク質の翻訳

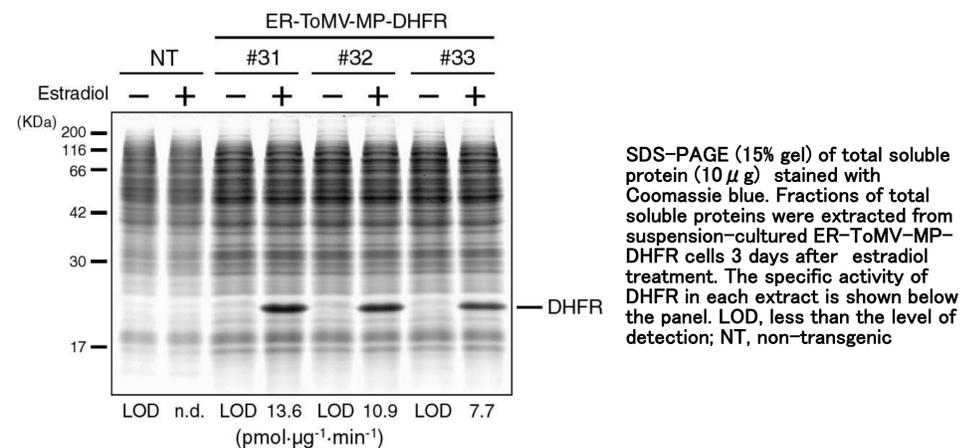
<本技術の具体例>



Schematic representation of the Ti plasmid vectors used in this study (not to scale). Bold lines above the constructs indicate the regions of modified ToMV cDNA. RB, right border; LB, left border; OLexA-46, fusion promoter controlled by XVE; MP, 30 K viral movement protein gene; SRz, ribozyme sequence from tobacco ringspot virus satellite RNA; 35ST, cauliflower mosaic virus 35S terminator; NosT, nopaline synthase terminator; Kan^r, kanamycin-resistance gene; P35S, cauliflower mosaic virus 35S promoter



誘導ウイルスシステムによるGFPおよびDHFRの合成



SDS-PAGE (15% gel) of total soluble protein (10 μg) stained with Coomassie blue. Fractions of total soluble proteins were extracted from suspension-cultured ER-ToMV-MP-DHFR cells 3 days after estradiol treatment. The specific activity of DHFR in each extract is shown below the panel. LOD, less than the level of detection; NT, non-transgenic

上記の他、様々な酵素や酵素活性阻害剤での実績有り、ワクチン製造にも適用可能

【想定される用途】

- 有用タンパク質を生産する形質転換植物の創出、植物細胞による有用タンパク質の生産

【主な論文】

- Inducible high-level mRNA amplification system by viral replicase in transgenic plants. *The Plant Journal* 27(1), 79-86. (2001)
- Inducible virus-mediated expression of a foreign protein in suspension-cultured plant cells. *Archives of Virology* 151, 1075-1084. (2006)
- Stable-isotope labeling using an inducible viral infection system in suspension-cultured plant cells. *Journal of Biomolecular NMR* 42:271-277. (2008)
- Ectopic Expression of an Esterase, Which is a Candidate for the Unidentified Plant Cutinase, Causes Cuticular Defects in *Arabidopsis thaliana* *Plant Cell Physiology* 51, 1-9. (2009)
- Stomagen positively regulates stomatal density in *Arabidopsis*. *Nature* 463, 241-244. (2010).
- Molecular basis of plant peptide hormones regulating stomatal density revealed by NMR structure of stomagen. *Nature Communications* 10.1038. (2011)
- CLO3 and DOX1 function coordinately to produce a novel phytoalexin on leaf oil bodies. *Plant Physiology* 164, 105-118.F1000 (2014)
- Central cell derived peptides regulate early embryo patterning in flowering plants. *Science* 344, 168-172. (2014).
- PYK10 Myrosinase Reveals a Functional Coordination between ER Bodies and Glucosinolates in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 2017 Jan;89(2):204-220. (2016).

【ライセンス可能な特許】

- タンパク質生産用植物由来培養細胞の生産方法 (特許第4388392号)
- 形質転換細胞および該細胞を用いたタンパク質の生産方法並びにタンパク質生産キット、ウイルスベクター発現用DNA断片およびその利用、タンパク質生産用形質転換体の生産方法および当該生産方法によって得られたタンパク質生産用形質転換体並びにその利用 (WO2005033306)
- 形質転換植物、形質転換細胞、タンパク質生産キットおよびタンパク質の生産方法 (特許第5089680号)
- ウイルスベクターおよびその利用 (特許第5070283号、WO2008136253)
- ウイルスベクター発現用DNA断片およびその利用 (特許第4371761号)

代表発明者:

森 正之 (もり まさし)
石川県立大学 生物資源工学研究所
植物遺伝子機能学研究室 准教授

連絡先 : JST知的財産マネジメント推進部
ライセンス担当

phone: +81-3-5214-8486

e-mail: license@jst.go.jp

www.jst.go.jp/chizai/

