

特集2

ゲノム編集で誕生
「金の卵」を産むニワトリ

バイオ医薬品などで需要が高まる有用たんぱく質は、生産コストが極めて高いという問題を抱えている。この状況を打破するべく、産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門の大石勲研究グループ長が着目したのが、生産コストが低い鶏卵だ。ゲノム編集によりニワトリの遺伝子を組み換え、有用たんぱく質を大量に含んだ「金の卵」を産ませる技術を開発し、より安価で簡便なたんぱく質生産を可能にした。

おいしい いさお

大石 勲

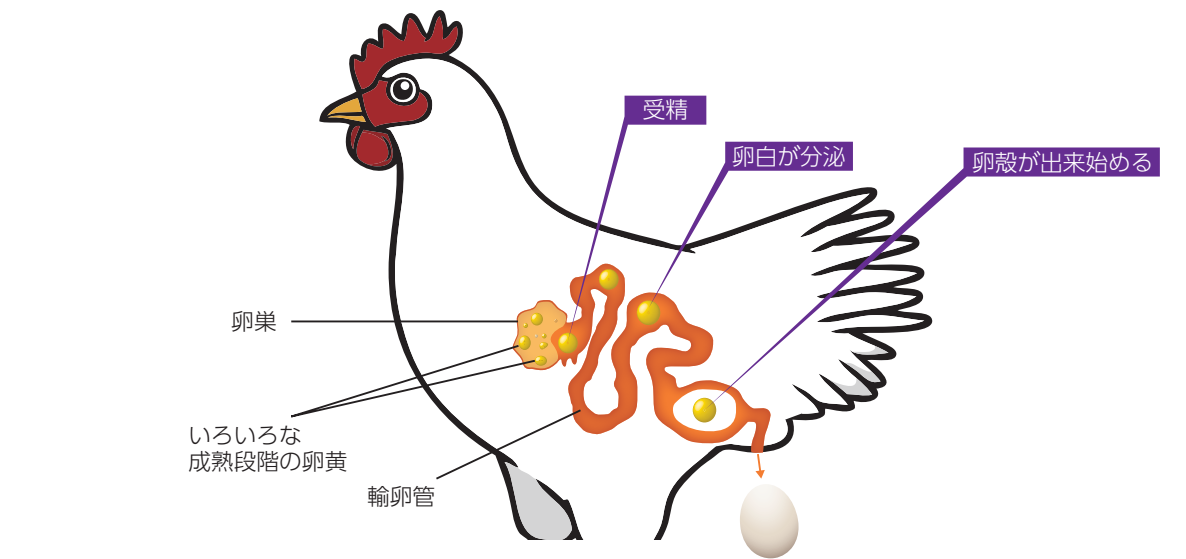
産業技術総合研究所
バイオメディカル研究部門
先端ゲノムデザイン研究グループ長
2015～16年 マッチングプランナー
プログラム研究責任者
2018～20年 A-STEP研究責任者

物価の優等生に
たんぱく質を作らせる

近年、バイオ医薬品を中心にたんぱく質の市場が急速に拡大している。再生医療の研究が活発化する中、未分化の細胞を分化誘導するたんぱく質などの需要も高まっており、今後、たんぱく質の市場はより一層大きくなっていくと見られている。

しかし、その製造技術には問題がある。現在は製造したいたんぱく質の遺伝子を培養細胞に導入し生産させる方法が主流だが、製造プラントの建設、運営などに巨額の費用がかかる。その上、組み換えたんぱく質の製造には「特許のやぶ」といわれるほどさまざまな特許が関わっており、実施料の支払いも必要となる。

その結果、たんぱく質の製造コストは安いものでも1グラムあたり数千円と高額になり、10万円を超えるものも少なくない。製造コストが市場の拡大を阻む恐れがあるのだ。そこで、培養細胞ではなく動植物の遺伝子を操作して有用たんぱく質を生産する技術の開発も進んでおり、ヤギの乳やイチゴの果実など、すでに実用化されているものもある。



■図1 ニワトリの受精は体内の奥深くで起こり、卵管内を24～27時間かけて移動する間に卵が形成される。受精直後の受精卵を取り出すことは困難で、産卵後では細胞が増え過ぎているため、他の動物と比べ遺伝子操作が難しかった。

産業技術総合研究所バイオメディカル部門先端ゲノムデザイン研究グループの大石勲グループ長は、ニワトリに有用たんぱく質を作らせる研究を進めている。鶏卵を使う理由を、大石さんはこう説明する。

「鶏卵は生産システムが確立しており、『物価の優等生』と呼ばれるほど生産コストが低い。1個分の卵白には4グラムほどのたんぱく質が含まれていますから、その一部でも置き換えられれば、従来技術よりもかなり安価にたんぱく質を製造できるようになると考えました」。

さらに、ほぼ水とたんぱく質から成る卵白には、混ざり物が少なく精製しやすいという利点もある。こうした特長から国内外の複数の研究グループが鶏卵に有用たんぱく質を作らせる技術の開発に取り組んできたが、これまで鶏卵による有用たんぱく質生産が実用化された事例はない。「原因は、ニワトリの遺伝子改変の難しさにあります」と大石さん。

ゲノム編集を利用して
狙った場所に遺伝子を導入

動物の場合は受精直後、細胞分裂を始める前の受精卵の遺伝子を操作する。1細胞期に遺伝子を導入できれば、その後の細胞分裂により、全身の細胞に組み換えた遺伝子が行き渡るから

だ。しかし、ニワトリの受精は卵管の奥深くで起こり、しかも卵細胞には大きな卵黄がついているため、遺伝子の導入は事実上不可能だった(図1)。

受精直後が無理でも産卵後の卵なら遺伝子を導入できるのではと、目的の遺伝子を組み込んだウイルスベクターを感染させる実験も行われた。しかし難易度は高く、大石さんは「この十数年間に何人も研究者が挑戦しましたが、導入効率が低いといった問題があり、卵白から求めるたんぱく質を十分に得ることはできませんでした」と話す。

そこで試みたのが、ニワトリの初期胚から採取した始原生殖細胞を利用す

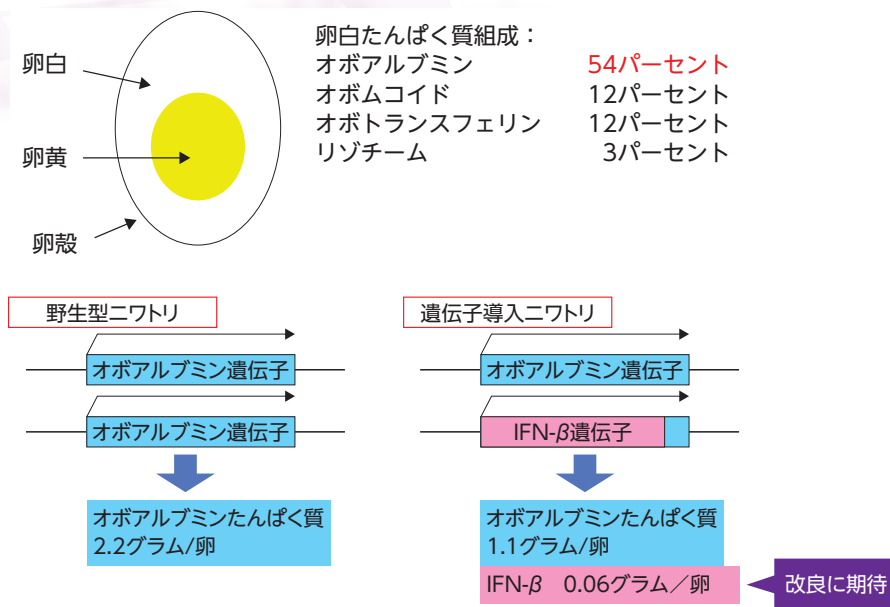
る方法だった。始原生殖細胞とは成熟すると精子や卵子になる細胞で、その遺伝子を改変した上で別の卵に移植すれば目的の遺伝子をニワトリに導入できる。

「2006年に米国のバイオベンチャーが開発した方法です。緑色の蛍光を発するGFPというたんぱく質の遺伝子を導入し、緑色に光るニワトリを誕生させたという報告を読み、これは使えそうだと考えました」と振り返る。

しかし、実験を繰り返してもなかなかうまくいかない。流れを変えたのは、新しい遺伝子操作技術として研究現場に普及し始めていたゲノム編集技術クリスパー・キャスナインCRISPR-Cas9だった。染色体のどこ



殻の上部を割り、顕微鏡下で遺伝子を導入した細胞を注入する。針先に載せた細胞を胚に注射する細かい作業だ。



■図2 卵白に最も多く含まれるオボアルブミンの遺伝子座にIFN-βの遺伝子を導入した。ゲノム編集により、オボアルブミンの遺伝子座を狙っての導入が可能になった。

に遺伝子が導入されるかはウイルス任せであるウイルスベクター法に対し、CRISPR-Cas9ではRNAをガイド役として使うことで狙った場所を切断し遺伝子を導入できる。

最も多くたんぱく質を生産できるように導入箇所として狙いを定めたのは、卵白中の全たんぱく質の約50パーセントを占めるオボアルブミン遺伝子の位置(遺伝子座)だった(図2)。

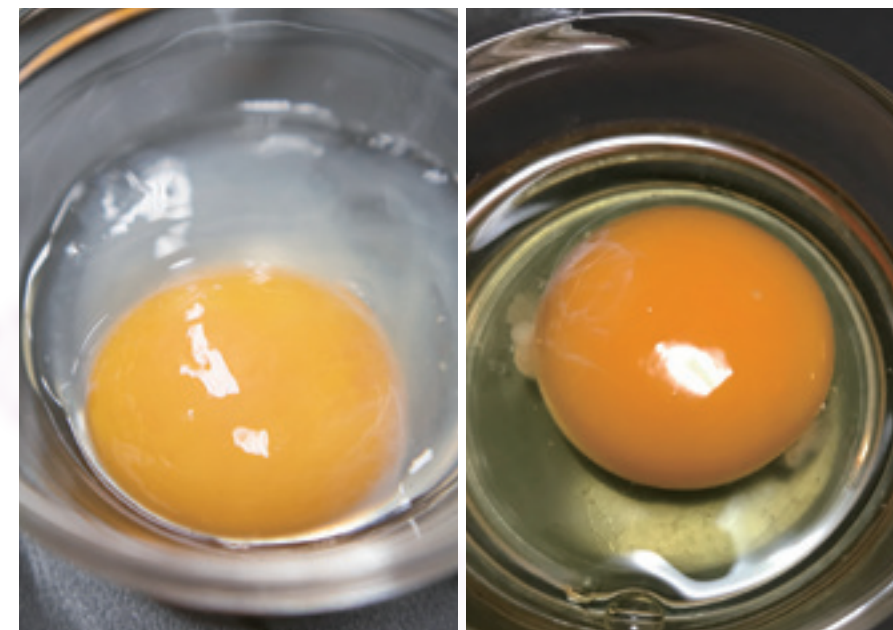
導入する遺伝子には、インターフェロンベータ(IFN-β)を選んだ。「ウイルスに対する抵抗性を誘導する生理活性物質で、多発性硬化症、悪性黒色腫、肝炎などの治療に用いられる他、研究用試薬としても販売されています。現在では10マイクログラムあたり2〜5万円と非常に高価ですから、挑戦する意義があると考えました」と大石さん。

卵白中に大量のIFN-β交配で親鳥の繁殖も可能

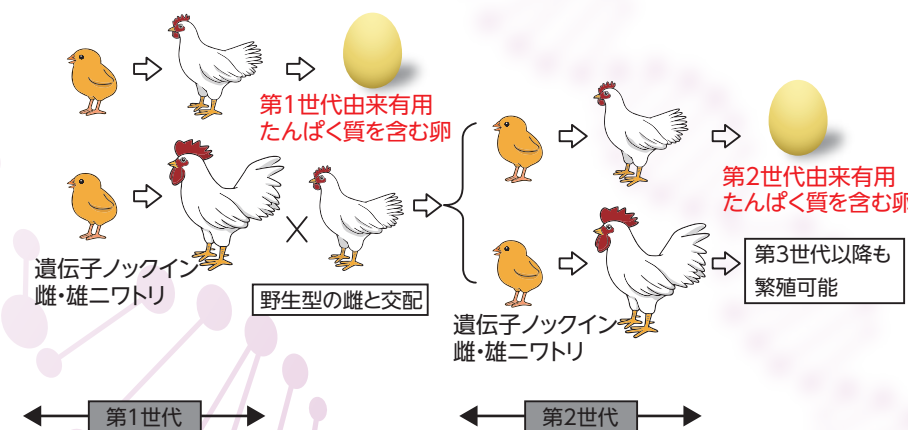
開発した手法では、まず雄のニワトリの初期胚から始原生殖細胞を採取して、CRISPR-Cas9を用いてオボアルブミンの遺伝子座にIFN-βの遺伝子を導入する(図3)。この始原生殖細胞を別の卵(レシピエント胚)に移植すると、産まれてくる雄は遺伝子組み換えされた始原生殖細胞由来とレシピエント胚由来の両方の精子を持つニワトリ(生殖巣キメラニワトリ 第0世代)になる。この雄と遺伝子操作されていない野生型の雌の交配により誕生するのが、遺伝子組み換えされた第1世代のニワトリだ。この第1世代の雌が産む卵に大量のIFN-βが含まれている。

「オボアルブミンは卵殻の形成にも関わると考えられていたため、第1世代の雌が卵を産めるのが心配でした。しかし、卵は無事に産まれ、しかもIFN-βが30〜60ミリグラムも含まれていたのです」と大石さんは成果を強調する(図4)。IFN-βの販売価格から単純に計算すると卵1個の価格は6000万円から3億円にもなり、まさに「金の卵」を産むニワトリだ。

実際には卵白からの精製や活性化処



■図4 IFN-βを含む卵白(左)は、通常の卵(右)に比べ白濁している。卵1個に30〜60ミリグラムが含まれる。



■図5 導入したIFN-β遺伝子は繁殖により次世代にも引き継がれるため、煩雑な操作をしなくても「金の卵を産むニワトリ」を増やすことができる。

理が必要で卵そのものを高値で取引できるわけではないが、大量の有用たんぱく質を卵白中で生産できた意義は大きい。第1世代の雌は少なくとも5カ月間にわたり卵を産み続けるというのだから、有用たんぱく質を生産する生物工場として十分に利用できるだろう。

「さらに特筆すべきは、たんぱく質生産能力が繁殖により次世代にも受け継がれることです」と大石さんは話す。IFN-βが含まれる卵はふ化しないため、雌は子孫を残せないが、導入したIFN-β遺伝子を持つ雄を野生型の雌と交配させれば、この遺伝子を持つヒヨコが産まれてくる(図5)。大石さんは第3世代以降でも導入した遺伝子を保持していることを確認しており、金の卵を

産むニワトリを繁殖によって増やせることを示したのである。「養鶏の世界では精子を冷凍保存し、人工授精に用いる技術も確立しつつあると聞きます。遺伝子組み換えニワトリについても保存が可能になれば、応用展開がしやすくなるでしょう」と期待を込める。

国内企業が持つ特許を利用 受託製造で技術を磨く

始原生殖細胞を用いた遺伝子導入法は、理論上はIFN-β以外の有用たんぱく質にも適用可能だ。大石さんから技術のライセンスやノウハウの提供を受けたコスモ・バイオ(東京都江東区)は、今年の7月から受託製造

を開始した。企業が生産を希望するたんぱく質の遺伝子をニワトリに導入し、たんぱく質の製造、精製に関する研究開発を進める計画で、この事業を通じて適応可能なたんぱく質の種類を増やし、精製技術を改良することを狙っている。

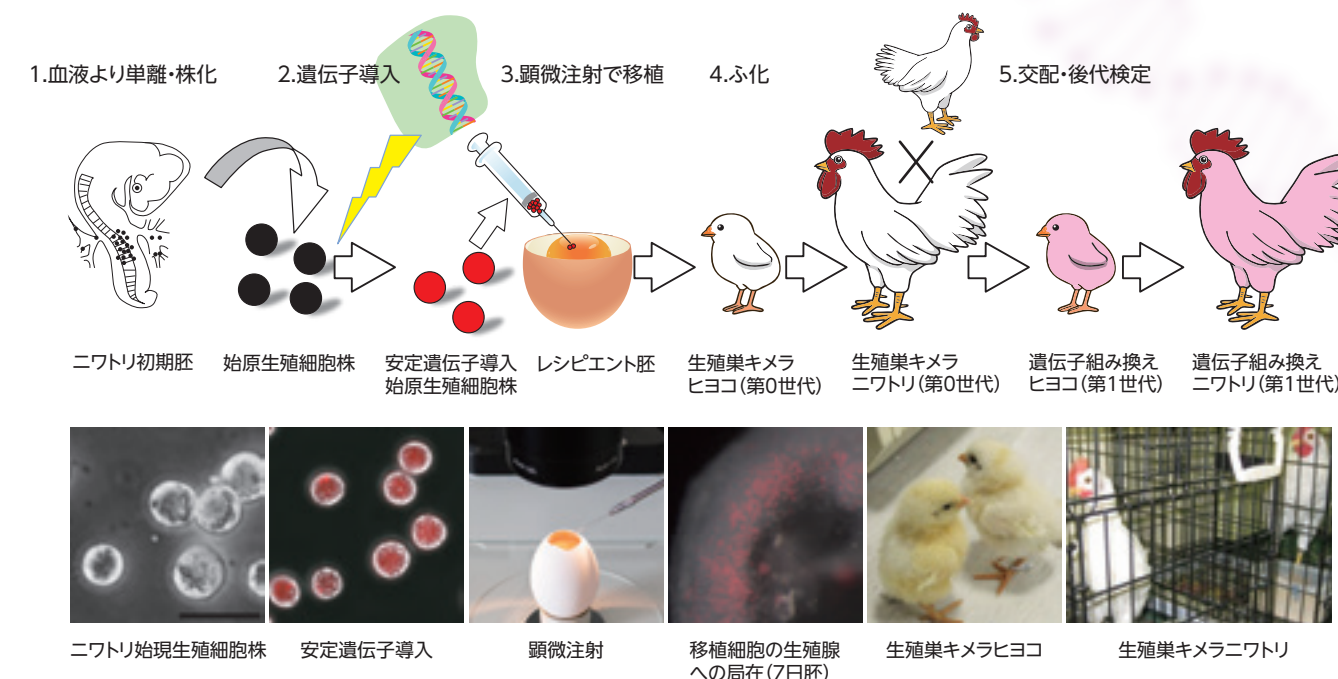
「IFN-βでは成功しましたが、どんなたんぱく質でも同じようにうまくいくとは限りません。遺伝子の長さなどが影響して卵白で発現しない可能性もありますから、事例を積み重ねて遺伝子ごとの最適化を目指します。研究が進めば、さまざまなたんぱく質を安価に大量に生産できると期待しています」と意気込む。

一方、事業化に向けて懸念されるのが、遺伝子改変に用いるCRISPR-Cas9の特許問題だ。CRISPR-Cas9の特許は、海外の研究機関が保有しているため、商用利用では特許を保有する2機関に対し、実施料の支払いが生じる。そこで大石さんは大阪大学発のベンチャー企業C4U(大阪府吹田市)が特許を持つCRISPR-Cas3に注目した。このゲノム編集技術はCRISPR-Cas9の特許に抵触しない国産技術で、実施料を支払うにしても国内産業の振興には貢献できる。

国内企業との産学連携体制で、着実に実用化に向かう鶏卵による有用たんぱく質生産技術。国産技術で有用たんぱく質を安価に大量生産できるようになれば、産業界に大きなインパクトを与えるに違いない。



研究室に設置された自動転卵機能の付いた卵機。



■図3 ゲノム編集技術を用いたニワトリへの遺伝子導入。始原生殖細胞を取り出し、遺伝子操作で目的の遺伝子を組み込み、別の卵(レシピエント胚)に顕微鏡下で移植する。生まれてきた雄と遺伝子操作をしていない雌とを交配させ、遺伝子組み換えニワトリを誕生させる。