ゲノム編集により鶏卵を使って有用な組換えタンパク 質を大量生産

産業技術総合研究所(以下「産総研」という)は、農業・食品産業技術総合研究機構と共同で、卵白に有用 組換えタンパク質を大量に含む卵を産む遺伝子改変ニワトリを作製する技術を開発した。今後、さまざまな ノックインニワトリを作製することで、ヒトインターフェロン β に留まらず、バイオ医薬品や酵素タンパク質など 高価な有用組換えタンパク質を極めて安価に大量生産する技術に繋がるものと期待される。

なお、本成果の詳細は、2018年7月5日に Scientific Reports に掲載された。



ワトリ



今回作製したヒトインタ ノックインニワトリが産んだイ $-フェロン \beta ノックインニ ンターフェロン <math>\beta$ を含む卵 (白身が白濁している)



通常(野生型)の卵 (白身は透明)

研究の内容

今回、ゲノム編集技術により精子や卵子の元になる始原生殖細胞に遺伝子ノックインを行い、この細胞を元 に卵白中にヒトインターフェロン β を生産するノックインニワトリを作製した。図 1 にノックインニワトリの作製 法を示す。

まず、雄二ワトリの初期胚血液から始原生殖細胞を分離・培養し、ゲノム編集技術のひとつであるクリスパ 一・キャス9法を用いて、細胞のオボアルブミン遺伝子の翻訳開始点に、有用タンパク質遺伝子のモデルと してヒトインターフェロン β 遺伝子をノックインした。

この細胞を別の雄二ワトリの初期胚に移植した後に孵化させ(第0世代)、成長させるとヒトインターフェロン β遺伝子がオボアルブミン遺伝子座にノックインされた精子を生産した。この雄ノックインニワトリを、野生型 の雌二ワトリと交配させると、次の世代(第1世代)で雌・雄のノックインニワトリが得られた。

得られたすべての雌ノックインニワトリは 30~60 mg のヒトインターフェロン β を含む卵を 5 ヶ月以上に渡って産み続けた。このヒトインターフェロン β を含む卵は孵化せず、雌ノックインニワトリから次の世代は得られなかったが、雄ノックインニワトリと野生型の雌ニワトリを交配することで、次の世代(第2世代)の雌・雄のノックインニワトリが得られた。

第2世代の雌はすべて第1世代と同様に30~60 mgのヒトインターフェロンβを含む卵を生産したことから、ノックインニワトリを用いて組換えタンパク質を安定的に大量生産できることが示された。第3世代以降も同様であり、長期間、世代を超えて組換えタンパク質が生産できることや、繁殖により組換えタンパク質の生産を大規模化できることも示された。

卵白に含まれるヒトインターフェロン β は、総量に対して 5 %程度の活性しか認められなかったが、ヒトインターフェロン β タンパク質に簡単な変性や巻き戻し操作を施すことで、100 %の活性を回復でき、市販試薬と同等の性能が予想された。また、ヒトインターフェロン β を卵白に含む卵は数や大きさが野生型より減少する傾向はあるものの、ノックインニワトリに健康異常は認められず、野生型との間に寿命の差はなかった。

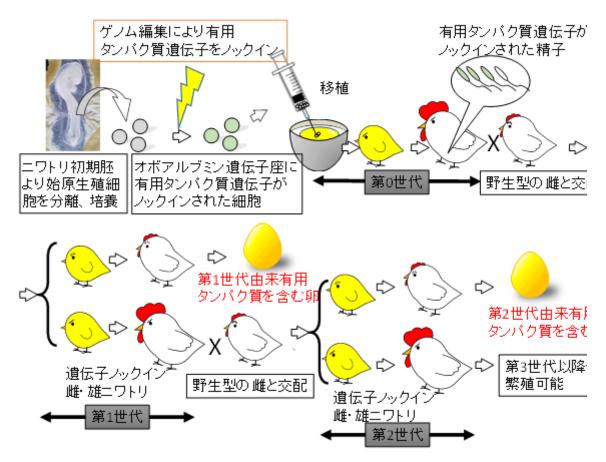


図 1 ゲノム編集による有用タンパク質遺伝子ノックインニワトリの作製法