

基調講演

「デザイン志向の生物化学工学の将来展望」

東京大学 長棟輝行

# デザイン志向の生物化学工学の将来展望

(東大・院・工) (正) 長棟輝行

## 1. 生命科学の潮流とバイオテクノロジー

バイオテクノロジーは生物機能を利用した有用物質生産、廃水・廃棄物処理、生物育種、医療・診断、生命科学基礎研究などの各分野で大きな役割を果たしてきた。化学工学も細胞や酵素などの生体触媒を用いた有用物質生産プロセスや廃水・廃棄物処理プロセスの開発、その計測制御技術の開発、細胞、生理活性物質の分離精製技術やプロセスの開発、人工臓器や医用センサの開発などの分野で、移動速度論、反応工学、材料工学、プロセスシステム工学などを武器に、大きな貢献を果たしてきたことは衆目の認めるところであろう。

20世紀後半の分子生物学を中心とする生命科学の急速な発展の過程で、遺伝子工学、蛋白質工学、細胞工学といった新しいテクノロジーが生まれた。さらに、高速 DNA シークエンス技術とコンピューター解析技術を駆使したゲノム DNA 塩基配列の網羅的な解析プロジェクトの推進により、ヒトゲノムの全塩基配列の完全解読も達成され、また、現在も引き続き多数の生物のゲノム解析が行われており、膨大な量のゲノム DNA 塩基配列情報が驚異的な速度で集積されつつある。さらに、ゲノム遺伝子の同定と機能解析、遺伝子発現ネットワーク解析、プロテオーム解析、メタボローム解析、フィジオーム解析など、生物システムの遺伝子、蛋白質、代謝、生理などの各階層に対応したポストゲノム解析と呼ばれる網羅的研究も活発に行われている。さらに、これらの解析によって得られる莫大な情報を有機的に関連づけて階層化、構造化し、その中から有用な情報を抽出するバイオインフォマティクス研究が21世紀の生命科学研究の主翼を担おうとしている。これらの研究の進展に伴って、発生、分化、形態形成など生物システムの構築原理や遺伝子発現調節、情報伝達、細胞周期制御、代謝調節など生物システムにおける制御ネットワークの全貌の解明が期待される。このような生命科学の潮流を背景として、次のような分野で21世紀のバイオテクノロジーのさらなる発展が期待されている。

- 1) 遺伝子診断、遺伝子治療、細胞治療、再生医療、ゲノム創薬などの医療・製薬分野
- 2) 目的に合わせてデザインされた細胞や人工細胞による可能資源からの物質生産、太陽光によるエネルギー生産、環境修復などの化学工業・環境分野
- 3) クローン動物や機能性作物、耐環境性作物の育種などの食糧生産分野
- 4) ポストゲノム解析研究やバイオインフォマティクス研究のための基盤技術分野

## 2. 生物化学工学と21世紀のバイオテクノロジー

生物化学工学は20世紀のバイオテクノロジーの中で、生物システムの機能解析、生物機能を発揮させるための環境としてのリアクターシステムの設計と開発、環境条件を整えるための操作方法、計測・制御技術の開発、生産物質の分離精製技術やプロセスの開発などに主に貢献してきた。このような役割は、21世紀のバイオテクノロジーを展開してゆく中で、引き続き求められるであろう。それでは、生物化学工学はさらにどのような役割を果たすことができるであろうか、また、果たすべきであろうか？

ポストゲノム解析の結果に基づく生物システムのモデル化や代謝工学、バイオインフォマティクスの分野は、システム工学的なアプローチが得意な生物化学工学分野の研究者が積極的に取り組み、リードすべき分野である。さらに、演者は目的に適う生物機能や特性を発揮する生物システム(細胞、組織)やバイオ分子を、生物化学工学的センスを生かして自らデザイン、シンセシスし、バイオテクノロジーが21世紀に展開すべき前記の様々な分野において、自ら創製した材料をベースとして技術開発、プロセス開発などを行うという姿勢を持つことが、これからは益々重要であると考えている。

生物化学工学分野の研究者は、これまで酵素、抗体などのバイオ分子の触媒機能、分子認識能を固定化酵素バイオリアクター、固定化酵素センサ、イムノクロマトグラフィー、イムノアッセイなどに利用してきた。また、微生物や動物細胞の代謝機能を有用物質生産プロセス、廃水・廃棄物処理プロセスに応用してきた。しかし、そこで用いてきたバイオ分子、細胞は生化学、醗酵工学、農芸化学などの分野の研究者によってスクリーニングされたり、育種されたものであり、これら与えられたバイオ分子や細胞の機能をそのまま利用するという受動的なものであったと言える。しかし、工学的視点からこれらのバイオ分子、細胞を眺めると、最適な機能と特性を持つバイオ分子、細胞とは言えない場合も多かったように思える。

ゲノム解析や遺伝子工学、蛋白質工学の進歩に伴い、蛋白質やその複合体中で特定の機能を担っているドメインやサブユニットなどを同定し、このような機能・構造ユニットに対応する DNA 領域を PCR 法などによって増幅し、容易に取得できるようになってきた。また、部位特異的アミノ酸置換、ランダムアミノ酸置換、遺伝子シャップリング、キメラ化、コファクター置換、化学修飾、合成材料とのハイブリッド化などの技術によって種々の機能を有するユニットを機能改質、機能増強、複合化することも可能である。これらの技術はプロトコル化され、決して高い熟練を要するものではないので、生物化学

工学分野の研究者でも容易に習得することが可能である。

このような諸技術の発展により、利用目的に適合した機能と特性を持つバイオ分子の構築、すなわち工学的な視点に立脚したバイオ分子のデザインとシンセシスが可能になりつつある。例えば、異なる機能を担うユニットをコードする複数の DNA 断片を適当なリンカーで連結した融合 DNA を作製し、これをベクターに挿入して適切な宿主細胞で発現させることにより、目的とする複数の機能を兼ね備えた多機能性キメラ蛋白質を構築することができる。また、DNA 鎖などのバイオアフィニティ部位を導入した蛋白質の機能ユニットを、その自己組織化能を利用して各機能ユニットの配向性を制御しブロック細工のように組み合わせるといったような、工学的なバイオ分子複合体構築技術の開発も可能になりつつある。

さらに、このようにしてデザインした蛋白質を細胞内や細胞膜に導入することにより、細胞に新しい機能を付与することができる。

このように、デザインとシンセシスを志向したバイオテクノロジーを展開するにあたって、システムの思考が得意な生物化学工学分野の研究者の役割は大きいと考える。

### 3. デザインとシンセシスを志向したバイオテクノロジー

演者の研究室では、電子伝達性蛋白質、抗体、受容体蛋白質、発光酵素、芳香族化合物分解酵素などの蛋白質を対象として、このようなシンセシスを志向したバイオ分子構築技術の開発とバイオ分子の構築、抗体—受容体キメラタンパク質や脂質 PEG 修飾蛋白質の細胞膜導入による細胞機能の改変、ならびにその工学的応用について研究を進めている。以下、簡単にそれらの研究について紹介する。

#### 抗体—発光酵素、抗体—蛍光タンパク質、抗体—酵素キメラ蛋白質の創製と免疫測定への応用

- 1) 免疫測定に用いられる2次抗体と混ぜるだけで自己組織的にアフィニティ標識できる抗体結合能と触媒能を有する融合蛋白質の開発<sup>1-2)</sup>
- 2) 抗原を抗体可変領域VHとVLでサンドイッチして測定する新規免疫測定法の開発と、これに利用可能な抗体可変領域と酵素/蛍光蛋白質の融合蛋白質の開発<sup>3-5)</sup>
- 3) 細胞内情報伝達分子リン酸化過程の免疫学的リアルタイムイメージングのための抗体—蛍光タンパク質の開発<sup>9)</sup>(NEDOプロジェクト「細胞内ネットワークのダイナミズム解析技術」(H14-H18)で開発研究を推進中)

#### 抗体可変領域—受容体キメラ蛋白質を膜発現する細胞の創製と抗原を用いた細胞増殖制御

- 1) エリスロポエチン受容体(EPOR)の EPO 結合ドメインを抗ニワトリ卵白リブチーム抗体可変領域 VH, VL に置換したキメラ受容体(Fv-EPOR)の創製と増殖制御<sup>10)</sup>およびキメラ受容体遺伝子導入細胞の抗原を用いたポジティブスクリーニング技術の開発<sup>11)</sup>
- 2) 上記キメラ受容体の EPOR 細胞内ドメインを gp130 細胞内ドメインに置換したキメラ受容体(Fv-gp130)の創製と増殖制御および無血清培地中での増殖促進<sup>12)</sup>

#### 脂質 PEG 修飾蛋白質の創製とこれを用いた細胞膜機能の改変技術の開発

- 1) 脂質 PEG と抗体、ペプチドリガンドなどの脂質 PEG-蛋白質ハイブリッドの創製と動物細胞の細胞膜へのアンカリング技術及び細胞免疫療法への応用<sup>13-15)</sup>
- 2) 脂質 PEG 修飾基板上への浮遊性動物細胞の固定化技術とこれを用いた遺伝子発現解析技術<sup>16)</sup>の開発(NEDOプロジェクト「細胞アレイ等による遺伝子機能の解析技術開発」(H17-H21)において開発研究を推進中)

#### 引用文献

- 1) Maeda, Y. *et al.*, *Anal. Biochem.*, **249**, 147-152 (1997)
- 2) 上田 宏ら, *化学工学論文集*, **24**, 169-173(1998)
- 3) Arai, R. *et al.*, *Protein Engineering*, **13**, 369-376 (2000)
- 4) Suzuki, C. *et al.*, *Anal. Biochem.*, **286**, 238-246(2000)
- 5) Arai, R. *et al.*, *Anal. Biochem.*, **289**, 77-81 (2001)
- 6) Yokozeki, T. *et al.*, *Anal. Chem.*, **74**, 2500-2504(2002)
- 7) Ohiro, Y. *et al.*, *Anal. Chem.*, **74**, 5786-5792(2002)
- 8) Ueda, H. *et al.*, *J. Immunol. Methods*, **279**, 209-218(2003)
- 9) 長棟ら、*バイオインダストリー*、21(7), 70-77 (2004)
- 10) Ueda, H. *et al.*, *J. Immunol. Methods*, **241**, 159-170 (2000)
- 11) Kawahara, M. *et al.*, *Nucleic Acids Res.*, **31** (7) e32(2003)
- 12) Kawahara, M. *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.*, **74**, 416-423 (2001)
- 13) Kato, K. *et al.*, *Biotechnol. Prog.*, **20**, 897-904(2004)
- 14) Chung, H. A. *et al.*, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **70**(2), 179-185 (2004)
- 15) Chung, H. A. *et al.*, *Biotechnol. Prog.*, **21**, 1226-1230(2005)
- 16) Kato, K., *et al.*, *BioTechniques*, **37**, 444-452(2004)

TEL: 03-5841-7328 FAX: 03-5841-8657

E-mail: nagamune@bio.t.u-tokyo.ac.jp