

## 研究成果

<p>サブテーマ名：微生物機能を活用したバイオマテリアル開発 小テーマ名：微生物によるヒトコラーゲン作出の利用技術</p>
<p>サブテマリーダー：山形大学農学部教授 河東田茂義 研究従事者：山形県企業振興公社研究員 内田英伸、横山亜紀子 山形大学派遣 原慶明</p>
<p><b>研究の概要、新規性及び目標</b></p> <p>研究の概要：遺伝子組み換え技術によりヒトコラーゲン遺伝子を発現させ遺伝子産物を回収し製品化する。</p> <p>研究の独自性・新規性：ヒトコラーゲン遺伝子発現技術では真核型遺伝子の発現に多用される酵母・バキュロウイルスを用いた方法が特許化されている。遺伝子操作によるコラーゲン生産を商業化するためにはより安価な培地で培養のできる新規生物での遺伝子発現系が求められている。本テーマにおいては無機培地で培養可能な生物であり、過去数年間に外来真核型遺伝子発現技術の進んだ藻類クラミドモナスに注目し、同生物の細胞外マトリックス遺伝子（細胞外分泌・糖鎖付加・アミノ酸水酸化の系のある接合子特異的遺伝子）のメカニズムをとりいれたヒトコラーゲン遺伝子発現系の開発を目指した。</p> <p>研究の目標：フェーズI、ヒトコラーゲン遺伝子の単離、大腸菌における同遺伝子発現・検出系の確立、緑藻クラミドモナスへの遺伝子導入の準備。 フェーズ、緑藻クラミドモナスへの外来遺伝子導入方法の改良と大腸菌産生コラーゲンの製品化の検討。 フェーズ、緑藻クラミドモナスにおける細胞外マトリックス遺伝子を用いた外来遺伝子発現系の検討とIV型コラーゲン遺伝子導入プラスミドの作成。</p>
<p><b>研究の進め方及び進捗状況</b></p> <p>フェーズIでは、遺伝子操作方法の基礎確立のために、繊維芽細胞よりヒトIV型コラーゲン遺伝子を単離し、大腸菌における同遺伝子の発現、抗体による検出、クロマトグラフィー精製をおこなった。また、クラミドモナスへ遺伝子導入の基礎の確立のために、パーティクルガンによる葉緑体ゲノムへの外来遺伝子の導入をおこない、その発現を確認した。</p> <p>フェーズIIでは、ヒトIV型コラーゲン遺伝子のC末端領域を中心とする様々な断片をマルトース結合タンパク質遺伝子との融合遺伝子としてクローニングした結果、いくつかのコラーゲン遺伝子断片の発現を確認した。</p> <p>しかしながら、この遺伝子発現生成物はコラーゲンの構成成分の一部でしかなく、分子構造的にはペプチドあるいはゼラチンの段階にとどまった。したがって、コラーゲンの機能を期待する製品化・実用化の可能性は低いと判断し、平成13年度をもって開発研究を中止した。</p>
<p><b>主な成果</b></p> <p>具体的な成果内容：</p> <p>従来の特許ではあまり注目されなかった大腸菌による遺伝子発現系を用いることで産生ヒトIV型コラーゲンのアレルギー抗原性を排除することに成功し、特許出願した。緑藻クラミドモナスでの葉緑体ゲノムでの遺伝子導入・発現を抗生物質耐性遺伝子aadAで確認し、蛍光タンパク質GFP遺伝子導入の試みとあわせて、第4回マリンバイオテクノロジー学会において口頭発表した。また、真核型タンパク質の発現に適した接合子特異的zys1遺伝子ファミリーの転写産物産生能の比較をおこなった。</p> <p>特許出願件数：1                      論文数：2                      口頭発表件数：16</p>

## 研究成果に関する評価

## 1 国内外における水準との対比

研究の中断に当たり、広島県のカイコに対するヒトコラーゲン遺伝子の導入成果を参考にした。

## 2 実用化に向けた波及効果

なし

## 残された課題と対応方針について

なし

	J S T 負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合計
	H10	H11	H12	H13	H14	H15	小計	H10	H11	H12	H13	H14	H15	小計	
人件費	2,504	19,749	19,063	15,996	0	0	57,312	59	88	88	66	0	0	301	57,613
設備費	16,022	2,751	6,017	1,492	0	0	26,282	0	5,000	0	0	0	0	5,000	31,282
その他研究費 (消耗品費、材料費等)	3,542	7,112	5,973	2,036	0	0	18,663	0	0	0	417	0	0	417	19,080
旅費	238	774	488	231	0	0	1,731	0	0	0	0	0	0	0	1,731
その他	0	1,081	1,909	1,181	0	0	4,171	0	0	0	0	0	0	0	4,171
小 計	22,306	31,467	33,450	20,936	0	0	108,159	59	5,088	88	483	0	0	5,718	113,877

代表的な設備名と仕様 [ 既存 (事業開始前) の設備含む ]

J S T 負担による設備 : 遠心濃縮機 (タイテック株製 VC-36N)

地域負担による設備 : 遺伝子組換え施設 ( P 2 )