

細胞周期制御と有用タンパク生産

寺田 聡

生物が細胞からなること、そしてその生物自体が持つ細胞増殖の巧みな制御によって保持されていることはよく知られている。細胞の増殖は細胞周期に従い、進行する。G1期と呼ばれる準備期を経てS期において染色体DNAが倍加する。引き続いてG2期を経てM期において細胞が二つに分裂する。そしてここで再度G1期に入って増殖を続けるか、G0期といわれる増殖を行わないフェーズに入るかする。

ところで、細胞周期のフェーズによって、おのおののタンパク質の生産効率が異なっていることが知られている。たとえば、染色体DNA量が倍増するフェーズであるS期においては、DNAポリメラーゼ量が他のフェーズに比べて多く必要とされるわけであるから、その合成量はS期に高まる。筆者の知る限りにおいて細胞周期とタンパク質合成量との関係を調べたもっとも古い報告は、1976年のGaratunらによる研究である。¹⁾彼らはプラズマサイトーマ細胞を同調培養によって細胞周期のフェーズをそろえ、おのおのの期の細胞集団からライセートを調製し、これをもちいて *in vitro* でタンパク質の合成を行い、合成活性を比較した。培養動物細胞を利用した有用物質生産効率を目的とした研究には、たとえば大政らによってハイブリドーマ細胞によるモノクローナル抗体生産がG1期において他の期の2倍程度高いことがフローサイトメーターを用いた解析によって報告されている。²⁾

細胞周期のフェーズによって生産効率が異なっているのであるから、当然、培養細胞を有用物質生産の高い細胞周期に集中させることで物質生産の効率を上昇させることを目指した研究もなされている。細胞周期進行は、たとえば増殖因子、特に血清の欠如で阻害されるし、また過剰濃度のチミジンの培養系への添加では核酸合成が阻害され、G1期とS期の境界で停止することはよく知られている。我々も血清飢餓や代謝阻害剤を利用した細胞周期制御による有用物質生産を試みたが、たしかに細胞あたりの物質生産増強がみられるものの、いずれも数日という短い培養のうちに急速な細胞死を生じてしまい、実用的ではなかった。そこでたとえば細胞死を引き起こさないように細胞死抑制遺伝子 *bcl-2* をあらかじめ細胞に導入しておくことで、ある程度まで細胞死を防ぐことには成功した。³⁾

有用物質生産の高い細胞周期に集中させる方法として、代謝系の阻害や血清/増殖因子除去などの方法は、環境ストレスに敏感な動物細胞には負担が大きすぎるよ

東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻
(学振特別研究員 PD)

〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1

Tel: 03-3812-2111 ext. 7399 Fax: 03-5684-8402

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

1995年 東京大学大学院工学系研究科博士課程終了、工学博士
現在の興味：動物細胞工学、アポトーシス

うに思われる。そこで、動物細胞が本来持っている細胞周期の調節機構を利用しようという試みもなされている。最近の分子生物学の研究の進展によって、細胞周期の進行を司る因子としてサイクリンが知られるようになり、反対に細胞周期進行を抑制するサイクリンインヒビターとして p21, p27 と呼称される因子が見いだされた。これら p21, p27 といった細胞周期抑制遺伝子を発現誘導可能なプロモーターの下流に入れることで、次のような培養プログラムが構築できる。すなわち、細胞密度がいまだ低い期間を増殖のフェーズとし、十分な細胞数に達した時点でプロモーターを活性化して細胞周期抑制を誘導し、物質生産に適した特定の細胞周期に細胞を滞留させた生産フェーズとするというものである。

最近、p21, p27 などの細胞周期抑制遺伝子を CHO 細胞に導入することで細胞周期制御を行い、組換えタンパクの生産が4倍前後高まったという報告がなされた。⁴⁾しかし、彼らの培養期間が数日と短いこともあって、現状では未だ細胞周期制御技術は確立したとはいえない状況である。

一方で、生産に適した細胞周期のフェーズに細胞を制御するという方法とはまるきり別の考え方がある。培養に適した（あるいは培養中にもっとも長い滞留時間を示す）細胞周期のフェーズにおいて、もっとも高い活性を持つプロモーターを検索するという方法である。たとえば、動物細胞に発現ベクターを用いて組換えタンパクを生産した場合に、やはり細胞周期によって生産性が異なるという報告がなされている。⁵⁾発現ベクター上に存在するプロモーターの活性化される程度が、細胞周期によって異なるためである。SV40 プロモーターは動物細胞で組換えタンパクを産生させる場合にもっとも多く用いられているもののひとつである。この SV40 プロモーターは細胞周期中のS期にもっとも転写活性が高いという。

ますます細胞周期制御とタンパク生産がおもしろくなってきた。

- 1) Garatun-T., O., *et al.*: *J. Cell. Biol.*, **68**, 232 (1976).
- 2) Omasa, T.: *Animal Cell Tech.* (Ed. Kaminogawa S.), Kluwer Academic Pub., p. 543 (1993).
- 3) 寺田ら：化学工学論文集, **24**, 161 (1998).
- 4) Fussenegger, M.: *Biotech. Bioeng.*, **55**, 927 (1997).
- 5) Banik, G. G. *et al.*: *Cytotech.*, **22**, 179 (1996).