TaKaRa Bio Inc.가 개발한 재조합 단백질 분해 효소를 이용하여 allergen을 불활성화하는 filter를 MITSUBISHI HEAYY INDUSTRIES, LTD.과 공동 개발에 성공

Takara Bio Inc. (대표: Ikunoshin Kato)는 MITSUBISHI HEAYY INDUSTRIES, LTD. (사장; Kazuo Tsukuda)와 공동으로 진드기나 꽃가루 등의 allergen을 분해하여 비활성화 시키는 효소 이용 형태의 allergen 분해 filter「Allergen Clear Filter」를 개발했다. 본 filter는 당사가 개발한 초내열성 단백질 분해 효소를 이용해 MITSUBISHI HEAYY INDUSTRIES, LTD.가 특수 섬유 filter에 고정하여 제품화한 것이다.

이번에 개발된「Allergen Clear Filter」는 초내열성 단백질 분해 효소에 allergen을 변성시키는 urea를 첨가하여 효소와 urea의 상승효과로 진드기나 화분 등의 allergen의 분해 효율을 비약적으로 가속시켰다. 상온 미생물에 유래하는 기존의 공업용 단백질 분해 효소는 안정성이 낮고, urea를 첨가하면 그 활성을 잃는다. 한편, 당사가 개발한 초내열성 단백질 분해 효소는 안정성이 상당히 높고, urea를 첨가해도 충분한 활성을 유지하여, 진드기 allergen (Dermatophagoide farinae, Dermatophagoides pteronyssinus), 삼나무 꽃가루, 고양이 allergen, influenza virus, poliovirus를 효과적으로 분해하는 결과를 얻을 수 있었다.

TaKaRa Bio Inc.의 바이오 연구소에서는 노벨 화학상 수상자의 고 Christian Anfinsen 박사 (당시 Johns Hopkins 대학교수)와 *Pyrococcus furiosus* 유래의 초내열 α-amylase를 대상으로서 1991년에 공동 연구를 했다. 이 공동 연구를 계기로서 재조합 초내열성 단백질 분해 효소를 고초균에서의 발현을 성공하여 현재 연구용 시약으로서 판매하고 있다 (제품명: *Pfu* Protease S., 미국 특허 취득).

효소 반응을 이용한 물질 생산 process는 환경에 대한 영향이 적어 종래의 화학반응의 대체 기술로 주목받고 있다. 게다가 효소 반응은 특정의 분자만을 인식하여 작용하는 특징을 갖고 있어 유해 물질의 분해 제거나 유용 물질의 효율적인 생산도 가능하다.

TaKaRa Bio Inc.에서는 가정용 에어콘, 업무용 에어콘, 공기 청정기, 자동차 에어콘 등에 allergen 분해 filter의 실용화 하고 있는 MITSUBISHI HEAYY INDUSTRIES, LTD.에 초내열성 단백질 분해 효소를 공급함과 함께 안정성이 극히 높은 초내열성 단백질 분해 효소의 특징을 살려 기존의 효소에서는 이용할 수 없었던 공업 process나 공산품에의 활용도 확대를 시킬 계획이다.

후코이당 드링크「아포이당-U」100 신발매 및 후코이당 드링크「아포이당-U」200 리뉴얼

TaKaRa Bio Inc. (사장 : Ikunoshin Kato)는 소비자들에게 호평받으며 판매하고 있는「아포이당-U」의 자매품으로, 기존의 후코이당 양의 절반이 함유된 케쥬얼 상품인 후코이당 드링크「아포이당-U」100 을 10월 21일부터 신발매하였다. 주목 받고 있는 성분「후코이당」을 제품 package에 크게 표기하는 것으로 소비자에게 알기 쉽게 어필하고 있다.

이와 동시에 기존의「아포이당-U」또한 후코이당 드링크「아포이당-U」200 으로 제품 package를 리뉴얼하였습니다.

「아포이당-U」는 다카라바이오 연구소에서 10여년에 걸친 해조유래 다당류 (식물섬유)의 연구에서 시작된, U-후코이당 및 F-후코이당을 포함한 건강지향 음료입니다.「아포이당-U」100, 200의 원재료는 엄선한 국산 가고메 다시마를 사용하고 있어, 이러한 제품에 함유되어 있는 후코이당은 TaKaRa Bio Inc.의 독자적인 제조법에 의해 순도 약 90%이상의 고순도 제품화를 실현하였다.

다카라 바이오(주)는「醫食同源」을 키워드로 첨단 바이오 연구에 근거한 제품 개발을 추진하고 있으며, 한천다당을 분해한「아가로 올리고당」을 비롯한, 다양한 생리활성을 가진 버섯류「부나시메지」·「하타케시메지」, 비타민 · 미네랄이 풍부한「명일엽」등 유효성분의 연구개발을 통해서, 세상에 "건강" 을 제공하고 있다.

후코이당 드링크「아포이당-U」200

후코이당 드링크 아포이당-U」100

'Retrovirus 벡터를 이용한 유전자 치료에서 도입된 유전자의 삽입 부위를 높은 정밀도로 모니터링 할 수 있는 새로운 방법 개발에 성공

TaKaRa Bio Inc. (사장: Ikunoshin Kato)의 바이오 연구소는 retrovirus 벡터를 이용한 유전자 치료에서 유전자 치료 후, 환자 체내의 유전자 도입 세포의 존재 상태나 삽입 부위를 모니터링 하는 방법으로 이용되고 있는 LAM (Linear Amplification-Mediated)-PCR법의 가장 큰 결함을 극복한 새로운 방법 (다카라바이오 LAM-PCR법)을 개발했다.

다카라바이오의 유전자 치료에 대한 대처

다카라바이오의 유전자 치료 기술의 확립 · 상업화를 중요한 전략 사업으로 지금까지 미국 인디애나 대학과 공동으로 retrovirus를 이용한 조혈간세포로의 유전자 도입 효율을 비약적으로 향상시키는 재조합 human fibronectin을 이용한 「RetroNectin법」의 개발, 유전자 치료 기업인 MolMed S. P. A., (이탈리아)와의 제휴하여 아시아 및 극동 러시아에서의 조혈기 종양을 대상으로 하는 유전자 치료의 전개 등 이 분야에 힘을 쏟고 있다. 또 「RetroNectin법」은 현재 전세계의 30개 이상의 연구 기관이나 병원에서 간세포 유전자 치료의 임상 연구에 이용되고 있어 retrovirus 벡터를 이용하는 유전자 치료법에는 빠뜨릴 수 없는 세계 표준법이 되어 있다.

유전자 치료의 유전자 삽입 부위의 모니터링 방법으로 개발된 LAM-PCR법

Retrovirus 벡터를 이용한 유전자 치료에서 retrovirus 벡터의 성질에 따라 게놈상의 유전자 삽입 부위가 특정의 부위에 한정되어 있지 않기 때문에 삽입 부위의 위치에 따라 유전자 도입으로 세포에 이상이 생길 수도 있다.

이러한 의심에 대한 대응책의 하나로 유전자 도입 clone의 존재 상태나 삽입 부위를 모니터링 하는 수단으로 LAM-PCR법이 개발되게 되었다. 그러나 지금까지의 LAM-PCR법 (기존의 방법)을 이용하면, 유전자 도입 세포가 적은 경우에 유전자 증폭이 균일하게 일어나지 않아 다수의 클론 중 특정 clone 유래의 유전자 단편만이 증폭되는 현상을 보였다. 즉, 다른 게놈 부위에도 유전자 삽입이 일어나고 있음에도 불구하고, 외관상은 증폭되기 쉬운 유전자 단편만이 증폭되어 유전자 도입 세포의 존재 상태를 잘못 판단할 위험성이 있다. 따라서 이 방법은 다수의 유전자 도입 clone이 소량씩 존재하는 경우 그 존재 상황을 반영하여 균등하게 증폭할 수 없는 결함이 있다고 말할 수 있다.

다카라바이오 LAM-PCR법

TaKaRa Bio Inc.는 유전자 치료의 안전성 향상을 추구하기 위해서는 LAM-PCR법의 정밀도 향상이 필요하다고 생각하여 불균일한 증폭의 회피 또는 검출 감도나 재현성의 향상을 목표로 LAM-PCR법을 개량하여 종래법보다 뛰어난 다카라바이오 LAM-PCR법을 개발했다.

다카라바이오 LAM-PCR법에서는 ①: 여러 종류의 유전자 도입 clone의 DNA가 존재하는 경우, ②: 다수의 유전자 도입 clone의 DNA가 존재하는 경우, ③: 특정 클론의 DNA가 우위에 존재하는 경우, 각 clone의 존재 상태를 반영할 수 있는 증폭이 확인되었다. 또한 소량으로 여러 종의 유전자 도입 clone의 DNA가 주형으로서 존재하는 경우에서도 다카라바이오법은 기존의 방법에 비해 불균일한 증폭은 생기지 않았고, clone의 존재에 따른 유전자 증폭이 가능하다는 것이 밝혀졌다. 게다가 감도나 재현성에 있어서도 다카라바이오 LAM-PCR법은 기존의 방법에 비해 우수한 것으로 나타났다.

즉, 다카라바이오 LAM-PCR법을 이용하여 유전자 도입 부위에 대한 모니터링 정밀도의 향상이 기대된다. 향후는 이 방법이 TaKaRa Bio Inc.가 진행하는 유전자 치료의 모니터링 방법으로서의 효율적 이용과 동시에 유전자 치료 연구의 장에서도 유용하게 이용할 수 있도록 연구용 kit로서 판매할 예정이다.

명일엽 녹즙의 과립 타입과 입상 타입 신발매

TaKaRa Bio Inc. (사장: Ikunoshin Kato)는 명일엽 녹즙을 손쉽게 마실 수 있는 과립제품과 타정제품 2종류의 신제품을 발매하였다.

과립제품의「명일엽 녹즙」은 물에 녹이는 것만으로 간단하게 명일엽 녹즙을 마실 수 있으며, 타정제품의「명일엽 타정제품」은 복용하기 좋은 삼각형의 타정제품으로 보다 편하게 먹을 수 있다. 이러한 제품의 원료로 사용하고 있는 명일엽은 자연환경이 좋은 큐슈에서 재배되어 재배부터 출하까지 일괄 관리하여 안전하고 안심할 수 있는 명일엽를 사용하고 있다.

명일엽 (학명: *Angelica keiskei*)은 미나리과 다년초로서 카르콘류 등의 유효성분을 비롯한 미네랄, 비타민, 식물섬유를 다량 함유한 건강에 좋은 야채로 에도시대부터 일본에서 귀하게 여겨져 왔다. 또한, 안제리카 (학명: *Angelica archangelica*)는 프랑스에서도 허브의 일종으로 옛부터 사랑받고 있다.

식품 중의 잔류 농약 분석 수탁 서비스에 추가하여 항생 물질, 금속류 및 물 · 토양중의 잔류 농약의 검사 · 분석 수탁 서비스 개시

TaKaRa Bio Inc. (사장: Ikunoshin Kato)의 식품안전검사센터는 올해 3월부터 식품 중의 잔류 농약의 「다성분 total screening 분석」수탁 서비스를 하고 있으며, 9월 1일부터는 3가지 신규 항목를 첨가하여「식품 안전 Patrol®」수탁 서비스를 개시한다.
신규로 추가된 항목은: ① 축수산 식품 중의 항생 물질 검사, ② 식품 · 물 및 토양 중의 금속류 분석, ③ 물 및 토양중의 잔류 농약 검사이다.

축수산 식품 중의 항생 물질 검사는 잔류하고 있는 항생 물질과 합성 항균제의 검사이다. 항생 물질 검사는 bioassay법에 의한 간이 검사 및 분별 추정 검사, 또 합성 항균제 검사는 「Liquid Chromatograph／Mass Spectrometer (LC/MS)」를 이용한 14종의 합성 항균제의 total 분석법을 이용한다.
식품 · 물 및 토양 중의 금속류의 분석은 시료에 acid를 첨가하여 microwave에 의한 고온 · 고압 조건하에서 시료를 분해한 후, 분석 용액중의 금속류를 「Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer (ICP)」를 이용해 정량합니다. 분석 가능한 금속으로서는 비소, 카드뮴, 납, 수은, 주석 등의 유해 금속뿐만 아니라 알루미늄, 철, 동, 니켈 등의 일반적인 금속류, 여기에 나트륨, 칼륨 등의 알칼리 금속까지를 포함하여 대부분의 금속류를 고감도로 분석할 수가 있다.
물 및 토양 중의 잔류농약 검사는 골프장에서 사용하고 있는 농약 (45종) 및 환경기준 농약 (3종)을 「Gas Chromatograph/Mass Spectrometer (GC/MS)」에 의한 total 분석, 「high performance liquid chromatography (HPLC)」에 의한 total 분석, Gas Chromatograph (GC) 등에 의해 검사한다.

TaKaRa Bio Inc.에서는 이번에 새로운 항목을 추가하여 식품 및 환경에 대해서 안정성을 추구하는 많은 소비자 요구에 보답하는 것이라고 생각하고 있다. 향후 보다 신속하고 정밀도가 높은 분석을 목표로 하여 소비자 요구에 맞는 「식품 안전 Patrol®」항목의 확대해 갈 생각이다.

「암의 활성화 임파구 요법」으로 필요한 활성화 임파구를 대량 배양할 수 있는 신기술 개발

TaKaRa Bio Inc. (사장: Ikunoshin Kato)는 재조합 human fibronectin 유도체가 coating 된 배양 용기를 이용하여 양자 면역요법 등에 이용하는 활성화 임파구의 배양 기간 단축뿐만 아니라 수만배 대량 배양할 수 있는 기술을 개발했다.

활성화 임파구 요법

암치료는 외과 수술, 방사선 치료, 항암제를 이용하는 화학요법 등이 병용되어 이루어지고 있지만, 일반적으로 암 환자의 QOL (Quality of Life)가 많이 손상된다고 여겨지고 있다. 이와 같은 문제를 해결하기 위하여 부작용의 적은 「양자 면역 요법」이 확대되기 시작했다. 「활성화 임파구요법」이라고도 불리는 암 면역요법은 암 환자의 임파구를 항 CD3 monoclonal antibody로 자극하여 interleukin 2 존재하에서 환자의 체외 (세포 배양용의 bag 등)에서 증식시켜 얻은 활성화 임파구를 다시 환자로 주입하여 암세포를 손상시켜 결과적으로 암세포를 파괴하는 치료법이다.

일반적으로 대량 생성된 활성화 임파구는 2주간 6회 정도 간격으로 환자에게 투여된다. 활성화 임파구는 환자 자신의 것이므로 부작용이 매우 적은 것이 이 치료의 특징이다. TaKaRa Bio Inc.는 미즈마치의사와 공동으로 활성화 임파구 요법을 포함한 암 면역요법을 수행하고 있는 의료기관을 지원하기 위하여 미즈마치 · 다카라바이오주식회사를 올해 7월에 설립했다.

재조합 human fibronectin 유도체를 이용한 활성화 임파구 대량 배양 기간의 단축

임파구를 항 CD3 monoclonal antibody로 자극하여 interleukin 2 존재하에서 배양 · 증식 시키는 방법으로 재조합 human fibronectin 유도체가 coating된 배양 용기를 이용하면 배양 시간을 약 30% 단축 가능할 뿐만 아니라 암 세포에 장해를 주는 세포의 지표인 세포 marker CD8의 양성율이 2배에 상승하여 암 세포를 공격해 파괴하는 세포의 비율이 증가하는 것을 확인하였다. 즉, 배양 기간의 단축은 치료비의 경감에, 또한 CD8의 양성율의 상승은 암의 치료 효과 향상에 각각 영향을 미친다.

재조합 human fibronectin 유도체를 이용한 세포의 고효율 대량 배양

암 환자의 체외에서 임파구의 대량 배양은 배양 세포의 오염을 막기 위해서 계대 배양 횟수를 획기적 줄여야하기 때문에 폐쇄계에서 배양하는 것이 필요하다. 그러나, 치료에 필요한 량의 임파구를 확보하기 위해서는 처음부터 큰 용기로 배양하기 때문에 임파구의 밀도가 극단적으로 낮은 상태부터 배양을 시작하지 않으면 안된다. 그런데, 세포는 저밀도가 되면 매우 불안정하고 증식하기 어려워진다. 그러나, 일반적인 조건에서는 거의 증식 하지 않는 저밀도 세포 상태에서도 재조합 human fibronectin 유도체가 coating된 용기를 이용하면 임파구의 증식이 촉진되어 대량 배양이 가능하게 되었다. 즉, human fibronection 유도체로 기체 투과성 bag의 내부 표면을 coating 하여 계속적인 배양 횟수를 획기적으로 줄인 폐쇄계에서 임파구의 대량 배양이 가능하게 되었다.

게다가 human fibronectin 유도체를 coating 한 배양 용기를 이용하여 배양할 때 항 CD3 monoclonal antibody로 재자극 하면, 2주 동안 1,000배 정도에 밖에 증식 시킬 수가 없었던 활성화 임파구수를, 수만배까지 증식 시킬 수 있다. 또, 대량 배양 후의 CD8 양성 세포율은 암호화 되지 않은 경우와의 비교하여 160~180% 정도로 밝혀졌다. 또한 임파구 활성화의 지표인 interleukin 2 receptor의 발현을 측정한 결과, 대량 배양한 세포의 약 80%이상이 interleukin 2 receptor를 발현하고 있었다.

본 방법을 임상에 응용하여 고효율 대량 배양으로 환자의 부담을 줄이거나 또는 높은 CD8 양성율, 높은 interleukin 2 receptor 양성율로 도입 후의 암 파괴 활성 향상으로 연결될 가능성을 기대 할 수 있다.

재조합 human fibronection 유도체를 이용한 항원 특이적인 세포 장해 활성을 유지한 세포 장해성 T세포의 대량 배양법

활성화 임파구와는 다른 양자 면역 요법으로서 「세포 장해성 T세포 요법」이라고 불리는 방법이 있다. 세포 장해성 T세포 요법은 암 환자의 임파구에 환자의 종양 조직이나 암 세포에 특이적으로 존재하는 peptide 단편으로 몇 차례 자극을 가하여 암 세포 유래의 항원 특이적인 세포 장해 기능을 발휘하는 세포 장해성 T세포 집단 (CTL)을 만들어 암 환자에게 다시 투여하여 암 세포군을 파괴하는 방법이다. 이 방법도 환자에게 유래하는 세포를 사용하기 때문에 부작용이 매우 적을 것으로 생각되고 있다.

다카라바이오 연구소에서는 항원 특이적인 세포 장해성 T세포를 유도할 때, 재조합 human fibronectin 유도체로 표면을 coating 한 용기를 이용하여 CTL의 배양 효과를 검토해 보았더니, T세포의 활성화를 나타내는 지표인 interleukin 2 receptor의 발현 상승이 확인되었다. 즉, 항원 특이적인 세포 장해성 T세포의 유도 · 대량 배양 시 특정 재조합 human fibronectin 유도체를 이용하는 것으로 항원 특이적인 활성화 세포 장해성 T세포 (CTL)의 대량 생성이 가능하게 되었다.