

## 다카라 바이오, 미국 BD사로부터 Clontech 사업매수

TaKaRa Bio Inc.(사장 : Ikunoshino Kato)는 2005년 7월1일, BD(Becton, Dickinson and Company, 미국 Franklin Lakes, NJ 사장 : Edward Ludwig, 이하 「BD사」)의 Clontech Laboratories, Inc.(미국, 캘리포니아)를 6,000만 US 달러(약 66억엔)에 매수하였다. 일본을 시작으로 미국에서의 「독점 금지법」상의 허가 취득 등 소정의 수속은 올해 8월까지 완료하고, 미국에 100% 자회사를 설립하여 BD사 Clontech 사업을 매수할 예정이다.

BD사 Clontech 사업은 1984년에 미국 캘리포니아주에서 설립된 Clontech Laboratories, Inc.가 기원이며, 1999년 BD사가 Clontech Laboratories, Inc.를 매수하였다. Clontech 제품은 분자생물학 분야를 중심으로 바이오 연구용 시약 브랜드로 확고한 위치를 갖고 있으며, 유전자의 발견이나 조절, 기능 해석 등을 위한 툴로서 세계에서 널리 사용되고 있다.

당사는 1979년에 제한 효소를 발매한 이래, PCR 관련 제품을 일본에서 최초로 도입해 바이오 연구자에게 제공하는 등 유전자 공학 연구 분야에 있어서의 사업을 추진해 현재는 핵심 비즈니스라고 평가하고 있다. 2004년도의 유전자 공학 연구 분야의 매출 실적은 약 118억엔 이다. 당사는 이번의 매수에 대하여 다음과 같은 효과를 기대하고 있다.

### 1. 연구용 시약의 제품군의 확충

Clontech 제품은 형광 단백질을 이용한 유전자 기능 해석 시스템, 단백질 상호 작용 해석 시스템이나 단백질 생산을 위한 발현 벡터 등 뛰어난 제품을 라인 업 하고 있다. 당사는 제한 효소 등 유전자 공학 연구용 효소, PCR 등의 유전자 증폭 관련 제품 등, 유전자 공학 연구 분야에 강점을 갖고 있다. 즉, Clontech 제품과 당사 제품은 서로 보완적인 제품으로 보다 폭넓은 지원이 가능할 것이다.

### 2. 유전자 공학 분야에서 해외 매출의 확대

BD사 Clontech 사업의 매출 약 60억엔(2004년)으로 이 중 2/3 이상이 미국에서의 매출이다. 당사는 유전자 공학 연구 분야의 매출 가운데 85% 정도가 일본에서 이루어 지고 있다. 이번의 매수로 Clontech 제품 뿐만 아니라 당사 제품의 미국을 중심으로 한 해외에서의 판매확대를 기대하고 있다.

### 3. 연구용 시약 개발의 강화 및 효율화

당사는 일본을 중심으로 연구용 시약 개발을 진행하고, BD사 Clontech 사업은 미국에서 제품 개발을 한다. 향후 일 · 미에서의 제품 개발의 분담이나 효율화를 통하여 연구용 시약의 제품 개발력을 강화하고, global marketing에 확고한 지위를 구축하고자 한다.

## 높은 정확성과 증폭 효율을 겸비한 자사개발 PrimeSTAR HS DNA polymerase 발매

TaKaRa Bio Inc.(사장 : Ikunoshino Kato)에서는 당사가 독자적으로 개발한 매우 높은 정확성과 뛰어난 DNA 증폭 효율을 겸비한 신규 PCR 효소(PrimeSTAR™ HS DNA Polymerase)를 7월 25일부터 발매한다.

당사의 유전자 공학 연구 분야에서 1979년 일본 내 최초의 제한 효소를 발매하였고, 1988년 유전자 증폭 기술인 PCR법을 일본에서 처음으로 도입하는 등 생명공학 실험에 핵심적인 다양한 첨단 기술을 제공해 왔다. 당사의 유전자 공학 연구 분야는 안정 수익 기반을 이룩하고 있으며, 그 중 PCR 효소의 매출은 국내 연구용 시약의 40% 이상을 차지하고 있어 신규 PCR 효소의 개발에 주력 해 왔다.



### PrimeSTAR HS DNA polymerase 효소의 특성

매우 강력한 proofreading 활성(3' → 5' exonuclease 활성)을 가지고 있어, PCR 증폭시 높은 fidelity를 나타내고, 현재 가장 널리 이용되고 있는 Taq DNA polymerase와 동등 이상의 증폭 효율을 갖고 있다. 또 priming 효율이 높아, annealing 시간을 짧게 설정할 수 있어 기존에 비해 PCR 반응 시간을 대폭 단축할 수 있다.

### 반응의 최적화

효소의 특성을 살려 반응 buffer를 최적화함으로써, 다양한 생물 종의 template DNA와 target 영역에 폭넓게 적용 가능하다. 또, 본 PCR 효소는 상온에서의 DNA polymerase 활성 및 3'→5' exonuclease 활성을 억제하는 monoclonal Ab가 첨가되어 있어,



반응전의 mispriming이나 primer의 분해를 막아, 반응 특이성이 높다.

효소 특성에 반응 완충액의 최적화, 항체 첨가로 여러 종류의 DNA 증폭에 대해 매우 높은 정확성을 나타낼 뿐만 아니라, 고감도, 고특이성의 증폭으로 높은 성공율을 나타낸다.

### Single strand RNA의 특정 서열을 인식해 절단 파괴하는 7종의 신규 RNAi 효소 발견, AIDS Virus에 감염하여 RNAi 효소가 세포내에서 발현되어 AIDS 감염 세포만을 사멸시키는 모델 실험 계 제작

TaKaRa Bio Inc.(사장 : Ikunoshino Kato)는 RNAi 효소(mRNA interfase)의 탐색이나 RNAi 효소를 이용한 유전자 발현 제어법을 개발해 왔으며, 이번에 single strand RNA의 특정 서열을 인식해 절단 하는 RNAi 효소를 다양한 세균으로부터 screening하여 7종의 RNAi 효소를 발견하였다.

RNAi 효소가 가장 많이 이용되는 유전자 치료에, AIDS Virus에 특이적으로 발현하는 Tat 단백질에 의해 RNAi 효소의 하나인 *MazF*의 발현이 유도되어 생산된 *MazF*의 작용에 의해 *Tat* 유전자를 도입한 세포에만 세포사멸이 유도되는 모델 실험계를 제작하고 그 효과를 확인하였다.

전 세계적으로 RNA 자체에 의한 유전자 발현 제어법 「RNA 간섭 : RNAi」을 이용한 응용 연구가 전개되고 있으며 당사가 개발한 RNAi 효소에 의한 유전자 발현 제어는 혁신적인 「RNAi」의 길을 여는 새로운 기술로 기대 된다. 또한 당사는 미국 뉴저지 의대 치과 대학(UMDNJ)으로 부터 RNAi 효소에 관한 전 세계 독점권을 갖고 있다.

이와 같은 실험결과는 12월 7일~10일 까지 개최되는 일본 분자생물학회에서 발표할 예정이다.

RNAi 효소는 RNA chain의 특성의 서열을 인식해 절단하는 제한 효소로, RNA 제한 효소라고도 한다. Single strand의 RNA 이외의 핵산, 예를 들면 DNA나 double strand RNA 등에는 작용하지 않는다. 당사의 이사로 재직중인 UMDNJ의 교수, Inoue tadashi 박사에 의해서 대장균의 독소 단백질의 하나인 *MazF*가 RNA의 특정 서열(ACA)을 인식해 절단 하는 RNAi 효소인 것을 세계 처음으로 발견하였다.

당사 연구소에서는 DNA의 특정 서열을 인식해 절단 하는 제한 효소가 생물계에 광범위하게 존재하는 것과 마찬가지로 single strand RNA의 특정 서열을 인식해 절단하는 효소군이 대장균

이외의 다른 세균 등에도 존재하는 것은 아닐까 생각하고 스크리닝한 결과, 7종의 신규 RNAi 효소를 발견하였다. 단백질의 구조로는 *MazF*와 같은 *PemK* family에 속하는 독소 단백질을 코딩하는 고초균이나 암모니아 산화 세균 등의 세균 유전자를 대장균에 발현시켜, single strand RNA에 대한 절단 활성을 조사하였다. 그 결과 single strand RNA의 4 염기에서 7 염기의 특정 서열을 인식해 절단할 수 있는 새로운 7 종류의 RNAi 효소를 발견하였다. 현재까지 interase 효소의 주요 절단 염기 서열은 각각 U/ACAU, GA/ACU, U/CCUU, UU/CCUUU, U/ACA, GA/AU로 당사는 새로운 신규 RNAi 효소의 스크리닝을 계속할 예정이다. RNAi 효소의 응용 분야는 다음과 같다.

#### 1. AIDS의 유전자 치료에 응용

당사가 개발한 Retrorectin법을 이용한 체외 유전자 치료 개발을 하고 있으며, RNAi 효소의 이용으로 가장 기대되는 것은 AIDS 등 난치병 유전자 치료에 응용이다.

RNAi 효소를 Retrovirus vector 등에 의해서 임파구에 도입해 발현시키는 것으로 AIDS Virus가 감염한 세포만을 사멸 시켜 AIDS Virus를 제거하는 유전자 치료가 가능하다. 예를 들면 AIDS Virus(HIV)의 LTR promoter의 전사가 개시된 RNA내에 존재하는 특정 서열(TAR)에 AIDS Virus 유래의 Tat 단백질이 결합하면, 그것보다 하류 전사를 활성화 하는 것이 알려져 있다. 즉 AIDS 감염으로 TAR 서열의 하류 유전자 발현이 유도되게 된다. 이 부분에 *MazF* 유전자를 도입하고 실제로 AIDS Virus가 감염하면, 바이러스 증식 시 Tat에 의해서 *MazF* 유전자가 발현되어 AIDS 감염 세포에만 사멸이 유도되게 된다. 즉 바이러스는 생육이 억제되는 것이 아니라 소멸하게 된다.

실험 모델로, AIDS Virus(HIV)의 LTR promoter와 RNAi 효소 *MazF*를 가진 plasmid와 HIV의 Tat 유전자를 넣은 다른 plasmid를 함께 도입했을 경우에만 세포가 사멸 되었다. 즉, Tat 단백질의 발현으로 RNAi 효소 *MazF*가 발현한 것이라고 생각할 수 있다. 향후 RNAi 효소 유전자, HIV의 LTR promoter, HIV의 Tat 단백질에 대한 연구가 이루어지면, AIDS 유전자 치료와 예방이 가능하게 될 것이다.

#### 2. 목적 단백질만 발현시키는 시스템 개발(SPP 시스템)

ACA를 인식 서열로 하는 RNAi 효소인 *MazF*를 세포내에서 발현시키면, 거의 모든 세포 유래의 mRNA에 있는 ACA의 서열은 파괴되어 신규 단백질 합성은 억제된다. 그러나, 발현시키고 싶은 목적 단백질의 유전자 중 ACA 서열을 코딩 하는 아미노산의 종류를 유지한 채 ACA와는 다른 염기 서열을 인공적으로 치환하

면 이 인공 유전자만이 RNAi 효소 MazF의 절단 작용을 받지 않고, 목적 단백질을 발현시킬 수 있다. 이 발현계를 이용하여 단백질을 표식 하면 목적 단백질만 표식 되어 별도의 정제 과정없이 NMR로 구조 해석이 가능하다. 또 당사에서 개발한 cold shock vector와 조합하면, 미량 발현하는 항원 단백질 등의 분리와 백신 개발에 응용할 수 있다. 당사에서는 이 발현계를 SPP(Single Protein Production) 시스템이라고 부르며 단백질의 신규 발현 시스템으로 활용해 갈 계획이다.

### 3. RNA 공학 연구용 시약에 응용

Non-coding RNA로 총칭되는 단백질을 코드 하지 않는 많은 RNA가 기능성 분자로서 생리학적으로 중요한 역할을 하고 있음이 밝혀짐에 따라, 이 기능성 RNA의 구조와 기능 해명은 향후의 중요한 연구 과제로 인식되고 있다. 이번 당사가 찾아낸 신규 RNAi 효소는, single strand RNA의 특정 서열을 인식해 절단 하는 것으로 예를 들면 기능성 RNA 구조 해석에 큰 역할을 할 것으로 기대된다. 또한 여러가지 RNA의 구조와 기능 해명이 진행 되면, 장기적으로 RNAi 효소는 RNA 공학의 여러 방면에서 유용한 연구 시약으로서 이용될 수 있을 것이다. 당사는 향후 RNAi 효소분야에 지속적인 연구개발로 세계 규모의 RNAi 효소 공급을 목표로 하고 있다.

## 명일엽 조직배양 기술로 당뇨병의 예방과 치료 효과를 기대할 수 있는 명일엽의 유효 성분 카르콘류의 공업적 생산법의 개발에 성공

TaKaRa Bio Inc.(사장 : Ikunoshino Kato)의 바이오 연구소는 탱크 배양으로 공업적 생산을 목적으로 한 명일엽의 유효 성분 카르콘류 생산 개발에 성공하였다. 이로 인해 일본 고유의 유용 식물의 유효 성분을 농지에서 재배하지 않고 공급할 수 있는 길이 열렸다. 이러한 연구 성과는 교토에서 개최되는 일본 식물세포 분자생물 학회에서 발표되었다.

당사는 이미 많은 버섯류의 인공 재배에도 성공하여, 이른바 농업의 공업화를 목표로 하고 있으며, 금번 명일엽의 조직배양으로 카르콘류의 생산으로 농업의 공업화를 한 단계 앞당겼다.

### 명일엽 카르콘류의 생리 활성

당사 바이오 연구소는 명일엽에 포함되는 2종류의 카르콘(Xanthoangelol : XA, 4-hydroxyderricin : 4 HD)에 지방전구세포에서 지방세포로의 분화를 촉진하는 활성 및 지방 세포에의

glucose의 유입을 촉진하는 활성이 있는 것을 발견하였다. 또 자연 발생 당뇨병 모델 mouse를 이용한 동물 실험에서 발증 전 혹은 발증 후에 XA, 4 HD를 투여하여 혈당값이 내려가는 것을 확인하였다. 또한 XA 및 4 HD와는 다른 명일엽에 포함되어 있는 신규 카르콘(2종류)이 당뇨병 합병증 예방에 효과가 있는 aldose reductase의 효소 저해 활성을 가지는 기능도 발견하였다.

### 명일엽 조직배양

무균 명일엽의 잎, 줄기, 뿌리 등에서 조직을 잘라 여러 가지 조건하에서 탈분화를 일으키게 하여 명일엽의 callus(세포덩어리)를 유도하였다. 최적 조건에서 만들어진 callus로부터, 세포의 선발 및 증식 세포를 구축하고 HPLC 정량 분석 결과로 카르콘을 만들어 내는 최적 조건을 찾아냈다.

식물 조직배양으로 2차 대사산물의 생산으로 증식이 왕성한 세포에서는 2차 대사산물을 만들지 않는 경우가 많았으며, 명일엽에서도 2차 대사산물인 카르콘이 생산되지 않았다. 증식 왕성한 세포를 auxin을 제외한 배지에 이식하자, 12일째부터 카르콘이 유도되었다. 약 60일간 유도 조건으로 배양하자, 농장에서 재배한 명일엽과 거의 동등량의 카르콘이 생산되었다.

현재 생명공학 연구를 통한 카르콘 생합성은 주요 효소나 카르콘 골격 구조에 수식기 도입과 관련되는 많은 효소의 제어에 대한 검토를 실시하고 있으며 2차 대사경로의 제어로 카르콘의 대량생산을 향한 기술개발을 진행시키고 있다. 이러한 기술은 인공적인 탱크 배양에 의한 생산 뿐만이 아니라, 유효 성분을 지표로 한 명일엽의 육종이나 육묘도 가능하다.