

**목적 단백질을 효율적으로 expression할 수 있는 “SPP system” 발매**

Takara Bio Inc.(사장: Ikunoshin Kato)는 10월 19일, 대장균에서 목적 단백질을 효율적으로 expression할 수 있는 단백질 expression system(SPP system : Single Protein Production System) 제품을 발매한다.

SPP system은 messenger RNA를 sequence specific하게 절단하는 RNA Interferase의 작용을 이용해, 대장균내에서 목적 단백질을 효율적으로 expression시키는 신기술이다. 본 기술은 미국 뉴저지 의치과 대학(UMDNJ)과 당사가 공동 개발하였으며, 당사는 SPP system에 관한 세계 독점권을 갖고 있다.

새롭게 발매하는 SPP system은 messenger RNA중 ACA 서열을 인식해 절단하는 RNA interference인 MazF와 이미 발매하고 있는 cold shock expression system을 조합한 것으로, MazF expression vector와 SPP system용으로 개량된 cold shock vector로 구성되어 있다. ACA 서열을 제외한 목적 유전자를 재조합한 cold shock vector와 MazF expression vector를 같이 발현시킴으로서, 목적 단백질을 대량 발현시킬 수 있다.

본 system을 이용하면 목적단백질 이외의 단백질 발현을 억제할 수가 있어, 미량 발현되는 유용 단백질의 대량 조제나 고순도 유용 단백질 생산에 이용할 수 있다. 또 본 system을 이용하여 목적 단백질을 표식하면, 별도의 정제 과정없이 NMR로 구조 해석이 가능하고, 현재 가장 활발한 연구가 진행중인 단백질의 고차 구조 해석에 이용할 수 있다.

당사는 SPP system을 더욱 편리하게 이용하기 위하여, 목적 유전자 서열 정보를 기초로 ACA 서열을 제거하는 클로닝 서비스도 개시하였고, SPP system과 mRNA Interferase™-MazF 등의 연구결과를 10월 21일, 제78회 일본 생화학회(Kobe)에서 소개하였다.

**일정 온도에서 대량으로 DNA를 증폭할 수 있는 등온 유전자 증폭법(ICAN법)의 미국 특허 등록**

Takara Bio Inc.(사장: Ikunoshin Kato)는 당사가 개발한 등온 유전자 증폭법인 ICAN법(Isothermal and Chimeric primer-initiated Amplification of Nucleic acids) 특허를 미국에 출원하였고, 2005년 10월 4일에 등록(미국 특허 US 6,951,722)되었다. 그 외, 일본(2003년 5월, 일본 특허 제 3433929호), 러시아, 오스트레일리아, 싱가포르 등의 나라에서 이미 특허 등록이 끝났다. 향후, 등온 유전자 증폭법의 이점을 살려, 바이오 테러의 필드 검사나 병원균의 bedside 검출을 위한 유전자 검출 방법으로 광범위하게 이용되기를 기대한다.

ICAN법은 DNA의 치환 활성화와 주형 교환 활성을 가지는 DNA polymerase(BcaBEST™ DNA polymerase), RNA와 DNA가 혼합되어 있는 상태에서 RNA만을 특이적으로 절단하는 RibonucleaseH(RNase H)의 2 종류의 효소와 RNA와 DNA로 이루어진 chimera primer로 일정한 온도에서 유전자 증폭을 고감도로 한다. 현재 가장 넓게 사용되고 있는 PCR법에 비하여 5~10

배의 증폭효율을 갖고 있어, 대량증폭에 적절한 방법이다. PCR법을 이용하여 유전자 증폭할 경우, 정밀하게 반응 온도를 변환하기 위한 장치(PCR Thermal Cycler)가 필요하며, 주형이 되는 double strand DNA를 고온에서 single strand로 분리하고, 다시 온도를 내려 DNA primer와 결합시킨 후, 내열성의 DNA polymerase를 이용하여 신장 반응을 해야 한다.

ICAN법의 경우, 주형이 되는 double strand DNA를 열을 이용하여 single strand로 분리하지 않아도, chimera primer와 주형 DNA의 친화성이 강한 특징을 이용하여, double strand DNA에 쉽게 결합하고, DNA polymerase로 상보적인 가닥의 신장?복제 반응이 시작된다. 증폭 산물의 chimera primer 유래의 RNA 부분을 RNase H로 절단하고, 절단 부분으로부터 치환 반응과 주형 교환 반응을 이용하여 복제, 신장 반응이 일어나며, 이 반응을 반복하여 유전자를 증폭한다.

별도의 기기가 필요 없고, 반응 양을 쉽게 조절할 수 있어 DNA 단편의 대량생산에 적절하다.

당사는 이미 ICAN법을 이용하여 Carbapenem계 내성균 검출 kit, SARS 바이러스 검출 kit이나 Legionella 검출 kit 등을 발매하여 연구용으로 판매하고 있고, 2004년 7월 주식회사 히타치와 탄저균 검출용 마이크로검사 chip, 2005년 1월 코니카 미놀타 엠지 주식회사와 성감염증의 하나인 Chlamydia의 소형 검사 system 등의 개발을 진행하였다.

당사는 향후도 바이오 연구 분야나 바이오 의료 분야에 있어 ICAN법을 이용한 사업을 지속적으로 할 예정이며, 국내외 기업과의 제휴도 폭넓게 전개하고자 한다.

**버섯 유래의 terpene을 함유한 「Terpene엑기스」 신발매**

Takara Bio Inc.(사장: Ikunoshin Kato)는 버섯에서 추출한 건강 활성 성분을 주성분으로 한 「Terpene 엑기스」를 10월 25일부터 판매 개시한다.

Terpene은 버섯 등에 포함되는 쓴 맛 성분의 하나로, 토마토의 건강 성분인 lycopene도 terpene의 일종이다. 당사는 terpene 함량이 많은 버섯 균주를 특수 조건에서 재배, 생산하여 고효율적인 terpene 추출법을 개발하였다. 「Terpene 엑기스」는 당사의 독자적인 기술로 terpene을 고농도로 추출한 제품으로 섭취하기 쉬운 액체 제품이며 파우치 형태로 판매된다.

당사는 오랜 기간 동안 버섯 인공 재배나 생리 활성에 관한 연구를 진행하였고, 1970년에 버섯 인공 재배에 성공하여, 대량생산에 의한 상업화에 이르고 있다. 당사는 버섯의 생리 활성과 관련하여 terpene의 일종인 polyterpene(SBS)의 물질특허(일본 특허 등록 번호 제 2860963호)를 보유하고 있으며, 또 건강 활성 성분으로 특허 출원 중이다. 향후도 지속적인 버섯 생리 활성 연구를 진행시켜 나갈 계획이다.

당사는 첨단 바이오 연구에 근거한 의약품 개발을 추진하고 있으며, 해조류 유래의 다시마 다당류 「후코이당」, 한천 유래의 「아가로올리고당」을 시작으로 기능성 식품 소재나 건강식품을 제공하

고 있으며, 11월부터 건강 생활 잡지 「Linto™」(Life in Tomorrow™)을 발간하여, 보다 확실한 건강 만들기를 지원하고자 한다.

### 명일엽녹즙 스트레이트 <냉동 팩> 신발매

Takara Bio Inc.(사장: Ikunoshin Kato)는 명일엽녹즙을 냉동한 「명일엽녹즙 스트레이트 <냉동 팩>」을 9월 27일 발매하였다.

「명일엽녹즙 스트레이트 <냉동 팩>」은 냉동 팩을 녹이는 것으로 간단하게 가정에서 명일엽 주스를 즐길 수 있다.

자연이 풍부한 농원에서 재배된 국내산 명일엽의 잎과 줄기를 통째로 짜서 급속 냉동하였다. 당사는 「명일엽녹즙」의 과립과 입상 타입을 발매하여 호평을 받고 있다.

명일엽(학명 : *Angelica keiskei*)은 카르콘류 등의 유효 성분과 미네랄, 비타민, 식이 섬유를 풍부하게 포함한 건강에 좋은 아체로서 예전부터 일본에서는 귀하게 여겨져왔다. 또한 프랑스에서도 명일엽의 한 종류인 안제리카(학명 : *Angelica archangelica*)는 허브로 사랑받고 있다.

당사는 「의식동원」을 키워드로 첨단 바이오 연구에 근거한 의식품의 개발을 추진하고, 해조 유래의 다사마 다당류 「후코이당」, 한천 다당을 분해한 「아가로올리고당」, 버섯 유래의 「polyterpene」을 중심으로한 기능성 식품 소재의 연구개발을 지속적으로 추진할 계획이다.

### 일산화탄소 생성효소의 발현촉진으로 아가로올리고당의 항염증 기작 해명

Takara Bio Inc.(사장: Ikunoshin Kato) 바이오 연구소에서는 한천의 주요 다당 성분인 아가로스에서 생성되는 「아가로올리고당」의 항산화 작용, human cancer cell line의 apoptosis 유도 작용, mouse를 이용한 발암 예방 작용 등을 밝혀 왔다. 또한 아가로올리고당이 일산화탄소 생성효소로 항산화 작용이나 항염증 작용으로 알려져 있는 heme oxygenase 1(HO-1)의 발현유도 기작을 밝혔다.

염증의 발열이나 통증을 일으키는 Prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)는, 유도형 효소인 cyclooxygenase 2(COX-2)가 생산하는 Prostaglandin H<sub>2</sub>(PGH<sub>2</sub>)를 Prostaglandin E synthase가 PGE<sub>2</sub>로 변환되면서 합성된다. PGE<sub>2</sub> 생성 억제 효과 등 아가로올리고당에 의한 항염증 작용은 HO-1의 expression이 유도되어 발생하며, PGE<sub>2</sub>생성 억제 효과는 PGE<sub>2</sub>를 합성하는데 필요한 cyclooxygenase 2(COX-2)로 Prostaglandin E synthase의 발현이 억제되어 발생하는 것으로, 두가지 효소의 활성 저해에 의한 것이 아님을 밝혔다. 이와 같은 연구 성과를 9월 14일 삿포로에서 개최되는 일본 암학회에 발표하였다.

#### <아가로올리고당>

한천을 산성의 과일 등으로 가열하면 굳어지기 어려운데, 이는 아가로스를 구성하는 「anhydrogalactose」와「galactose」의 사

이의 화학 결합이 산에 의해 절단 되어 소당류의 올리고당을 생성하기 때문이다. 아가로스가 산에 의해 분해되면 galactose와 anhydrogalactose가 연결된 「아가로비오스」라고 불리는 2당류, 2당류가 2개 연결된 4당류 「아가로테트라오스」, 3개가 연결된 6당류 「아가로헥사오스」, 4개가 연결된 8당류 「아가로옥타오스」 등을 생성하며, 이와 같은 올리고당 혼합물을 「아가로올리고당」이라고 부른다. 이 아가로올리고당은 아가로스를 체온(37℃)에서, 희석한 염산에 5시간 정도 두면 생성되는데, 이는 「한천」을 먹으면, 위산에 의해 분해 받아 아가로올리고당이 생성되는 것을 의미한다.

#### <아가로올리고당의 생리 작용>

지금까지 세포를 이용한 실험으로 아가로올리고당이 cancer cell line에서 apoptosis 유도, HO-1 유도, 염증을 일으키는 PGE<sub>2</sub>의 생성 억제, 산화 작용의 강한 일산화 질소(NO) 생성 효소인 일산화 질소 합성 효소(iNOS)의 expression을 억제하여 NO의 과잉 생성 억제, 염증성 cytokine으로 발암에 관여하고 있는 TNF- $\alpha$  억제, mouse에 아가로올리고당을 투여하여 종양억제, 관절염의 발증 억제 등 다양한 생리작용을 발견하였다.

아가로올리고당의 항염증 작용은, heme oxygenase 1(HO-1)의 expression 유도로 생긴다

최근 주목받고 있는 RNA Interference 기술을 이용하여 실험하였으며, 그 결과 아가로올리고당이 유도하는 HO-1의 expression을 RNA Interference 기술로 억제하면, PGE<sub>2</sub>의 생성 억제 효과와 일산화 질소의 생성 억제 효과가 감소하는 것이 밝혀졌다. 즉, 아가로올리고당으로 PGE<sub>2</sub>의 생성 억제 효과와 일산화 질소의 생성 억제 효과는, 일산화탄소 합성 효소인 HO-1의 발현유도에 의한 것임을 밝혔다.

#### <Cyclooxygenase 2(COX-2) 활성을 저해하지 않는 새로운 항염증 물질>

염증의 발열이나 통증에 관여하고 있는 PGE<sub>2</sub>는, 유도형 효소인 COX-2가 생산하는 PGH<sub>2</sub>를, PGE 합성 효소가 변환되면서 합성된다. COX-2의 효소 활성을 저해하는 약제가 개발되고 류마티스 등에 진통제로서 이용되고 있지만, COX-2를 특이적으로 강하게 저해하는 약제가 심근경색과 같이 중대한 부작용을 야기함이 밝혀짐에 따라 COX-2의 효소 활성을 저해하지 않고 과잉 PGE<sub>2</sub> 생성을 억제하는 항염증제 개발에 관심이 집중되고 있다. 이러한 현상에 대해, 아가로올리고당에 의한 PGE<sub>2</sub> 생성 억제 효과가, COX-2의 효소 활성을 저해하지 않고, cyclooxygenase2(COX-2)와 Prostaglandin E synthase의 두 유전자 expression 억제에 의하는 것이 밝혀졌다. 즉, 아가로올리고당은 염증시에 유도되는 COX-2로 PGE 합성 효소의 유전자 expression을 억제하는 새로운 메커니즘의 항염증 물질인 것이 밝혀졌다.

당사는 공업적 스케일의 아가로올리고당 생산체제를 구비하고 있어 현재까지의 연구 성과를 기초로 기능성 식품 소재로서 전 세계에 공급해 나갈 계획이다.