

Graduate School of
Life Science and
Systems
Engineering

機能性ペプチドを用いたバイオプロセスの最適化技術の開発



九州工業大学大学院 生命体工学研究科
生体機能応用工学専攻

池野 慎也



Graduate School of Life Science and Systems Engineering

自己紹介



池野 慎也

愛知県豊田市出身

所 属：九州工業大学 大学院生命体工学研究科

生体機能応用工学専攻 環境共生工学講座 准教授

学 位：博士（工学）金沢大学 平成15年

専門分野： 生物工学、バイオセンサ、プロセス工学

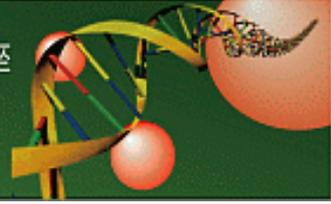


職歴

平成15年4月－平成18年3月	独立行政法人科学技術振興機構 CREST博士研究員
平成18年4月－平成19年3月	九州工業大学大学院生命体工学研究科 生体機能専攻 助手
平成19年4月－平成23年12月	九州工業大学大学院生命体工学研究科 生体機能専攻 助教
平成24年1月－現在	九州工業大学大学院生命体工学研究科 生体機能専攻 准教授

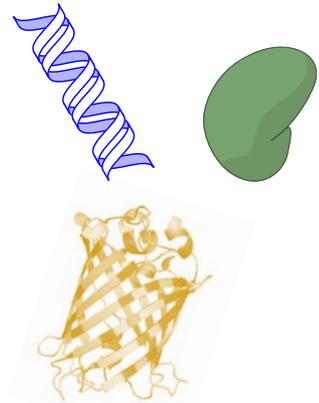
研究歴

平成10年4月－12年3月	細胞代謝活性の電気化学検出システムの開発
平成12年4月－15年3月	ベンゼン系化合物の生物学的簡易測定システムの構築
平成15年4月－21年3月	生物混入検知のための人工酵素の開発
平成19年4月－21年3月	転写活性因子を検出する電気化学発光分子の開発
平成21年4月－現在	生体分子とナノ粒子の融合による機能性材料とそのセンサ応用
平成21年10月－現在	乾燥ストレス耐性タンパク質由来のペプチドによるタンパク質の高効率発現系の構築
	c軸配向球状ZnO粒子の光触媒反応による殺菌技術の開発



生物機能分子分野 池野研究室

池野研究室 研究の紹介



生体分子

分子設計

機能性ペプチド



応用

① ナノ材料と融合



② 微生物へ応用



① ナノ粒子との融合による新規機能性ナノ材料の構築およびバイオアッセイへの応用研究

② 植物・昆虫由来の機能性タンパク質をベースに設計した機能性生体分子のバイオプロセスへの応用



次世代センサの創製



バイオ製品の生産性向上のための新技術

乾燥ストレス耐性ペプチド

～乾燥ストレス耐性ペプチドの共発現によるタンパク質高効率発現技術の開発～



ネムリユスリカ



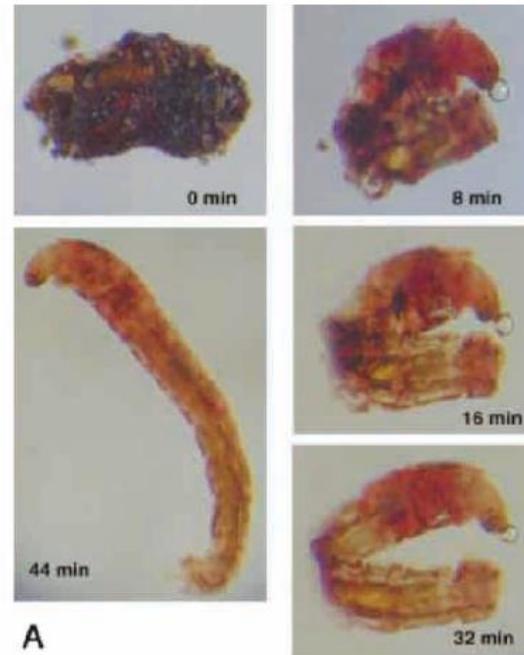
@生物研

ネムリユスリカの幼虫

アフリカの半乾燥地帯に生息する昆虫。
その幼虫は岩の窪みにできた水たまり
で生育している。



ネムリユスリカの幼虫は次の降雨まで
乾燥した状態で生存し続ける。そして
次の雨が降ると、吸水し短時間のうち
に蘇生する。



Larva recovering from cryptobiosis at 0, 8, 16, 32 and 44 min after rehydration.

T. Okuda et.al. The Journal of Experimental Biology 205, 2799–2802 (2002)

LEAタンパク質の発現が乾燥耐性に関与している

乾燥ストレス耐性ペプチド

～乾燥ストレス耐性ペプチドの共発現によるタンパク質高効率発現技術の開発～

高効率にタンパク質を発現させる方法として LEAタンパク質の機能に着目

グループLEAタンパク質のアミノ酸配列には規則性が存在する

- 1, 9 → 疎水性アミノ酸
- 3, 7, 11 → 酸性アミノ酸
- 2, 6, 8 → 塩基性アミノ酸
- 4, 5, 10 → 規則性無し

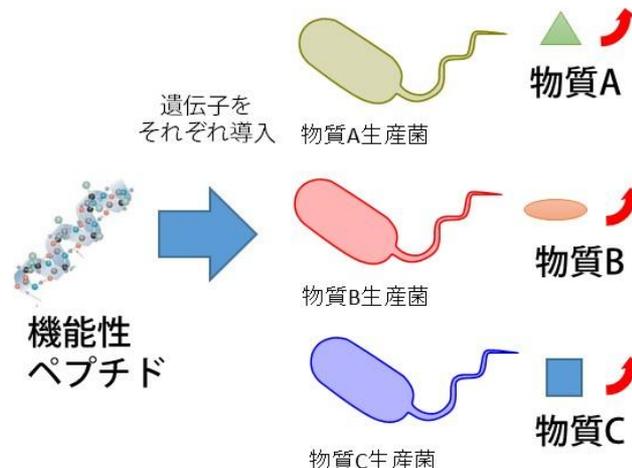
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11
AKDGTKEKAGE

小分子化(ペプチド)として細胞内でのタンパク質発現に応用

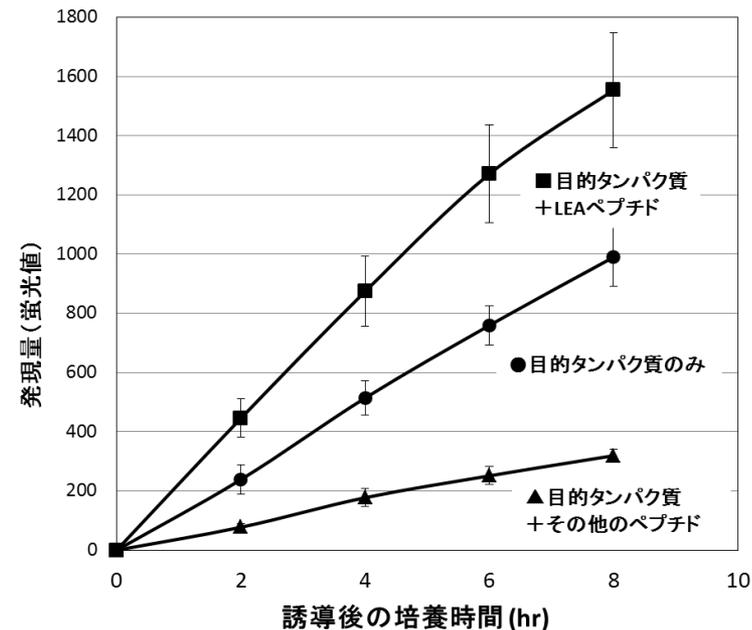
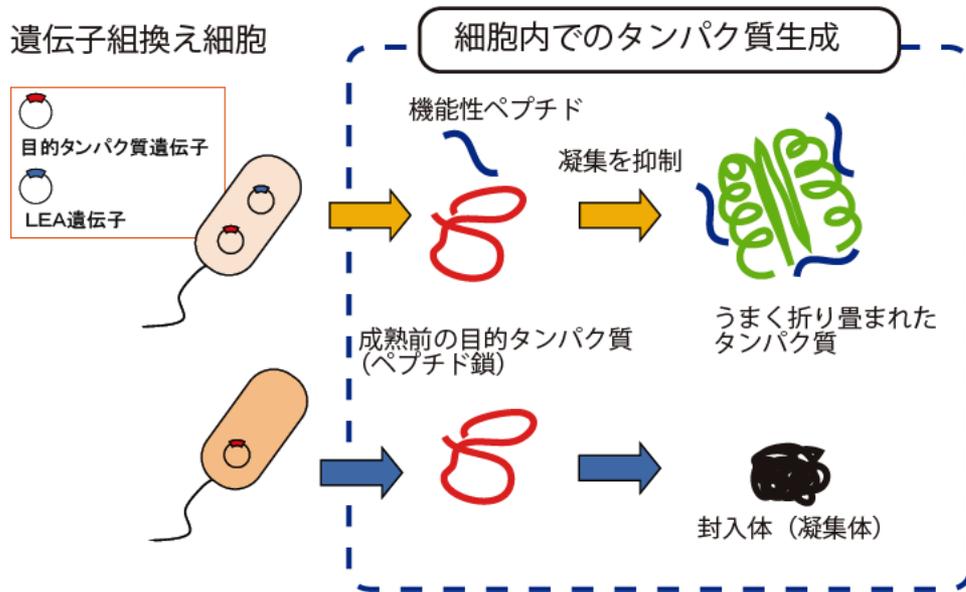
Polypedilum vanderplanki (ネムリユスリカ) の
LEAタンパク質を参考に、機能性ペプチドを設計！



機能性ペプチド

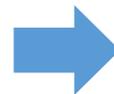


機能性ペプチド共発現法によるタンパク質高効率発現技術



既存のタンパク質合成系に開発したペプチドを発現する遺伝子を導入するだけでタンパク質発現効率が倍増。

→生産性向上によりコストが半減！

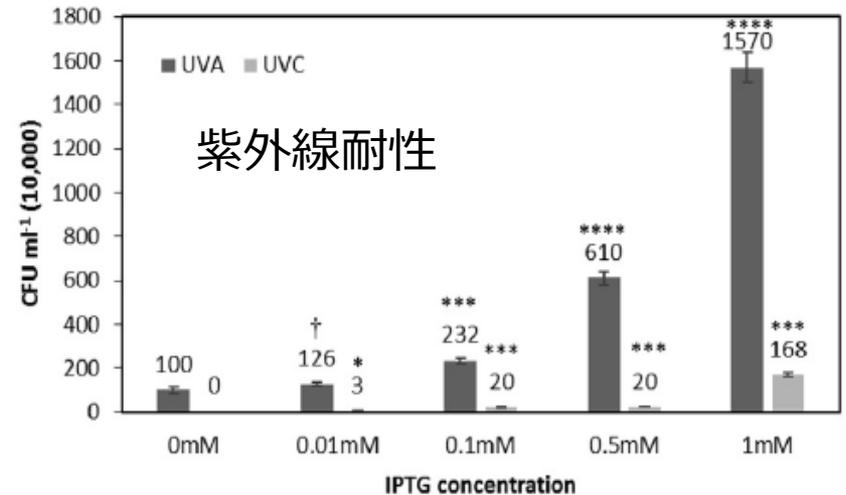
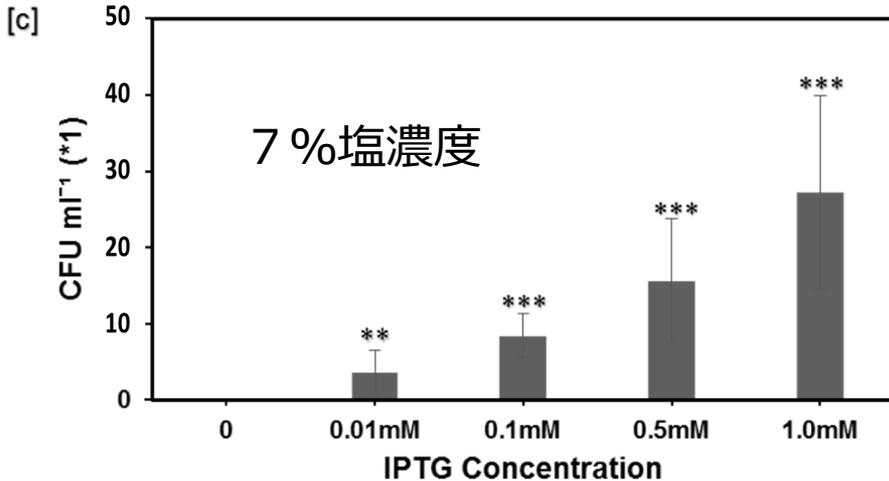
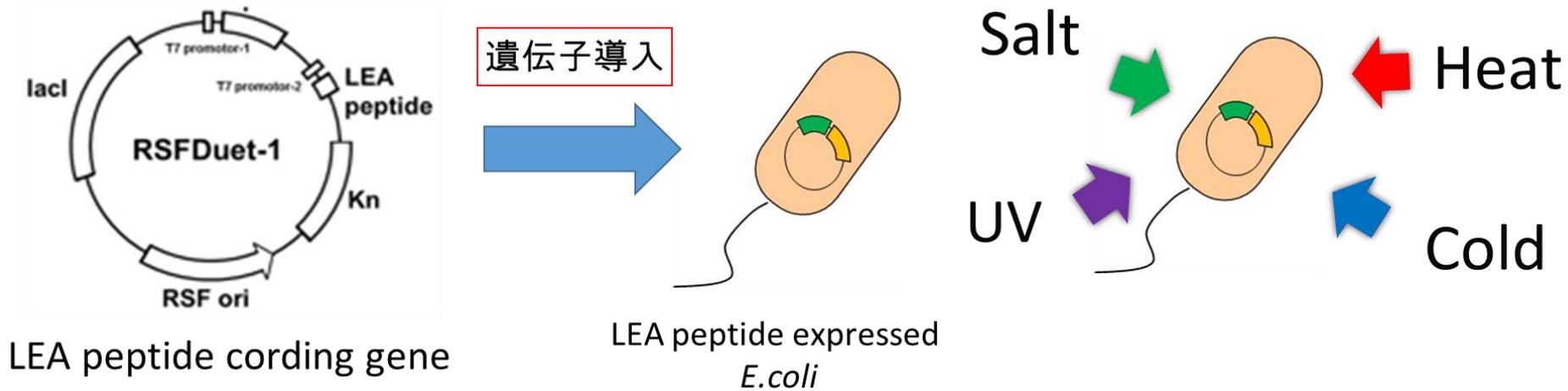


様々な産業でその技術が応用可能

食品加工、洗剤、化粧品
繊維加工、醸造、酒造、
医薬品 (バイオ医薬品)

研究開発により、現在は最大で**10倍**のタンパク質発現の増大に成功！

機能性ペプチド発現によるストレス耐性の獲得



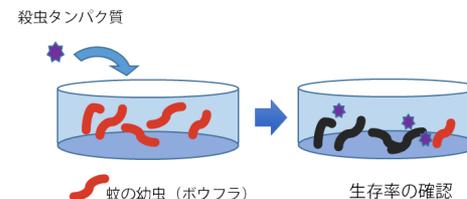
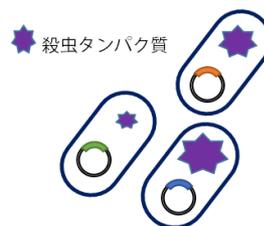
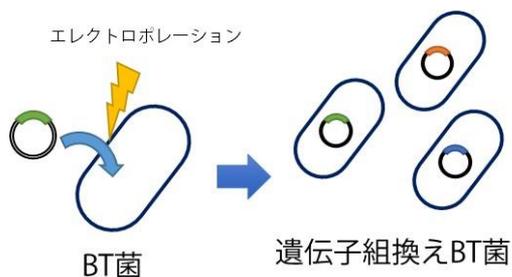
機能性ペプチド共発現法を用いた 微生物殺虫剤の大量発現技術の開発



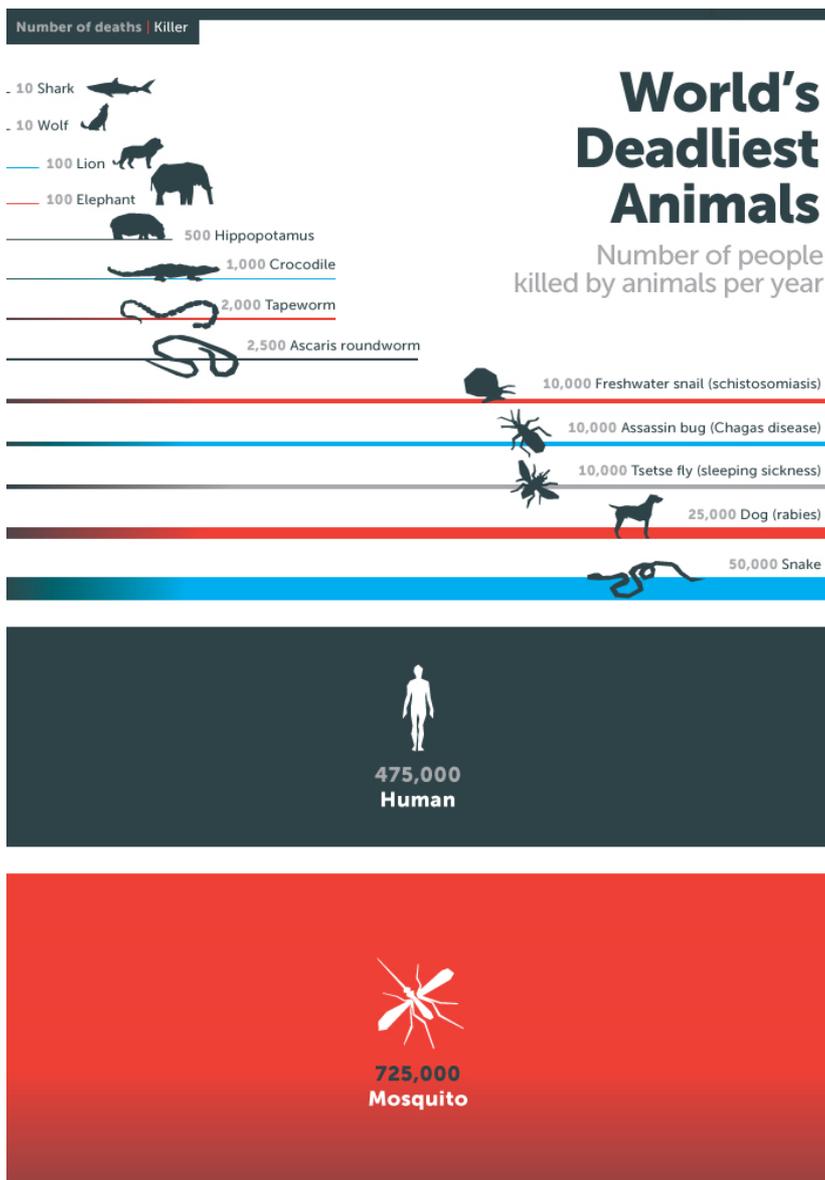
九州工業大学
大学院生命体工学研究科 生体機能応用工学専攻
准教授 池野 慎也



株式会社 九州メディカル バイオ本部



背景1：蚊が媒介する感染症とその対策



ヒトを殺す動物ランキング

2位は人間、1位は？



蚊 (Mosquito)

デング熱やジカ熱は、蚊が媒介するウイルス性の感染症である。世界保健機構 (WHO) によれば、特にデング熱は熱帯地域を中心に5,000万人から1億人の感染者がいると推定されている。



蚊を駆除するためには成虫の時ではなく、その卵や幼虫の時に殺虫剤で駆除する方が効率的である

SOURCES: WHO; crocodile-attack.info; Kasturiratne et al. (doi.org/10.1371/journal.pmed.0050218); FAO (websites.org/6Ggp585VO); Linnell et al. (websites.org/6ORL7DBUO); Packer et al. (doi.org/10.1038/2F436927a); Alessandro De Maddalena. All calculations have wide error margins.

微生物農薬 (Bacillus thuringiensis: BT)

BT剤のメリット

BT菌の殺虫メカニズム

Functional Mechanism of *Bacillus thuringiensis*

BT菌は幼虫(ポウフラ)期のみ有効

Effective only against larvae

B. thuringiensis

Crystal
Spore



殺虫タンパク質
Insecticidal Protein Crystal

消化管内の高いpHで溶解
Dissolving crystal at high pH

受容体への結合
Toxin bind to specific receptors

タンパク質分解による活性化
Activation of toxin

消化管に穴を形成
Porforation of gut

死に至る
Result in death

九州メディカル社webサイトより

安全性：消化管の中が強アルカリ性でない昆虫や胃液が酸性のほ乳類では毒性がない。

選択性：BT剤はその種類により、コナガ、モンシロチョウなどに効くもの、ハエ、カに効くもの、甲虫に効くものがある。

デメリット

- コストがかかる
- 大量生産が難しい

当研究室のタンパク質発現増大技術を応用して、BT菌の中で殺虫タンパク質を大量生産できるバイオプロセスの構築を目指している。

微生物農薬（BT剤）のメリット

① 特定の害虫にのみ作用する

化学農薬は何種類かの害虫に殺虫効果を発揮する。
微生物農薬は標的害虫以外には影響がない。

② 自然環境に対する影響が少ない

微生物農薬の主成分はタンパク質である。
残留性が少ない。

③ 薬剤抵抗性を獲得されにくい

化学殺虫剤の大量使用により、使用した殺虫剤が効きにくくなる薬剤耐性が多く報告されている。

④ ヒト及び環境に対する安全性が高い

ヒトに対して無害であり、安全性が非常に高い。



九州メディカル社webサイトより

デメリット

- ・ 生産コストがかかる
- ・ 大量生産が難しい

企業ニーズ

- ・ 製造コストを下げたい
- ・ 効果の持続期間を伸ばしたい

九工大シーズ

タンパク質発現の増大技術

共発現させたペプチドによる保護機能

H28 JSTバリュープログラムMP試験
組換え菌体の作成とその殺虫活性の確認

H29 北九州市環境未来技術 FS試験
機能性ペプチドの発現条件の検討と殺虫タンパク質の発現量増大

H30～

1) FAIS シーズ発掘試験

微生物殺虫剤の大量発現技術を可能とする機能性ペプチドの探索

2) JST A-STEP

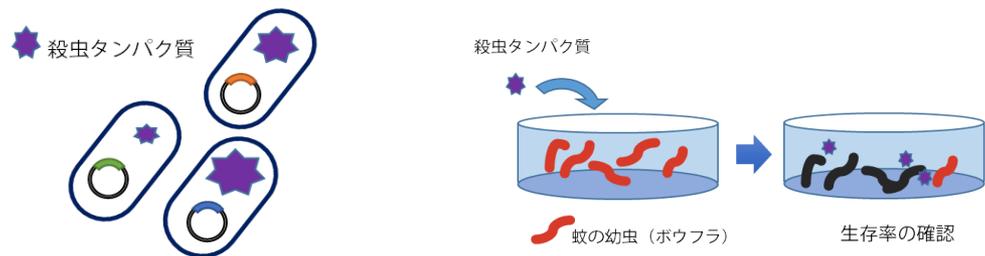
機能性ペプチド共発現法を用いた大腸菌による殺虫タンパク質の大量生産技術の開発

タンパク質発現試験結果



機能性ペプチドの発現により殺虫タンパク質発現量（3倍）が増大

殺虫活性試験結果



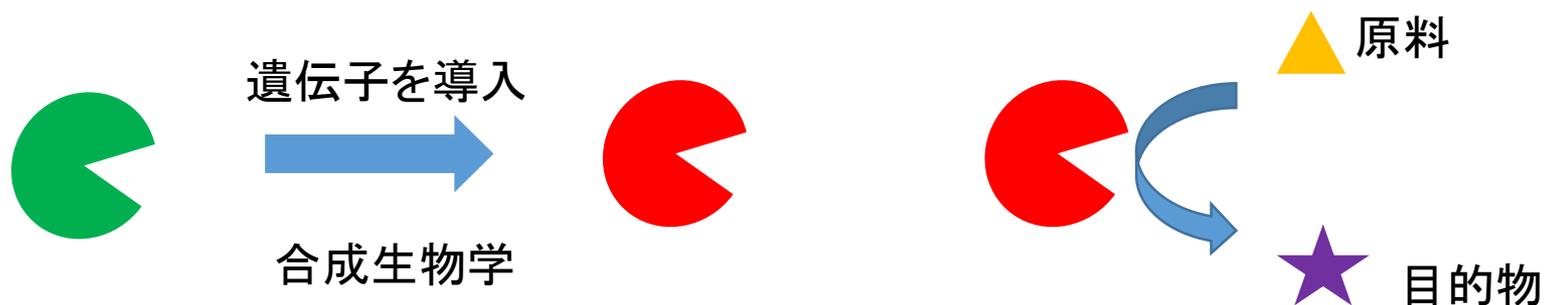
殺虫タンパク質発現量の増加により殺虫活性が増加

微生物によるバイオプロダクト

表 微生物による物質生産例

医薬品	酵素、抗体、ペプチド
エネルギー	水素、エタノール、メタン
高分子素材	バイオポリマー：PHB、ポリ乳酸
食品素材	機能性オリゴ糖、不飽和脂肪酸
化粧品素材	ヒアルロン酸、エラスチン、コラーゲン

バルクケミカルからファインケミカルまで多種多様！



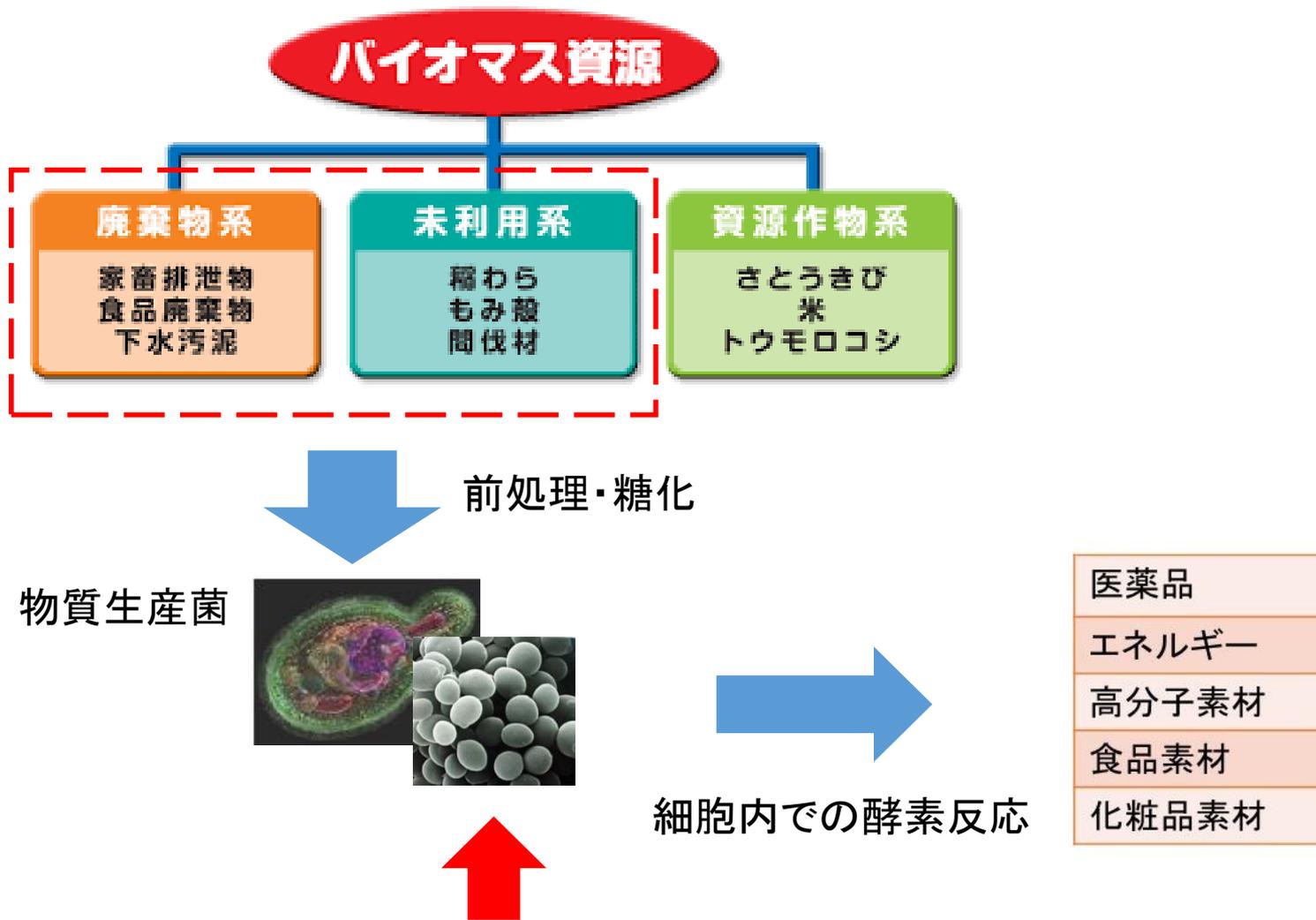
微生物を用いた物質生産の効率化のためアプローチ

	開発技術	開発技術例
①	化学工学的 アプローチ	反応プロセスの改善 生産工程の効率化
②	機械工学的 アプローチ	装置の開発 省エネ化
③	生物工学的 アプローチ	宿主の改良 代謝工学

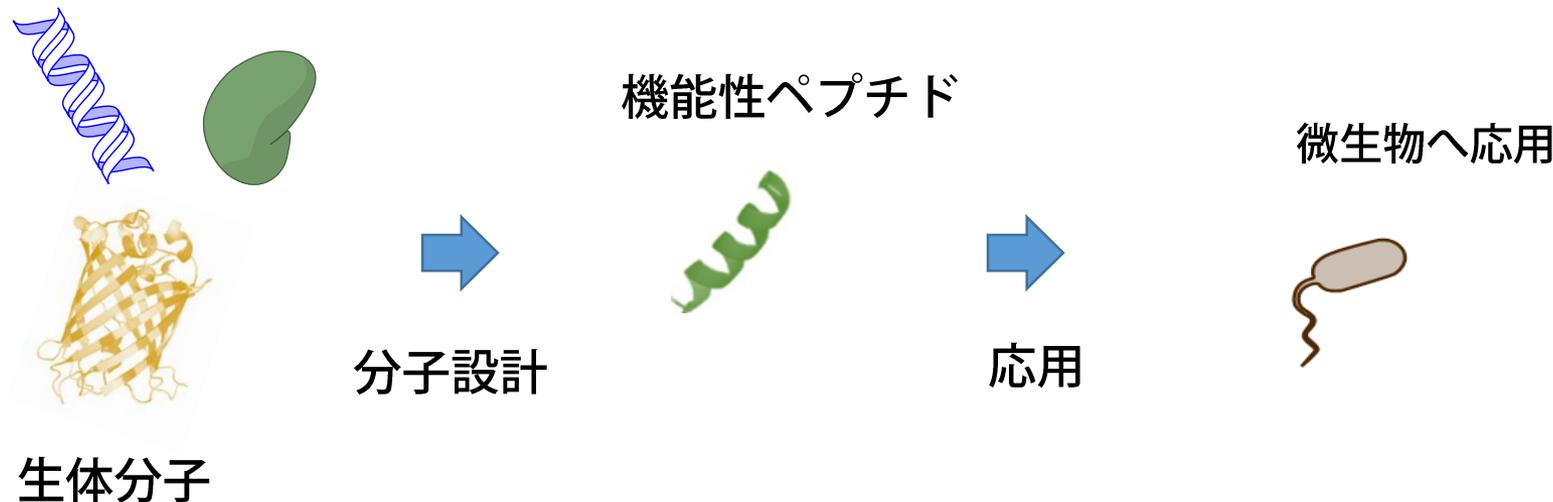
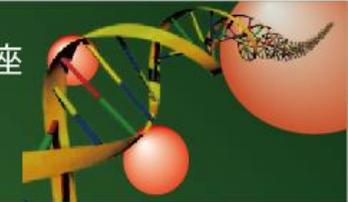


機能性ペプチド発現によるタンパク質発現の向上

バイオマス資源からバルクケミカル・ファインケミカルへ



- 1) 機能性ペプチドで酵素の発現量を増大
- 2) 機能性ペプチドでストレスに対して耐性強化



池野研究室では、生物機能分子を環境・医療・食品等の分野に応用する研究を展開しています。研究等にご興味がある方は是非ご連絡下さい！

連絡先 TEL: 093-695-6062
E-mail: ikeno@life.kyutech.ac.jp URL: <http://www.life.kyutech.ac.jp/~ikeno>
住所: 〒808-0196 福岡県北九州市若松区ひびきの2-4
北九州学術研究都市 九州工業大学生命体工学研究科