



# スマートセル・プロジェクト 成果集

植物・微生物から工業材料を生産する  
革新的バイオテクノロジーの開発

# はじめに

## バイオ×デジタルで切り拓く未来に向けて

「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」（スマートセルプロジェクト）は、2020年度末に5年間プロジェクトとしての一つの区切りを迎えます。バイオ技術とデジタル技術の融合により、これまで利用し得なかった“潜在的な生物機能”を効率的に引き出す新たなアプローチとそれを具現化する多くのツールがこのプロジェクトで開発されました。これらのツールを使い生物情報の集積、情報の分析、生物機能の改変・発現を行うことにより、経済・社会に大きな変革をもたらすバイオエコノミーの進展に期待が集まっています。多くの産業界・アカデミアの方々にこれらのツールをご活用いただき、循環可能なバイオ由来のモノに満たされた社会の実現に寄与することを願っています。



「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」  
プロジェクトリーダー  
国立大学法人九州大学 名誉教授  
久原 哲

## バイオエコノミー社会実現に向けた確かな手応え

5年間のプロジェクトを通じて、生物機能を活用した物質生産にとっての課題である宿主の生産性向上や最適化に必要となる各種技術開発において、規制対応、社会的認知等を含めて中・長期的展望にて実用化していくべき基礎技術から企業テーマでの検証事例も蓄積した比較的短時間で応用・実装可能な基盤技術に至るまでの広範囲な成果が得られたと思います。

今後、本プロジェクト成果の企業/研究機関の開発ステージに合わせた選択的利用により、多くの事業分野においての知見がさらに蓄積され、より実戦的な技術として磨かれ、日本のバイオエコノミー社会の実現に向けて活用されることを期待しています。



「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」  
サブプロジェクトリーダー  
国立研究開発法人産業技術総合研究所 グループ長  
松村 健

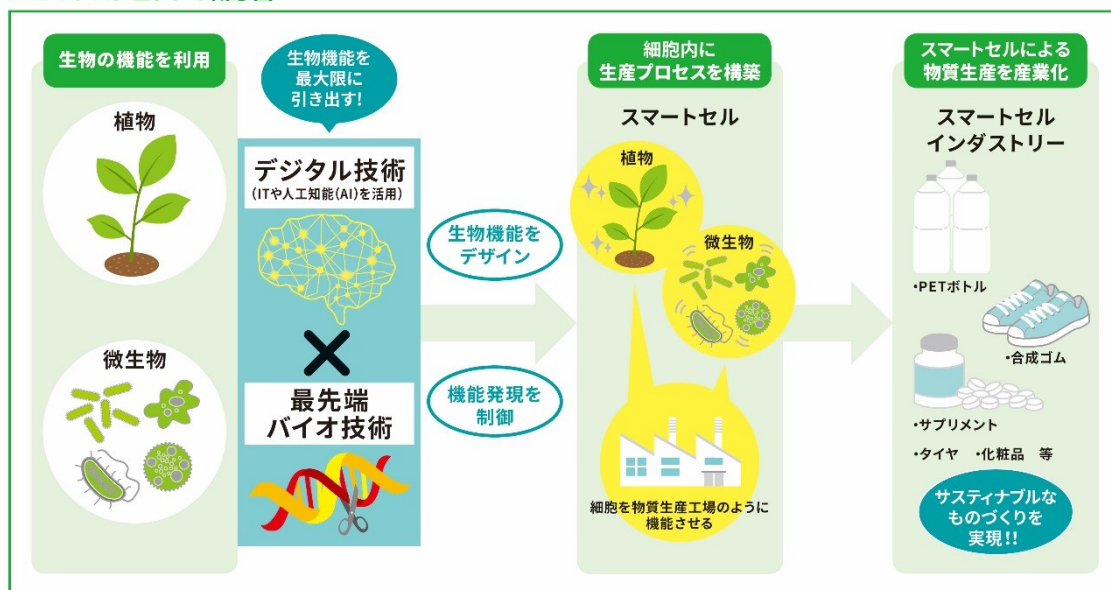
# 目次

はじめに	1
目次	2
プロジェクト概要	3
実施体制	4~5
■ 第一章 共通基盤技術 ■	
進化工学のおよび分子動力学的手法による新規ゲノム編集システムの創出	7~10
RNA結合型PPRによるゲノム機能編集技術	11
多様なゲノム改変技術の開発	12
DNA切断ドメインの改良、および1塩基置換基盤技術の開発	13
精密なゲノム設計技術の開発	14
ゲノム編集情報解析プラットフォーム	15
細胞壁を持つ植物細胞内へタンパク質を送達	16
ナノニードルを用いたゲノム編集モジュールの植物個体へのデリバリー	17
オルガネラゲノムの編集技術の開発	18
DNA認識モジュールの開発	19
日本発新規ゲノム編集技術の研究開発	20~21
ゲノム編集の国産技術プラットフォームの確立	22
植物の遺伝子発現ON/OFFプラットフォーム	23
植物における代謝産物の蓄積機構の制御技術の開発	24
植物内在性遺伝子のメチル化制御技術開発	25
目的遺伝子の特異的メチル化解除による発現制御	26
代謝系関連遺伝子の安定化技術開発	27
転写・発現調節因子等による遺伝子発現制御技術	28
環境ストレスを活用した植物の二次代謝系制御	29
人工環境・栽培技術における代謝系遺伝子変動 解析を利用した化合物高効率生産技術開発	30
情報技術を核とした超高速スマートセル創出プラットフォームの開発	31
スマートセル構築のための情報技術	32
代謝設計・最適化技術の開発	33
酵素選定	34
発現制御ネットワーク構築	35
遺伝子配列設計	36
スマートセル設計支援知識ベース	37
文献等からの微生物設計知識抽出	38
酵素の活性推定	39
生物資源データベース	40
ハイスループット合成・分析・評価技術の開発	41
OGAB法による長鎖DNA合成トータルシステム	42
ハイスループット長鎖DNA合成技術の開発	43
遺伝子アセンブリのためのクローン単離技術	44
シャーンシ株（ハブ化合物高生産株）の高速育種	45
HTP微生物構築・評価技術	46
メタボライトセンサの開発	47
排出輸送体プラットフォーム	48
自家蛍光顕微鏡技術	49
共焦点レーザー顕微鏡を用いた自家蛍光スペクトル観察	50
高精度トランスクリプトミクス	51
高精度メタボローム解析技術の開発	52~53
定量ターゲットプロテオーム解析技術	54
■ 第2章 物質生産検証事例 ■	
植物の代謝多段階改変と高効率培養によるビタミンD3生産システムの開発	56
医薬用中間体原料植物の代謝改変によるアルカロイド製造技術の開発	57
組換えエナス科植物によるジャガイモシストセンチュウ孵化促進物質の生産	58
イチイ細胞培養技術を用いたタキサン系医薬中間体10-DABの効率生産法開発	59
シンの健康機能性成分の高効率増産技術開発	60
糸状菌を用いた有用タンパク質同時生産制御	61
リモネンをはじめとするモノテルペノイド酸化酵素を用いた酵素設計技術の有効性検証	62
有用イソプレノイド生産	63
コリネ菌を用いた有用芳香族化合物の生産性向上による代謝解析技術の有効性検証	64
紅麴色素生産性向上	65
微生物を用いたパブリカ由来カロテノイドの新規生産法の有効性検証	66
ω-3系脂肪酸の生産性の向上による実用化検討	67
微生物を用いたアルカロイド等の新規生産法の有効性検証	68
シアノバクテリアによる物質生産	69
植物由来の高機能プラスチック	70
体外診断用医薬品酵素生産	71
希少アミノ酸エルゴチオネイン高生産スマートセルの開発	72
スマートセル技術を応用した天然ヒト型長鎖セラミド高含有醤油麹菌の開発	73
酵素設計技術を活用した化成品製造法の開発	74
研究開発成果の紹介と社会実装の促進	75
おわりに	76
事業者索引	P77~78

# プロジェクト概要

NEDOは「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」（スマートセルプロジェクト／2016-2020年度）を通じて、生物機能を活用した持続可能な社会に貢献する生産技術の創出・確立に取り組んでいます。ものづくりの生産プロセスとして適用できるように高度に最適化された細胞“スマートセル”の構築や基盤技術開発を進めています。

NEDOプロジェクトの概念図



## 研究開発スケジュール

	2016FY	2017FY	2018FY	2019FY	2020FY	2021FY
① 植物の生産性制御に係る共通基盤技術開発 (委託)	国産ゲノム編集技術の開発		中間評価	実用植物への適合性の検証及び技術改良		
	代謝系遺伝子発現制御技術の開発					
	栽培・生育環境による発現制御技術の開発					
② 植物による高機能品生産技術開発 (助成)		代謝経路、鍵遺伝子の特定 形質転換技術の開発		栽培環境条件の最適化、生産性の実証		事後評価
	③ 高生産性微生物創製に資する情報解析システムの開発 (委託)	高生産性微生物設計システムの開発	有効性検証	開発システムの改良及びパッケージ化		
ハイスループット合成・分析・評価手法の開発						
④ 微生物による高機能品生産技術開発 (助成)				システム活用による実用ターゲット開発		

# プロジェクト実施体制

## 2016-2020年度研究実施体制



# プロジェクト実施体制

## 調査研究事業

- <調査研究>
- スマートセルによる物質生産分野の研究開発の方向性に係る検討  
(2016年度/株式会社三菱化学テクノロジー)
  - 遺伝子組換え生物等の閉鎖系使用に係る規制のあり方に関する検討  
(2016年度/一般財団法人バイオインダストリー協会)
  - スマートセルによる物質生産分野に係る環境・経済への波及効果分析及び関連技術動向調査  
(2017-2018年度/株式会社三菱ケミカルリサーチ)
  - スマートセル関連技術の社会実装推進に向けて解決すべき新規課題の検討  
研究項目：新規植物遺伝資源の創出と高度利用化を加速化する植物ゲノム技術基盤開発  
(2018-2019年度/明治大,徳島大)  
研究項目：植物ゲノム編集のための卓越的分子導入法の研究開発  
(2018-2019年度/ベックス[再委託:千葉大],九州大)  
研究項目：嫌気性微生物群の遺伝子発現深層学習解析と発生臭気のリアルタイム解析によるメタン生成の高効率化の調査研究  
(2018-2019年度/日立造船[再委託:大阪大Hitz協働研究所,大阪大国際医工情報センター])
  - 研究項目：ロバスト性微生物およびシンプル生産プロセスの開発  
(2018-2019年度/日揮,崇城大,奈良先端科学技術大)
  - 研究項目：植物原料由来イソプレレン及び高機能イソプレレン誘導体製造技術の社会実装に向けた課題抽出  
(2018-2019年度/三菱ケミカルリサーチ,ブリヂストン,JSR,三菱ケミカル)
  - 研究項目：高性能ラマン・フローサイトメトリーを用いた無標識代謝物分析によるスマートセル選抜技術の研究開発  
(2018年度/ユージェナ,東京大)
  - 研究項目：C4化成品の原料転換と出口の多様化に関する調査研究  
(2018年度/ちとせ研究所,ダイセル[再委託:日本大,東北大])
  - 研究項目：バイオ合成可能な有用モノマー化合物の探索技術の開発  
(2018年度/理研,産総研)
  - バイオエコノミー社会実現に向けたベンチマーク調査  
(2019-2020年度/株式会社三菱ケミカルリサーチ)

## 技術推進委員 (2016-2020年度)

- |   |  |
|---|--|
| <p>&lt;植物テーマ&gt;</p> <p>委員長 桑田 茂 (明治大学)</p> <p>委員 青木 俊夫[2018年度まで]<br/>(日本大学)</p> <p>委員 石井 明子<br/>(国立医薬品食品衛生研究所)</p> <p>委員 石井 哲也 (北海道大学)</p> <p>委員 大滝 義博<br/>((株)バイオフロンティアパートナーズ)</p> <p>委員 峰野 純一 (タカラバイオ(株))</p> <p>委員 矢野 孝彦[2019年度~]<br/>(大正製薬(株))</p> | <p>&lt;微生物テーマ&gt;</p> <p>委員長 木野 邦器 (早稲田大学)</p> <p>委員 大滝 義博<br/>((株)バイオフロンティアパートナーズ)</p> <p>委員 五味 勝也 (東北大学)</p> <p>委員 関 実 (千葉大学)</p> <p>委員 森 浩禎<br/>(奈良先端技術大学院大学)</p> |
|---|--|

(敬称略)

# 第一章

## 共通基盤技術

# 進化工学のおよび分子動力学的手法による新規ゲノム編集システムの創出

～ 進化工学的手法による新規ゲノム編集ツールの開発 ～

徳島大学

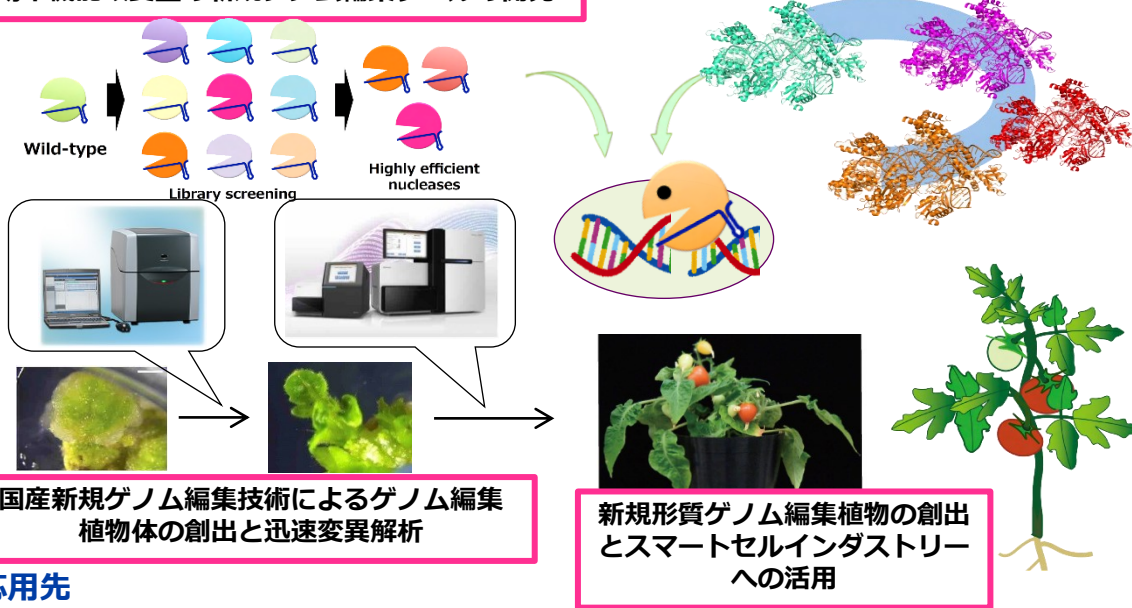
## 技術の説明

ゲノム編集の主要基本技術は欧米の知財であるため、国内産業界において産業分野の活性化をもたらす新規ゲノム編集ツールの開発が強く望まれていた。本研究では、機能未知であった新規ゲノム編集ツールをコードする遺伝子群を同定することで、先行技術とは異なる国産のゲノム編集技術を開発した。

in silico 解析による新規ゲノム編集ツール候補の探索



高効率機能改変型の新規ゲノム編集ツールの開発



## 応用先

- 有用物質生産を目的とした代謝改変植物体および細胞の作出
- 有用形質を示す農林水産物品種の育種・育成
- 医療-創薬分野での活用.

## 参考資料

- 国際公開番号WO/2019/039417「ヌクレオチド標的認識を利用した標的配列特異的改変技術」(徳島大学)
- 国際出願PCT/JP2020/11283「CRISPRタイプI-Dシステムを利用した標的配列改変技術」(徳島大学)

## お問合せ先

国立大学法人 徳島大学, 刑部敬史

E-mail: kosakabe@tokushima-u.ac.jp

URL: <https://www.tokushima-u.ac.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.



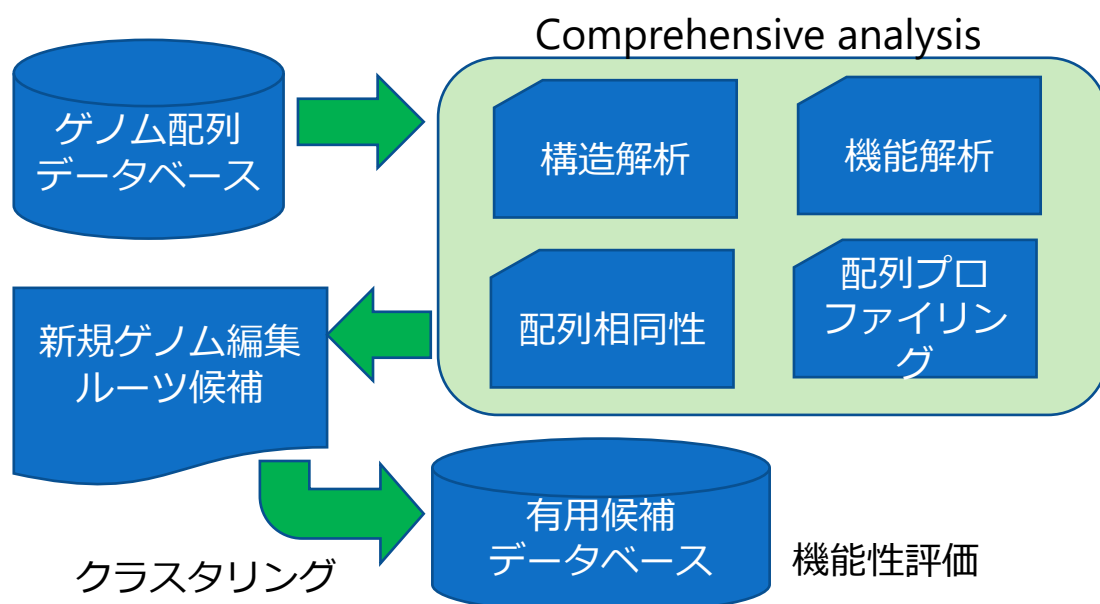
# 進化工学のおよび分子動力学的手法による新規ゲノム編集システムの創出

～ in silico 解析による新規ゲノム編集ツール候補の探索～

明治大学

## 技術の説明

ゲノム編集の主要基本技術は欧米の知財であるため、国内産業界において産業分野の活性化をもたらす新規ゲノム編集ツールの開発が強く望まれていた。本研究では、大規模なゲノムDNA配列情報解析を実施することにより、迅速かつ高精度に新規ツール候補を探索・検証することによって、先行技術とは異なる国産のゲノム編集技術を開発した。



共通基盤技術

## 応用先

- 有用物質生産を目的とした代謝改変植物体および細胞の作出
- 有用形質を示す農林水産物品種の育種・育成
- 医療-創薬分野での活用.

## 参考資料

## お問合せ先

明治大学農学部生命科学科バイオインフォマティクス研究室

**E-mail:** kyano@meiji.ac.jp

**URL:** <http://bioinf.mind.meiji.ac.jp/lab/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 進化工学のおよび分子動力学的手法による新規ゲノム編集システムの創出

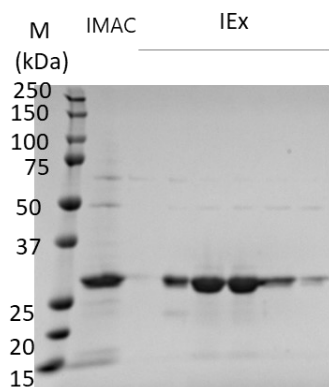
## ～ TiDシステムの分子構造解析 ～

理化学研究所

### 技術の説明

ゲノム編集ツールの活用や改良において、その分子構造の理解と、それに基づく動作原理の解析は重要な基盤となる。また、分子構造解析や *in vitro*での動作原理解析には、ゲノム編集ツールを構成するタンパク質を組換え体として大量に発現・精製することが必要である。この組換えタンパク質の発現・精製法は、これらの基礎的な解析だけでなく、精製組換えタンパク質を用いたゲノム編集などにも有用な基盤となることが期待される。

そこで、本研究では、TiDシステムを構成する各タンパク質サブユニットについて、大腸菌を用いた発現・精製系を確立し、その結晶構造解析を行った。



### 応用先

- 分子構造に基づく TiD システムの動作原理の理解
- 分子構造に基づく TiD システムの改良
- 組換え精製タンパク質を用いた(遺伝子組換えを経ない)ゲノム編集

### 参考資料

### お問合せ先

理化学研究所・生命機能科学研究センター

**E-mail:** y.okada@riken.jp

**URL:** <https://www.bdr.riken.jp/jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 進化工学のおよび分子動力学的手法による新規ゲノム編集システムの創出

～ 分子動力学解析によるゲノム編集技術開発支援 ～

近畿大学

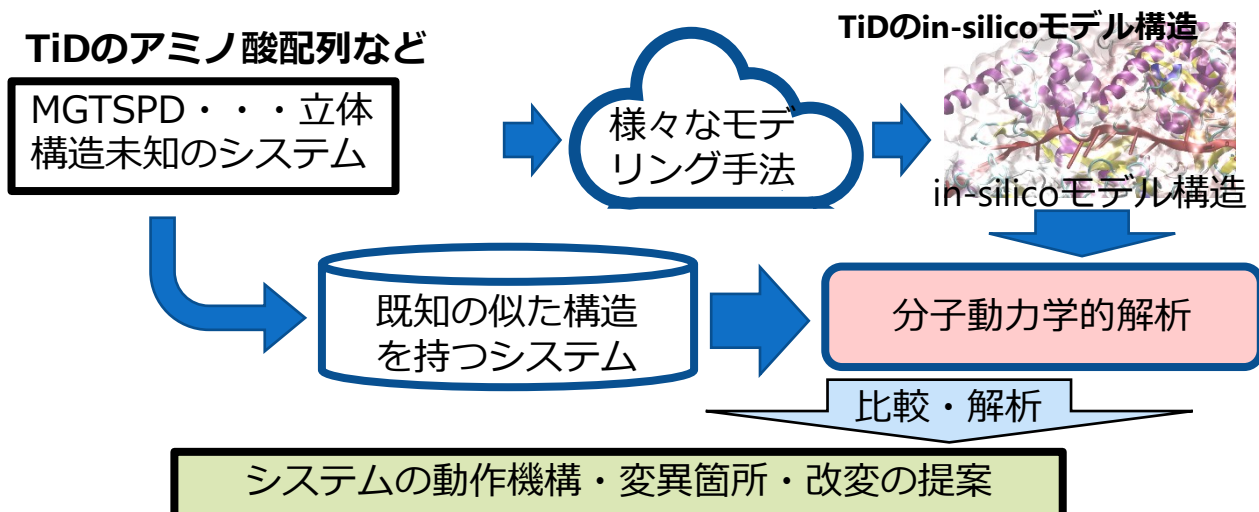
共通基盤技術

## 技術の説明

ゲノム編集ツールの新規開発・改良に使用するin-silicoによるシミュレーション技術の protocols を作成した。TiDなどのシステムの改良提案をした。その他CRISPRシステム各種のシミュレーション計算を実施し、Type I及びType IIIの機構について把握ができた。

- 1) 構造未知のゲノム編集薬 (TiDシステム)の形や動作機構、核酸との相互作用  
→ 実験により立体構造解析が行われれば、その結果を用いて動作提案。立体構造が不明であれば原子・分子解像度で構造未知のゲノム編集薬の立体構造をin-silicoでモデリングし、そのモデリング構造とその動作機構、核酸との相互作用などを提案した。
- 2) TiDなどの構造既知や構造未知のゲノム編集薬の変異箇所、改良のための改変アミノ酸の提案。  
→ 構造既知システムやモデリング構造、改変後のゲノム編集薬の分子動力学解析を実施し、改良の為の変異箇所・改変の提案をした。

いずれも、立体構造が解っている似たシステムをモデルとして比較・解析を実施した。



## 応用先

- 新規ゲノム編集ツールの開発・改変元
- 創薬分野
- 原子・分子解像度での機能解析

## 参考資料

・使用ソフトウェア : Gromacs, MODELLER, ROSETTA, BLAST, ProDy, in-house software etc..

## お問合せ先

近畿大学 生物理工学部 生命情報工学科 機能性生体分子システム研究室 宮下尚之

E-mail: miya@waka.kindai.ac.jp

URL: <https://www.kindai.ac.jp/bost/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# RNA結合型PPRによるゲノム機能編集技術

～ 標的RNAの翻訳、スプライシングのin vivo制御 ～

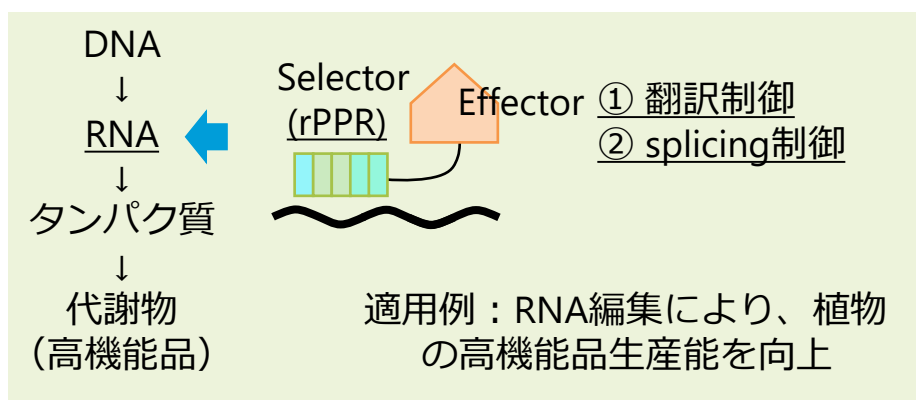
九州大学

## 技術の説明

ゲノム編集技術の発展型として、世界初の汎用的なRNA編集を可能にするRNA結合型PPR (rPPR)、およびその応用技術を開発している動物、植物で利用可能な ①翻訳、②スプライシング制御、を提供可能である。

技術の優位性：

- ・世界初の汎用的RNA操作技術（基本特許有）
- ・ゲノムDNA配列を編集せずに、ゲノム機能をRNAレベルで編集
- ・生存に必須な遺伝子の発現の時空間制御



## 応用先

- ・有用代謝物等生産のための代謝経路の改変
- ・RNAが原因となる疾患に対する創薬
- ・RNAウイルスの診断、治療、など

## 参考資料

- ・ PRモチーフを利用したRNA結合性蛋白質の設計方法及びその利用 (WO/2013/058404)
- ・ 標的mRNAからの蛋白質発現量を向上させるための融合タンパク質 (特願2016-120524)

## お問合せ先

九州大学・中村崇裕

E-mail: tnaka@agr.Kyushu-u.ac.jp

URL: <https://www.kyushu-u.ac.jp/ja/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 多様なゲノム改変技術の開発

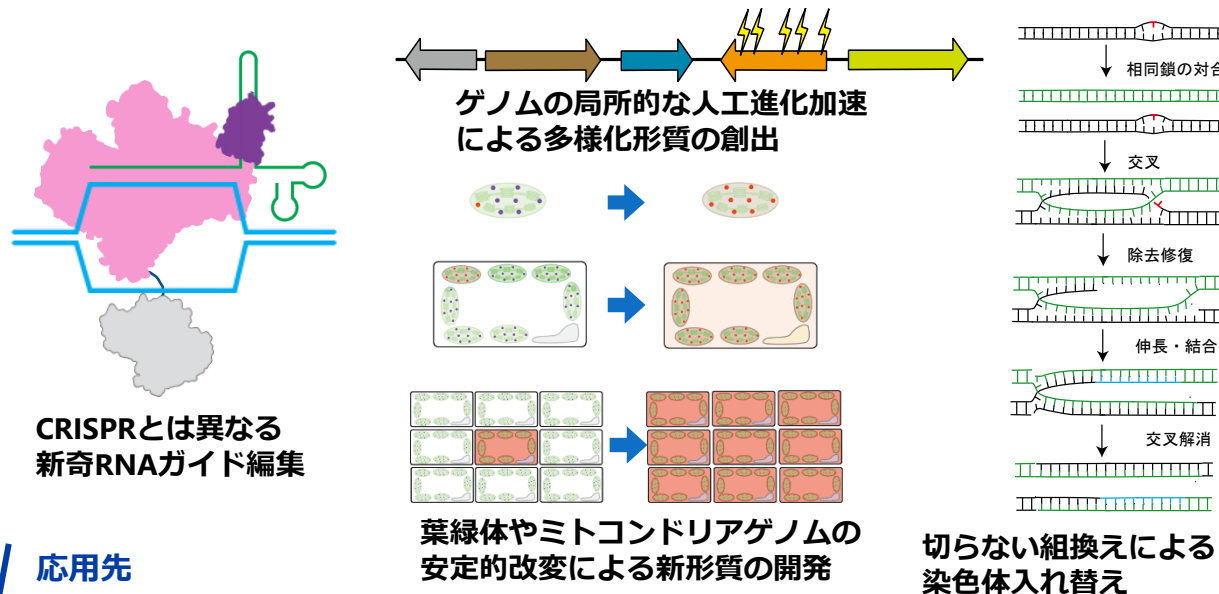
~ 新奇RNAガイド・人工進化・新奇組換え・葉緑体改変 ~

神戸大学

共通基盤技術

## 技術の説明

育種の現場の様々なニーズに対応できる、より高度で複雑なゲノム改変を実現するため、CRISPRとは全く異なる新奇RNAガイド編集、ゲノムの局所的な人工進化加速、DNA切断を伴わない新奇組換え、葉緑体などの植物オルガネラゲノムの安定的かつ汎用的な改変手法の開発を行う。



## 応用先

- ゲノム多様化による有用形質のスクリーニング
- 葉緑体やミトコンドリアの遺伝子機能操作
- 大規模な染色体改変

## 参考資料

- 脱塩基反応により標的化したDNA配列に特異的に変異を導入する、ゲノム配列の改変方法、並びにそれに用いる分子複合体 (WO2016072399A1)
- 細胞の有する二本鎖DNAの標的部位を改変する方法 (WO2019189147)
- オルガネラプロモーター配列および検出手法 (PCT/JP2020/009553)
- オルガネラ形質転換用の新奇マーカーおよび選抜手法 (特願2020-054225)

## お問合せ先

神戸大学 西田敬二

E-mail: Keiji\_nishida@people.kobe-u.ac.jp

URL: <https://www.kobe-u.ac.jp/>

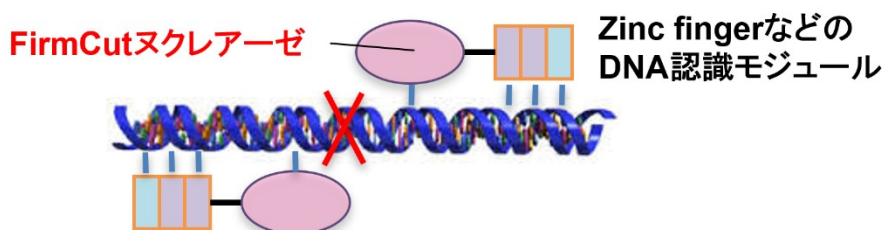
R&D achievements of NEDO smart cell project.

# DNA切断ドメインの改良、および1塩基置換基盤技術の開発

広島大学

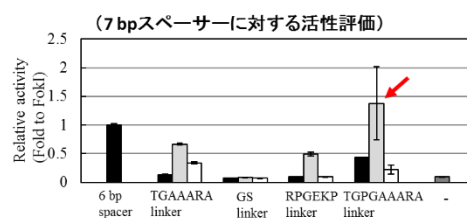
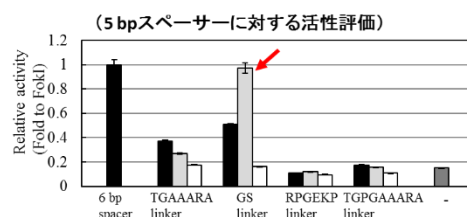
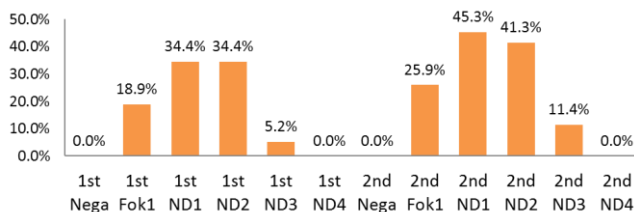
## 技術の説明

代表的なDNA切断エフェクタードメインとして汎用されているFokIよりも高い機能性（高い切断活性、種々の標的配列に対する高い柔軟性など）を有する新規ヌクレアーゼ“FirmCutヌクレアーゼ”を開発（特許出願済み）



FirmCutヌクレアーゼの高い柔軟性（右図）と高い切断活性（下図）

5 bpや7 bpのスペーサー長でも、FirmCutヌクレアーゼの一種であるND1は活性を保持（右図・赤矢印）。ND1・ND2によるゲノム変異率の上昇（下図）。



## 応用先

- FokIベースのゲノム編集ツール（Platinum TALENなど）の高機能化
- 核酸を使用しないゲノム改変
- PPR等の国産ゲノム編集モジュールへの適用

## 参考資料

- DNA結合ドメインを含むポリペプチド（特開2015-33365）
- 新規ヌクレアーゼドメインおよびその利用（PCT/JP2019/033045）

## お問合せ先

広島大学・山本 卓

E-mail: tybig@hiroshima-u.ac.jp

<http://www.mls.sci.hiroshima-u.ac.jp/smg/index.html>

URL:

R&D achievements of NEDO smart cell project.

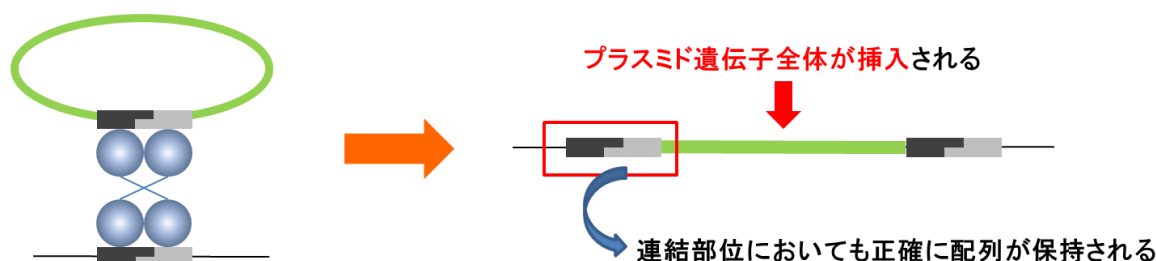
# 精密なゲノム設計技術の開発

## ～ リコンビナーゼによるゲノム編集技術 ～

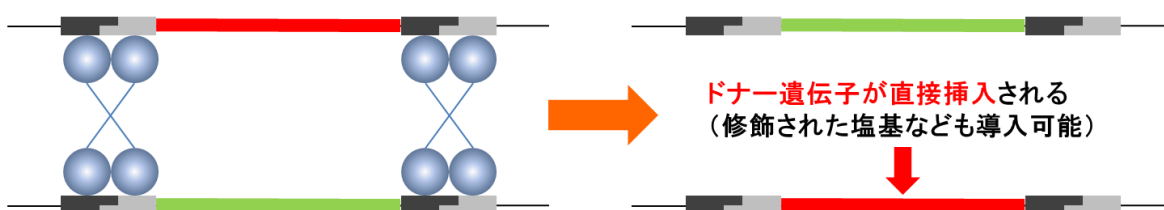
広島大学

### 技術の説明

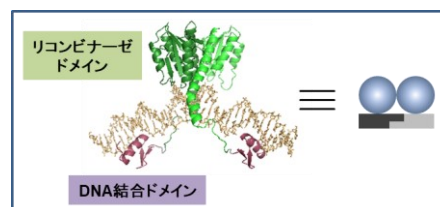
#### プラスミド遺伝子などの部位特異的挿入反応



#### カセット交換による直接的な配列置換反応



- ① DNA結合ユニットは**可変**
- ② 正確なDNA認識／4量体形成による組換え反応
- ③ ゲノム編集ヌクレアーゼでは不可能な反応が可能



### 応用先

- ヌクレアーゼを利用したゲノム編集では難しい長鎖DNAの挿入を必要とする場合
- Flp-in®など既存のインテグレーション技術の代替、挿入位置の拡張を必要とする場合

### 参考資料

- Nomura, W., et al. "Effects of DNA Binding of Zinc Finger and Linkers for Domain Fusion on Catalytic Activity of Sequence-Specific Chimeric Recombinases Determined by a Facile Fluorescent System." *Biochemistry* 51; 1510-1517, 2012.

### お問合せ先

広島大学医系科学研究科

E-mail: wnomura@hiroshima-u.ac.jp

<https://nomulab.hiroshima-u.ac.jp/>

URL:

R&D achievements of NEDO smart cell project.

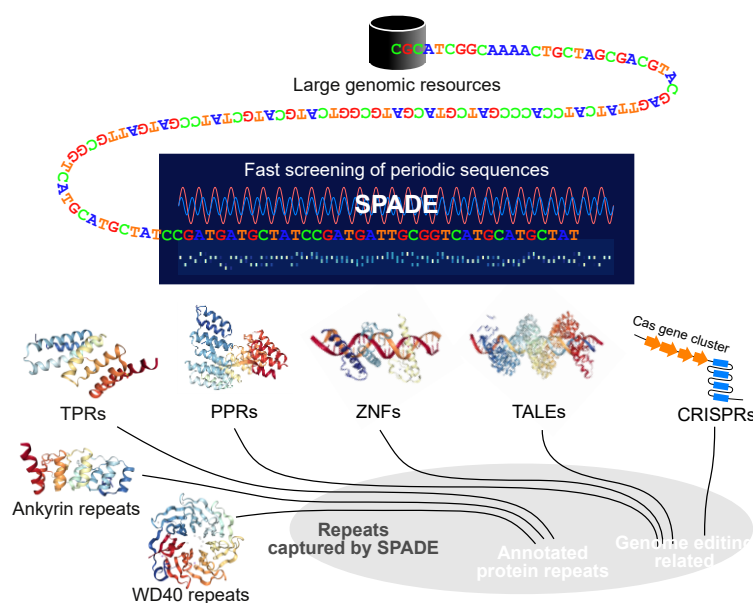
# ゲノム編集情報解析プラットフォーム

～ 新規ゲノム編集関連遺伝子の発掘と評価 ～

東京大学

## 技術の説明

新規ゲノム編集技術開発のためのインフォマティクス基盤として①新規ゲノム編集モジュール探査ソフトウェアSPADE、②ゲノム編集技術の高速評価解析パイプラインDIAMONDシステムの開発を開発した。①は大規模ゲノム・メタゲノムリソースから超高速にゲノム編集モジュール関連遺伝子を世界最高精度で探査する能力があることを実証。②は100程度以上のゲノム編集サンプルの配列変化を超並列で解析できることを示した。



## 応用先

- 新規ゲノム編集技術開発全般
- 農業、物質生産産業、ゲノム編集医療

## 参考資料

- Mori H, Evans-Yamamoto D, Ishiguro S, Tomita M & Yachie N. Fast and global detection of periodic sequence repeats in large genomic resources. (2019) Nucleic Acids Research 47, e8
- Sakata RC, Ishiguro S, Mori H, Tanaka M, Tatsuno K, Ueda H, Yamamoto S, Seki M, Masuyama N, Nishida K, Nishimasu H, Arakawa K, Kondo A, Nureki O, Tomita M, Aburatani H & Yachie N. Base editors for simultaneous introduction of C-to-T and A-to-G mutations. (2020) Nature Biotechnology 38, 865-869

## お問合せ先

東京大学先端科学技術研究センター

**E-mail:** [yachie@synbiol.rcast.u-tokyo.ac.jp](mailto:yachie@synbiol.rcast.u-tokyo.ac.jp)

**URL:** <https://yachie-lab.org/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.



# ゲノム編集モジュール導入技術

## ～ 細胞壁を持つ植物細胞内へタンパク質を送達 ～

(国研) 産業技術総合研究所

### 技術の説明

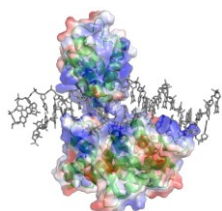
ゲノム編集モジュールとして使用されるタンパク質分子の物理化学的な性質をアミノ酸配列上で制御し、植物細胞の処理条件の最適化を行った上で、植物等の細胞組織内に自発的に入り込むタンパク質の探索およびタンパク質導入方法の最適化を行う。

#### 技術の優位性：

- ・細胞壁を持つ植物細胞への物質導入
- ・核酸を使用しないゲノム改変

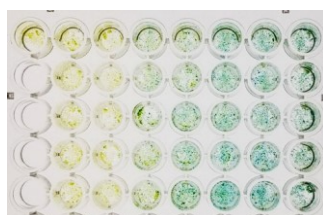
ゲノム編集モジュール

タンパク質の分子設計



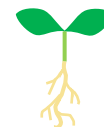
培養細胞

導入条件の網羅的な探索



植物個体

個体での検証



### 応用先

- ・植物培養細胞へのゲノム編集酵素タンパク質の導入
- ・遺伝子組換え体に該当しない、ゲノム編集個体の作出

### 参考資料

- ・ Furuhashi Y., et al., *Sci. Rep.* 9, 2163 (2019)
- ・ Furuhashi Y., et al., *Plos One*, 15, e0227477 (2019)

### お問合せ先

産総研・加藤義雄

**E-mail:** y-kato@aist.go.jp

**URL:** <https://staff.aist.go.jp/y-kato/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# ナノニードルを用いたゲノム編集モジュールの植物個体へのデリバリー

～ 機械的穿孔による分子導入 ～

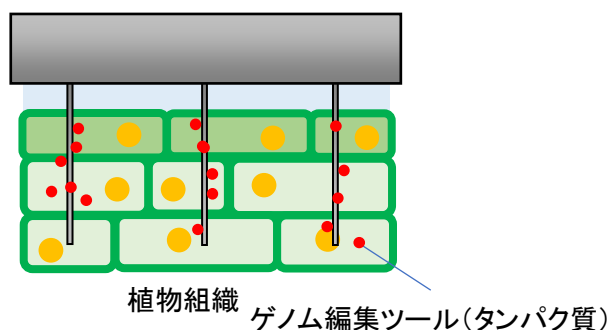
産業技術総合研究所

## 技術の説明

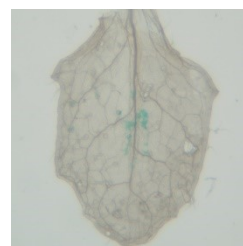
### 概要

高アスペクト比の極細針状物が配列したナノニードルアレイを用いて、茎頂分裂組織をはじめとする植物組織への物理的な挿入と直接物質導入により、ゲノム編集を行う技術を開発する。

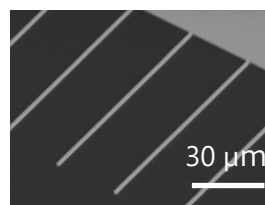
ナノニードルアレイ



ゲノム編集で青色に染まる葉組織



ナノニードルアレイ



### ナノニードルアレイによる分子導入法

無処理の植物組織に対して直接タンパク質を導入し、ゲノムを編集することに成功した。

## 応用先

- 宿主ベクター系が未開発であるあらゆる植物種に適用できる可能性がある。
- 茎頂分裂組織などの微小な組織に対する操作が可能である。

## 参考資料

- 特願2020-053154マイクロニードルアレイ及びそれを用いた植物細胞への物質導入方法 (2020年3月24日出願、未公開)

## お問合せ先

産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門 中村 史

**E-mail:** chikashi-Nakamura@aist.go.jp

**URL:** <https://www.aist.go.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

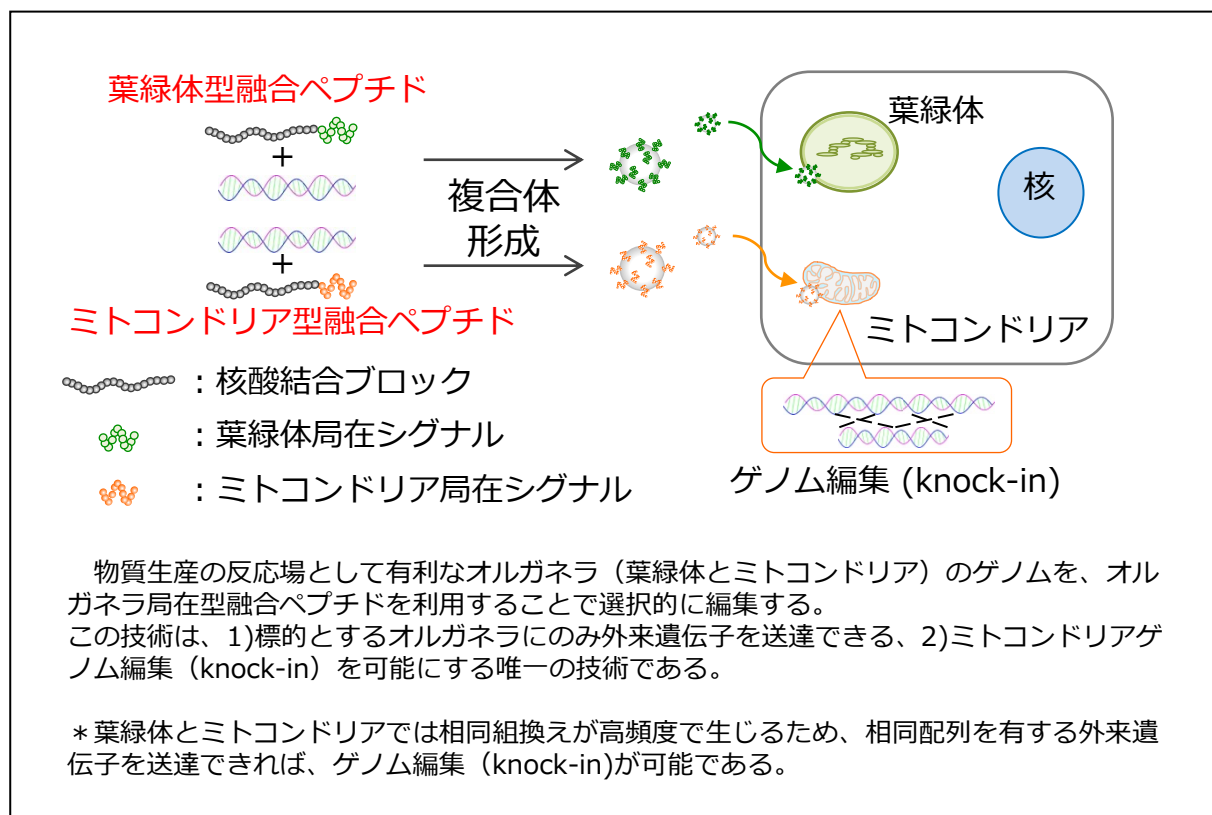
# オルガネラゲノムの編集技術の開発

～ 融合ペプチドを用いた選択的オルガネラゲノム編集技術 ～

高崎健康福祉大学

共通基盤技術

## 技術の説明



## 応用先

- 種苗会社
- バイテク企業

## 参考資料

- Yoshizumi et al., (2018) Selective Gene Delivery for Integrating Exogenous DNA into Plastid and Mitochondrial Genomes Using Peptide-DNA Complexes. *Biomacromolecules* 19: 1582-1591
- Kimura et al., (2019) A centrifugation-assisted peptide-mediated gene transfer method for high-throughput analyses. *Plant Biotechnol.* 36: 49 - 52

## お問合せ先

高崎健康福祉大学

E-mail: yoshdiumi@takasaki-u.ac.jp

URL: <https://www.takasaki-u.ac.jp>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# DNA認識モジュールの開発

## DNA結合型PPRによるゲノム編集の実用化

エディットフォース株式会社

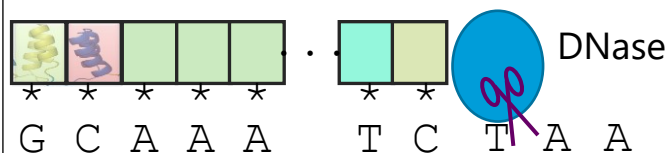
### 技術の説明

私達は、植物で見つかった核酸結合タンパク質であるPPRタンパク質を改良することで、塩基配列特異的にDNAと結合する分子のデザインが可能です。これを応用し、任意の標的遺伝子のノックアウト(ゲノム編集)が可能な分子を提供します。

#### 技術の優位性:

- 現行のZincFinger, TALE, CRISPRシステムと全く異なるDNA結合分子
- 基本特許を有した純国産技術

#### 技術概要



#### 純国産配列特異的DNA結合モジュール

- 1モチーフ (35アミノ酸)と1塩基が結合
- 認識する塩基のプログラムが可能
- DNaseと融合することで、ゲノム編集ツールとして利用することが期待される

### 応用先

- 二次代謝産物生産経路の改変
- 既存の方法では標的できない遺伝子のゲノム編集生物の作出

### 参考資料

- PPRモチーフを利用したDNA結合性蛋白質の設計方法及びその利用 (WO2014175284A1)

### お問合せ先

エディットフォース株式会社・八木祐介

E-mail: [yusu-yag@editforce.jp](mailto:yusu-yag@editforce.jp)

URL: <https://www.editforce.co.jp>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 日本発新規ゲノム編集技術の研究開発

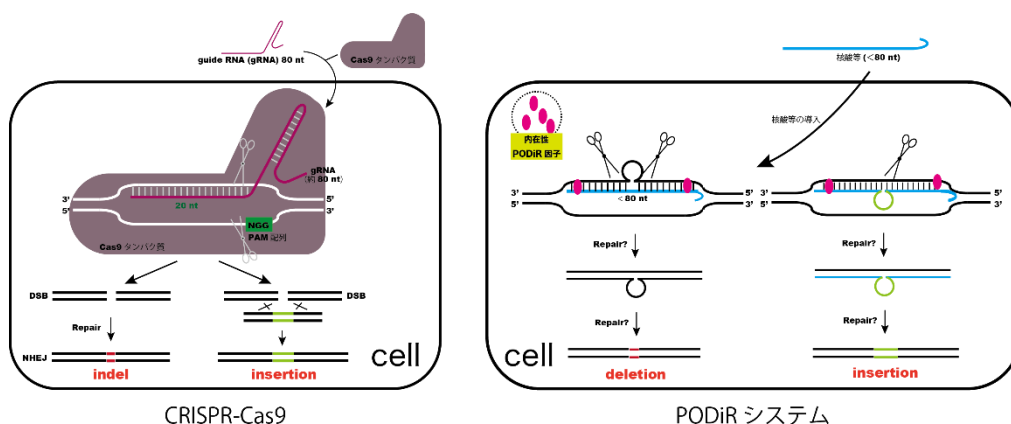
## ～ 植物でのPODiRシステムの確認 ～

産業技術総合研究所・筑波大学

### 技術の説明

#### 1. PODiRシステムとは？

細菌の抗生物質耐性獲得システムであり、細菌のみならず、動物細胞、植物細胞でもその存在が期待され、本システムを応用することで、CRISPR-Cas9とは異なったゲノム編集可能であると考えられる。



#### 2. 植物（細胞）等でのPODiRシステム

PODiRシステムの稼働を微生物・動物（細胞）・植物（細胞）等で確認すべく、アッセイ細胞等を作成し、実施している。

### 応用先

- 生物の育種全般
- 精密な遺伝子治療の実施
- バイオエネルギー産生に向けた高機能細胞の作成

### 参考資料

- 特願2015-111458 新規発現誘導システムを可能にする真核細胞用発現カセット
- 特願2015-149826 タンパク質発現方法
- 特願2018-533576 ゲノム編集方法

### お問合せ先

**E-mail:** maseda.h@aist.go.jp

**URL:** <https://www.aist.go.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 日本発新規ゲノム編集技術の研究開発

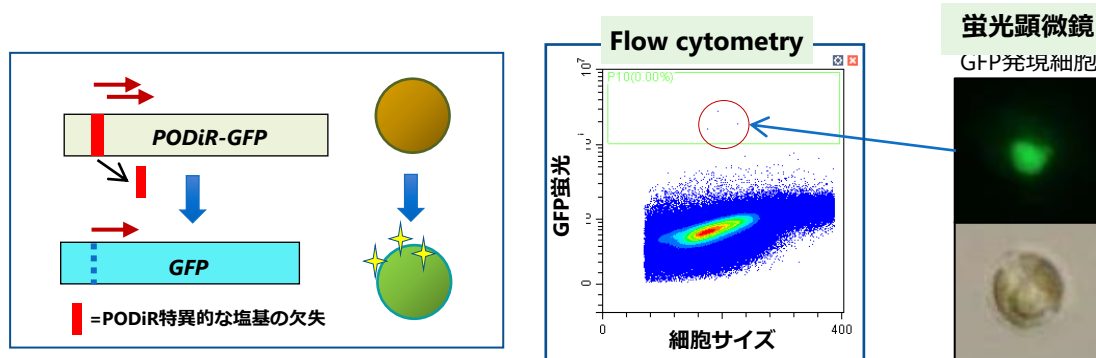
## ～ 藻類細胞でのPODiRシステムの確認 ～

筑波大学・産業技術総合研究所

### 技術の説明

#### 1. ハプト藻 *Pleurochrysis carterae* におけるPODiRシステムの駆動確認実験

→あらかじめPODiR (Partly Overlapped Direct Repeat) 配列を組み込んだGFP遺伝子を染色体内に挿入し、現在、GFP蛍光を指標として自然発生型PODiRシステムの駆動を確認中である。



#### 2. 内在性PODiR含有遺伝子の検索とその編集の試み

→PODiR検索プログラムを用いて、*P. carterae* のmRNAデータベースより、約2,500のPODiR含有遺伝子を見出した。また、下に示すように、これらの遺伝子の機能は多岐にわたっていた。

PODiR含有  
遺伝子  
の一例

**代謝** : UDP glycosyltransferase, Glyceraldehyde-3-P dehydrogenase等

**細胞周期** : Cyclin等

**光受容** : Blue light receptor, Fucoxanthin chlorophyll *a/c*-binding protein等

**細胞骨格** : Tubulin, Cytoplasmic dynein等

→現在は、産業的に有用な高脂質蓄積株を取得する目的で、Lipaseのゲノム編集を試みている。

### 応用先

- ・ バイオエネルギー産生に向けた高機能細胞の作成

### 参考資料

- ・ 一本鎖DNA導入によるゲノム編集 (特許出願中)
- ・ 新規恒常的遺伝子発現抑制システムの開発 (特許出願中)

### お問合せ先

国立大学法人筑波大学

**E-mail:** [iwanes6803@biol.tsukuba.ac.jp](mailto:iwanes6803@biol.tsukuba.ac.jp)

**URL:** <http://plmet.biol.tsukuba.ac.jp>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# ゲノム編集の国産技術プラットフォームの確立

九州大学、徳島大学、産業技術総合研究所、神戸大学、広島大学、東京大学、高崎健康福祉大学、理化学研究所、筑波大学、明治大学、近畿大学、エディットフォース株式会社

## 技術の説明

ゲノム編集に利用可能な、ゲノムから一箇所のDNA配列を認識する「A. DNA認識モジュール」、ゲノムに様々な編集効果をもたらす「B. ゲノム改変技術」、ゲノム編集モジュールの「C. 導入技術」、までの、ゲノム編集技術の適用に必要な一連の基盤技術群の研究開発、およびユーザーに使い勝手のよいパッケージ化を進めています。

### A. DNA認識モジュール、の開発

(ZF、TALE、CRISPR以外の技術を開発)

- A-1. DNA-PPR (タンパク質性; EF)
- A-2. TiD(ガイドRNA性; 徳島大)
- A-3. 新規タンパク質性 (東大)
- A-4. PODiR (ガイドRNA性; 産総研)

### B. ゲノム改変技術、の開発

(様々な改変技術を開発)

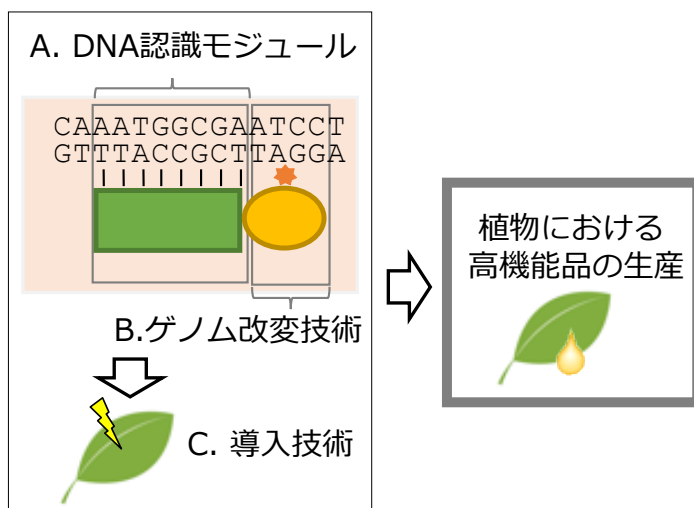
- B-1. 多様なゲノム改変 (神戸大)
- B-2. 精密なゲノム設計 (広島大)
- B-3. 新規切断ドメイン (広大)
- B-4. オルガネラゲノム編集 (高崎)
- B-5. RNA編集\* (九大)

### C. 導入技術、の開発

- C-1. DIVE (表面電化制御) (産総研)
- C-2. ナノニードル (産総研)
- C-3. ペプチド (高崎)

### 技術のパッケージ化

1. DNA-PPR+新規切断ドメイン+ナノニードル (又はペプチド)
2. TiD+ナノニードル (又はペプチド)



## 応用先

- 植物での物質生産含む、ゲノム編集が必要な生物

## 参考資料

- ゲノム編集産業化ネットワークHP  
(<http://www.mls.sci.hiroshima-u.ac.jp/msg/GEIN/index.html>)

## お問合せ先

九州大学・中村崇裕

**E-mail:** tnaka@agr.Kyushu-u.ac.jp

**URL:** <https://www.kyushu-u.ac.jp/ja/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 植物の遺伝子発現ON/OFFプラットフォーム

## ～イソプレノイド合成経路遺伝子群の発現制御～

(公財) かずさDNA研究所 / 再委託：東北大学

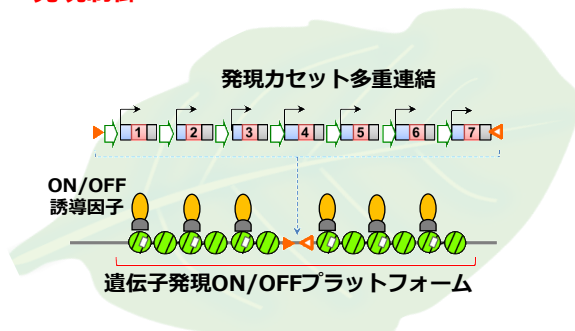
### 技術の説明

#### 植物代謝工学による有用物質生産への課題

- ・複数の遺伝子の導入には**時間と労力が必要**
- ・染色体挿入位置の異なる複数の外来遺伝子の**発現量を同程度に揃えることは困難**
- ・導入遺伝子が**後代で発現抑制**を受ける
- ・宿主植物の**目的化合物高蓄積による生育障害**

#### クロマチン操作による遺伝子発現ON/OFFスイッチングプラットフォームの開発

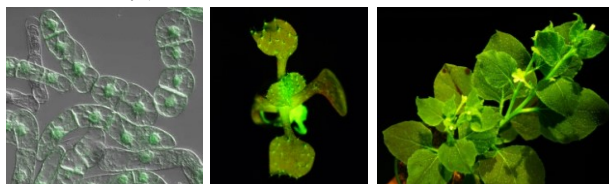
- ・特定領域に**多重連結遺伝子カセット**を導入
- ・**染色体工学的的手法**による特定領域の**厳密な発現制御**



#### 遺伝子発現ON/OFFプラットフォームの開発

##### プラットフォーム上のEYFPマーカの発現

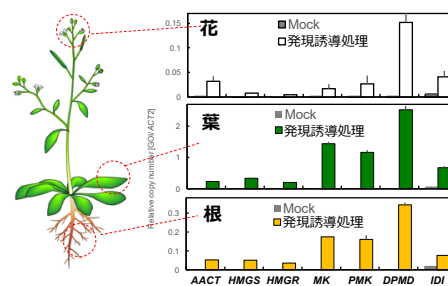
タバコBY-2細胞 シロイヌナズナ ベンサミアナタバコ



誘導因子によるプラットフォーム上遺伝子の発現制御 (BY-2/T4株)

#### イソプレノイド合成遺伝子群の制御技術

##### 外来の合成経路7遺伝子の導入と発現誘導



各組織において一斉発現制御が可能

### 応用先

- ・産業的インパクトの高い植物イソプレノイド高生産プラットフォームの構築
- ・多様な遺伝子や有用天然化合物（天然ゴム、医薬品、バイオ燃料、他）に適用可能

### 参考資料

- ・ PCT/JP2019/030783 (WO2020/031985 A1) 特願2018-152008

### お問合せ先

(公益財団法人) かずさDNA研究所, 染色体工学 / 再委託：東北大学大学院工学研究科

masumoto@kazusa.or.jp,

E-mail: takahasi@seika.che.tohoku.ac.jp

URL: <http://www.kazusa.or.jp/>, <http://www.che.tohoku.ac.jp/~seika/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.



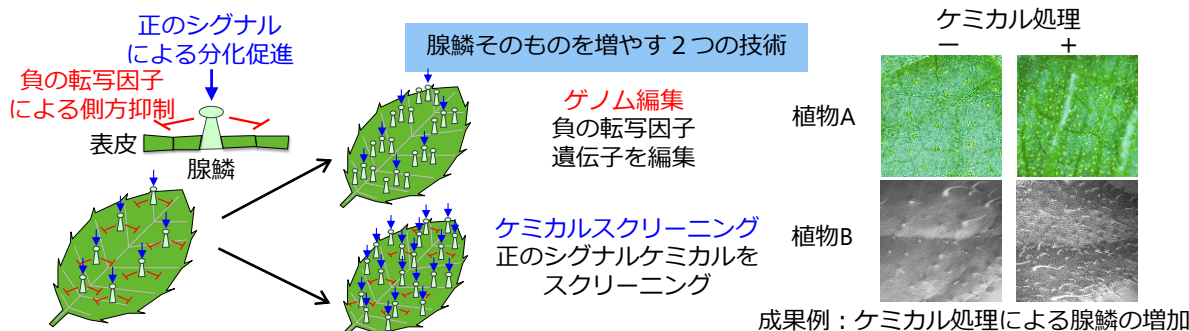
# 植物における代謝産物の蓄積機構の制御技術の開発

## ~物質集積メカニズムの制御による高次物質生産~

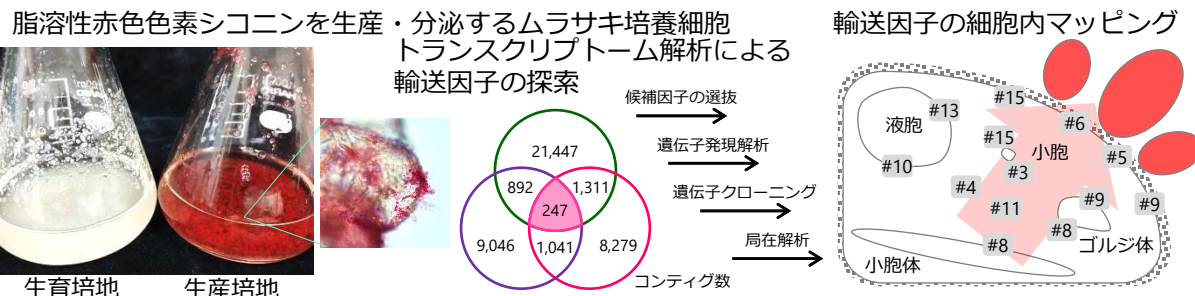
京都大学、(株)アミノアップ

### 技術の説明

1) 腺鱗の分化制御による蓄積技術開発：機能性物質の多くが葉の表皮に発達する腺鱗で生産・蓄積される。機能性物質の生産性の向上を目的とし、腺鱗そのものを増やす2つの技術を開発した。



2) 輸送マシナリーによる蓄積機構の制御技術開発：植物由来の医薬品原料であるタキソールやアルテミシニン、またリモネンなど香料成分の多くは脂溶性物質であり、これらは主に細胞外に蓄積される。脂溶性物質の生産向上に資するため、細胞外への輸送機能を増強する技術を開発している。



### 応用先

- 腺鱗に蓄積する植物有用物質（芳香成分、生理活性テルペン、プレニルフラボノイド等）の生産
- 植物細胞を用いた医薬品原料の生産
- 植物細胞を用いた有用機能性素材の生産

### 参考資料

- 特願2018-121203「植物体を用いてハイスループット試験を行うための容器」
- Tatsumi, K., et al., Plant Biotech., 37 (1): 39-46 (2020).
- Ueoka, H., et al., Plant Physiol., 182 (4): 1933-1945 (2020).
- Izuishi, Y., et al., Sci. Rep., 10 (1): Article 13555 (2020).

### お問合せ先

矢崎一史 (京都大学)

E-mail: yazaki@rish.kyoto-u.ac.jp

URL: <http://www.kyoto-u.ac.jp/ja>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発

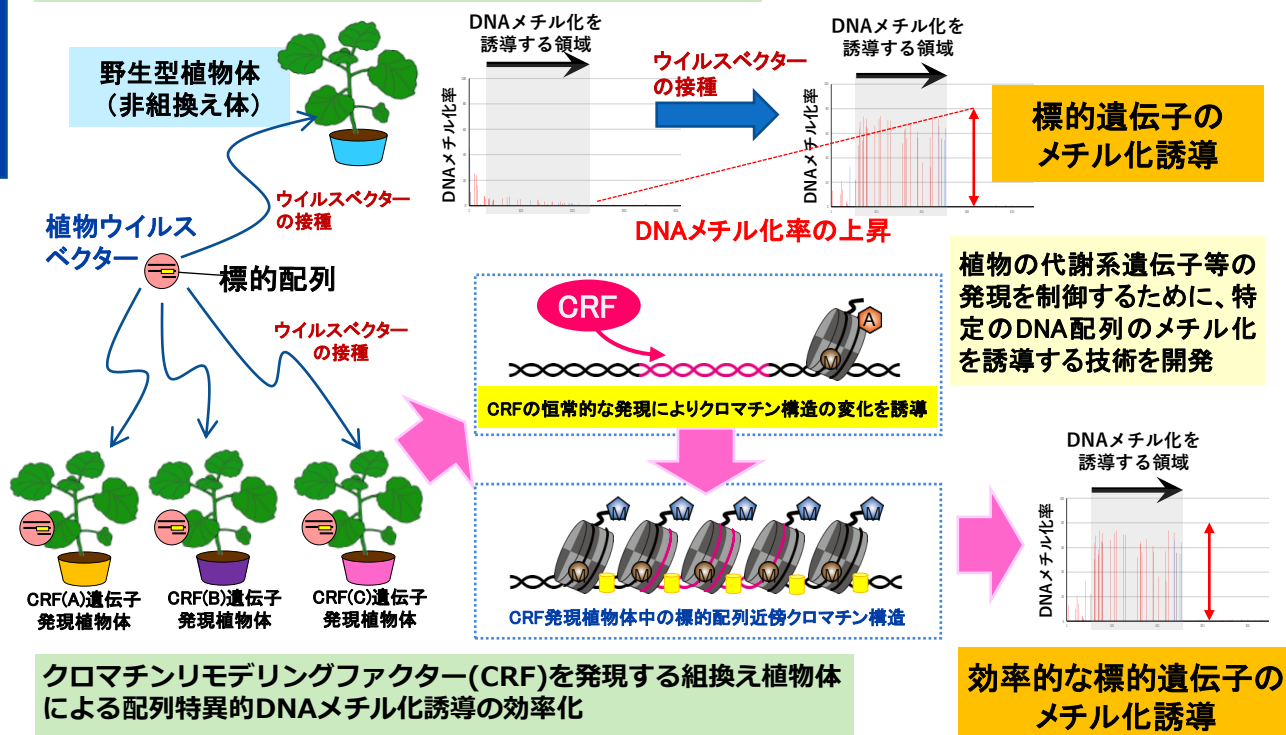
～CMVベクターとクロマチンリモデリングによる植物内在性遺伝子のメチル化制御技術開発～

(国研) 産業技術総合研究所

## 技術の説明

高生産目的とする代謝産物の関連遺伝子（内在性遺伝子）において、DNAのメチル化を誘導し、その遺伝子の発現量を制御する技術の開発を実施しています。実施者が特許保有するキュウリモザイクウイルス（CMV）ベクター等の植物ウイルスベクターを利用してウイルス誘導性転写型遺伝子サイレンシング（VITGS）を誘導することで、効果的に目的DNA配列特異的にDNAメチル化を誘導することが可能です。また、植物体にクロマチンリモデリングファクター（CRF）を発現させクロマチン構造を変化させることで、より効率的にDNAメチル化を誘導する研究も実施しています。

### 植物ウイルスベクターによる配列特異的DNAメチル化誘導



クロマチンリモデリングファクター(CRF)を発現する組換え植物体による配列特異的DNAメチル化誘導の効率化

## 応用先

- ・ 化成品、工業原料生産（植物中の代謝系操作による有用化合物高生産化）
- ・ 医薬品原材料、工業原料生産（植物における有用タンパク質の高生産化）
- ・ 各種植物関連研究

## 参考資料

- ・ 技術紹介 <https://unit.aist.go.jp/bpri/bpri-pmt/result.html>

## お問合せ先

国立研究開発法人 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門 植物分子工学研究グループ  
**E-mail:** matsumura-t@aist.go.jp **URL:** <https://unit.aist.go.jp/bpri/bpri-pmt/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

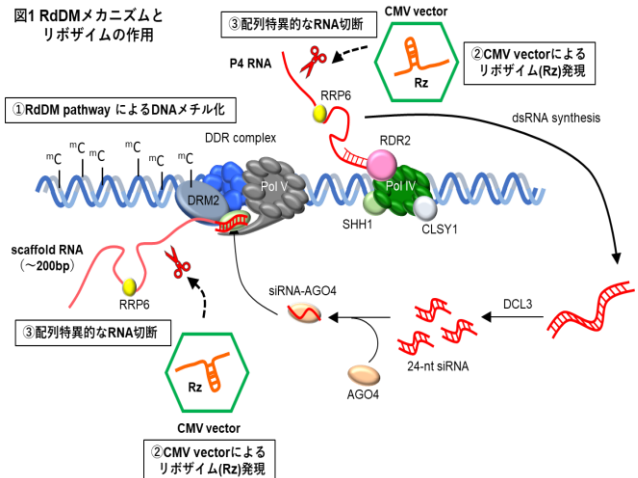
# 目的遺伝子の特異的メチル化解除による発現制御 ウイルスベクターによるエピジェネティクス制御技術

北海道大学

## 技術の説明

### 技術開発内容

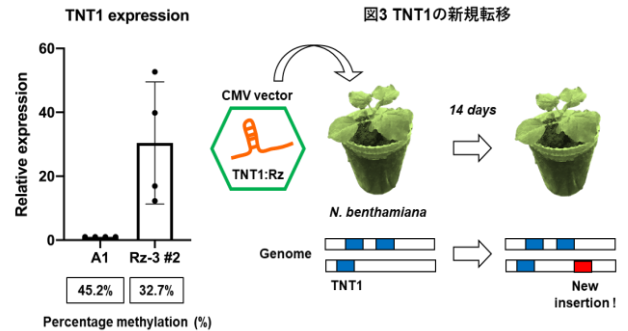
- 本研究は配列特異的に遺伝子の脱メチル化を誘導する技術である
- 遺伝子発現はRNA-directed DNA methylation (RdDM)によって制御(図1-①)
- キュウリモザイクウイルスベクターによって配列特異的にRNAを切断するリボザイム(Rz)を発現させ(図1-②)、RdDMに必要なscaffold RNA、P4-RNAを切断しメチル化を抑制する(図1-③)



### 成果

- 内在性遺伝子の一例として転移因子(TNT1)を標的にリボザイムを設計した。空ベクター(A1)接種個体と比較してDNAメチル化レベルが30%低下し、TNT1の発現レベルは顕著に上昇した(図2)。このメチル化レベルは後代に遺伝した。
- ウイルスベクター接種後2週間でベンタミアーナゲノム内にTNT1の新規転移を確認できた(図3)

図2 TNT1発現レベルとメチル化率



## 応用先

ウイルスベクターを接種することで、目的遺伝子のメチル化を特異的に低下させ、その遺伝子を高発現させる。そのメチル化レベルは遺伝するので、**遺伝子組換え植物を使用せずに、有用タンパク質や機能性代謝産物の蓄積レベルを上昇させることができる。**

## 参考資料

- 特許：植物における標的DNAのメチル化を抑制する方法(特願2018-139316及び特願2019-237374)
- Matsunaga et al., BMC Plant Biology volume 19, 24 (2019)

## お問合せ先

北海道大学

E-mail: masuta@res.agr.hokudai.ac.jp

URL: www.agr.hokudai.ac.jp

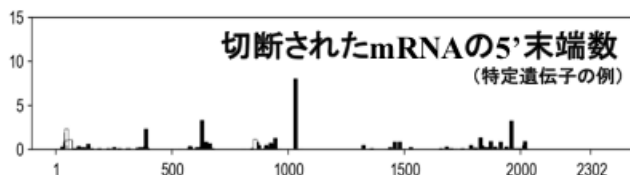
R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 代謝系関連遺伝子の安定化技術開発

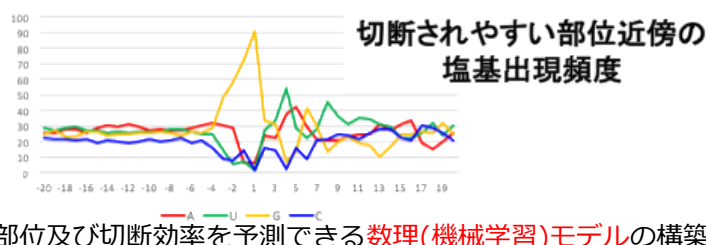
奈良先端科学技術大学院大学

## 技術の説明

\*細胞内のmRNAは内部で切断される（外来遺伝子が十分に発現しない要因の一つ）



\*植物mRNAの切断部位及び切断効率を網羅的に解析（配列パターン依存的な切断）



\*配列情報からmRNAの切断部位及び切断効率を予測できる数理(機械学習)モデルの構築



発現したい遺伝子の  
配列情報



AI



人工配列の設計

切断に関わる配列パターンの排除  
内部からの転写開始の排除  
内部での転写終結の排除  
意図しないスプライシングの排除  
翻訳効率への悪影響の排除

\*アミノ酸配列を変更することなくmRNAの配列を改変することで目的遺伝子を高発現化

## 応用先

- 植物へ導入した外来遺伝子の効率的発現
  - 分子育種による植物機能の改良
  - 植物（細胞）を用いた医療用を含む有用タンパク質生産

## 参考資料

- Ueno, D. et al., *J. Biosci. Bioeng.*, **125** (6), 723-728 (2018)
- Yamasaki, S. et al., *Plant Biotechnology*, **35** (4), 365-373 (2018)
- Ueno, D. et al., *Plant Cell Physiol.* **61** (1), 53-63 (2020)

## お問合せ先

奈良先端科学技術大学院大学

E-mail: kou@bs.naist.jp

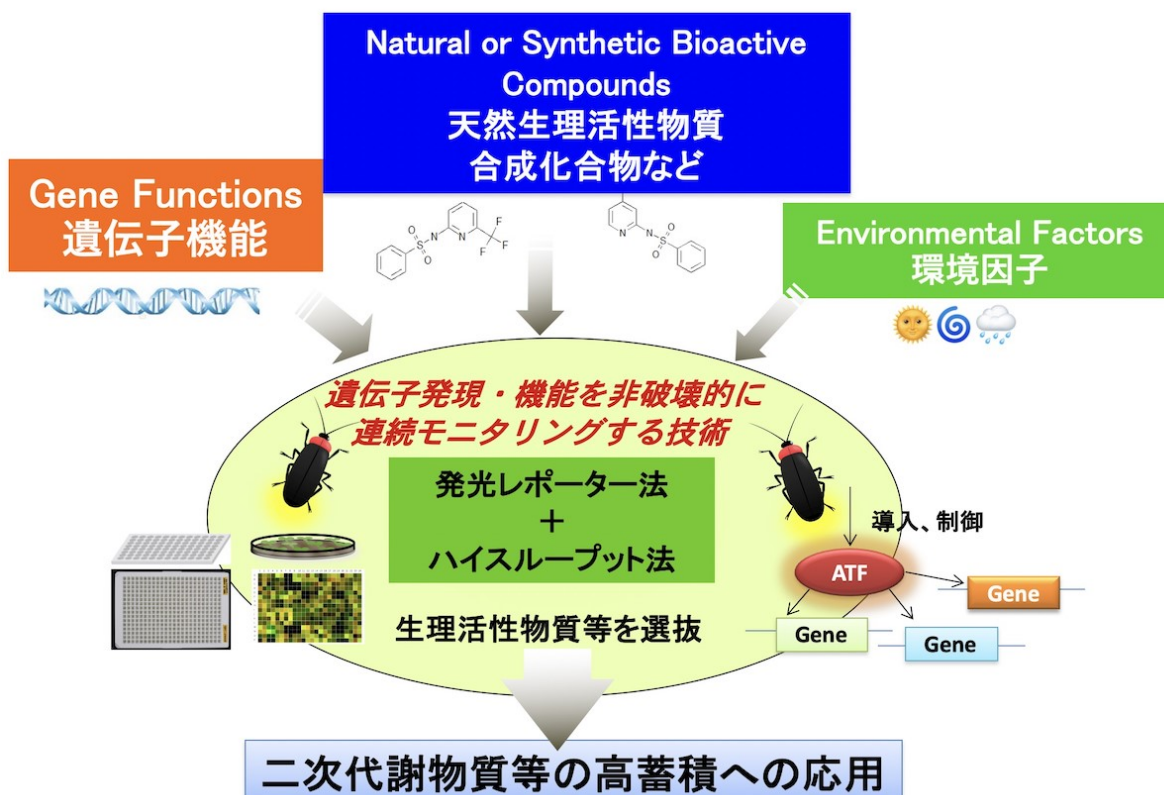
URL: <https://www.naist.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 転写・発現調節因子等による遺伝子発現制御技術 ～発光レポーターによるモニタリング技術の応用～

国立大学法人 横浜国立大学

## 技術の説明



## 応用先

- 本研究で見出された生理活性物質を用いた薬草等の有用成分含量向上
- 本研究で見出された生理活性物質を用いた一過性発現等による物質生産の高効率化
- 本研究で見出された転写活性化因子等を用いた高効率遺伝子発現
- 植物の有用成分含量を向上に有効な低分子化合物等の探索

## 参考資料

- 特許第 6652763 号「害虫防除剤、害虫の防除方法、形質転換効率促進剤、及び 形質転換効率促進方法」
- 特許第 6579539号「光識別方法、物質の検出方法、レポーターアッセイ方法、キット、ルシフェリンールシフェラーゼ反応阻害剤、その他別紙記載」

## お問合せ先

国立大学法人 横浜国立大学大学院環境情報研究院 平塚和之

E-mail: hiratsuka-kazuyuki-pz@ynu.ac.jp

URL: <https://www.ynu.ac.jp>

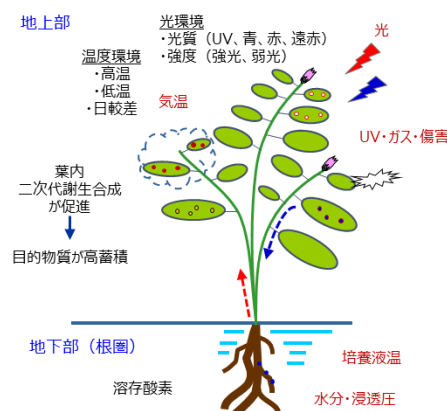
R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 環境ストレスを活用した植物の二次代謝系制御

国立大学法人千葉大学

## 技術の説明

植物は環境変化に適応するための様々な能力を備えています。それを活用して、複合的な環境（特に物理環境および化学環境）ストレスを与えて二次代謝系の生合成の挙動を解明し、目的とする有用成分の高発現を器官特異的に誘導する手法を確立し、植物工場で高効率物質生産を実証します。本研究では、温度（気温、培養液温）、紫外線、光質、オゾンガス、水分などを制御要因に選び、下記の手順で有用成分の高発現、高蓄積する条件を探索します。



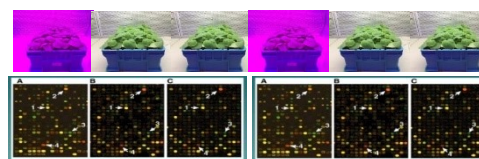
複数の環境ストレス要因（光、ガス、温度、水分）を、株全体または器官局所的に付与

遺伝子発現解析により、主要な生合成経路の発現変動を解析

ストレス種によって増加、もしくは抑制される代謝経路の遺伝子を選び、定量解析を行い、インデックス化に取り組む。

同時に、二次代謝系の主要な二次代謝成分の定量分析

目的とする有用成分の高発現を器官特異的に誘導する手法を確立し、植物工場で高効率物質生産を実証する。



+UV 10 W m<sup>-2</sup> Cont. +O<sub>3</sub> 500 ppb +UV +O<sub>3</sub> 液温 15°C 液温 10°C

処理比較して変動を解析

### 対象植物

1. 遺伝子発現解析のできる実用的モデル植物
  - ベンサムアーナ (*Nicotiana benthamiana*)
    - …主に葉を対象。形質転換と組み合わせが可能
  - セイヨウアブラナ (*Brassica napus*)
    - …莖葉、花、種子で二次代謝系が活発
2. 実用植物
  - スイカズラ (*Lonicera japonica* Thunb.)
    - …葉茎と花蕾が生薬になる薬用植物



## 応用先

- 医薬品、健康食品、サプリメントなどに利用する植物由来の原料生産

## お問合せ先

千葉大学大学院園芸学研究所・後藤英司

E-mail: goto@faculty.chiba-u.jp

URL: <https://www.chiba-u.ac.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 人工環境・栽培技術における代謝系遺伝子変動解析を利用した化合物高効率生産技術開発

## ～植物の栽培環境制御による高効率有用物質生産～

(公財) 北海道科学技術総合振興センター

### 技術の説明

●通常、植物体内で少量・低濃度でしか生産されない有用物質を、栽培環境ストレスを与えることで高効率に生産させる技術

実用化されている作物種においては、栽培環境の変化により様々な代謝産物が増減することが知られている。本技術開発では、人工的に栽培環境ストレスを付与した場合、主要な代謝経路上の遺伝子発現がどのように変動するかを解析し、これらの関係を『インデックス』化した。この『インデックス』を利用して、目的物質の生合成経路を活性化させる要因や、他の物質へ代謝される経路を抑制させる要因を抽出することができ、目的とする二次代謝産物の高効率生産が可能になると期待される。

解析対象遺伝子	薬剤 A	薬剤 B	光処理 A	光処理 B	...
遺伝子 A	→	↗↗↗	↗↗↗	→	...
遺伝子 B	↗	↗↗↗	→	↘↘↘	...
遺伝子 C	→	↘↘↘	↗↗↗	→	...
遺伝子 D	→	→	↘↘↘	↗↗↗	...
遺伝子 E	→	→	↗↗↗	→	...
遺伝子 F	→	→	↘↘↘	↘↘↘	...
遺伝子 G	↘	↗↗↗	→	→	...
遺伝子 H	↗↗↗	↘	↗↗↗	↘	...
...	...	...	...	...	...

↗: 発現増加    ↘: 発現減少    →: 変動なし

Fig. 2 『インデックス』のイメージ

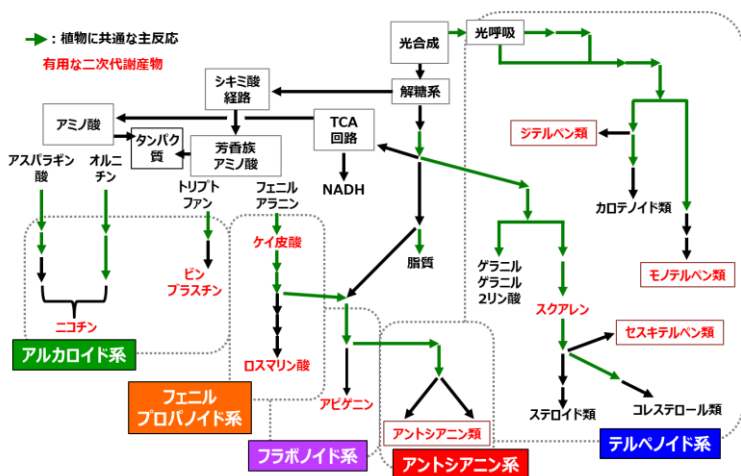


Fig. 1 植物の二次代謝産物の主要な合成経路

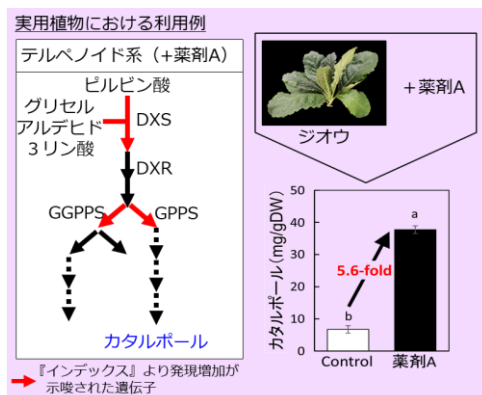


Fig. 3 『インデックス』の利用例

共通基盤技術

### 応用先

- ・医薬品、健康食品、サプリメントなどに利用する植物由来の原料生産

### Reference Material

- ・ Effects of chemical treatments on expression of genes involved in secondary metabolite of *Nicotiana benthamiana* (IPMB, 2018)

### お問合せ先

公益財団法人 北海道科学技術総合振興センター    グリーンケミカル研究所

E-mail: gcc@noastec.jp

URL: <http://www.noastec.jp/>

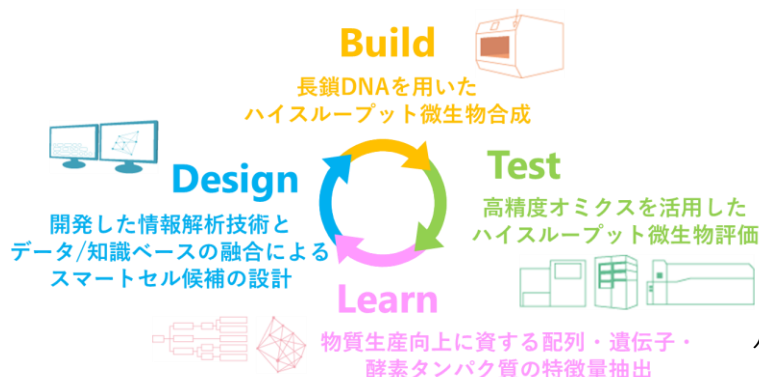
R&D achievements of NEDO smart cell project.

# DBTL全体像

## 情報技術を核とした超高速スマートセル創出プラットフォームの開発

### 技術の説明

本プロジェクトでは、従来の微生物では生産できなかった新規化合物の生産、微生物の生産性増強等、従来からの課題について、情報科学および合成生物学的アプローチを組み合わせ、物質生産性を高度に高めた細胞（スマートセル）を創出する『スマートセル創出プラットフォーム』を構築し、課題解決のスピードアップを目指しています。



バイオフィナンドリ・パイロット設備  
(神戸大学統合研究拠点)

このプラットフォームの基本概念として、DBTL (Design-Build-Test-Learn) サイクルを採用しています。「Design」領域では、代謝経路設計、酵素選択や改変、遺伝子発現制御を目的とした情報解析システムを組み込んだスマートセル設計システムの開発を行っています。「Build」領域では、設計したスマートセルを具現化するために、長鎖DNA合成、ハイスループットな半自動組換え微生物構築などの技術開発を行っています。構築された微生物について、生産性解析や各種オミクス解析を行うのが「Test」領域です。得られたデータを「Learn」領域の技術である特微量抽出に供し、その情報をあらためて「Design」に活かします。このDBTLサイクルを回すことで、微生物育種を効率化し、スマートセルの創出を行っています。

なお本プラットフォームでは、酵母や大腸菌等のコンベンショナルな宿主微生物だけでなく、産業用微生物にも適用範囲を拡大しています。これらの各要素技術については、個々に開発を行う面もありますが、DBTLサイクルの一貫したスマートセル創出プラットフォームを構築するために、実際に企業等がターゲットとする特定の物質について適用する検証課題を実施しています。検証結果と各種データをフィードバックすることで、本プラットフォームの高度化に貢献すると共に、有効性を実証しながら実用化技術の開発を行っています。

スマートセルを使って高機能品を生産する次世代産業は「スマートセルインダストリー」といわれ、今後、工業、農業、医療・ヘルスケア等、様々な分野への展開が期待されています。

### 参考資料

- スマートセルインダストリー -微生物細胞を用いた物質生産の展望-, シーエムシー出版 (2018)
- Nature Focal Point
- バイオインダストリー協会Webサイト

### お問合せ先

国立大学法人神戸大学

**E-mail:** hasunuma@port.kobe-u.ac.jp

**URL:** <http://www.egbrc.kobe-u.ac.jp>

R&D achievements of NEDO smart cell project.



# ドライ全体像

## ~スマートセル構築のための情報技術~

(国研) 産業技術総合研究所、(国研) 理化学研究所、京都大学

### 技術の説明

微生物による物質生産性の向上にはいくつかの課題があります。このプロジェクトでは、従来の育種方法では困難であった各種課題を情報解析によって解決するための一気通貫型の統合システムを構築しています。

微生物物質生産現場での課題として下記4つが考えられます。

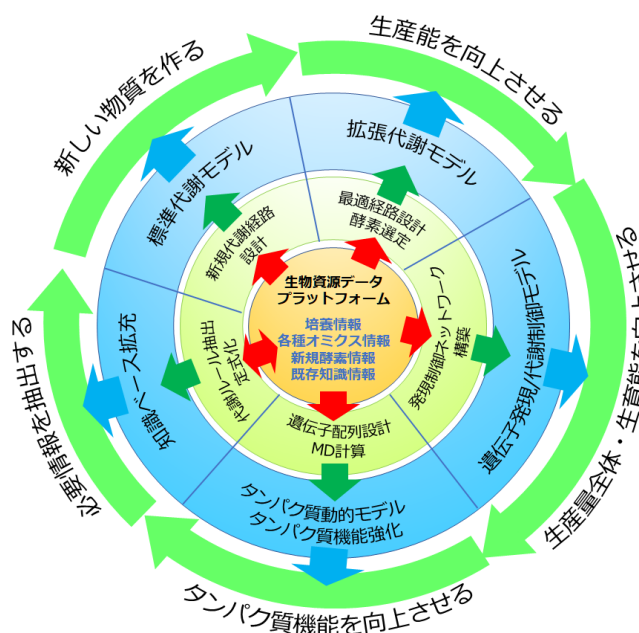
- ① 新しい物質をつくる。
- ② 微生物単体の生産能を向上させる。
- ③ 生産総量・微生物生育能を向上させる。
- ④ 重要な酵素などの機能性を向上させる。

さらに、上記4課題を情報解析技術によって解決するためには

- ⑤ 精度の高い既知情報から有用な情報を抽出する。
- ⑥ 情報を情報解析が利用できるように整備する。

という2つの基盤整備も重要です。そこで、このプロジェクトでは1~4の解析技術自体の開発と汎用化へむけた実証、さらに5、6のための基盤整備を行いました。これらすべてを統合的に扱うことで、スマートセル構築のための情報解析技術全て利用できるようになります。

上の図では⑥の生物資源データプラットフォームを中心とし、そこで蓄積されているデータを利用し、①~⑤の適用技術が緑色で示されています。各技術で創出される「モデル」が青色で示されており、最終的にどのような課題解決になるかを最外円に示しています。各技術の詳細については、次頁のpp.34~pp.41に記載されています。



### 応用先

- 微生物宿主による物質生産性向上

### 参考資料

- Araki, M., et al., *Bioinformatics*, 31(6), 905-911, 2015
- Shirai, T., et al., *Microbial Cell Factories*, 15(13), 1-6, 2016
- Aburatani, S., *Gene regulation and systems biology*, 5, 75-88, 2011
- Kameda, T., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 103 (47), 17765-17770, 2006

### お問合せ先

(国研) 産業技術総合研究所

E-mail: s.aburatani@aist.go.jp

URL: <https://www.aist.go.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 代謝設計・最適化技術の開発

## 目的化合物の高生産微生物のデザインに向けて

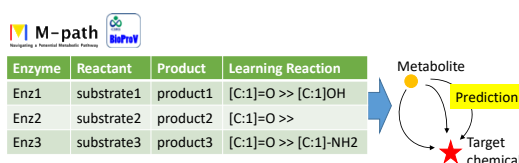
(国研) 理化学研究所、京都大学、(国研) 産業技術総合研究所

### 技術の説明

目的の化合物を微生物に高生産させるために、合理的で理論的な代謝をデザインする必要があります。我々は以下のような代謝設計ツールを開発しました。

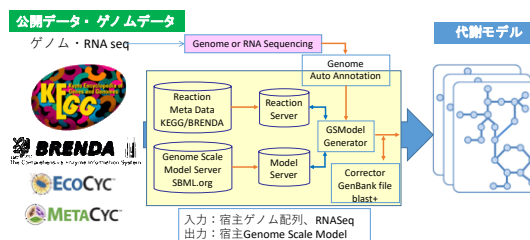
#### 1) 人工代謝反応予測ツール：M-Path, BioProV

目的の化合物が生物反応によって合成できない(経路が知られていない)場合、そのバイオ合成反応をデザインすることができます。酵素反応データベースをもとにして、各酵素反応パターンをコンピュータに学習させ、それを使って人工的な代謝反応を予測・設計します。



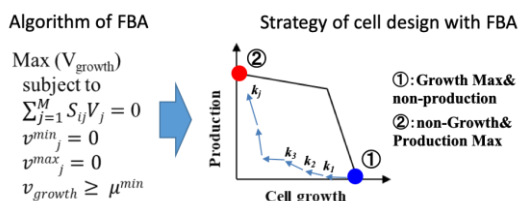
#### 2) ゲノムスケールモデルジェネレーター

目的物質を高生産させたい微生物(宿主細胞)のゲノム情報をもとにして、細胞内の全代謝反応(ゲノムスケールモデル: GSM)を構築することができます。次世代シーケンサーによるゲノム情報の取得とKEGGなどの代謝反応データベースをもとにして半自動的に代謝反応モデルを構築します。



#### 3) 遺伝子・酵素反応改変箇所の提案ツール

目的の化合物を微生物に高生産させるための遺伝子・酵素反応箇所の提案を、GSMをもとにした細胞内の代謝反応予測技術(フラックスバランス解析: FBA)が可能にします。線形計画法を用いた独自の代謝設計アルゴリズムにより、目的化合物の高生産を実現する代謝設計を高速に実現します。



### 応用先

- 化石原料由来の有用化合物をバイオ合成によって実現・未知の代謝反応の探索
- エネルギー収支や酸化還元バランスを考慮した目的化合物の精確な理論収率の把握
- 目的化合物の生産性向上を目指した遺伝子・酵素反応改変箇所の探索

### 参考資料

- Araki, M. et al., Bioinformatics, 31(6), 905-911 (2015)
- Shirai, T. et al., Microb. Cell Fact., 15(13), 1-6 (2016)

### お問合せ先

(国研) 理化学研究所 白井智量  
E-mail: tomokazu.shirai@riken.jp

URL: <https://www.riken.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 酵素選定

## 代謝デザインの実現に向けて

京都大学、（国研）医薬健康栄研、（国研）理研、（国研）産総研

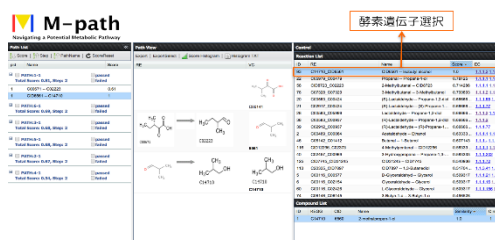
共通基盤技術

### 技術の説明

代謝デザインを実現していくためには、代謝パスウェイ中の酵素遺伝子選択が重要となります。我々は以下のような酵素選択手法を開発しています。

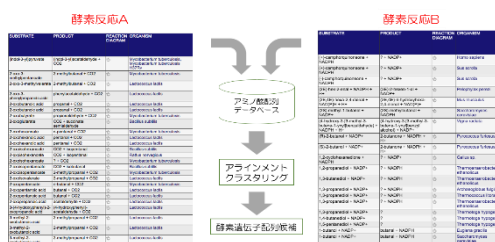
#### 1) 代謝デザインツール：M-Path

代謝設計ツール：M-pathでは、設計された各代謝経路中の酵素候補遺伝子を提示するシステムとなっています。酵素反応データベースをもとに、代謝経路中の酵素遺伝子候補を提示することで、代謝経路を実装していく上での指針を与えます。



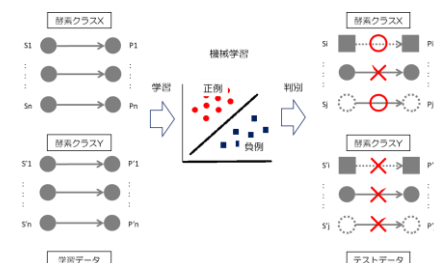
#### 2) バイオインフォマティクスツール

同様のEC番号を有する酵素配列はその由来宿主・アイソザイムの存在に依存して、複数の酵素遺伝子配列が候補となるため、具体的に酵素配列を選択していくことを目的に、バイオインフォマティクス・クラスタリングを利用した酵素遺伝子選択方法を開発しています。



#### 3) 機械学習ツール

既知の酵素反応データをもとに機械学習を行い、新しい酵素反応を見出していくことは、非常に有用な方法であり、我々は基質・生成物と酵素アミノ酸配列の組合せを考慮した機械学習法を開発しています。



### 応用先

- ・ バイオ合成・代謝デザインのための未知の酵素反応・遺伝子の探索
- ・ 目的化合物の生産性向上を目指した酵素反応・遺伝子の探索
- ・ 理論収率計算のための代謝モデルの精緻化・高度化

### 参考資料

- ・ Araki, M. et al., *Bioinformatics*, 31(6), 905-911 (2015)
- ・ Watanabe, N. et al., *Journal of Chemical Information and Modeling*, 60(3), 1833-1843 (2020)

### お問合せ先

京都大学・（国研）医薬基盤健康栄養研究所

araki.michihiro.3s@kyoto-u.ac.jp

**E-mail:** araki@nibiohn.go.jp

<https://www.kyoto-u.ac.jp>

**URL:** <https://www.nibiohn.go.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 発現制御ネットワーク構築

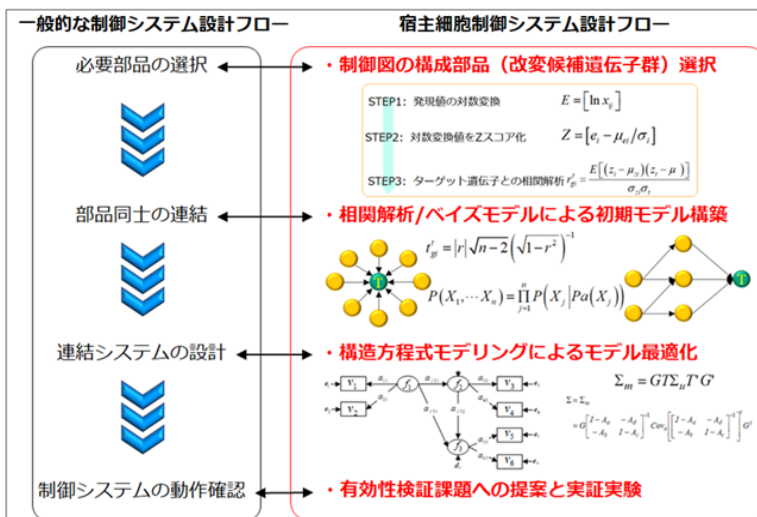
## ～微生物による物質生産性向上にむけて～

(国研) 産業技術総合研究所、(国研) 理化学研究所、京都大学

### 技術の説明

微生物生産の現場において、生産性の向上は重要な課題です。従来は実験的な手法による微生物育種が主流でしたが、我々は微生物育種を効率化させるために情報解析技術による改変候補遺伝子を探索する技術を開発しました。

微生物による効率的物質生産を実現するためには、物質生産時に微生物細胞内で起こっている現象メカニズムを理解し、それを一つの稼働システムとして制御することが必要です。そこでこの生体細胞内における複雑な「システム」を理解し活用するために、遺伝子の発現制御ネットワークモデルを構築しています。発現制御ネットワークモデルでは、物質生産時に宿主微生物内で起こっている現象を、システム制御図のように表現します。このシステム制御図では、遺伝子群と向上させたい機能(ターゲット物質の生産量や細胞数など)の因果関係がグラフとして可視化されます。これにより、物質生産時に生体細胞内で起こっているプロセス工程におけるボトルネック探索や効率化に必要な改変操作ポイント探索が可能になります。



発現制御ネットワーク構築技術は、従来法では難しかったレベルまで物質生産能を高めたい時に有用な技術です。網羅的な遺伝子発現プロファイル情報を利用することで、従来の微生物育種法では探索が難しかった物質生産に寄与する改変候補遺伝子を、全遺伝子の中から探索することが可能になります。

### 応用先

- ・ 発酵生産における生産性向上のための改変遺伝子探索
- ・ 物質生産時の生産量バランスを制御するための改変遺伝子探索
- ・ 宿主微生物の生育能向上のための改変遺伝子探索

### 参考資料

- ・ Aburatani, S. et al., *Journal of Physics: Conf. Ser.*, 1391(1), 012043 (2019)
- ・ Aburatani, S. and Toh, H., *Encyclopedia of Information Science and Technology*, 3rd Edition, Chapter 44, 458-467, IGI Global, (2015)

### お問合せ先

(国研) 産業技術総合研究所

E-mail: s.aburatani@aist.go.jp

URL: <https://www.aist.go.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 遺伝子配列設計

## タンパク質発現量と活性を向上させる技術

(国研) 産業技術総合研究所、東北大学、神戸大学、鹿児島大学、信州大学、岡山大学

### 技術の説明

#### 1) 蛋白質発現量向上

微生物を用いた物質生産において、対象の微生物に異種由来の遺伝子を導入することで、その微生物が本来持たないタンパク質を人工的に生産させるケースがありますが、その際、目的タンパク質の生産量を向上するために、導入遺伝子のDNA配列を適切に設計する工程（コドン最適化）が重要です。従来コドン最適化の研究は大腸菌などの実験が行いやすい研究用の微生物を対象としており、バイオ産業の物質生産の現場で用いられる放線菌などの産業用微生物については確立されたコドン最適化手法が存在しませんでした。我々は産総研が所有する大規模なタンパク質生産実験データから情報解析によるルール抽出を行うことで新しいコドン最適化手法を開発し、その有効性を*Rhodococcus*属放線菌において実証し75%の確立で発現量が向上しました<sup>1)</sup>。本手法は、放線菌以外の様々な宿主における物質生産にも応用可能であり、実際に効果を確認しています。また、設計された遺伝子配列は元の配列に対して先頭部分のみにしか変異を含まないため、安価な実験コストで合成することが可能です（図1）。

#### 2) 酵素高活性化・耐熱化

我々は細胞内で実際に物質生産を担う主体である酵素に着目し、その機能を向上させる酵素改変部位を予測する手法を開発しました。酵素は物質生産の原料となる基質と適切に結合し、酵素-基質複合体を形成することで目的の反応生成物（主産物）を生成します。しかし酵素と基質の形状によっては反応効率が著しく減少したり、目的でない反応物（副産物）の生成により主産物の純度が低下したりする場合があります。そこで我々は分子動力学シミュレーション（ALSD法）<sup>2)</sup>に基づき酵素の構造を主産物生成に適した形に改良し、高活性化させることに成功しました（図2）。また、分子シミュレーションにより酵素変異体の耐熱性を推定する技術を開発しました。それに基づき酵素を耐熱化することに成功しました。

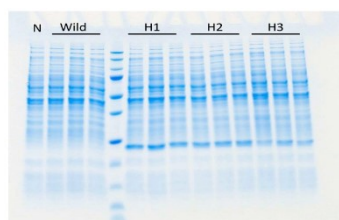


図1  
配列設計による  
蛋白質発現量向上  
(H1-3)

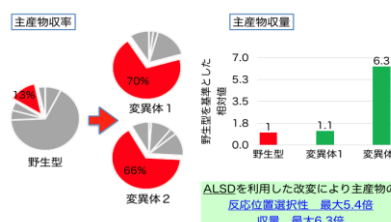


図2  
分子動力学シ  
ミュレーション  
による酵素高活  
性化

### 応用先

- 微生物宿主による物質生産性向上

### 参考資料

- Saito Y. et al., Sci Rep. 2019; 9: 8338
- Ikebe J. et al., J. Comput. Chem. 2014; 35:39-50

### お問合せ先

(国研) 産業技術総合研究所

E-mail: kameda-tomoshi@aist.go.jp

URL: <https://www.aist.go.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# スマートセル設計支援知識ベース

## 微生物設計に必要な各種情報を整理・体系化

京都大学、(株)日立製作所、九州大学

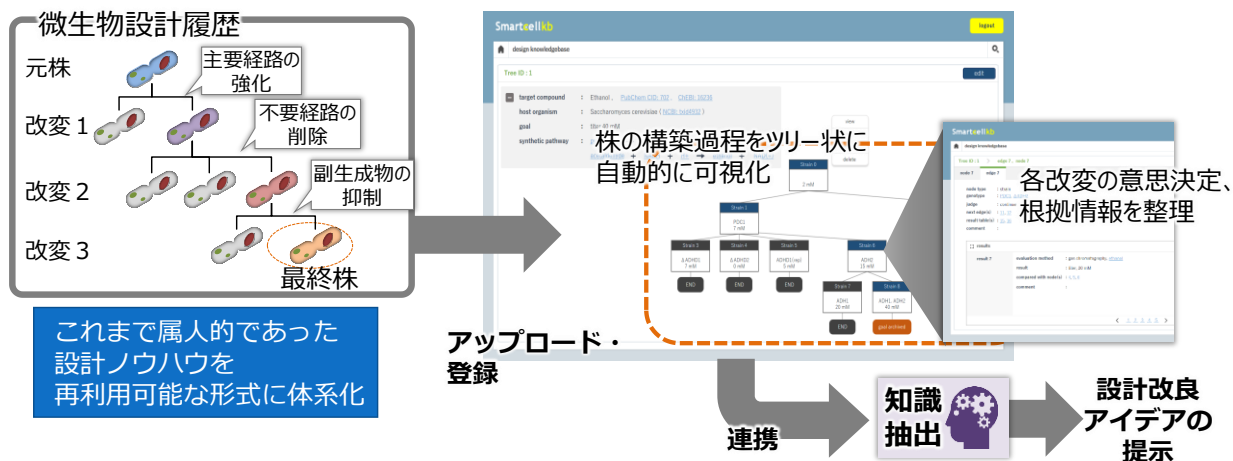
### 技術の説明

代謝系設計・遺伝子改変など、スマートセル開発における各工程での意思決定内容と、その根拠となる文献情報・実験結果を整理・体系化する情報システムを開発しています。

スマートセル開発のDBTLサイクルにおいて、各種データの解釈やそれをもとにした設計改良の多くは、個人の知識背景や、人手による文献・データベースの調査に依存しています。

本システムは、こうした属人的な微生物の設計知識を整理し、再利用可能な形式に体系化します。微生物株の設計履歴と、それに紐づく各株の遺伝子改変内容を、目的・手段・根拠情報といった観点で整理し蓄積します。更に、こうした蓄積情報を改変履歴に沿ってツリー状に「見える化」することで、これまでの設計データの俯瞰や新しい仮説の着想を支援します。

また、蓄積・体系化された設計履歴を起点に、連携する知識抽出技術呼び出し、設計改良につながる有用情報を提示します。



### 応用先

- 微生物株の開発履歴に紐づいた各種情報の整理・体系化と再利用

### 参考資料

- 荒木通啓, 伊藤潔人, 花井泰三, バイオサイエンスとインダストリー(B&I), Vol.78(2), 168-169 (2020)

### お問合せ先

京都大学・(国研) 医薬基盤健康栄養研究所

araki.michihiro.3s@kyoto-u.ac.jp

E-mail: araki@nibiohn.go.jp

<https://www.kyoto-u.ac.jp>

URL: <https://www.nibiohn.go.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 文献等からの微生物設計知識抽出

## AI技術による有望遺伝子改変の提案

京都大学、(株)日立製作所

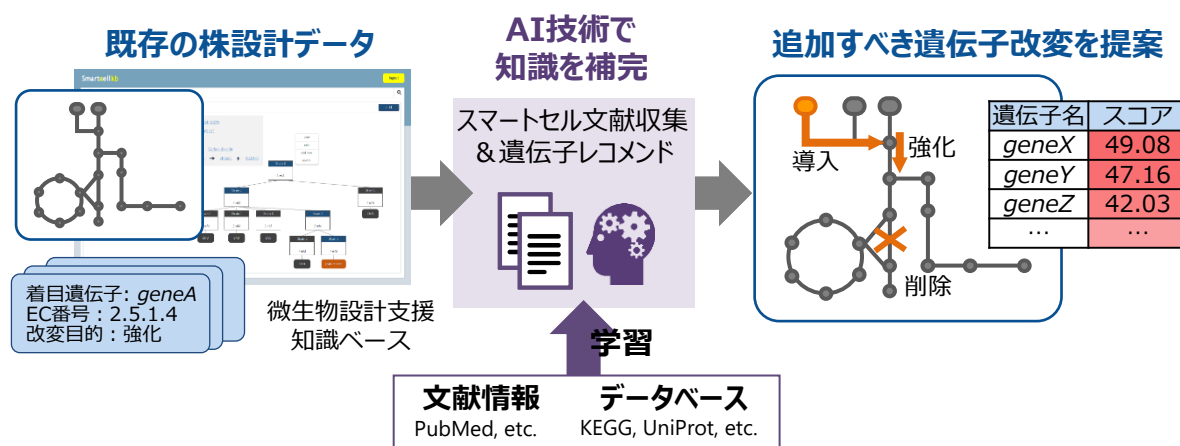
### 技術の説明

スマートセルに関する文献・公開データから、微生物設計に有用な知識を抽出し、生産性向上に有望な遺伝子改変候補を提案するAI技術を開発しています。

既存の微生物株の設計データに対し、見落としていた代謝系改変など不足している設計知識を本AI技術により補完することで、高生産性微生物の開発工数削減に貢献します。

開発したAI技術の特長は以下の通りです。

- スマートセル文献自動収集：**  
 代謝系設計・遺伝子改変に関する文献の特徴を識別し、スマートセル設計に有用な文献情報を広く収集します。
- 有望遺伝子レコメンド：**  
 収集した文献情報から、これまでの代謝系設計・遺伝子改変と関係が深い遺伝子改変を抽出し、ユーザーに提案します。



### 応用先

- 目的化合物の生産性向上を目指した代謝デザイン・遺伝子の探索

### 参考資料

- 特願2019-210138、情報処理システムおよび検索方法 (出願人：日立製作所)
- 特願2020-45980、文献検索システム及び方法 (出願人：日立製作所)

### お問合せ先

京都大学・(国研) 医薬基盤健康栄養研究所 荒木通啓

araki.michihiro.3s@kyoto-u.ac.jp

E-mail: araki@nibiohn.go.jp

<https://www.kyoto-u.ac.jp>

URL: <https://www.nibiohn.go.jp/>

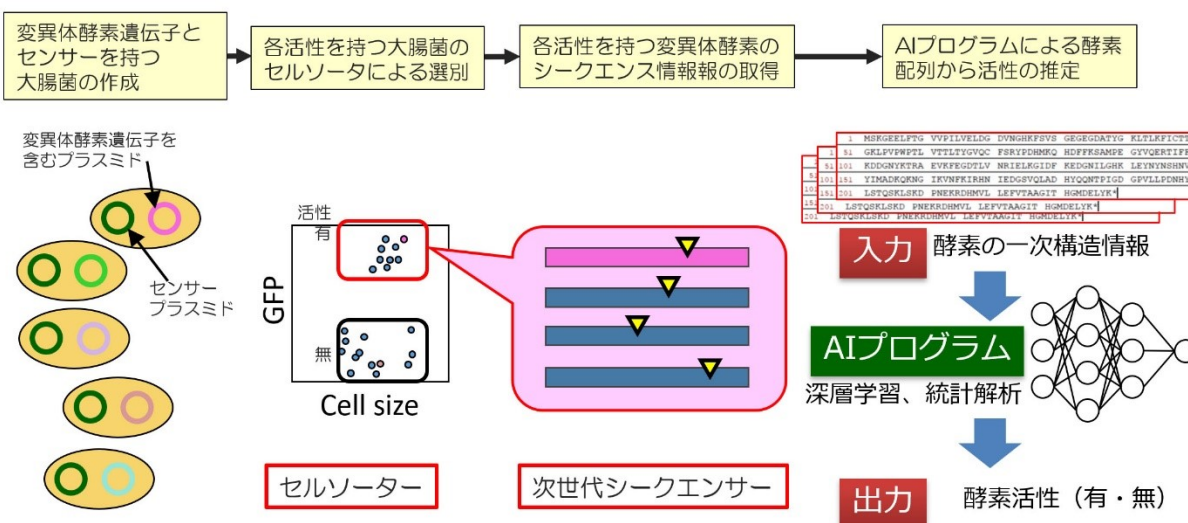
# 酵素の活性推定

## 機械学習による酵素の配列設計に向けて

九州大学、(株) 日立製作所、京都大学

### 技術の説明

我々は、酵素活性の強さを蛍光の量で示すことのできるバイオセンサーを開発し、セルソーターと組み合わせることで、非常に多くの変異体からスクリーニング可能なシステムの開発を行っています。ここから得られた変異体を次世代シークエンサーで一度に配列解析することで、例えば、活性が有る変異体の配列のみを一度に非常に多く得ることが可能となりました。この配列情報から、どのような配列ならば、活性が有るあるいは無いという判定を行うAIプログラムの開発も行っています。



## 酵素活性の測定 (HTP化)

## AIによる活性予測

### 応用先

- バイオ物質生産に用いる酵素の活性向上および活性の推定

### 参考資料

- 梅津、濱田、花井、日本生物工学会九州支部大会講演要旨集、p.48 (2019)

### お問合せ先

九州大学農学研究院 花井泰三

E-mail: taizo@brs.kyushu-u.ac.jp

URL: <http://www.brs.kyushu-u.ac.jp/~taizo/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.



# 生物資源データベース

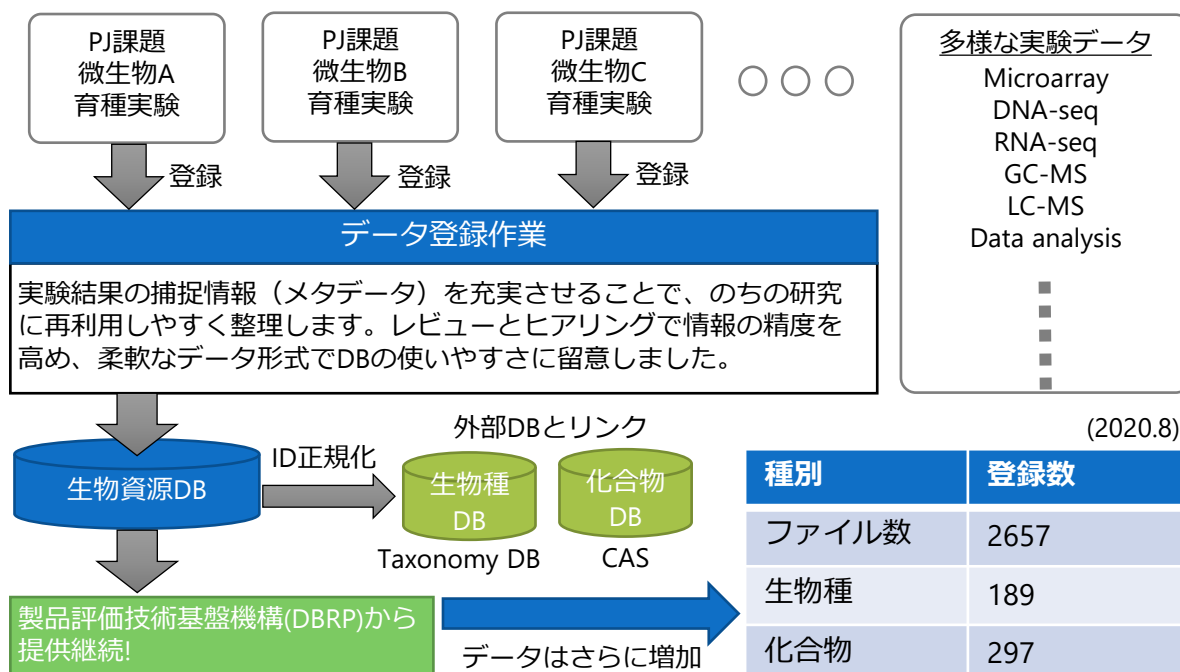
## ～多生物種・大規模測定データの蓄積～

(国研)産業技術総合研究所・(独)製品評価技術基盤機構

### 技術の説明

スマートセルプロジェクトでの実験データを整理してデータベースに登録！

プロジェクトで生み出された実験結果を再利用可能な情報資源として整備しました。



### 応用先

- ・主に自社での育種・物質生産研究のための情報リソースとして活用できる。
- ・同種/近縁種の育種に際して戦略をたてるのに過去の実験結果を参考にする。
- ・モデル生物による物質生産のための代謝モデル構築に利用する。
- ・育種や物質生産の標的となる物質を定める際の参考となる。
- ・育種・物質生産分野において独自に大規模解析を実施する際の参考となる。

### 参考資料

- ・ NEDO SMARTCELL PROJECT [https://www.jba.or.jp/nedo\\_smartcell/project/](https://www.jba.or.jp/nedo_smartcell/project/)

### お問合せ先

(国研)産業技術総合研究所

**E-mail:** mituyama-toutai@aist.go.jp

**URL:** <https://www.airc.aist.go.jp/>

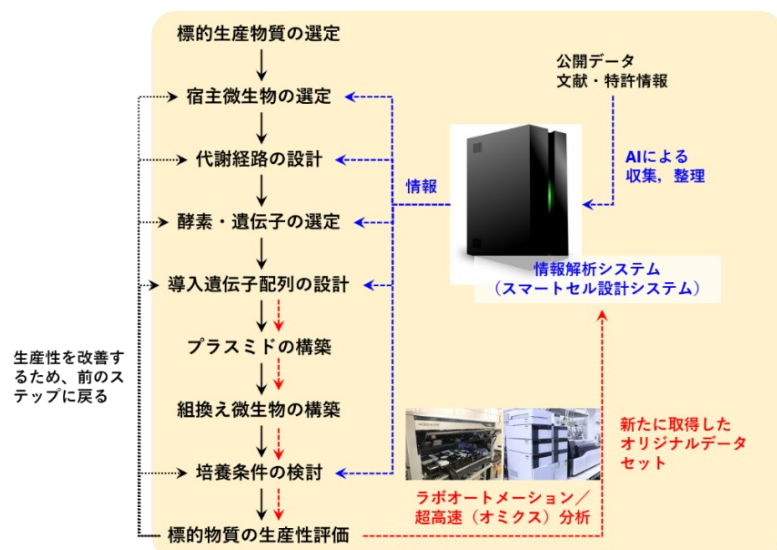
R&D achievements of NEDO smart cell project.

# ウェット全体像

## ハイスループット合成・分析・評価技術の開発

### 技術の説明

DBTLのワークフロー(図)において、スマートセルを設計するには、多様な微生物株から取得した一定規模のデータセットが必要です。そこで本プロジェクトでは、多様性を持った微生物ライブラリを短時間で構築し、目的物質の生産性データやオミクスデータを高精度かつハイスループットに取得できる「ハイスループット合成・分析・評価技術」の開発に取り組んでいます。中でも、一度の遺伝子組換え操作で多数の遺伝子の発現を制御することができる長鎖DNAを世界一高い精度で合成する技術や、高い再現性で代謝物量を網羅的に測定可能なメタボミクス技術には高い優位性があります。



図；スマートセル創出プラットフォームを利用したDBTLワークフローの例

「ハイスループット合成・分析・評価技術」(赤矢印)の貢献により、スマートセルが短期間に創出可能になった。

これまで、1) 30 kb超の長鎖DNAを正確(変異率0.1%以下)に低価格(5円/塩基)で従来の1/4以下の期間(2週間程度)で合成する技術の確立、2) 96穴プレートフォーマットの半自動ハイスループット形質転換技術の構築、3) 化合物排出輸送体を探索するプラットフォームの開発、4) 画像解析等により目的物質の生産性をハイスループットに評価する技術の開発、5) タンパク質の定量が可能な微生物プロテオーム解析技術の開発、6) 前処理ロボットの開発等によるスループット、精度、網羅性の高いメタボローム解析システムの構築、等に成功してきました。

要素技術のスマートセル創出プラットフォーム(図)への組み込みを進めるとともに、独自のハイスループット評価技術の高精度化を図り、情報解析技術との連携を強化して体系的なデータの取得・管理を行っています。

### 参考資料

- ・スマートセルインダストリー -微生物細胞を用いた物質生産の展望-, シーエムシー出版(2018)
- ・Nature Focal Point
- ・バイオインダストリー協会Webサイト

### お問合せ先

国立大学法人神戸大学

E-mail: [hasunuma@port.kobe-u.ac.jp](mailto:hasunuma@port.kobe-u.ac.jp)

URL: <http://www.egbrc.kobe-u.ac.jp>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# OGAB法による長鎖DNA合成トータルシステム

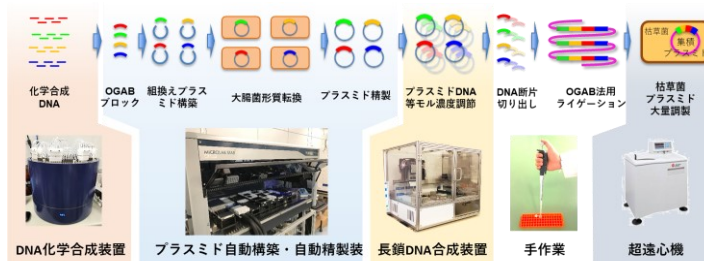
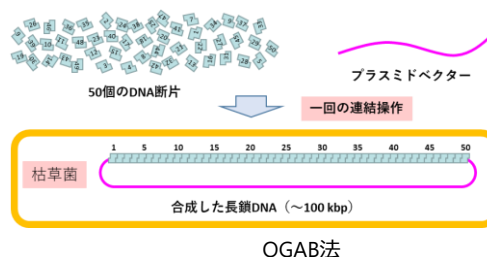
## ～化学合成から長鎖DNA大量調製まで～

神戸大学

共通基盤技術

### 技術の説明

スマートセルを構築するためには、10 kbを超える長鎖DNAを自在に構築する技術が必要でした。神戸大学では、枯草菌を利用した50個を超えるような多数のDNA断片を一度に連結可能な遺伝子集積法のOGAB法を開発しました。しかしながら、10 kbを超える長鎖DNAを構築するためには、2～3カ月の時間がかかり、スマートセル構築におけるボトルネックとなっていました。OGAB法での遺伝子集積の際の材料となる～1 kb程度のDNA断片を従来は受託合成会社に外注していましたが、全ての材料DNA断片が揃うまでに1～2カ月という長時間を要していました。この時間を短縮するために、DNAの化学合成からの全ての工程を自前で行う、長鎖DNA合成のトータルシステムを構築しました。化学合成する一本鎖DNA配列のデザインと、一本鎖DNAを二本鎖DNAへと変換する工程を工夫し、ロボットを用いた工程の自動化により、遺伝子集積の材料となるDNA断片を迅速に準備することが可能となり、30 kb程度の長鎖DNAを2週間で準備することができるようになりました。



長鎖DNA合成トータルシステム

### 応用先

- スマートセルの構築の高速化
- 代謝経路の新規設計

### 参考資料

- Tsuge, et al., Nucleic Acid Research, 31, e133 (2003)
- Tsuge, et al., Scientific Reports, 5, 10655 (2015)

### お問合せ先

神戸大学先端バイオ工学センター 柘植謙爾

E-mail: ktsuge@port.kobe-u.ac.jp

URL: <http://www.egbrc.kobe-u.ac.jp/index.html>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# ハイスループット長鎖DNA合成技術の開発

## ハイスループットDNA化学合成技術の開発

日本テクノサービス株式会社

### 技術の説明

植物等の生物を用いた高機能品生産技術開発において、物質生産株を構築する為のハイスループット合成手法が必須であり、30kbを超える長鎖DNAを作成する為の長鎖DNA自動合成装置の開発が必要でした。長鎖DNA自動合成装置はDNA断片をつなぐことで長鎖DNAを合成しますが、DNA断片が短いと合成回数が増え、合成エラーのリスクや時間に影響します。長鎖DNAの合成に必要な全てのDNA断片が揃わない限り、長鎖DNAの集積は不可能であるため、1本でも欠けると長鎖DNA合成が出来ません。すなわち材料となるDNA断片の確実な合成、調達時間の短縮がポイントでした。また、長鎖DNA作成のコストは、初期材料(DNA断片)のコストに直結します。

そこで、本プロジェクトにおいて長鎖DNA合成の自動化における初期材料となる200塩基を超えるDNA断片を低コスト、高効率、短時間で合成可能な多本数(24~96本)同時合成装置の開発を行いました。試薬の微量制御、送液試薬同士の高速混和を可能とする多チャンネル型送液機構を開発し、少ない送液量で高反応効率を保つことが可能となり、目標の20時間で200塩基の合成DNAを材料コスト3円/塩基で96種類同時合成を可能にしました。

また、開発した送液機構は自社少数数型合成機にも踏襲し、プログラム改良により多種試薬の送液にも対応し、核酸医薬の開発機等、核酸化学分野へも適用可能となりました。



M-96-LD  
長鎖DNA合成用核酸合成機



M-2-TRS  
DNA/RNA合成機

### 応用先

- 長鎖DNA合成の材料となる200mer程度の化学合成DNAを短時間低コストで揃えたい方
- 長鎖DNA合成以外に、人工核酸を含む化学合成核酸を合成したい方
- 数mg~数十mgの化学合成核酸を必要とされる方

### お問合せ先

バイオ事業部 森 良仁

E-mail: [mori@ntsbio.com](mailto:mori@ntsbio.com)

URL: <https://www.ntsbio.com>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 遺伝子アセンブリのためのクローン単離技術

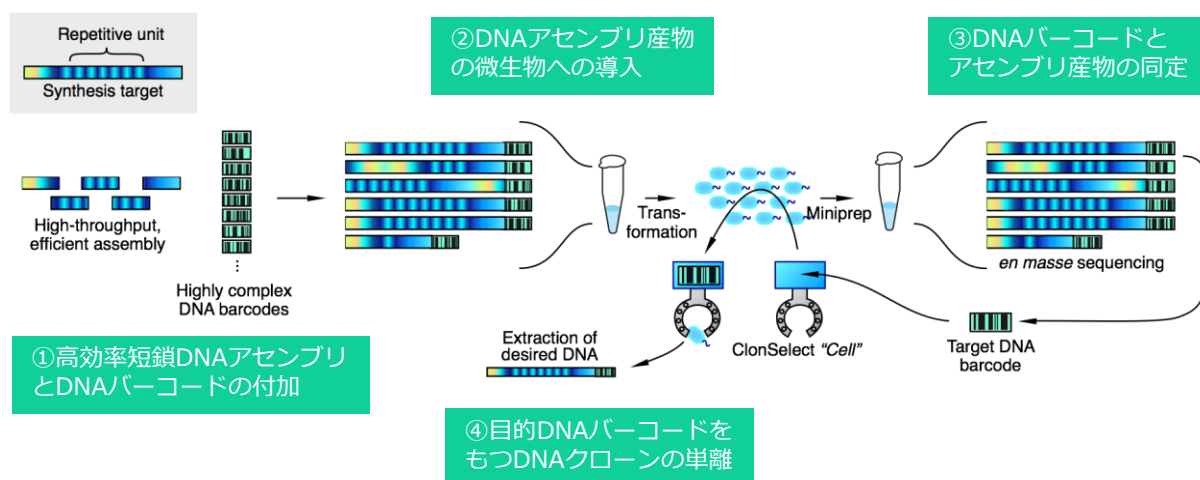
## 高効率遺伝子アセンブリプラットフォームの樹立

東京大学

### 技術の説明

あらゆるDNAアセンブリ反応はその効率が完全でなく、アセンブリ反応産物を微生物細胞に導入し、クローン化とDNAシーケンシングによる評価を必要とします。したがって、反応効率の低いサンプルほど評価クローン数が増加し、このプロセスがボトルネックになります。アセンブリ反応産物に分子DNAバーコードを付加、反応産物プールを一斉に超並列シーケンシング技術で解析後、ゲノム編集によって目的の反応産物をもつ細胞をDNAバーコード依存的にラベル化し単離する選択的クローン単離技術を樹立しました。これによって従来のDNAアセンブリプロセスを1,000倍加速します。

遺伝子アセンブリ  
ターゲット



### 応用先

- DNAアセンブリプロセス全般
- 遺伝子合成全般
- DNAアセンブリ、遺伝子合成自動化パイプライン

### 参考資料

- Nishida K, Arazoe T, Yachie N, Banno S, Kakimoto M, Tabata M, Mochizuki M, Miyabe A, Araki M, Hara KY, Shimatani Z & Kondo A. Targeted nucleotide editing using hybrid prokaryotic and vertebrate adaptive immune systems. (2016) Science 353, aaf8729

### お問合せ先

東京大学先端科学技術研究センター

**E-mail:** [yachie@synbiol.rcast.u-tokyo.ac.jp](mailto:yachie@synbiol.rcast.u-tokyo.ac.jp)

**URL:** <https://yachie-lab.org/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

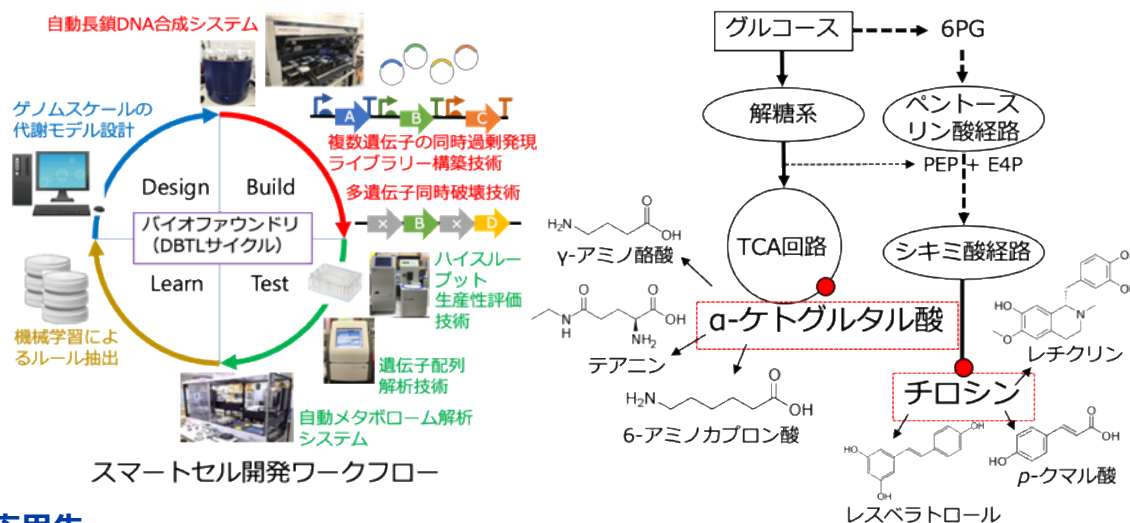
# シャーシ株（ハブ化合物高生産株）の高速育種

## スマートセル開発ワークフロー

神戸大学

### 技術の説明

バイオ産業で求められる有用物質は共通の前駆物質（ハブ化合物）から生合成されているため、ハブ化合物の生産性が高い株（シャーシ株）の合理的設計に基づく高速育種は、有用物質生産微生物（スマートセル）の開発期間の短縮化に有効です。スマートセルプロジェクトで開発した高速微生物育種ワークフロー（スマートセル開発ワークフロー）により従来の開発より極めて短期間（約2.5ヶ月）で $\alpha$ -ケトグルタル酸またはチロシン高生産性大腸菌シャーシ株を開発しました。 $\alpha$ -ケトグルタル酸シャーシ株を使って、健康増進効果が知られるテアニンや $\gamma$ -アミノ酪酸、合成樹脂の原料である6-アミノカブロン酸をそれぞれ高生産するスマートセルを作出しました。またチロシンシャーシ株を使って、プラスチック等の原料である $p$ -クマル酸、オピオイド系鎮痛剤の原料であるレチクリン、栄養機能食品であるレスベラトロールをそれぞれ高生産するスマートセルを作出しました。シャーシ株を使うことで、微生物開発期間の短縮（いずれも従来の育種期間の約1/5）に成功しました。



### 応用先

- 有用物質生産微生物の開発期間短縮にご興味がある方
- チロシン・ $\alpha$ -ケトグルタル酸を前駆物質とした有用物質のバイオ生産をお考えの方

### 参考資料

- スマートセルインダストリー —微生物細胞を用いた物質生産の展望— (2018)
- Vavricka CJ *et al.* Nat Commun. 10(1):2015 (2019).

### お問合せ先

国立大学法人神戸大学

E-mail: hasunuma@port.kobe-u.ac.jp

URL: <http://www.egbrc.kobe-u.ac.jp>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# HTP微生物構築・評価技術

## ～自動分注装置を用いた自動形質転換と高速分析～

神戸大学

共通基盤技術

### 技術の説明

大腸菌や酵母を対象に、自動液体分注ロボットのプログラムと形質転換条件を独自にカスタマイズすることで、96wellフォーマットで微生物にプラスミドDNAを導入可能なセミオートメーションの自動形質転換システムを開発しました。これにより、数千株以上の異なる形質転換体を一度に作出することが可能になりました。また、標的化合物に応じて分析メソッドを高速化したり、簡便なアッセイ系を構築することで、作出した膨大な数の形質転換体の生産性を高速に評価できる技術も開発しました。これらの基盤技術により、様々な遺伝型を持つ微生物をハイスループットに構築して生産性を評価することが可能となりました。



自動液体分注装置を用いた大腸菌および酵母の自動形質転換システムの開発

### 応用先

- ・大腸菌や酵母での物質生産の実用化を目指す企業
  - ・大腸菌や酵母の基礎研究を行っている公的機関
- まだ見出されていない生産性向上に寄与する新たな有用遺伝子の候補を網羅的に探索することができます。

### 参考資料

- ・シーエムシー出版「スマートセルインダストリー -微生物細胞を用いた物質生産の展望-」（第1編，第2章，第1節 微生物を用いた物質生産とハイスループット微生物構築技術）

### お問合せ先

神戸大学 先端バイオ工学研究センター / 大学院科学技術イノベーション研究科・石井純

<http://kobe-u-egbr.vinectia.com/index.html>

E-mail: [junjun@port.kobe-u.ac.jp](mailto:junjun@port.kobe-u.ac.jp)

URL: <http://www.stin.kobe-u.ac.jp>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# メタボライトセンサの開発

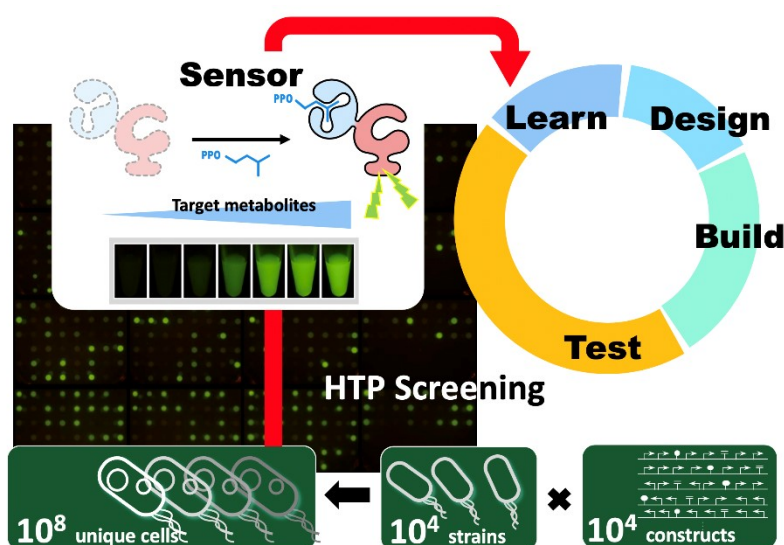
～あらゆる代謝物を、さまざまな感度で

千葉大学

## 技術の説明

何千～何万の変異体集団の中から、特定の代謝物を顕著に蓄積する変異体を蛍光スクリーニングによって迅速に選抜する技術です。

代謝物捕獲時のレセプターの結合安定化を可視化する技術を用いることによって、さまざまな代謝物に対する迅速かつオンデマンドなセンサ提供が可能となりました。この技術を使うことによって、標的代謝物の蓄積料の高い変異体の選抜が可能となりました。また、各種ゲノム編集技術と組み合わせ、標的代謝物の細胞内濃度を上下させる要素の組織的な洗い出しも可能となります。



## 応用先

- ある化学物質への生合成経路を開通させたいと考えておられる方。
- 微生物による有価化合物の収率向上のため変異体取得や生合成リデザインを検討中の方。
- 生合成経路や酵素の導入による宿主細胞への影響を調べる計画がある方

## 参考資料

- M. Tominaga, *et al.*, *PLOS ONE*, **10**, e0120243 (2015)
- Y. Kimura, *et al.*, *ACS Synth. Biol.*, **9**, 567–75 (2020)
- 特許第5959127号, 特許第5904494号 (US9,315,816), 特許第5757608号, 特願2018-057314

## お問合せ先

千葉大学大学院工学研究院

E-mail: [umeno@faculty.chiba-u.jp](mailto:umeno@faculty.chiba-u.jp)

URL: <http://chem.tf.chiba-u.jp/gacb02/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.



# 排出輸送体プラットフォーム

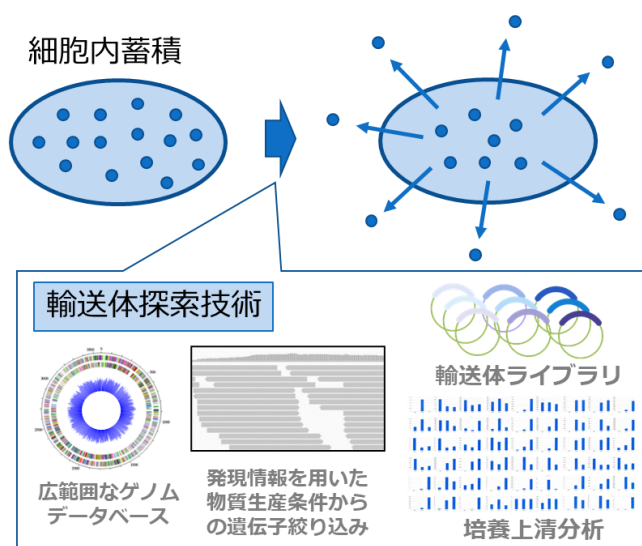
東北大学、(国研)産総研

## 技術の説明

水溶性の化合物は細胞膜を透過できないため、細胞外への排出が滞ると菌体内に生産物が蓄積し、フィードバック阻害を引き起こし、生合成反応の効率を低下させます。このような場合には、目的化合物を細胞外に排出する排出輸送体を発現することにより、最終産物の細胞内蓄積を回避できます。しかしながら、既存の遺伝子情報データベース等には、排出輸送体の機能や基質について、正確な情報が記されていません。これは、膜タンパク質である排出輸送体は、可溶性酵素タンパク質と異なり、機能の解析が難しく論文等の報告の数が限られるため、正確な機能を推定できるほどの研究成果の蓄積が十分ではないことが原因として挙げられます。そこで、本プロジェクトでは、最新の情報科学技術と遺伝子工学技術、分析化学技術との融合により、効率的に目的化合物の排出輸送体を探索する技術を開発しました。

本技術では、はじめに情報科学技術を用いて、遺伝子情報、転写解析データなどを用いて、目的化合物排出輸送体遺伝子の絞り込みを実施します。絞り込まれた輸送体候補遺伝子について、膜タンパク質の安定発現ベクターを用いて構築した輸送体遺伝子ライブラリを利用して、実験的に輸送体の探索を実施します。本技術を用いて、これまでにアミノ酸、有機酸など、様々な化合物の排出輸送体の探索に成功しています。

本技術は、微生物等を用いて、有機酸等の極性が高く細胞膜を透過できない化合物を培地中に生産・回収を実施したときに、目的化合物の菌体内の生産が確認できているのにも関わらず、培地中に目的化合物が回収できない場合などに有効です。また、化合物の生産効率化を目指しているが、細胞内の代謝を強化しているにも関わらず、生産量が上がらない場合にも、排出輸送体の導入による生産の効率化が期待できます。



## 応用先

- 目的化合物の細胞内蓄積でお困りの方
- 細胞内の代謝を強化したのにも関わらず生産量が上がらずにお困りの方

## 参考資料

- 所定の化合物に対する膜タンパク質のスクリーニング方法及び所定の化合物の生産方法, 特願 2018-087700, 2018年4月27日, 発明者 七谷 圭, 阿部 敬悦, 新谷 尚弘, 米山 裕, 中山 真由美, 出願人 国立大学法人 東北大学

## お問合せ先

東北大学 大学院農学研究科 教授・阿部敬悦  
**E-mail:** keietsu.abe.b5@tohoku.ac.jp

**URL:** <https://sites.google.com/view/tohoku-applied-microbio>

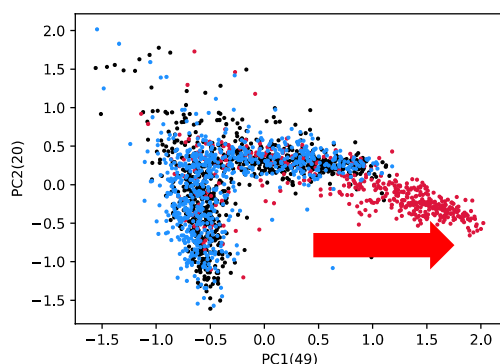
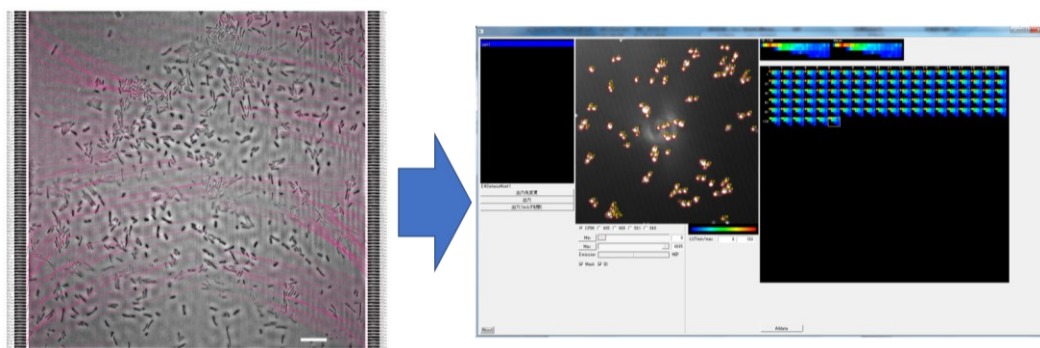
R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 自家蛍光顕微鏡技術

## 一細胞自家蛍光シグネチャー解析 CRIF

筑波大学

### 技術の説明



細胞の自家蛍光を利用して、一細胞の生理状態や種類を生きたまま調べる非破壊分析技術です。共焦点顕微鏡画像（左上）から一細胞自家蛍光情報を抽出する画像処理は従来非常に難しいものでした。今回スマートセルプロジェクトで開発した専用ソフトウェア（右上）により、シンプルな手順で解析が可能になりました。抽出された一細胞自家蛍光により、細胞の生理状態の判別や、物質生産能力の予測（左下）を行う予定です。

### 応用先

- スクリーニングを高速化したい方
- 培養細胞の品質管理に客観期かな指標が必要な方

### 参考資料

- Yawata Y. (co-corresponding author), T. Kiyokawa, Y. Kawamura, T. Hirayama, K. Takabe, N. Nomura. 2019. Intra and inter species variability of single-cell innate fluorescence signature of microbial cell, Applied and Environmental Microbiology 85, e00608-19
- 特許第6422616号 発明の名称：データ作成方法およびデータ使用方法

### お問合せ先

筑波大学

**E-mail:** nomura.nobuhiko.ge@u.tsukuba.ac.jp

**URL:** <http://www.tsukuba.ac.jp>

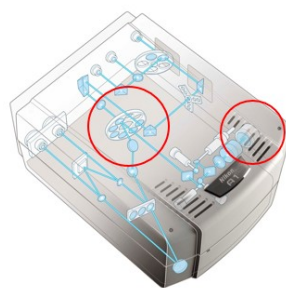
R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 共焦点レーザー顕微鏡を用いた自家蛍光スペクトル観察

～微弱自家蛍光を広視野で正確に検出～

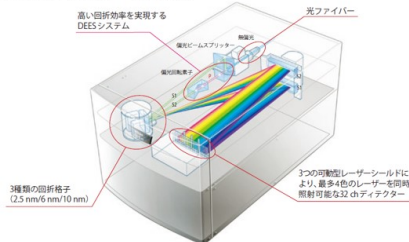
(株)ニコンインステック

## 技術の説明



左：大口径スキャンレ  
右：従来スキャンレズ

スペクトル検出器 A1-DUS

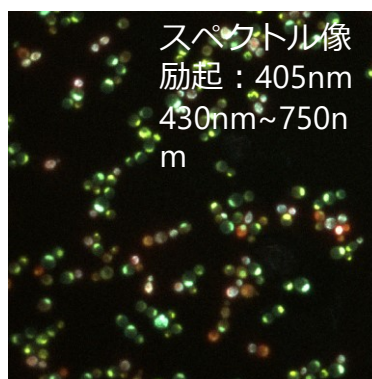
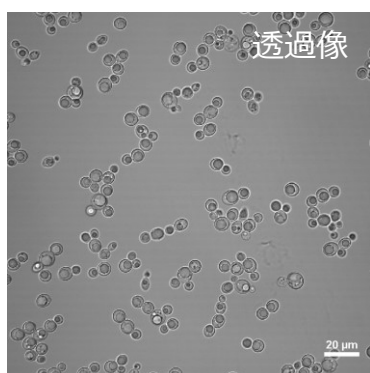


3種類の回折格子  
(2.5 nm/6 nm/10 nm)

石英ファイバー

3つの可動型レーザーシールドにより、最多色のレーザーを同時照射可能な32chディテクター

32chの自家蛍光スペクトル対応共焦点レーザー顕微鏡（A1R HD25）の技術を用いて、微弱自家蛍光を効率よく取得し、蛍光とレーザーによる迷光、反射光を分離する対応を行いました。



油脂高生産酵母株の自家蛍光スペクトル画像  
一見均一にみえる細胞集団（透過画像）内にも、予想以上の多様性があることがわかります。

## 応用先

微生物などの微弱蛍光をワンショットで広視野にスペクトル検出することができる。

## 参考資料

菌株提供：新潟薬科大学 高久研究室

撮影：筑波大学 八幡研究室、ご協力：筑波大学 野村暢彦研究室 野村暢彦先生

## お問合せ先

(株)ニコンインステック

E-mail: Norio.Ohba@Nikon.com

URL: <http://www.nikon-instruments.jp/jpn/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 高精度トランスクリプトミクス

(国研) 産業技術総合研究所

## 技術の説明

多様な産業微生物に適用可能な信頼性の高いトランスクリプトーム解析技術の確立のために、スパイクイン用核酸標準物質の開発とその利用方策を検証します。また、そのための核酸標準物質の簡便な値付けの手法を確立します。

産業微生物では特に培養後期などに目的有用物質の生産が高くなる例が見られますが、そうした試料から良い状態のRNAを抽出するのは困難です。未分解RNAのみを選択的に解析する技術を確認することでこれまで実施が難しかったトランスクリプトーム解析を可能にする技術開発を行います。

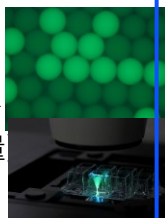


### 核酸標準物質の開発

- スパイクイン用長鎖RNA標準物質の開発
- スパイクイン用RNA標準物質の開発 (GCバリエーションの拡充)

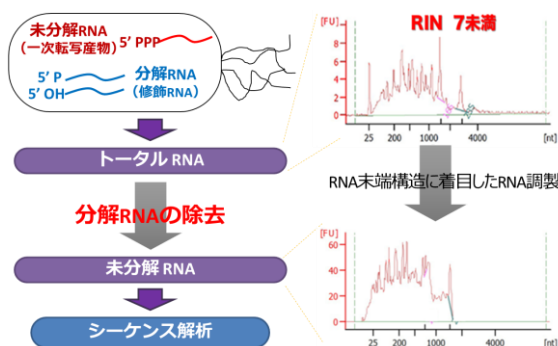
### 核酸標準物質の値付け

- デジタルドロップレットPCR
- 蛍光相関分光法 (一分子定量)



スパイクイン用核酸標準物質の開発と検証

Terminator-5'-phosphate dependent exonuclease (TEX)により5'末端に3リン酸基を持たないRNAを分解



未分解RNA選択的調整技術の適用

## 応用先

- ・ 次世代シーケンサによるRNA-Seq解析
- ・ 特に、物質生産が高まる培養後期などで状態のいいRNA回収が困難な場合に効果が期待
- ・ 原核生物、真核生物とも対応可能

## 参考資料

- ・ スマートセルインダストリー -微生物を用いた物質生産-, シーエムシー出版 (2018)
- ・ Absolute quantification of RNA molecule using fluorescence correlation spectroscopy with certified reference materials. Anal. Chem. (2018)
- ・ HTP とトランスクリプトーム解析技術、バイオサイエンスとインダストリー (2020)

## お問合せ先

(国研) 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門 三谷恭雄

E-mail: mitani-y@aist.go.jp

URL: www.aist.go.jp

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 高精度メタボローム解析技術の開発\_1

## メタボローム解析に特化した自動前処理システム

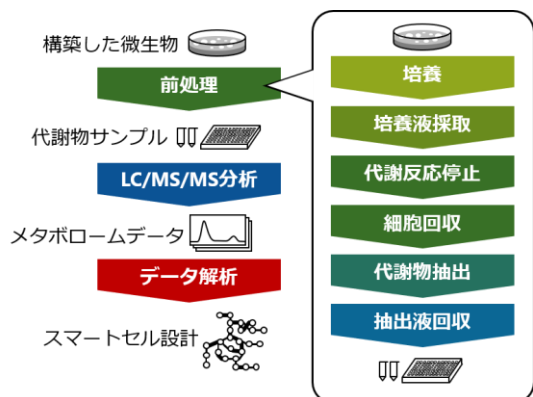
神戸大学、(株)島津製作所

### 技術の説明

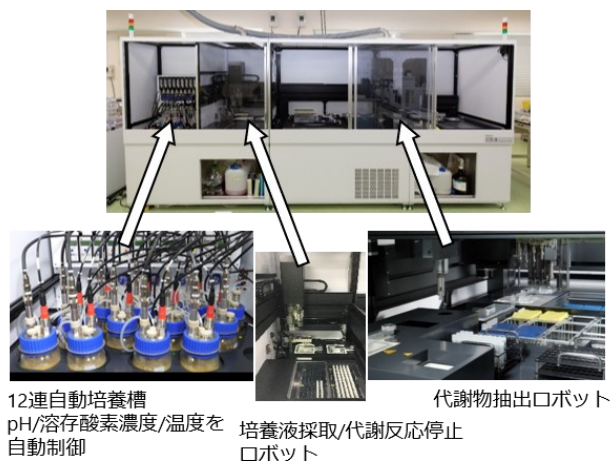
メタボローム解析は、細胞内に存在する多様な代謝物の蓄積量を一齐に明らかにする技術です。メタボロームデータには、細胞の生育環境や遺伝的背景が反映されるため、メタボローム解析を行うことで物質生産に適した培養条件や細胞の状態の把握、代謝合成経路のボトルネック反応の特定等が可能になります。また細胞の物質生産能力と遺伝子改変の因果関係を明らかにできます。

本研究開発では「細胞から代謝物を抽出する前処理工程(図1)が手作業で煩雑なため、時間がかかり、再現性が低い」という課題を解決するため、前処理を自動で行うロボット「自動前処理システム」を開発しました(図2)。本システムは12連自動培養槽と培養液採取/代謝反応停止ロボットを装備し、手技では困難な多検体の連続サンプリングを可能としました。代謝物抽出ロボットは、熟練者で180分かかるとなっていた工程を75分に短縮し、終夜運転も可能であるため、人間の20倍近い処理速度が実現可能です。ロボット化は処理速度だけでなく精度も向上させ、熟練者と同等以上の前処理工程の再現性を、誰もが実現できるようになりました。また、バーコードによる試料/データ管理を実装することで、手技では不可避な試料/データの取違えを防止しています。

### 1. メタボローム解析の流れ



### 2. 自動前処理システム



### 応用先

- 細胞内外の代謝物の高精度な測定
- 培養/発酵における代謝物量の経時変化の、多検体での追跡

### 参考資料

- Vavricka, C.J., et al., Dynamic metabolomics for engineering biology: Accelerating learning cycles for bioproduction, *Trends in Biotechnology*, 38(1):68-82. (2019)
- 特願2018-134171、特願2018-134174、特願2018-134169、特願2018-134177、特願2018-134179
- 2018年5月25日島津製作所発表 プレスリリース

### お問合せ先

神戸大学 先端バイオ工学研究センター

E-mail: hasunuma@port.kobe-u.ac.jp

URL: <http://www.egbrc.kobe-u.ac.jp/index.html>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 高精度メタボローム解析技術の開発\_2

## 高精度メタボローム解析、ハイスループット評価系

神戸大学、(株)島津製作所

### 技術の説明

代謝物の分離・検出では、イオンペア剤を添加しないLC-MS/MSシステムを構築してS/N比を向上させました。また、微生物スマートセルの設計に必要な水溶性代謝物184成分の一斉分離・検出を可能にしました。

メタボローム解析では試料毎に多種の代謝物の同定、相対定量を行うため、データ処理量が膨大になります。そこで、クロマトグラムからのピークピッキングを支援し、解析結果を代謝マップ上に投影する情報解析システムを構築しました。

自動前処理システム、LC-MS/MSシステム、情報解析システムを駆使して再現性の高いメタボロームデータを大量に得ることにより、ブラックボックスだった代謝制御メカニズムの解明に貢献します。

細胞内外の代謝物の分析にはプレ培養/本培養/前処理の工程が不可避であり、目的物質を高生産する微生物のスクリーニングに多大な時間を要していました。

CO<sub>2</sub>超臨界流体抽出は、微量の細胞から効率よく代謝物を抽出することができる技術です。この特徴を生かし、本研究開発では、微生物コロニーを、前処理なしに直接分析可能としました。目的代謝物の生産能の違いを1検体5分で判別できることから、数日から数週間を要したスクリーニングが1日で可能となり、大幅な時間短縮を実現しました。

### 応用先

- 細胞内外の代謝物の高精度な測定
- 有用物質を高生産する微生物の構築における迅速なスクリーニング

### 参考資料

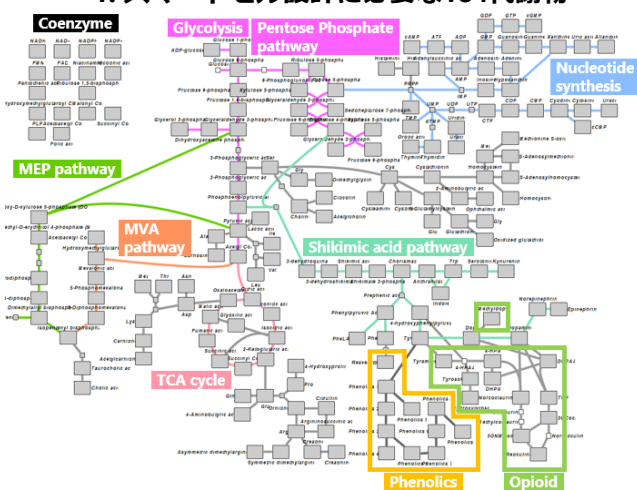
- Hasunuma, T. et al., Temperature enhanced succinate production concurrent with increased central metabolism turnover in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803, *Metabolic Engineering*, 48, 109-120
- 特願2018-207920

### お問合せ先

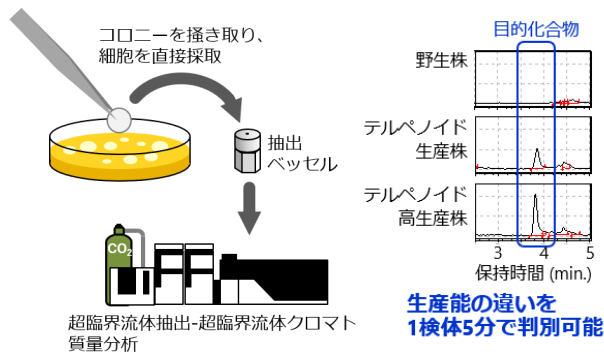
神戸大学 先端バイオ工学研究センター

E-mail: [hasunuma@port.kobe-u.ac.jp](mailto:hasunuma@port.kobe-u.ac.jp)

### 1. スマートセル設計に必要な184代謝物



### 2. ハイスループット評価系と分析例



# 定量ターゲットプロテオーム解析技術

## 微生物、培地中の複数タンパク質をマスで一斉定量

大阪大学

### 技術の説明

#### どんなお困りごと？

- ・微生物酵素生産で、目的タンパク質を10種類くらい一斉に定量したいとき。
- ・代謝工学研究で、目的酵素タンパク質が過剰発現しているか確認したいとき。
- ・代謝工学研究で、目的物生産の代謝ボトルネックを同定したいとき。

#### 定量ターゲットプロテオーム解析技術が解決します。

- ・迅速：ウェスタンブロットングのような抗体作成は不要です。
  - ・簡単：事前準備に測定対象タンパク質のアミノ酸配列情報だけが必要です。
  - ・一斉：10–20種類のタンパク質を一斉に定量できます。
  - ・スマセル作成に便利：重要産業用微生物の中心代謝酵素なら事前準備済ですぐ測定
- ターゲットタンパクのトリプシン消化ペプチドをナノLC-MS/MSで定量する。
  - 従来法（二次元電気泳動）より高い**選択性、定量精度、スループット**



### 応用先

- ・酵素生産：微生物が生産する産業用酵素の培地中濃度の定量
- ・代謝工学：産業微生物に複数導入した外来酵素遺伝子がタンパク質として過剰発現していることの確認
- ・代謝工学：産業微生物の中心代謝関連酵素の一斉定量による代謝ボトルネックの探索

### 参考資料

- ・ F. Matsuda, A. Tomita, H. Shimizu, Prediction of hopeless peptides unlikely to be selected for targeted proteome analysis. *Mass Spectrometry* 6, A0056 (2017).
- ・ 松田史生. 高精度定量ターゲットプロテオーム解析 久原哲監修 スマートセルインダストリー ―微生物細胞を用いた物質生産の展望― pp69

### お問合せ先

大阪大学大学院情報科学研究科 松田史生

**E-mail:** [fmatsuda@ist.osaka-u.ac.jp](mailto:fmatsuda@ist.osaka-u.ac.jp)

**URL:** <http://www-symbio.ist.osaka-u.ac.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

## 第二章

# 物質生産検証事例

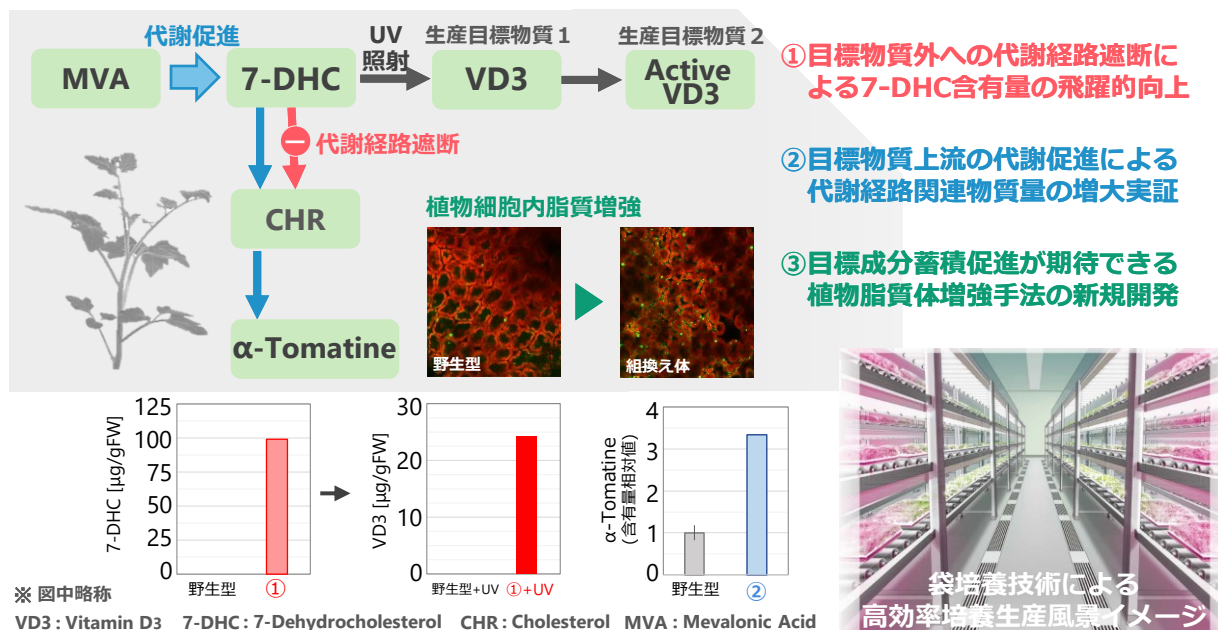


# 植物の代謝多段改変と高効率培養による ビタミンD<sub>3</sub>生産システムの開発

(株)竹中工務店、キリンホールディングス(株)、神戸天然物化学(株)、  
大阪大学、大阪府立大学、神戸大学、北海道医療大学

ビタミンD<sub>3</sub>は骨粗しょう症の治療などに有効な成分で、一部の植物体内に存在することが知られています。しかしその含有量はごく微量で、植物を用いたビタミンD<sub>3</sub>生産事業の構築は難しいと考えられてきました。

本プロジェクトでは、ビタミンD<sub>3</sub>生成に関係する代謝経路を把握し、遺伝子操作により代謝経路を多段改変することで、植物体内ビタミンD<sub>3</sub>産出量増大に取り組みました。その結果、ビタミンD<sub>3</sub>前駆体（7-Dehydrocholesterol）の植物体内含有量が飛躍的に向上するなどの成果を得ました。さらに袋培養技術による植物体高効率生産を実現することで、次世代植物工場による植物由来有用物質生産事業像を構築します。



## 実用化計画

- STEP1: 各遺伝子組換え技術を組合せた多段遺伝子改変植物体の開発
- STEP2: 多段遺伝子改変植物体の高効率培養技術の開発
- STEP3: 高機能組換え植物体 + 高効率植物培養技術による次世代植物工場の実用化

## 参考資料

- 「形質転換植物、およびその利用」 WO-A1-2019/163601

## お問合せ先

kojima.michinao@takenaka.co.jp

k-mamiya@kirin.co.jp

E-mail: m\_suzuki@kncweb.co.jp

<https://www.takenaka.co.jp/>

<https://www.kirinholdings.co.jp/>

URL: <http://www.kncweb.co.jp/>

# 医薬用中間体原料植物の代謝改変による アルカロイド製造技術の開発 ニチニチソウを用いたアルカロイド含量改変

味の素(株)、京都大学、千葉大学、玉川大学、徳島大学、  
(公財)北海道科学技術総合振興センター

## 1. 研究目的

- ①植物由来天然物医薬品原料を植物工場で生産する技術プラットフォームを構築します。
- ②ニチニチソウのモノテルペンインドールアルカロイドの含量増大技術を確立します。
- ③ニチニチソウの人工光型植物工場での栽培技術を最適化します。

## 2. 事例の紹介

- ①トリプトファン代謝を強化するために、独自に開発した形質転換系を用いて、*aroG4*、*trpE8D* 遺伝子 (AED遺伝子群) を、ニチニチソウに導入した結果、形質転換体の葉中の Catharanthine含量が増加することが確認できました (図3)。
- ②トリプトファン代謝強化遺伝子 (AED遺伝子群) とアルカロイドの転写制御因子 *ORCA4* 遺伝子を、独自に開発した一過性発現技術を用いてニチニチソウに共発現すると Tabersonine含量が顕著に増加しました (図4)。



図1. 人工光型植物工場でのニチニチソウの栽培

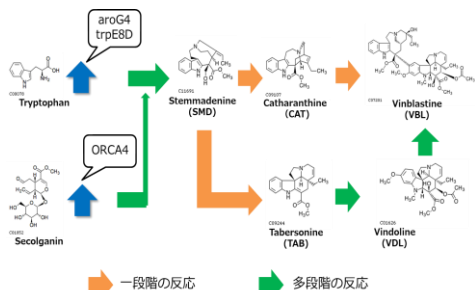


図2. ニチニチソウのピンカアルカロイド代謝系 (簡略化).  
①では、*aroG4*、*trpE8D* 遺伝子を発現を強化. ②では、*aroG4*、*trpE8D* 遺伝子と *ORCA4* の発現を強化.

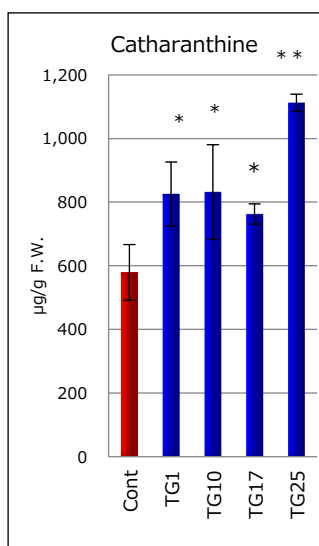


図3. Catharanthine含量の解析.  
・ Cont: 非形質転換植物..  
・ TG 1, 10, 17, 25: *aroG4-trpE8D* 遺伝子群導入した形質転換体.  
(n=3, t-test \* P<0.05 \*\*P<0.01).

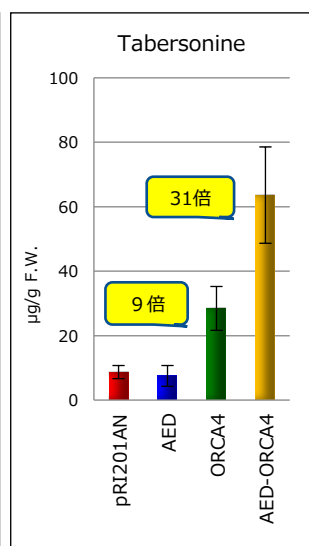


図4. タベルソニン含量の解析.  
①pRI201AN: コントロール.  
②AED: *aroG4-trpE8D* 遺伝子群.  
③ORCA4: *ORCA4* 遺伝子.  
④AED-ORCA4: AED-ORCA4 遺伝子群連結 (n=3).

## 実用化計画

- ・モノテルペンインドールアルカロイドの汎用製造プラットフォームとしてニチニチソウを活用し、各種アルカロイド生合成中間体含量が増加した植物の作出と栽培を行います。

## 参考資料

- ・「アルカロイドの製造方法」 WO2019-194309A
- ・「キョウチクトウ科ニチニチソウ属の形質転換植物体」 特開2020-039277

## お問合せ先

味の素株式会社

E-mail: hiroaki\_kisaka@ajinomoto.com

URL: <https://www.ajinomoto.co.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

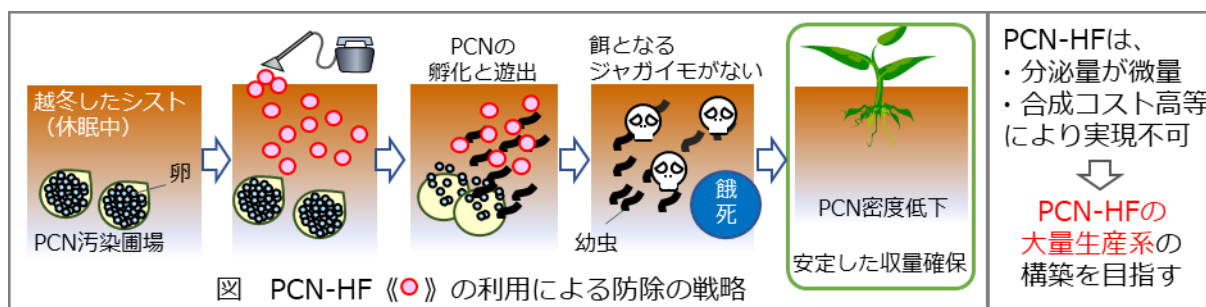
# 組換えナス科植物による ジャガイモシストセンチュウ孵化促進物質の生産 ～新規のジャガイモシストセンチュウ防除剤の開発～

ホクサン（株）、（国研）産業技術総合研究所

世界的に被害が甚大で、効果的な対策・防除剤が未だ開発されていないジャガイモシストセンチュウ（PCN）の防除を目的とした、新規の農業用資材の主成分となるPCN孵化促進物質の大量生産系の開発を目指します。



PCNは、ジャガイモの根に寄生する難防除病害虫で、宿主植物から分泌される**孵化促進物質（HF）**に反応し、卵から幼虫が孵化します。このHFを利用した防除法を開発しています（下図）。



本研究開発は、①PCN-HF生成に係る代謝遺伝子の探索・評価（機械学習モデルでの探索）、②遺伝子操作によりPCN-HFを高生産する植物体の作出、③PCN-HF高生産栽培条件の最適化（薬剤情報インデックスの利用）、④PCN-HFの回収方法の検討を行い、PCN-HFの大量生産系を開発しています。

表 栽培方法間のPCN-HF生産量比較（年間の栽培面積当たり）

栽培方式	採取回数	養液量			相対孵化率	年間栽培回数	PCN-HFスコア	相対値 (従来法 = 1)
		養液量/株(L)	株数/m <sup>2</sup>	孵化試験時の希釈倍率				
従来法	4	0.40	39	1.25	1.30	3	304	1.0
改変MT法	5	0.08	152	50.00	0.91	5	13,781	45.3

養液中に含まれるPCN-HF量を示すPCN-HFスコア：採取回数×養液量×相対孵化率×年間栽培回数

相対孵化率：NaVO<sub>3</sub>（孵化活性が確認されている化学合成物質）処理時のPCN孵化率を1とした場合の

検体処理における孵化率の相対値

現在までに、マイクロチューバー法を改変した栽培方法により、従来法の土耕栽培と比較して、45倍のPCN-HF生産量を達成しています。（左表）

## 実用化計画

本研究開発において、PCN孵化促進物質の大量生産系を構築後、当該物質を主成分（活性成分）とする新規のPCN防除剤開発を予定しています。本研究開発終了後3年目以降に、農業用資材としての製剤化・事業化を目指します。

## 参考資料

- Analysis of the mechanisms regulating the expression of isoprenoid biosynthetic genes in hydroponically-grown *Nicotiana benthamiana* plants using virus-induced gene silencing. Sci Rep. 2018; 8(1):14804
- 「無菌化シストセンチュウを得る方法」 PCT/JP2019/005512

## お問合せ先

ホクサン株式会社 植物バイオセンター

E-mail: [noriko-tabayashi@hokusan-kk.jp](mailto:noriko-tabayashi@hokusan-kk.jp)

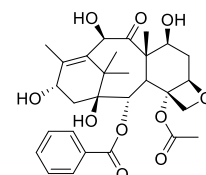
URL: <https://hokusan-kk.jp>

# イチイ細胞培養技術を用いたタキサン系 医薬中間体10-DABの効率生産法開発

北海道三井化学(株)、京都大学

## 【背景】

タキサン系抗ガン剤は中間体10-DABを用いて半合成されますが、構造が複雑なため化学合成による供給は現実的でなく、また生長が遅いイチイ樹木中の含量も極めて低く、安定供給に課題があります。

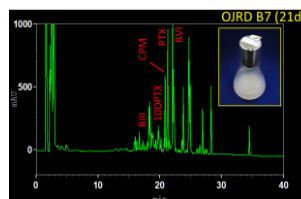


10-DAB

10-DABを効率良く生産させるため、以下の4課題について検討を行いました。

1. イチイ樹木への遺伝子組換え技術開発
2. タキサン系化合物高生産株の取得
3. タキサン化合物の輸送・蓄積制御
4. 袋型バイオリアクター開発

## 【結果】

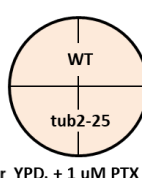
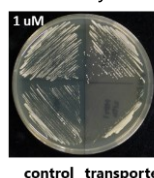


	Taxane yield (mg/L)
Cells	449.7
Medium	28.9
<b>Total</b>	<b>478.6</b>

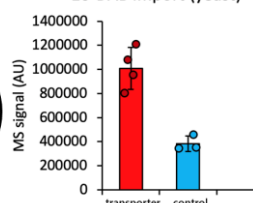
### 1. 毛状根の高効率取得法確立

### 2. タキサン系化合物高生産株の取得

Taxane transport assay with yeast tub2-25



10-DAB import (yeast)



### 3. タキサン輸送に関わるトランスポーター

### 4. 袋型バイオリアクターによる細胞培養法開発

## 実用化計画

- 2022年度 10-DAB生産性：1g/L/28d、2m<sup>3</sup>レベル袋型バイオリアクターでの培養技術確立
- 2024年度 バイオリアクター設備化
- 2025年度 10-DAB生産開始

## 参考資料

- 「イチイ由来のプロモータ及びその用途」 特願2019-53639
- 「イチイ属の毛状根の製造方法」 特願2019-152191
- Kusano, H. et al, Evolutionary developments in plant specialized metabolism, exemplified by two transferase families, Front Plant Sci 10:794. doi: 10.3389/fpls.2019.00794 (2019)

## お問合せ先

北海道三井化学(株)

**E-mail:** Homare.Tabata@mitsuichemicals.com

**URL:** <https://www.hmci.co.jp>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# シソの健康機能性成分の高効率増産技術開発

## ～遺伝子操作技術と栽培技術のコラボレーション～

(株) アミノアップ、(国研) 産業技術総合研究所、  
(公財) 北海道科学技術総合振興センター、徳島大学



*Perilla frutescens*

### 高齢化社会における健康寿命の延伸に向けた健康意識の高まり

- ⇒ 健康機能性成分含有製品（機能性食品）の需要拡大
- ⇒ 健康機能性成分の高含有化の需要



露地栽培

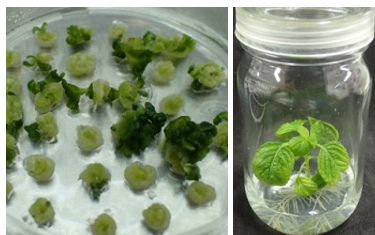
### 問題点

- ・健康機能性成分含有量が不安定
  - ・原料収量が不安定
- <変動要因> 天候不順、年次間差、地域間差

～シソが持つ抗酸化、抗アレルギー効果等の健康機能性成分を「高含有化」したシソを「安定的」に栽培する技術の開発～

### 技術開発成果

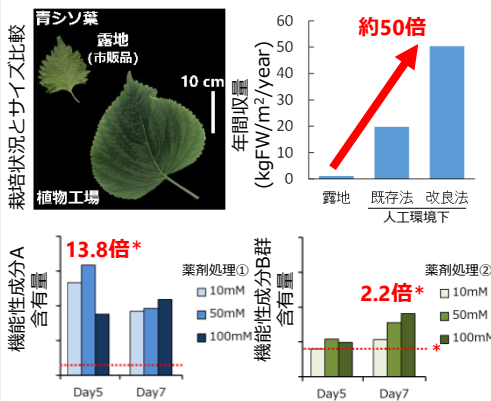
#### 遺伝子組換え/ ゲノム編集技術開発



不定芽の誘導 植物体の再生

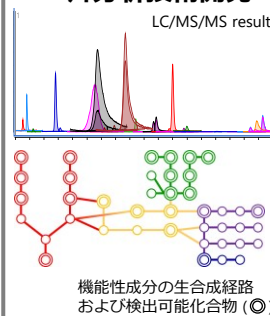
- ・シソの遺伝子組換えに成功
- ・5種の遺伝子組換えシソを作成
- ・ゲノム編集シソを作成

#### 人工環境下における栽培技術開発



- ・年間収量が增大
- ・機能性成分を高含有化

#### 代謝成分の 一斉分析技術開発



- ・シソ葉を用い機能性成分を含む周辺化合物23種の同時検出が可能に

### 実用化計画

- ・遺伝子操作と栽培技術を併用し、機能性成分の高含有化したシソを植物工場にて生産する
- ・機能性成分を高含有化したシソを原料として、高機能性素材の製造を行う

### 参考資料

- ・「植物の栽培方法及び植物におけるロスマリン酸含有量を増加させる方法」 特願2018-002334 (株式会社アミノアップ、国立研究開発法人産業技術総合研究所)

### お問合せ先

株式会社アミノアップ

E-mail: goto@aminoup.jp

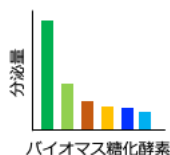
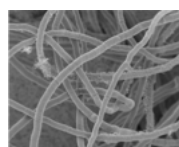
URL: <https://aminoup.jp/>

# 糸状菌を用いた有用タンパク質同時生産制御

## 複数タンパク質発現制御技術開発

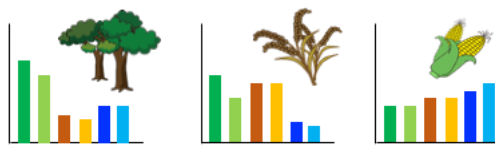
長岡技術科学大学、花王 (株)、(一財) JBA、(国研) 産総研、九州大学

糸状菌 *Trichoderma reesei*



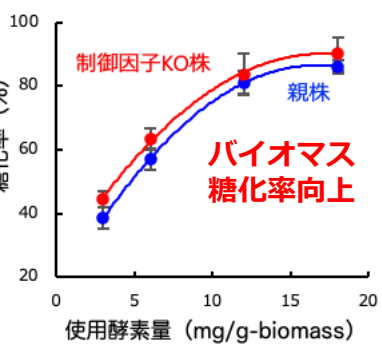
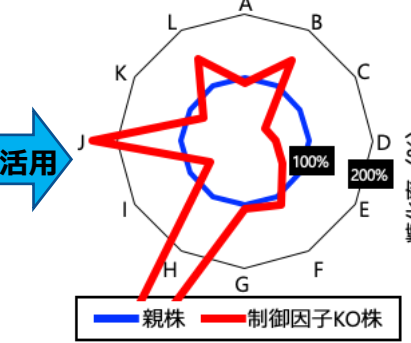
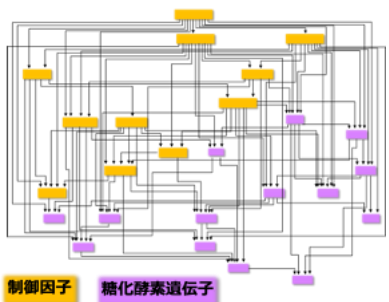
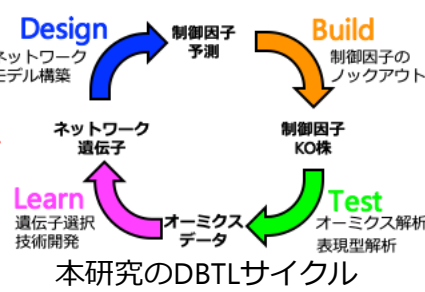
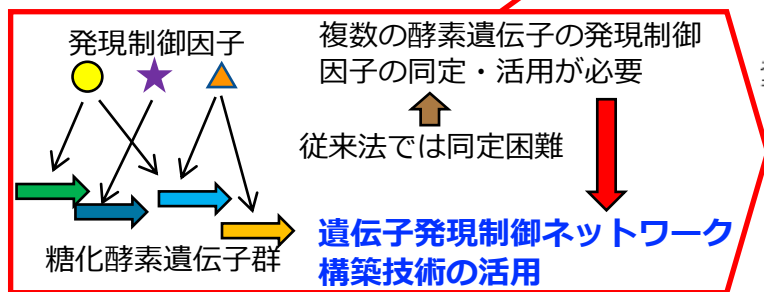
菌株改変

「テーラーメイド酵素」生産



各種バイオマスに合わせた最適比率での酵素生産が必要

- ・バイオマス糖化酵素を大量に生産
- ・酵素の生産比率は常に一定



### 実用化計画

- ・本PJにて酵素組成を変更する技術を確立することで、バイオマスリファイナリーを目指した企業へコストパフォーマンスの高い酵素を提供を検討する。

### 参考資料

- ・小笠原 渉ら (2018). セルラーゼ生産糸状菌の複数酵素同時生産制御に向けた技術開発 久原 哲 (監). スマートセルインダストリー—微生物細胞を用いた物質生産の展望—、シーエムシー出版. pp.156-163.

### お問合せ先

技術：国立大学法人長岡技術科学大学 小笠原 渉  
**E-mail:** owataru@vos.nagaokaut.ac.jp **URL:** https://www.nagaokaut.ac.jp  
 酵素：花王株式会社 五十嵐 一暁  
**E-mail:** igarashi.kazuaki@kao.com **URL:**

R&D achievements of NEDO smart cell project.

物質生産検証事例

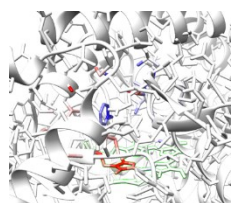
# リモンンをはじめとするモノテルペノイド酸化酵素を用いた 酵素設計技術の有効性検証

～MDシミュレーションを利用した酵素改変技術の開発～

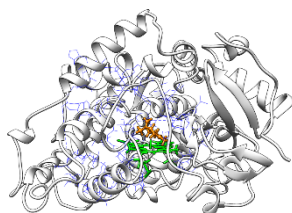
神戸天然物化学（株）（国研）産業技術総合研究所

酵素反応を利用する際に位置選択性や生産性等が課題となることがあります。位置選択性の問題を解決するため、分子動力学（MD）シミュレーションを利用して酵素反応の位置選択性に寄与するアミノ酸残基を提案する新規の方法を開発しました。

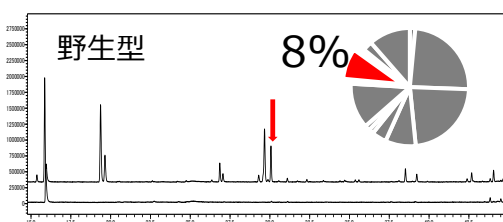
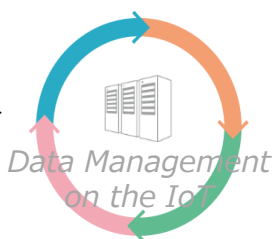
本法を利用して、野生型では生成比が8%であった目的化合物が、改変酵素では生成比を48%まで向上し、生成物量は1.5倍向上させることができました。



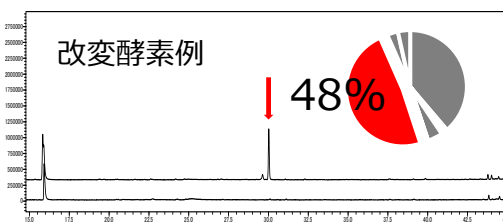
ドッキング構造のコンタクト  
情報による改変部位の提案



MDシミュレーションによる  
ドッキング構造解析法の開発



変異導入



改変酵素の構築及び機能評価

物質生産検証事例

## 実用化計画

- 酵素改変等の受託研究、改変酵素等の受託生産 等

## 参考資料

- MDシミュレーションについて  
Ikebe, J., et.al., *J. Comput. Chem.*, 35(1), 39-50 (2014)  
Ikebe, J., et.al., *Biophys. Rev.*, 8, 1-8 (2016)

## お問合せ先

神戸天然物化学株式会社 バイオ事業部バイオ開発室

E-mail: m\_suzuki@kncweb.co.jp

URL: <http://www.kncweb.co.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 有用イソプレノイド生産

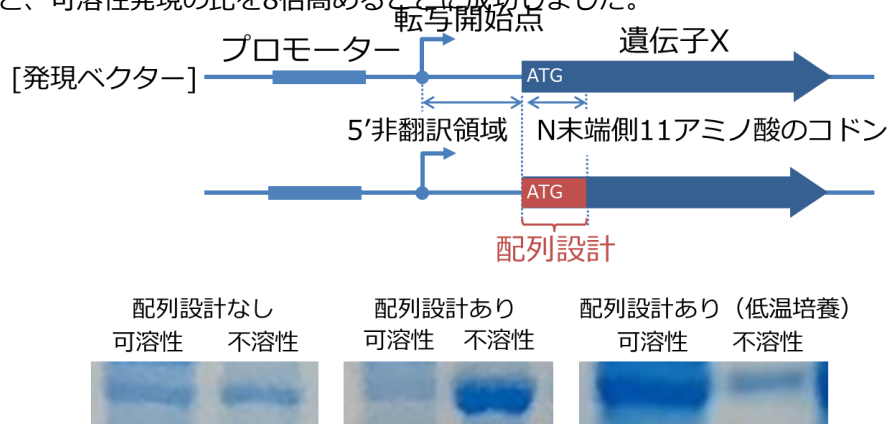
## イソプレノイド合成経路キー酵素の発現改善

三菱ケミカル、JSR、産業技術総合研究所、神戸大学、京都大学

我々はテルペン類など様々な有用イソプレノイド化合物を高生産可能な微生物を開発しています。微生物のイソプレノイド合成経路を強化するにあたって、キーと考えられる代謝酵素をコードする異種由来遺伝子Xを導入しましたが、その発現量が非常に少なく、大きな課題でした。そこで、微生物におけるタンパク質発現を改善させる遺伝子配列設計技術 (Sci Rep. 2019; 9: 8338.) の適用を試みました。

この遺伝子配列設計技術は、タンパク質生産量と高い相関を示すmRNAの二次構造形成度 ( $\Delta G_{UH}$ ) とCAI (Codon Adaptation Index) という配列特徴量を指標に二次構造を取りにくく、またCAIが高くなるようにmRNAの5'非翻訳領域を参照しつつ遺伝子配列の先端部分だけを改変するコドン最適化手法です。

本手法によって設計された遺伝子Xを発現させ、細胞破碎後の可溶性画分と不溶性画分をSDS-PAGE及びCBB染色により検出した結果、配列設計を行うことによって遺伝子Xの発現量は4.2倍増加させることに成功しました。しかし、そのほとんどが不溶性画分に検出され、全体の発現量に対して可溶性の発現量はわずか4.5%でした。そこで、遺伝子発現誘導における培養条件をさらに検討したところ、低温で培養することにより可溶性が大きく改善、全体の発現量に対する可溶性の発現量が36%と、可溶性発現の比を8倍高めることに成功しました。



### 実用化計画

- 発酵生産したイソプレノイドやその誘導体化学品を製造し、各種用途に向けて供給する事業として実現を目指していきます。発酵生産したイソプレノイドやその誘導体化学品についてラボレベルの基礎技術を確認したのち、ユーザテストを通してユーザの求める品質やコストの想定を進め、それらを反映したパイロットスケールのプロセス設計を行う計画。

### 参考資料

- Sci Rep. 2019; 9: 8338.

### お問合せ先

三菱ケミカル (株) Science & Innovation Center Biotechnology Laboratory 阪本 剛

**E-mail:** sakamoto.takeshi.mw@m-chemical.co.jp **URL:** <https://www.m-chemical.co.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

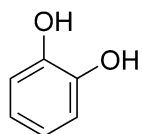


# コリネ菌を用いた有用芳香族化合物の生産性向上による代謝解析技術の有効性検証

## スマートセル設計システム活用による生産性向上

(公財) 地球環境産業技術研究機構

### 生産ターゲット



カテコール



医薬、香料などの原料  
市場拡大傾向の有用物質

### 当初の問題点

- ・微生物全般に対して極めて強い毒性
- ・糖からの生産代謝経路が長く複雑  
→ 発酵による高濃度生産は不可能でした。

スマートセル設計システムと、様々な化合物に耐性の高いコリネ菌とを組み合わせることで高濃度生産を試みました。

### 連携基盤技術

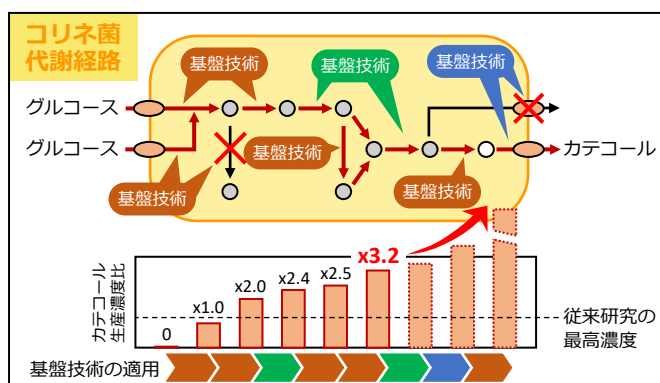
#### 生産株に適用した基盤技術

- ・代謝経路設計技術発
- ・導入遺伝子配列設計技術
- ・定量ターゲットプロテオーム解析技術

#### 生産株に適用予定の基盤技術

- ・輸送体探索技術
- ・発現制御ネットワーク構築技術
- ・文献等からの知識抽出・学習技術
- ・酵素改変設計技術
- ・HTPトランスクリプトーム解析技術
- ・高精度メタボローム解析技術

### 成果



基盤技術からの組換え提案を生産株に重ねて採用することで順次生産性が向上し、これまでの世界最高生産濃度を大幅に上回ることができました。

物質生産検証事例

### 実用化計画

さらなる生産性向上を目指して生産株開発を進めていきます。現在、カテコールは石油原料から化学合成によって生産されています。再生可能資源由来等を原料とし、微生物発酵による製造技術を確認することで新産業「グリーンバイオビジネス」の創出、実現を目指していきます。

### 参考資料

- ・乾 将行「低炭素社会の実現を目指したグリーン化学品生産技術の開発」『バイオブジャーナル』17:15-19. 2018.
- ・乾 将行「低炭素社会の実現を目指したバイオ燃料・グリーン化学品生産技術の開発」『バイオマス利用研究』19:25-34. 2018.
- ・北出幸広、乾 将行「バイオプロセスによる芳香族化合物生産技術の開発」『プラスチック』107:20-23. 2019.
- ・豊田晃一、乾 将行「炭素循環社会の実現を目指したバイオリファイナリー技術の開発」『環境技術』48:141-145. 2019.

### お問合せ先

(公財)地球環境産業技術研究機構

E-mail: [mmg-lab@rite.or.jp](mailto:mmg-lab@rite.or.jp)

URL: <http://www.rite.or.jp/bio/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 紅麴色素生産性向上

## ～発現制御ネットワーク構築技術の適用～

江崎グリコ（株）、理化学研究所、（株）バイオジェット、  
（国研）産業技術総合研究所

- ・紅麴菌 (*Monascus purpureus*)は糸状菌(カビ)の一種
- ・抽出した紅麴色素(モナスカス色素)を食用赤色天然色素として多くの食品加工に利用
- ・自然界で見つかった菌そのものを利用していたため生産性に課題
- ・スマートセル構築技術の一つである遺伝子発現ネットワーク構築技術を適用することで、紅麴色素生産性が約3倍に向上しました。

NGSによる網羅的遺伝子発現情報の取得 (RNA-seq)

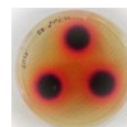


©2016 株式会社 TOGO TV

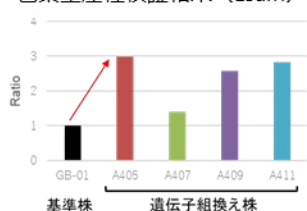
遺伝子発現制御構築技術による鍵となる遺伝子の推定 (Design)



遺伝子組換え紅麴菌の作成 (Build)



色素生産性検証結果 (Learn)



ジャーファーマンターによる色素生産性検証 (Test)



### 実用化計画

- ・生産性向上株の実用化を検討、遺伝子組換え対応パイロット発酵槽でのスケールアップ検討、各種安全性、国内外の法令への対応を進める予定

### 参考資料

- ・ Kumagai et al., Whole-Genome Sequence of *Monascus purpureus* GB-01, an industrial strain for food colorant production. *Microbiology Resource Announcements* 8(24), 2019. DOI: 10.1128/MRA.00196-19

### お問合せ先

藤森一浩 (産総研)

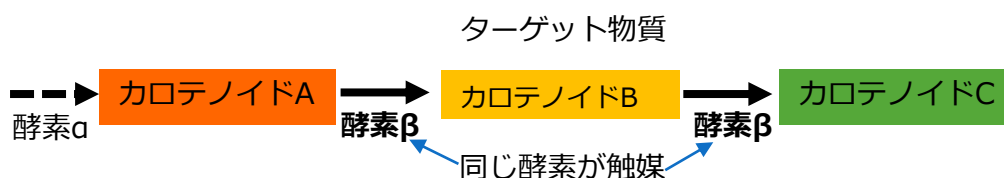
E-mail: K-fujimori@aist.go.jp

URL: <https://www.aist.go.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 微生物を用いたパプリカ由来カロテノイドの新規生産法の有効性検証

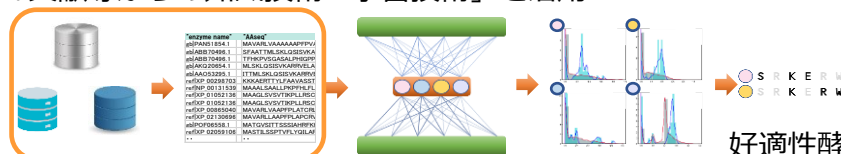
江崎グリコ（株）、（国研）産総研、石川県立大学、京都大学



【背景】起源種によって、カロテノイドB蓄積型と非蓄積型酵素があります。

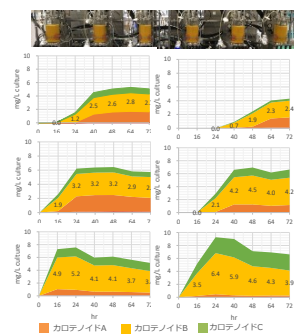
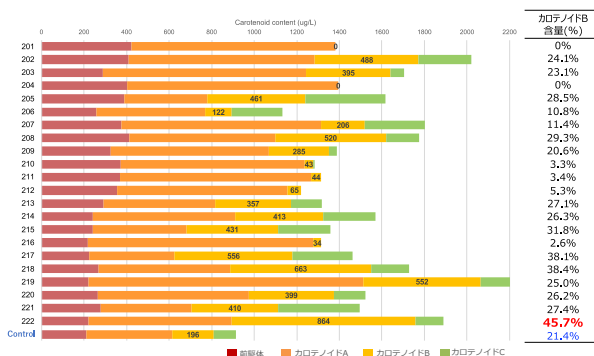
【課題】ドライ技術で蓄積型酵素を洗い出し、カロテノイドBを多く蓄積させること。

「文献等からの知識技術・学習技術」を活用



候補酵素遺伝子を微生物に実装、様々な培養条件下、ミニジャー等で検証

【成果】系統樹分析も併用して候補遺伝子を絞り込み、150以上の候補遺伝子を微生物に実装し、カロテノイドBの生産割合を21.4%から45.7%に上昇させることができました。



物質生産検証事例

## 実用化計画

- 培養スケールアップ、実用酵母での生産性検証

## 参考資料

- Takemura, M. et al., Applied Microbiology and Biotechnology 103: 9393 (2019)
- Araki, M. et al., Journal of Chemical Information and Modeling, 60(3), 1833-1843 (2020).

## お問合せ先

江崎グリコ株式会社

E-mail: Kouji.odan@glico.com

URL: <https://jp.glico.com/laboratory/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# ω-3系脂肪酸の生産性の向上による実用化検討

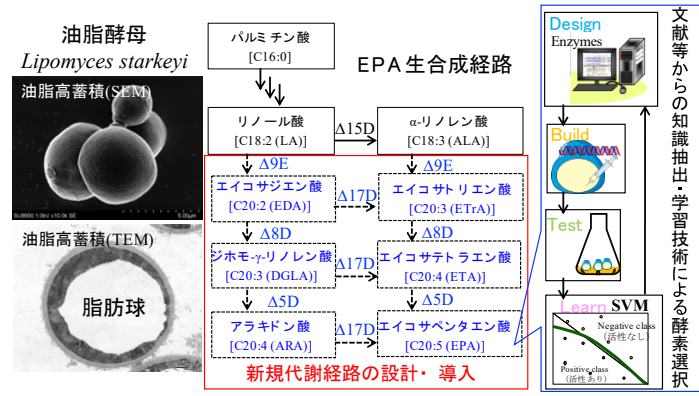
## 情報科学によるω-3系脂肪酸高生産酵母の開発

(国研)産業技術総合研究所、不二製油グループ本社(株)、(国研)理化学研究所、長岡技術科学大学、大阪大学、京都大学、九州大学、新潟薬科大学

産業上付加価値の高いω-3系多価不飽和脂肪酸を高生産する油脂酵母の開発

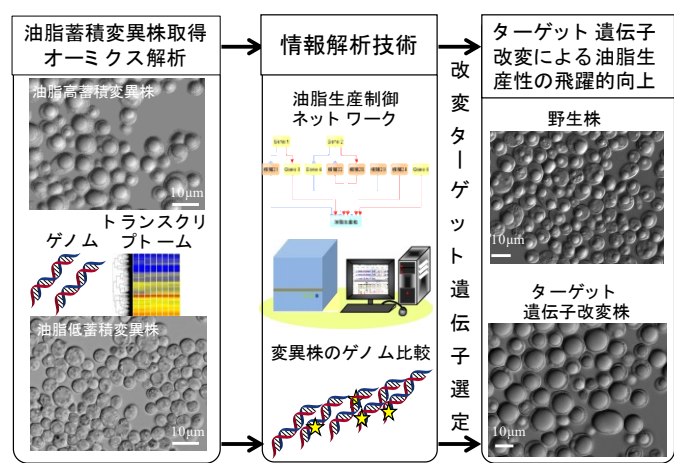
### ■ EPA (エイコサペンタエン酸) 生産新規油脂酵母の開発

EPA非生産油脂酵母*Lipomyces starkeyi*に新規代謝経路設計・導入及び「文献等からの知識抽出・学習技術」による油脂酵母に適したEPA合成酵素の選択により、油脂酵母*L. starkeyi*において、EPA含有油脂の新規合成に成功しました(右図)。



### ■ 遺伝子改変油脂酵母における油脂生産性の飛躍的向上

油脂酵母の野生株、油脂蓄積変異株の比較ゲノム解析、トランスクリプトーム解析データを利用した「発現制御ネットワーク構築技術」により、改変ターゲット遺伝子を選定し、改変を行った結果、油脂生産性が飛躍的に向上しました(右図)。



### 実用化計画

- データドリブンなスマートセル技術 (DBTLワークフロー) をさらに活用し、実用化に向けたさらなるω-3系脂肪酸高含有油脂の生産性向上を目指していきます。

### 参考資料

- 特開2019-146543
- Journal of Physics: Conf. Ser., 1391 (1), 012043 (2019)

### お問合せ先

新潟薬科大学  
E-mail: htakaku@nupals.ac.jp

URL: <http://www.nupals.ac.jp>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 微生物を用いたアルカロイド等の新規生産法の有効性検証

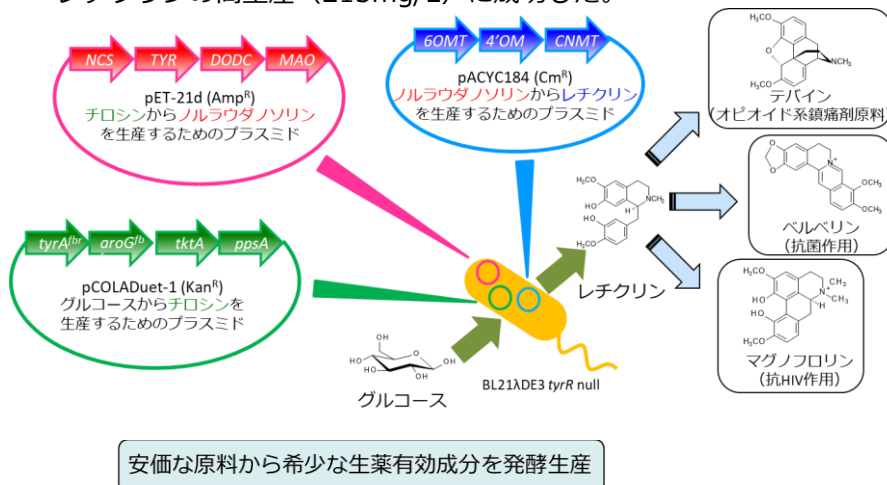
## 微生物発酵法による植物アルカロイド生産

石川県立大学

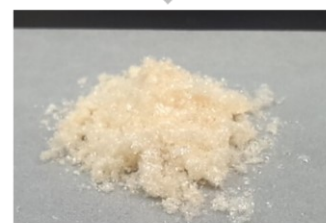
アルカロイドは様々な生理活性を有しており、新規高機能品のシーズとして有効。しかし、植物における含有量は低く、そのほとんどが製品化されていない。

合成生物学による微生物生産が検討されているが、10段階以上にわたる代謝経路のため、単なる遺伝子の組み合わせや培養条件の検討だけでは実用化は困難。

情報解析技術開発（代謝経路設計技術、文献等からの知識抽出・学習技術）により設計された新規代謝経路を導入することで、レチクリンの高生産（213mg/L）に成功した。



ジャーファーマンターによるアルカロイド生産



粗精製レチクリン粉末

物質生産検証事例

### 実用化計画

- 大腸菌プラットフォームによるテバイン（鎮痛剤原料）の微生物発酵生産
- 特定のアルカロイドを効率的に生産することで、医薬品原料、さらには健康増進を目的とした機能性食品や化粧品の開発

### 参考資料

- 「植物ベンジルイソキノリンアルカロイドの生産方法」、出願番号 2012-535056、公開番号 WO2012-039438.
- Mechanism-based tuning of insect 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde synthase for synthetic bioproduction of benzylisoquinoline alkaloids. *Nature Communications* 10, 2015 (2019).
- Microbial production of novel sulphated alkaloids for drug discovery. *Scientific Reports* 8, 7980 (2018).

### お問合せ先

石川県立大学 生物資源工学研究所  
E-mail: minami@ishikawa-pu.ac.jp

URL: [https://www.ishikawa-pu.ac.jp/research/research\\_institute/](https://www.ishikawa-pu.ac.jp/research/research_institute/)

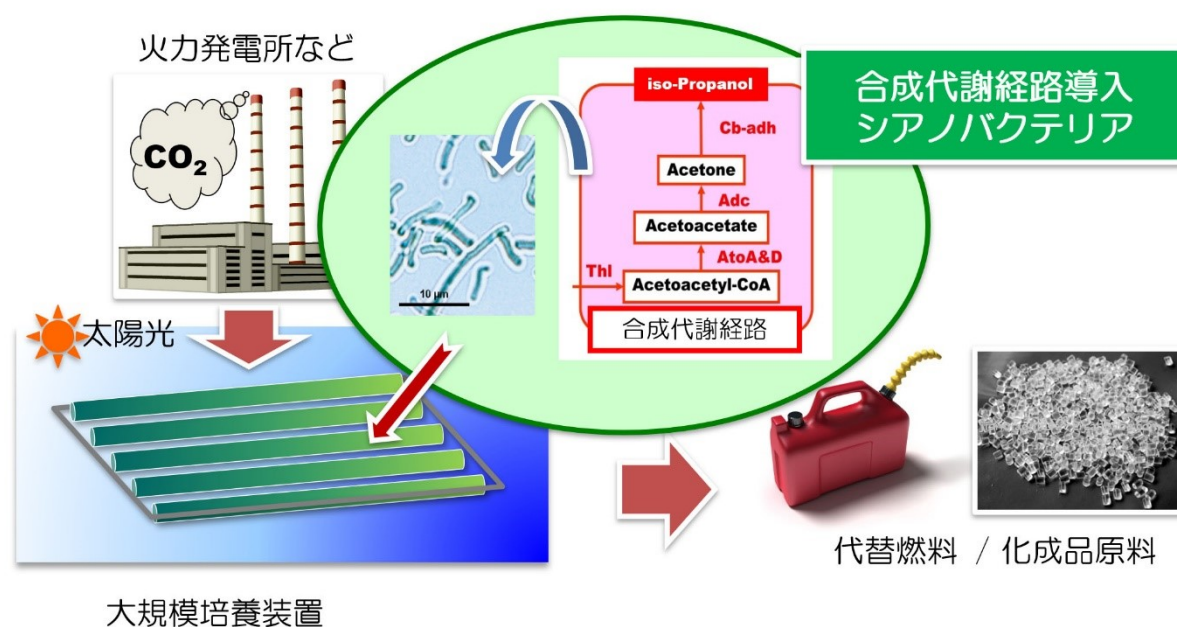
R&D achievements of NEDO smart cell project.

# シアノバクテリアによる物質生産

## 二酸化炭素から直接物質生産をおこなう

九州大学

我々のグループは、二酸化炭素と光エネルギーで増殖できるシアノバクテリアと呼ばれる微生物を用いた、物質生産の研究を行っています。複数の酵素遺伝子で構成される合成代謝経路を遺伝子組換えで導入したシアノバクテリアを用いて、二酸化炭素から直接、イソプロパノール、乳酸、1,3プロパンジオール、グリセロールの生産に成功しています。



物質生産検証事例

### 実用化計画

- シアノバクテリアを用いた二酸化炭素からの直接物質生産

### 参考資料

- Hirokawa, Kubo, Soma, Saruta, Hanai, Metabolic Engineering, 57,23-30 (2019).
- Hirokawa, Maki, Hanai, Metabolic Engineering, 39, 192-199 (2017).
- Hirokawa, Maki, Tatsuke, Hanai, Metabolic Engineering, 34, 97-103 (2016).

### お問合せ先

九州大学農学研究院 花井泰三

**E-mail:** taizo@brs.kyushu-u.ac.jp

**URL:** <http://www.brs.kyushu-u.ac.jp/~taizo/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 植物由来の高機能プラスチック

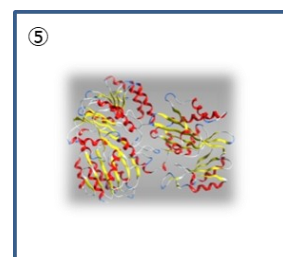
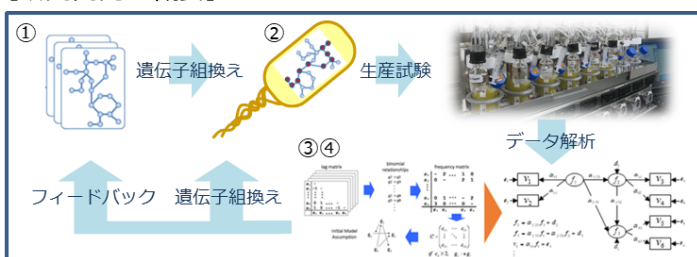
## — ポリアミド原料の発酵生産技術開発 —

東レ（株）、（国研）産業技術総合研究所、（国研）理化学研究所

### 【目的】

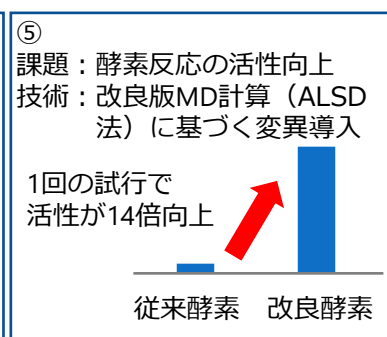
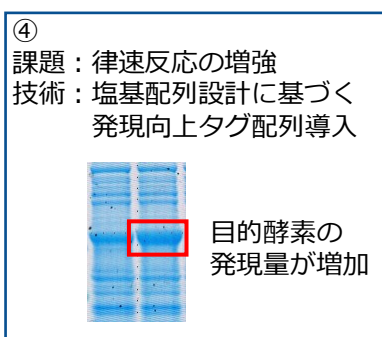
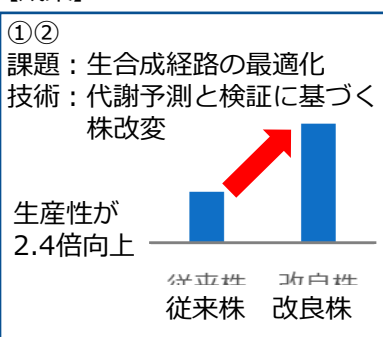
- ・高機能プラスチック（ポリアミド）原料を植物バイオマスから生産する。
- ・ポリアミド原料となる化合物を微生物発酵により高生産する技術を開発する。

### 【研究開発の概要】



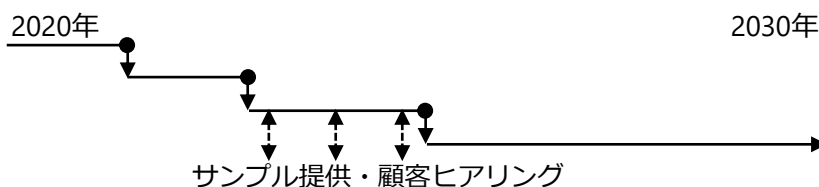
- ① 代謝シミュレーション(理研) ② 微生物の作成・評価(東レ) ⑤ 立体構造に基づく酵素高機能化(産総研/東レ)  
③ 発現制御ネットワーク推定(産総研) ④ 遺伝子発現量の調節(産総研)

### 【成果】



### 実用化計画

ラボ基本技術構築  
ベンチスケール実証  
パイロットスケール実証  
量産化



### 参考資料

- ・ Y. Saito et al., Scientific Reports, 06 Jun 2019, 9(1):8338
- ・ J. Ikebe et al., Journal of Computational Chemistry, 26 Oct 2013, 35(1):39-50

### お問合せ先

東レ（株） 磯部 匡平

E-mail: kyohei.isobe.f3@mail.toray

URL: <https://www.toray.co.jp/>

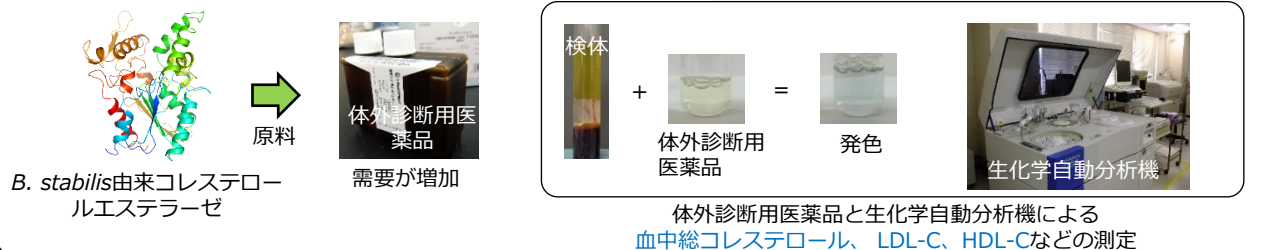
R&D achievements of NEDO smart cell project.

# 体外診断用医薬品酵素生産

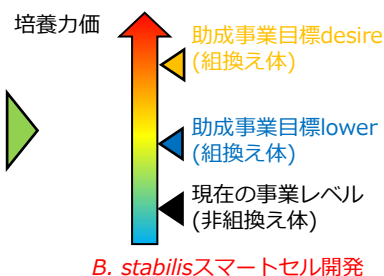
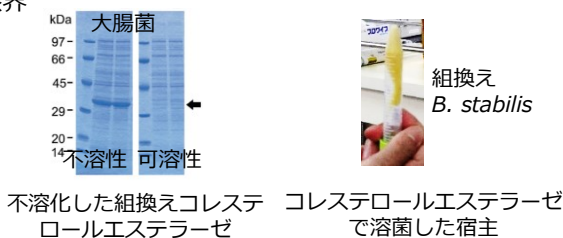
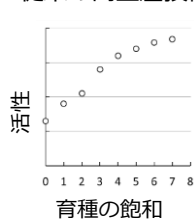
## コレステロールエステラーゼ生産スマートセルの開発

旭化成ファーマ（株）、（国研）産業技術総合研究所

需要が増加する*B. stabilis*由来コレステロールエステラーゼ

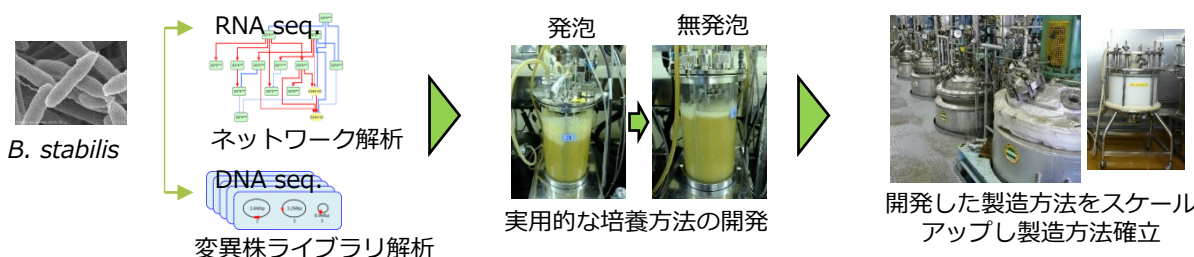


従来の高生産技術の限界



*B. stabilis*スマートセル開発

*B. Stabilis*スマートセル宿主の開発



### 実用化計画

- コレステロールエステラーゼを製造・販売予定。

### 参考資料

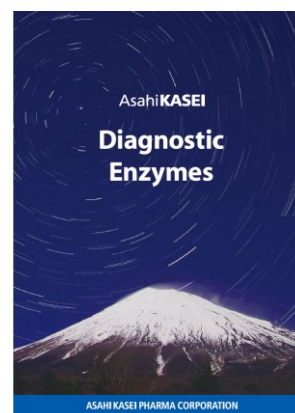
- 「新規プロモーター、および同プロモーターを用いたタンパク質の製造方法」 特願2018-103382
- 「コレステロールエステラーゼ活性が向上したポリペプチド」 特願2020-027721
- K. Konishi *et al.* Genome Announc. 2017 Jul 20;5(29):
- K Yoshida *et al.* Biosci Biotechnol Biochem. 2019 Oct;83(10):1974-1984.

### お問合せ先

旭化成ファーマ株式会社 酒瀬川 信一

E-mail: sakasegawa.sb@om.asahi-kasei.co.jp

URL: <https://www.asahikasei-pharma.co.jp/>

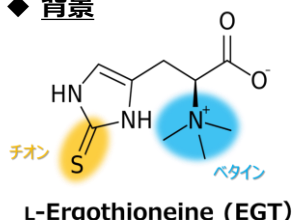




# 希少アミノ酸エルゴチオネイン高生産 スマートセルの開発

長瀬産業（株）、（国研）産総研、神戸大学、  
奈良先端科学技術大学院大学、東北大学

## ◆ 背景



- ✓ エルゴチオネイン（EGT）は一部のキノコや微生物のみがつくる天然の希少アミノ酸です。
- ✓ 強い抗酸化活性を有しており、神経新生の誘導効果など特徴的な生理機能が発見されているビタミン様物質です。(1), (2)
- ✓ 食品、化粧品、医薬品等の市場での利用が期待されますが、既存の製法ではコスト、安定供給に課題があり、特にサプリメントなどの低価格製品市場での利用が困難な状況です。

## ◆ ゴール

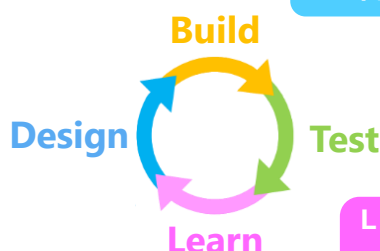
近年、ビタミン様物質として注目される希少アミノ酸エルゴチオネインのバイオプロセスによる生産技術を確認し、これまで困難であったEGTの安価かつ持続可能な大量生産を可能にします。



## ◆ 注力領域

① 酵素反応の効率化、② EGT排出能の向上

## ◆ 研究フロー



D: 酵素反応シミュレーションによる反応効率の向上・酵素高機能化法の予測（産総研）

B: ハイスループット微生物構築技術（奈良先端大・神戸大）

T: ハイスループット微生物評価技術（神戸大・東北大・長瀬産業）

L: Testデータから生産性向上に資する酵素タンパク質、遺伝子の特徴を抽出（長瀬産業・産総研）

物質生産検証事例

## ◆ 成果

- ✓ 酵素反応シミュレーションにより反応性が向上した高機能型酵素を取得しました。
- ✓ 一週間で数千株の培養評価が可能なハイスループット微生物構築・評価技術を開発しました。
- ✓ 本助成事業を通じて、事業化目標を達成するEGT生産菌の開発に成功しました。

## 実用化計画

- 助成事業を通じて構築した菌株及び、当社開発の高度精製法を用いて、工業生産を目指したスケールアップの検討を進めております。

## 参考資料

- (1) I. K. Cheah, Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease. Biochimica et Biophysica Acta, 1822(2012), pp. 784-793
- (2) B. N. Ames, Prolonging healthy aging: longevity vitamins and proteins. Proc Natl Acad Sci U S A, 115(2018), pp. 10836-10844

## お問合せ先

当社EGTにご興味ございましたら、ご連絡よろしくお願いたします。

長瀬産業（株）ナガセR&Dセンター

E-mail: takeshi.nakatani@nagase.co.jp

URL: <https://www.nagase.co.jp/>

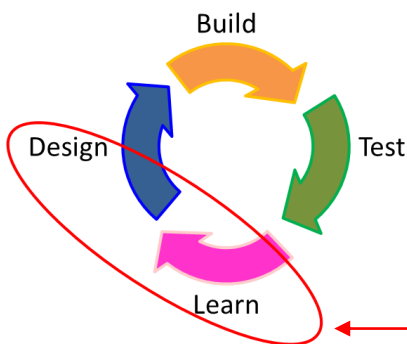
R&D achievements of NEDO smart cell project.



# MDシミュレーションに基づく酵素設計

## — 酵素設計技術を活用した化成品製造法の開発 —

天野エンザイム（株）、（国研）産業技術総合研究所、京都大学



- **解決すべき課題：** 酵素の開発においてはBTLDサイクルのうち「Learn」「Design」に時間と手間がかかり、開発におけるボトルネックとなっている。
- **活用した基盤技術：** MD計算とドッキングシミュレーションによる酵素設計技術を活用した。
- **得られた結果：** MD計算により酵素-基質のドッキングにかかわるアミノ酸を予測して、変異型酵素を設計した。実際に変異型酵素を作製して、ラボ評価を行った。その結果、既存酵素よりも優れた性質を持つ新規酵素を取得した。

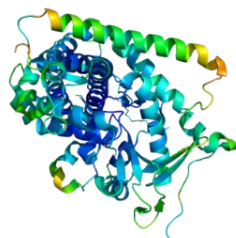
ドッキングシミュレーション  
MD計算



変異型酵素の作製

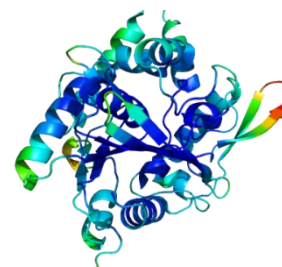
対象①：微生物由来リパーゼ

対象②：微生物由来P450酸化酵素



光学異性体選択性の向上

製造する香料原料の光学異性体純度が、従来より優れた変異型酵素を開発した。



特定位置の酸化反応

BTLDサイクルを実施して、 $\omega$ 3 油脂を位置特異的に酸化する有望な変異型酵素を開発した。

### 実用化計画

#### ①：微生物由来リパーゼ

アプリケーションに適した固定化酵素の開発、製造、販売を行う。新開発酵素を利用して、環境負荷が少なく、高品質な香料原料を製造する方法を社外に提案していく。

#### ②：微生物由来P450酸化酵素

化学プロセスでは不可能な、位置特異的な酸化反応を実現できる酵素剤を開発して、酸化酵素の産業実用化を目指す。 $\omega$ 3 油脂の高付加価値化で健康長寿社会の実現に貢献する。

### 参考資料

- 特許出願準備中

### お問合せ先

小池田 聡（天野エンザイム（株））

**E-mail:** [satoshi\\_koikeda@amano-enzyme.com](mailto:satoshi_koikeda@amano-enzyme.com) **URL:** <https://www.amano-enzyme.co.jp/>

# アウトリーチ活動

## ～研究開発成果の紹介と社会実装の促進～

(一財) バイオインダストリー協会 (JBA)

スマートセルプロジェクト開発技術を紹介しています。興味を持たれた方はお問合せください。

### 1. スマートセル技術・活用事例の特集記事

- ・バイオサイエンスとインダストリー特集記事連載 (2019-21年)

掲載済み Vol.77 No.4-6, Vol.78 No.1-4

掲載予定 Vol.78 No.5-6, Vol.79 No.1-2

- ・Nature スマートセル特集記事 (Vol. 584 No. 7819, 2020/8/5)

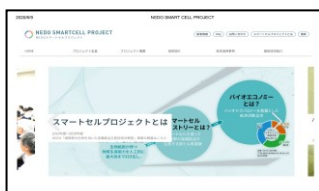
Focal Point on Synthetic Biology in Japan

[www.nature.com/collections/aejhijhibj](http://www.nature.com/collections/aejhijhibj)



### 2. スマートセル技術のホームページ・動画による紹介

- ・ホームページ



[https://www.jba.or.jp/nedo\\_smartcell/](https://www.jba.or.jp/nedo_smartcell/)

- ・動画



<https://www.youtube.com/watch?v=j5x2COZSpEQ>

### 3. 技術セミナーの開催

- ・2019 年度技術セミナー3回開催 要旨集公開中

[https://www.jba.or.jp/activity/adv\\_biotech/rd\\_project/2220/](https://www.jba.or.jp/activity/adv_biotech/rd_project/2220/)

第1回



第2回



第3回



### 4. 個別相談会

- ・技術セミナー参加企業との面談など (随時受付中)

### 5. BioJapan2020展示ブース

- ・ショートプレゼンテーション開催、成果物展示、成果資料配布

## お問合せ先

(一財) バイオインダストリー協会 (JBA)

**E-mail:** [smartcell2019@jba.or.jp](mailto:smartcell2019@jba.or.jp)

**URL:** <https://www.jba.or.jp/>

R&D achievements of NEDO smart cell project.

## おわりに

近年、持続可能な社会の実現に向けて様々な進展がありました。2019年6月に政府の統合イノベーション戦略推進会議が11年ぶりにバイオ戦略を策定したことは大きな動きのひとつです。また、地球規模の喫緊の課題である気候変動問題の解決に向けて、2020年1月に「革新的環境イノベーション戦略」が策定されました。こうした政府の動きに合わせ、産学官がそれぞれの立場から、同問題の解決に貢献する革新的なイノベーションの創出に向けた取り組みを強化していくことが期待されています。

本プロジェクトは、バイオエコノミーの創出と炭素循環社会の実現を目的として、生物機能を活用した物質生産の産業応用拡大につながる技術開発に取り組んできました。このプロジェクトから創出された成果が一人でも多くの方の目に留まり、社会課題解決や日本の経済発展に貢献できれば幸いです。

【プロジェクトマネージャー (PM)】	齋藤 貴博 (2017年4月～2019年3月)
梅田 到 (2016年4月～2016年7月)	尾上 尚子 (2017年4月～2019年9月)
林 智佳子 (2016年8月～現在)	金田 晃一 (2019年4月～現在)
	秋葉 幸範 (2019年10月～現在)
【プロジェクト担当者】	高槻 賢一 (2019年10月～現在)
後藤 謙太 (2016年4月～2017年3月)	土谷 浩史 (2020年4月～現在)
中井 岳 (2016年4月～2016年7月)	伊藤 雅人 (2020年4月～現在)
大竹 淳之 (2016年4月～2020年3月)	
河辺 智康 (2016年5月～2020年4月)	
尾野 直紀 (2016年9月～2017年3月)	
	(2020年10月現在)

NEDOは、「持続可能な社会を実現する3つの社会システム」として、サーキュラーエコノミー、バイオエコノミー、持続可能なエネルギーを定義するとともに、それらを表現したシンボルマークを制定しました。この3つの社会システムの一体的で有機的な推進を実現し、気候変動問題の解決に向けた技術開発の在り方や目指すべき方向性などをまとめた「持続可能な社会の実現に向けた技術開発総合指針2020 (NEDO総合指針)」を策定しました (2020年2月)。



# 事業者索引

(50音順)

旭化成ファーマ (株)	71
味の素 (株)	57
天野エンザイム (株)	74
(株) アミノアップ	24、60
石川県立大学	66、68
江崎グリコ (株)	65、66
エディットフォース (株)	19、22
大阪大学	54、56、67
大阪府立大学	56
岡山大学	36
花王 (株)	61
鹿児島大学	36
(公財) かずさDNA研究所	23
九州大学	5、11、22、37、39、61、67、69、73
京都大学	24、32、33、34、35、37、38、39、57、59、63、66、67、73、74
麒麟ホールディングス (株)	56
近畿大学	10、22
神戸大学	12、22、36、42、45、46、52、53、56、63、72
神戸天然物化学 (株)	56、62
大阪大学国際医工情報センター	5
(国研) 産業技術総合研究所	5、16、17、20、21、22、25、32、33、34、35、36、40、48、51、58、60、61、62、63、65、66、67、70、71、72、73、74
J S R (株)	5、63
(株) 島津製作所	52、53
信州大学	36
(独) 製品評価技術基盤機構	40
崇城大学	5
(株) ダイセル	5
高崎健康福祉大学	18、22
(株) 竹中工務店	56
玉川大学	57
(公財) 地球環境産業技術研究機構	64
(株) ちとせ研究所	5
千葉大学	5、29、47、57
筑波大学	20、21、22、49

# 事業者索引

(50音順)

東京大学	5、15、22、44
東北大学	5、23、36、48、72
東レ（株）	70
徳島大学	5、7、22、57、60
長岡技術科学大学	61、67
長瀬産業（株）	72
奈良先端科学技術大学院大学	5、27、72
新潟薬科大学	67
（株）ニコンインステック	50
日揮（株）	5
日本大学	5
日本テクノサービス（株）	43
（一財）バイオインダストリー協会	5、61、75
（株）バイオジェット	65
（株）日立製作所	37、38、39
日立造船（株）	5
大阪大学Hitz協働研究所	5
広島大学	13、14、22
福岡県醤油醸造協同組合	73
不二製油グループ本社（株）	67
（株）ブリヂストン	5
（株）ベックス	5
ホクサン（株）	58
北海道医療大学	56
（公財）北海道科学技術総合振興センター	30、57、60
北海道大学	26
北海道三井化学（株）	59
三菱ケミカル（株）	5、63
（株）三菱ケミカルリサーチ	5
明治大学	5、8、22
（株）ユージェナ	5
横浜国立大学	28
理化学研究所	5、9、22、32、33、34、35、65、67、70、73



**国立研究開発法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構**

**材料・ナノテクノロジー部**

〒212-8554 神奈川県川崎市幸区大宮町1310 ミューザ川崎セントラルタワー 19F

Tel 044-520-5220 Fax 044-520-5223

<https://www.nedo.go.jp>

**New Energy and Industrial Technology Development Organization**

**Materials Technology and Nanotechnology Department**

NUZA Kawasaki Central Tower 19F, 1310 Omiya-cho, Saiwai-ku, Kawasaki City, Kanagawa 212-8554 Japan

Tel +81-44-520-5220 Fax +81-44-520-5223

<https://www.nedo.go.jp/English/index.html>