

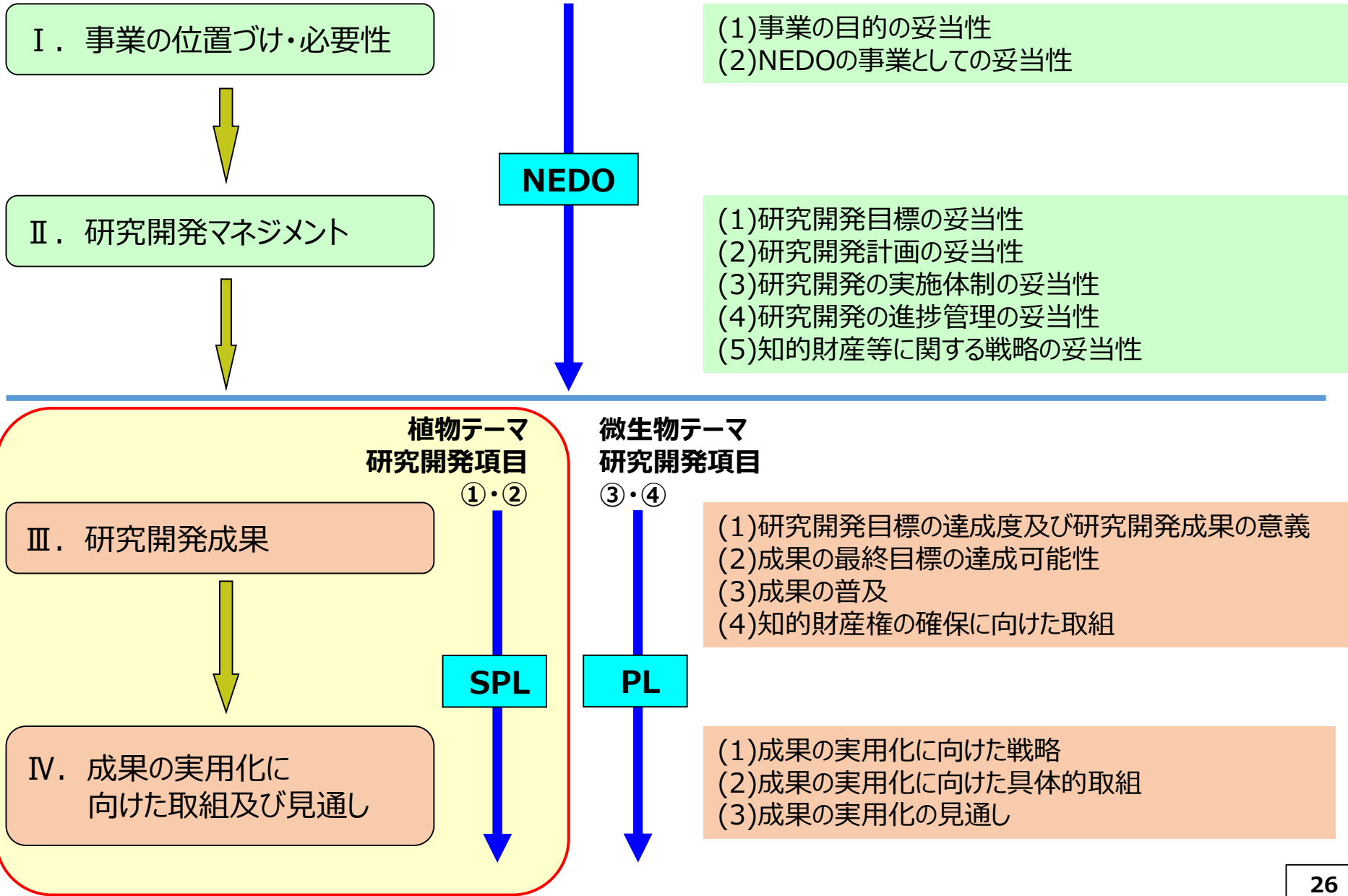
# 「植物等の生物を用いた高機能品 生産技術の開発」 （事後評価）

（2016年度～2021年度 6年間）

## プロジェクトの概要 （公開）

### 5.2 「研究開発成果及び成果の実用化に向けた取組及び見通し」

- 研究開発項目① 植物の生産性制御に係る共通基盤技術開発（委託）
- 研究開発項目② 植物による高機能品生産技術開発（助成）
- 研究開発項目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）
- 研究開発項目④ 微生物による高機能品生産技術開発（助成）



現在、化学合成による多種多様な製品/原材料が産業利用されており、今後の社会・産業発展において、これら化合物の需要は高まる一方であると容易に推察される。



化学合成系からバイオプロセスへの変換



**植物は約20～100万種類の化合物を天然に生合成しており、天然資源としての産業における利用度は非常に高い**

植物は、光合成による低エネルギー投入型の生産系  
植物体は生分解性であり、環境負荷の軽減も見込まれる。

薬用植物等に代表される有用化合物を生産する植物種は、栽培による安定・計画的生産が困難なものが多い。

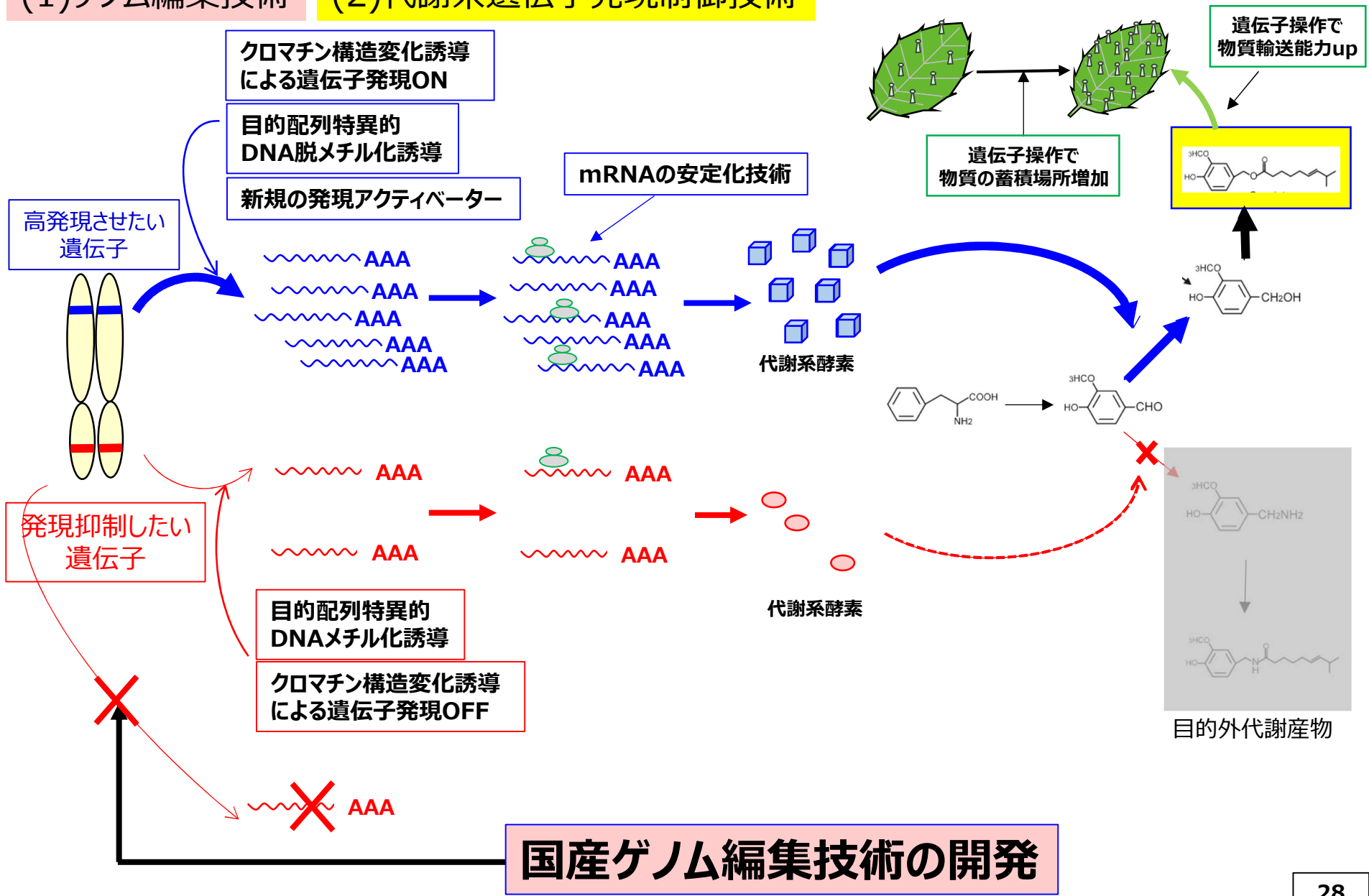
しかも、生産の8割以上を海外に依存、将来的な安定供給も担保しがたい。



植物体（細胞）のスマートセル化により、効率的な植物生産系を開発。  
国内での植物バイオプロセスを利用した実用化・産業展開を目的とする。

(1)ゲノム編集技術

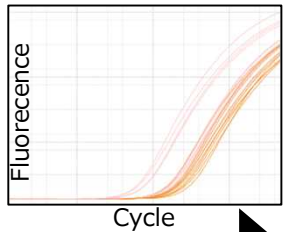
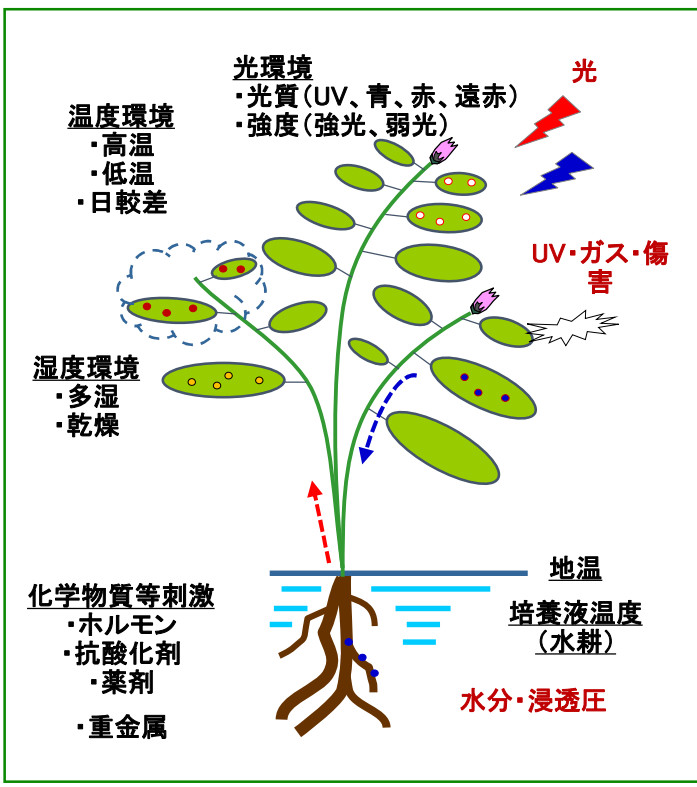
(2)代謝系遺伝子発現制御技術



3. テーマの概要 (0)背景と目的 研究開発項目① 植物の生産性制御に係る共通基盤技術開発

(3)栽培・生育環境による発現制御技術

植物は環境ストレスや環境刺激に対抗・適応する能力として、多種多様な二次代謝産物の生合成調節能力を有している。

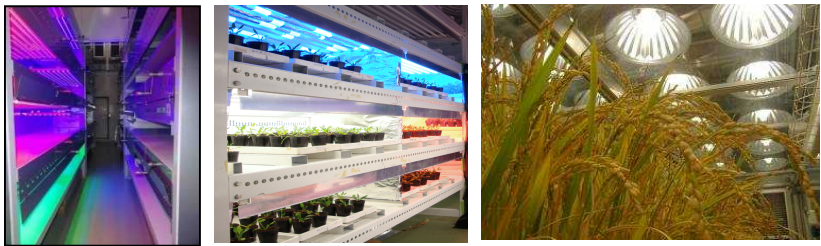


遺伝子発現解析

生合成系	モニタリング遺伝子	光処理 A	光処理 B	...	薬剤処理 A	薬
テルペノイド系	HMGR	↑	→	→	↑	
	DXS	↑	→	→	↓	
	...	↓	→	→	↓	
アルカロイド系	QPT	→	↑	↑↑	→	
	MPO	→	→	→	→	
フラボノイド系	CHI	↑↑↑	→	→	→	
	F3H	→	→	→	→	
	...	→	↓	→	↓↓↓	
アントシアニン系	F3H	→	→	→	→	
	DFR	→	↓	↓	→	
	...	→	→	→	↓	

人工環境・栽培技術と二次代謝系遺伝子発現の関連をインデックス化

代謝産物増強のための汎用性のある栽培・環境基盤技術の開発を目指す



自然環境の影響を受けない高性能完全人工光型植物工場実験

目的変動環境要因以外は、常に一定の再現性のある環境で実験を実施することが他の環境要因の影響を排除する意味で重要

3. 研究開発成果 (1) 研究開発目標の達成度及び研究開発成果の意義

◆ 研究開発項目毎の目標と達成状況

◎ 大きく上回って達成、○ 達成、  
△ 一部達成、× 未達

研究開発項目①「植物の生産性制御に係る共通基盤技術開発」			
	(1)ゲノム編集技術	(2)代謝系遺伝子発現制御技術	(3)栽培・生育環境による発現制御技術
最終目標 (2020年度末)	<ul style="list-style-type: none"> <li>植物等による物質生産機能の制御・改変において、既存のゲノム編集では対応できない新しい機能を有する国産のゲノム編集関連技術の確立</li> <li>開発項目②の実用植物において、開発した国産ゲノム編集技術の有効性を示す</li> <li>ゲノム編集を産業利用するために必要な要素技術を戦略的に集約し、国産ゲノム編集技術基盤を確立する</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>目的代謝系遺伝子の発現を5倍程度増強又は1/10以下に抑制する技術の確立</li> <li>開発項目②の実用植物において、開発した遺伝子発現制御技術の有効性を示す</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>目的代謝系における主要遺伝子/産物の発現を5倍程度増強させる技術の確立</li> <li>開発項目②の実用植物において、開発した栽培・生育環境による発現制御技術の有効性を示す</li> </ul>
成果	<p>複数の独自の認識モジュールの開発、高度なゲノム改変技術の開発、様々な動作原理の導入技術の開発、ゲノム編集ツールおよびゲノム編集生物の評価アッセイ系の確立、これら要素技術を連結させた技術パッケージの開発、および利用を促進させるためのゲノム編集産業化ネットワーク/実証拠点の基盤構築</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>DNA脱メチル化で約60倍の遺伝子発現増強、メチル化で10%以下に抑制</li> <li>②の実用植物利用は、現在実施中</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>栽培インデックスにより10倍程度の発現増強達成</li> <li>②の複数の企業において試用、いずれも顕著な効果を示した。</li> </ul>
達成度	○	◎/△	◎
今後の課題と解決方針	<p>実証拠点を基盤としたゲノム編集試験研究の拡大、関連ベンチャー（4社）を軸とした実用化推進を実行中。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>助成事業実施企業との共同研究等継続による事業化へ向けた取り組みの継続を実施</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>成果の普及、活用のための対外的宣伝活動への取り組みを継続</li> </ul>

### 3. 研究開発成果 (1) 研究開発目標の達成度及び研究開発成果の意義

#### ◆ 研究開発項目毎の目標と達成状況

◎ 大きく上回って達成、○ 達成、△ 達成見込み（中間） / 一部達成（事後）、× 未達

	研究開発項目②「植物による高機能品生産技術開発」
最終目標 (2020年度末)	<ul style="list-style-type: none"> <li>化学合成等による競合品と比較して、コスト、性能等の面で総合的に競争力があることを示す</li> </ul>
成果	<ul style="list-style-type: none"> <li>半数以上の課題において、コスト面において大きな優位性を示される結果を得られている。一部の課題においては、化学合成等による製造よりも効果・効能面で優位性を示す結果も得られつつある。</li> </ul>
達成度	◎/△
今後の課題と解決方針	<ul style="list-style-type: none"> <li>既に最終目標値を達成している課題においては、ラボ/実証スケールからパイロット/実生産スケールへの拡大展開を図るフェーズに移行している。</li> <li>一方、一部最終目標値未達の課題においては、引き続き実質的な共同研究体制等を維持しつつ、目標到達への取り組みを継続している。</li> </ul>



◆プロジェクトとしての達成状況と成果の意義 (植物課題全般)

(1)ゲノム編集技術

・本課題においては、標的配列の認識、編集酵素の開発、植物への導入方法、および植物オルガネラゲノムの編集技術開発等の要素技術において新規、かつ独自の技術開発に成功しており、海外において多寡占状況の当該分野において、重要な基盤技術の開発・確立に成功した。

開発した各要素技術のパッケージング化を行い、企業等がOne Stopで利用しやすいような体制を構築しており、国内ゲノム編集技術の実用化加速を促す取り組みを行っている。

(2)代謝系遺伝子発現制御技術

・植物内在性遺伝子の発現調節に係るDNAのメチル化/脱メチル化において、特に標的配列特異的な脱メチル化誘導においては、独創的、かつ簡便な技術開発・知財化に成功し、当該技術では世界トップレベルにある。

(3)栽培・生育環境による発現制御技術

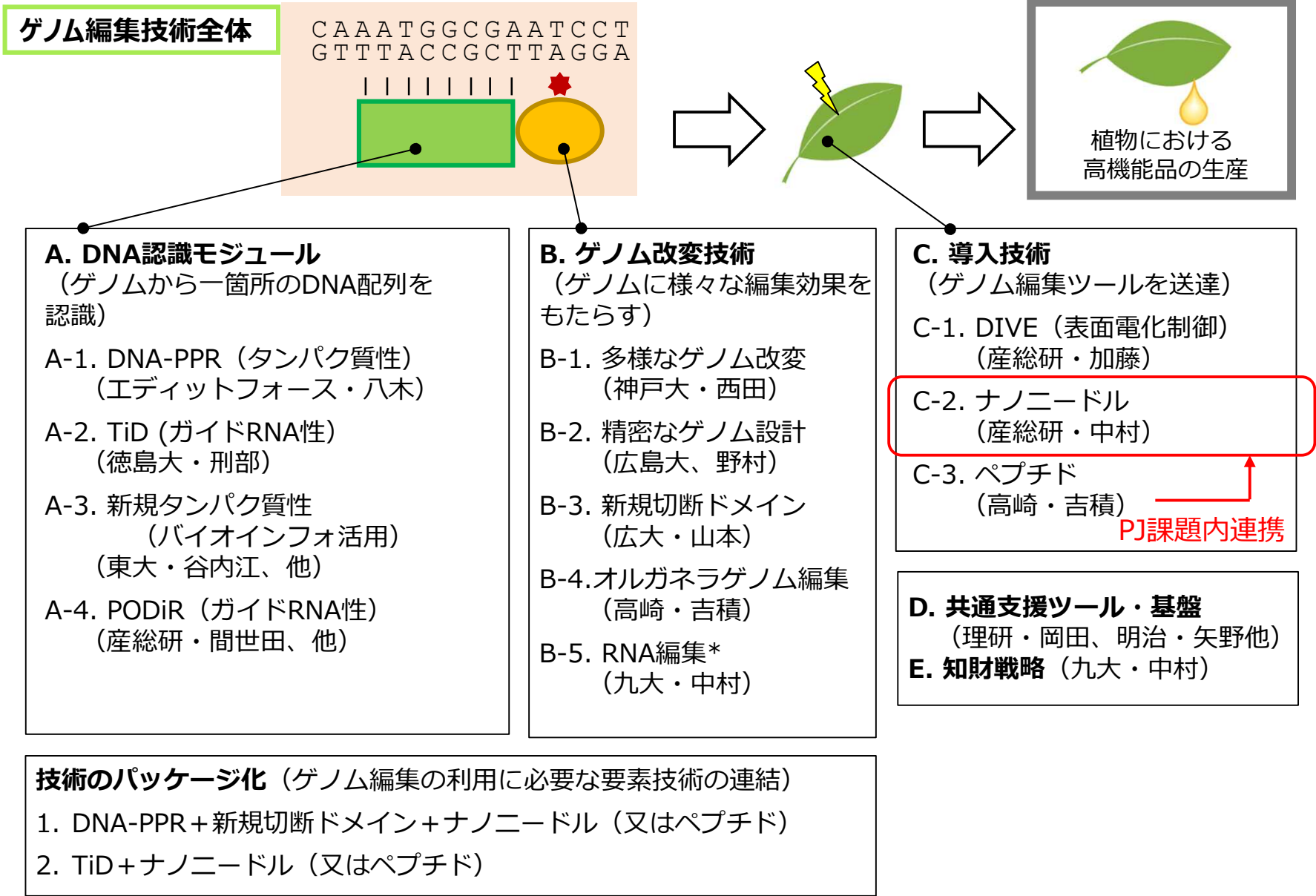
・本プロジェクトにおいて、植物の栽培環境変動と代謝系変動を遺伝子発現レベルで相関したインデックスを世界で初めて作製した。本インデックスを用いることで、目的代謝産物の生合成量を栽培環境によって人為的に変動可能であることが実証できた。

・当該インデックスによる代謝産物増減技術は、高い効率で目的物質の収取を可能にする一方で、特段の施設や装置等が不要で、高度かつ習熟した技術も必要とせず、遺伝子組換え等の規制もかからないことから、容易・簡便で速効性・汎用性の高い技術であり、このような技術は他に存在せず、植物利用した物質生産の市場拡大に大きく貢献すると推察できる。



研究開発項目① 植物の生産性制御に係る共通基盤技術開発

「ゲノム編集の国産技術基盤プラットフォームの確立」



研究開発項目① 植物の生産性制御に係る共通基盤技術開発

「ゲノム編集の国産技術基盤プラットフォームの確立」

研究成果例

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

実施機関（代表）・

国立研究開発法人 産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門（中村 史）

課題内連携：高崎健康福祉大学（吉積 毅）

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

導入技術：開発の意義と目的

ゲノム編集のツールを遺伝子組換え技術により導入する必要がある

現在、植物の遺伝子組換えはアグロバクテリウム法が主流となっている。  
いずれにしても、遺伝子が導入された細胞から、植物体を再生（再分化）させる技術  
「組織培養技術が必須」

現在、多くの植物種で遺伝子組換え系は未だ確立されていない、  
「組織培養技術」の確立には、**年単位の研究開発期間が必要**

特に産業上有用な二次代謝を生合成する生薬植物類に至っては、  
遺伝子組換えの報告があるものでも、**2割未満**である。

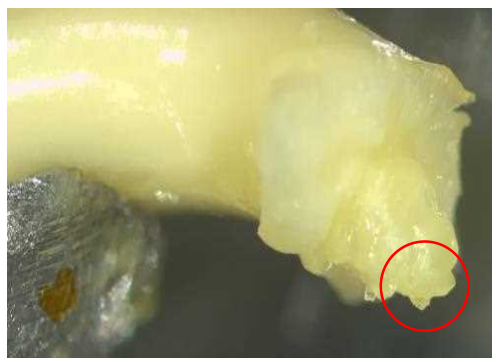
植物ゲノム編集の実用化・社会実装には簡便で適用/応用範囲の広い技術が必要



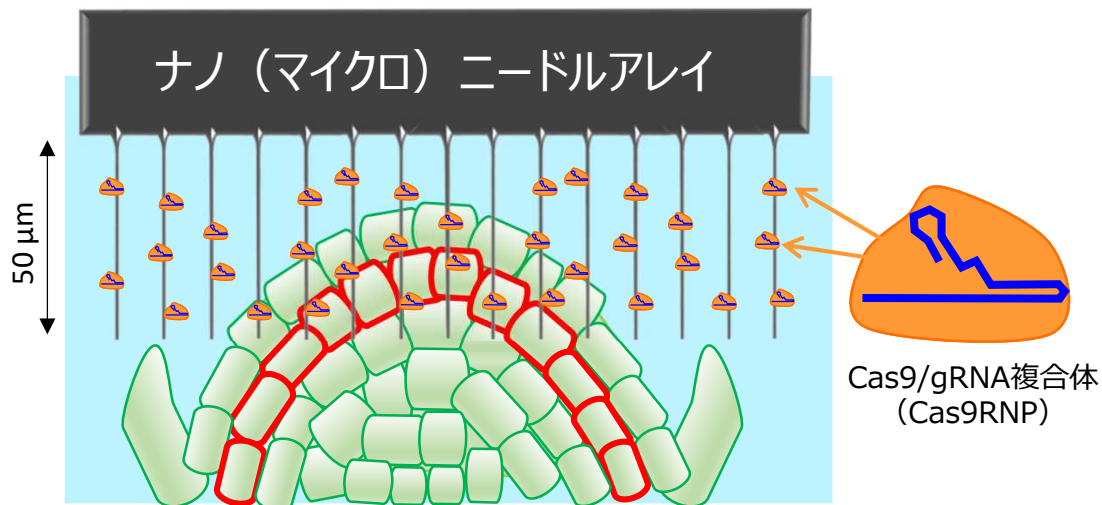
物理的に遺伝子/タンパク質を植物細胞に導入可能な「ナノニードル技術」の開発

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

## 種子胚や茎頂分裂組織を標的 (組織培養を経ず植物体を得る)



ダイズ茎頂分裂組織



生殖系列に分化する細胞を含む茎頂分裂組織2層へゲノム編集タンパク質を送達するために、長さ50  $\mu\text{m}$ 以上のナノニードルが配列したデバイスを物理的に組織に挿入する。

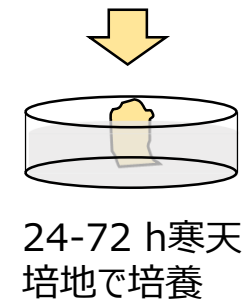
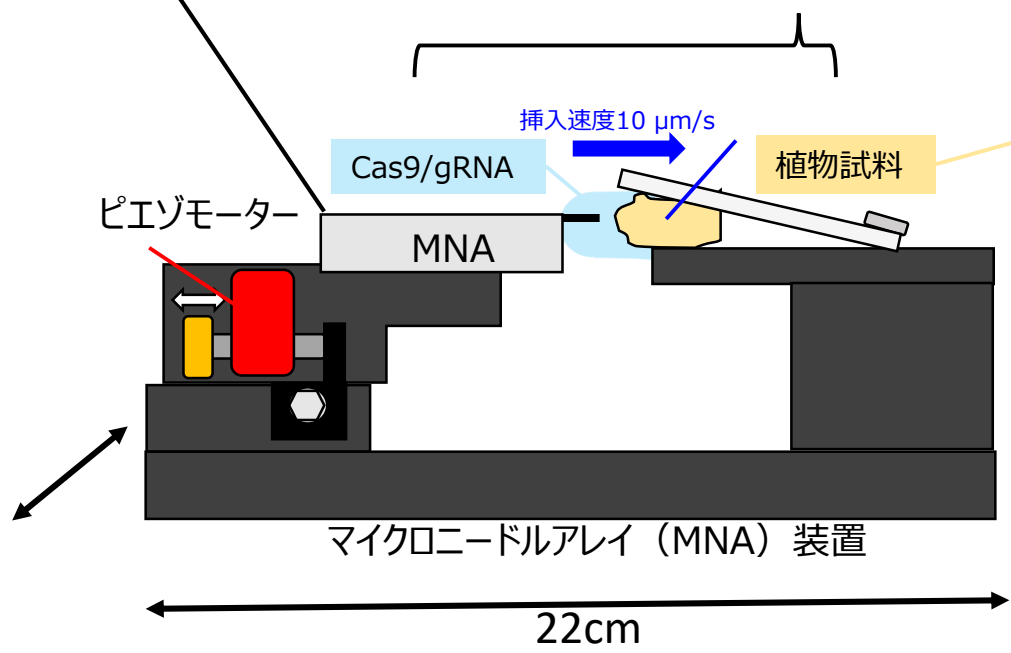
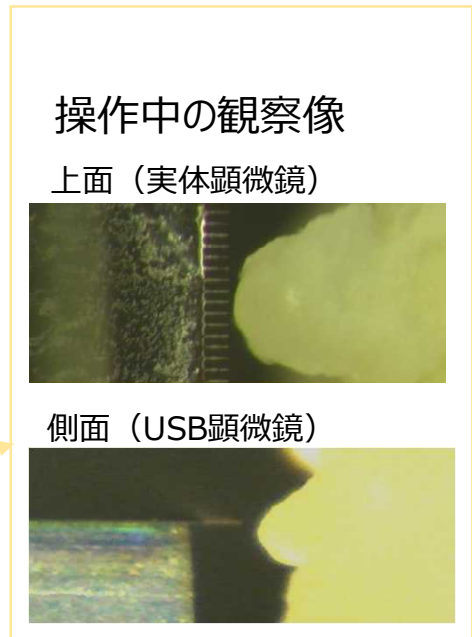
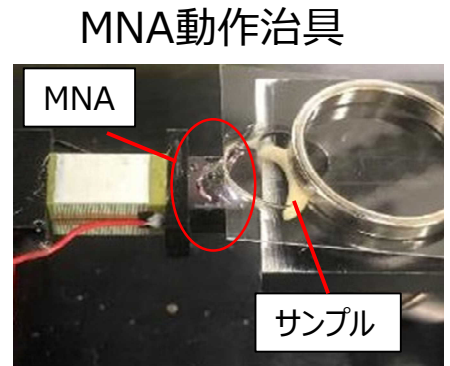
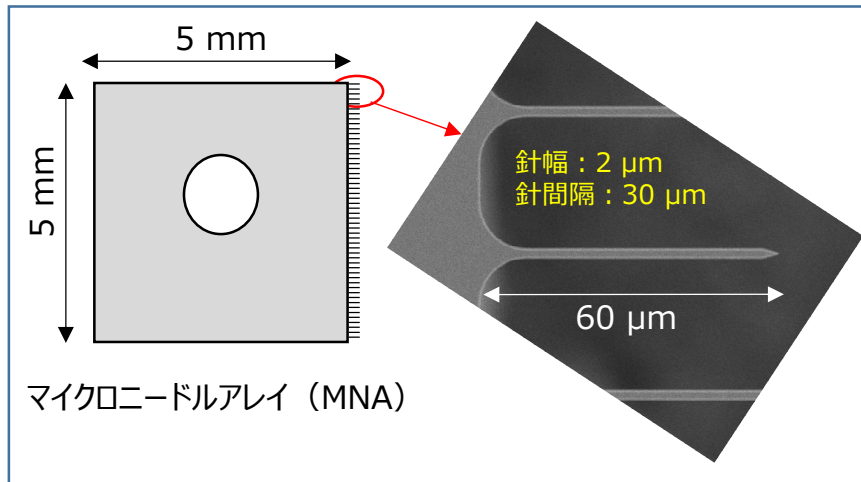
## 種子胚や茎頂分裂組織を標的とした「ナノニードル」による遺伝子/タンパク質の導入の概要図

### 問題点

植物は動物培養細胞等と異なり、**堅い細胞壁を有しており**、  
ニードルが、折れたり、曲がったりせず、壁を貫通して細胞内へ届く必要がある

### マイクロニードルアレイ (MNA) 装置

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」

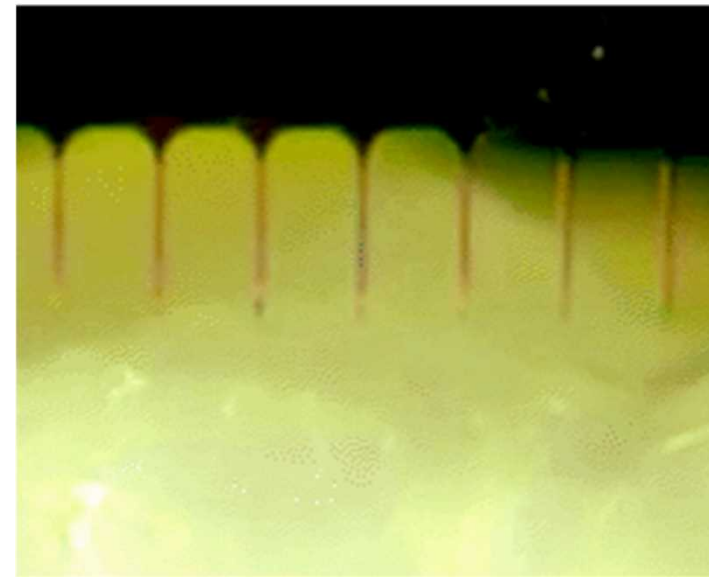


ナノニードルを用いたゲノム編集モジュールの植物個体へのデリバリー

### シロイヌナズナ葉組織への挿入



### ダイズ茎頂分裂組織への挿入



### マイクロニードルの植物組織への挿入

長さ60  $\mu\text{m}$ , 幅2  $\mu\text{m}$ , ピッチ30  $\mu\text{m}$ のマイクロニードルは植物組織に効率よく挿入すること可能であった



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



ナノニードル処理を行ったダイズの生育 鶴の子大豆 (栽培品種)

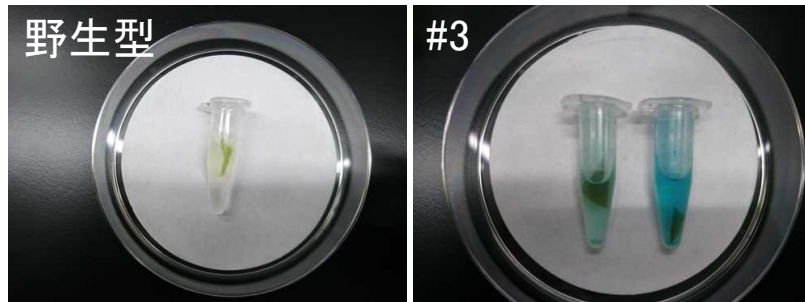
特別な組織培養過程を経ずに個体が再生し、次世代種子を得ることに成功した。

特定の種に依存しない遺伝子導入法となる。

特願2021-013616「核酸を植物細胞のゲノムへ導入する方法」

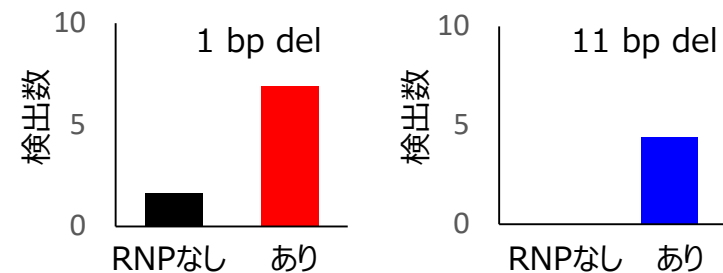
GUS遺伝子導入実験

GUS染色



次世代の芽生えにおいてGUSレポーター活性を確認した。

ダイズのPDS遺伝子ゲノム編集実験



10万リードあたりの欠失リード検出数

ナノニードルアレイを用いた茎頂分裂組織のゲノム編集の技術的原理証明が成された。

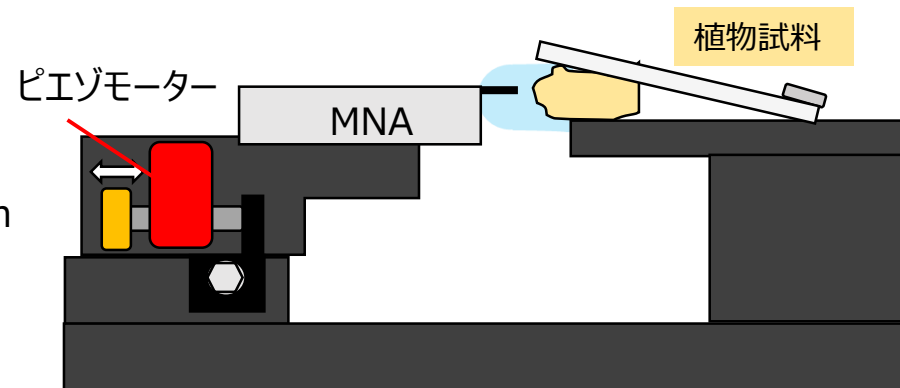
2021年10月より企業との共同研究開始予定。

## 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

### 実用化の見通し

#### ナノニードルアレイ装置

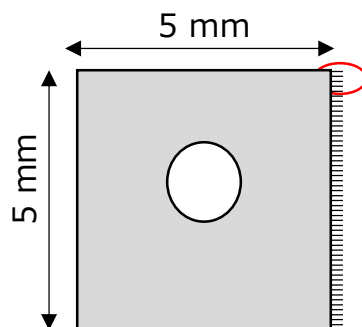
- ・装置寸法 WDH 220 mm×210 mm×100 mm
- ・接近速度 0.1～35  $\mu\text{m/s}$



産総研の知財をライセンスアウトし、機械装置メーカーで委託製造販売を行う。

装置価格200万円程度

(実体顕微鏡、PC、カメラ、動作装置、ソフトウェアを含む、(アルミ加工治具を含まず))



マイクロナノ・オープンイノベーションセンターによる製造販売  
100チップ/ケース 30万円 (2ケースから受注)

2021年10月より企業との共同研究開始予定 (ゲノム編集)。

研究開発項目① 植物の生産性制御に係る共通基盤技術開発  
遺伝子発現制御および栽培環境制御の融合による代謝化合物高生産基盤技術開発」

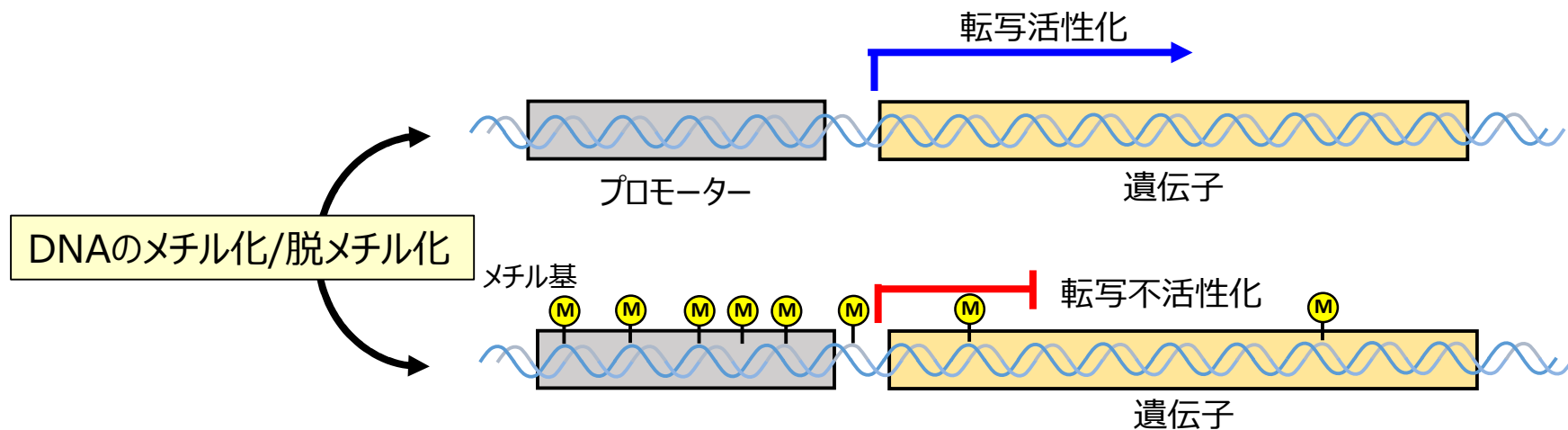
研究成果例

「目的遺伝子の特異的メチル化解除による発現制御技術開発」

実施機関（代表）・  
北海道大学大学院農学研究院（増田 税）

植物は環境変動に対して、遺伝的に同じ植物であっても、DNAメチル化・脱メチル化で、遺伝子のON/OFFを調整し、代謝・生合成系を調節することで、環境適応を図っている。

植物に異種遺伝子が侵入した場合、その異種遺伝子特異的にDNAメチル化を行い、その遺伝子発現を抑制する（ジーンサイレンシング：TGS）



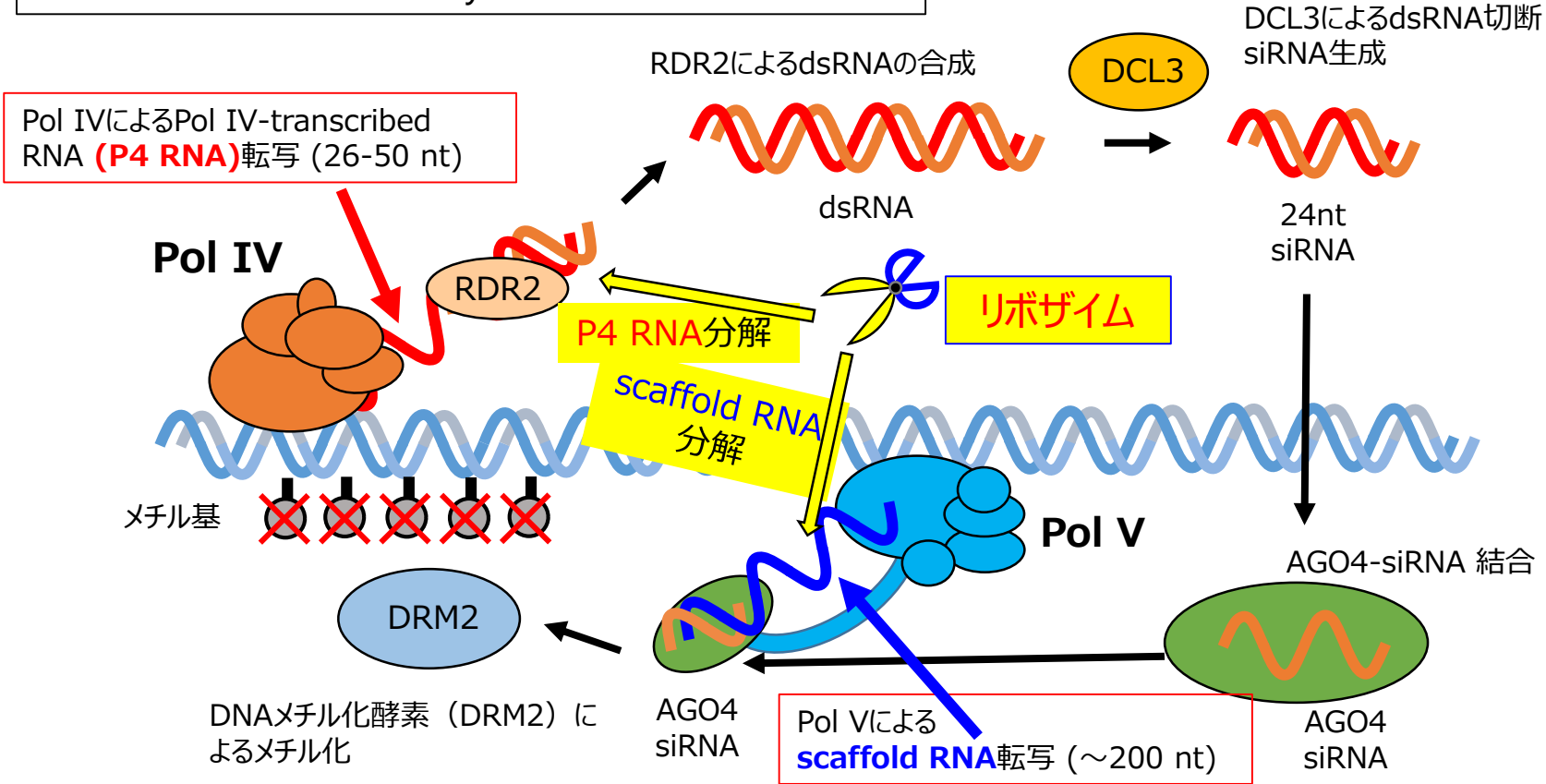
植物だけが、すべての“C”(シトシン残基)をメチル化するメカニズムを有している

DNAのメチル化を配列特異的に簡便に解除する技術はない

人為的に、目的の遺伝子のDNA配列特異的にメチル化/脱メチル化を誘導する技術を開発

植物では独自のRNA-directed DNA methylation (RdDM) により、DNAメチル化が誘導され、遺伝子の発現が不活性化される

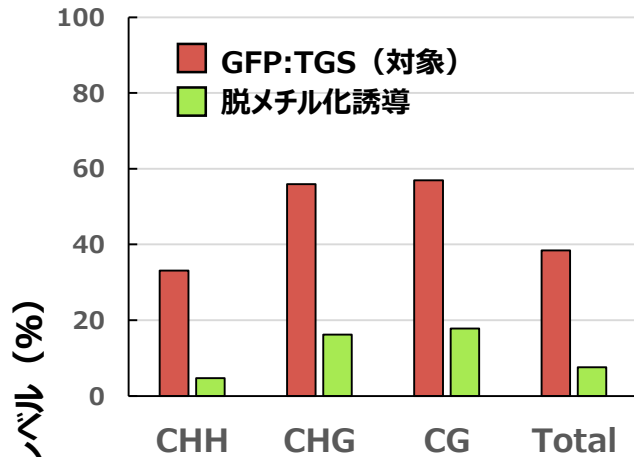
RNA-directed DNA methylation概要と研究戦略図



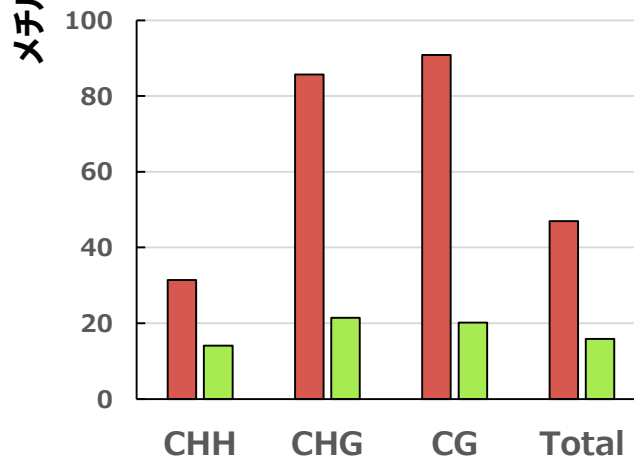
- RdDMによるDNAメチル化にはP4 RNAやscaffold RNAが重要である
- P4 RNAやscaffold RNAを分解することでDNAメチル化を抑制する

TGSにより発現抑制されているGFP遺伝子の脱メチル化を試みる (ターゲット配列 : 35S Pro.)

35Sプロモーター メチル化レベル  
プラス鎖

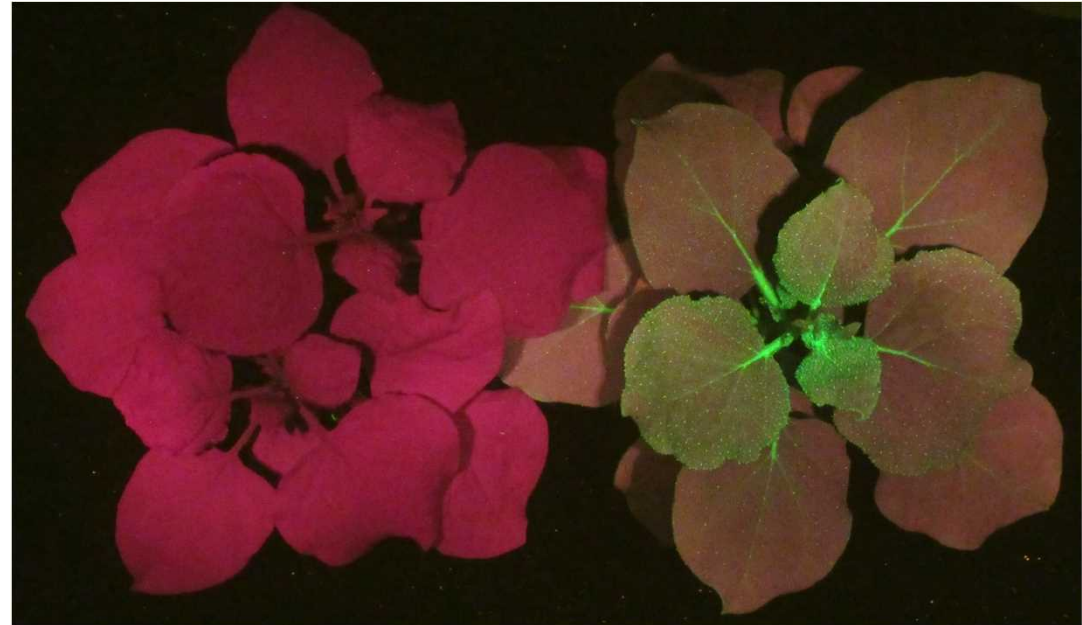


マイナス鎖



GFP:TGS個体

脱メチル化誘導個体



← DNAの脱メチル化が誘導され、その結果GFP遺伝子の発現も復活した →

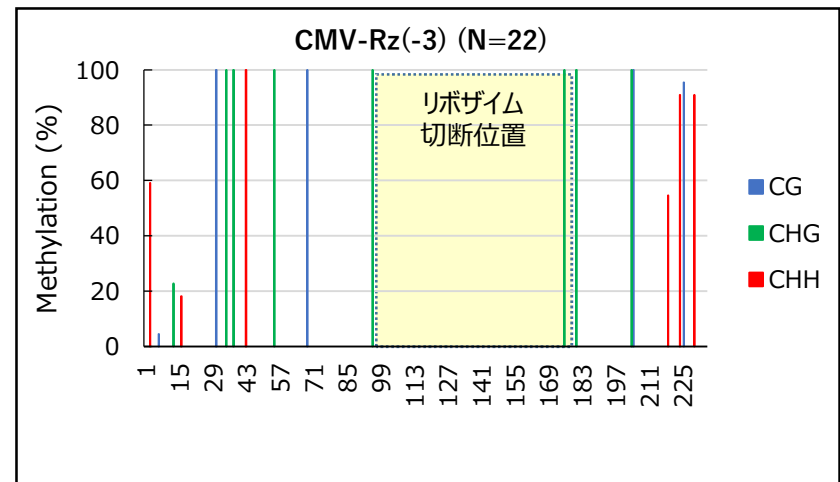
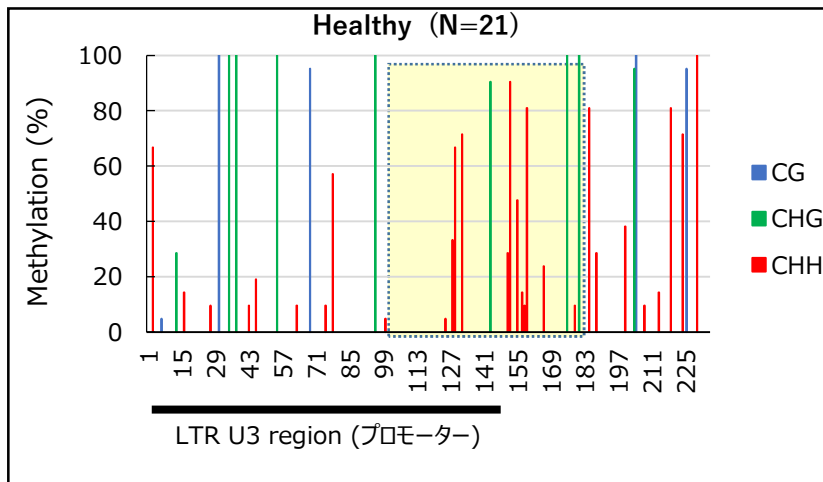
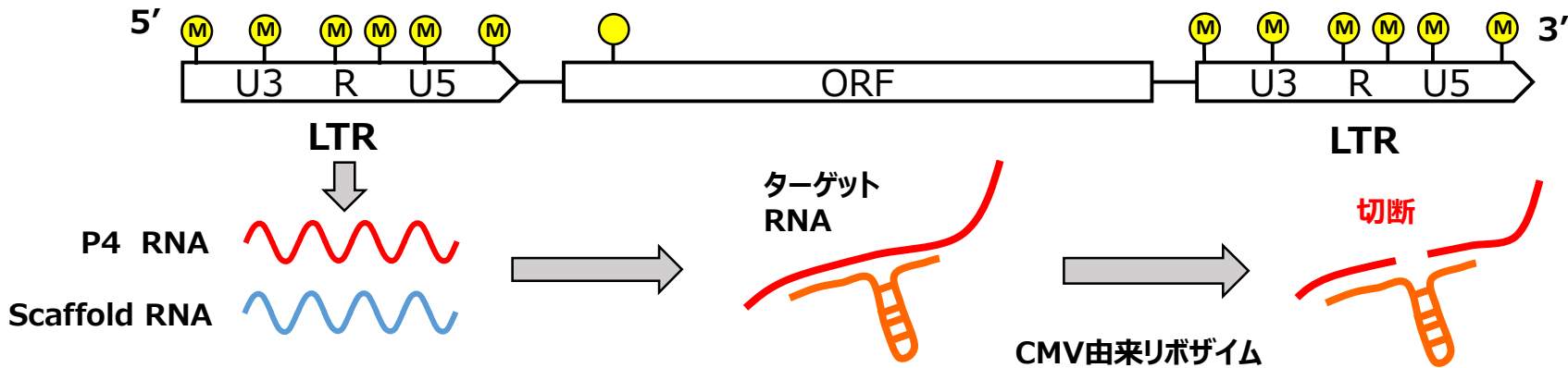
➤ ウイルスベクターの接種だけで、目的DNA配列特異的に脱メチル化を誘導する技術の開発に成功した。

特願2018-139316:PCT/JP2019/029318



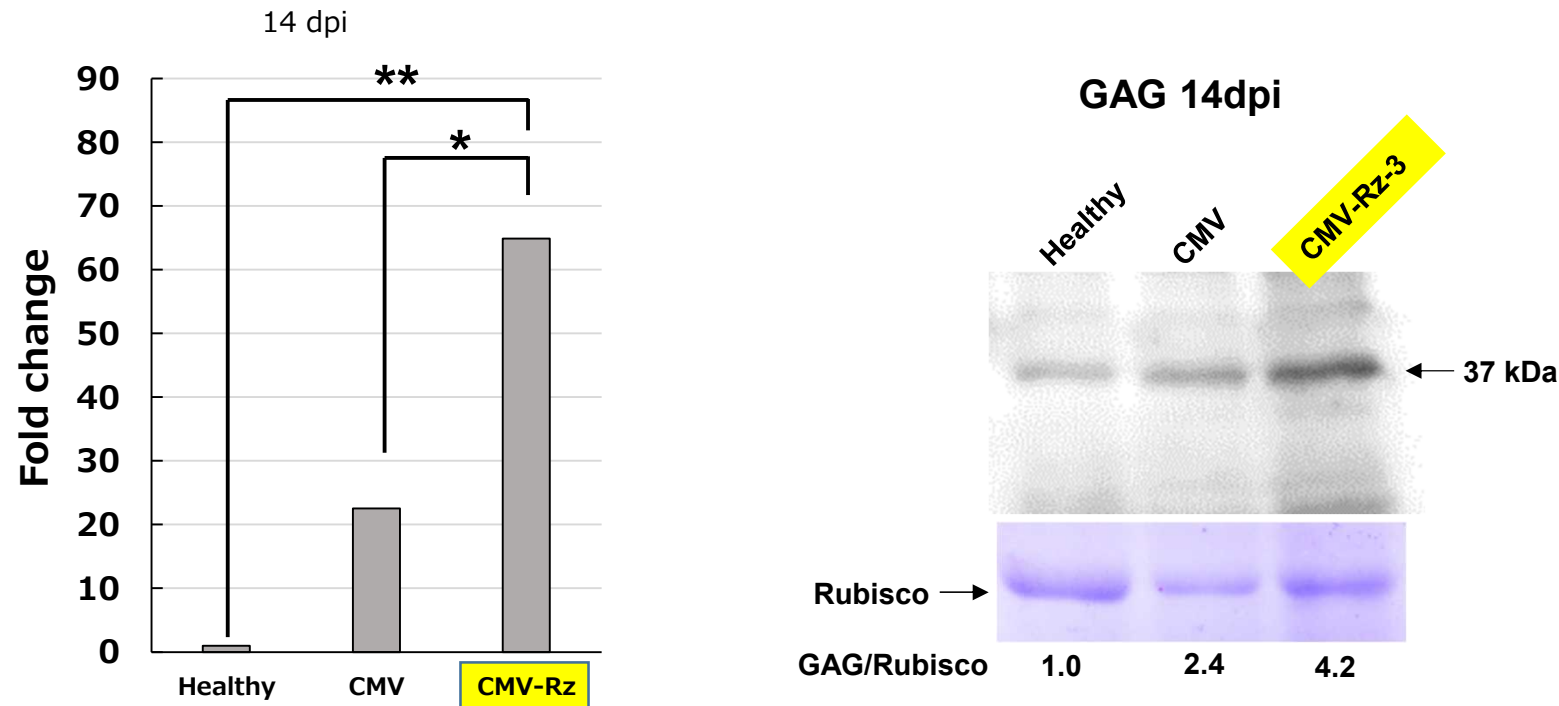
ベンタミアーナタバコ内在性遺伝子 (TNT1) をターゲットに脱メチル化を誘導する

レトロトランスポゾンTNT1の構造



- TNT1メチル化レベルがTotalで元の約60%、CHHメチル化レベルは約30%に低下
- リボザイム切断位置 (125) 周辺ではほぼ完全にCHHメチル化が消失した

## TNT1のLTR U3 regionの脱メチル化によって、発現レベルが上昇した



➤ TNT1の発現レベルは、接種後14日で健全個体の約60倍の発現レベルを示した

➤ TNT1のタンパク質であるGAGの発現レベルは、接種後14日で健全個体の約4倍、の発現レベルを示した。

Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test

\* P < 0.05, \*\* P < 0.01

## 本開発技術の特性と実用化

リボザイムは**目的とするターゲットに対して、高い特異性で設計**することができる

◆ 植物ウイルスによってリボザイムを発現させるため、**遺伝子組換えをすることなく**、目的の遺伝子の発現を操作することができる

◆ リボザイムによる脱メチル化状態は、**ウイルスフリーの次世代にも遺伝する**



◆ 植物の遺伝子組換え系が確立されていない植物種にも広く応用可能である

◆ 用いたウイルスベクターが種子伝染しない植物種の場合、次世代において人為的遺伝子は一切残存せず、脱メチル化が誘導された植物体を得ることが出来る。

◆ 上述のように、簡便で、広範囲の植物種において、目的DNA配列の脱メチル化を誘導し、用いた遺伝子ツールも次世代において残らない技術は、世界初で有り、応用範囲は広い。

- 北大TLO等、ライセンス活動（例：JST 新技術説明会等）
- Nature Focal Point (by NEDO)

## 研究開発項目① 「植物の生産性制御に係る共通基盤技術開発」

年度	論文		その他外部発表				受賞実績
	査読付き	その他	学会発表・講演	新聞・雑誌等への掲載	展示会への出展	プレス発表等その他	
2016	5	0	27	2	0	0	2
2017	13	0	66	13	2	0	1
2018	26	0	79	9	6	0	1
2019	12	0	83	6	5	1	3
2020	43	0	80	8	12	6	4
合計	99	0	335	38	25	7	11

## 企業からの問い合わせ件数

問合せ	取組中	実施
43	29	16

## 研究開発項目② 「植物による高機能品生産技術開発」

年度	論文		その他外部発表				受賞実績
	査読付き	その他	学会発表・講演	新聞・雑誌等への掲載	展示会への出展	プレス発表等その他	
2016	0	0	1	3	1	0	0
2017	0	0	6	1	1	0	0
2018	1	0	9	1	3	2	0
2019	1	0	9	2	3	0	1
2020	3	0	5	7	5	1	0
合計	5	0	30	14	13	3	1

### 3. 研究開発成果 (3) 知的財産権等の確保に向けた取組

公開

◆ 知的財産権の確保に向けた取組

**研究開発項目①**  
「植物の生産性制御に係る共通基盤技術開発」

年度	特許出願			ノウハウ
	国内	海外	PCT	
2016	1	0	0	0
2017	1	0	0	0
2018	6	2	4	5
2019	9	0	4	1
2020	9	1	1	5
合計	26	3	9	11

**研究開発項目②**  
「植物による高機能品生産技術開発」

年度	特許出願			ノウハウ
	国内	海外	PCT	
2016	0	0	0	0
2017	3	0	0	0
2018	4	0	1	2
2019	2	0	2	0
2020	4	4	2	2
合計	13	4	5	4

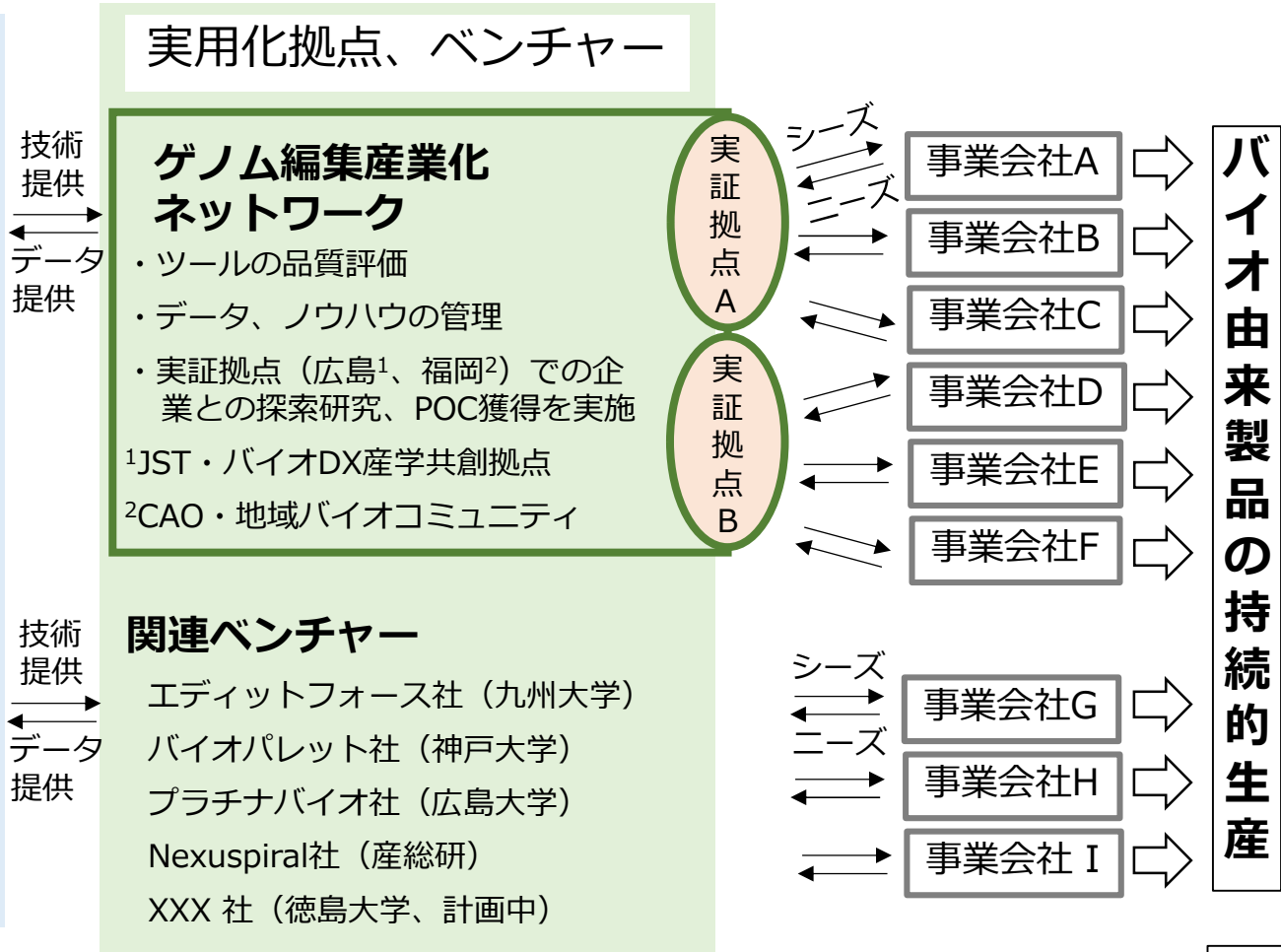
4. 成果の実用化に向けた取組及び見通し (1) 成果の実用化に向けた戦略

◆ 実用化に向けた戦略

(1)ゲノム編集技術

開発されたゲノム編集技術を実証拠点に集約し、(1) 探索研究によるPOC獲得、事業シーズの具体化、(2) 属人性・属環境性を排した汎用性の実証、(3) 品質に関する定量的な評価、(4) 利用実績とブランド力の拡大、を得ることで、ゲノム編集技術を利用したバイオ由来製品生産のさらなる加速を図る。

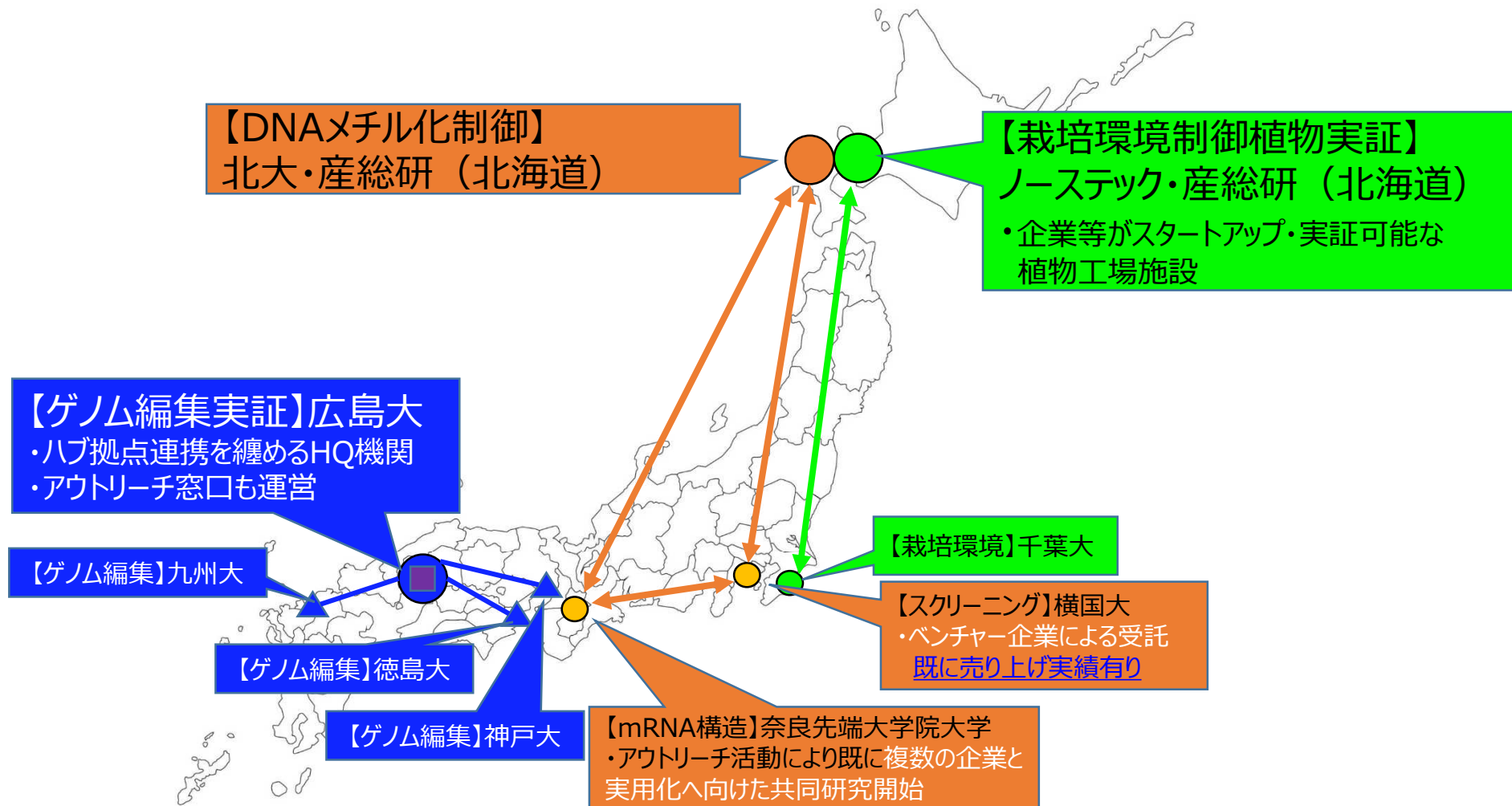
- プロジェクトの成果**
- A. DNA認識モジュール**
    - DNA-PPR (タンパク質性) (EditForce・九州大学)
    - TiD (ガイドRNA性; 徳島大学)
    - PODiR (ガイドRNA性; 産総研)
    - 新規ツール
  - B. ゲノム改変技術**
    - 多様なゲノム改変; 神戸大学)
    - リコンビナーゼ (広島大学)
    - 新規切断ドメイン (広島大学)
    - オルガネラゲノム編集 (高崎健康福祉大学)
    - RNA編集 (九州大学)
  - C. 導入技術**
    - DIVE (表面電化制御; 産総研)
    - ナノニードル (産総研)



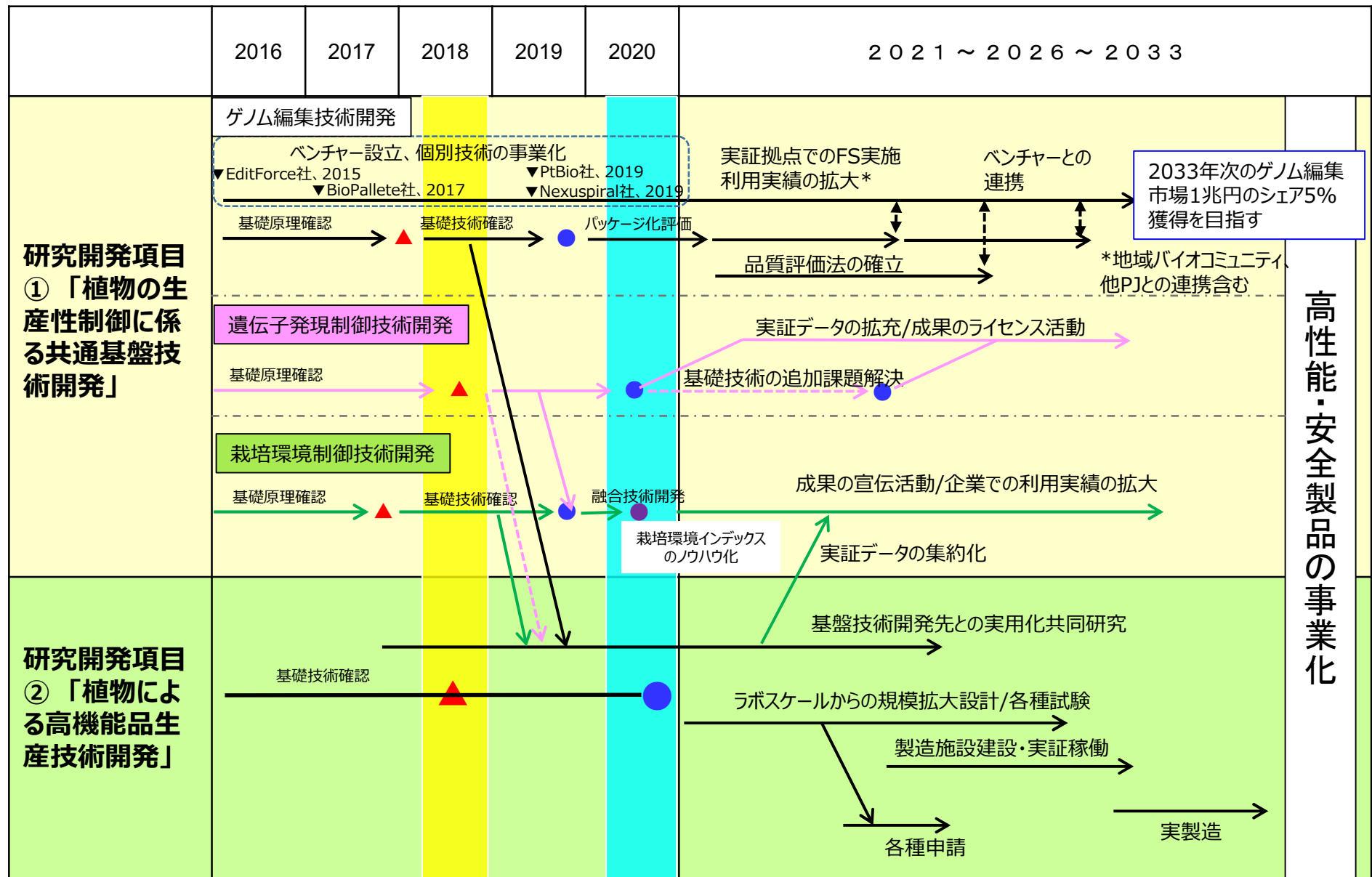


4. 成果の実用化に向けた取組及び見通し (1) 成果の実用化に向けた戦略

研究開発項目① 「植物の生産性制御に係る共通基盤技術開発」



4. 成果の実用化に向けた取組及び見通し (2) 成果の実用化に向けた具体的取組



中間目標      最終目標

▲: 基本原理確認      ●: 基本技術確立

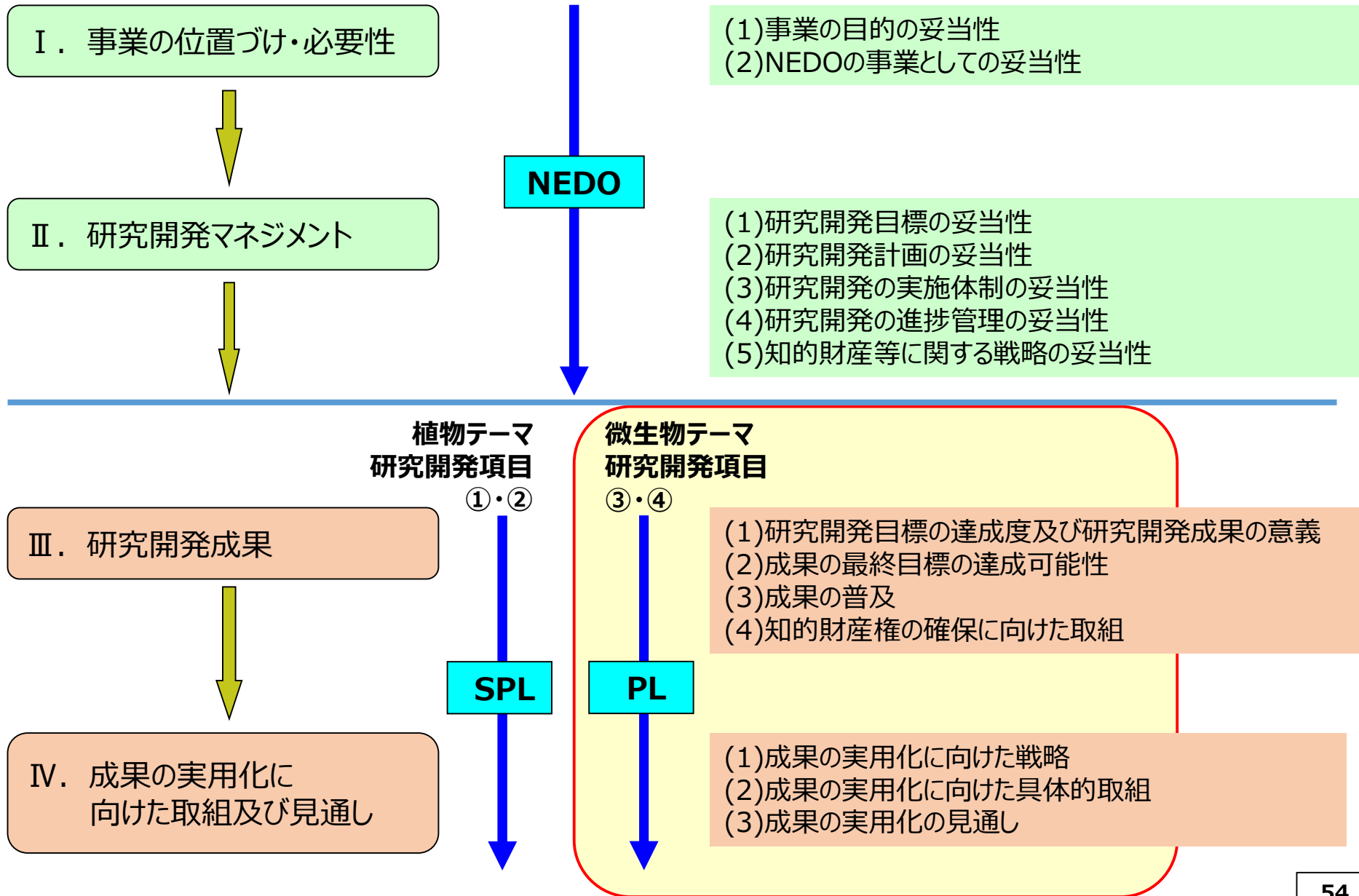
# 「植物等の生物を用いた高機能品 生産技術の開発」 （事後評価）

（2016年度～2021年度 6年間）

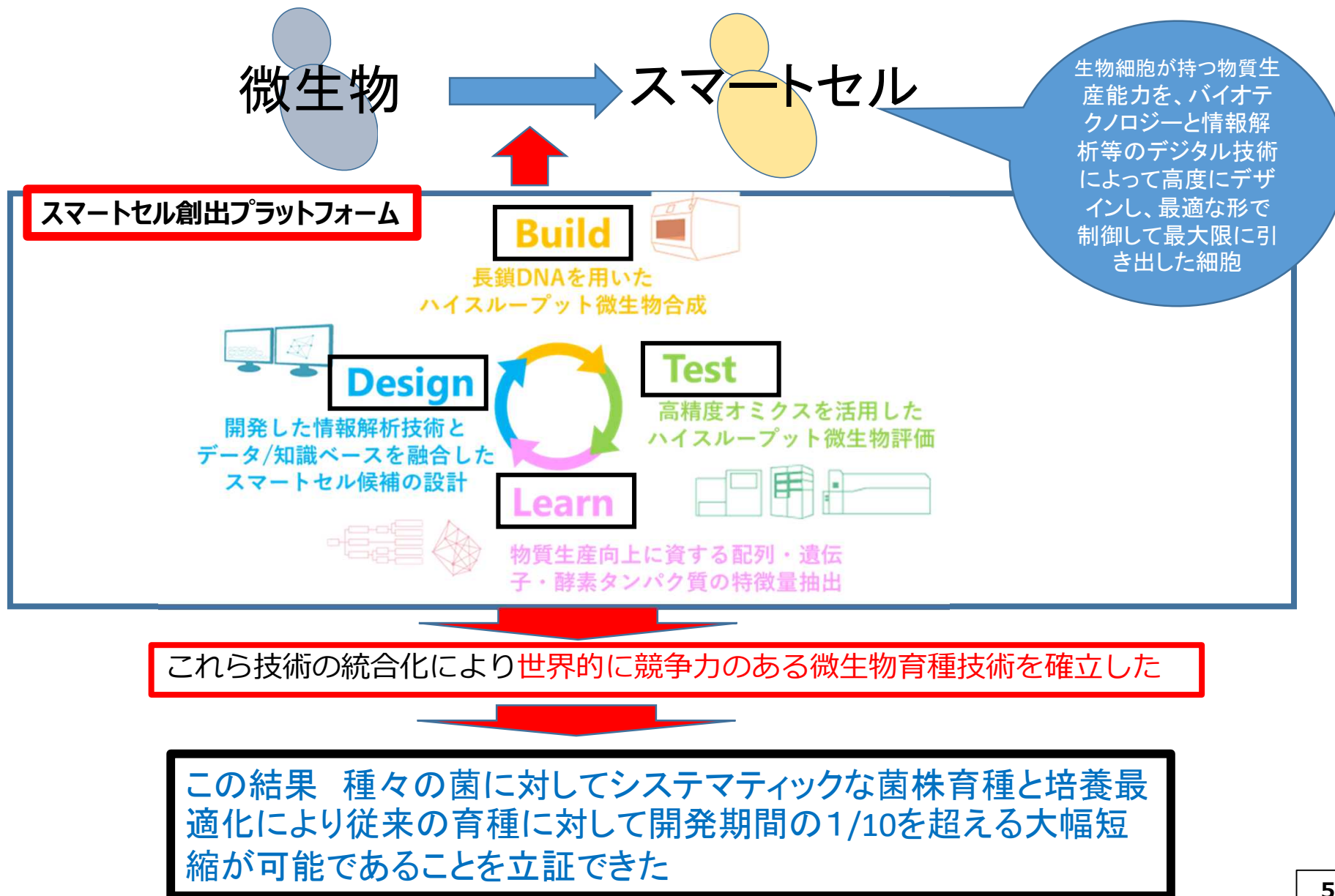
## プロジェクトの概要 （公開）

### 5.2 「研究開発成果及び成果の実用化に向けた取組及び見通し」

- 研究開発項目① 植物の生産性制御に係る共通基盤技術開発（委託）
- 研究開発項目② 植物による高機能品生産技術開発（助成）
- 研究開発項目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）
- 研究開発項目④ 微生物による高機能品生産技術開発（助成）



### 研究開発項目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



3. 研究開発成果 (1) 研究開発目標の達成度及び研究開発成果の意義

◆ 研究開発項目毎の目標と達成状況 (共通基盤技術)

	研究開発項目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」			研究開発項目④「微生物による高機能品生産技術開発」
	(1)ハイスループット合成・分析・評価手法の開発	(2)高生産性微生物設計システムの開発	(3)高生産性微生物創製に資する情報解析システムの有効性検証	
最終目標	<ul style="list-style-type: none"> <li>・(1)(2)で開発したシステムを用いることにより、従来育種と比較し、物質生産株の開発期間を1 / 10に短縮することを実証する。また、微生物ライブラリーの構築プロセスの自動化により、さらなる開発期間の短縮化を図る。</li> <li>・(1)(2)で開発した要素技術、システムを維持・運営するための事業化モデルを策定する。</li> </ul>			<ul style="list-style-type: none"> <li>・全ての企業でコスト、性能面で競争優位性が認められ、2030年までの事業化スケジュールが確立している。</li> </ul>
成果	<p>菌株構築では長鎖DNA合成技術、シャーシ株開発技術を開発、育種開発ではOMICS解析技術、センサー開発技術、排出輸送体解析技術、自家蛍光プロファイル解析技術を開発し、これらを統合したハイスループット評価系の構築を行い、(2)のシステムとの統合により従来にない速度での開発が可能となった。</p> <p>複数の遺伝子を素早く組み替えて育種株の早出ができ、性能を素早く検証できる</p>	<p>代謝設計・最適化、ネットワーク構築技術、タンパク質・酵素設計技術、知識ベース開発の技術開発、およびデータベース開発を行い、新奇代謝物の合成、生産性の向上、生産ボトルネックの解消、情報集積・整理の各問題に対して解決できる技術を開発し、それらを統合することにより、問題に統合的に対処できるシステムを構築した。</p> <p>ユーザのニーズに対応できるゲノムを設計できるシステムを構築</p>	<p>実際に「応用問題」を解くことで、様々な問題点を抽出</p> <p>DBTLサイクルをまわすことで、システム自体の高度化に貢献</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・事業化を目指すターゲットで有効性を検証</li> </ul> <p>本プラットフォームによる高速育種に成功</p> <p>従来育種で限界レベルの微生物に対しても有効性が示された微生物生産が実現していないターゲットの生産が実現</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・既に最終目標値を達成している課題においては、ラボ/実証スケールからパイロット/実生産スケールへの拡大、顧客へのサンプル調査、事業化判断に移行している。</li> </ul>
達成度	○	○	○	○
今後の課題と解決方針	<ul style="list-style-type: none"> <li>・トータルソリューションを出す一貫システムへの作り込みが必要</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・生産量と生育というトレードオフの最適化が今後必要</li> <li>・実用化へのツールブラッシュアップ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・実例での効率を検証しシステムのレベルアップを行う。</li> </ul>	<p>解決すべき課題が残ったテーマについては引き続き実質的な共同研究体制等を維持しつつ、目標到達への取組を継続。</p>

## ◆プロジェクトとしての達成状況と成果の意義（共通基盤技術）

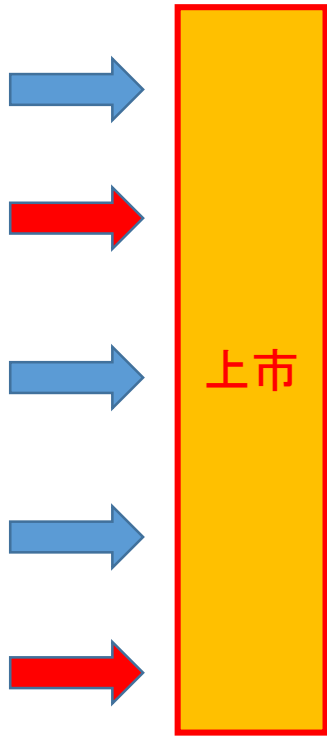
- 本事業で開発した**スマートセル創出プラットフォーム技術**を活用して**DBTLサイクルをまわす**ことで、従来育種と比較して**効率的に高機能な物質生産能力を有する微生物スマートセルの獲得が可能**であることを検証できた。
- **目的に合わせて技術を最適に組み合わせる**ため汎用性が高く、**産業ニーズへの対応力が高く、微生物を活用した物質生産の市場拡大への貢献**が期待できる。
- 欧米型微生物改変技術（宿主毎に膨大な実験データを取得し大量データがある場合、高精度のルール抽出が可能）に対して、**実験系で取得する現実的なデータ数でより正確に汎用性の高い解析結果をアウトプットできる情報解析システム**を開発したことにより、「大量データ+宿主依存型」からの脱却が可能となり**生産株開発コスト低減が期待できる**点で優位性がある。
- **独自の大規模微生物株構築技術や高速高精度な微生物株性能評価技術**に加え、情報解析技術との連携を強化して**体系的なデータ取得・管理システム**を構築したことにより、従来にない速度での多様な微生物の創製が可能となり**育種開発期間の圧倒的な短縮化**ができる。



◆プロジェクトとしての達成状況と成果の意義 (助成事業企業テーマ)

【研究開発項目④】	最終目標 (実用化の定義)
微生物による高機能品生産技術開発	・企業が設定するターゲット化合物に関して、目標とする生産性を実現した生産株もしくは生育条件を獲得

テーマ名	助成先	使用した基盤技術	達成状況 (2021.2月末時点) ・実用化見通し(2021.8月時点)
ポリアミド原料の発酵生産技術開発	東レ株式会社	代謝最適化	生産株改良と事業化に向けた大規模生産プロセス開発を実施中。*
組換えBurkholderia stabilis由来コレステロールエステラーゼ開発	旭化成ファーマ株式会社	ネットワーク解析 OMICS解析	目標生産株取得、製造スケール培養条件確立。事業化に向けた大規模生産プロセス検討中。
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	長瀬産業株式会社	代謝最適化 OMICS解析	世界最高レベルの生産株取得。事業化に向けた大規模生産プロセス検討中。
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	福岡県醤油醸造協同組合	ネットワーク解析	生産株取得と培養条件確立。事業化に向けた大規模生産プロセス検討中。*
生体触媒の反応機構推定に基づく高付加価値化成品の製造法開発	天野エンザイム株式会社	タンパク質酵素開発	目標とする生産株取得。事業化に向けた大規模生産プロセス検討中。



助成事業者の中ですでに上市へ進んでいる企業

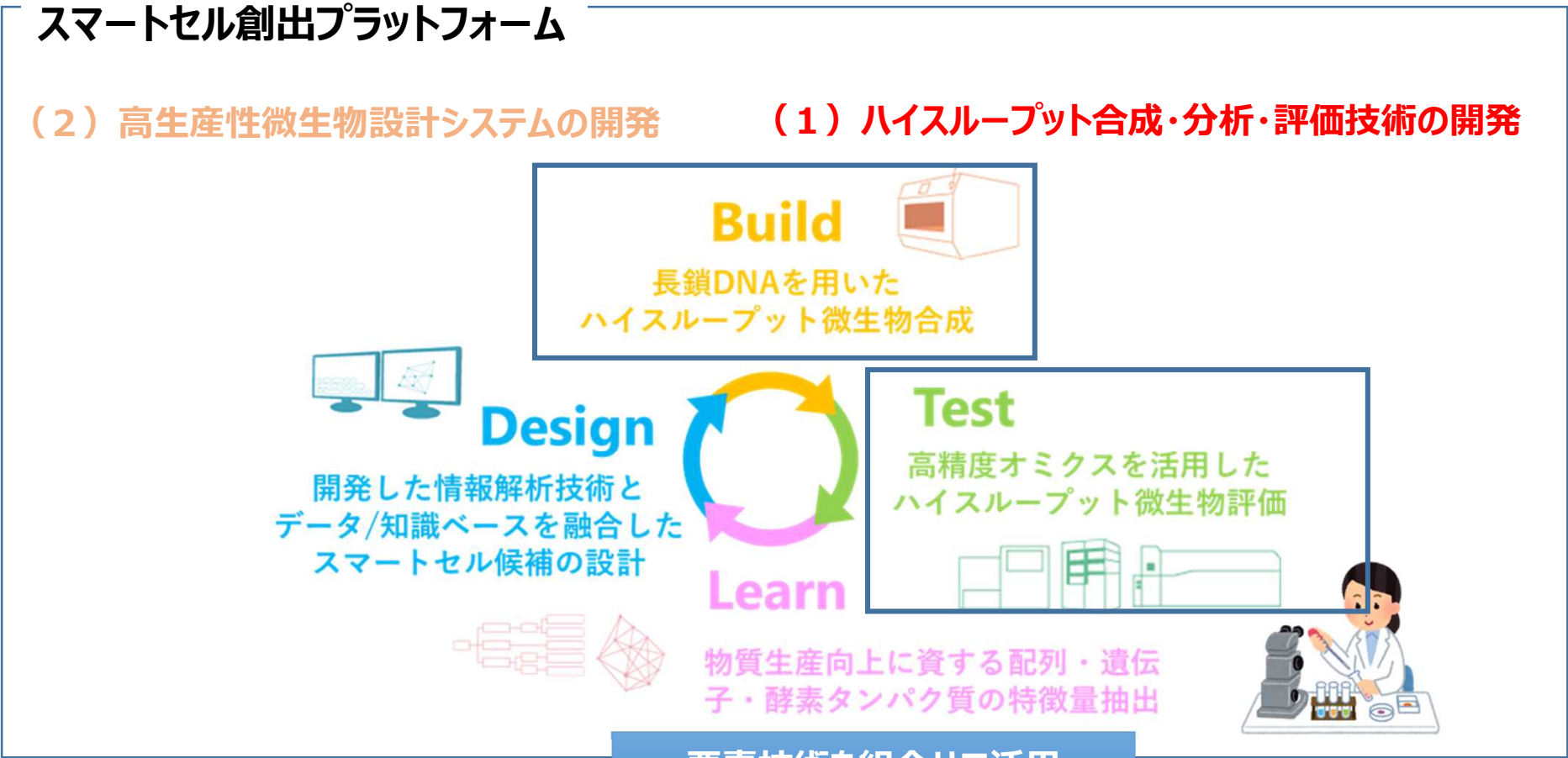
## ◆プロジェクトとしての達成状況と成果の意義

### 波及効果

- 個別企業との連携促進、産学連携コンソーシアムの形成  
DBTLサイクルのバイオ分野への浸透
- 汎用化学品（合成樹脂原料）、高機能物質（医薬品素材など）のバイオ生産産業化の加速
- 新規ナショナルプロジェクトへの展開
  - NEDO「カーボンリサイクル実現を加速するバイオ由来製品生産技術の開発」
    - スマートセル開発技術に対して民間投資誘発
    - 遠隔化・自動化に関連した新産業分野（機械、IT産業等）の市場の拡大
    - コロナ禍後の社会システムの中で研究や産業利用促進
- 関連産業の市場拡大に伴う民間投資誘発および雇用創出、人材育成

## スマートセル創出プラットフォーム構築

### (1) ハイスループット合成・分析・評価技術の開発



(3) 高生産性微生物創製に資する情報解析システム (スマートセル創出プラットフォーム) の有効性検証

開発技術 1 (Wet)

長鎖DNA合成・解析技術の開発

【開発した技術の概要】

特願2019-069798など4件、事業化  
*Nat. Biotech.*誌, *Nucleic Acid Res.*誌などで報告

- ✓ 長鎖DNA合成を難合成配列に適用可能としたうえ、高速合成、低コスト化に成功。Clone Select法の確立、ライブラリ要素の組合せを最適化する遺伝子配列設計法の開発にも成功した。

最終目標	成果
<ul style="list-style-type: none"> <li>長鎖DNA合成と配列決定の迅速化かつ低コスト化</li> <li>DNA分子バーコードを用いた目的クローン評価・単離技術 (CloneSelect法) の確立と実用化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>合成難易度に関係ない長鎖DNA合成技術を確立し、ハイスループット化 (2週間) と低コスト化 (5円/塩基) を実現した。塩基配列決定と転写量測定も高速化した。</li> <li>大腸菌において実用可能なClone Select法を確立した。</li> <li>新規DNA配列設計法を開発し、有効性を検証した。ワクチン抗原高生産菌 (従来生産量の5倍)、リモネン高生産菌 (最高値) の開発に貢献した。</li> </ul>

高精度メタボローム解析技術開発

【開発した技術の概要】

特願2021-010181など計12件、事業化3件  
*Metab. Eng.*, *Talanta*誌などで報告

- ✓ 再現性とスループット性の支配要因だった前処理工程をロボット化することに成功して、大量の高精度メタボロームデータの取得に成功した。寒天上のコロニーから代謝物を直接測定する新規手法を確立してスループットの飛躍的向上に繋げた

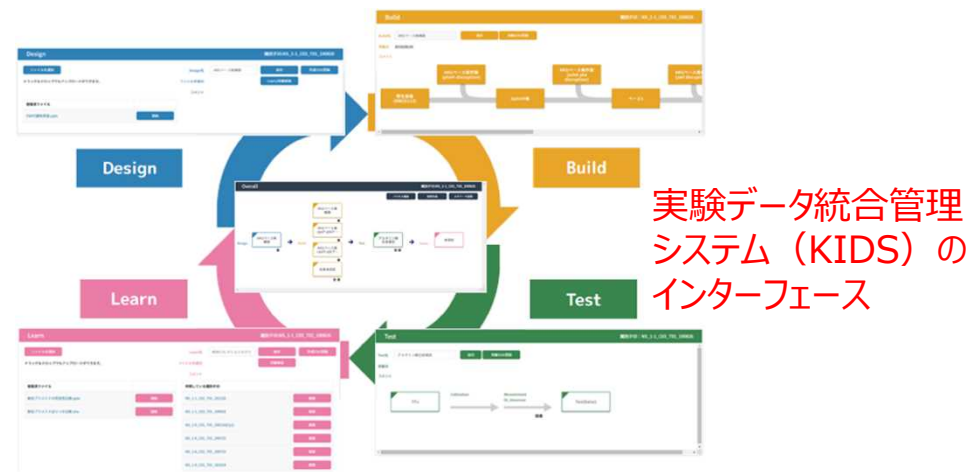
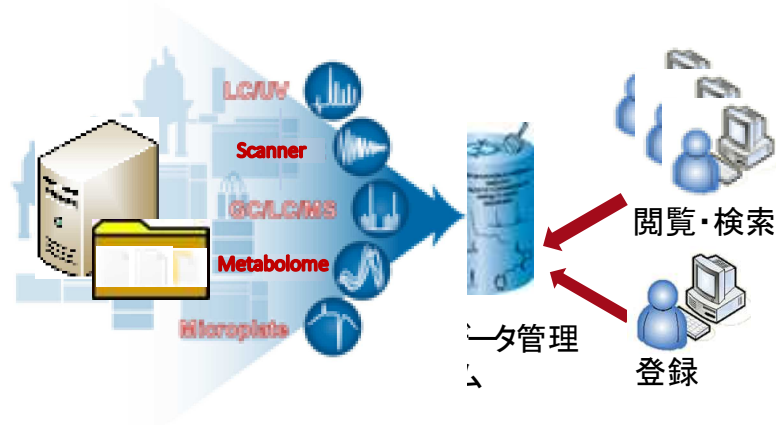
最終目標	成果
<ul style="list-style-type: none"> <li>培養から代謝物抽出までを自動化したシステムの開発</li> <li>分析ターゲットの拡張 (180成分以上)</li> <li>SFEを利用した高速スクリーニング技術の開発</li> <li>産業微生物による実証</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>培養から代謝物抽出までを完全自動化した世界初のロボットを開発し、世界最高の精度 (CV15 以下)、熟練者20人分の処理速度を実現。</li> <li>分析ターゲットを186成分に拡大した。</li> <li>世界初のコロニー直接測定で、1検体5分の評価を可能にした。</li> <li>産業微生物による実証を通して、DBTLサイクルにおける有効性を示した。</li> </ul>

開発技術 2 (Wet)

評価系のネットワークシステムの開発

【開発した技術の概要】

- ✓ 各種ハイスループット技術により得られる膨大な菌株情報と生産性・メタボローム等の分析データを自動で取得・紐付けしてプロジェクトごとに管理・共有できる統合データ管理システムを構築した。



スマートセル構築に最適なシステムとして新規に開発

最終目標	成果
<ul style="list-style-type: none"> <li>DBTLデータを自動で取得・紐付けしてプロジェクトごとに管理・共有できる統合データ管理システムの構築</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>膨大な菌株情報とデータを自動で取得・紐付けしてプロジェクトごとに管理し、共通のインターフェースでアクセス・共有が可能なシステムを構築した。wet&amp;dry双方の研究者が使いやすくなるよう改良を施した。</li> </ul>

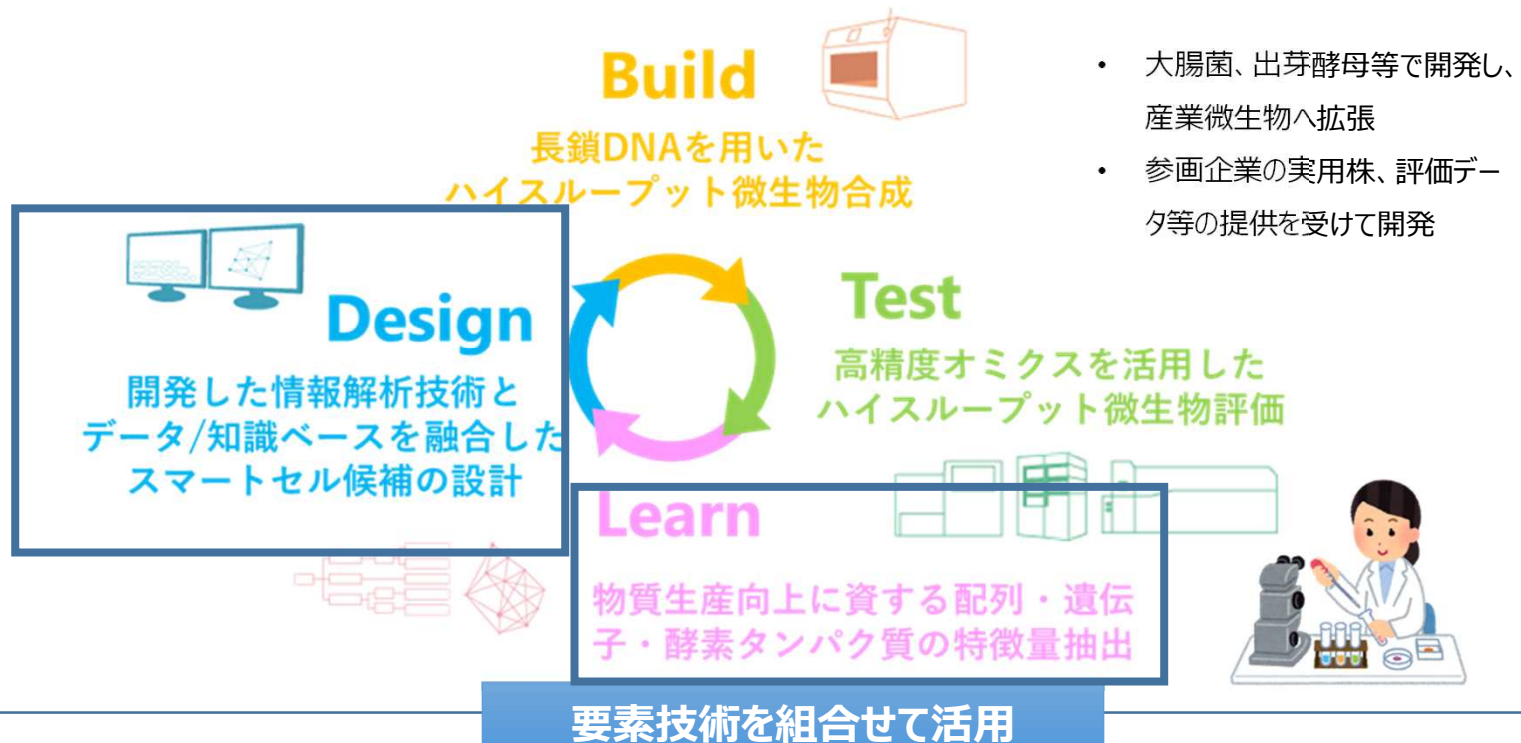
## スマートセル創出プラットフォーム開発

### (2) 高生産性微生物設計システムの開発

#### スマートセル創出プラットフォーム

##### (2) 高生産性微生物設計システムの開発

##### (1) ハイスループット合成・分析・評価技術の開発



(3) 高生産性微生物創製に資する情報解析システム  
(スマートセル創出プラットフォーム) の有効性検証

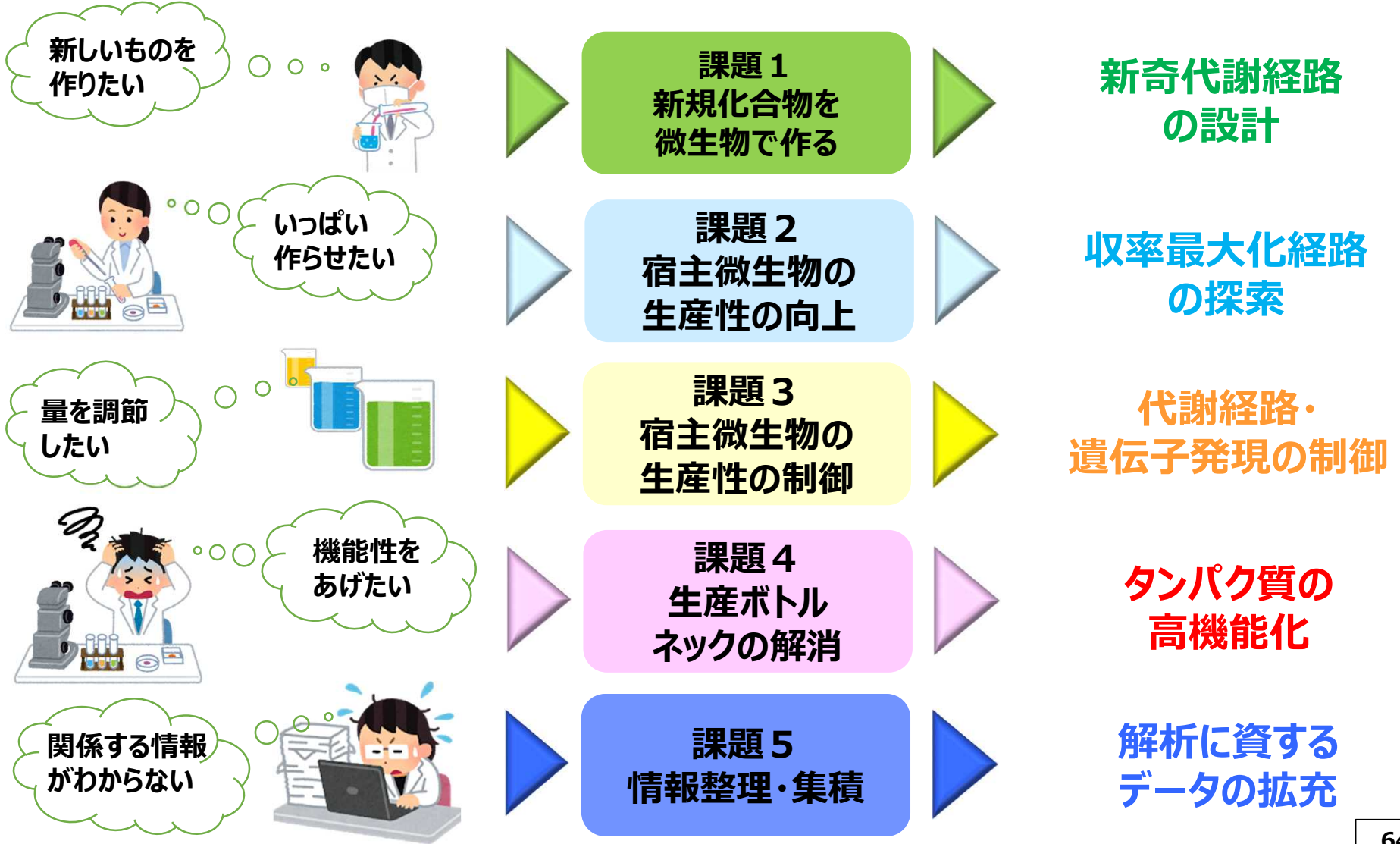


### ◆DRY研究開発の課題設定

#### 生産現場での課題

#### スマートセルで実現

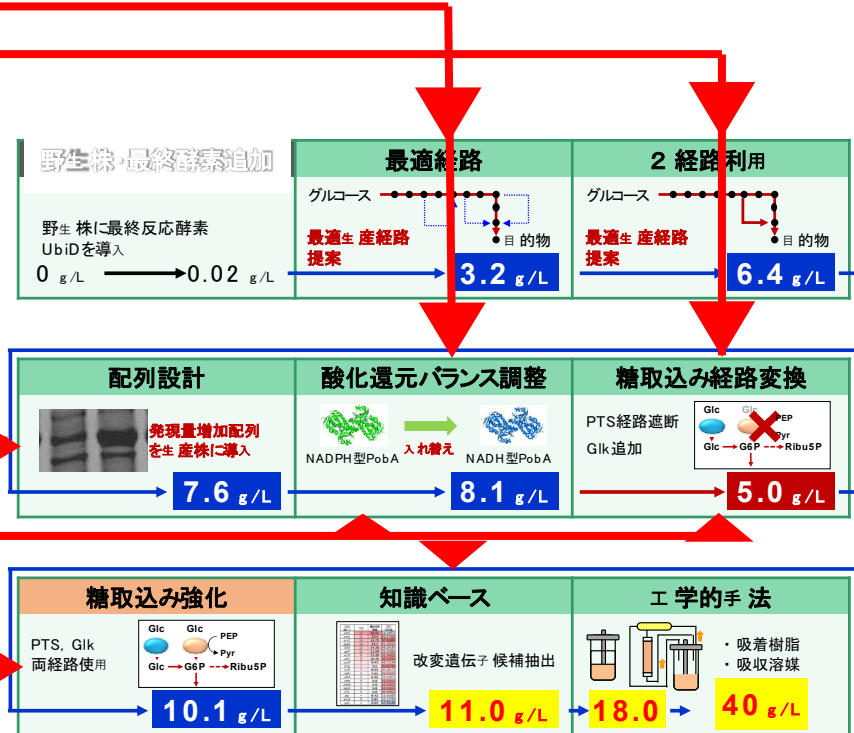
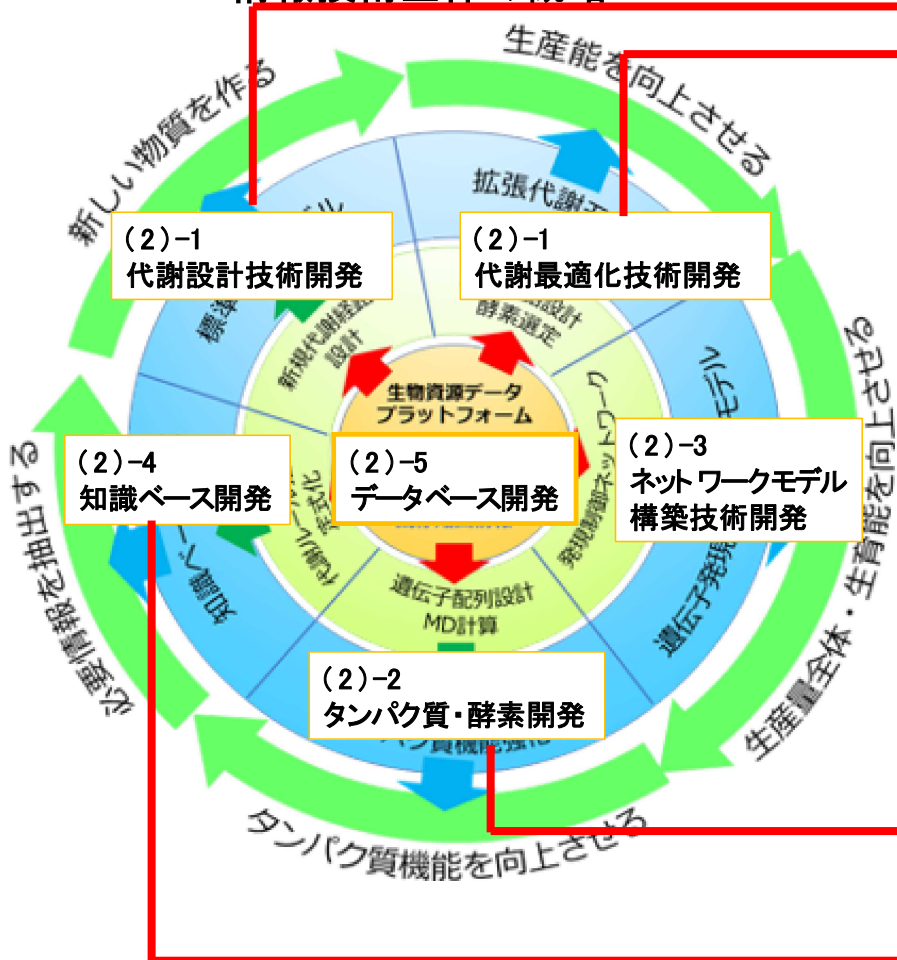
#### 情報解析的アプローチ





◆ 情報技術の統合とその利用 (RITEの例)

情報技術全体の概略



シームレスに必要な過程へ適切なデザインが可能

## 開発技術1 (Dry)

## ◆ 代謝設計・最適化技術の開発 成果と意義

**成果1 : GSM generatorをによる代謝モデル構築フロー**

公開データからFBA解析のために必要なGenome Scale Modelを構築可能。産業用宿主の厳密にGSMを作ったことで、精緻なシミュレーションが可能。

**成果2 : OptKnockツールに代わる新規代謝設計手法の開発**

世界で一般化されている手法より汎用性が高く、次の世界標準となりうる代謝設計手法を開発した。

## ◆ タンパク質・酵素開発 成果と意義

**成果3 : 発現量向上タグを用いた配列設計法の開発**

様々な宿主微生物においてタンパク質の発現量を増加させるMHHHHHIEGRMタグを設計した。

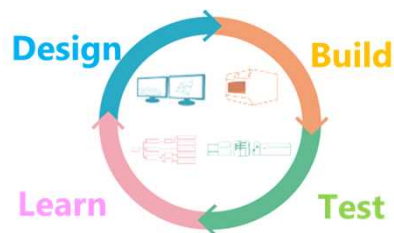
## ◆ ネットワークモデル構築技術開発 成果と意義

**成果4 : 少数データからのネットワークモデル構築技術の開発**

少数データから可能な限り高精度なネットワークモデル構築を可能にした。データ取得数に制限のある企業や産業的に使用可能な手法。

◆個別の成果と意義（共通基盤技術）

(3) (スマートセル創出プラットフォーム) の有効性検証



有効性検証事例

検証目的	ターゲット物質	基盤技術の有効性検証	出口 (モノ)	事業者
①目的物質の生産性向上	産業化している (or 実現近い) ターゲット	ネットワーク解析技術	糖化酵素	長岡技科大→花王
		ネットワーク解析技術, OMICS解析	紅麹菌色素	産総研→グリコ
②新規生合成経路の実現	これまで微生物生産が未実現なターゲット	代謝最適化, OMICS	希少カロテノイド	産総研、石川県大→グリコ
		長鎖DNA合成、代謝最適化	EPA含有油脂	新潟薬科大→不二製油
		長鎖DNA合成、代謝最適化、OMICS	オピオイド	石川県大
③育種開発期間の短縮	競争の激しいターゲット	タンパク質酵素開発	モノテルペン、P450ライブラリ	神戸天然物化学
		長鎖DNA合成、代謝最適化、OMICS	イソプレン、イソプレンゴム	三菱ケミカル、JSR
		全ての技術	カテコール	RITE

有効性検証事例 1 (RITE)

「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」

地球環境産業技術研究機構、理化学研究所、京都大学、大阪大学、神戸大学、産業技術総合研究所、東北大学、日立製作所

◆研究開発の位置付け

1) 対象市場, 製品

「再生可能資源由来のカテコール」

主な用途



香料

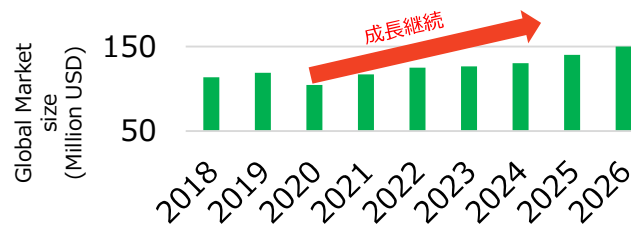
バニリン  
ヘリオトロピン



農薬

カルボフラン  
フェノール

世界市場予測



2) 競合技術との対比

化学合成での主要生産者	生産シェア	生産地域(本部)
Solvay	58%	仏・中・米(ベルギー)
Jiangsu Sanjili Chemical	17%	中国(中国)
Ube Industry	11%	日本(日本)
Camlin Fine Sciences	11%	伊(インド)

発酵による生産は実用化されていない 2019

1. 対象市場, 製品  
香料、農薬の原料として需要が高く、今後大きな市場の伸びが期待されるカテコールを対象とする。

2. 競合技術との対比 (目標値)  
再生可能資源由来の製品としてまずは日本でのシェア獲得を目指す



有効性検証事例2 (江崎グリコ株式会社)

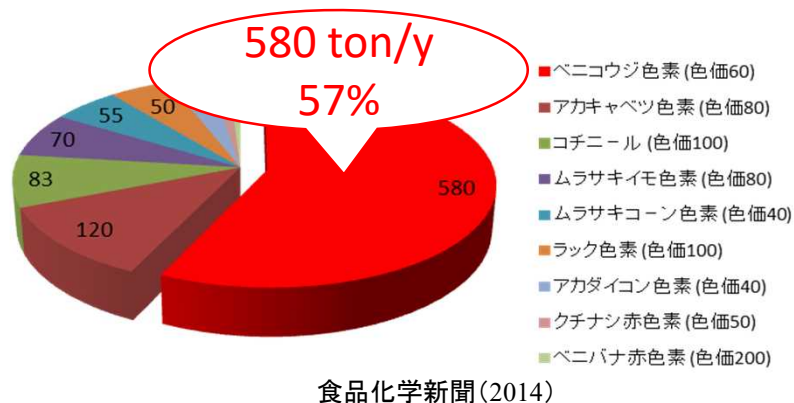
「紅麹菌を用いた色素生産制御による有効性検証」

江崎グリコ株式会社、(株)バイオジェット、産業技術総合研究所、理化学研究所

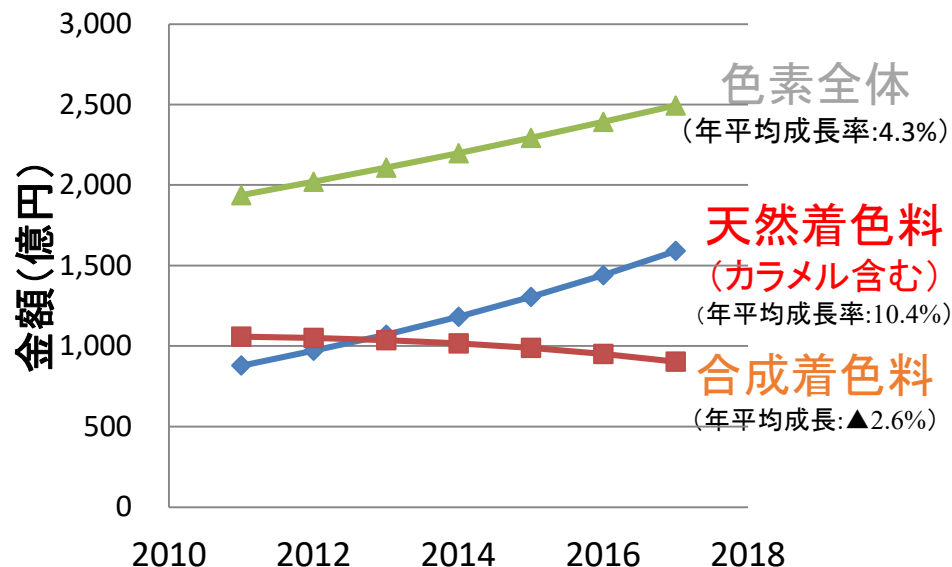
背景

1) 対象市場, 製品

主な水溶性の赤系色素の年間需要量(2015年日本)(t/年)



●世界の色素市場推移



**競合技術との対比(目標値)**  
 競合a社, b社と比較し、生産性、特性(カビ毒低含量)両面で大きく引き離すことを期待

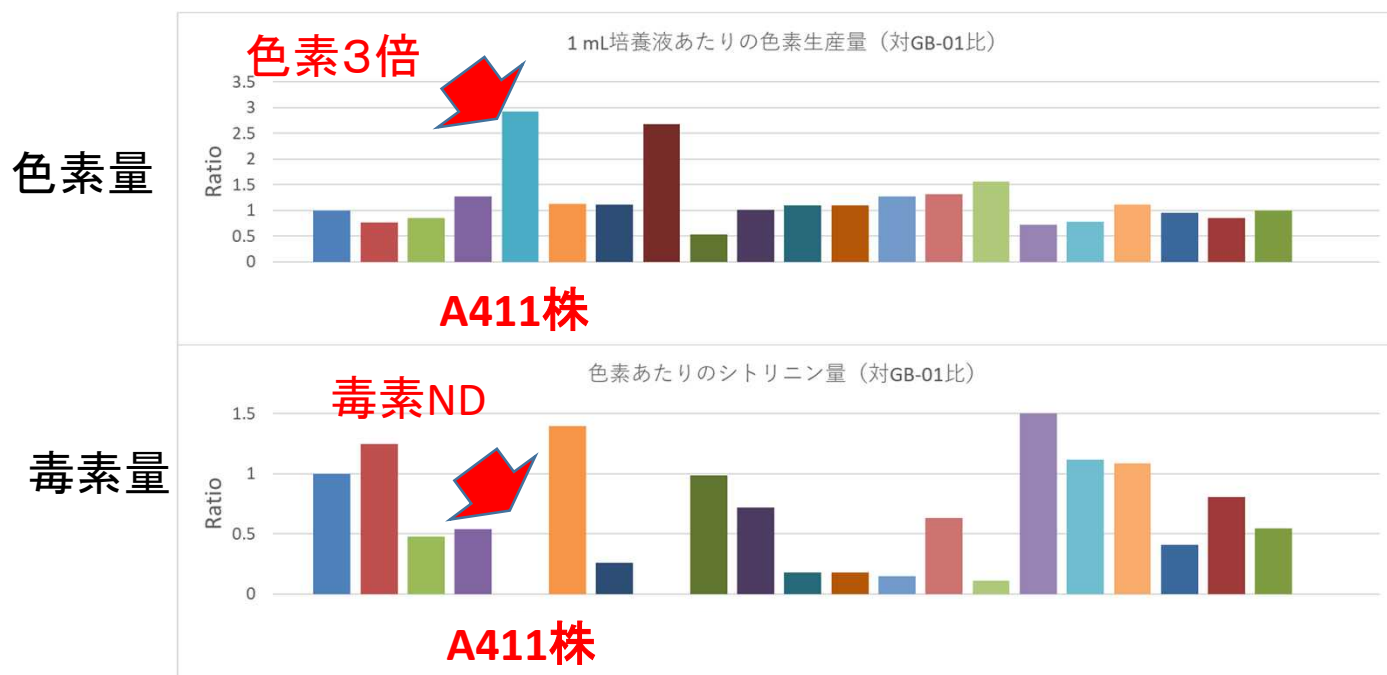
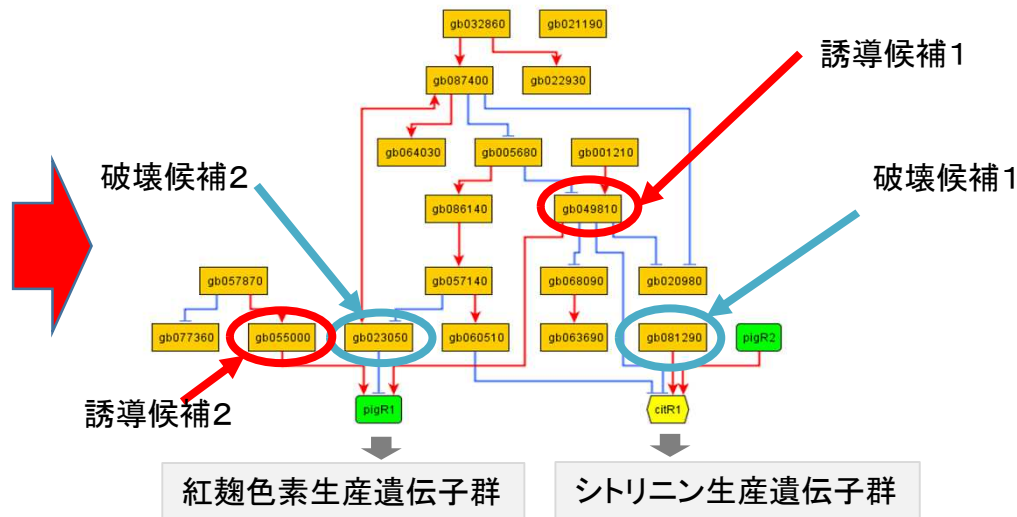
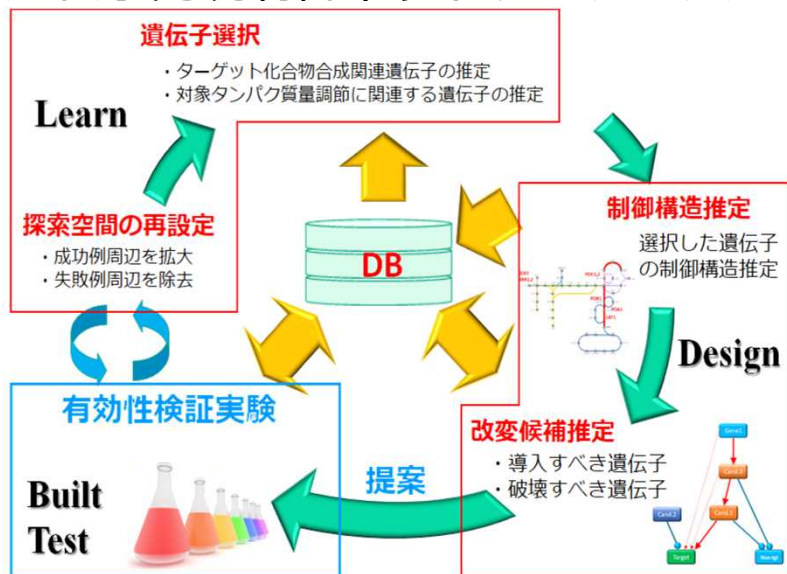
出展: ①"Global Natural Colors Market & Natural Flavors Market by Types, Applications and Geography: Forecasts up to 2017"  
 ②"Food Colors Market - Global Industry Size, Market Share, Trends, Analysis, And Forecasts 2012 - 2018"

<最終目標とその達成手段>

1. 色素生産性: 対基準株比で3倍以上
  2. シトリニン含量: 対基準株比で1/3以下
- を達成することにより、上記数理モデルの有効性を評価する



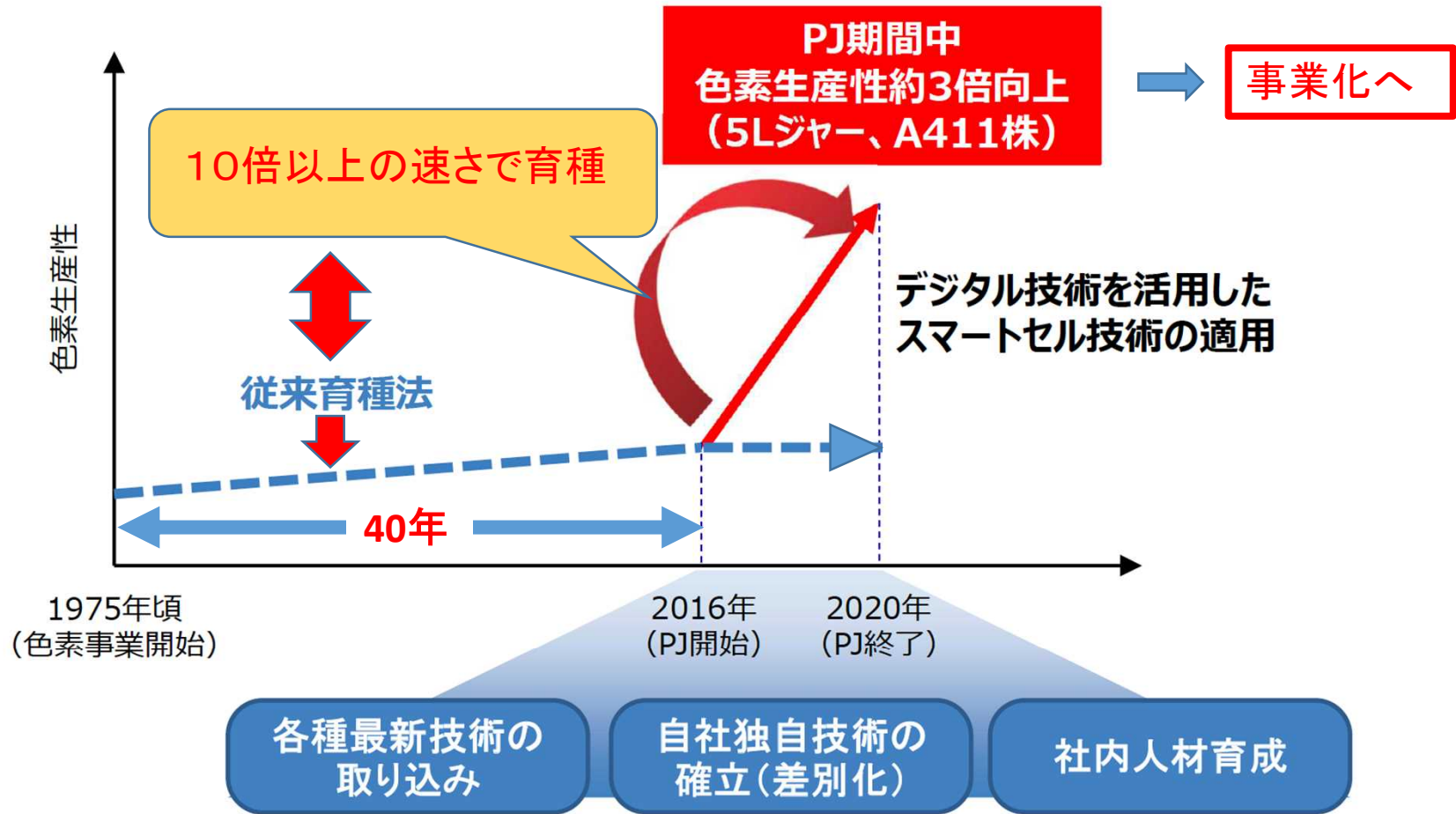
遺伝子発現制御ネットワークモデルにより標的遺伝子を抽出・改変方法を提案



発現制御ネットワークモデルの有効性が示された



**通常育種で40年かけて2倍の生産性向上した産業株  
ゲノムの再解読からスタートしてスマートセル技術を利用することで5年間で3倍に**



このような取り組みは、世界的に激化する研究開発競争の中で、効率的な研究開発戦略のために今後ますます重要と考える

### 3. 研究開発成果 (2) 成果の普及

公開

#### ◆成果の普及

##### 研究開発項目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」

年度	論文		その他外部発表				受賞実績
	査読付き	その他	学会発表・講演	新聞・雑誌等への掲載	展示会への出展	プレス発表等その他	
2016	3	1	33	1	1	1	2
2017	3	4	86	3	8	0	3
2018	14	27	109	10	23	1	3
2019	28	15	124	14	17	0	3
2020	31	17	74	15	18	6	3
合計	79	64	426	43	67	8	14

##### 研究開発項目④「微生物による高機能品生産技術開発」

年度	論文		その他外部発表				受賞実績
	査読付き	その他	学会発表・講演	新聞・雑誌等への掲載	展示会への出展	プレス発表等その他	
2016	－	－	－	－	－	－	－
2017	－	－	－	－	－	－	－
2018	－	－	－	－	－	－	－
2019	1	0	5	0	2	0	0
2020	1	0	6	13	5	2	0
合計	2	0	11	14	7	2	0

#### 企業からの問い合わせ件数

問合せ	取組中	実施
185	102	24

※2021年7月31日現在

## 3. 研究開発成果 (3) 知的財産権等の確保に向けた取組

## ◆知的財産権の確保に向けた取組

## 研究開発項目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」

年度	特許出願			ノウハウ
	国内	海外	PCT	
2016	0	0	0	0
2017	2	0	0	0
2018	16	1	1	0
2019	13	2	7	0
2020	21	7	6	6
合計	52	10	14	6

## 研究開発項目④

## 「微生物による高機能品生産技術開発」

年度	特許出願			ノウハウ
	国内	海外	PCT	
2016	—	—	—	—
2017	—	—	—	—
2018	—	—	—	—
2019	1	0	1	0
2020	4	0	1	0
合計	5	0	2	0

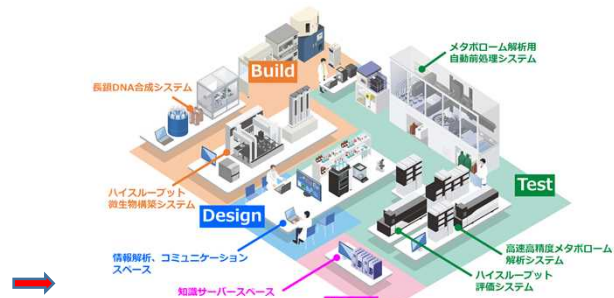
※2021年7月31日現在

4. 成果の実用化に向けた取組及び見通し (1) 成果の実用化に向けた戦略

NEDOプレスリリース成果事例

件名	事業者	基盤技術 開発	基盤技術 の有効性	基盤技術 の実用化	企業テーマ 実用化
スマートセル技術により、野生株に対し約30倍高い原料酵素の生産性を実現	旭化成ファーム、産総研				●
スマートセル開発に寄与する要素技術を集積したパイロットラボを整備	神戸大			●	
高速・高精度で細胞代謝物を解析する技術を開発	島津製作所、神戸大			●	
微生物の生理的状態を最短10分で定量的に評価し、識別する技術を開発	ニコンソリューションズ、筑波大			●	
香料の原料となるカテコールを微生物で発酵生産する技術の開発に成功	RITE		●		
希少アミノ酸「エルゴチオネイン」の生産性を従来比約1000倍に向上	長瀬産業				●
新規DNA合成技術を開発、神戸大学発ベンチャーに実施許諾	神戸大			●	
“スマートセル”開発で医薬品原料の生産性向上に成功	神戸大、石川県立大		●		
化学合成DNAを高速で安価に生産可能な核酸合成機を開発	日本テクノサービス、神戸大			●	
細胞の代謝物をハイスループット分析可能な解析技術を開発	島津製作所、神戸大	●			

プレスリリース以降、さらに進展している事例



パイロットラボ

→ 商用化段階へ



→ ベンチャー創立へ Synlogen

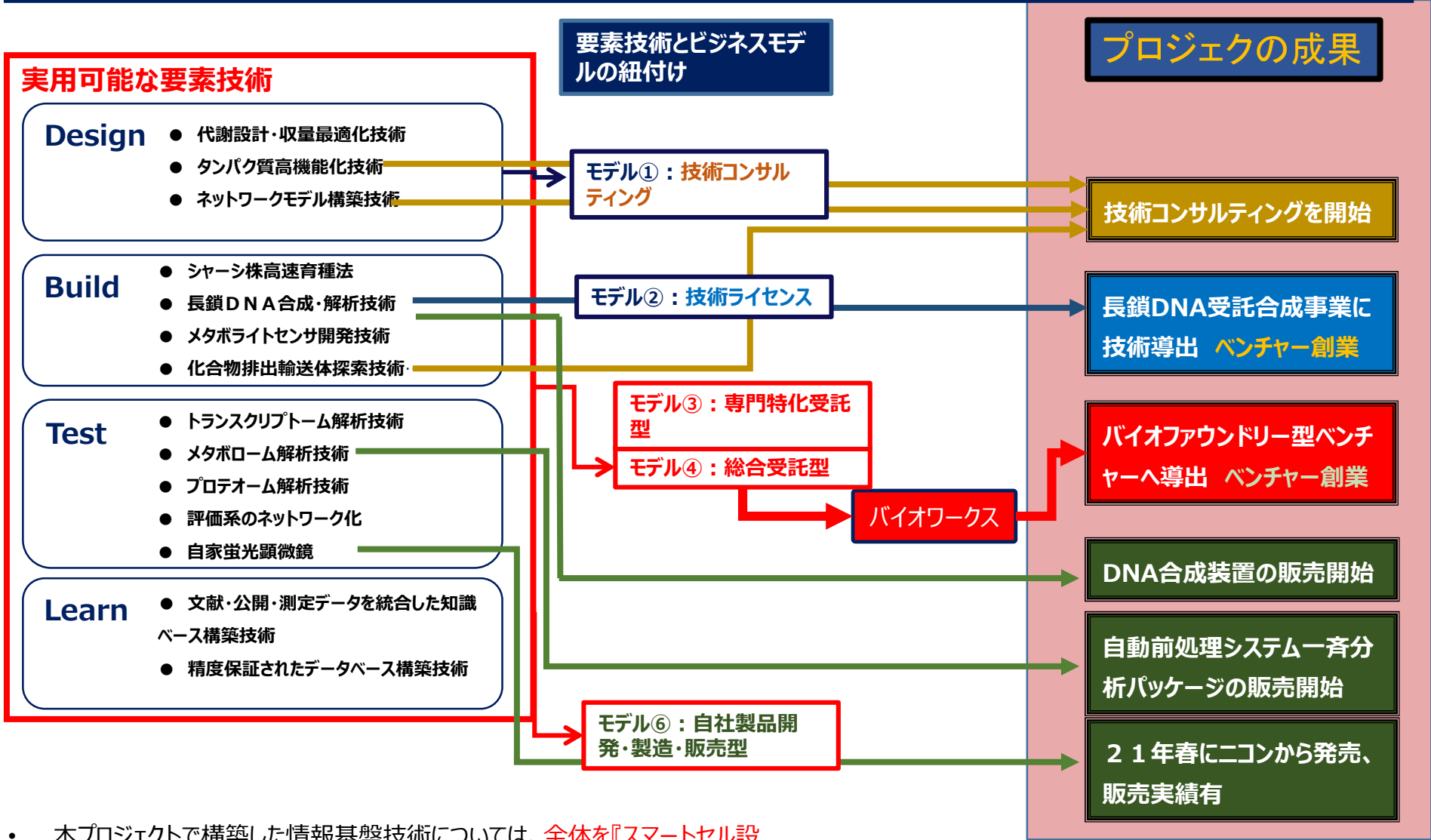
→ 商用化段階へ

→ 商用化段階へ



4. 成果の実用化に向けた取組及び見通し (1) 成果の実用化に向けた戦略

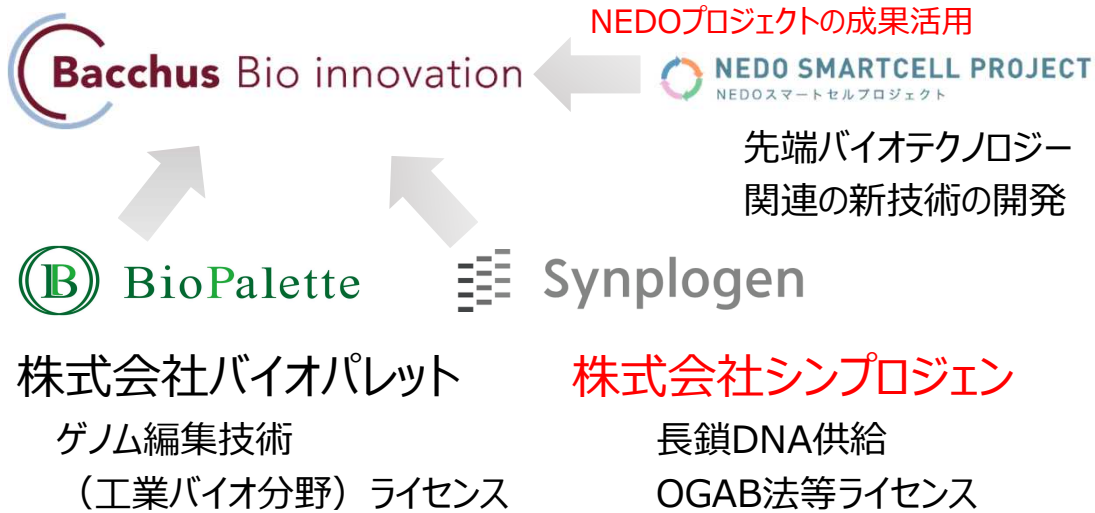
本PJの実用化技術（単体もしくは組み合わせ）を活用したビジネスモデル



本プロジェクトで構築した情報基盤技術については、全体を『スマートセル設計プロトコル』として整備した。ベンチャー企業を設立について準備・検討中。



株式会社バッカス・バイオイノベーション (2020年3月設立)



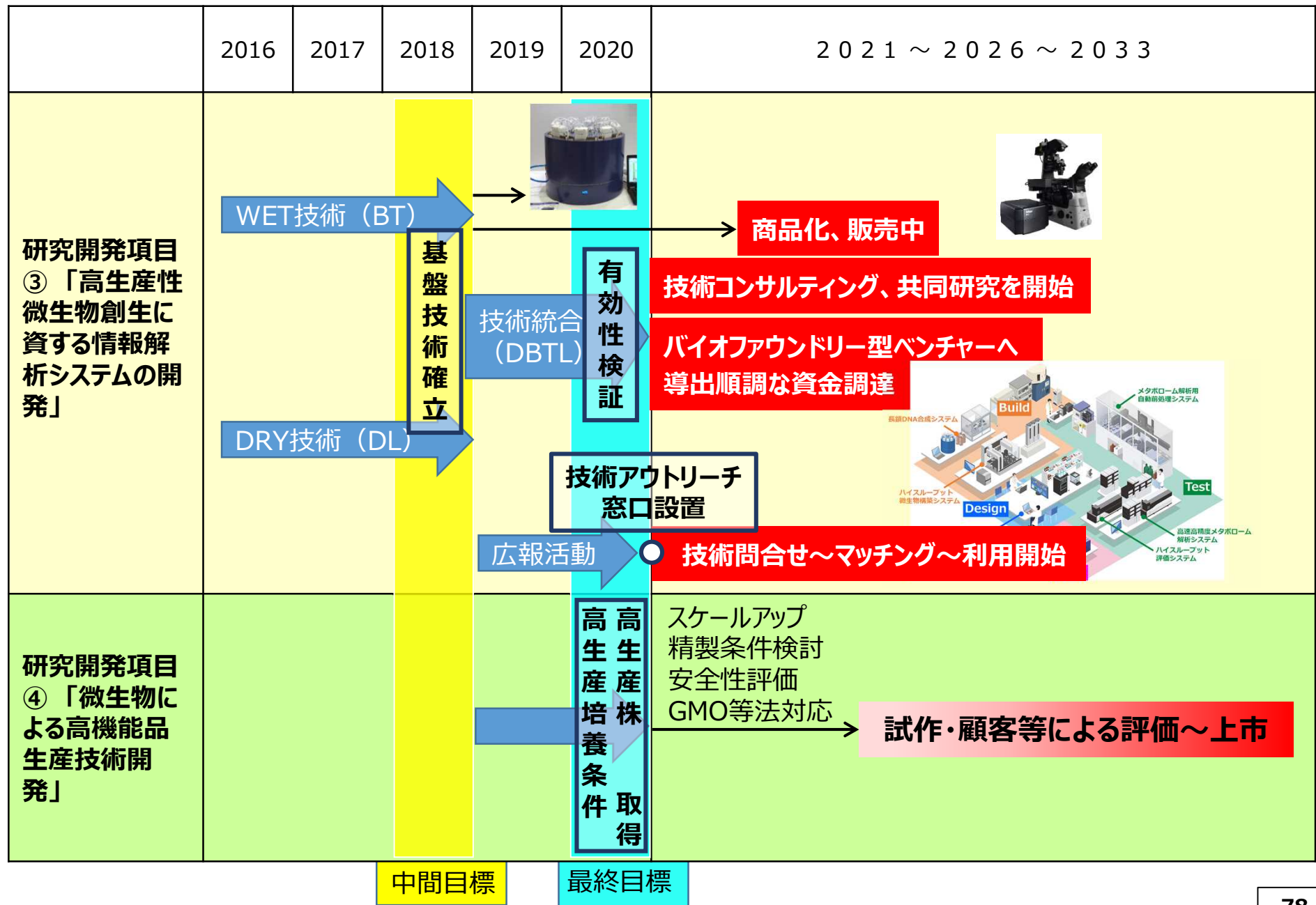
- 微生物等による有用物質生産に関する受託サービスや自社プロダクトの開発等を行い、本邦初の本格的な統合型バイオファウンドリーの実現を目指す
- ゲノム編集、DNA合成、バイオファウンドリー型企業を集積した世界唯一の完全な統合プラットフォーム戦略で、価値提供
- 多様なバイオ実験をハイスループット化する自動化システムに加え、米国ベンチャーには無い技術的な強みを持つ

3社はCLIKの4、5階に集結

CLIK: 神戸空港から5分の京コンピュータ駅に直結



4. 成果の実用化に向けた取組及び見通し (2) 成果の実用化に向けた具体的取組





## 4. 成果の実用化に向けた取組及び見通し (1) 成果の実用化に向けた戦略

### 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

#### 長瀬産業株式会社

国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構

希少アミノ酸「エルゴチオネイン」の生産性を**従来比約1000倍**に向上  
—スマートセル技術を活用し、世界最高レベルの生産効率達成—

NEDOと長瀬産業は、食品、化粧品、医薬品などの幅広い分野での利用が期待されている希少アミノ酸エルゴチオネインの発酵生産法の開発に取り組んでいます。この度、NEDOが開発を進めるスマートセル技術の活用により、微生物細胞の生産性を飛躍的に向上させ、世界最高レベルの生産効率を達成しました。今回の成果により、安価かつ高純度なエルゴチオネインの環境配慮型バイオ生産プロセスの確立が可能になりました。

今後は、開発した生産菌株を活用し早期の事業化を進め、「スマートセルインダストリー」の実現に貢献します。



#### 4. 成果の実用化に向けた取組及び見通し (1) 成果の実用化に向けた戦略

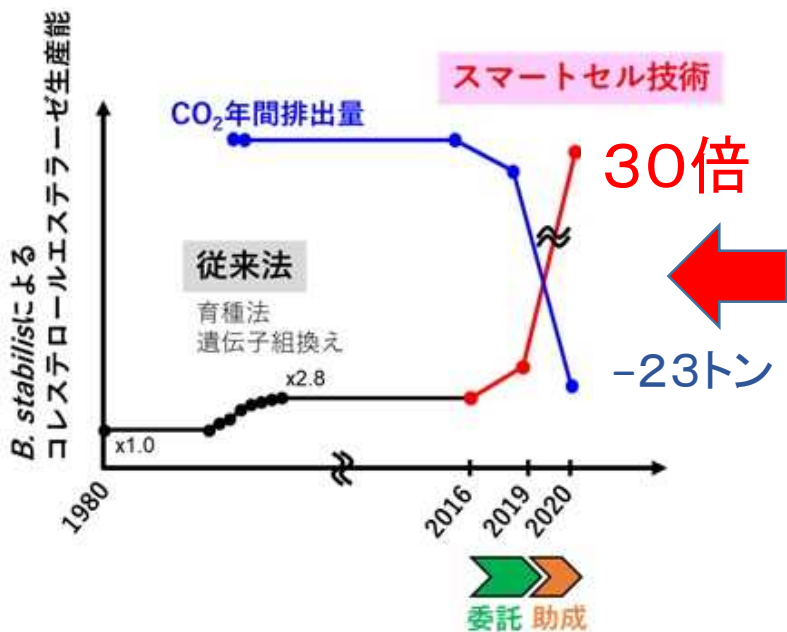
### 組換え*Burkholderia stabilis*由来コレステロールエステラーゼ開発

#### 旭化成ファーマ株式会社

国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
国立研究開発法人産業技術総合研究所

スマートセル技術により、**野生株に対し約30倍高い原料酵素の生産性を実現**  
— 体外診断用医薬品向け酵素として、**早期の事業化を計画** —

NEDOと旭化成ファーマ(株)、産業技術総合研究所は、植物や微生物の細胞を用いて高機能品を生産するスマートセル技術を活用し、**体外診断用医薬品の原料となる酵素「コレステロールエステラーゼ」の生産効率向上に成功しました。**このたび構築したスマートセルは、従来の微生物(野生株)と比べ30倍以上の生産能力を持ちます。これにより生産工程における電力消費量も低減できるため、CO<sub>2</sub>排出量を年間約23トン削減(従来比約96%削減)する効果も期待できます。旭化成ファーマ(株)はこのスマートセルで生産したコレステロールエステラーゼの早期の事業化を計画しており、高機能な化学品や医薬品原料などを生産する「スマートセルインダストリー」の実現を目指します。



#### (1) ハイスループット合成・分析・評価技術の開発

メタボローム解析技術  
プロテオーム解析技術

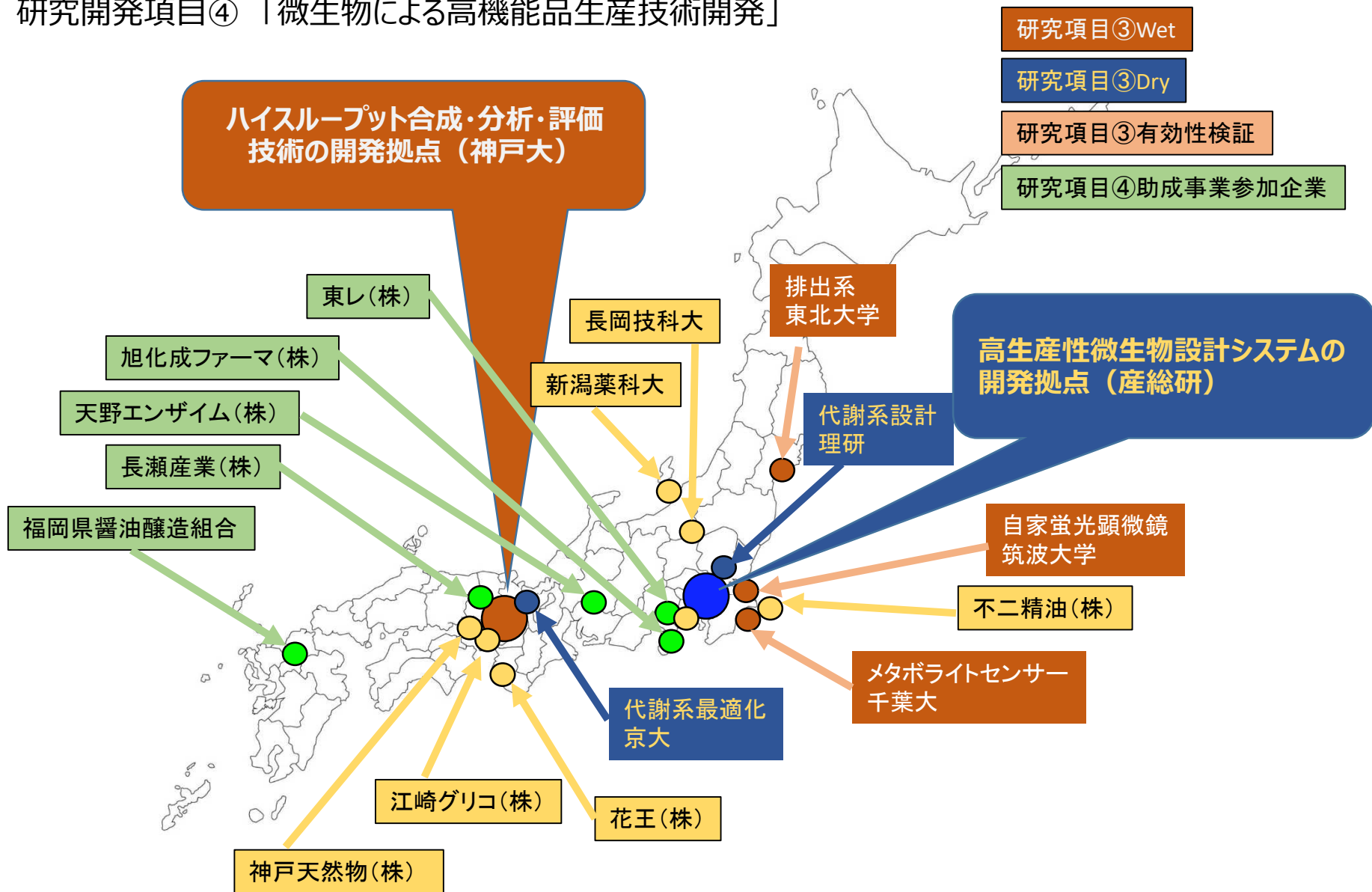
#### (2) 高生産性微生物設計システムの開発

タンパク質高機能化技術  
ネットワークモデル構築技術

4. 成果の実用化に向けた取組及び見通し (1) 成果の実用化に向けた戦略

研究開発項目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」

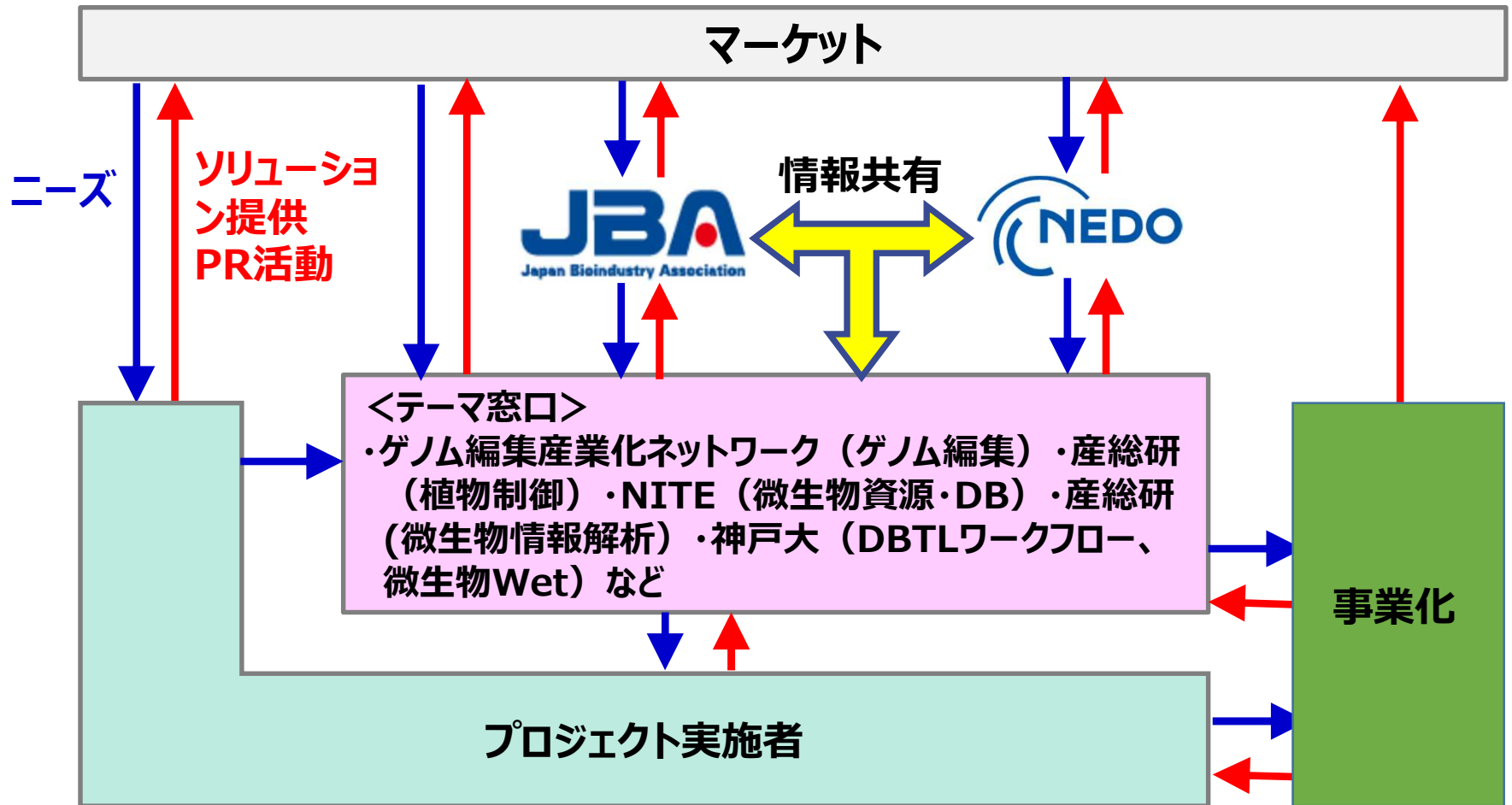
研究開発項目④ 「微生物による高機能品生産技術開発」



4. 成果の実用化に向けた取組及び見通し (3) 成果の実用化の見通し

◆波及効果 技術アウトリーチ窓口の多様性

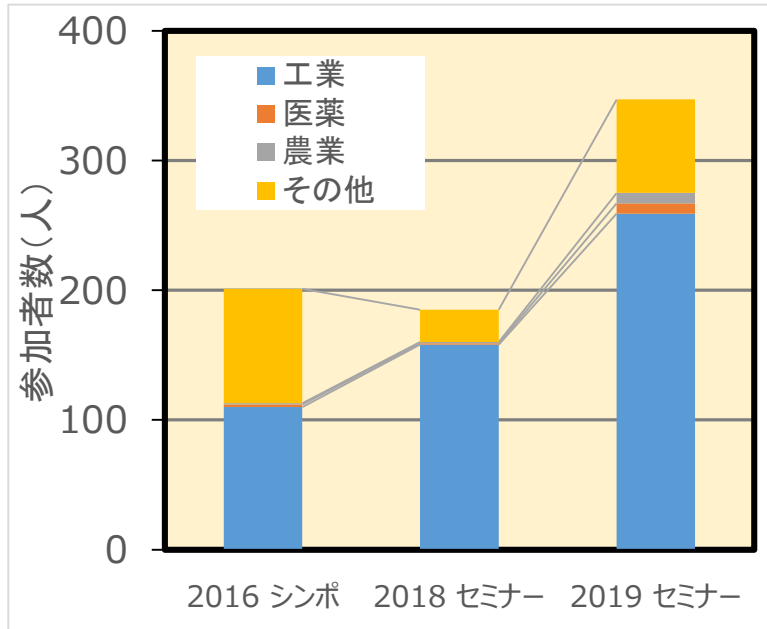
多くのエントリーポイントを提供



4. 成果の実用化に向けた取組及び見通し (3) 成果の実用化の見通し

◆波及効果

従来より高速な育種を数多くのシーンで紹介



工業分野から参加者が増えている



市場創出効果

経済波及効果	約25兆円/年 (2030年度)
CO <sub>2</sub> 削減効果	17百万 t/年 (原油換算 3.8億 kL相当)



NEDO、JBAの窓口実績

企業からの問い合わせ件数		
問合せ	取組中	実施
185	102	24

スマセル設計システムの利用希望企業の中にはエネルギー産業、化学産業等の企業からの問い合わせあり