

FOCAL POINT

SYNTHETIC
BIOLOGY
IN JAPAN



このリプリント中の記事は、
Nature 2020年8月6日号
に掲載されたものです

特集1

バイオ×デジタルで切り拓く未来

スマートセル インダストリー

特集2

オープンイノベーションの挑戦!

未来技術への提言

弁護士・弁理士 **鮫島 正洋** さん



Focus NEDO Vol.70
「スマートセル
インダストリー」の特集

[WWW.NEDO.GO.JP/
VVCONTENT/100889934.PDF](http://WWW.NEDO.GO.JP/VVCONTENT/100889934.PDF)



スマートセルプロジェクト：
植物ゲノム編集技術

[WWW.MLS.SCI.HIROSHIMA-U.
AC.JP/SMG/GEIN/INDEX.HTML](http://WWW.MLS.SCI.HIROSHIMA-U.AC.JP/SMG/GEIN/INDEX.HTML)



スマートセルプロジェクト：
微生物のスマートセル創出
プラットフォーム

[WWW.JBA.OR.JP/NEDO_
SMARTCELL](http://WWW.JBA.OR.JP/NEDO_SMARTCELL)

FOCAL POINT SYNTHETIC BIOLOGY IN JAPAN

生物を活用した事業

世界の国々が微生物や植物細胞を使った工業生産に研究資金を投入している。

こうした生産は、世界経済の物的投入の60%になるとの予測もある。多くの生産システムでは、日本が得意とする発酵が利用されることになるだろう。

日本では、「スマートセルプロジェクト」と呼ばれる国内最大規模の研究開発事業によって、バイオ生産方法の開発と商業化を加速させるための一連の新たな技術が世に登場している。

FOCAL POINT ON SYNTHETIC BIOLOGY IN JAPAN

2 発酵の基盤

PARTNER CONTENT

- 4 日本におけるバイオエコノミーを加速させる
新たな遺伝子編集ツール
徳島大学
- 8 植物の生産スイッチ
かずさDNA研究所
- 10 有用な植物遺伝子にグリーンライト
北海道大学
- 12 持続可能な社会の実現を目指した芳香族化合物生産のための
代謝経路設計
地球環境産業技術研究機構
- 14 オメガ3脂肪酸生産という難題に立ち向かう酵母
新潟薬科大学、京都大学、産業技術総合研究所
- 16 合成生物学をスケールアップするための体系的アプローチ
産業技術総合研究所、理化学研究所、神戸大学
- 20 長寿ビタミン「エルゴチオネイン」の発酵生産における
ブレイクスルー
長瀬産業

FOCAL POINT ON SYNTHETIC BIOLOGY IN JAPAN

PRODUCED IN PARTNERSHIP WITH THE NEW ENERGY AND INDUSTRIAL TECHNOLOGY DEVELOPMENT ORGANIZATION

発酵の基盤

バイオテクノロジーを活用した持続可能な新たな化学品製造プロセスの導入を推進するために、日本は、発酵研究の長年の歴史を活かしつつ、日本の発酵産業が有する「バイオファウンドリー」を基盤として、アイデアの実装化を進めている。

日本では、微生物の力を引き出すことは何ら新しいことではない。醤油やさまざまな漬物、酒、味噌など、和食に欠かせない食べ物の多くは、発酵の力を利用して作られている。また日本には、すでに世界有数のプロバイオティクス市場ができあがっている。

国内最大規模で実施されているバイオ関連の研究開発事業「スマートセルプロジェクト」の微生物研究を率いる蓮沼誠久氏によれば、我が国には発酵と共に歩んできた長い歴史があり、医薬品から燃料に至るまであらゆる製品の製造に使われる原材料を、植物や微生物などの生物機能を活用して生産する未来の化学分野において、日本は主導的な立場に成り得るといふ。

世界的なコンサルティング企業マッキンゼー社は、2020年5月、世界経済への物的投入の60%がゆくゆくは生物機能を活用して生産されるだろうと発表した。欧州委員会の報告書にも同様の記述が見られ、EUでは2030年までに、石油由来製品の約30%がバイオ由来製品に代替される可能性があるという。

「バイオエコノミー」の未来

かつてはNASAエイムズ研究センターの合成生物学者で、現在はシリコンバレーの投資家であるJohn Cumbers氏によれば、生物機能



生きた物質生産工場

短期的には生物生産を牽引するのは微生物になるだろう。植物は100万種類以上の二次代謝産物を生産しているが、植物細胞の改変はもっと複雑だと松村健氏は説明する。松村氏は、植物の代謝経路に関するビッグデータが微生物のカギとなる人工経路の構築に役立つと考えている。日本の研究者たちは、生産性向上のために植物細胞内の遺伝子発現をオン・オフするツールも開発している。

を活用した生産が少なくとも一部を占める世界の「バイオエコノミー」は、10年もすれば現実のものになりそうだという。

Cumbers氏は、日本のスタートアップ企業スパイバー社を引き合いに出す。同社は、微生物発酵によって、クモの糸に匹敵する耐久性と柔軟性を持つように作られた人工素材の生産を行っている。「性能特性がクモの糸よりも優れていることが強みです」とCumbers氏。スマートセルプロジェクトの研究支援を受けたことがあるスパイバー社は、アウトドアレクリエーション衣料業者のザ・ノース・フェイス社(米国)と共同で、2019年後半、その人工クモ糸を使ったジャケットを世界で初めて製造、販売した。

スマートセルプロジェクトを率いるのは、イノベーションの創造につながる技術開発に資金を提供する新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の久原哲氏だ。久原氏によると、バイオエコノミーは、経済合理性と環境問題に対する社会責任の両方によって突き動かされるという。

例えばバイオプラスチックには、バイオマスを原料とすることで生産段階での石油依存を低減するものや、土壌中の微生物によって水と二酸化炭素に分解される生分解性を持つものがある。三菱ケミカル社は、レジ袋や農業用マルチフィルムなど世界で広く使われているプラスチックであるポリエチレンの代替物として、生分解性を有する「ポリブチレンサクシネート」を生産しており、その原料のひとつ

であるコハク酸の製造に遺伝子改変細菌を利用している。

バイオ生産システムのプラットフォーム

このように合成生物学の技術を活用して製品を作るスタートアップ企業はアジア各国ではまだ少ないが、神戸大学先端バイオ工学研究センターをはじめとした、スマートセルプロジェクトに参画する研究機関が構築してきたプラットフォーム技術は、企業が実用化を目指す研究を迅速に具体化して企業の課題解決に役立つだろう。神戸のバイオファウンドリーには、2016年のスマートセルプロジェクト開始以降、約40社にも及ぶ企業の協力を得て開発されてきた新しい自動化研究ツールが数多くある。

バイオエコノミーは、経済合理性と環境問題への社会責務の両方によって突き動かされる

ファウンドリーの競争力の一役を担う新技術のひとつに、柘植謙爾氏の研究が基盤となった例がある。柘植氏は50種類以上という前例のない数のDNA断片から、目的とする配列を有する長鎖DNAをワンステップで組み立てるシステムを2015年に*Scientific Reports*で発表した。

その後スマートセルプロジェクトで、このシステムを自動化する技術の開発に至った。たった1回の操作で大量の合成DNAを導入できるようになり、速く、そして正確に宿主改変す

るために必要であった長年の課題に取り組んだものである、と久原氏は説明する。

また、実用的な生合成経路を特定することができる機械学習ツール、メタボローム解析用の自動前処理システム、有用物質の生産性を高めるための酵素工学用解析システムなどの新しい技術も開発されている。新たなスマートセル創出ツールの研究開発はまだまだ続いていくと、久原氏は言う。

このバイオファウンドリーでは、蓮沼氏らのチームがすでに、鎮痛剤の製造に利用されるレチクリンなど、多様な有用化合物の生産研究に着手している。2019年に、蓮沼氏は、新規酵素を開発して代謝経路をショートカットさせ、大腸菌が生産するレチクリン濃度を7倍以上向上させた。蓮沼氏によれば、現在その生産レベルは商業的にほぼ採算の取れるものだという。

蓮沼氏の目標は、コスト競争力を有するバイオ生産を、さまざまなターゲット物質で実現することだ。蓮沼氏は、このバイオファウンドリーをさらに発展させ、データ解析に基づくバイオ生産ワークフローを確立できれば、バイオプロセスを用いた生産システムを提携先に2年以内に提供可能になると考えている。蓮沼氏は、微生物が保有する代謝システムの理解、データに基づいた生産株の開発、強固な発酵研究基盤の整備などを基に、日本が世界のバイオエコノミーの主導的地位を占めるようになることを期待している。■

1

発酵は日本の出汁のうま味を生み出すグルタミン酸生産にも使われており、古くから使われてきた微生物の重要な生産プロセスである。



2

日本の発酵研究の初期のターゲットはグルタミン酸やコハク酸などの中央代謝系に由来する化合物だ。コハク酸を原料とするポリブチレンサクシネートは有用なバイオプラスチックである。



3

スマートセルプロジェクトを率いる新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の久原哲氏は、バイオエコノミーという経済戦略によって、より持続可能なものづくりシステムが構築されることに同意する。



日本におけるバイオエコノミーを加速させる 新たな遺伝子編集ツール

これまで機能が分かっていなかったCRISPR-Casをベースにした新しいゲノム編集技術「タイプ-D (TiD)」が開発された。この新規ゲノム編集ツールは、日本におけるバイオエコノミー推進の原動力になると考えられる。

遺伝子改変細胞を使って各種化合物を生産する日本のバイオエコノミーに弾みをつけるには、CRISPR-Casに基づく高度なゲノム編集ツールを自由に利用できるようにすることが重要である。2016年以降、NEDOが推進する「スマートセルプロジェクト」に参画する複数の研究チームが、国家的取り組みの一環として、工業生産用細胞を構築するために必要な自前のツールの開発を行っている。

植物分子生物学を専門とする九州大学農学研究院の中村崇裕氏は、「利用可能なツールの応用範囲を広げて精度を高め、ユーザーフレンドリーなパッケージを新たに構築することで、海外で開発した技術を利用する際に発生するコストのかかる知的財産権の問題を回避したいと考えています」と説明する。彼の

グループは、RNA編集技術、ゲノム編集ツールの細胞内導入技術の開発、さらにはこのプロジェクトにおけるゲノム編集ツールの知的財産化に関する業務を担当している。

CRISPR タイプI-D 編集ツール

最近、徳島大学大学院社会産業理工学研究部のチームが新たなツールを発見した。タイプI-D (TiD) と命名されたそのツールは、機能が不明だったCRISPRタイプIに基づくものだ。

CRISPR-Casツールは、2つの異なるクラスに分けられ、これがさらに6種類のタイプ、34種類以上のサブタイプに分類される。中村氏によれば、世界的に見ると多くのチームがCRISPR-Cas9、CRISPR-Cpf1、CRISPR-Cas3といった特性のよく知

られているCRISPRシステムを研究しているが、CRISPRファミリーにはゲノム編集ツールとしてまだ十分に研究されていないものが多く存在しているという。

ガイドRNAの 配列が長いことで、 より効果的な カスタマイズが 可能である。

「私たちは、機能が不明だったCRISPRタイプIのCasエフェクタータンパク質を網羅的に調べることによって新たなツールを開発しました」とTiDを開発したグループを率いる徳島大学の刑部敬史氏は言う。

CRISPRシステムは、ガイドRNAとCasタンパク質という2つの要素によって構成される。ガイドRNA

は、ゲノム上の標的部位との相補的な結合に不可欠な短いRNA断片であり、ガイドRNAと複合体を形成したCasタンパク質は、狙った結合部位のDNA断片を切断することができる。

CRISPRタイプIシステムでは、ガイドRNA配列が比較的長い、処理後の変異プロファイルが多様であるなど、機能面でいくつかの利点があると刑部氏は説明する。

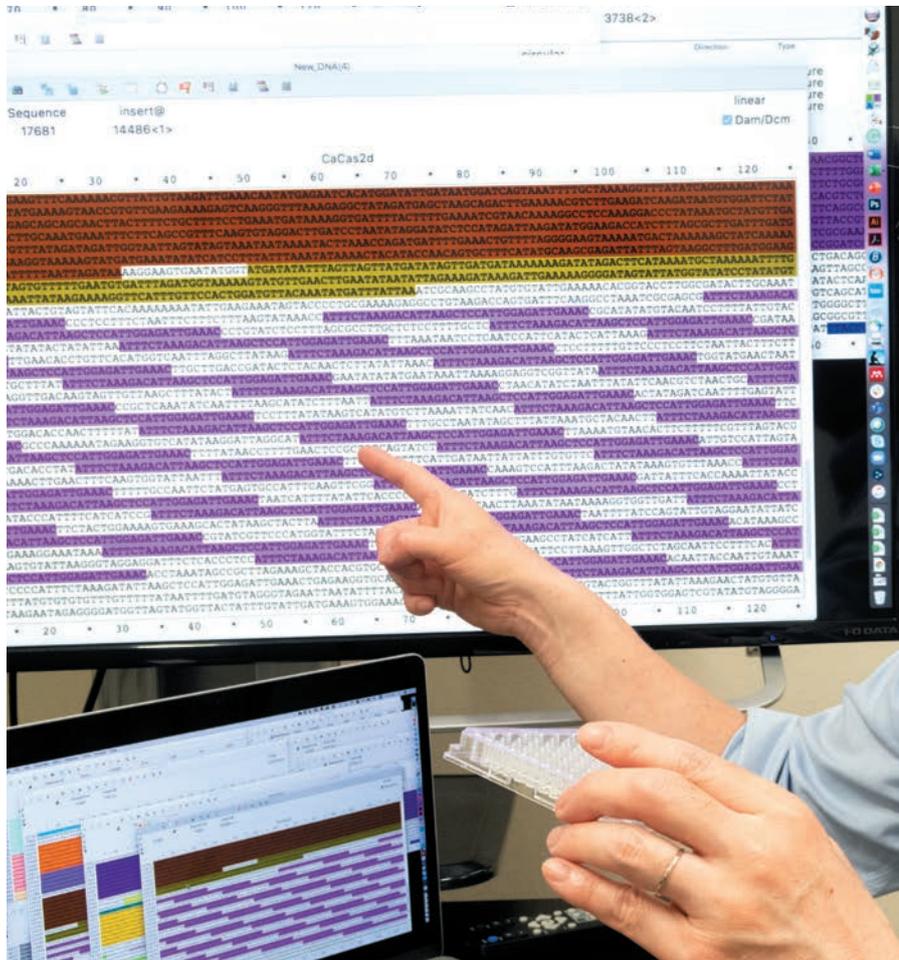
刑部氏によれば、CRISPR-Cas9ツールの典型的なガイドRNAの長さは約20塩基であるが、TiDで使用するガイドRNAの長さは、35あるいは36塩基だという。このガイドRNAの長さは、従来のCRISPR技術が有する実用的、商業的な可能性を制限する大きな課題の1つである、オフターゲット効果の緩和に役立つと考えられる。TiDで



徳島大学の研究チームは、最先端のバイオインフォマティクスと遺伝子工学を利用している。



新しい遺伝子編集ツール「タイプ-D (TiD)」に取り組む研究者。



刑部敬史氏は、徳島大学の研究チームを率いて、タイプのCRISPRを使った遺伝子編集ツールを創出した。



は、長いガイド RNA 配列を用いることにより、より効果的なカスタマイズが可能であり、標的配列を正確に識別して、標的以外の箇所における変異や欠失、挿入、逆位、転座のリスクを軽減することができる。

また、TiD の DNA 切断機構は、Cas9、Cpf1、Cas3 などの CRISPR システムにはない特有のものであると刑部氏は言う。一般的な系での切断は、Cas9、Cpf1、Cas3 などの特異的な Cas タンパク質によって行われる。しかし、TiD

の Cas10d タンパク質は、ガイド RNA 結合の安定化と切断部位の認識に関与し、DNA 分子を切断するヌクレアーゼとして機能する。また、TiD は、標的部位において、双方向で、かつ、大規模なゲノム欠失や小規模な挿入・

欠失の両方を誘導することができる。刑部氏は、単一の標的部位から、長さも多様な大きな欠失を誘導することのできるタイプ I の CRISPR の能力によって、簡単かつ迅速で効果的な多重遺伝子機能スクリーニング研究を可能と



刑部氏は、植物の高効率ゲノム編集ツール・エピゲノム編集ツールの開発と導入系の開発研究を進めて、植物の分子生理応答の解明や新しい品種の分子育種に役立てることを目指している。

する長鎖染色体工学が実現されるようになるだろうと言う。

徳島大学、理化学研究所、明治大学、近畿大学の学際的なチームは現在、TiDの効率化や用途の拡大について開発をさらに進めている。

パッケージ化と導入技術

NEDOスマートセルプロジェクトの研究チームは、工業生産用に適した改変細胞を「スマートセル」と呼んでおり、中村氏は別のグループを率いて、スマートセルプロジェクトにおいてゲノム編

集ツールをどのようにパッケージ化するかに取り組んでいる。中村氏は、日本のベンチャー企業で植物のタンパク質を用いたRNA編集技術の開発に成功した経験を持っており、産業界に対しては「ユーザーフレンドリーなパッケージを確立することが重要だ」と指摘する。

スマートセルプロジェクトの成果の融合を進め、その融合を社会実装することが、バイオエコノミー市場の促進のカギになるでしょう

中村氏は、我が国独自の遺伝子編集技術構築のために、新しい塩基認識、編集、遺伝子/タンパク質導入技術を確認しようとしている。中村氏らのグループは、ゲノム編集技術に必要な正確なDNA認識モジュールや、調製容易で効果的な導入システムの開発に注力してきた。

中村氏は、産業界からの関心を高め、細胞駆動型の物質生産システムの構築を目指す現在の世界的動向に合った的確な共同研究を生み出すためには、効果的な研究と社会実装の経験とを組み合わせることが重要になると強調する。「他のスマートセルプロジェクト参加者が開発したバイオインフォマティクスやメタボロミ

クスのための一連の革新的なバイオテクノロジーを活用して、DNA塩基配列解読、人工知能、機械学習を統合した効率的なバイオデザインを実現することができれば、我が国のスマートセル産業は成功するでしょう」と中村氏は言う。

刑部氏は、それを実現する上では、標的となる細胞を迅速かつ確実に改変するために、TiDのような新しいゲノム編集ツールが不可欠であり、これにより、スマートセルプロジェクトの他の新規技術によって明らかにされた細胞システムの概念実証試験が可能になるという。「新しいゲノム編集ツールを含め、スマートセルプロジェクトの成果の融合を進め、その融合を社会実装することが、バイオエコノミー市場の促進のカギになるでしょう」と刑部氏は言う。彼のグループは、すでにTiDの植物への応用に着手し、高機能バイオマテリアルの生産量を向上させる取り組みを行っている。

この研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)によるスマートセルプロジェクトの一環として行われたものである。■



Tokushima University
www.tokushima-u.ac.jp/english/



緑色蛍光タンパク質の発現を利用して、草本性植物ベンサムアタバコ (*Nicotiana benthamiana*) で遺伝子のオン・オフ機構が調べられた。

植物の生産スイッチ

合成生物学により、多数の遺伝子を一齐に「オン・オフ」制御することで産業上有用な化合物の生産を可能にする植物の開発が進められている。

かずさ DNA 研究所の舛本寛氏と柴田大輔氏は、産業上有用な植物由来化合物をさらに確実に生産するために、融合型制御タンパク質を介した新たな遺伝子発現制御システムの開発に取り組んでいる。

現在では、植物への遺伝子導入はできるようになったが、多数の遺伝子を同時に導入することや、導入された

多数の遺伝子の発現を厳密に制御することは依然として非常に難しい。舛本氏と柴田氏によれば、遺伝子組換え植物において、宿主植物の生育に影響を与えることなく産業的に有用な化合物を高生産させるためには、これらの課題を解決する必要があるという。

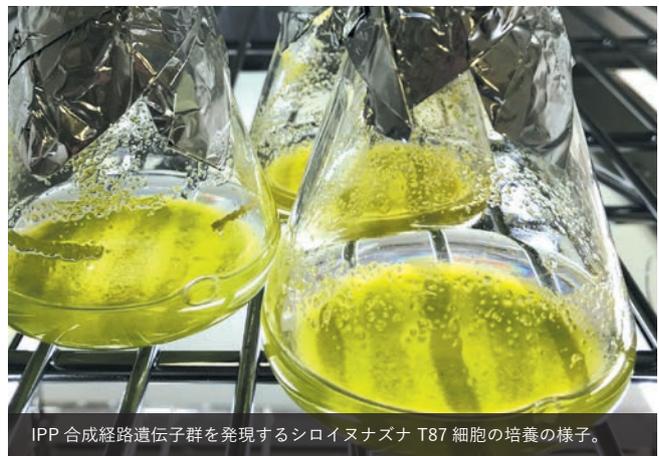
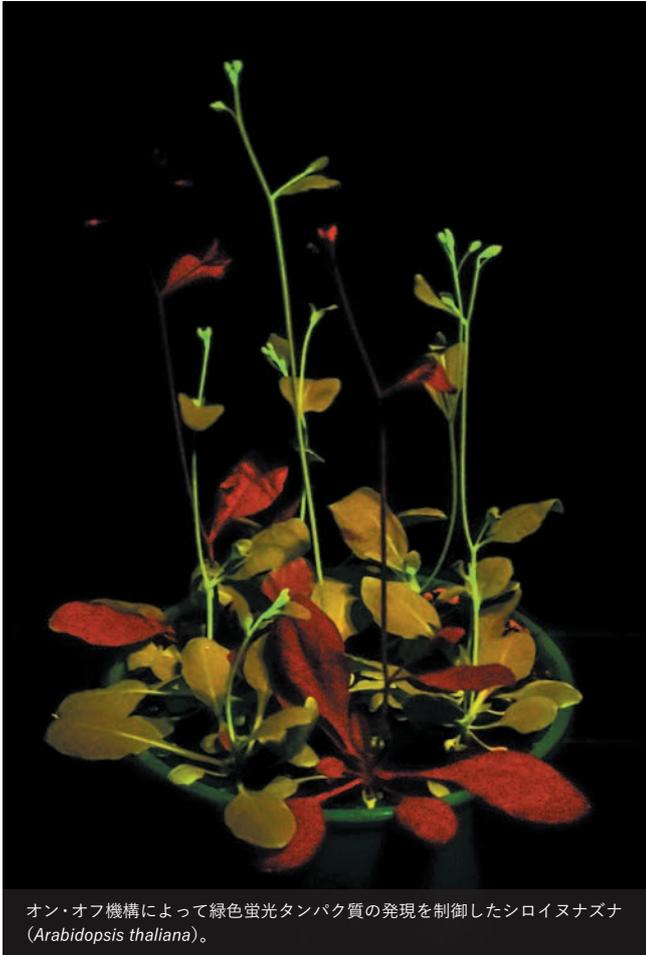
舛本氏と柴田氏は、通常は臨床研究に用いられるヒト

人工染色体を操作するための技術を応用して、外来導入遺伝子の発現制御を可能とする長鎖合成 DNA を作製し、それを植物ゲノムに挿入することに取り組んでいる。

**舛本氏と柴田氏は、
制御可能な
長い合成 DNA 鎖を
植物ゲノムに挿入
しようとしている。**

「私たちは、イソペンテニルリン酸 (IPP) の生産に注目しています。IPP は、ポリイソプレンを基本骨格とする天然ゴムを生合成するための重要な前駆体であるとともに、抗がん剤や、ポリテルペノイド樹脂などの新規バイオポリマーを生合成するための中間代謝物でもあります」と舛本氏は説明する。

かずさ DNA 研究所のチー



ムは、IPP 代謝の専門家である東北大学の高橋征司氏と共同研究を行い、IPP 合成経路の全 7 遺伝子を含む長鎖 DNA の構築を進めている。

完成すれば、これら 7 つの遺伝子を一度に植物ゲノムに挿入することが可能となり、細菌由来と植物由来の機能領域を融合した制御タンパク質によって、それらの発現を一斉に制御できるようになる。この融合型制御タンパク質は、挿入遺伝子のクロマチン構造 (DNA がタンパク質に巻き付いて折り畳まれた状態) を変化させることによって、遺伝子の発現を制御

することができる。

DNA が折り畳まれているクロマチンの構造 (状態) は、遺伝子発現の強度に影響する。例えば、作製された遺伝子組換え植物の葉や根に融合型制御タンパク質を作用させると、挿入遺伝子に組み込まれた特定の DNA 配列に細菌由来領域が結合し、植物由来領域がこの結合部位周辺のクロマチン構造を閉じさせて、遺伝子発現が制限される。

異なる融合型制御タンパク質を用いて植物を処理することで、この過程を逆転させることもできる。「不要なときには全ての導入遺伝子の発現

を停止 (オフ) させ、その後、全ての遺伝子を一斉にオンにすることができるのです」と柴田氏は説明する。

例えば、導入遺伝子の一部が間違ったタイミングでオンになると、生長の阻害や関連遺伝子の発現抑制、形態異常の発生など、意図せぬ結果を招くことにつながり生産性が低下する。従って、既存の遺伝子工学的手法に比べて挿入遺伝子の発現を厳密に制御できることは、代謝工学戦略において有利である。

柴田氏は「この研究開発をさらに進めれば、多くの産業用有用物質を植物で確実

に生産できるようになるでしょう。私たちは、将来この技術が我が国のバイオエコノミーで広く利用されるようになることを期待しています」と話す。

この研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) によるスマートセルプロジェクトの一環として行われたものである。■



Kazusa DNA Res. Inst.

www.kazusa.or.jp/en/

有用な植物遺伝子に グリーンライト

新たな技術は、ウイルス由来の酵素を使って、植物遺伝子のDNAメチル化に基づくオン・オフスイッチを制御する。



サイレンシング遺伝子の発現を止めると、脱メチル化されたタバコ植物体（上）は蛍光を発した。対照植物体（下）は、その植物本来の外観である。

共同研究者の1人である産業技術総合研究所の松村健氏は、新しい技術は、DNAのメチル化による遺伝子の不活性化を複数世代にわたって植物で精密に制御する最初のものと考えられるという。

「この技術が洗練されれば、新しいDNA断片を切ったり貼ったりすることなく、植物の遺伝子発現を微調節できるようになるでしょう」と松村氏は説明する。この種の遺伝子操作は、重要作物などの遺伝子操作技術の特許が一部の企業に独占されているといった問題を回避するのに役立つかもしれない、松村氏は言う。

植物遺伝子のオン・オフは、DNAメチル化の有無により制御されており、メチル化の誘導にはRNA分子が関わっている。植物病理学を専門とし、共同研究を行っている北海道大学の増田税氏は、そうしたメチル化のガイド役RNAを人為的なRNA酵素によって塩基配列特異的に認識・切断し、遺伝子の特定の配列がサイレンシングされないようにする技術を開発している。

植物への接種は、リボザイム（一種のRNA酵素）を人為的に仕込んだ改変ウイルスを、植物の葉に優しくこすりつけることで行われる。感染が成立すると、リボザイムは、植物細胞の内部で

メチル化のカギとなるRNA配列を探索し、正確に切断して破壊する。その結果、「標的DNAのメチル化を特異的に消去することができる」と増田氏は説明する。

この概念の実証実験では、試験植物に導入された蛍光遺伝子の発現がDNAのメチル化により停止しないようにして、緑色蛍光を維持させた（左）。蛍光遺伝子のメチル化が喪失した植物の一部はその状態を子孫に引き継いでいることから、処理の効果がある程度世代を越えて持続可能であることが示されたと増田氏は話す。

価値ある 植物由来化合物を 次々に供給する 植物でいっぱいの 温室を実現するのに 役立てたい

研究チームは、この方法を利用することで、トランスポゾン（通常は、常時メチル化によるエピジェネティック修飾を受けているDNAエレメント）の不活性化を停止させることにも成功した。トランスポゾンをオンにすることは、遺伝子の機能を探る研究にも役に立つという。

最初はロスマリン酸

研究チームは、そうした初期の実験の多くを野生型のタバ



改変されたウイルスを含む物質を葉にこすりつけることで、植物に接種を行っている様子。

コ植物体で行った。「しかし、この技術はどのような生物種にも応用できると感じています」と増田氏は話す。

抗酸化・抗炎症作用で知られる生理活性物質「ロスマリン酸」の収率向上を目指す増田氏と松村氏は、その価値

ある分子の天然の供給源であるシソへのこの技術の応用も試みている。

将来的には、このエピジェネティックな技術を使って、複雑な構造からなる医薬品原料や機能性食品素材などの価値ある植物由来化合物を次々に供給する植物でいっぱいの温室を実現するのに役立てたいと増田氏と言う。

研究チームは、上述した以外の遺伝子、化合物、植物について、複数のバイオ関連企業と共同開発の検討に入っ

ている。松村氏は、「この技術が、あらゆる種類の植物二次代謝物を商業スケールで生産できる植物の操作技術として世界的に使われるようになることを願っています」と語る。

この研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)によるスマートセルプロジェクトの一環として行われたものである。■



今回用いられたキュリモザイクウイルス (CMV) の電子顕微鏡写真。

 **HOKKAIDO**
UNIVERSITY
www.global.hokudai.ac.jp

8連のバイオリクターの前に立つ乾将行氏。遺伝子操作を施した *Corynebacterium glutamicum* を用いた発酵によってカテコールなどの有用化合物を生産できる。このリアクターは、温度、pH、酸素レベルをコンピューターで制御可能である。

持続可能な社会の実現を目指した 芳香族化合物生産のための代謝経路設計

香料や医薬品の原料として用いられる有用物質カテコールの遺伝子組換え菌による実用化を目指した高効率生産技術が開発されている。

公益財団法人地球環境産業技術研究機構（RITE）の研究者たちは、2030年の我が国の温室効果ガス排出量の削減目標達成を目指して、産業上重要な芳香族化合物を実用規模で生産する微生物の開発を進めている。

RITEが生産に成功した最も有望な芳香族化合物の1つが、香料産業や製薬産業で中間体として広く用いられているカテコールである。カテ

コールは微生物に対する毒性が強い上、原料である糖からの代謝経路が長くかつ複雑であるため、微生物発酵による実用的な生産は不可能と考えられていた。

RITEの研究者たちは現在、非病原性土壌細菌である *Corynebacterium glutamicum* を用いて世界最高レベルの濃度でカテコールを生産している。RITE バイオ研究グループのグループリーダー 乾将行氏

は、「この細菌は細胞膜に加え、ミコール酸と呼ばれる脂肪酸を含んだ厚い細胞壁を持つため、化学的ストレスにかなり強いです」と話す。「そのため、本来カテコール生産経路を持たないこの細菌に、スマートセル設計システムが提示した最適化代謝経路情報に基づき、カテコール生産酵素遺伝子を実際に導入することで、カテコール生産能を付与しました」と乾氏は説明する。

乾氏によれば、これは微生物発酵による市場創生の取り組みの一環としてスマートセルプロジェクトで開発された、日本の新しいスマートセル設計システムがなければ実現しなかったという。このシステムは複数の技術を含んでおり、各種オミクスデータを活用することで最適な生産代謝経路、高発現遺伝子配列の提案が可能である。また、生産に関わる遺伝子群の発



安全キャビネットの中で、マイクロピペットを使って、遺伝子組換え操作をしている乾氏。

現制御ネットワークをモデル化することで高生産に資する遺伝子を特定することもできる。

「複数のシステムから得られた遺伝子組換え指針を、単一の微生物生産株に集積・反映させました」と乾氏は語る。「これにより、世界最高レベルのカテコール生産濃度を短期間で達成することができました」。

この他にも RITE の研究グループは *C. glutamicum* の代謝経路を最適化することで、シキミ酸やフェノールなどをはじめとするさまざまな有機酸および芳香族化合物の高効率生産にも成功している。これらはいずれも医薬品、化粧品、プラスチックの製造

原料として広く使用される有用物質である。

「私たちは、 世界最高レベルの カテコール生産濃度 を達成することが できました」

実用化を見据えた 生産技術開発

上記の研究に加えて RITE の研究者たちは、効率的な物質生産プロセスを開発した。このプロセスでは、微生物はまずバイオリクターへと高密度で充填される。この状態で酸素を不足させると微生物は増殖を停止する。しかし、微生物の主要な代謝経路は活性化されたままなので、増殖に

必要な成分や外部からのエネルギーを投入しなくても有用物質の生産を行うことができる。この状態で目的とする物質の生合成に必要な原料を投入することにより短時間に多量の有用物質の生産が可能となる。

「他の産業で排出される CO₂ を発酵の基質として使う生産プロセスを構築し、炭素シンクとして働かせることによって、大気中の CO₂ 濃度を低下させたいとも考えています」と乾氏は付け加える。

「カテコール生産株の構築に成功したため、本プロジェクトで開発された代謝設計システムは他の多くの石油系芳香族化合物や生産困難物質の生産にも応用できる

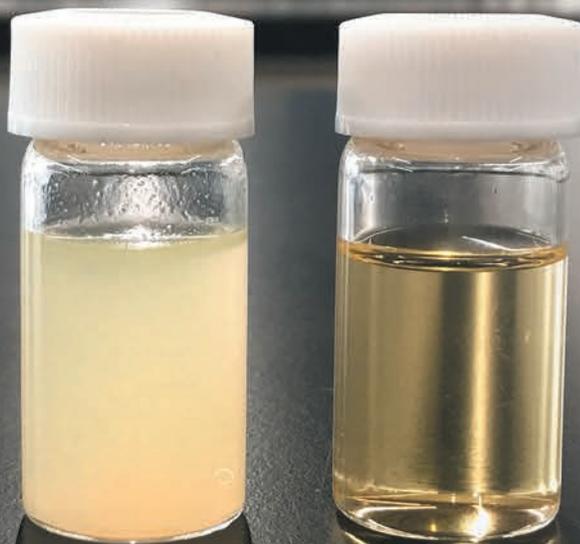
と考えています」と乾氏は話す。「また、再生可能な資源を使った発酵技術を開発して普及させることにより、今後 10 年以内に化石資源に依存した社会から脱却して、持続可能な社会へ移行することができると信じています」。

本稿で紹介した代謝設計システムの開発も含め、この研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) によるスマートセルプロジェクトの一環として行われたものである。■

RITE
Research Institute of Innovative
Technology for the Earth

www.rite.or.jp/en/

野生型の油脂酵母 *L. starkeyi* が生産した油脂（左）と、遺伝子組換えEPA生産 *L. starkeyi* 株が生産した油脂（右）。EPAを含む油脂はPUFAの割合がより高いので融点が低く、室温で凝固しにくい。



オメガ3脂肪酸生産という難題に立ち向かう酵母

代謝工学的に改変された油脂酵母 (*Lipomyces starkeyi*) が、複雑なオメガ3多価不飽和脂肪酸の持続可能な供給源として期待されている

過去10年間に、乳幼児食、栄養補助食品、水産養殖用飼料の成分として、オメガ3多価不飽和脂肪酸 (PUFA) の需要が増加した。このことが、オメガ3 PUFA の主要な供給源である、サケやサバなどの多脂魚の漁獲にプレッシャーを与えている。そうした中、新潟薬科大学 (NUPALS) の研究者らは、代替供給源として、酵母の改変に取り組んでいる。

微細藻類がエイコサペンタエン酸 (EPA) などの PUFA を生産できることは

すでに明らかである。しかし、微細藻類は、大量培養生産が困難で、油脂生産レベルも低い。そこで、新潟薬科大学の高久洋暁氏は、「我々は EPA を生産できる油脂酵母 *Lipomyces starkeyi* をデザインし、開発に成功しました」と話す。

L. starkeyi は、油脂酵母の1種で、油脂であるトリアシルグリセロールを細胞内に大量に蓄積できる。「*L. starkeyi* の蓄積油脂含量は、油脂酵母の中でも多く、乾燥菌体重量の85%まで油脂を蓄積で

きます」と高久は説明する。「さらにこの酵母は、自身の蓄積した油脂を分解する能力が低く、それが大きな利点なのです」。

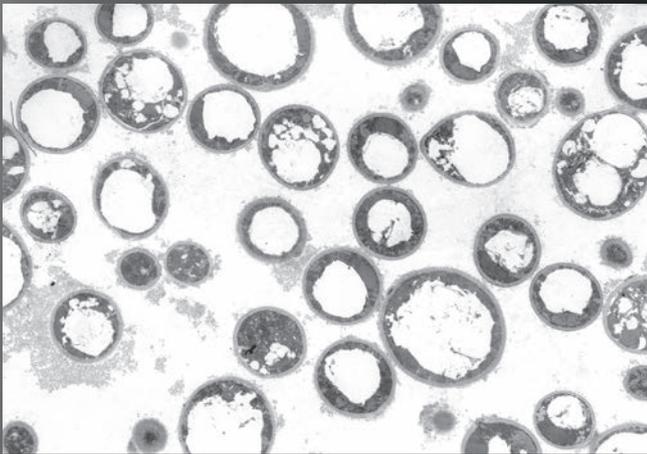
研究者たちは、酵母 *Lipomyces starkeyi* を改変してオメガ3 PUFA を生産できるようにした。

しかしながら、*L. starkeyi* が合成できる PUFA は、18炭素鎖長までであると

高久氏は話す。「そこで私たちは、20炭素鎖長の PUFA である EPA を生産する能力を付与するために、藻類の EPA 合成系の一部を *L. starkeyi* に導入しました」

高久氏らは次に、オメガ3 PUFA 生産効率を追求した。EPA の生産は、脂肪酸伸長酵素 (エロンガーゼ) と不飽和化酵素 (デサチュラーゼ) による連続的な作用を必要とする多段階プロセスである。

研究チームは、京都大学の荒木通啓氏が開発した“文献等からの知識抽出・



油脂酵母*Lipomyces starkeyi*の透過電子顕微鏡写真。細胞内の白い部分が油脂である。

学習技術”を使用して、タンパク質データベースの中から、*L. starkeyi* で最適に機能する真核微生物のデサチュラーゼとエロンガーゼの候補を探索した。

さらに研究チームは、日本で開発された長鎖 DNA 合成技術を用いて、*L. starkeyi* にこれらの酵素をコードする複数の遺伝子を導入した。すると *L. starkeyi* は、全脂肪

酸含量の 18.4% (10% EPA) まで、オメガ 3 PUFA を生産するようになった。

また研究者たちは、産業技術総合研究所の油谷幸代氏が開発した発現制御ネットワーク構築技術を使って、脂肪酸合成経路の遺伝子の発現を増加させることで、EPA の生産量を 2 倍に高めることに成功した。

最後に高久氏は、野生型の *L. starkeyi* 株と油脂蓄積変異 *L. starkeyi* 株のゲノム配列を比較することによって、油脂生産に関連する新たな制御因子を発見した。これを利用することで、油脂生産レベルが 4 倍に増加した。

「本来 EPA を生産できな

かった酵母が、日本で開発された一連の技術によって、わずか 2 年間で、これほどの量のオメガ 3 PUFA 生産を達成できるようになったことは驚くべきことです」と高久氏は言う。彼は、数年のうちに商業生産が始められると考えている。

この研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) によるスマートセルプロジェクトの一環として行われたものである。■



Niigata University of
Pharmacy and
Applied Life Sciences

www.nupals.ac.jp/english/



酵母の無菌操作を行っている高久氏。

合成生物学を スケールアップ するための 体系的アプローチ

遺伝子組換え植物や微生物による物質生産システムを築き上げるには、情報解析を利用した**効率的なデータ解析ツール**がカギとなる。

合理的なデータ解析ツールは、日本の合成生物学者たちが、生物機能を使って有用化合物を生産する持続可能な産業社会を構築するために役立つことが期待される。

この「バイオエコノミー」には、細菌が生産する香料原料となる化合物や、酵母が作るパーム油代替品など、微生物による生産が期待されるあらゆるものが含まれると、生体システムビッグデータ解析オープンイノベーションラボラトリーの副ラボ長を務める産業技術総合研究所の油谷幸代氏は説明する。

「全てのパーム油の10%を持続可能な代替品で代用しようとするだけで、すでに1年当たり6000万トンの油の

必要があります」と油谷氏は指摘する。「酵母由来の代替品を使えば、年間2億4000万トンものCO₂削減につながる可能性があります」

「大量のDNA合成にかかる時間は半分に、コストは10分の1になりました」

日本人は、醤油や漬物などの発酵食品を昔から食べてきたこともあり、「発酵」と「微生物」というバイオエコノミーを推進するに当たり重要な2つの研究分野に強みがある。このような伝統的基盤と近年体系化された研究アプ

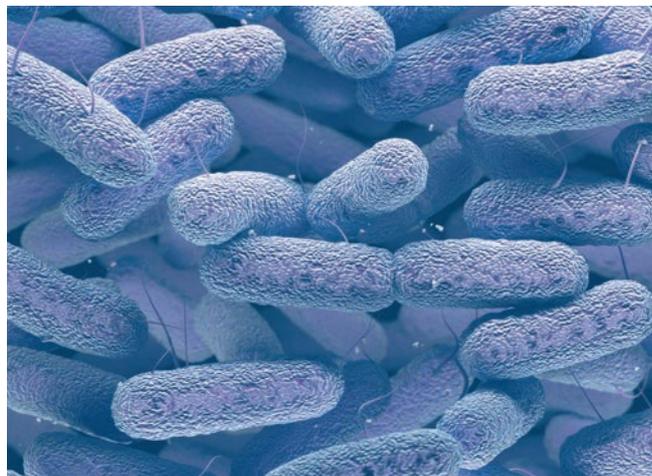


ローチの融合により、この先10年間でバイオエコノミー社会の実現に向けた急速な進展があると期待されている。

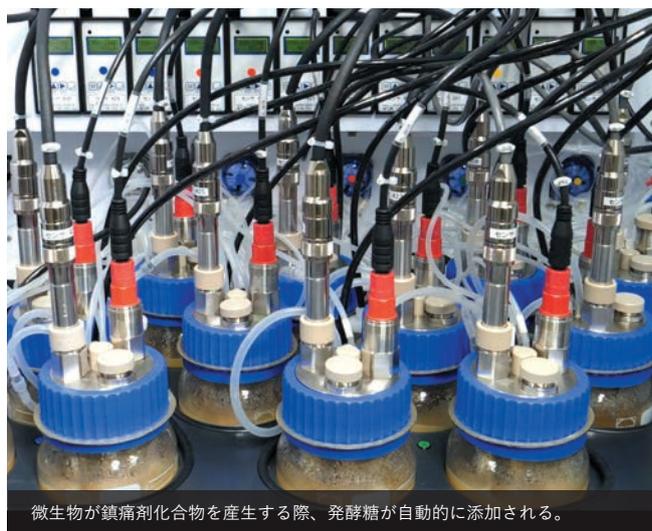
より無駄のないデータで

油谷氏は遺伝子ネットワーク解析などを用いた情報解析手法の開発に取り組んできた。「ターゲット化合物の生産性を高めるために宿主微生物の育種が必要ですが、世界的に

は、改変遺伝子候補の探索に機械学習を使っています。しかし、機械学習を活用するには、数万のデータポイントが必要です」と彼女は説明する。「数万データポイントの取得には膨大なコストがかかるため、私たちは、数百データポイント程度の現実的に取得可能なデータ量で、同水準の精度を実現できるモデル化技術を開発しています」。



改変型カイコ由来酵素の大腸菌への実装がテトラヒドロパバペロリンとレチクリンの産生量をそれぞれ7倍以上向上させた。



微生物が鎮痛剤化合物を産生する際、発酵糖が自動的に添加される。

例えば、油谷氏は統計的手法を用いて、ある化合物の産生に寄与する遺伝子間の因果関係を推定するネットワークマップを構築している。「生物体の中では非常に複雑で精密な制御システムが形成されていて、ある遺伝子が働くと、他の遺伝子のスイッチをオンにしたり時にはオフにしたりします」と油谷氏は説明する。「この制御システムを

ネットワークとして再構築できれば、標的化合物の生産量を制御する因子を発見できるようになります」。

油谷氏は、この遺伝子ネットワーク解析技術を用いた実験で、これまで機能未知だったある遺伝子が、*Lipomyces* 属酵母で油脂生産量を2倍に増大させることに関与していることを見いだした。宿主生物のシステムを明らかにす

ることで、改変すべき遺伝子発見に必要なデータ量が、10分の1、場合によっては100分の1にもなるはずだと油谷氏は言う。

生物産生経路ツール

理化学研究所の細胞生産研究チームに所属する白井智量氏は人工代謝経路を設計している。彼はBioProVと呼ばれる計算ツールを作成した。この

ツールは酵素のデータベースを利用して、新しい代謝反応が起こる可能性のある人工反応を探索する。

白井氏によると、目的とする化合物を生産する細胞株の育種は、計算から予測される細胞内代謝の変化に基づいて改変されることが多いという。この計算手法は、特定の反応をコードする遺伝子が改変されると、目的化合物の生産



代謝設計、酵素設計、DNA 合成、ハイスループット実験、メタゲノミクス等を組み合わせた DBTL 研究が可能なバイオファウンドリー・パイロット設備 (神戸大学)。



解析作業を行う産業技術総合研究所の研究者。

性がどう変化するかを予測するものである。しかし、白井氏はこれだけでは十分でないと考え、「微生物による発酵生産の産業化を考えたとき、私たちは逆のアプローチも取らなければなりません。つまり、目的化合物が高生産されることを目標に、そのような生産株を作るための細胞設計を見つける必要があります」

と彼は言う。

また彼は、BioProV を使って目的の反応を触媒する酵素タンパク質をコードする候補遺伝子を、微生物や植物細胞から探索する方法が必要であると提案している。「この技術を確立することで、ある生物が、天然には存在を知られていない人工酵素を使って、非天然化合物を合成するため

の経路を構築することができます」と、彼は説明する。

また、白井氏のグループは、京都大学の荒木通啓氏が開発した M-Path と呼ばれるツールも利用して新しい代謝経路を設計した。「これらのツールを使うことで、実現可能な代謝反応経路のレポーターが広がります。私たちはもはや、既存の酵素や反応の最適化だけに制約されなくなったのです」と彼は言う。

DBTLサイクルを使った効率的な細胞の作出に必要な全ての要素を作り出すことができました

生産を加速

神戸大学先端バイオ工学研究センターを率いる蓮沼誠久氏は、M-Path 等の代謝経路設計ツールを用いることで、有用物質の生産量向上に成功した。

「私たちのグループは、微生物ライブラリの構築やオミクス解析の前処理等、実験工程の自動化に取り組みつつ、バイオインフォマティクスにより設計した新しい代謝経路を具現化することで、高性能の細胞を短期間で作出する研究を行っています」と蓮沼氏は説明する。

これまで、神戸大チームでは、多数の遺伝子の発現を一括して制御できる長鎖

DNA に着目し、長鎖 DNA のパーツとなる一本鎖 DNA を自動的に合成する装置を開発してきた。「これは世界で最も正確に DNA を合成できる装置です。合成にかかる時間は半分以上に、コストは 10 分の 1 に削減できました」

蓮沼氏のチームは、鎮痛剤製造に必要な前駆体化合物であるテトラヒドロパペロリンとレチクリンの生合成研究に取り組んでいる。代謝経路設計、酵素設計、メタボロミクスを組み合わせた、DBTL (design, build, test, and learn) サイクルと称するワークフローを実践することにより、テトラヒドロパペロリ

ンの微生物による生産性を最高 8 倍に、レチクリンを 7 倍以上に増やした。

成功のポイントとしては、M-Path による代謝経路のショートカットの提示、カイコ由来酵素が有するバイファンクショナルな反応特異性のバランス最適化、メタボロミクスに基づく反応条件の最適化が挙げられる。

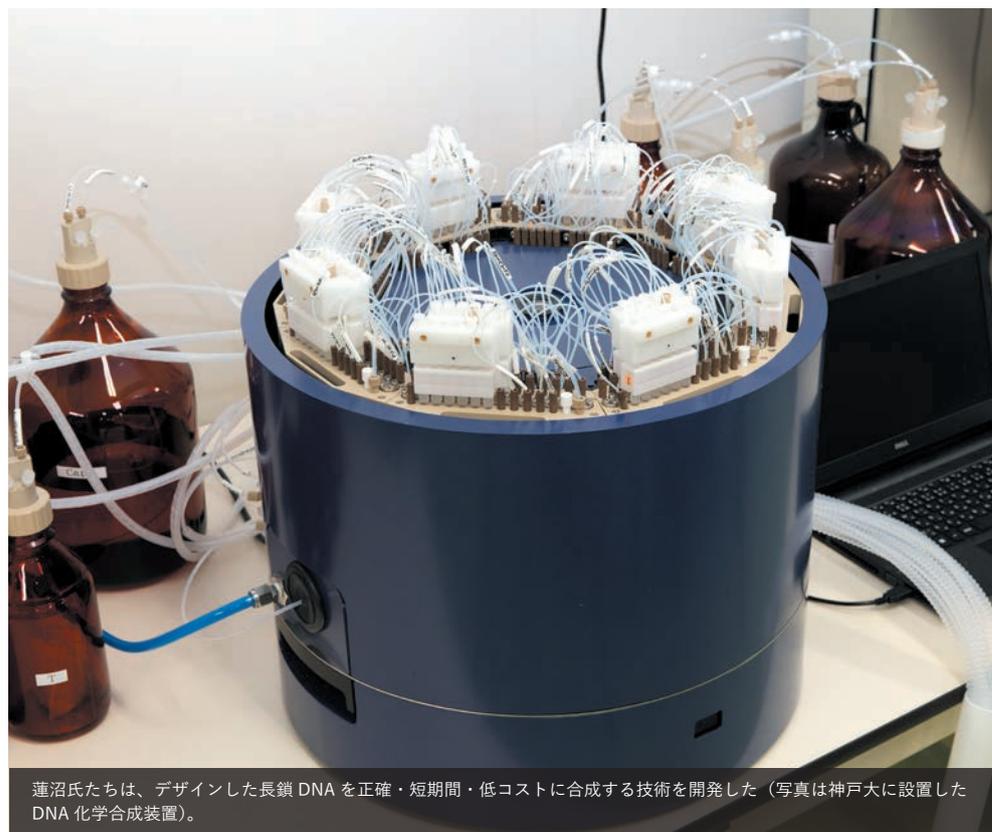
「私たちは、代謝設計技術に基づいた微生物構築と構築された微生物の性能評価の自動化を推進するなど、DBTL サイクルを使った効率的な微生物育種に必要な要素技術を作り出すことに成功したことで、飛躍的に作業効率を改善

することができました。」と、蓮沼氏は言う。「この開発は、今後、培養スケールを拡大し、目的化合物のバイオプロセスによる商業生産へと展開していく上で重要なステップになるでしょう」。

この研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) によるスマートセルプロジェクトの一環として行われたものである。■



New Energy and Industrial Technology
Development Organization
www.nedo.go.jp/english/index.html

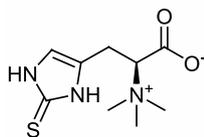


蓮沼氏たちは、デザインした長鎖 DNA を正確・短期間・低コストに合成する技術を開発した (写真は神戸大に設置した DNA 化学合成装置)。

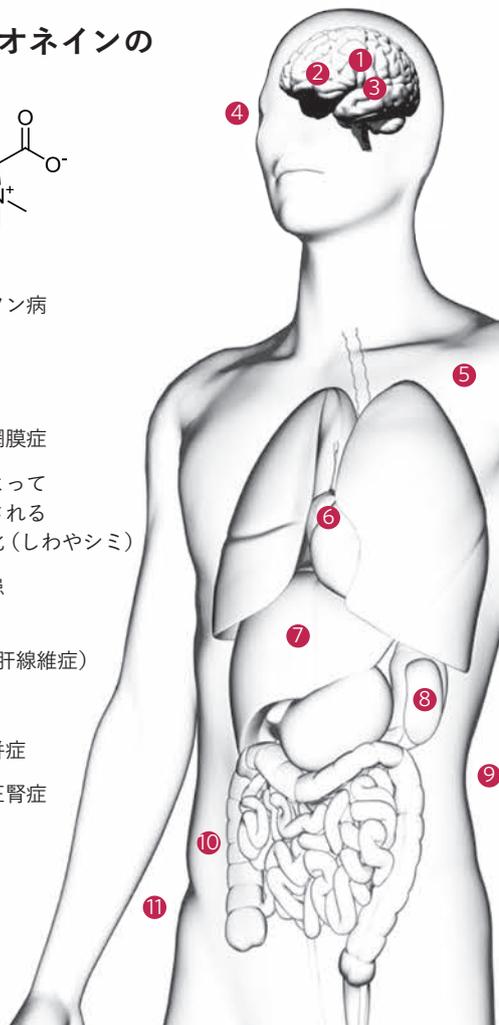
長寿ビタミン 「エルゴチオネイン」 の発酵生産における ブレイクスルー

合成生物学と呼ばれる先端バイオ技術を活用することで、アンチエイジング作用を持つビタミン様物質エルゴチオネイン（EGT）の低コスト大量生産実現への道が見えてきた。

エルゴチオネインの 標的候補



- ① パーキンソン病
- ② 認知障害
- ③ うつ
- ④ 白内障、網膜症
- ⑤ 紫外線によって引き起こされる皮膚の老化（しわやシミ）
- ⑥ 心血管疾患
- ⑦ 肝疾患（脂肪肝、肝線維症）
- ⑧ 腎疾患
- ⑨ 糖尿病合併症
- ⑩ 妊娠高血圧腎症
- ⑪ がん



最近の日本の研究で、発酵技術によりアンチエイジングと密接に関連していることが報告されている EGT を、従来技術と比較しわずか 100 分の 1 程度のコストで生産できることが示唆された。

加齢研究の第一人者であるカリフォルニア大学パークレー校生化学・分子生物学名誉教授 Bruce Ames 氏は、「EGT は『長寿ビタミン』と呼ばれる化合物群の 1 つである」と述べており、「こうした化合物は、長期的な健康に不可欠であり食事から摂取しなければならないため、ビタミンの新しいグループとして位置付けよう」と提案している（Ames, B. *Proceedings of the National Academy of Sciences* (2018)）。化学系専門商社長瀬産業の EGT プロジェクトのリーダーである仲谷豪氏によると、最近の研究で、EGT は活性酸素種を消去し、加齢によって起こるしわや、虚弱体質、認知機能低下などの発現を遅らせる可能性があることが示されている。また、体内 EGT レベルの低下と、軽度認知障害、パーキンソン病、白内障、心血管疾患との間には相関性があることも示されている。

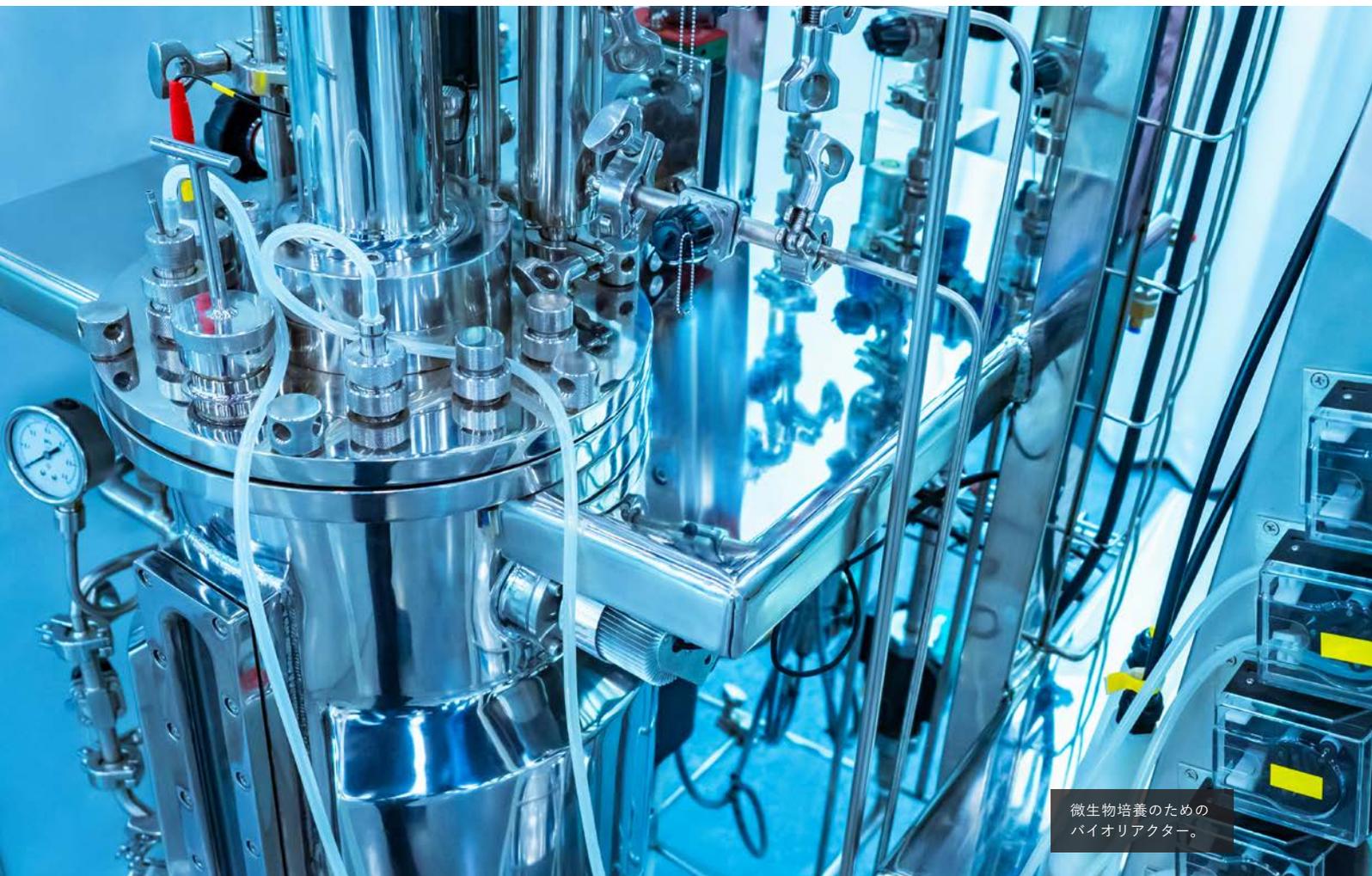
「EGT はキノコなどの微生物によってのみ作られますが、ヒトの体には脳、皮膚、目、肝臓といった酸化ストレスや炎症の影響を受けやすい組織や細胞が、EGT を取

り込んで蓄積する機構があります。これは、体内で EGT が重要な働きをもつことを示唆しています」と仲谷氏は言う。2005 年に EGT に特異的な輸送体が発見されたことにより EGT に対する注目度は急速に高まっていったが、EGT が非常に高価であることが、EGT の商業的利用の大きなハードルであった。

最先端の酵素設計 およびハイスルー ブット評価システム を利用することで、 生産性が飛躍的に 向上しました

2014 年に長瀬産業が EGT の研究を開始した当時、1 kg のコストは高いもので 100 万 US ドルを超えていた。「きのこから採取できる量はわずかで、有機合成は環境への影響があるため、どちらも私たちの『安価かつサステナブルなバイオプロセスの開発』という目標を満たせるものではありませんでした。そこで、発酵生産法の開発を開始し、微生物の生合成経路を改変し、代謝を最適化することにより、開発スタート時と比較し生産効率を約 1000 倍まで高めることができました」と仲谷氏は言う。

世界最高レベルの生産性
合成生物学と呼ばれる微生物
や植物細胞を使用する物質生



微生物培養のための
バイオリクター。

産技術の開発を奨励するスマートセルプロジェクトへの参加は、長瀬産業にとって大きなものとなった。同社は、プロジェクトへの参画によって、最先端の酵素設計システムと代謝設計システムを利用できるようになった。「その結果、私たちは他の日本やヨーロッパのチームによる最近の報告よりも、何倍も高い生産性を達成しています」と言う。

最近、長瀬産業は、スマートセルプロジェクトの研究パートナーと共に、EGTの

細胞外への輸送に関連する遺伝子群を突き止めた。「重要なのは、工業生産の下流工程で効率的に処理できるよう、化合物を細胞外へと排出させることです」と、仲谷氏は説明する。

現在同社は、開発した高生産菌を用いた工業生産レベルへのスケールアップを進めており、同時に更なる生産性向上のために生産株設計の微調整も続けている。長瀬産業の保有するハイスループットシステムを用いて、毎週数

千もの菌株を評価しながら最適化を行っている。さらに、同社は生産プロセスの開発と並行して、食品、化粧品、製薬企業への紹介を始めている。

「EGTの低コストかつサステナブルな発酵プロセスの開発により、これまで困難であった商業利用へのハードルを下げ、多くの人々へ魅力的な素材であるEGTを届けたいと思います。また、今後もEGTのように、先端バイオ技術を利用した研究開発を通して、高付加価値の製品

をサステナブルな方法で提供し、長瀬産業が掲げる『人々が快適に暮らせる安心・安全で温もりのある社会』の実現に貢献していきたいです」と仲谷氏は話す。

この研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)によるスマートセルプロジェクトの一環として行われたものである。■

 **NAGASE**
NAGASE & CO., LTD.

www.nagase.co.jp/english



[nature.com/collections/focal-point-synthetic-biology-in-japan](https://www.nature.com/collections/focal-point-synthetic-biology-in-japan)