

「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発／  
有用天然化合物の安定的な生産技術開発」  
事後評価報告書

# 表紙

平成26年3月

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
研究評価委員会

平成26年3月

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
理事長 古川 一夫 殿

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
研究評価委員会 委員長 西村 吉雄

NEDO技術委員・技術委員会等規程第33条の規定に基づき、別添のとおり  
評価結果について報告します。

「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発／  
有用天然化合物の安定的な生産技術開発」  
事後評価報告書

平成26年3月

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
研究評価委員会

## 目 次

はじめに	1
分科会委員名簿	2
審議経過	3
評価概要	4
研究評価委員会におけるコメント	7
研究評価委員会委員名簿	8
第1章 評価	
1. プロジェクト全体に関する評価結果	1-1
1. 1 総論	
1. 2 各論	
2. 評点結果	1-16
第2章 評価対象プロジェクト	
1. 事業原簿	2-1
2. 分科会における説明資料	2-2
参考資料1 評価の実施方法	参考資料 1-1
参考資料2 評価に係る被評価者意見	参考資料 2-1
参考資料3 分科会議事録	参考資料 3-1
参考資料4 評価結果を受けた今後の取り組み方針について	参考資料 4-1

## はじめに

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構においては、被評価プロジェクトごとに当該技術の外部専門家、有識者等によって構成される研究評価分科会を研究評価委員会によって設置し、同分科会にて被評価対象プロジェクトの研究評価を行い、評価報告書案を策定の上、研究評価委員会において確定している。

本書は、「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発／有用天然化合物の安定的な生産技術開発」の事後評価報告書であり、第35回研究評価委員会において設置された「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発／有用天然化合物の安定的な生産技術開発」（事後評価）研究評価分科会において評価報告書案を策定し、第38回研究評価委員会（平成25年3月27日）に諮り、確定されたものである。

平成26年3月  
独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構  
研究評価委員会

「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発

／有用天然化合物の安定的な生産技術開発」

事後評価分科会委員名簿

(平成25年12月現在)

	氏名	所属、役職
分科 会長	はやかわ まさゆき 早川 正幸	山梨大学 大学院医学工学総合研究部 医学・工学融合学域 教授 (生命環境学部長)
分科 会長 代理	おいかわ ひであき 及川 英秋	北海道大学 大学院理学研究院 化学部門 有機反応論研究室 教授
委員	えぐち ただし 江口 正	東京工業大学 大学院理工学研究科 物質科学専攻 教授
	ごみ かつや 五味 勝也	東北大学大学院 農学研究科 生物産業創成科学専攻 遺伝子情報システム学分野 教授
	なかがわ さとし 中川 智	協和発酵バイオ株式会社 ヘルスケア商品開発センター 学術研究企画室 室長
	むらた みちお 村田 道雄	大阪大学 大学院理学研究科 化学専攻 生体分子化学研究室 教授

敬称略、五十音順

注\*：実施者の一部と同一組織であるが、所属部署が異なるため（実施者：東北大学 薬学研究科）「NEDO 技術委員・技術評価委員規程(平成23年7月7日改正)」第34条（評価における利害関係者の排除）により、利害関係はないとする。

## 審議経過

### ● 第1回 分科会（平成25年12月11日）

#### 公開セッション

1. 開会、分科会の設置、資料の確認
2. 分科会の公開について
3. 評価の実施方法と評価報告書の公開について
4. 評価報告書の構成について
5. プロジェクトの概要説明

#### 非公開セッション

6. プロジェクトの詳細説明
7. 全体を通しての質疑

#### 公開セッション

8. まとめ・講評
9. 今後の予定、その他
10. 閉会

### ● 第38回研究評価委員会（平成26年3月27日）

## 評価概要

### 1. 総論

#### 1) 総合評価

本プロジェクトは、ポストゲノム時代を見据えた天然物由来の創薬基盤技術の開発を目指したものであり、種々の微生物由来の天然物の遺伝子クラスターを、異種発現系を用いて安定的に生産させる技術の開発を大規模に行うことを目指す革新的なものである。天然化合物のスクリーニング研究から撤退する状況にある国内の多くの製薬会社において、今一度、天然化合物研究の復興を目指し、産業界の国際競争力の強化につなげるために重要な研究開発である。本プロジェクトでは、我が国が世界をリードしてきた天然生理活性物質や放線菌ゲノムに関する最先端の研究や技術を基盤とし、BAC (Bacterial Artificial Chromosome) ベクターを用いた生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築、クローニング、異種放線菌への導入、発現といった新規システムを構築し、企業でも導入の検討を考慮するに足るレベルまで高めた。また、まだ成功例のない 100 kb を超えるクラスターの発現を含め、64 例もの物質生産に成功した。僅か 2 年の研究期間にも拘わらず、当初の目標を上回る顕著な成果を数多く挙げたことは、新しい医薬品の開発、企業の国際競争力向上に繋がるものであり、極めて意義があると判断される。

#### 2) 今後に対する提言

異種放線菌ホスト株へ導入した巨大生合成遺伝子クラスター、休眠あるいは未知の生合成遺伝子クラスターの恒常的発現が成されるような手法を研究、開発していただきたい。また、放線菌の属種は極めて多様であり、Streptomyces 属以外の希少放線菌の生合成遺伝子クラスターへも適用できれば、天然物スクリーニングの新たな展開を導くと思われる。本技術は、創薬を目的とした天然物化合物研究のみならず、グリーンバイオ領域をはじめ、広くバイオテクノロジー産業に活用できるものと思われるので、技術活用を求めるべく、NEDO・実施者は一般への広報活動も強化して欲しい。

### 2. 各論

#### 1) 事業の位置付け・必要性について

創薬ヒット化合物の発見頻度が下がっている中において、微生物ゲノム情報を用いた創薬という新たな手法を発展、一般化させ創薬効率の向上を目指すものであり、事業目的は妥当である。膨大な数の天然物が生物のゲノム上に眠っていることが判明したことから、天然物が再度注目されつつあるが、具体的な方法論がないのが現状である。これを有用資源として捉え直し、日本が長年培ってきた技術で発掘することは重要である。天然化合物に関わる天然物化学と放線菌をはじめとする生産菌



の育種技術については、わが国が世界をリードする分野であるが、これらの領域でも世界的な追い上げが激しくなっている中、実用化を視野に入れた基盤技術開発の立ち上げは時宜を得たものであり、その重要性もきわめて高いものと判断される。また、世界的にも競争力のある複数の公的研究機関の技術を集約する等、民間企業のみでは到底実施できない研究開発目標であり、NEDOの事業として妥当であると考えられる。

## 2) 研究開発マネジメントについて

生合成遺伝子クラスターの取得目標数、異種発現の生産量など、明確な達成目標が設定された上で事業が展開された。開発実施体制においても、事業に必要な各研究分野のトップに位置する布陣で構成されており、さらに成果の活用・実用化の担い手となるに値する企業が参入している。プロジェクトリーダーの統括の元、当初の目的からぶれることなく、非常に良い協力体制のもと、プロジェクトが運営された。途中、異種発現システムによる物質生産実証試験において、複数の培地での試験の追加及びそれに伴う質量分析装置の導入は適切な措置であったと判断できる。

また、短期間のプロジェクトであることから、すべての課題を同時並行的に進める必要があったが、中核技術である既存の発現システムがあったことから、方針が明確で安心感のある計画となっている。

## 3) 研究開発成果について

目標を超える数の生合成遺伝子クラスターを取得するとともに、BACベクターによる巨大DNA断片の新規取得技術、放線菌ホストへの巨大遺伝子クラスター導入技術等を開発することにより、それらの69%について異種発現に成功している。これまでの常識では異種発現の成功率が10%と言われている中で、極めて優れた成果であると判断される。BACベクターを用いた巨大なDNA遺伝子導入そのものは報告例があるが、物質生産に使える技術に仕上げたのは、世界的にも例のない基礎／応用の両面で素晴らしい成果である。また異種発現により、極めて高い生産量が認められた抗生物質がある点、さらに親株では生産されない物質の誘導がみられたことなどから、開発された技術の応用は将来的に医薬品市場の拡大に結び付くと考えられる。

本プロジェクトの成果に関する知的財産権については、技術の重要なノウハウが一般化されることにより海外に対する優位性確保が困難になる恐れがあることから、特許化せずにノウハウとして活用することとした判断は適切と考える。また、その成果は、数多くの論文や学会発表など情報発信をしており、成果の普及も十分に努力している。

一方、予想以上の成功率であるが、汎用性を高め、この方法論の信頼性を向上させるには、発現制御機構の解明は、避けては通れない問題である。今後、後継のプロジェクトなどの遂行で宿主に依存した発現など具体例が蓄積すれば、発現制御系の解析に有用なデータを提供すると同時に、制御機構の解明の糸口が見つかる可能

性がある。この点も検討して欲しい。

#### 4) 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

高度な技術を要する巨大遺伝子クラスターの取得及び高生産性のホストへの導入を一般化したことに意義がある。また、親株では生産性が見られなかった化合物の生産誘導ができたことは、今後の創薬スクリーニングにおいて極めて有用な技術として応用できる。既に委託先である次世代天然物化学技術研究組合に参画した製薬企業等から技術開発成果の活用が開始され、その実績をもとに国内企業への普及が進むことが期待される。実際にすでに本事業で開発した技術をもとに、休眠遺伝子クラスターの強制発現により、生産が認められない化合物の高生産に成功しているということから、医薬品開発に資する技術として利用されることが大いに期待できる。

## 研究評価委員会におけるコメント

第38回研究評価委員会（平成26年3月27日開催）に諮り、本評価報告書は確定された。研究評価委員会からのコメントは特になし。

## 研究評価委員会

委員名簿（敬称略、五十音順）

職 位	氏 名	所属、役職
委員長	西村 吉雄	技術ジャーナリスト
委員長 代理	吉原 一紘	オミクロンナノテクノロジージャパン株式会社 最高顧問
委員	安宅 龍明	独立行政法人産業技術総合研究所 つくばイノベーション アリーナ推進本部 共用施設調整室 招聘研究員
	伊東 弘一	学校法人早稲田大学 理工学術院 招聘研究員 公立大学法人大阪府立大学 名誉教授
	稲葉 陽二	学校法人日本大学 法学部 教授
	小林 直人	学校法人早稲田大学 研究戦略センター 副所長／教授
	佐久間一郎	国立大学法人東京大学 大学院工学系研究科 附属医療 福祉工学開発評価研究センター センター長／教授
	佐藤 了平	国立大学法人大阪大学 産学連携本部 名誉教授／特任 教授
	菅野 純夫	国立大学法人東京大学 大学院新領域創成科学研究科 メディカルゲノム専攻 教授
	宮島 篤	国立大学法人東京大学 分子細胞生物学研究所 教授
	吉川 典彦	国立大学法人名古屋大学 大学院工学研究科 マイク ロ・ナノシステム工学専攻 教授

## 第1章 評価

この章では、分科会の総意である評価結果を枠内に掲載している。なお、枠の下の「○」「●」「・」が付された箇条書きは、評価委員の主な指摘事項を、参考として掲載したものである。

## 1. プロジェクト全体に関する評価結果

### 1. 1 総論

#### 1) 総合評価

本プロジェクトは、ポストゲノム時代を見据えた天然物由来の創薬基盤技術の開発を目指したものであり、種々の微生物由来の天然物の遺伝子クラスターを、異種発現系を用いて安定的に生産させる技術の開発を大規模に行うことを目指す革新的なものである。天然化合物のスクリーニング研究から撤退する状況にある国内の多くの製薬会社において、今一度、天然化合物研究の復興を目指し、産業界の国際競争力の強化につなげるために重要な研究開発である。本プロジェクトでは、我が国が世界をリードしてきた天然生理活性物質や放線菌ゲノムに関する最先端の研究や技術を基盤とし、BAC (Bacterial Artificial Chromosome) ベクターを用いた生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築、クローニング、異種放線菌への導入、発現といった新規システムを構築し、企業でも導入の検討を考慮するに足るレベルまで高めた。また、まだ成功例のない 100 kb を超えるクラスターの発現を含め、64 例もの物質生産に成功した。僅か 2 年の研究期間にも拘わらず、当初の目標を上回る顕著な成果を数多く挙げたことは、新しい医薬品の開発、企業の国際競争力向上に繋がるものであり、極めて意義があると判断される。

#### 〈主な肯定的意見〉

- 我が国が世界をリードしてきた天然生理活性物質や放線菌ゲノムに関する最先端の研究や技術を基盤とし、BAC (Bacterial Artificial Chromosome) ベクターを用いた生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築、クローニング、異種放線菌への導入、発現といった新規システムを構築し、ことは、新しい医薬品の開発、ひいては健康長寿社会の構築、企業の国際競争力向上に繋がるものであり、極めて意義がある成果であると判断される。
- 世界的に天然物を用いた創薬研究は、メガファーマの天然物部門の閉鎖に見られるように、退潮傾向にある。臨床用抗生物質の枯渇が近い将来顕在化することが予想されている中で、天然物分野の見直しは、この分野を得意とする日本の製薬企業が、メガファーマに対して特色を出し差別化する上で、注目すべき課題である。ゲノム解析の簡便化／低コスト化が進み、天然物の設計図とも呼ぶべき生合成遺伝子クラスターの同定例は、今後加速度的に増加するであろう。ここで得られる遺伝子資源を世界に先駆けて効率良く産業利用できれば、過去に多くの臨床用薬剤の供給源であった天然物が役立つ可能性は大である。現時点で実用可能な技術は皆無であり、本事業のように天然物の主要供給源である放線菌に特化し、巨大なクラスターも含め、すべての

クラスターを丸ごと発現する試みは魅力的である。

本事業では、この困難な課題に果敢に挑戦し、将来を見据えた戦略のもと、まだ成功例のない **100 kb** を超えるクラスターの発現を含め、**64** 例もの物質生産に成功した。専門家がみても単なる数合わせと違い、化合物種に多様性があり、どの天然物でも生産できることを示したことで説得力がある。これは実用化の第一段階である生産性の低い天然物の量的供給に途を拓くものである。また発現システムの検証以外にも、ゲノムの精密解析技術の開発、クラスター同定ソフトの制作など、発現をスピードアップさせる上で重要な周辺技術の確立は、短期間にこれだけの成果をあげた大きな要因である。まだ多くが既知化合物に限られるが、今後作業効率が向上し、構造未知の有効化合物が続々と発見される状況になれば、注目度はさらに上がり、実用化を加速するものと思われる。

- 本プロジェクトは、ポストゲノム時代を見据えた天然物由来の創薬基盤技術の開発を目指したものであり、種々の微生物由来の天然物の遺伝子クラスターを、異種発現系を用いて安定的に生産させる技術の開発を大規模に行うことを目指す革新的なものである。当初の目的であるミリグラムスケールで化合物の生産を **40** 個以上という目的を超えた成果を期間内に達成して、さらに、幅広く様々なことに研究の裾野を広げたことは、このプロジェクトの成果として高く評価できる。

本プロジェクトは、本来、日本の得意な分野であったはずであるが、日本では研究の裾野の広がり狭く、欧米に同等どころかアジアに追い抜かれつつある現在、さらに世界をリードする研究に発展させ、本プロジェクトで確立した技術を学界、産業界での利用が進む方向で今後成果が利用されていくことが望まれる。

- **2** 年間という短い期間にもかかわらず、目標とした **40** 個を **5** 割以上上回る **64** 個の生合成遺伝子クラスターの取得に成功した。この研究の過程で、生合成遺伝子クラスターの同定と取得を目的として、放線菌の正確なドラフトゲノム解析技術の確立ならびにゲノム解析情報から高精度に生合成遺伝子クラスターを同定するソフト開発を行うとともに、生合成遺伝子クラスターのハイスループットなコスミドライブラリー構築に加えて、技術的難易度の高い **BAC** ライブラリー作製技術も確立した。これらの技術は、対象として放線菌だけにとどまらず、他の微生物や高等動植物の高精度なゲノム解析や巨大 **DNA** 断片のクローニングなどにも活用可能な世界的にも優位性の高いものであり、所期の目標には含まれていないとはいえ、学術的かつ産業的にきわめて波及効果の高い成果であると評価できる。

一方、取得した **64** 個の生合成遺伝子クラスターについては、主としてエバ

メクチン生産菌をベースに改良した放線菌汎用宿主株を用いて導入発現を試みることにより、5 mg/l 以上の生産量を達成したもの 32 個、生産量は少ないものの生産が認められたもの 12 個、と 7 割近い高率で生産することが可能となった。未知の生合成経路の制御機構などが原因と思われる生産不可能な化合物が 3 割程度残ったものの、宿主株の再検討や接合法による長大な遺伝子クラスターの導入方法の開発など、種々の改良を加えることにより、誘導発現効率や生産性の向上を達成したことは高く評価できる成果である。

- 本来、日本が世界をリードしてきた天然化合物研究・産業であるものの、国内の多くの製薬会社において、天然化合物のスクリーニング研究から撤退する状況になり、今一度、天然化合物研究の復興を目指し、産業界の国際競争力の強化につなげるために、本プロジェクトはとても重要な研究開発である。特に、ゲノム解析技術の急速な進展、放線菌の遺伝子組み換え技術の進展を背景に、的を得た時期に実施した研究開発であると考えられる。技術競争力のある複数の公的研究機関の参画の元、各研究機関がさらなる技術開発を行い、かつ、プロジェクトリーダーの統括の元、目標を達成できたことを高く評価する。
- 有用天然化合物の生産技術および探索研究を、生合成酵素の遺伝子工学および天然物化学的手法によって画期的に促進させることを目指した挑戦的研究課題である。  
僅か 2 年の研究期間にも拘わらず、当初の目標を上回る顕著な成果を数多く挙げ、今後の研究展開に端緒を開いたことは高く評価できる。

#### 〈主な問題点・改善すべき点〉

- 技術漏えいの懸念から、特許出願は控えたということであるが、本来排他すべき競争相手を整理し、専門家も交えて、今一度、特許による権利化で競争力維持が可能であるか検討して欲しい。
- 該当する点は、ほとんど見当たらない。強いて挙げるとすると、有用天然化合物生産と化合物ライブラリー構築の戦略を明確に分ける方が望ましいと考えるが、これも二年間の研究期間を考えると、今後委ねるべき課題である。
- 最終目標にある「生産可能なものと困難なものの体系的整理と原因解明と生産改善」については、完全にクリアしているとは言い難いが、2 年間という短い研究期間を考慮すると、特に問題点として指摘するにはあたらない。

#### 〈主なその他の意見〉

- ・ 今回の技術開発で確立した優れたシーケンス技術やライブラリー作製技



術については、海外との競争もあることから特許化せずにノウハウとして活用することとしている点は十分理解できる。後継プロジェクトもあわせて、国内の産業および学術の進展のために、これらの技術の積極的な普及（受託事業による）を図っていただきたい。

- クラスタ解析ソフトは、天然物生合成研究に有用であり、組合員のみならず研究者に公開すれば、関連研究を加速させると同時に、アクセス数の多い日本発の Web ツールとなるはずである。

## 2) 今後に対する提言

異種放線菌ホスト株へ導入した巨大生合成遺伝子クラスター、休眠あるいは未知の生合成遺伝子クラスターの恒常的発現が成されるような手法を研究、開発していただきたい。また、放線菌の属種は極めて多様であり、*Streptomyces* 属以外の希少放線菌の生合成遺伝子クラスターへも適用できれば、天然物スクリーニングの新たな展開を導くと思われる。本技術は、創薬を目的とした天然物化合物研究のみならず、グリーンバイオ領域をはじめ、広くバイオテクノロジー産業に活用できるものと思われるので、技術活用を求め、NEDO・実施者は一般への広報活動も強化して欲しい。

### 〈主な今後に対する提言〉

- メガファーマの天然物を用いた創薬研究事業撤退の主因は、製薬会社が必要とする新規化合物数を効率良く供給できなかつた点にある。本事業で開発された技術の将来を考える上で、企業が要求する数万あるいは数十万の数を用意するには、何が必要かを考えるのも重要であろう。現時点、本技術は職人技の部分があり、この延長線上には、上記要求の達成は困難と思われる。問題になる長鎖 DNA のハンドリングが、ロボット化できれば飛躍的に化合物／クラスター数を増大させることが可能となるはずであり、使用を検討する企業が出てくるであろう。短期のプロジェクトでは困難であるが、現時点で夢のような技術を開発できれば、特許化や事業化に大きく貢献するはずである。
- 本プロジェクトは、ゲノム解析技術、クラスターの同定およびその取得、および異種発現系での化合物生産のいずれも最高水準の技術を組み合わせでなし得た成果であり、さらに発展継続していくために実施者の益々の努力とそれをサポートしていく体制の強化が必要であろう。後継プロジェクトで本分野を発展強化し、開発した技術やシステムを企業、大学、その他の研究機関に普及させるための枠組みを構築・整備することが望まれる。
- 今後はメタゲノム解析への適用とその情報をもとにした有用天然化合物生産や代謝系の改変による新規構造を有する化合物生産を容易に可能とするような技術開発につながることを期待したい。
- 複数の研究機関の要素技術の集約により目標が達成できた研究開発であるが、個別の技術ではなく、現時点で開発された総合技術を、産業界が早期に活用できるような協力体制の構築が望まれる。例えば、ベンチャー化して、受託事業を実施することも考えられる。  
企業も直接参画した体制で、実用化に向けた課題をより現実的な観点からも解決できるような研究開発を継続して欲しい。

経済産業省系（NEDO）プロジェクトとしては、完全長cDNA(complementary DNA：相補的DNA)構造解析プロジェクト、ゲノム情報に基づいた未知微生物遺伝資源ライブラリーの構築プロジェクトなど、ライブラリー構築のための基盤的な研究開発も行われてきている。後継プロジェクトも経済産業省として進めていると聞いているが、技術開発は継続するものとして、別途、遺伝子ライブラリー構築や化合物ライブラリー構築を目標としたプロジェクトを実施することで、早期に産業界へ波及できる体制づくりを行うことが重要であり、国内の製薬企業の競争力強化につながるものと期待される。

本技術は、創薬を目的とした天然物化合物研究のみならず、グリーンバイオ領域をはじめ、広くバイオテクノロジー産業に活用できるものと思われるので、技術活用を求め、一般への広報活動も強化して欲しい。

経済産業省として、我が国の天然物研究の復興に向けて、今後も継続開発されるものも含め本技術が、どのように産業化に活用されるかの施策を検討して欲しい。

- 本成果を発展させることを目指した企業等における研究開発活動が広範囲に行われることが望ましい。
- 異種放線菌ホスト株へ導入した巨大生合成遺伝子クラスター、休眠あるいは未知の生合成遺伝子クラスターの恒常的発現が成されるような手法を研究、開発していただきたい。また、放線菌の属種は極めて多様であり、**Streptomyces** 属以外の希少放線菌の生合成遺伝子クラスターへも適用できれば、天然物スクリーニングの新たな展開を導くと思われる。

#### 〈主なその他の意見〉

- ・ 本研究課題は、科学の最先端と密接に関係しており、それ自身が先端的科学であると言える。したがって、実施者も学術研究としての発信を心がけている。今後も、この方針を維持し、学術・応用両面で本研究課題が発展してゆくような支援体制をスポンサーに望みたい。

## 1. 2 各論

### 1) 事業の位置付け・必要性について

創薬ヒット化合物の発見頻度が下がっている中において、微生物ゲノム情報を用いた創薬という新たな手法を発展、一般化させ創薬効率の向上を目指すものであり、事業目的は妥当である。膨大な数の天然物が生物のゲノム上に眠っていることが判明したことから、天然物が再度注目されつつあるが、具体的な方法論がないのが現状である。これを有用資源として捉え直し、日本が長年培ってきた技術で発掘することは重要である。天然化合物に関わる天然物化学と放線菌をはじめとする生産菌の育種技術については、わが国が世界をリードする分野であるが、これらの領域でも世界的な追い上げが激しくなっている中、実用化を視野に入れた基盤技術開発の立ち上げは時宜を得たものであり、その重要性もきわめて高いものと判断される。また、世界的にも競争力のある複数の公的研究機関の技術を集約する等、民間企業のみでは到底実施できない研究開発目標であり、NEDOの事業として妥当であると考えられる。

#### 〈主な肯定的意見〉

##### ○ ・NEDOの事業としての妥当性

医薬品候補化合物を自然界から広くスクリーニングすることに加えて、微生物や植物などのゲノム情報から生合成遺伝子を探索し、それらを（異種）高発現させることにより、生理活性試験に適用できるだけの新規天然化合物の生産技術を確立することは、創薬候補化合物やリード化合物の取得のためには重要な技術開発であり、「ゲノム創薬」を目指した事業として妥当である。

##### ・事業目的の妥当性

今回の技術開発で対象とした、天然化合物に関わる天然物化学と放線菌をはじめとする生産菌の育種技術については、わが国が世界をリードする分野であるが、これらの領域でも世界的な追い上げが激しくなっているのが現状である。そのような状況下において、実用化を視野に入れた基盤技術開発の立ち上げは時宜を得たものであり、その重要性もきわめて高いものと判断される。

##### ○ 創薬ヒット化合物の発見頻度が下がっている中において、本事業は産学官がそれぞれの強みを生かし協働することにより、ゲノム創薬という新たな手法を発展、一般化させ創薬効率の向上を目指すものであり、事業目的は妥当である。

##### ○ これまで本プロジェクトの様な研究は、大学で個々の研究者が独自に小規模で行ってきたものであり、また企業には容易には取り組めない研究である。先にも述べたように、本プロジェクトは、種々の微生物由来の天然物の遺伝

子クラスターを、大規模な異種発現系を用いて安定的に天然物を生産させる技術の開発を目指す革新的なものであり、NEDOの事業として妥当である。

- 国内の多くの製薬会社において、天然化合物のスクリーニング研究から撤退する状況になり、今後の日本の製薬会社の衰退も懸念される中、ゲノム解析技術の急速な進展、放線菌の遺伝子組み換え技術の進展を背景に、天然化合物研究の復興につながる研究開発であると考え。特に、世界的にも競争力のある複数の公的研究機関の技術を集約する等、民間企業のみでは到底実施できない研究開発目標であり、NEDOの事業として妥当であると考え、また事業目的も妥当である。
- 1980年代まで製薬企業が重要な化合物供給源と考えていた生物資源からの探索は、ヒット化合物の減少や効率の低さから、その多くが撤退の方向にある。しかし膨大な数の天然物が生物のゲノム上に眠っていることが判明したことから、天然物が再度注目されつつあるが、具体的な方法論がないのが現状である。これを有用資源として捉え直し、日本が長年培ってきた技術で発掘することは重要である。これはNEDOの事業である健康安心イノベーションプログラムに合致する内容と思われる。

#### 〈主な問題点・改善すべき点〉

- 繰り返しになるが、将来的には、技術研究組合メンバーに限らず、本成果を発展させることを目指した企業等における研究開発活動が広範囲に行われることが望ましい。
- 「健康安心イノベーションプログラム」に寄与できるかどうかは、研究成果を如何に活用するかによるであろう。実施者（研究者）の目標は充分達成されているので、官民組織が組織的・戦略的に産業利用を図るべき。

#### 〈主なその他の意見〉

- ・ 2年間という短い期間であり、かつ、まずはフィージビリティスタディということであつたかと思うので、多くは望まないが、組合内の企業の参画がもう少しあつても良かったのかと思う。実用化に向けた課題等は、参画企業の声・評価も重要である。

## 2) 研究開発マネジメントについて

生合成遺伝子クラスターの取得目標数、異種発現の生産量など、明確な達成目標が設定された上で事業が展開された。開発実施体制においても、事業に必要な各研究分野のトップに位置する布陣で構成されており、さらに成果の活用・実用化の担い手となるに値する企業が参入している。プロジェクトリーダーの統括のもと、当初の目的からぶれることなく、非常に良い協力体制のもと、プロジェクトが運営された。途中、異種発現システムによる物質生産実証試験において、複数の培地での試験の追加及びそれに伴う質量分析装置の導入は適切な措置であったと判断できる。

また、短期間のプロジェクトであることから、すべての課題を同時並行的に進める必要があったが、中核技術である既存の発現システムがあったことから、方針が明確で安心感のある計画となっている。

### 〈主な肯定的意見〉

- 研究開発マネジメントについては概ね問題ない。
- 生合成遺伝子クラスターの取得目標数、異種発現の生産量など、明確な達成目標が設定された上で事業が展開された。開発実施体制においても、事業に必要な各研究分野のトップに位置する布陣で構成されており、さらに成果の活用・実用化の担い手となるに値する企業が参入している。途中、異種発現システムによる物質生産実証試験において、複数の培地での試験の追加及びそれに伴う質量分析装置の導入は適切な措置であったと判断できる。
- クラスターを効率良く取得するには、シーケンスデータをギャップが無い形でアセンブルする必要があり、そのためにはシーケンスデータの取得に種々の改良が必要となる。次に得られた膨大な塩基配列から、目的とするクラスターの同定を容易に判定するプログラムを開発しなければならない。さらに本事業の核心であるクラスター丸ごと発現は、大きなサイズでも遺伝子操作できる技術が必須であり、導入遺伝子の安定性の検証が重要となる。短期間のプロジェクトであり、すべての課題を同時並行的に進める必要があったが、中核技術である既存の発現システムがあったことから、方針が明確で安心感のある計画となっている。天然物の生産や単離操作、構造決定を得意とする統括者のもと、ゲノム解析で実績があり経験豊富な放線菌遺伝子操作のスペシャリストやゲノムシーケンスの専門家が核となり、シーケンス技術の向上、解析データの視覚化、サイズの大きな DNA のハンドリング技術の確立などの問題を的確に処理すべく研究員を配置した体制はうまく機能した。計画の予期せぬ検討項目の追加に伴う必要機器の補充も適切である。
- ・研究開発目標・計画の妥当性

本事業の目的から考えて、今回の技術開発における目標（40 個の生合成遺伝子クラスターの取得および放線菌宿主株における発現生産）は妥当なものであったと考える。研究開発計画についても必要な要素技術はほぼすべてカバーしており、きわめて妥当性の高い計画であったと評価する。

・研究開発実施の事業体制の妥当性

目標達成を十分可能にする高い基礎技術を有する研究機関が参画しており、研究機関間における連携も十分取れていたものと判断できる。

・研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性

本事業は基盤技術開発のため直ちに実用化が達成されるものではないが、企業が参画した研究組合を設立し、事業化を図る体制を構築したことや、実用化につながる可能性の高い技術に関する知財戦略など、実用化に向けたマネジメントは十分に妥当であったものとする。

・情勢変化への対応等

初年度の研究成果をもとに、複数の培地における生産性の検討の必要性を認め、高性能質量分析装置の購入により期間内での解析を終了させるなど、情勢変化への対応は十分に行われていたものと判断する。

- 研究開発目標としては、これまで世界をリードしてきた日本の天然物化学研究・産業が衰退しつつある中、適切な研究開発目標が設定されたものとする。特に、2年間という短期間の中、目標達成に必要な研究機関を集結して実施し、プロジェクトリーダーの統括の元、当初の目的からぶれることなく、非常に良い協力体制のもと、プロジェクトが運営されたことを評価する。
- 本プロジェクトチームであったからこそなし得た研究成果であることは間違いない。各研究グループ間での密接な連携があったと思われ、この点で研究開発マネジメントは適切に機能したと言える。

〈主な問題点・改善すべき点〉

- 研究開発マネジメントはうまく機能したと考えるが、個々の研究者の役割が全体としてどの様に本プロジェクトに貢献しているのかが、外から見えにくいところもある。限られた時間の中での事後評価の分科会での発表であったが、その点についても説明があつて欲しかった。
- 予算額が充分であったかどうかについては不明であったが、特に問題ないと感じた。
- 産業界にとっても重要な技術であり、組合参画企業が、もう少し直接的な参画をしても良かったのではないかと考える。

〈主なその他の意見〉

- 2年間のフイージビリティスタディという位置付けであると思うので、今回の研究開発成果自体の実用化までは求めないが、日本の産業競争力を高めるための施策を検討して、今後の研究開発に反映して欲しい。



### 3) 研究開発成果について

目標を超える数の生合成遺伝子クラスターを取得するとともに、BAC ベクターによる巨大 DNA 断片の新規取得技術、放線菌ホストへの巨大遺伝子クラスター導入技術等を開発することにより、それらの 69%について異種発現に成功している。これまでの常識では異種発現の成功率が 10%と言われている中で、極めて優れた成果であると判断される。BAC ベクターを用いた巨大な DNA 遺伝子導入そのものは報告例があるが、物質生産に使える技術に仕上げたのは、世界的にも例のない基礎／応用の両面で素晴らしい成果である。また異種発現により、極めて高い生産量が認められた抗生物質がある点、さらに親株では生産されない物質の誘導がみられたことなどから、開発された技術の応用は将来的に医薬品市場の拡大に結び付くと考えられる。

本プロジェクトの成果に関する知的財産権については、技術の重要なノウハウが一般化されることにより海外に対する優位性確保が困難になる恐れがあることから、特許化せずにノウハウとして活用することとした判断は適切と考える。また、その成果は、数多くの論文や学会発表など情報発信をしており、成果の普及も十分に努力している。

一方、予想以上の成功率であるが、汎用性を高め、この方法論の信頼性を向上させるには、発現制御機構の解明は、避けては通れない問題である。今後、後継のプロジェクトなどの遂行で宿主に依存した発現など具体例が蓄積すれば、発現制御系の解析に有用なデータを提供すると同時に、制御機構の解明の糸口が見つかる可能性がある。この点も検討して欲しい。

#### 〈主な肯定的意見〉

- 生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築においては、バイオインフォマティクスも含め高精度のゲノム配列解析技術を開発し、また、BAC ライブラリーの開発も並行して実施し、複数技術を活用しながら目的を達成したと、評価する。安定生産技術の開発においても、複数の宿主を含め、複数の発現システムを活用し、さらには培地検討も行いながら、当初の予想を上回る成果を達成したものとする。いずれにおいても、各要素技術において高度な技術を開発するとともに、その技術を駆使しながら、かつ複数の研究機関の技術を連携させることにより、当初の目標を上回る成果を達成したと評価する。成果は、学問のレベルでも高いものであると同時に、今後産業への活用も期待されるものである。
- 目標を超える数の生合成遺伝子クラスターを取得するとともに、BAC ベクターによる巨大 DNA 断片の新規取得技術、放線菌ホストへの巨大遺伝子クラスター導入技術等を開発することにより、それらの 69%について異種発

現に成功している。これまでの常識では異種発現の成功率が 10%と言われている中で、極めて優れた成果であると判断される。また異種発現により、極めて高い生産量が認められた抗生物質がある点、さらに親株では生産されない物質の誘導がみられたことなどから、開発された技術の応用は将来的に医薬品市場の拡大に結び付くと考えられる。

- 遺伝子クラスターの取得および異種発現を 40 件達成という明確な目標を掲げ、それぞれ 64 件および 44 件の達成は十分な成果である。これは単に当初の目標をクリアしただけでなく、数合わせのため容易なものだけ発現することなく、既存の代表的な経路の天然物を網羅し、さらに世界的にも困難と認知されているサイズの大きなクラスター (60-80 kb) も加えてある。これに加え、さらに大きなクラスター (>100 kb) 発現を達成する工夫 (中間宿主を経由した最終宿主への導入) もなされているなど次の段階に移行する配慮もなされている。

取り上げている課題が、現在論文で良く見かけるコスミドではなく、BAC をベクターに使わなければ、発現できない 40 kb 以上のサイズのクラスターである点に注目したい。BAC ベクターを用いた巨大な DNA 遺伝子導入そのものは報告例があるが、物質生産に使える技術に仕上げたのは、世界的にも例のない基礎/応用の両面で素晴らしい成果である。

池田らが開発した既存発現システムの性能確認と言う意味では、クラスターの異種発現による物質生産も、安定性が良好ということで今後の展開に期待をもたせる。薬剤としての性能を検討可能な単離収量 (>5 mg/l) であるのも、発現システムの性能が良くなければ達成不可能な数字である。

- 数値目標を含めて目標以上の結果を達成したことは大きな成果である。また、その成果は、数多くの論文や学会発表など情報発信をしており、成果の普及も十分に努力している。
- 研究開発成果については概ね問題ない。
- ・目標の達成度と成果の意義

2年間という短い期間で目標とする 40 個を 5 割以上上回る 64 個の生合成遺伝子クラスターの取得に成功し、このうち 5 mg/l 以上の生産量を達成したものが 32 個、5 mg/l 以下ではあるが生産が認められたものが 12 個、と 7 割に近い高い確率で生産することを可能とした成果は、十二分に目標を達成したものと判断する。また、初期目標にはなかったシーケンスやライブラリー作製技術などの波及効果の高い技術開発についても十分な成果を上げており、今事業の成果は学術的・産業的にきわめて意義の高いものであると評価できる。

- ・知的財産権等の取得の取組

本事業の成果に関する知的財産権については、技術の重要なノウハウが一般化されることにより海外に対する優位性確保が困難になる恐れがあることから、特許化せずにノウハウとして活用することとした判断は適切と考える。

・成果の普及

評価の高い英文誌を中心に論文発表 70 件、講演発表 50 件と、2 年の短期間で多くの成果公表を行っており、十分な成果の普及が行われていると判断できる。

〈主な問題点・改善すべき点〉

- 特許出願数が 0 件であり、ノウハウとして非公開にするということであるが、重要な技術開発を達成できていると思われるので、改めて、海外を排除し、競争力を確固たるものにする特許戦略を、専門家と協議して欲しい。
- 成果の普及を今度努力してほしい。
- 既知化合物のクラスター解析や発現が多い部分であろう。未知化合物の場合、難易度は格段に増加することから、この部分を積極的に取り上げると発現システムの信頼度が増したであろう。また遺伝子発現制御機構は完全に解明できておらず、やってみないと判らない部分がある。予想以上の成功率であるが、汎用性を高め、この方法論の信頼性を向上させるには、発現制御機構の解明は、避けては通れない問題である。今後、後継のプロジェクトなどの遂行で宿主に依存した発現など具体例が蓄積すれば、発現制御系の解析に有用なデータを提供すると同時に、制御機構の解明の糸口が見つかる可能性がある。この点も検討して欲しい。

〈主なその他の意見〉

- ・ 本事業で目的としたもの以外の成果に、ゲノムの精密解析がある。社会のニーズを考えると、これは重要な技術であるが、微生物由来の天然物の生産を主務とする事業の中で、取り扱うのは少々違和感がある。ニーズ等を調査して、重要であれば別事業として取り扱うことも考慮すべきであろう。
- ・ 異種宿主において安定な生産が行われる化合物と困難な化合物のより体系的な整理と評価が必要と思われた。

#### 4) 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

高度な技術を要する巨大遺伝子クラスターの取得及び高生産性のホストへの導入を一般化したことに意義がある。また、親株では生産性が見られなかった化合物の生産誘導ができたことは、今後の創薬スクリーニングにおいて極めて有用な技術として応用できる。既に委託先である次世代天然物化学技術研究組合に参画した製薬企業等から技術開発成果の活用が開始され、その実績をもとに国内企業への普及が進むことが期待される。実際にすでに本事業で開発した技術をもとに、休眠遺伝子クラスターの強制発現により、生産が認められない化合物の高生産に成功しているということから、医薬品開発に資する技術として利用されることが大いに期待できる。

##### 〈主な肯定的意見〉

- 本プロジェクトは、ポストゲノム時代を見据えた天然由来の創薬基盤技術の開発を目指したものであり、多くの成果が得られたことは評価するが、研究成果の多くはすぐに実用化に結びつくものではないと思われる。むしろ、基盤技術の確立という面により、その技術の学界、産業界への普及を図ることで、将来的に医薬品の開発に貢献できると考えられる。
- 高度な技術を要する巨大遺伝子クラスターの取得及び高生産性のホストへの導入を一般化したことに意義があり、既に企業においてこの新技術を適用し事業への展開が進められている点が高く評価できる。また、親株では生産性が見られなかった化合物の生産誘導ができたことは、今後の創薬スクリーニングにおいて極めて有用な技術として応用できる。
- 成果の実用化を見据えて、事業で開発された高精度シーケンス技術、BACベクターを用いた巨大ゲノム断片取得技術、さらにはその異種発現技術に分割し、個別に実用化することを目指している。本事業の主務である天然物の生産技術開発としては、巨大クラスター丸ごと取得、解析およびその異種発現技術を必要とする製薬会社への提供により、標的化合物の生産性向上やクラスターライブラリー作製技術を利用した新規物質のスクリーニングなどの実用化が期待できる。別個の応用として、ゲノム解析そのものが重要な分野としてヒトが挙げられ、医療や品種改良への貢献も期待される。また放線菌に限定していた対象を他の生物種にも広げ、従来法では困難とされていた生物からの生合成遺伝子クラスターの取得、さらにはその異種発現などへの検討も視野に入るなど類似の技術を適用した新たな分野の開拓も期待される。
- 本事業で確立された生合成遺伝子クラスターを含む長大なDNA断片のハイスループットなライブラリー作製技術やそれらの放線菌宿主株への効率的

な導入・発現生産技術の実用化に関しては、技術研究組合に参画した製薬企業等から活用が開始され、その実績をもとに国内企業への普及が進むことが期待される。実際にすでに本事業で開発した技術をもとに、休眠遺伝子クラスターの強制発現により、生産が認められない化合物の高生産に成功しているということから、医薬品開発に資する技術として利用されることが大いに期待できる。一方、顕著な波及効果として得られた成果である高精度シーケンス技術や巨大 DNA 断片ライブラリー作製技術に関しても、優位性確保のためにノウハウの公表化が困難ということから、受託事業としての展開を視野に入れており、実用化につながることを期待できる。

- 十分に実用化に役立つ成果が得られたと考える。一方で、本研究の意義は、長期的な視野で考えなければならないので、短期的・直接的な実用化についての評価に偏らないように注意すべきである。

実施者のグループは、実力・組織とも高いレベルにあるので、本実施者および主な共同実施機関が引き続き研究開発に取り組むことが望まれる。

- 本研究開発は、実用化に向けた最初のフィージビリティスタディであり、本成果の本格的な実用化、産業への活用へは、今後の継続的な研究開発が必要であると思われるが、当初の目標は達成できており、今後の本格的な産業活用が大きく期待されるものである。

#### 〈主な問題点・改善すべき点〉

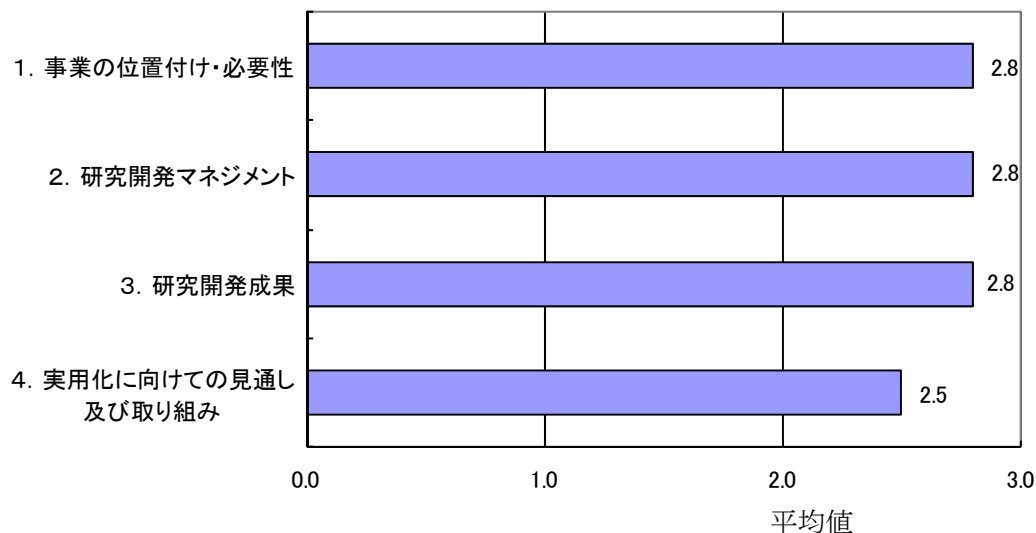
- 複数研究機関が有する要素技術の集結により達成できた研究開発目標であることから、これを本格的に産業活用するための施策の検討が望まれる。
- 企業における長期的な取り組みが必要になることもあるので、その点、産官学による研究体制による開発計画を明確化する必要がある。
- 本事業では、今後展開が期待される技術およびその適用範囲がかなり広がってきており、後継事業がある場合は、重点項目をうまく絞らないと短期間で成果がまとまらない可能性があるため、留意すべきであろう。

#### 〈主なその他の意見〉

- ・ 自然界から分離した株において、通常の培養では見られない化合物の生産誘導ができる汎用性の高い体系的かつ簡便なシステムの構築が望まれる。

## 2. 評点結果

### 2. 1 プロジェクト全体



評価項目	平均値	素点 (注)					
		A	B	A	A	A	A
1. 事業の位置付け・必要性について	2.8	A	B	A	A	A	A
2. 研究開発マネジメントについて	2.8	A	A	A	A	B	A
3. 研究開発成果について	2.8	A	A	B	A	A	A
4. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて	2.5	B	A	C	A	A	A

(注) A=3, B=2, C=1, D=0 として事務局が数値に換算し、平均値を算出。

#### 〈判定基準〉

1. 事業の位置付け・必要性について	3. 研究開発成果について
・非常に重要 →A	・非常によい →A
・重要 →B	・よい →B
・概ね妥当 →C	・概ね妥当 →C
・妥当性がない、又は失われた →D	・妥当とはいえない →D
2. 研究開発マネジメントについて	4. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて
・非常によい →A	・明確 →A
・よい →B	・妥当 →B
・概ね適切 →C	・概ね妥当 →C
・適切とはいえない →D	・見通しが不明 →D

## 第2章 評価対象プロジェクト

1. 事業原簿

次ページより、当該事業の事業原簿を示す。



「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発／  
有用天然化合物の安定的な生産技術開発」

事業原簿【公開】

担当部	独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 バイオテクノロジー・医療技術部
-----	--

## —目次—

### 概要 プロジェクト用語集

#### I. 事業の位置付け・必要性について

1. NEDOの関与の必要性・制度への適合性…………… I-1
  - 1.1 NEDOが関与することの意義…………… I-1
  - 1.2 実施の効果(費用対効果)…………… I-1
2. 事業の背景・目的・位置づけ…………… I-1

#### II. 研究開発マネジメントについて

1. 事業の目標…………… II-1
2. 事業の計画内容…………… II-1
  - 2.1 研究開発の内容…………… II-1
  - 2.2 研究開発の実施体制…………… II-2
  - 2.3 研究の運営管理…………… II-2
  - 2.4 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性…………… II-4
3. 情勢変化への対応…………… II-4
4. 中間評価結果への対応…………… II-4
5. 評価に関する事項…………… II-4

#### III. 研究開発成果について

1. 事業全体の成果…………… III-1
2. 研究開発項目毎の成果…………… III-2

#### IV. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

1. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて…………… IV-1

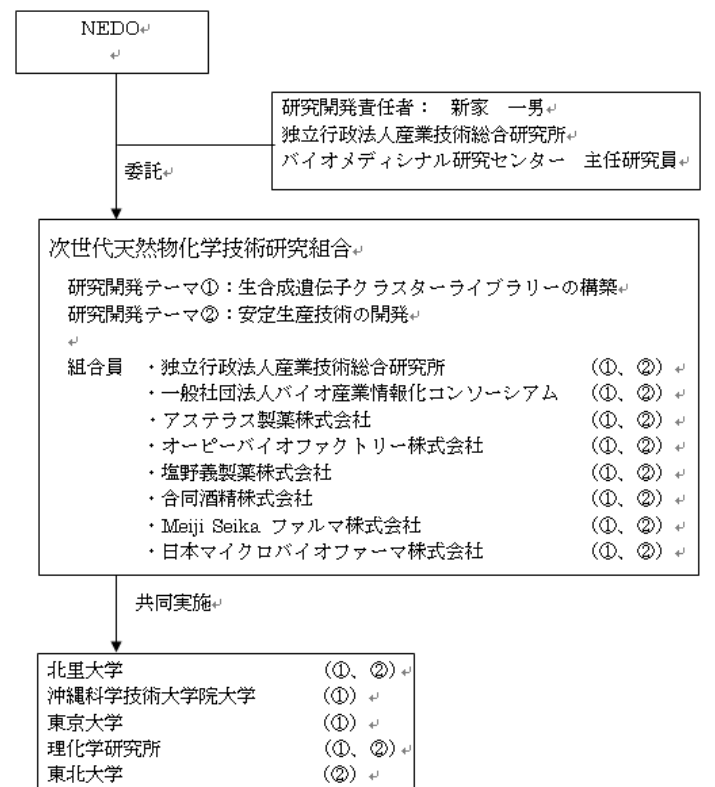
#### (添付資料)

- ・イノベーションプログラム基本計画
- ・プロジェクト基本計画
- ・技術戦略マップ(分野別技術ロードマップ)
- ・事前評価関連資料(事前評価書)
- ・特許論文リスト

概要

		最終更新日	平成 25 年 12 月 11 日
プログラム（又は施策）名	健康安心イノベーションプログラム		
プロジェクト名	ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発／有用天然化合物の安定的な生産技術開発	プロジェクト番号	P11002
担当推進部/担当者	バイオテクノロジー・医療技術部 主査 武井良之：平成 23 年 5 月～平成 24 年 10 月（主担当）、平成 24 年 11 月～事後評価（副担当） 主査 坂本俊一：平成 24 年 4 月～平成 24 年 10 月（副担当）、平成 24 年 11 月～事後評価（主担当）		
0. 事業の概要	<p>（1）生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築</p> <p>放線菌が生産する広範な天然化合物リソースから、大きく複数に分類される化合物群の代表的な化合物を選抜するとともに、製薬企業が興味を持つ構造及び活性がユニークな天然物由来の化合物候補を選抜し、これらの天然化合物の生合成遺伝子クラスターの情報を取得する。</p> <p>この情報を基に、生合成遺伝子クラスターのライブラリーを作製する。また、これらの生合成遺伝子クラスターの正確なシーケンス情報を解読すると共に、化合物と生合成遺伝子を対応づけるデータベースを構築し、類縁化合物の生合成遺伝子を探索するツールの開発につなげる。</p> <p>（2）安定生産技術の開発</p> <p>天然物を生産する別の宿主放線菌株を用いて、これら多種多様な天然化合物の生合成遺伝子クラスターを導入し、実際のスクリーニングに適用可能な生産性を目標に生産させる技術を開発する。安定的な生産が可能な天然物と困難なものを体系的に整理し、生産が困難なものについてはその原因を解明し、生産の改善に取り組むことにより、安定生産技術としての汎用性を見極める。</p>		
I. 事業の位置付け・必要性について	<p>① 事業の位置付け</p> <p>本事業は、健康寿命を延伸し、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現を目指す「健康安心イノベーションプログラム」の一環として実施するものであり、ポストゲノム研究の産業利用が期待される「ゲノム創薬」を加速し、創薬効率の向上に資する創薬基盤技術の構築を目的とするものである。</p> <p>これまで、創薬標的として重要な膜タンパク質及びその複合体の細胞表層上における立体構造解析及び相互作用解析技術の開発及び得られる構造・機能情報と計算科学を組み合わせることによって創薬候補化合物の効率的な探索と、更に実用性の高いリード化合物への展開等の創薬基盤技術の開発を実施してきたところである。一方、創薬ヒット化合物の探索については必ずしも期待された成果が出ておらず、豊富な生物活性と大きなケミカルスペースを持った天然化合物が再注目されている。</p> <p>このため、基本計画を改訂し、新規の医薬品開発につながる有望な天然化合物の安定生産に必要な技術の開発に、平成 23 年度から新規に着手すべく研究開発項目の整理・追加を行い、ゲノム創薬を加速する創薬基盤技術構築の一層の充実を図るべく実施するものである。</p> <p>② 必要性</p> <p>近年、製薬企業の研究開発費は増大の一途であるものの、承認される薬剤の数は増えていない。研究開発費の増大分は、主として臨床開発費に充てられ、探索研究に回せるリソースは相対的に減少している状況にあることもその理由の一つであるが、創薬ヒット化合物の発見につながる新たなスクリーニング手法の技術革新と技術実証の不足により、新規医薬品候補化合物の探索効率が大幅に低下している可能性も指摘されている。製薬産業にとって最も重要な医薬品のもととなるリード化合物を効率的に取得する技術が極めて重要であり、ニーズも高い。このため、最先端の知識と分析技術を組み合わせ、創薬開発のより早い段階から適切な医薬品候補物質の取得を可能とする、標的蛋白質の立体構造をベースとした <i>in silico</i> スクリーニング技術の構築を平成 20 年度から行ってきたところである。</p> <p>一方で、創薬ヒット化合物の探索については、コンビナトリアルケミストリーによる化合物合成とそのライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングが盛んに行われたが、必ずしも期待された成果が出ておらず、豊富な生物活性と大きなケミカルスペースを持った天然化合物が再注目されている。しかし、微生物は、天然化合物のリソースとして最も有望なものの一つであるが、培養抽出物として安定的かつ大量に取得できないなど、そのままではスクリーニングの効率化に様々な問題点がある。そこで、これまでに無い新しい骨格を持った化合物も含め、微生物の持つ天然化合物の生合成遺伝子を取り出して別の宿主菌株で発現させるなど、目的とする天然化合物を安定的かつ効率よく発現させる手法を開発することが重要である。</p> <p>このため、創薬効率をより一層向上させるためには、これまで行ってきた構造ベースの創薬技術に加え、創薬リード化合物候補となりうる広いケミカルスペースを持った天然化合物を生産する技術の開発により、化合物空間の拡大を可能とする技術の開発は極めて重要である。基礎研究の進展により幾つかの生産実例が報告されていること、生産菌を含む 3 つの放線菌のゲノム解析の完了により比較ゲノム解析のアプローチが可能となったこと、次世代シーケンス技術の進展などを背景とし、技術の汎用性を見極めることが可能な状況に至っており、本タイミングで開発計画に追加して実施する必要性は高く、妥当である。</p>		

II. 研究開発マネジメントについて

事業の目標	有用天然物の合成に必要な40個の生合成遺伝子クラスターを取得し、その生産物を対応づけたデータベースを構築する。これら40個の生合成遺伝子クラスター全てについて、化合物生産株となる別の宿主放線菌へ導入し、目的の天然物を5 mg/Lレベルで安定的に生産する技術を開発する。さらにこれら40個について、安定的な生産が可能な天然物と困難なものを体系的に整理し、生産が困難なものについてはその原因を解明し、生産の改善を図る。				
事業の計画内容	主な実施事項	H23fy	H24fy		
	生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築	—————▶			
	安定生産技術の開発	—————▶			
開発予算 (会計・勘定別に事業費の実績額を記載) (単位：百万円)	会計・勘定	H23fy	H24fy		総額
	一般会計	289	291		580
	特別会計 (電源・需給の別)				
	開発成果促進財源		98		98
	総予算額	289	389		678
契約種類： ○をつける (委託(○) 助成( ) 共同研究(負担率( )))	(委託)				678
	(助成) : 助成率△/□				
	(共同研究) : 負担率△/□				
開発体制	経産省担当原課	製造産業局生物化学産業課			
	プロジェクトリーダー	独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル研究センター 新家 一男 主任研究員			
	委託先(*委託先が管理法人の場合は参加企業数及び参加企業名も記載)	 <p style="text-align: center;">NEDO</p> <p style="text-align: center;">↓ 委託</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px auto; width: fit-content;">         研究開発責任者： 新家 一男          独立行政法人産業技術総合研究所          バイオメディシナル研究センター 主任研究員     </div> <p style="text-align: center;">↓</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px auto; width: fit-content;">         次世代天然物化学技術研究組合          研究開発テーマ①：生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築          研究開発テーマ②：安定生産技術の開発          組合員          ・独立行政法人産業技術総合研究所 (①、②)          ・一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム (①、②)          ・アステラス製薬株式会社 (①、②)          ・オーピーバイオファクトリー株式会社 (①、②)          ・塩野義製薬株式会社 (①、②)          ・合同酒精株式会社 (①、②)          ・Meiji Seika ファルマ株式会社 (①、②)          ・日本マイクロバイオファーマ株式会社 (①、②)     </div> <p style="text-align: center;">↓ 共同実施</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px auto; width: fit-content;">         北里大学 (①、②)          沖縄科学技術大学院大学 (①)          東京大学 (①)          理化学研究所 (①、②)          東北大学 (②)     </div>			

情勢変化への対応	特になし	
中間評価結果への対応	中間評価実施せず	
評価に関する事項	事前評価	平成 22 年度実施 担当部 バイオテクノロジー・医療技術部
	事後評価	平成 25 年度 事後評価実施

<p>Ⅲ. 研究開発成果について</p>	<p>事業全体の成果</p> <p>(1) 生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築 40個程度の生合成遺伝子クラスターを取得する目標に対し、目標を大幅に上回る64個の生合成遺伝子クラスターを取得した。</p> <p>(2) 安定生産技術の開発 目的の天然物40個を5 mg/L レベルで安定的に生産する技術を開発する目標に対し、 &gt; 5 mg/L: 32化合物 (50%) &lt; 5 mg/L: 12化合物 (19%) 生産無し: 20化合物 (31%) となり、異種発現生産の成功率が、10%と言われている中、本開発研究では、69%と突出した成功率であった。 また、異種発現生産が誘導されなかった化合物や低生産性の化合物に関しては、短期間と言う事もあり、全ての化合物に対して遺伝子改変などを行うことが出来なかったが、選抜した化合物については、8割以上の成功率で、異種発現誘導及び力価向上を達成出来た。 このように、遺伝子改変を行う事により、高確率で異種発現誘導および生産性向上を行えることを示すことが出来たが、巨大生合成遺伝子に関しては、遺伝子改変を容易に行えない。この辺りに関しては、当研究開発のみでは解決出来るものではなく、将来のさらなる遺伝子技術の進歩が望まれる。</p>
	<p>個別開発項目毎の成果</p> <p>(1) 生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築</p> <p>(1)-1 異種発現生産の標的とする化合物の生合成遺伝子クラスターの同定 放線菌ゲノムは、GC 含量の高い配列を持ち、繰り返し配列も多く存在する。そのため、放線菌のゲノム解析は極めて困難であり、現在のようにシークエンス技術が進歩していても、思うような結果が得られていないのが現実である。そこで、我々はサンゴのゲノム解読など、ギガシークエンサーを用いた de novo シークエンス解析で多くの実績を有する OIST (Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University、沖縄科学技術大学院大学) にて、放線菌に特化したドラフトゲノム解析法の開発を行った。二年間の精力的な改良により、現在では年に 100 菌株以上のドラフトゲノム解析を可能にしている。 上記ドラフトゲノム情報より、化合物構造の特徴に基づく目的生合成遺伝子クラスターを同定する手法の開発を行った。ベースとして用いたソフトは、北里大学、池田教授等が開発した「Genome Viewer」であるが、本ソフトに antiSMASH の様な、生合成遺伝子予測が可能なソフトのモジュールを自由に組み込めるように、ソフトの改良を行い、より高精度に生合成遺伝子をアノテーションすることを可能にした。 放線菌の I 型 PKS では、他の生物種には無い生合成メカニズムであるメチルマロニル CoA (プロピオン酸ユニット) の直接取り込み機構を持つのが特徴であり、これらユニットが縮合され主構造(マクロライド化合物のアグリコン) が構築される。これらのユニットは AT (acyl transferase) ドメインにより運ばれてくるが、そのゲノム配列の微妙な違いにより区別されることが知られている。我々は、この微妙な違いを精度良く区別するシステムを開発した。 また、非リボゾーム型ペプチド生合成遺伝子 (Non-Ribosomal Peptide Synthetase, NRPS) クラスターについては、常法通り、NRPS 系化合物については、A ドメインの配列の解析によって目的生合成遺伝子クラスターの同定を行った。 上記のようなゲノム情報に基づいた生合成遺伝子クラスター同定法により、40 株の放線菌より、I 型 PKS 経路、NRPS 経路、リボゾーム型ペプチド合成経路、テルペン合成経路、核酸合成経路から生合成される 40 個以上の化合物の生合成遺伝子クラスターを同定した。</p> <p>(1)-2 生合成遺伝子クラスターの取得 生合成遺伝子クラスターの取得に関しては、クラスターの大きさによって、Cosmid ベクターを用いる手法と、BAC (Bacterial Artificial Chromosome) ベクターを用いる手法の二種類の方法に分けて行った。 Cosmid ベクターでは、avermectin 生産菌である <i>Streptomyces avermitilis</i> の生合成遺伝子クラスターのクローニングや、ゲノムプロジェクト研究において、既に多くの実績のあるコスミドベクターである pKU408 を用いて、25 個の化合物について Cosmid クローンの取得に成功した。 BAC ベクターを用いたゲノムライブラリーの構築に関しては、まずその技術開発そのものから行った。BAC ライブラリーの調製は手技的に極めて難しく、世界でも有数のラボでのみ安定に調製が可能であるが、そのゲノムサイズは 100 kbp 程度であることが多い。現在、我々は 120 kbp 前後であれば、ほぼ確実に BAC ライブラリーの調製が可能になっており、今回の開発研究で取得した最大サイズのインサートは、concanamycin の生合成遺伝子クラスター取得を目的に調製した際に得られた 215 kbp (インサートサイズ) であった。BAC ライブラリーより、シークエンス情報より得た、生合成遺伝子クラスターの両末端配列を用いて設計したプライマーを用いて、目的生合成遺伝子クラスターを持つクローンの選抜を行った結果、38 化合物の生合成遺伝子クラスターを取得した。</p>

	<p>(2) 安定生産技術の開発 (2)-1 上記(1)でクローニングした生合成遺伝子クラスターに関して、最終的に再度にシーケンス確認したクローンをを用いて、放線菌ホストに導入し異種発現生産の検討を行った。本プロジェクトでは、生産性の高さ、形質転換法が精査されている SUKA (SUKA17) 株を、主放線菌ホストとして用いた。SUKA 株は、目的化合物の生合成前駆体が外来性生合成遺伝子クラスターを導入することによって生成した生合成酵素の各反応に効率良く利用されるため、内在性の代謝産物の生合成遺伝子クラスターを欠失させ、内在性代謝産物の生成を停止させていること、また親株が工業生産に使用されている菌株であるというのが大きな特徴である。この他のホストとして、世界中でホスト菌株として汎用されている <i>S. albus</i> J1074 株 (制限修飾系変異株、SAL1074)、および <i>S. lividans</i> KASU-1 (幾つかの内在性生合成遺伝子をノックアウトしている) を用いて、形質転換効率および生産性の比較検討を行った。</p> <p>(2)-2 異種発現システムの改良による安定生産技術の開発 本開発研究で問題となった BAC ベクターの SUKA 株への遺伝子導入効率の低さを克服するため、種々のシステム開発を行った結果、線状プラスミドである SAP1 を用いた、遺伝子導入システムを開発した。本システムは、遺伝子導入効率の高い <i>S. lividans</i> を介して SUKA 株に遺伝子導入するものである。これにより、そのままでは SUKA 株へ導入出来なかった生合成遺伝子クラスターを SUKA 株に導入することが可能になり、異種発現生産への応用が期待される。 SUKA17 株において、通常の BAC 導入法では形質転換体が取得出来なかった生合成遺伝子クラスターのうち、産業上最も重要であると考えられる avemectin や FK-506 を含む数個の化合物について、SAP1 法を用いて SUKA22 形質転換株の取得を行った。その結果、10 個の化合物のうち一つの化合物を除いて、SUKA22 株での異種発現生産に成功した。</p>	
	投稿論文	「査読付き」62件、「その他」9件
	特許	「出願済」0件、「登録」0件、「実施」0件 (うち国際出願0件) 特記事項:
	その他の外部発表 (プレス発表等)	学会発表等48件
IV. 実用化の見通しについて	<p>本開発研究で得られた成果のうち技術・システムは、放線菌ゲノムの精密ドラフトシーケンス技術、BAC ベクターによる巨大ゲノム断片取得技術、放線菌ホストへの巨大遺伝子クラスター導入方法である。これらの関しては、組合員である製薬等企業で利用することが今後の普及活動になるが、既に企業サンプルに関しては幾つかの実施例を行い、事業へ展開しているものもある。また、BAC ベクターを用いた巨大ゲノムライブラリー作製に関しては、ヒトゲノム、病原菌ゲノム、および牛や豚などの優良品種ゲノム解析の一般的スタンダード (国際スタンダードも含む) として利用される可能性があると共に、受託業務へと事業展開することも視野に入れている。</p> <p>また、本開発で得られた、生合成遺伝子クラスターやそのゲノム配列に関しては、組合員で利用するとともに、高生産性が証明できた SUKA 株については、組合員の中で標準ホストとして普及させると共に、将来的にはライセンス使用料を得る形で広く普及させる。</p> <p>また、本プロジェクトで異種発現生産を行ったある化合物について、その生合成遺伝子クラスターの SUKA22 株での強制発現によって、1 g/L の生産性を達成している。本化合物は、元の親株では当該遺伝子は休眠状態なので、いかなる培養方法によっても生産物は得られていない。この程度の生産性は、産業生産に見合う量であり、極めて近い将来実用化が期待できるものである。</p> <p>さらに、これまで自然界から単離した菌株では生産が見られなかった化合物の生産誘導ができたこと、応用研究およびその後の産業利用にはほど遠い生産量であった化合物を、合目的に生産および力価向上を行える技術として、製薬等企業での創薬スクリーニングに応用することにより、これまでに無い医薬品の開発を展開する。</p>	
V. 基本計画に関する事項	作成時期	平成 20 年 3 月 作成
	変更履歴	平成 22 年 3 月、中間評価で高い評価を受け、最終目標達成のため期間延長を行う事により、改訂。 平成 23 年 2 月、新規技術開発の追加による研究開発項目の整理に伴い改訂。 平成 23 年 8 月、研究開発項目 < 2 > の研究開発責任者の決定により改訂。 平成 24 年 4 月、研究開発責任者の異動に伴う所属先の変更により改訂。

## 用語集

**Cosmid ベクター:** コスミドベクターは、30kbp-45kbp の大きさの DNA 断片を挿入することができる。このベクターは、Cos 領域という特殊な配列を有し、この配列をバクテリオファージが認識することで、パッケージングが行われる。

**BAC (Bacterial Artificial Chromosome) ベクター:** 大腸菌を宿主とする人工染色体ベクター。大腸菌プラスミドの一種 F プラスミドの複製系を利用する。

**ゲノムライブラリー (Genome library):** ゲノムを制限酵素、超音波、シアリング（剪断）などにより、物理的に細かく断片化し、プラスミド、コスミド、BAC などのクローニングベクターにクローニング（組換え）したもの。シーケンシングやその他の遺伝子研究に、ゲノムそのものを直接取り扱うことは非効率かつ困難なため、このようなライブラリー化が行われる。

**次世代シーケンサー:** Sanger シーケンシング法を利用した蛍光キャピラリーシーケンサーである「第 1 世代シーケンサー」と対比させて使われている用語。

**第 2 世代シーケンサー:** 逐次 DNA 合成・光検出法を用いた超並列シーケンシング。DNA ポリメラーゼまたは DNA リガーゼによる逐次的 DNA 合成法を用いて、蛍光・発光など光検出により、超並列的に塩基配列を決定する。代表的機器は、454 (GS-FLX、Roche)、「Hiseq2000、Miseq (Illumina)」、「SOLiD (Life Technology)」。

**第 3 世代シーケンサー:** 1 分子リアルタイム・シーケンシング。DNA1 分子を鋳型として DNA ポリメラーゼにより DNA 合成を行い、1 塩基ごとの反応を蛍光・発光などの光で検出することにより、リアルタイムで塩基配列を決定する。代表的機器は、PacBio (Pacific Biosciences)。

**ポリケタイド生合成: Polyketide.** アセチル CoA を出発物質とし、マロニル CoA を伸張物質としてポリケトン鎖を合成した後、様々な修飾を受けて生合成された化合物の総称である。「脂肪酸の生合成」と「ポリケチドの生合成」の過程は非常に良く似ているが、前者はカルボニル基 (-CO-) の還元を受けて炭化水素鎖を形成するのに対し、後者はカルボニル基の還元を受けずにポリケトン鎖を形成する点で差異がある。両者の生合成の過程を合わせて酢酸・マロン酸経路と総称する。PKS は I 型、II 型、III 型の 3 種類が存在する。後に詳しく述べるが I 型 PKS は複数のドメインが一つのポリペプチド上に連なった長大な蛋白質、II 型 PKS は異なる機能を持った蛋白質の複合体、III 型ポリケタイド合成酵素はケトシンテースドメインのみからなる小型の蛋白質である。いずれの酵素もスターター基質と呼ばれる CoA エステル（もしくは ACP 体）に伸長鎖基質（マロニル CoA など）を複数回縮合する反応を触媒する。スターター基質としてはアセチル-CoA、脂肪酸 CoA エステル、ベンゾイル CoA、クマロイル CoA などが通常用いられる。



KS:  $\beta$ -ketoacyl-ACP synthase

AT: acyl transferase

ACP: acyl carrier protein

KR:  $\beta$ -ketoacyl-ACP reductase

DH: dehydratase

ER: enoylreductase

TE: thioesterase

非リボゾーマル型ペプチド合成: Non-Ribosomal Peptide Synthetase (NRPS)。mRNA を設計図としてペプチド鎖を合成するリボソームを用いないペプチド合成。

A: adenylation。アデニル化部位

PCP: Peptide Carrier Protein with attached 4'-phospho-pantetheine

T: thioesteration。チオエステル化

C: condensation。縮合反応

メロテルペノイド: テルペノイドとポリケタイドの ハイブリッド型化合物。

ドラフトゲノム配列: おおよその全貌は解読できた、という状態のゲノム配列。全ゲノム配列の 100% は解読されてはいない、ギャップが残っていたり並べ方は不確定な情報。

*de novo* シークエンス: 新規ゲノム配列解析。

コンティグ: DNA 配列断片群を重ね合わせて (アライメントして) できるコンセンサス配列や、それを構成する配列断片群。

Paired End および Mate Pair シークエンス: Paired-End Sequencing は、個々の短い DNA 断片を両末端から読む方法である。両側からのリードが重複していれば、配列決定精度を向上させることができる。一方、DNA 断片の長さが大きく、両側からのリードが重複しない場合には、Mate-Pair Sequencing に

近い結果が得られる。Mate-Pair Sequencing は、長い DNA 断片の両末端をライブラリー構築によって接近させた後、それら両末端の配列を決定する方法である。一定距離だけ離れた場所の 2 つの配列を解明できることから、*de novo* sequencing や欠失・挿入などの大きな DNA 構造の変化の解析に役立つ。Mate-pair sequence…大きな構造変化の検出や *de novo* sequence における scaffolding に Paired-end sequence のインサートサイズが数百 bp であるのに対して Mate-pair sequence のインサートサイズは 2 ~ 5kbp。

antiSMAS: antibiotics & Secondary Metabolite Analysis Shell

SUKA: Special Use of Kitasato Actinobacteria。 *Streptomyces avermitilis* を親株に内在性生合成遺伝子クラスターをノックアウトしたホスト株。

SAL1074: *Streptomyces albus* J1074 株。

KASU: Kitasato Actinomytales Special Use。 *Streptomyces lividans* より幾つかの生合成遺伝子クラスター ( $\Delta$ act  $\Delta$ geo  $\Delta$ mib str) をノックアウトしたホスト株。

SAP1: Streptomyces Avermitilis Plasmid 1。 *Streptomyces avermitilis* に存在する 2 つの線状プラスミドのうちの一冊目のプラスミド。

## I. 事業の位置付け・必要性について

### 1. NEDO の関与の必要性・制度への適合性

#### 1.1 NEDO が関与することの意義

本事業は、健康寿命を延伸し、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現を目指す「健康安心イノベーションプログラム」の一環として実施するものであり、ポストゲノム研究の産業利用が期待される「ゲノム創薬」を加速し、創薬効率の向上に資する創薬基盤技術の構築を目的とするものであり、ゲノム情報をベースに生合成遺伝子資源としてライブラリー化することによって安定的な資源化を目指す点、また、整備されたライブラリーの有効な活用を可能とする汎用生産系の構築は極めてチャレンジングである。

また、民間企業単独で開発することは極めて困難であり、異なる事業体の連携推進というNEDOの保有する機能が貢献できる内容であるため、NEDOが実施する事業として妥当である。

#### 1.2 実施の効果(費用対効果)

本事業においては、2年間の実施期間において当該技術の見極めを図るために研究開発対象とする生合成遺伝子クラスターを放線菌由来のものに限定しているが、当該技術は他の生物種由来の生合成遺伝子クラスターにも適用が可能と考えられるため、放線菌由来以外の有用天然物の生産への波及効果が期待される。

天然物由来の医薬品として、放線菌由来の化合物であるタクロリムスは、国内売上が年間約500億円である。タクロリムスは生産菌を使用して産業化に至ったが、生産菌では生産量が少なく産業化が難しい化合物も本事業の成果をもとに大量かつ安定的に生産することにより、創薬開発に貢献することが可能である。

## 2. 事業の背景・目的・位置づけ

本研究開発は、遺伝子やタンパク質等の生体分子の機能・構造解析等を行うとともに、それらの研究を強力に推進するためのバイオツールやバイオインフォマティクスの開発、成果を高度に利用するためのデータベース整備や先端技術を応用した高度医療機器開発等により、個別化医療・予防医療・再生医療の実現や、画期的な新薬の開発、医療機器、福祉機器等の開発・実用化を促進することによって健康寿命を延伸し、今後、世界に類を見ない少子高齢化社会を迎える我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現を目指すことを目的とする「健康安心イノベーションプログラム」の一環として実施する。

近年、製薬企業の研究開発費は増大の一途であるものの、承認される薬剤の数は増えていない。研究開発費の増大分は、主として臨床開発費に充てられ、探索研究に回せるリソースは相対的に減少している状況にあることもその理由の一つであるが、創薬ヒット化合物の発見につながる新たなスクリーニング手法の技術革新と技術実証の不足により、新規医薬品候補化合物の探索効率が大幅に低下している可能性も指摘されている。このため、最先端の知識と分析技術を組み合わせ、創薬開発のより早い段階から適切な医薬品候補物質の取得を可能とする、標的蛋白質の立体構造をベースとした *in silico* スクリーニングや探索対象となる化合物空間の拡大など、創薬の効率化に繋がる新たな技術の開発が求められている。

創薬ヒット化合物の探索については、近年、製薬企業を中心に、コンビナトリアルケミストリーによる化合物合成とそのライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングが盛んに行われたが、必ずしも期待された成果が出ておらず、豊富な生物活性と大きなケミカルスペースを持った天然化合物が再注目されている。微生物は、天然化合物のリソースとして最も有望なものの一つであるが、培養抽出物として安定的かつ大量に取得できないなど、そのままではスクリーニングの効率化に様々な問題点がある。そこで、これまでに無い新しい骨格を持った化合物も含め、微生物の持つ天然化合物の生合成遺伝子を取り出して別の宿主菌株で発現させるなど、目的とする天然化合物を安定的かつ効率よく発現させる手法を開発することが重要である。

ポストゲノム研究の産業利用が期待される「ゲノム創薬」を加速するため、我が国の強みとする微生物ライブラリーや、天然物化学に対する知識基盤等を最大限に活用し、創薬リード化合物候補となりうる広いケミカルスペースを持った天然化合物を生産する生合成遺伝子とそれを応用した化合物生産を効率的に行う技術開発により、安定生産技術としての汎用性を見極めるべく、「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発／有用天然化合物の安定的な生産技術開発」を実施する。

これにより、天然物化学情報基盤の強化等により、ゲノム情報を活用した創薬技術の高度化による我が国バイオ産業の競争力強化、新産業の創出・育成を通じて、国際的優位性を確保することが期待できる他、個別化医療への応用とともに、健康維持・増進などを含めた幅広い分野への展開が期待できる。

## Ⅱ. 研究開発マネジメントについて

### 1. 事業の目標

最終目標（平成24年度末）

有用天然物の合成に必要な 40 個程度の生合成遺伝子クラスターを取得し、その生産物に対応づけたデータベースを構築する。これら 40 個程度の生合成遺伝子クラスター全てについて、化合物生産株となる別の宿主放線菌へ導入し、目的の天然物を 5 mg/L レベルで安定的に生産する技術を開発する。さらにこれら 40 個程度について、安定的な生産が可能な天然物と困難なものを体系的に整理し、生産が困難なものについてはその原因を解明し、生産の改善を図る。

### 2. 事業の計画内容

#### 2.1 研究開発の内容

目標を達成するために、以下の研究開発項目について、別紙の研究開発計画に基づき研究開発を委託により実施した。

##### （1）生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築

放線菌が生産する広範な天然化合物リソースから、大きく複数に分類される化合物群の代表的な化合物を選抜するとともに、製薬企業が興味を持つ構造及び活性がユニークな天然物由来の化合物候補を選抜し、これらの天然化合物の生合成遺伝子クラスターの情報を取得する。

この情報を基に、生合成遺伝子クラスターのライブラリーを作製する。また、これらの生合成遺伝子クラスターの正確なシーケンス情報を解読すると共に、化合物と生合成遺伝子に対応づけるデータベースを構築し、類縁化合物の生合成遺伝子を探索するツールの開発につなげる。

##### （2）安定生産技術の開発

天然物を生産する別の宿主放線菌株を用いて、これら多種多様な天然化合物の生合成遺伝子クラスターを導入し、実際のスクリーニングに適用可能な生産性を目標に生産させる技術を開発する。安定的な生産が可能な天然物と困難なものを体系的に整理し、生産が困難なものについてはその原因を解明し、生産の改善に取り組むことにより、安定生産技術としての汎用性を見極める。

前述の研究開発項目の具体的な内容は以下のとおりである。

(1) - 1 異種発現生産の標的とする化合物の生合成遺伝子クラスターの同定（次世代天然物化学技術研究組合、共同実施先：沖縄科学技術大学院大学 (OIST)、北里大学、東京大学、理化学研究所）

放線菌が生産する広範な種類からなる天然化合物リソースから、生合成前駆体や生産経路を基に分類した化合物群のうち、代表的な化合物および製薬企業が興味を持つ構造及び活性がユニークな天然物由来の化合物を対象に、異種発現系に供する 40 個程度の化合物を選抜し、それらの生合成遺伝子クラスターの同定を目標とした。

(1) - 2 生合成遺伝子クラスターの取得（次世代天然物化学技術研究組合、共同実施先：北里大学、東京大学）

同定した有用な生合成遺伝子クラスター情報を基に、プロジェクト期間を通じて 40 個程度の生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築および生産物に対応づけたデータベースの構築を目標とした。

(2) - 1 異種発現システムを用いた生産実証による汎用性の検証（次世代天然物化学技術研究組合、共同実施先：北里大学、東北大学）

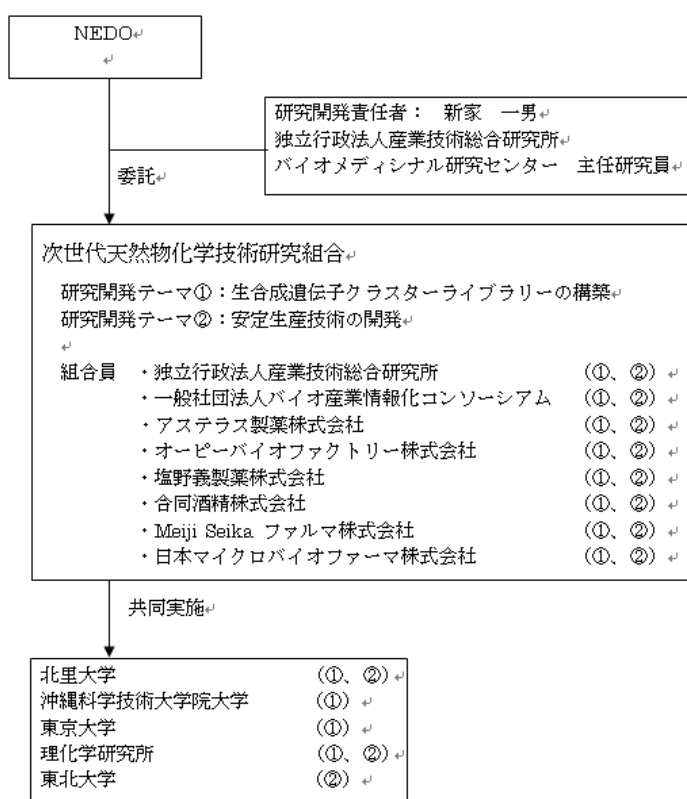
培養抽出物という混合物状態ではなく、単離天然化合物として天然物ライブラリーの構築を目指し、現在考えられる最高技術を用いた異種発現システムの検証を行った。

(2) - 2 異種発現システムの改良による安定生産技術の開発（次世代天然物化学技術研究組合、共同実施先：北里大学、理化学研究所）

スクリーニングサンプルとしてアッセイ系に供与でき、かつ必要とされる研究機関への配布が可能な、5mg/L を安定的に生産可能な汎用性の高い異種発現システムの構築を目標とした。

## 2.2 研究開発の実施体制

独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター 主任研究員 新家一男氏をプロジェクトリーダーとし、以下の体制で研究開発を実施した。



## 2.3 研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有するNEDOは、経済産業省及び研究開発責任者と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施した。具体的には、四半期に一回程度プロジェクトリーダー等を通じてプロジェクトの進捗について報告を受けることを行った。

また、年2回の頻度で研究開発推進委員会を開催し、研究開発の進捗状況を報告するとともに、外部有識者からの助言等により、研究開発の推進を図った。研究開発推進委員会の委員は以下のとおりである。

氏名	所属・役職
仁平 卓也 (委員長)	大阪大学 生物工学国際交流センター センター長 分子微生物学研究室 教授
江口 正	東京工業大学大学院 理工学研究科 物質科学専攻 教授
上村 大輔	神奈川大学理学部化学科 教授
磯貝 隆夫	福島県立医科大学 創薬関連 TR 部門ゲノム塩基配列解析分野 特任教授
中川 智	協和発酵バイオ(株) ヘルスケア商品開発センター 学術研究企画室 マネージャー

## 2.4 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性

次世代天然物化学技術研究組合（8社、1独法、1団体）を設立し、本事業により得られた成果を本組合の製薬企業における創薬基盤技術として活用するとともに、天然化合物ライブラリーの利用技術も含めたリソースの管理・提供を行う共同利用センターとしての事業化を図る体制とした。

## 3. 情勢変化への対応

国内外の関連の学会などに参加、研究発表と情報収集を行うなどして、最新の研究動向の把握に務めた。

さらに、平成23年度の研究成果として「標的化合物によっては元生産菌の生産培地でしか生産されない場合がある」ことを明らかとなり、「異種発現システムを用いた生産実証による汎用性の検証」をする上で、複数の培地について生産性を検討する必要となった。

このため、平成24年8月に98百万円の追加予算を配賦し、高性能質量分析装置等を2台導入した。これにより、増加した生産検討培地の解析を期間内に完了した。

## 4. 中間評価結果への対応

実施せず。

## 5. 評価に関する事項

技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義並びに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の事後評価を平成25年度に実施する。



### Ⅲ. 研究開発成果について

#### 1.事業全体の成果（公開版）

##### 事業全体の成果

目 標	研究開発成果	達成度	課題と解決方針 ※未達の場合のみ
<p>プロジェクト全体の目標（出典：基本計画 p12）</p> <p>(1) 生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築 40個程度の生合成遺伝子クラスターを取得する</p> <p>(2) 安定生産技術の開発 目的の天然物を5 mg/L レベルで安定的に生産する技術を開発する</p>	<p>(1) 64個の生合成遺伝子クラスターを取得した 160%</p> <p>(2) &gt; 5 mg/L: 32化合物 (80%) &lt; 5 mg/L: 12化合物 (30%) 生産無し: 20化合物</p>	<p>(1) 大幅達成</p> <p>(2) 達成</p>	<p>(2)</p> <p>本プロジェクトは、現在存在する最高水準の技術を用いて、これまで世界でどこも行う事が出来なかった大規模な検証を行うものであり、技術のさらなる改良と問題点の洗い出しに目標があった。異種発現生産の成功率が、10%と言われている中、本開発研究では、69%と突出した成功率であった。</p> <p>また、異種発現生産が誘導されなかった化合物や低生産性の化合物に関しては、短期間と言う事もあり、全ての化合物に対して遺伝子改変などを行うことが出来なかったが、選抜した化合物については、8割以上の成功率で、異種発現誘導及び力価向上を達成出来た。</p> <p>このように、遺伝子改変を行う事により、高確率で異種発現誘導および生産性向上を行えることを示すことが出来たが、巨大生合成遺伝子に関しては、遺伝子改変を容易に行えない。この辺りに関しては、当研究開発のみでは解決出来るものではなく、将来のさらなる遺伝子技術の進歩が望まれる。</p>

## 2.研究開発項目毎の成果

### はじめに

天然物は、合成化合物と比較して広いケミカルスペースを持ち、現在上市されている臨床医薬品の6割以上を占めており、長い間薬剤開発のリード化合物のソースとして用いられてきた。特に、微生物は生物活性物質の宝庫と呼ばれており、我々が思い付かないような多種多様な構造を有する化合物を生産する。ここ数十年の間、欧米の効率主義に発する、コンビナトリアルケミストリーによる化合物合成とそれらのライブラリーを用いたハイスクリーンが我が国の製薬企業にも導入され、盛んに薬剤スクリーニングが行われたが、必ずしも期待された成果が出ていない。そのため、豊富な生物活性と大きなケミカルスペースを持った天然化合物が再注目されている。しかしながら、新規化合物の単離が困難になってきていることに加え、天然物ライブラリー作製には多くの手間と費用がかかるなど非効率的であるという理由から、天然化合物スクリーニング研究は、多くの製薬企業で衰退の一途を辿っているのが現状である。天然物ライブラリーを用いたスクリーニングが非効率的であるという他の理由として、培養抽出物という多くの夾雑物の混合物を用いるため、薬剤開発を行うためには、天然物ライブラリーに特化したアッセイ系を構築しなければならず、また擬陽性を如何に排除するかなどの工夫が要求される。一方で、ヒトゲノムプロジェクトに伴い、多くの創薬ターゲットが見出されてきたが、それらは必ずしも天然物ランダムスクリーニングに適しているとは言えず、天然化合物は薬剤リード化合物として有望であるにも拘わらず、適用するのは困難であるのが現状である。ここで、培養抽出物の状態ではなく、単離天然化合物ライブラリーの確立が今後天然化合物スクリーニングを展開する上で必須であると考えられる。

微生物の中でも、特に放線菌からは多くの临床上、重要な医薬品が見出されおり、生物活性物質生産には最も貴重な微生物である。しかしながら、放線菌は大腸菌と異なり、ごく一部の放線菌を除き、分子生物学的な研究を行うための「道具」に乏しく、遺伝子破壊や特定遺伝子の高発現など遺伝子の導入が不可能、あるいは極めて困難な場合が多かったのが現状である。1985年に放線菌の遺伝子操作による新規抗生物質の創製 (Production of 'hybrid' antibiotics by genetic engineering. D. A. Hopwood, F. Malpartida, H. M. Kieser,

H. Ikeda, J. Duncan, I. Fujii, B. A. M. Rudd, H. G. Floss and S. Omura, *Nature* **312**, 642-644, 1985) を皮切りに、その後 Khosla らによる「Unnatural natural Products」の研究など (Engineered biosynthesis of novel polyketides. R. McDaniel, S. Eber-Khosla, D. A. Hopwood and C. Khosla, *Science* **262**, 1546-1550, 1993)、多くの生合成遺伝子の異種発現研究が行われ、多くの報告例と共に放線菌ゲノム研究の道具が揃ってきており、二次代謝産物の高生産に適したホストとして放線菌を使うことの有効性が認知されてきているが、単に生合成遺伝子を利用した異種発現が出来れば良いと言うレベルでは無い時代になってきているのも現実である。特に、北里大学、池田等によって開発された異種発現システムは、生産ホストとして工業生産株を用いるという点、ゲノム中に存在する内在性の二次代謝産物の生合成遺伝子を欠損させた点、導入遺伝子の安定維持の観点から安定領域に目的遺伝子を組み込むという点など多くの優れた点を持ち、実際に様々な異種生合成遺伝子クラスターを導入・発現を可能とし、生産量に関しても期待が持てる状況である。また、「工業生産株を異種発現ホストとして改良して用いる」というコンセプトは、これまで主にアカデミックでの研究目的だった生合成遺伝子クラスターの異種発現システムを、応用を見据えたレベルまで引き上げたという点で、今後企業での利用を目的とした大規模な検証がようやく行える時期に来たと言える。

また、天然物化学は、我が国が世界をリードする研究分野、および産業分野であり、これまで多くの知識、技術、および生物活性物質生産株を保有している。本研究では、これまで企業等で行って来た実際の天然物スクリーニングの抱える問題点を洗い出し、天然物化学の多くの経験および技術基盤など世界を遙かにリードしている優位性を利用し、産業レベルでの応用を見据えた実践に基づく次世代天然物化学を担う技術を確立するものであり、我が国の創薬開発を大きく推進すると考えられる。

### (1) 【生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築】

放線菌全ゲノム解析が終了している菌株について、これまで多くの研究者が様々な手法で化合物の単離を試みてきているが、ゲノム配列上に見出される生合成遺伝子クラスターの数と比較して、ごく一部の化合物の生産しか確認できていない。例えば、工業生産菌として世界で初めてゲノム解析が行われた *Streptomyces avermitilis* には37種の生合成遺伝子クラスターの存在が確認されているが、それらのうちの12種の生合成遺伝子クラスターによって生成した化合物しか単離されていない。我々も、単離天然化合物ライブラリーの構築の過程で、様々な菌株の分離法や培養法の改良を検討したが、休眠遺伝子の活性化においてはその効果は限定的であった。また、生産菌は保存後の再培養において、目的化合物の生産性が損なわれる場合が多く、今後はこれらの発現が確認された生合成遺伝子クラスターと共に、休眠生合成遺伝子クラスターを、汎用宿主に導入あるいは発現可能なプロモーター制御下で人為的に発現させることが出来れば、化合物の安定供給が可能となるだけでなく、未知の休眠遺伝子クラスターの利用も可能となり、より幅広いケミカルスペースを持った化合物ライブラリーの構築が可能になると考えられる。そこで、池田等によって開発された異種発現システムを主な基盤として、どのような化合物が異種発現により生産が可能か、どのような化合物の生産が困難あるいは不可能であるか、さらには工業応用レベルでの生産が可能な化合物はどのようなものか、さらなる改良を行うことによりどれだけ大きな範疇の化合物が高生産できる可能性を秘めているかを、多種多様な既知化合物を用いて検証することが、今後の企業での応用を考えた場合重要なポイントとなる。

放線菌の生産する化合物いわゆる二次代謝産物は、それらの生合成に利用される一次代謝産物である前駆体の種類から、大きく6つに分類されている。すなわち、(1) 脂肪酸およびポリケチド経路 (マクロライドおよび芳香族ポリケチド)、(2) アミノ酸経路 (ポリペプチド)、(3) 核酸経路、(4) メバロン酸および非メバロン酸経路 (テルペン)、(5) 糖質経路 (アミノグリコシド)、および (6) アンサマイシン系化合物に見られるシキミ酸経路とポリケチドとの融合化合物のような、幾つかの経路の複合型化合物 (ハイブリッド型) に分類される。したがって、これらの分類された化合物群を網羅的にカバーすること、かつ特異な構造的特徴を持つ化合物を標的にすることが、「放線菌が生産する広範な天然化合物リソース」を

広範囲にカバーするためには必須であり、今後企業での応用を視野に入れた、大きな「天然化合物リソース」への汎用性に繋がると考えられる。

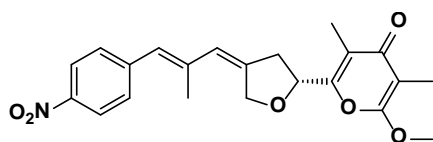
本研究では、臨床応用されているような、産業上重要な化合物であるに拘わらず、その生合成遺伝子クラスターが巨大であるが故に、生合成遺伝子クラスターの取得および異種発現が、テクニカルな困難さのためにほとんど成されていない化合物を主な対象として含め、多種多様な構造を有する化合物を対象に、生合成遺伝子クラスターの取得、およびそれに続く異種発現生産の大規模な検証を行った。

(1)-1. 異種発現生産の標的とする化合物の生合成遺伝子クラスターの同定（次世代天然物化学技術研究組合、共同実施先：沖縄科学技術大学院大学学園（OIST）、北里大学、東京大学、理化学研究所）

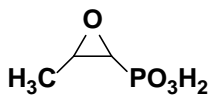
生合成遺伝子クラスターの取得の方法は幾つか考えられるが、既知の生合成遺伝子情報に基づき取得する手法と、ギガシークエンサーを活用して取得するゲノム配列に準じた取得法とに分けることが出来る。

(1)-1-1 生合成遺伝子クラスターが報告されている化合物

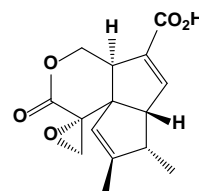
本プロジェクトは学術的研究では無く、それらの化合物の生合成遺伝子クラスターの取得および異種発現が困難であっても、産業上重要であることが研究対象の優先度が高い。また、構造の多様性を高めるために、異種発現生産は報告されていないが、遺伝子破壊などによって既に生合成遺伝子クラスター候補が報告されている化合物も、研究対象とした。下記に本研究で対象とした、生合成遺伝子クラスター全体あるいは一部が報告されている化合物を図 1 に示す。また、報告されている推定生合成遺伝子クラスターのサイズを合わせて示す。



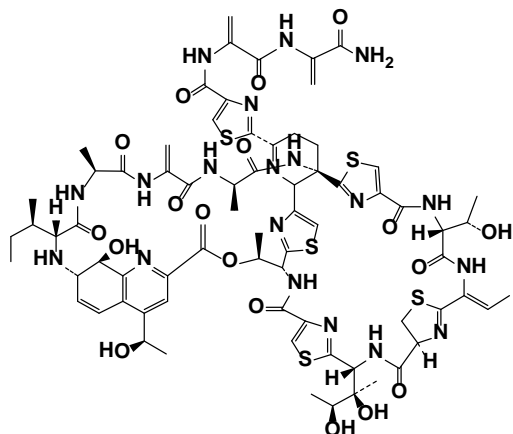
Aureothin (28 kbp)



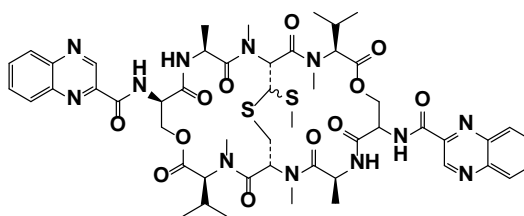
Fosfomycin (12 kbp)



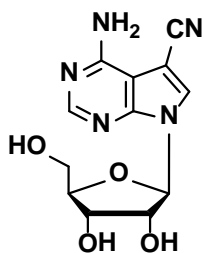
Pentalenolactone (13.3 kbp)



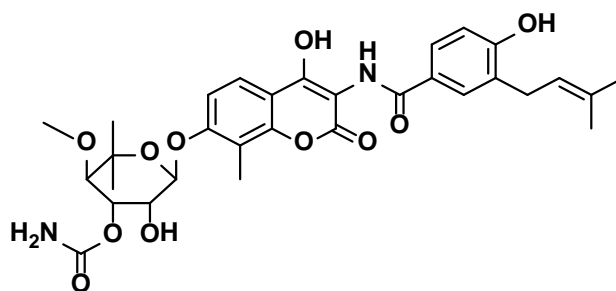
Thiostrepton (30 kbp)



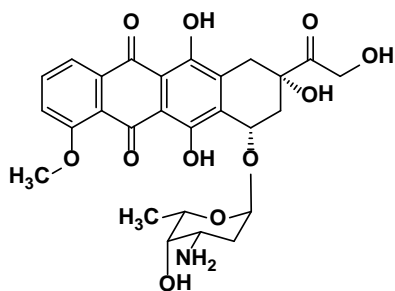
Echinomycin (36 kbp)



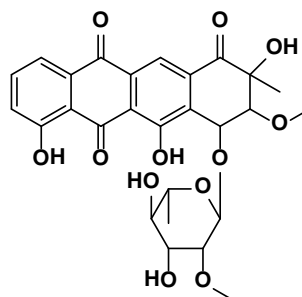
Toyocamycin (12 kbp)



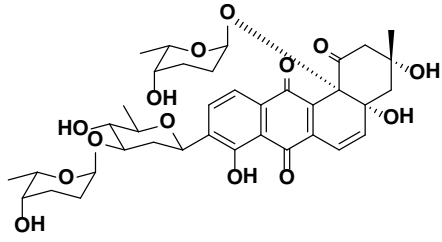
Novobiocin (25.5 kbp)



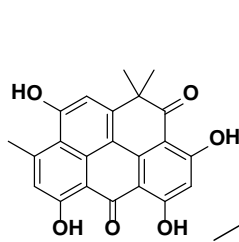
Adriamycin (20 kbp)



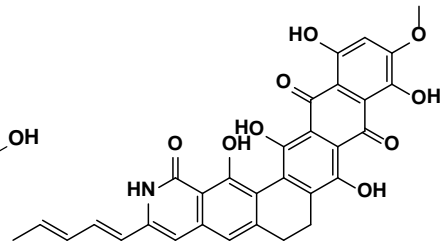
Aranciamycin (28 kbp)



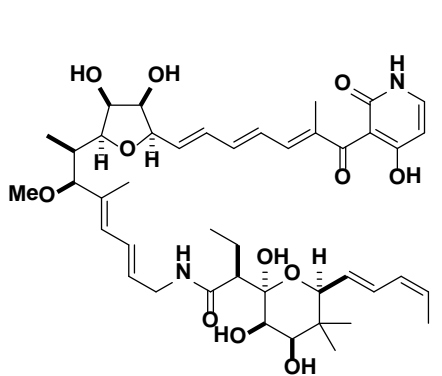
Urdamycin (15 kbp)



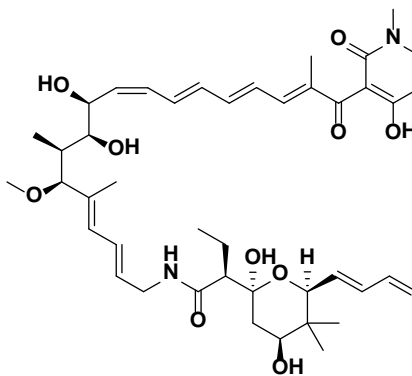
Resistomycin (15 kbp)



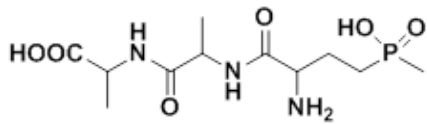
Fredericamycin (27 kbp)



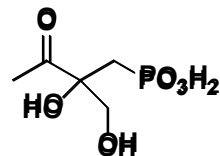
Mocimycin (80.6 kbp)



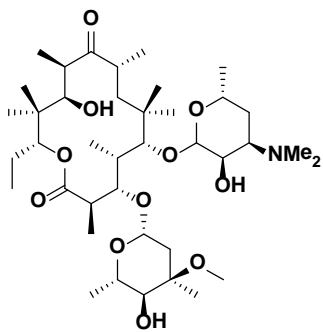
Factumycin (80.6 kbp)



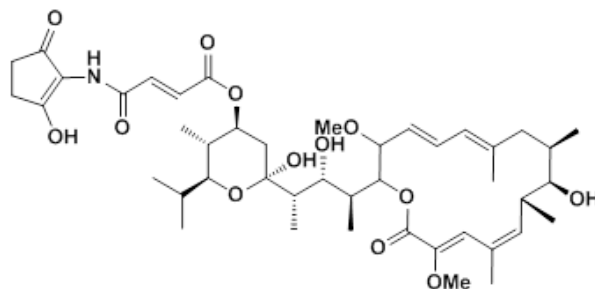
Bialaphos (34.6 kbp)



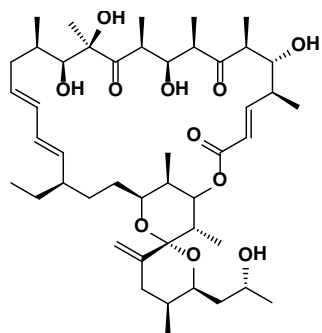
Phosphonothricin (16.6 kbp)



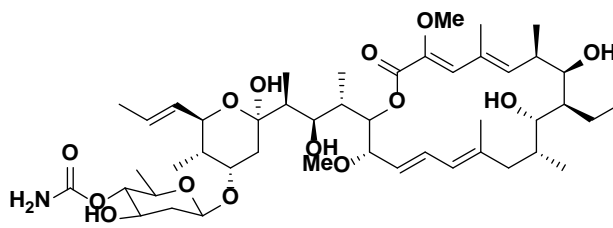
Erythromycin (54.6 kbp)



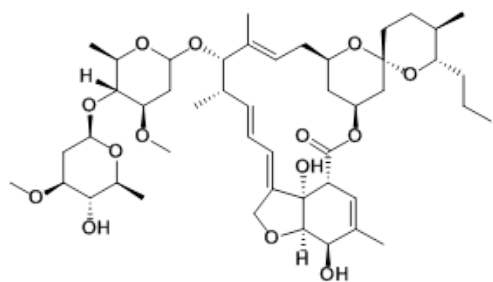
Bafilomycin (71.7 kbp)



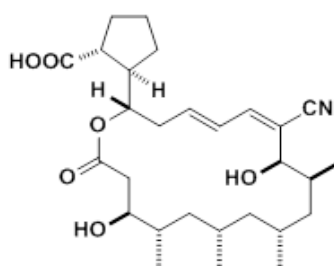
Oligomycin (101.1 kbp)



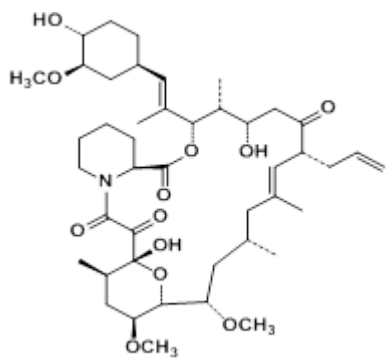
Concanamycin (99 kbp)



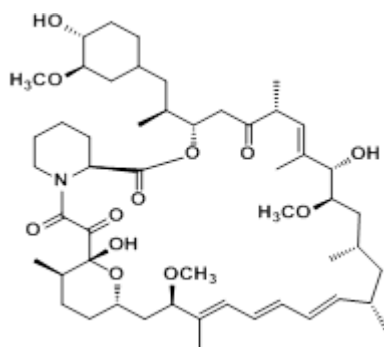
Avermectin (80.6 kbp)



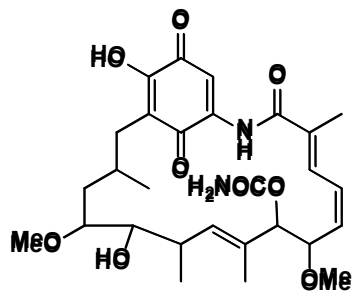
Borrelidin (54.9 kbp)



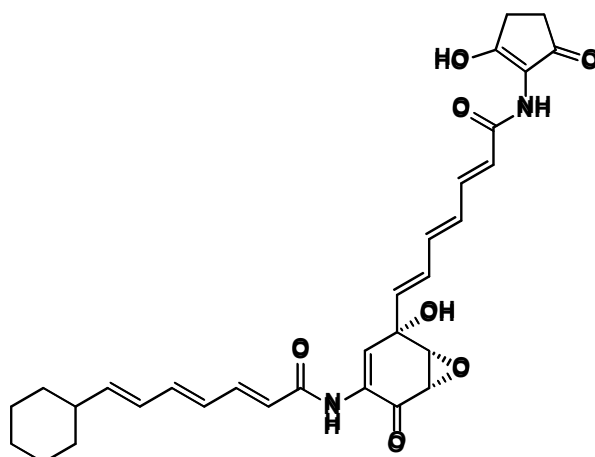
FK-506 (70.7 kbp)



Rapamycin (107 kbp)

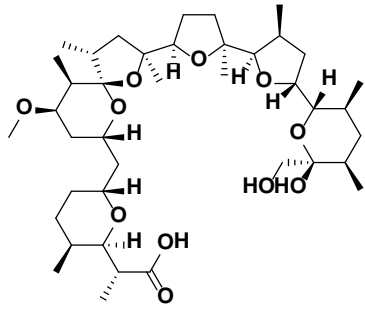


Geldanamycin (80.6 kbp)

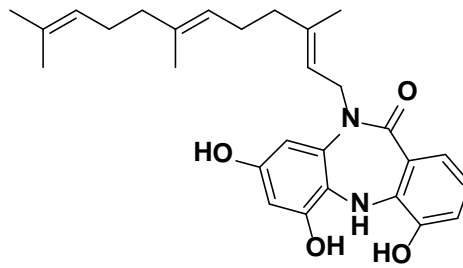


Asukamycin (80.6 kbp)

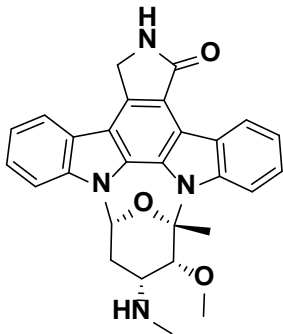




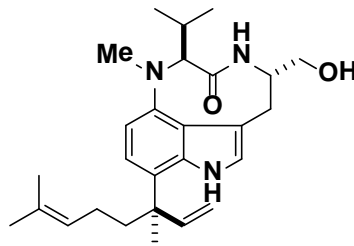
Nigericin (80.6 kbp)



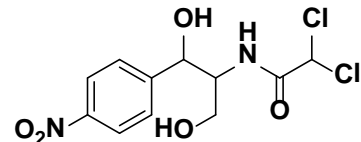
Diazepinomicin (43.2 kbp)



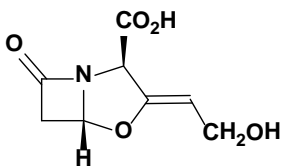
Staurosporine (26 kbp)



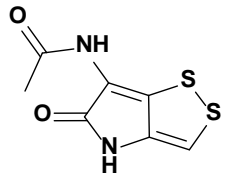
Teleocidin (12.8 kbp)



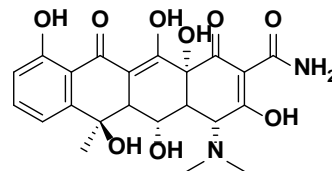
Chloramphenicol (23.5 kbp)



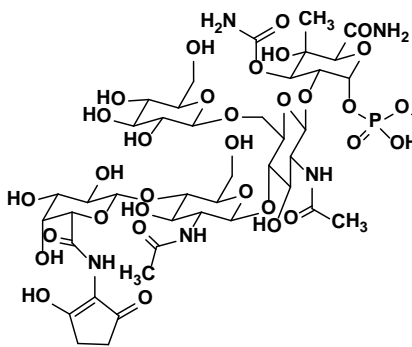
Clavulanic acid (25 kbp)



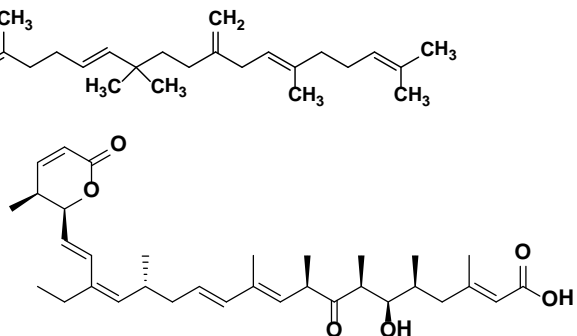
Holomycin (18 kbp)



Oxytetracycline (25 kbp)



Moenomycin (42.6 kbp)



Leptomycin (80 kbp)

図 1. 生合成遺伝子クラスターが報告されている化合物 (推定も含む)

## (1)-1-2 生合成遺伝子クラスターが未報告あるいは生合成経路が不明な化合物

### (1)-1-2-1 放線菌ドラフトゲノム解析法の確立

従来、生合成遺伝子クラスターの同定には、構造的特徴からキーとなる生合成反応から候補となる遺伝子を選抜し、遺伝子破壊による生産性消失を指標とするなど、極めて労力のかかる研究であった。

このような中、ギガシーケンサーの登場により、より迅速かつ安価に遺伝子配列情報が得られるようになり、多くの研究者が生合成遺伝子情報の取得にギガシーケンサーを利用し始めている。我々も、新奇骨格を有し生合成遺伝子クラスターの予測が困難であると考えられる化合物に関して、ギガシーケンサーによる *de novo* シーケンスを行い、得られた配列情報より能動的に生合成遺伝子クラスターを取得する技術の開発を行った。

放線菌ゲノムは、GC 含量の高い配列を持ち、繰り返し配列も多く存在する。そのため、放線菌のゲノム解析は極めて困難であり、現在のようにシーケンス技術が進歩していても、思うような結果が得られていないのが現実である。そこで、我々はサンゴのゲノム解読など、ギガシーケンサーを用いた *de novo* シーケンス解析で多くの実績を有する OIST (Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University、沖縄科学技術大学院大学) にて、放線菌に特化したドラフトゲノム解析法の開発を行った。

Roche 454 シーケンサー、およびプロジェクト終了直前ではあるが Miseq も導入し、より効率的な放線菌ドラフトゲノム解析を改良開発することにより、二年間で 44 菌株のドラフトシーケンスを行った。

放線菌はドラフトゲノム解析の対象として、現時点でも極めて困難な微生物（全生物を含め）であり、未だ我々のような高精度でドラフトゲノム解析を行える機関は無い。また、二年間の精力的な改良により、現在では年に 100 菌株以上のドラフトゲノム解析が可能になっている。

#### (1)-1-2-2 生合成遺伝子クラスター解析ツール (Genome Viewer) の開発

我々は、上記ドラフトゲノム情報より、化合物構造の特徴に基づく目的生合成遺伝子クラスターを同定する手法の開発を行った。まず、ドラフトゲノム情報のアノテーション、およびアノテーション情報を効率的に解析することが可能なビューワー (ソフト) の開発を行った。ベースとして用いたソフトは、北里大学、池田教授等が開発した「Genome Viewer」であるが、本ビューワーは、目的領域を指定して書き出すことにより、ORF 毎に区切られたゲノム配列情報を視覚化する。本ソフトに antiSMASH の様な、生合成遺伝子予測が可能なソフトのモジュールを自由に組み込めるように、ソフトの改良を行った。また、antiSMASH に関しては、基のデータベースを詳細に改変することにより、より高精度に生合成遺伝子をアノテーションすることを可能にした。

本ビューワーでは、キーワードによる検索により、ゲノム中に存在する各生合成遺伝子を抜き出すことが出来る。また、研究者自身が情報を容易にアップデートすることが可能であり、より詳細な情報を閲覧することにより、各研究者が容易にゲノム情報を解析することを可能にする。

本ビューワーは、Web を介して閲覧可能であり、IP アドレスあるいは認証による管理など高いセキュリティを持つと共に、各社独自のサイトを設けることにより、各社個別に情報管理を行えると共にゲノム情報の解析が可能である。

### (1)-1-2-3 I型ポリケタイド生合成遺伝子クラスターの同定

我々は、上記ドラフトゲノム情報より、化合物構造の特徴に基づく目的生合成遺伝子クラスターを同定する手法の開発を行った。放線菌の生産する最も特徴的かつ産業上重要な化合物としてマクロライド系化合物が挙げられる。下図 2 の生合成遺伝子クラスターは、leptomycin の生合成遺伝子クラスターの模式図であるが、leptomycin は真核細胞生物の脂肪酸合成酵素（多機能ドメイン酵素）に似た、I 型ポリケタイド生合成経路 (Type-I PKS、I 型 PKS) により生合成される。I 型 PKS は、KS ( $\beta$ -ketoacyl-ACP synthase)、AT (acyl transferase)、ACP (acyl carrier protein)、KR ( $\beta$ -ketoacyl-ACP reductase) を主なドメインとして、DH (dehydratase) 及び ER (enoylreductase) の組み合わせにより一つのモジュールを形成する。Leptomycin の生合成遺伝子クラスターでは 6 個の相同性の高い繰り返し配列から構成される。脂肪酸合成酵素では、マロニル CoA (酢酸ユニット) のみを取り込まれるが、放線菌の I 型 PKS では、他の生物種には無い生合成メカニズムであるメチルマロニル CoA (プロピオン酸ユニット) の直接取り込み機構を持つのが特徴であり、これらユニットが縮合され主構造 (マクロライド化合物のアグリコン) が構築される。Leptomycin では、下記に示す様に、枝分かれ部分がメチルマロニル CoA の取り込まれる部分であるが、我々はこの酢酸ユニットとプロピオン酸ユニットの取り込みの違いにより、目的化合物の生合成遺伝子クラスターを同定する手法の開発を行った。

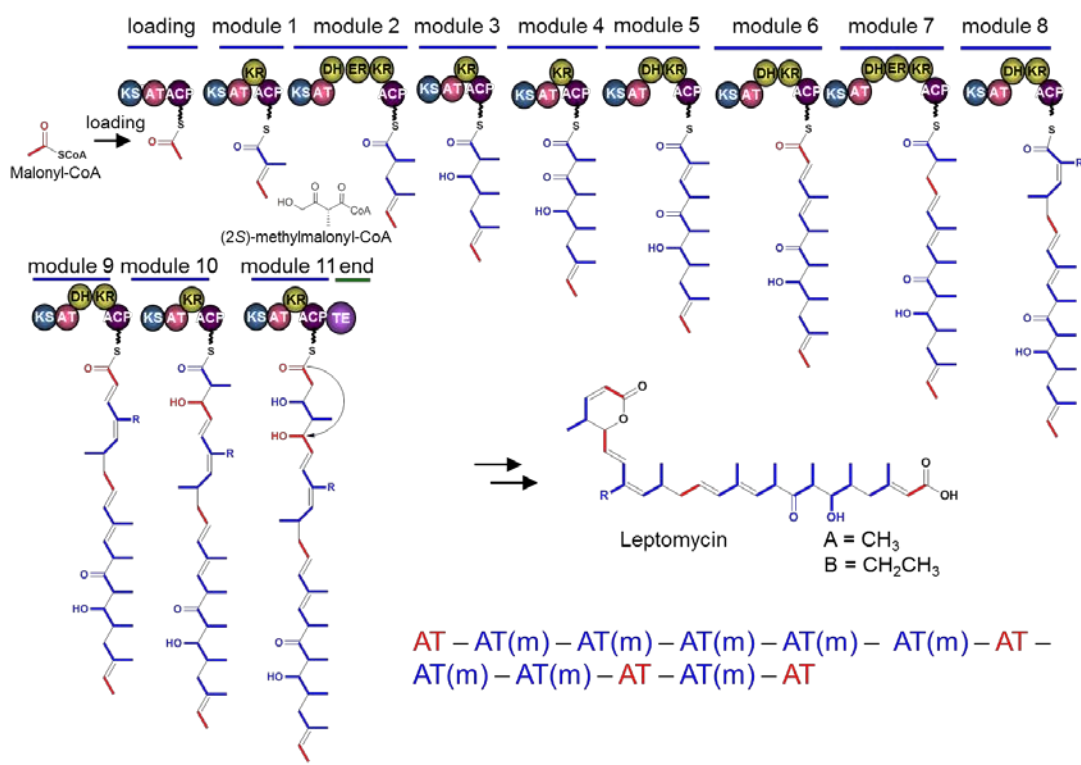


図 2. Leptomycin 生合成経路と生合成前駆体取り込みパターン

Leptomycin はその構造から、**酢酸**、**プロピオン酸**、**プロピオン酸**、**プロピオン酸**、**プロピオン酸**、**プロピオン酸**、**酢酸**、**プロピオン酸**、**プロピオン酸**、**酢酸**、**プロピオン酸**、**酢酸**の順に取り込み縮合される。これらのユニットは AT (acyl transferase) ドメインにより運ばれてくるが、そのゲノム配列の微妙な違いにより区別されることが知られている。我々は、この微妙な違いを精度良く区別するシステムを開発した。すなわち、**プロピオン酸ユニット**は **AT(m)** (メチルマロニル CoA を利用するというので、頭文字の m を付けた記号とした) によって、**酢酸ユニット**は **AT** を利用する差を基に分類する。本手法を用いて、今回のプロジェクトの目的化合物の一つである JBIR-102 の生合成遺伝子クラスターの同定を行った例を示す。

JBIR-102 は、*Saccharopolyspora* sp. RL78 が生産するシクロプロパン環を有する化合物である。シクロプロパン環を有する化合物は、様々な生理活性を示すことが多く、このようなシクロプロパン環合成酵素を同定することにより、様々な化合物のシクロプロパン環化が期待される。本化合物は、その構造的特徴から、**プロピオン酸**、**酢酸**、**プロ**

ロピオン酸、酢酸、プロピオン酸、酢酸、酢酸の順に前駆体を取り込まれて生合成されると考えられる (図 3)。

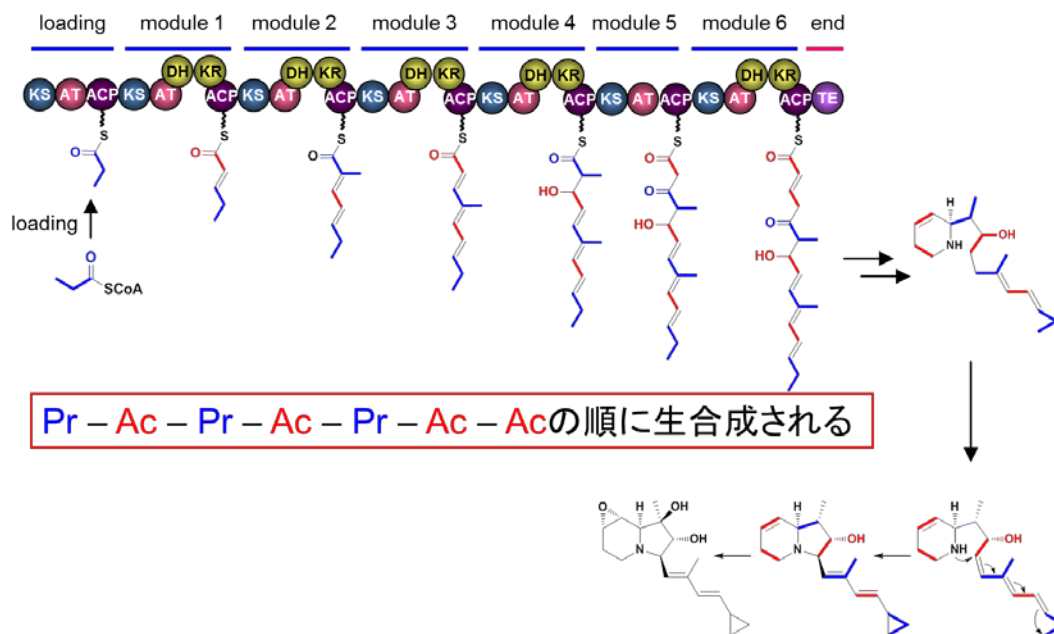


図 3. JBIR-102 生合成経路

これらの各ポリケタイド生合成遺伝子クラスターについて、前駆体取り込みパターンに一致するクラスターを検索し、選抜したポリケタイドクラスター周辺を詳細に検討することにより、JBIR-102 の生合成遺伝子クラスターの同定を行った。

#### (1)-1-2-4 非リボゾーマル型ペプチド生合成遺伝子 (Non-Ribosomal Peptide Synthetase、NRPS) クラスターの同定

NRPS は、A (アデニル化部位)、PCP あるいは T (チオエステル化)、C (縮合反応) を主なドメインとして、一つのマジュールを形成する。縮合したペプチド鎖は、TE (thioesterase) ドメインにより切り出される。放線菌では、多くの NRPS 系化合物の生合成研究が行われて来ており、様々な知見が蓄積されている中で、NRPS 系化合物に取り込まれるアミノ酸は、A ドメインによって制御されていることが知られている (一部の例外は見られるが)。そこで、我々も常法通り、NRPS 系化合物については、A ドメインの配列の解析によって目的生合成遺伝子クラスターの同定を行った。

#### (1)-1-2-5 リボゾーマル型ペプチド生合成遺伝子 (Ribosomal Peptide Synthetase, RiPS) クラスターの同定

ペプチド系化合物は、長きに亘り NRPS によって生合成される化合物が多いと考えられて来た。しかしながら、近年のゲノムシーケンスから生合成遺伝子クラスターの探索が行われるようになってきた中で、アミノ酸配列から推定される NRPS 生合成遺伝子クラスターが見つからないケースが多く見られるようになってきた。リボゾームによって生合成されるペプチド系化合物は、アミノ酸の数×3 (トリプレットコード) 塩基の配列のみが生合成遺伝子クラスター同定の指標となるため、高い精度のゲノムシーケンスが要求されることから、期待されたペースでリボゾーマル型ペプチド生合成遺伝子クラスターの報告されていないのが現状である。

優れた抗菌スペクトルを示す化合物 bottromycin は、高度に修飾されたアミノ酸から構成される化合物であるが、長い間その生合成遺伝子クラスターは同定されていなかった。我々は、生産菌である *Streptomyces bottropensis* NBRC13023 ゲノム解析を行い、本物質のアミノ酸配列パターンから、該当する NRPS 生合成遺伝子クラスターの探索を行った。しかしながら、本菌株のゲノム中には該当する NRPS の候補は全く見出されなかった。そこで、我々は本物質がリボゾーマル型ペプチド生合成経路によって生合成されると考えた。

本物質は、高度に修飾された 8 個のアミノ酸からなる。したがって、24 塩基のみが本物質の生合成遺伝子クラスターを同定する唯一の情報である。通常、24 塩基による配列検索は、余りにも短い配列であるため検索では弾かれてしまう。そこで、我々は配列検索のパラメーターを改変し、短い配列でも検索が可能なシステムを構築した。また、短い配列で検索するが故にゲノムシーケンスの精度が極めて重要である。この 24 塩基による検索を行った結果、GPVVVFDC のアミノ酸配列を含む **MGPVVVFDC**MTADFLNDDPNNAELSALEMEELESWGAWDGEATS の配列を持つ precursor peptide (leader peptide) を同定した。本配列は、本菌株には一つしか見出されなかったため、高い確率で候補遺伝子として選抜し、本 precursor peptide をコードす

る遺伝子周辺を詳細に検証した結果、本 precursor peptide をコードする領域を bottromycin の生合成遺伝子クラスターと同定することに成功した。

上記のようなゲノム情報に基づいた生合成遺伝子クラスター同定法により、40 株の放線菌より、I 型 PKS 経路、NRPS 経路、リボゾーマル型ペプチド合成経路、テルペン合成経路、核酸合成経路から生合成される 40 個以上の化合物の生合成遺伝子クラスターを同定した。



(1)-2 生合成遺伝子クラスターの取得（次世代天然物化学技術研究組合、共同実施先：北里大学、東京大学）

生合成遺伝子クラスターの取得に関しては、クラスターの大きさによって、Cosmid ベクターを用いる手法と、BAC (Bacterial Artificial Chromosome) ベクターを用いる手法の二種類の方法に分けて行った。Cosmid は 40 kbp 前後（約 45 kbp まで）の大きさの DNA 断片のクローニングに使用され、これまで多くの微生物二次代謝産物生合成研究に用いられて来た。これに対し、BAC ベクターは 100 kbp を超える DNA 断片のクローニングが可能なベクターであり、I 型 PKS 生合成遺伝子クラスターをクローニングするには必須なアイテムである。BAC ベクターは、ヒトゲノム計画において、ゲノムライブラリーを作製するために利用されていたが、大きなサイズの DNA 断片を含むライブラリーを調製するのは極めて困難であり、ごく一部の機関でしか実用化されていなかったと言っても過言では無い。また、微生物ゲノムを対象に BAC ベクターによるライブラリー構築の例は極端に少なく、産業応用を目的としたマクロライド系化合物のような大きな分子量の化合物の巨大な生合成遺伝子クラスターの研究には、本技術開発が必須である。

(1)-2-1 クラスターサイズが 40 kbp 以下の生合成遺伝子クラスター

前述したように、40 kbp 程度の生合成遺伝子クラスターに関しては、主として Cosmid ベクターを用いてゲノムライブラリーの調製を行い、目的クローンの選抜を行った。

現在、放線菌用に改良された Cosmid ベクターは複数存在するが、クローニング後のシーケンス解析が困難であったり、増幅時に不安定であるようなベクターも多い。そこで、本プロジェクトでは、avermectin 生産菌である *Streptomyces avermitilis* の生合成遺伝子クラスターのクローニングや、ゲノムプロジェクト研究において、既に多くの実績のあるコスミドベクターである pKU408 を用いた。本 Cosmid ベクターは、他の Cosmid ベクターと比較して、大きな遺伝子断片が入ったクローンの出現率が多いことも特徴の一つである。

本システムを用いて、25 個の化合物について Cosmid クローンの取得に成功した。

#### (1)-2-2 クラスターサイズが 40 kbp 以上の生合成遺伝子クラスター

BAC ベクターを用いたゲノムライブラリーの構築に関しては、まずその技術開発そのものから行った。BAC ライブラリーの調製は手技的に極めて難しく、世界でも有数のラボでのみ安定に調製が可能であるが、そのゲノムサイズは 100 kbp 程度であることが多い。現在、我々は 120 kbp 前後であれば、ほぼ確実に BAC ライブラリーの調製が可能になっており、今回の開発研究で取得した最大サイズのインサートは、concanamycin の生合成遺伝子クラスター取得を目的に調製した際に得られた 215 kbp (インサートサイズ)であった。現在、150 kbp 近辺、180 kbp 近辺、および 200 kbp 以上のサイズの BAC ライブラリー調製法の確立を目指し種々の改良を行っている。また、グローバルスタンダードとなることが期待される本手法は、ヒトゲノム、各種病原性微生物、さらに優秀な種和牛のゲノム解析用のライブラリー調製に適用する計画である。

本 BAC ライブラリーより、シーケンス情報より得た、生合成遺伝子クラスターの両末端配列を用いて設計したプライマーを用いて、目的生合成遺伝子クラスターを持つクローンの選抜を行った結果、38 化合物の生合成遺伝子クラスターを取得した (結果的にある一つの BAC ベクターに新規化合物の生合成遺伝子クラスターが同時に含まれていたため、総計 39 化合物の生合成遺伝子クラスターを取得している)。

## (2) 【安定生産技術の開発】

(2)-1. 異種発現システムを用いた生産実証による汎用性の検証（次世代天然化学技術研究組合、共同実施先：北里大学、理化学研究所、東北大学）

上記（1）【生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築】でクローニングした生合成遺伝子クラスターに関して、最終的に再度にシーケンス確認したクローンを用いて、放線菌ホストに導入し異種発現生産の検討を行った。本プロジェクトでは、生産性の高さ、形質転換法が精査されている SUKA (SUKA17) 株を、主放線菌ホストとして用いた。SUKA 株は、目的化合物の生合成前駆体が外来性生合成遺伝子クラスターを導入することによって生成した生合成酵素の各反応に効率良く利用されるため、内在性の代謝産物の生合成遺伝子クラスターを欠失させ、内在性代謝産物の生成を停止させていること、また親株が工業生産に使用されている菌株であるというのが大きな特徴である。この他のホストとして、世界中でホスト菌株として汎用されている *S. albus* J1074 株（制限修飾系変異株、SAL1074）、および *S. lividans* KASU-1（幾つかの内在性生合成遺伝子をノックアウトしている）を用いて、形質転換効率および生産性の比較検討を行った。

(2)-1-1. Cosmid ベクターで取得した生合成遺伝子クラスターの放線菌ホストでの異種発現生産

Cosmid ベクターで取得した生合成遺伝子クラスターに関しては、プロジェクト当初の予定通り、SUKA (SUKA17) 株を主ホストとして異種発現生産を検討した。さらに、主ホストである SUKA17 株に加えて、SUKA17 株で異種発現生産が確認出来なかった化合物については、SAL1074 および KASU-1 の二種類のホストを追加して異種発現生産を検討した。

それぞれの宿主菌株をクローニングした Cosmid クローンで形質転換し、薬剤選択性を指標にヒットクローンを選抜した。これらのクローンに関して、主に 4 種類の培地を用いて異種発現生産を確認した。本プロジェクトにおいて、Cosmid ベクターを用いて取得した 25 個の生合成遺伝子クラスターに関して異種発現生産を検討した。SUKA 株と本 Cosmid ベクターの相性は極めて良く、SUKA17 株に適用した 24 個の生合成遺伝子ク

スター全て形質転換できた。これら 24 形質転換体のうち、何ら遺伝子改変を行うことなく、化合物の異種発現生産が確認されたものは 15 化合物であった。生産性に関しては、もっとも高いもので、360 mg/L (resistomycin) と驚くべき高い生産性であった。また、これらのうち、aristeromycin および toyocamycin に関しては、それぞれ誘導体である coaristeromycin および sangivamycin を生産していた。

異種発現生産が確認されなかった化合物について、lactacystin、thiostrepton および telomestatin の 3 化合物については、生物活性的に重要な化合物であることから、遺伝子改変による異種発現生産誘導を試みた。その結果、lactacystin および thiostrepton の 2 化合物については、それぞれプロモーター交換および耐性遺伝子を導入することにより、異種発現生産誘導することが出来た。しかしながら、telomestatin に関しては、複数のプロモーター交換体などを調製したが、全く生産性は誘導されなかった。

生産性が低かった novobiocin および bottromycin に関して、培地あるいは遺伝子改変を行う事により、生産性の向上を誘導することに成功した。Novobiocin は、植物の二次代謝産物である artemisinic acid 生合成遺伝子の一つである P450 遺伝子 CYP71AV1 の導入により、20 倍以上の力価向上が観察された。また、bottromycin については、培地改変により、1.5 mg/L から 10.5 mg/L へ生産性向上が観察され、さらに生合成遺伝子クラスターの最小化により、40 mg/L という高生産性を誘導した。Bottromycin に関しては、特異な抗菌スペクトルを持つが、極めて生産性が低い (100~400 µg/L) ことから世界中で生合成研究が行われており、本プロジェクト期間中に幾つか論文が報告された。このうち、Rolf Müller 等は生合成遺伝子クラスターを同定し、異種発現生産に成功している (Chemistry & Biology, 19, 1278 - 1287 (2012))。彼らは、ホストとして *S. coelicolor* および *S. albus* (strain 名は不明) を用いているが、生産量はそれぞれ 1 µg/L および 4 µg/L と産業的応用にはほど遠い値であった。なお、これらの生産性は SUKA 株の形質転換体の 1/1000 以下である。

以上に示したように、本開発研究において取得した Cosmid クローンに関しては、25 個中 21 個と言う極めて高い成功率で目的化合物の異種発現生産が確認された (84%)。

(2)-1-2. BAC 法で取得した生合成遺伝子クラスターの放線菌ホストでの異種発現生産

BAC ベクターで取得した生合成遺伝子クラスターに関しては、プロジェクト当初ホストとして使用する予定であった SUKA17 株に加えて、reveromycin 一化合物を除き、SAL1074 および KASU-1 の二種類のホストを加えた、3 つのホストを用いて異種発現生産を検討した。

BAC ベクターを用いて取得した 39 化合物の生合成遺伝子クラスターについて、SUKA17 株に遺伝子導入した結果、18 個の化合物について形質転換体が取得出来た（形質転換体取得率 46%）。後述するが、BAC に関しては SUKA17 株への形質転換効率は、空ベクターでも著しく低く、生合成遺伝子クラスターが挿入された BAC クローンとほとんど同等の形質転換効率であった。しかしながら、形質転換体が得られたクローンに関しては、12 化合物（factumycin 生合成遺伝子クラスターが、未知生合成遺伝子クラスターを含んでおり、 $\beta$ -carboline 系化合物の異種発現生産が誘導された）が異種発現生産された（生産株取得率 67%）。また、その生産量に関しては、70%以上の化合物が 5 mg/L 以上の生産性で異種発現生産されていた。

SUKA17 株に対して、操作性が容易なことから様々な研究に使用されている *S. lividans* を親株とする KASU-1 株では、親株同様、高い形質転換効率を示し、試験した 38 個全ての化合物の生合成遺伝子クラスター形質転換体が取得された。しかしながら、それらの形質転換体について、異種発現生産を検討したところ、11 個の化合物のみ生産が誘導され、かつそれらのうちの半分は生産性が 1 mg/L 未満であり、異種発現生産用のホストとしては、それほど有望ではなかった。しかしながら、KASU-1 株のみで生産が確認された化合物として、borrelidin（抗菌、抗マラリア）、rapamycin（抗腫瘍剤、免疫抑制剤として臨床応用）および企業化合物 4（臨床開発候補化合物）のような、産業応用上、重要な化合物も含まれていること、また形質転換体の取得が容易であることから、検証ホストとしては利用価値があると考えられる（後述する、SUKA 株への遺伝子導入を媒介する菌として利用できる）。

SAL1074 に関しては、SUKA17 株および KASU-1 株の中間の性質を示した。その形

質転換体取得率は 71%であり、生産株取得率は 52%であった。生産性も 60%以上の化合物が 1 mg/L 以下であった。SAL1074 株の形質転換体取得に関しては、空ベクターの導入率よりも生合成遺伝子クラスターが入ったクローンの方の導入率の方が高いと言った、特異な現象が観察された。

以上の 3 つのホストを用いて、39 化合物について異種発現生産を検討した結果、合計 23 個の化合物について、異種発現生産が確認された (59%)。BAC ベクターを用いた巨大生合成遺伝子クラスターの異種発現生産に関しては、ほとんど報告例が無く、我々が構築したシステムと比較することは不可能であるが、一般に Cosmid ベクターを用いた生合成研究でも、遺伝子改変など行わない場合、その成功率は 10%程度と言われている。今回、我々は Cosmid クローンをを用いた異種発現生産では 84%と高い成功率を示したが、汎用されている *S. lividans* ではその成功率は約 2 割と低いものであったことから、一般的に「10%」と言われている数字は妥当なものであると考えられる。また、BAC クローンをを用いた異種発現生産では、何も遺伝子改変など行っていないことを考慮すると、極めて高い確率で異種発現生産に成功したと言っても過言では無いと考えられる。

今回の開発研究で、BAC ベクターを用いた異種発現生産は、コスミド (84%) と比較して低い結果となったが、この原因としてホストとして用いた SUKA 株への形質転換効率が低いことが原因の一つと考えられた。SUKA 株は、他の 2 つのホストと比較して BAC ベクターの形質転換効率が低い、形質転換体を得られた場合、それらの異種発現生産成功率は約 7 割と極めて高く、5 mg/L 以上の生産量が観察された割合も 75%と群を抜いて高かった (SAL1074 および KASU-1 は、それぞれ 21%および 36%)。Cosmid クローンをを用いた異種発現生産の成功率、および生産性の高さから、我々が主ホストとして用いた SUKA 株は、現在存在する最も優れた放線菌ホストと考えられる。したがって、SUKA 株への BAC クローンの形質転換効率を向上させることが、今後の産業応用を目指した、有用天然化合物異種発現生産には最も大きな課題と考えられる。

表 1. BAC クローンの形質転換効率、および異種発現生産効率

ホスト	生合成遺伝子クラスター数	形質転換体	形質転換体取得率	化合物生産株数	生産株取得率
SUKA17	39 個	18 個	46%	12 個	67%
SAL1074	38 個	27 個	71%	14 個	52%
KASU-1	38 個	38 個	100%	11 個	29%

表 2. BAC クローン形質転換体の化合物生産量

生産性	SUKA17	SAL1074	KASU-1
> 5 mg/L	9 個	3 個	4 個
1-5 mg/L	0 個	1 個	1 個
< 1 mg/L	3 個	9 個	6 個
生産化合物数	12 個	14 個	11 個

### (2)-1-3. 新規化合物生産

放線菌ゲノム中には、これまで報告例の無かった未知生合成遺伝子クラスターが存在することが知られている。BAC ベクターによって取得した、生合成遺伝子クラスター中には、目的生合成遺伝子クラスターに加え、ある一定以上の長さからなる余分な領域が含まれる。したがって、BAC クローンを用いて形質転換した宿主菌株は、未知生合成遺伝子クラスターによって生合成される化合物を生産することが期待される。本プロジェクトにおいて、異種発現生産候補化合物の一つである factumycin は、85.6 kbp からなる生合成遺伝子クラスターによって生合成される。本化合物の生合成遺伝子クラスターを BAC を用いてクローニングした結果、約 100 kbp のヒットクローンを得た。本 BAC クローンを、SUKA17 株に導入したところ、factumycin の生産は確認出来なかったが、三種類の新規化合物の生産が確認された。本化合物を単離し、構造決定を行った結果、植物二次代謝産物として知られる、 $\beta$ -calboline 系の新規化合物であることを明らかにした。

この他にも、生合成遺伝子クラスター導入により、複数の誘導体新規化合物の生産に成功し、今後の未知利用遺伝子の応用、あるいは菌体内化合物修飾への応用が現実的に可能であることを示すことができた。



(2)-2. 異種発現システムの改良による安定生産技術の開発（次世代天然化学技術研究組合、共同実施先：北里大学、理化学研究所）

前述したように、異種発現生産が認められなかった化合物、あるいは生産性の低かった幾つかの化合物に関して、常法ではあるがプロモーター交換や制御因子の導入などにより、異種発現生産の誘導および生産性向上に成功している。本技術開発では、最終化合物では無く、前駆体あるいは不活性型化合物の生産が確認された例が多く見られた。そこで、我々は耐性遺伝子の重要性に着目し、耐性遺伝子の強化を行うことにより、化合物の異種発現を誘導できると考え、耐性遺伝子の同調発現システムを導入することにより、期待通りの結果を得ることに成功している。この他にも、一つ一つの ORF の直前にプロモーターを挿入したユニットを、クラスター内に組み込む事により異種発現生産を誘導する報告があるが、我々も同様の手法により化合物の異種発現生産に成功している。

以上の様に、個々の化合物に関しては、種々の遺伝子改変を行う事により異種発現生産を誘導することが可能であると考えられるが、極めて多くの労力を要するのは否めない。本研究開発の異種発現生産の大規模検証により、当初の予想通り工業生産株の内在性生合成遺伝子クラスターを破壊した SUKA 株が、異種発現生産に最も適したホストであることを明らかにしたが、一方で、巨大生合成遺伝子クラスターが挿入された BAC クローンの SUKA 株への導入効率が低いという短所も見出した。我々は、この SUKA 株への遺伝子導入の低さを克服することにより、煩雑な遺伝子改変を行うこと無く（あるいは一つの目的化合物においては改変量を減らす）、異種発現生産の成功率を上げることが可能ではないかと考えた。

そこで、本開発研究で問題となった BAC ベクターの SUKA 株への遺伝子導入効率の低さを克服するため、種々のシステム開発を行った結果、線状プラスミドである SAP1 を用いた、遺伝子導入システムを開発した。本システムは、遺伝子導入効率の高い *S. lividans* を介して SUKA 株に遺伝子導入するものである。これにより、そのままでは SUKA 株へ導入出来なかった生合成遺伝子クラスターを SUKA 株に導入することが可能に

なり、異種発現生産への応用が期待される。

SUKA17 株において、通常の BAC 導入法では形質転換体が取得出来なかった生合成遺伝子クラスターのうち、産業上最も重要であると考えられる avemectin や FK-506 を含む数個の化合物について、SAP1 法を用いて SUKA22 形質転換株の取得を行った。その結果、10 個の化合物のうち一つの化合物を除いて、SUKA22 株での異種発現生産に成功した。

特許、論文、外部発表等の件数

特許、論文、外部発表等の件数（内訳）

区分 年度	特許出願			論文		その他外部発表		
	国内	外国	PCT※ 出願	査読 付き	その 他	学 会 発 表・講演	新聞・雑誌等 への掲載	その他
平成 23 年度	0 件	0 件	0 件	33 件	4 件	21 件	0 件	0 件
平成 24 年度	0 件	0 件	0 件	29 件	5 件	27 件	0 件	0 件

(※Patent Cooperation Treaty :特許協力条約)

#### IV. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

##### 1. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

本開発研究で得られた成果のうち技術・システムは、放線菌ゲノムの精密ドラフトシーケンス技術、BAC ベクターによる巨大ゲノム断片取得技術、放線菌ホストへの巨大遺伝子クラスター導入方法である。これらの関しては、組合員である製薬等企業で利用することが今後の普及活動になるが、既に企業サンプルに関しては幾つかの実施例を行い、事業へ展開しているものもある。また、BAC ベクターを用いた巨大ゲノムライブラリー作製に関しては、ヒトゲノム、病原菌ゲノム、および牛や豚などの優良品種ゲノム解析の一般的スタンダード（国際スタンダードも含む）として利用される可能性があると共に、受託業務へと事業展開することも視野に入れている。

本開発で得られた生合成遺伝子クラスターやそのゲノム配列に関しては、組合員で利用するとともに、高生産性が証明できた SUKA 株については、組合員の中で標準ホストとして普及させると共に、将来的にはライセンス使用料を得る形で広く普及させる。

本プロジェクトで異種発現生産を行ったある化合物について、その生合成遺伝子クラスターの SUKA22 株での強制発現によって、1 g/L の生産性を達成している。本化合物は、元の親株では当該遺伝子は休眠状態なので、いかなる培養方法によっても生産物は得られていない。この程度の生産性は、産業生産に見合う量であり、極めて近い将来実用化が期待できるものである。

さらに、これまで自然界から単離した菌株では生産が見られなかった化合物の生産誘導ができる技術、応用研究およびその後の産業利用にはほど遠い生産量であった化合物を合目的に生産および力価向上を行える技術として、製薬等企業での創薬スクリーニングに応用することにより、これまでに無い医薬品の開発を展開する。

添付資料

# 健康安心イノベーションプログラム基本計画

平成22年4月1日

産業技術環境局

製造産業局

## 1. 目的

今後、世界に類を見ない少子高齢化が進展する我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会を実現することは喫緊の課題である。具体的には、個の医療を通じて健康寿命の延伸、QOL (Quality of Life: 生活の質) の向上を図ることが求められている。

この目的を達成するため、創薬に資する基盤技術の開発、再生医療の確立、医療機器・福祉機器の開発等の手段を適切に組み合わせることによって、健康維持増進、疾患の早期診断、及び適切な治療法の提供を実現するほか、関連産業の競争力強化・ベンチャー企業の創出を図る。

## 2. 政策的位置付け

### ○新成長戦略(基本方針)(2009年12月30日)

強みを活かす成長分野として「グリーン・イノベーション」分野と「ライフ・イノベーション」分野を策定、人材育成や技術開発を後押しするほか、需要を創造すると同時に利用者の立場に立った社会ルールの変更に取り組む。また、政府は新たな分野に挑戦する人々を支援するとしている。

### ○革新的医薬品・医療機器創出のための5か年戦略(2009年2月12日改訂)

内閣府、文部科学省、厚生労働省及び経済産業省の間において革新的な医薬品・医療機器の創出に向け、研究資金の集中投入、ベンチャー企業の育成、臨床研究・治験環境の整備、アジアとの連携、薬事法における審査の迅速化・質の向上、イノベーションの適切な評価、官民対話等、研究から上市に至る過程の一貫かつ集中的な支援を実施することとしている。

### ○「ドリームBTジャパン」(2008年12月11日BT戦略推進官民会議)

2002年に策定した「バイオテクノロジー戦略大綱」以降、バイオテクノロジーをめぐる状況が変化してきたことを背景に、新産業の育成・創出、食糧問題解決、バイオマス利活用等の課題に対処すべく、イノベーション強化11項目や官民が協働で取り組むべき最重点課題を策定した。

### ○新経済成長戦略のフォローアップと改訂(2008年9月19日閣議決定)

2006年6月に経済産業省がとりまとめた「新経済成長戦略」を、資源価格の高騰等の構造変化を踏まえフォローアップと改訂を行った。「資源生産性競争」時代における経済産業構造の構築、世界市場獲得と持続的発展のためのグローバル戦略の再構築、地域・中小企業・農林水産業・サービスの未来志向の活性化を3つの柱として、「新経済成長戦略」を強化した。

○「iPS細胞研究の推進について（第一次とりまとめ）」（2008年7月3日総合科学技術会議 iPS細胞研究WG）

iPS細胞研究の成果がもたらす医療への波及効果や新しいバイオインダストリーの進展等について検討を行い、iPS細胞研究を推進するための研究推進体制、国の支援の在り方、知的財産戦略、国際化協力の在り方等を取りまとめた。

○「イノベーション25」（2007年6月閣議決定）

生涯健康な社会形成に向けて中長期的に取り組むべき課題として、治療重点の医療から予防・健康増進を重視する保健医療体系の転換、生命倫理・安全性と医療技術促進政策の調和などをとりあげ、再生医療及び在宅医療・介護に係る社会還元加速プロジェクトを実施するとともに、臨床研究・臨床への橋渡し研究をはじめとする研究開発ロードマップの提示により所要の措置を講じていくこととしている。

○がん対策推進基本計画（2007年6月閣議決定）

がん対策基本法に基づき、国、地方公共団体及び関係者等が、がん対策を総合的かつ計画的に推進するために策定された基本方針であり、取り組むべき施策の一つとして「がん研究」が取り上げられている。具体的には、現状、診断薬・診断機器の開発、治療薬・治療機器の開発等が推進されているが、さらに、有用な早期診断技術についての研究開発の推進等に取り組むことが提示されている。

○新健康フロンティア戦略（2007年4月新健康フロンティア戦略賢人会議）、同アクションプラン（2007年12月）

健康寿命の延伸や生活の質の向上を図ることを目的として策定された新健康フロンティア戦略及び新健康フロンティア戦略アクションプランの中で、「人間の活動領域の拡張に向けた取組」及び「医療・福祉技術のイノベーション」において、「先進的予防・診断・治療技術の開発」や「医薬等ベンチャー・基盤産業支援対策」等の施策が提示されている。

### 3. 達成目標

- ①医薬品開発の成功確率の向上に資する技術開発や、基礎研究から臨床への橋渡し研究等を通じた、医薬品の上市期間の短縮や開発コストの低減を図る。
- ②再生医療の早期実現を目標とし、産業化を促進する。
- ③医療機器<sup>1</sup>など先進的な技術開発等の推進による国際競争力の強化、厚生労働省との連携事業（医療機器開発ガイドラインの策定など）による開発から製品に至るまでの期間の短縮等を達成する。
- ④高齢者・障害者の自立促進や介護者の負担軽減等のため、優れた技術や創意工夫のある福祉機器の実用化支援を行う。

<sup>1</sup> 医療機器は、画像診断システムなどの「診断機器」、内視鏡下手術支援システムなどの「治療機器」、その他家庭用医療機器、歯科材料、眼科用品を含む。

#### 4. 研究開発内容

##### I. 創薬・診断

###### I-1. 革新的医薬品の創出

###### (1) 糖鎖機能活用技術開発（運営費交付金）

###### ①概要

我が国が強みを持つ糖鎖工学分野において、これまでに取得・開発した「糖鎖遺伝子ライブラリー」「糖鎖構造解析技術」「糖鎖合成技術」を活用し、癌や感染症など様々な疾病に関与する糖鎖の機能を解析する基盤技術を確立し、我が国の優位性を維持するとともに、創薬・診断等の分野における糖鎖機能の産業利用の促進を図る。

###### ②技術目標及び達成時期

2010年度までに、糖鎖や糖タンパク質などの機能を分子レベルで効率的に解明するための基盤技術、糖鎖の機能解析・検証技術、及び、有用性が認められた糖鎖機能を産業利用するための基盤技術を開発する。

###### ③研究開発期間

2006年度～2010年度

###### (2) ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発）（運営費交付金）

###### ①概要

我が国が強みとする完全長cDNAライブラリーやタンパク質相互作用解析技術等を最大限に活用し、重要なタンパク質ネットワーク解析等により創薬の対象となるタンパク質の効率的な絞り込みを行うとともに、疾患等の生物現象を制御する化合物の探索まで、一貫した技術開発を行う。

###### ②技術目標及び達成時期

2010年度までに、超高速・高感度にタンパク質の相互作用を解析する技術や疾患を制御する化合物の探索・評価技術を開発する。

###### ③研究開発期間

2006年度～2010年度

###### (3) ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発）

###### ①概要

創薬上重要な膜タンパク質は複合体を形成していることも多く、その構造解析及び相互作用の情報を取得することは創薬研究において重要であるが、その解析は非常に困難である。そこで、膜タンパク質やその複合体の構造情報を取得する新たな技術等の開発に向けて、タンパク質の立体構造及びその構造変化や膜タンパク質複合体の構造情報等の解析及び構造情報を基にした高精度なシミュレーション技術を開発する。



(健康安心イノベーションプログラム)  
「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発」基本計画

バイオテクノロジー・医療技術部

## 1. 研究開発の目的・目標・内容

### (1) 研究開発の目的

本研究開発は、遺伝子やタンパク質等の生体分子の機能・構造解析等を行うとともに、それらの研究を強力に推進するためのバイオツールやバイオインフォマティクスの開発、成果を高度に利用するためのデータベース整備や先端技術を応用した高度医療機器開発等により、個別化医療・予防医療・再生医療の実現や、画期的な新薬の開発、医療機器、福祉機器等の開発・実用化を促進することによって健康寿命を延伸し、今後、世界に類を見ない少子高齢化社会を迎える我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現を目指すことを目的とする「健康安心イノベーションプログラム」の一環として実施する。

近年、製薬企業の研究開発費は増大の一途であるものの、承認される薬剤の数は増えていない。研究開発費の増大分は、主として臨床開発費に充てられ、探索研究に回せるリソースは相対的に減少している状況にあることもその理由の一つであるが、創薬ヒット化合物の発見につながる新たなスクリーニング手法の技術革新と技術実証の不足により、新規医薬品候補化合物の探索効率が大幅に低下している可能性も指摘されている。このため、最先端の知識と分析技術を組み合わせ、創薬開発のより早い段階から適切な医薬品候補物質の取得を可能とする、標的蛋白質の立体構造をベースとした *in silico* スクリーニングや探索対象となる化合物空間の拡大など、創薬の効率化に繋がる新たな技術の開発が求められている。

こうした状況のもと欧米における創薬研究では、タンパク質の立体構造に基づいた薬剤の開発による創薬研究の効率化への取り組みが進みつつある。このため、今後の医薬品産業の国際競争力の強化に向けて、タンパク質の立体構造解析技術や計算科学による創薬候補化合物探索技術等の基盤技術の構築が重要となっている。特に市販薬剤のターゲット（作用点）として、ほぼ50%を占めている膜タンパク質は、生命現象の解明や創薬開発において重要な標的タンパク質である。また、膜タンパク質は細胞膜上における複合体形成や構造変化等により機能を発現していることから、細胞表層における膜タンパク質及びその複合体の立体構造解析技術や膜タンパク質とリガンドの相互作用解析技術、その構造情報に基づいた計算科学的解析技術を構築し、創薬ヒット候補化合物を効率よく絞り込むための基盤技術を開発することで、「タンパク質立体構造に指南された創薬戦略 (SGDD: Structure Guided Drug Development)」を実現し、創薬研究を効率化することが重要である。

他方、創薬ヒット化合物の探索については、近年、製薬企業を中心に、コンビナトリアルケミストリーによる化合物合成とそのライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングが盛んに行われたが、必ずしも期待された成果が出ておらず、豊富な生物活性と大きなケミカルスペースを持った天然化合物が再注目されている。微生物は、天然化合物のリソースとして最も有望なものの一つであるが、培養抽出物として安定的かつ大量に取得できないなど、そのままではスクリーニングの効率化に様々な問題点がある。そこで、これまでに無い新しい骨格を持った化合物

も含め、微生物の持つ天然化合物の生合成遺伝子を取り出して別の宿主菌株で発現させるなど、目的とする天然化合物を安定的かつ効率よく発現させる手法を開発することが重要である。

本プロジェクトは、ポストゲノム研究の産業利用が期待される「ゲノム創薬」を加速するため、以下の2つの技術開発を実施する。

#### 〈1〉 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発

我が国の強みである世界最高レベルの膜タンパク質構造解析技術、タンパク質間相互作用解析技術、高度な計算科学技術等の研究ポテンシャルを最大限活用し、膜タンパク質及びその複合体の細胞表層上における立体構造解析、相互作用解析、計算科学を用いた創薬候補化合物の効率的な探索と更に実用性の高いリード化合物への展開等の創薬基盤技術の開発を行う。

#### 〈2〉 有用天然化合物の安定的な生産技術開発

我が国の強みとする微生物ライブラリーや、天然物化学に対する知識基盤等を最大限に活用し、創薬リード化合物候補となりうる広いケミカルスペースを持った天然化合物を生産する生合成遺伝子とそれを応用した化合物生産を効率的に行う技術開発により、安定生産技術としての汎用性を見極める。

これにより、構造情報を基にした新しい観点からの画期的な新薬の創出、さらには膜タンパク質及びその複合体の機能、機構を説明する新しい概念の構築、天然物化学情報基盤の強化等により、ゲノム情報を活用した創薬技術の高度化による我が国バイオ産業の競争力強化、新産業の創出・育成を通じて、国際的優位性を確保することが期待できる他、個別化医療への応用とともに、健康維持・増進などを含めた幅広い分野への展開が期待できる。

### (2) 研究開発の目標

#### 〈1〉 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発

標的とするタンパク質の「立体構造に指南された創薬戦略 (SGDD: Structure Guided Drug Development)」を実現し、創薬研究を効率化する基盤技術を確立する。

#### 〈2〉 有用天然化合物の安定的な生産技術の開発

放線菌を対象に、新規の医薬品開発につながる有望な天然化合物の合成に必要な生合成遺伝子クラスターを体系的に取得し、安定生産に適した宿主放線菌、導入ユニットの構築及び導入技術を確立する。

### (3) 研究開発内容

上記目標を達成するために、以下の研究開発項目について、別紙の研究開発計画に基づき研究開発を実施する。

#### 〈1〉 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発 (平成20年度～平成24年度)

- ① 電子線等による膜タンパク質及びその複合体の構造解析技術
- ② 核磁気共鳴法等による膜タンパク質及びその複合体とリガンド分子の相互作用解析技術
- ③ 高精度 *in silico* スクリーニング等のシミュレーション技術

各項目は相互に連携し、GPCR (Gタンパク質共役受容体) など創薬ターゲットとして重要な共通膜タンパク質に対して、①で構造データを、②で相互作用・機能データを取得し、③の動的特性、ドッキング解析に反映させるとともに、③で得られた結果を①、②にフィードバックしながら効率的なリード化合物スクリーニング手法に展開し、具体的な創薬実証研究に応用していく。

#### 〈2〉 有用天然化合物の安定的な生産技術開発 (平成23年度～平成24年度)

## 2. 研究開発の実施方式

### (1) 研究開発の実施体制

- ① 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発は、経済産業省により、企業、民間研究機関、独立行政法人、大学等（委託先から再委託された研究開発実施者を含む）から公募によって研究開発実施者が決定され、共同研究契約等を締結する研究体が構築され、平成19年度より委託して実施されている。平成20年度より、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（以下「NEDO」という。）が本事業を運営・管理するに当たっては、外部有識者から構成される技術評価委員会等を設置し、平成19年度の進捗状況を踏まえた事業内容・計画及び実施体制の妥当性についての審議に基づいた評価を行った上で委託して実施する。
- ② 本研究開発では、「電子線等による膜タンパク質及びその複合体の構造解析技術」、「核磁気共鳴法等による膜タンパク質及びその複合体とリガンド分子の相互作用解析技術」、「高精度in silico スクリーニング等のシミュレーション技術」を連携させながら一体的に進めることが必要であり、適切な実施体制を構築する。
- ③ 共同研究に参加する各研究開発グループの有する研究ポテンシャルの最大限の活用により効率的な研究開発の推進を図る観点から、NEDOが指名する研究開発責任者（プロジェクトリーダー）を研究開発項目毎に設置し、その下で効果的な研究開発を実施する。研究開発項目①「創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発」については、国立大学法人名古屋大学細胞生理学研究所教授 兼 京都大学大学院理学研究科 兼 独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター タンパク質構造解析チーム招聘研究員 藤吉好則氏を研究開発責任者とする。研究開発項目②「有用天然化合物の安定的な生産技術開発」については、独立行政法人産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター 新家一男氏を研究開発責任者とする。

### (2) 研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有する NEDO は、経済産業省及びプロジェクトリーダーと密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、必要に応じて、NEDO に設置する委員会及び技術検討会等、外部有識者の意見を運営管理に反映させる他、四半期に一回程度プロジェクトリーダー等を通じて研究開発の進捗について報告を受けること等を行う。

## 3. 研究開発の実施期間

本研究開発の実施期間は、平成20年度から平成24年度までの5年間とする。

本研究開発は平成19年度に経済産業省が実施した「創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発」事業について、平成20年度より NEDO の事業として実施するものである。

## 4. 評価に関する事項

NEDO は、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義並びに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の中間評価を平成21年度、事後評価を平成25年度に実施する。また、中間評価結果を踏まえ必要に応じプロジェクトの加速・縮小・中止等見直しを迅速に行う。なお、評価の時期については、当該研究開発に係る技術動向、政策動向や当該研究開発の進捗状況等に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

## 5. その他重要事項

### (1) 研究開発成果の取り扱い

#### ① 共通基盤技術の形成に資する成果の普及

得られた研究開発成果のうち、下記共通基盤技術に係る研究開発成果については、NEDO、実施者とも普及に努めるものとする。

- a) 膜タンパク質の発現・精製、結晶化技術と極低温高分解能電子顕微鏡の高速化と精密化、及びそれらを駆使したタンパク質構造解析とそのデータベースなど、本技術開発を通じて得られる有用な情報。
- b) 膜タンパク質複合体における分子間相互作用解析法のノウハウ、本技術開発を通じて得られる有用な情報。
- c) 化合物データベース、in silicoスクリーニング用計算プログラム等、本技術開発を通じて得られる有用な情報。
- d) 有望な天然化合物の合成に必要な生合成遺伝子クラスターのライブラリーとそのデータベース、ホスト放線菌とユニット遺伝子導入技術、発現させた天然化合物。

#### ② 知的基盤整備事業又は標準化等との連携

得られた研究開発の成果については、知的基盤整備事業又は標準化等との連携を図るため、データベースへのデータ提供、標準情報（TR）制度への提案等を積極的に行う。

#### ③ 知的財産権の帰属

委託研究開発の成果に関わる知的財産権については「独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第26条の規定等に基づき、原則として、すべて受託先に帰属させることとする。

#### ④ 成果の産業化

- a) 受託者は、本研究開発から得られる研究開発成果の産業面での着実な活用を図るため、本研究開発の終了後に実施すべき取り組みのあり方や研究開発成果の産業面での活用のビジネスモデルを立案するとともに、立案した取り組みのあり方とビジネスモデルについて、研究開発の進捗等を考慮して、研究開発期間中に必要な見直しを行う。
- b) 受託者は、上記a)で立案した取り組みとビジネスモデルを本研究開発終了後、実行に移し、成果の産業面での活用に努めるものとする。

### (2) 基本計画の変更

NEDOは、研究開発内容の妥当性を確保するため、社会・経済状況、国内外の研究開発動向、政策動向、プログラム基本計画の変更、第三者の視点からの評価結果、研究開発費の確保状況、当該研究開発の進捗状況等を総合的に勘案し、達成目標、実施期間、研究開発体制等、基本計画の見直しを弾力的に行うものとする。

### (3) 根拠法

本研究開発は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1項第2号に基づき実施する。

### (4) 関連指針の厳守

当該プロジェクトの実施にあたっては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（平成13年度文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）等、研究開発関連の指針を厳守しなけ

ればならない。また、本研究開発成果の事業化においては、「経済産業分野のうち個人情報を用いた事業分野における個人情報保護ガイドライン」（平成16・12・24製局第1号）を厳守しなければならぬ。

#### 6. 基本計画の改訂履歴

- (1) 平成20年3月、制定。
- (2) 平成22年3月、中間評価で高い評価を受け、最終目標達成のため期間延長を行う事により、改訂。
- (3) 平成23年2月、新規技術開発の追加による研究開発項目の整理に伴い改訂。
- (4) 平成23年8月、研究開発項目<2>の研究開発責任者の決定により改訂。
- (5) 平成24年4月、研究開発責任者の異動に伴う所属先の変更により改訂。

## 研究開発項目<2> 「有用天然化合物の安定的な生産技術開発」

### 1. 研究開発の必要性

近年、製薬企業を中心に、コンビナトリアルケミストリーによる化合物合成とそれらのライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングが盛んに行われたが、必ずしも期待された成果が出ていない。目的とする高い活性を持った化合物群へのニーズは現在でも極めて大きく、豊富な生物活性と大きなケミカルスペースを持った天然化合物が再注目されている。微生物は、天然化合物のリソースとして最も有望なものの一つであるが、培養抽出物として安定的かつ大量に取得できないなど、そのままではスクリーニングの効率化に様々な問題点がある。

放線菌には、実際の化合物として単離されていない多くの生合成遺伝子が存在する。これまで、放線菌の物質生産能を向上させる技術として、培養法の改良や菌株の変異などが行われてきたが、全ゲノムシーケンスが完了し代謝産物が精査された放線菌株でも、生合成遺伝子数から推定される化合物数は約2割程度しか単離されておらず、多くの未利用生合成遺伝子が存在する。

そこで、このような未利用遺伝子を同種・異種宿主菌株により強制的に発現させる手法を開発すれば、これまでに無い新しい骨格を持った化合物の生産も可能となる。また、天然化合物の中には生産が安定しないものも多くあるため、生産が不安定な生産菌より生合成遺伝子を取り出し宿主菌株で発現させることにより、安定的な化合物の供給も可能となる。

### 2. 具体的な研究開発内容

#### (1) 生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築

放線菌が生産する広範な天然化合物リソースから、大きく複数に分類される化合物群の代表的な化合物を選抜するとともに、製薬企業が興味を持つ構造及び活性がユニークな天然物由来の化合物候補を選抜し、これらの天然化合物の生合成遺伝子クラスターの情報を取得する。

この情報を基に、生合成遺伝子クラスターのライブラリーを作製する。また、これらの生合成遺伝子クラスターの正確なシーケンス情報を解読すると共に、化合物と生合成遺伝子を対応づけるデータベースを構築し、類縁化合物の生合成遺伝子を探索するツールの開発につなげる。

#### (2) 安定生産技術の開発

天然物を生産する別の宿主放線菌株を用いて、これら多種多様な天然化合物の生合成遺伝子クラスターを導入し、実際のスクリーニングに適用可能な生産性を目標に生産させる技術を開発する。安定的な生産が可能な天然物と困難なものを体系的に整理し、生産が困難なものについてはその原因を解明し、生産の改善に取り組むことにより、安定生産技術としての汎用性を見極める。

### 3. 達成目標

#### ① 最終目標（平成24年度末）

有用天然物の合成に必要な40個程度の生合成遺伝子クラスターを取得し、その生産物を対応づけたデータベースを構築する。これら40個程度の生合成遺伝子クラスター全てについて、化合物生産株となる別の宿主放線菌へ導入し、目的の天然物を5 mg/L レベルで安定的に生産する技術を開発する。さらにこれら40個程度について、安定的な生産が可能な天然物と困難なものを体系的に整理し、生産が困難なものについてはその原因を解明し、生産の改善を図る。

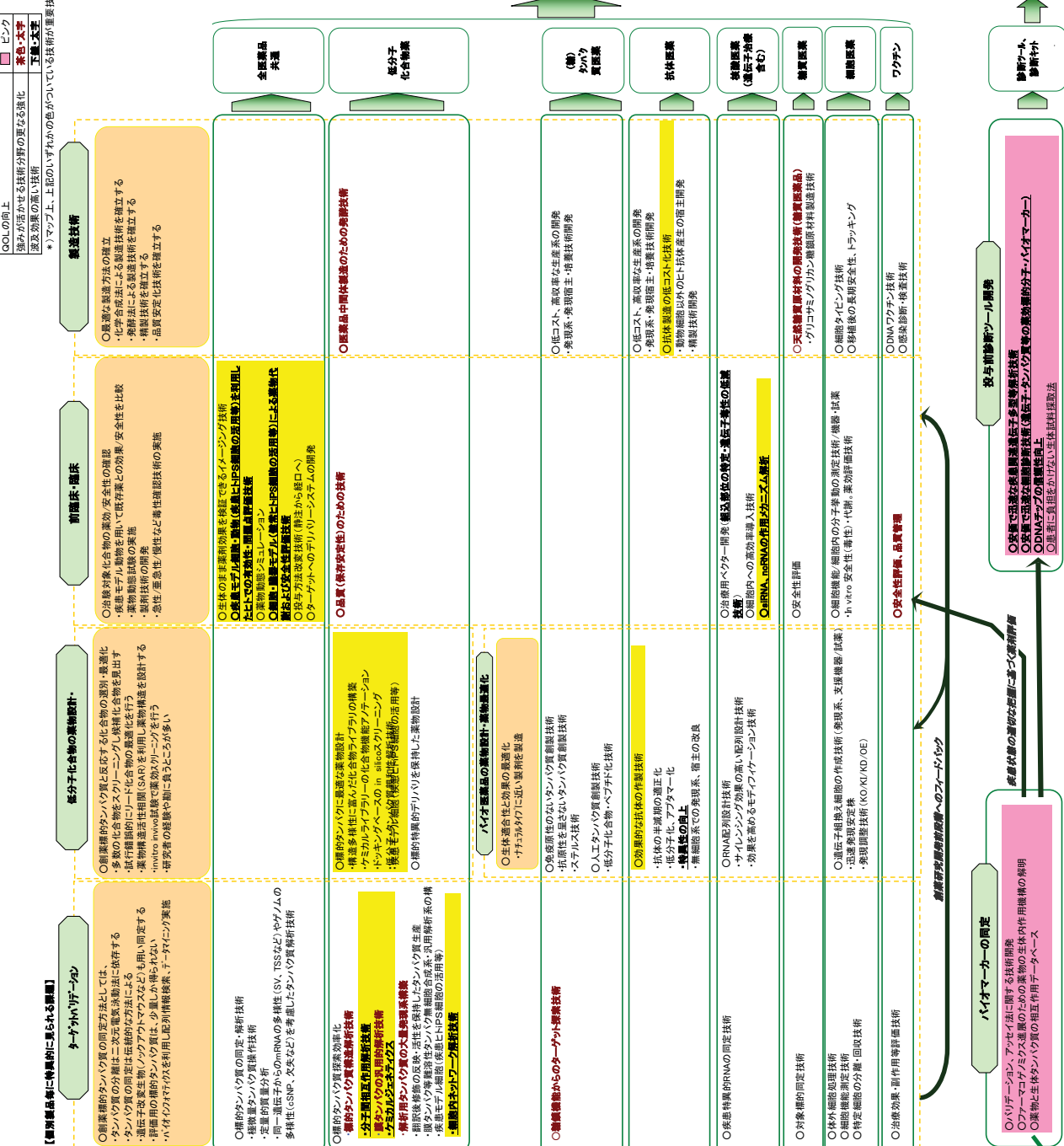
# 創薬・診断分野の技術マップと重要技術(1/2)

重要技術の抽出項目		凡例
画期的な医薬品・診断技術の開発	画期的な医薬品・診断技術の開発	水色
医薬品開発の効率化	医薬品開発の効率化	黄色
GOLの向上	GOLの向上	ピンク
強みが活かせる技術分野の異なる強化	強みが活かせる技術分野の異なる強化	茶色・赤字
選及効果の高い技術	選及効果の高い技術	下線・太字

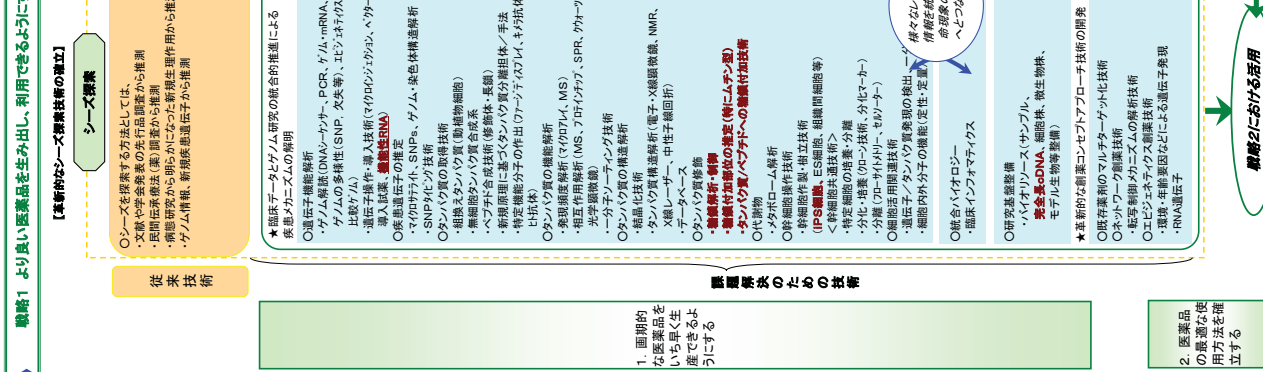
\*) マップ上、上記のいずれかの色がついている技術が重要技術

## 個の医療・健康安心社会の実現(個人に合わせた優れた治療法の提供・予防)・産業競争力の強化

・画期的な医薬品・診断技術の開発  
・薬剤開発の効率化  
・強みが活かせる技術分野の異なる強化  
・選及効果の高い技術



## 創薬・診断分野の技術マップと重要技術(2/2)



## 創薬・診断分野の技術マップと重要技術(2/2)

健康で長生き  
健康になつたとしても早く健康に戻りたい

## 事前評価書

※本事前評価書は、平成23年度から新規に追加して実施する「有用天然化合物の安定的な生産技術開発」について作成したものである。

作成日	平成23年1月17日
-----	------------

1. 事業名称 (コード番号)	ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発 (P08005、P1100*)
2. 推進部署名	バイオテクノロジー・医療技術部
3. 事業概要	<p>(1) 概要：創薬開発のより早い段階から適切な医薬品候補物質の取得を可能とする、標的蛋白質の立体構造をベースとした <i>in silico</i> スクリーニングや、探索対象となる化合物空間の拡大など、創薬の効率化に繋がる新たな創薬基盤技術の開発を目標に、以下の研究開発を実施する。</p> <p>①創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発 ②有用天然化合物の安定的な生産技術開発</p> <p>(2) 事業規模：平成23年度事業費 14億円（予定） （うち新規追加部分に関する事業費は3億円（予定））</p> <p>(3) 事業期間：平成20年度～24年度（5年間）</p>
4. 評価の検討状況	<p>(1) 事業の位置付け・必要性</p> <p>① 事業の位置付け</p> <p>本事業は、健康寿命を延伸し、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現を目指す「健康安心イノベーションプログラム」の一環として実施するものであり、ポストゲノム研究の産業利用が期待される「ゲノム創薬」を加速し、創薬効率の向上に資する創薬基盤技術の構築を目的とするものである。</p> <p>これまで、創薬標的として重要な膜タンパク質及びその複合体の細胞表層上における立体構造解析及び相互作用解析技術の開発及び得られる構造・機能情報と計算科学を組み合わせることによって創薬候補化合物の効率的な探索と、更に実用性の高いリード化合物への展開等の創薬基盤技術の開発を実施してきたところである。一方、創薬ヒット化合物の探索については必ずしも期待された成果が出ておらず、豊富な生物活性と大きなケミカルスペースを持った天然化合物が再注目されている。</p> <p>このため、基本計画を改訂し、新規の医薬品開発につながる有望な天然化合物の安定生産に必要な技術の開発に、平成23年度から新規に着手すべく研究開発項目の整理・追加を行い、ゲノム創薬を加速する創薬基盤技術構築の一層の充実を図るべく実施するものである。</p> <p>② 必要性</p> <p>近年、製薬企業の研究開発費は増大の一途であるものの、承認される薬剤の数は増えていない。研究開発費の増大分は、主として臨床開発費に充てられ、探索研究に回せるリソースは相対的に減少している状況にあることもその理由の一つであるが、創薬ヒット化合物の発見につながる新たなスクリーニング手法の技術革新と技術実証の不足により、新規医薬品候補化合物の探索効率が大幅に低下している可能性も指摘されている。製薬産業にとって最も重要な医薬品のもととなるリード化合物を効率的に取得する技術が極めて重要であり、ニーズも高い。このため、最先端の知識と分析技術を組み合わせ、創薬開発のより早い段階から適切な医薬品候補物質の取得を可能とする、標的蛋白質の立体構造をベースとした <i>in silico</i> スクリーニング技術の構築を平成20年度から行ってきたところである。</p>



一方で、創薬ヒット化合物の探索については、コンビナトリアルケミストリーによる化合物合成とそのライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングが盛んに行われたが、必ずしも期待された成果が出ておらず、豊富な生物活性と大きなケミカルスペースを持った天然化合物が再注目されている。しかし、微生物は、天然化合物のリソースとして最も有望なものの一つであるが、培養抽出物として安定的かつ大量に取得できないなど、そのままではスクリーニングの効率化に様々な問題点がある。そこで、これまでに無い新しい骨格を持った化合物も含め、微生物の持つ天然化合物の生合成遺伝子を取り出して別の宿主菌株で発現させるなど、目的とする天然化合物を安定的かつ効率よく発現させる手法を開発することが重要である。

このため、創薬効率をより一層向上させるためには、これまで行ってきた構造ベースの創薬技術に加え、創薬リード化合物候補となりうる広いケミカルスペースを持った天然化合物を生産する技術の開発により、化合物空間の拡大を可能とする技術の開発は極めて重要である。基礎研究の進展により幾つかの生産実例が報告されていること、生産菌を含む3つの放線菌のゲノム解析の完了により比較ゲノム解析のアプローチが可能となったこと、次世代シーケンス技術の進展などを背景とし、技術の汎用性を見極めることが可能な状況に至っており、本タイミングで開発計画に追加して実施する必要性は高く、妥当である。

## (2) 研究開発目標の妥当性

基本計画を改定し、新たな研究開発項目として追加し、平成 23 年度から 2 年計画で実施する研究開発項目②「有用天然化合物の安定的な生産技術開発」に関する研究開発目標は次のとおり。

### (目標)

有用天然物の合成に必要な 40 個程度の生合成遺伝子クラスターを取得し、その生産物に対応づけたデータベースを構築する。これら 40 個程度の生合成遺伝子クラスター全てについて、化合物生産株となる別の宿主放線菌へ導入し、目的の天然物を 5mg/L レベルで安定的に生産する技術を開発する。さらに、これら 40 個程度について、安定的な生産が可能な天然物と困難なものを体系的に整理し、生産が困難なものについてはその原因を解明し、生産の改善を図る。

### (妥当性)

- ・対象を放線菌に絞り、短期間で集中的に開発を行い、有用天然物の安定的生産技術としての見極めを付ける目的で数値化した目標値である。また、当該技術を用いる創薬フェーズを明確とし、機能保持細胞株を用いた初期のスクリーニングで用いる上で十分と想定される生産量を数値目標として設定したものであり、その達成には大きな開発要素があるため目標として妥当である。
- ・なお、数値目標として 40 個程度は開発期間・規模に鑑みて妥当であると考えますが、具体的な開発ターゲットの選定が肝要であることから、公募の際に提案者に明示させるとともに、研究開発マネジメントの中で技術の見極めに最適な対象を選定し、具体化する計画である。

なお、従来の研究開発項目を継承する研究開発項目①「創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発」については、当初設定のとおり研究開発目標により継続して実施する。

### (3) 研究開発マネジメント

公募を通じて、高い技術を有する民間企業や大学等の研究機関を組み合わせた最適な研究開発体制を構築する。

経済産業省及び研究開発実施者と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、必要に応じて設置される技術検討会等における外部有識者の意見を運営管理に反映させる他、四半期に一回程度プロジェクトリーダー等を通じてプロジェクトの進捗に関する報告や研究現場訪問等により、進捗状況の適切な把握と問題の早期発見・是正により、適切な運営管理を実現する。

開発期間中に得られた成果は積極的に知的財産権として確保する他、「NEDOプロジェクトにおける知財マネジメント基本方針」に従って、適切に管理する。

### (4) 研究開発成果

構造情報を基にした新しい観点からの画期的な新薬の創出、さらには膜タンパク質及びその複合体の機能・機構を説明する新しい概念の構築、天然物化学情報基盤の強化等により、ゲノム情報を活用した創薬技術の高度化による我が国バイオ産業の競争力強化、新産業の創出・育成を通じて、国際的優位性を確保することが期待できる他、個別化医療への応用とともに、健康維持・増進などを含めた幅広い分野への展開が期待できる。

### (5) 実用化・事業化の見通し

- ① 膜タンパク質及びその複合体の細胞表層上における立体構造・相互作用解析技術、計算科学を用いた創薬候補化合物の効率的な探索および更に実用性の高いリード化合物への展開を可能とする*in silico*技術など、創薬基盤技術の提供。
- ② 有望な天然化合物の合成に必要な生合成遺伝子クラスターのライブラリーとそのデータベース、ホスト放線菌とユニット遺伝子導入技術、発現させた天然化合物の提供。

これら研究開発成果を活用することによって、創薬研究のより早い段階において開発候補薬の効率的で的確な絞り込みが実現し、創薬研究の短縮や研究開発費の削減、さらにはより安全な医薬品の開発の促進が期待される。

### (6) その他特記事項

特になし。

## 5. 総合評価

近年の製薬企業の研究開発費増大に承認薬剤数が伴わない問題を解決するために必要な基盤技術の開発を行うものである。我が国が強みとする微生物ライブラリーや、天然物化学に対する知識基盤を最大限に活用し、オリジナリティーの高い創薬リード化合物候補となりうる広いケミカルスペースを確保することは極めて重要である。

基礎研究の進展や次世代シーケンサーに代表される解析技術の進歩を取り込み、従来の職人芸とも言える育種による有用物質生産から、ゲノム情報をベースに生合成遺伝子資源としてライブラリー化することによって安定的な資源化を目指す点、また、整備されたライブラリーの有効な活用を可能とする汎用生産系の構築は極めてチャレンジングである。基礎研究の進展、生産菌を含む3つの放線菌のゲノム解析の完了により比較ゲノム解析のアプローチが可能となったこと、次世代シーケンス技術の進展などを背景とし、有用天然物の安定的生産技術として成立するかどうかを見極める上でタイムリーな取り組みである。

また、民間企業単独で開発することは極めて困難であり、異なる事業体の連携推進というNEDOの保有する機能が貢献できる内容であるため、基本計画の変更により新たな開発項目を追加し、NEDOが実施する事業として適切であると判断する。

特許、論文、外部発表等の件数

特許、論文、外部発表等の件数（内訳）

区分 年度	特許出願			論文		その他外部発表		
	国内	外国	PCT※ 出願	査読 付き	その 他	学 会 発 表・講演	新聞・雑誌等 への掲載	その他
平成 23 年度	0 件	0 件	0 件	33 件	4 件	21 件	0 件	0 件
平成 24 年度	0 件	0 件	0 件	29 件	5 件	27 件	0 件	0 件

(※Patent Cooperation Treaty :特許協力条約)

【特許】

なし

【論文】(査読つき)

平成 23 年度

1. J. Ueda, M. Izumikawa, A. Mukai, A. Nagai, J.-H. Hwang, M. Takagi and K. Shin-ya. New angucycline C-glycosides from *Streptomyces* sp. RI33. *J. Antibiot.*, **64**, 367-372 (2011).
2. S. Fuse, K. Okada, Y. Iijima, A. Munakata, K. Machida, T. Takahashi, M. Takagi, K. Shin-ya and T. Doi. Total synthesis of spiruchostatin B aided by an automated synthesizer. *Org. Biomol. Chem.*, **9**, 3825-3833 (2011).
3. J. Ueda, M. Izumikawa, I. Kozono, H. Yamamura, M. Hayakawa, M. Takagi and K. Shin-ya. A phenylacetylated peptide, JBIR-96, isolated from *Streptomyces* sp. RI051-SDHV6. *J. Nat. Prod.*, **74**, 1344-1347 (2011).
4. K. Motohashi, K. Inaba, S. Fuse, T. Doi, M. Izumikawa, S. Tabrez Khan, M. Takagi, T. Takahashi and K. Shin-ya. JBIR-56 and JBIR-57, 2(1*H*)-pyrazinones from a marine sponge-derived *Streptomyces* sp. SpD081030SC-03. *J. Nat. Prod.*, **74**, 1630-1635 (2011).
5. M. Takagi and K. Shin-ya. New species of actinomycetes do not always produce new compounds with high frequency. *J. Antibiot.*, **64**, 699-701 (2011).
6. M. Izumikawa, M. Takagi and K. Shin-ya. Isolation of a novel macrocyclic dilactone - JBIR-101 - from *Promicromonospora* sp. RL26. *J. Antibiot.*, **64**, 689-691 (2011).
7. T. Kawahara, M. Takagi and K. Shin-ya. JBIR-124: a novel antioxidative agent from a marine sponge-derived fungus *Penicillium citrinum* SpI080624G1f01. *J. Antibiot.*, **65**, 45-47 (2012).
8. M. Izumikawa, T. Hosoya, M. Takagi and K. Shin-ya. A new cyclizidine analog—JBIR-102—from *Saccharopolyspora* sp. RL78 isolated from mangrove soil. *J. Antibiot.*, **65**, 41-43 (2011).
9. M. Izumikawa, R. Satou, K. Motohashi, A. Nagai, Y. Ohnishi, M. Takagi and K. Shin-ya. Naphthoquinone-like polyketide isolated from *Streptomyces* sp. RI-77 and its predicted biosynthetic pathway. *J. Nat. Prod.*, **74**, 2588-2591 (2011).

10. S. Tabrez Khan, M. Takagi and K. Shin-ya. Actinobacteria associated with the marine sponges *Cinachyra* sp., *Petrosia* sp., and *Ulosa* sp. and their culturability. *Microbes Environ.*, **27**, 99-104 (2012).
11. T. Kawahara, M. Izumikawa, M. Ootoguro, H. Yamamura, M. Hayakawa, M. Takagi and K. Shin-ya. JBIR-94 and JBIR-125, antioxidative phenolic compounds from *Streptomyces* sp. R56-07. *J. Nat. Prod.*, **75**, 107-110 (2012).
12. D. E. Cane, H. Ikeda. Exploration and Mining of the Bacterial Terpenome. *Accounts of Chemical Research*, **515**, 123-162 (2012).
13. M. Uchida, S. Takamatsu, S. Arima, K. T. Miyamoto, S. Kitani, T. Nihira, H. Ikeda and T. Nagamitsu. Total synthesis and absolute configuration of avenolide, extracellular factor in *Streptomyces avermitilis*. *J. Antibiot.* **64**, 781-787 (2011).
14. S. Kitani, K. T. Miyamoto, S. Takamatsu, E. Herawati, H. Iguchi, K. Nishitomi, M. Uchida, T. Nagamitsu, S. Omura, H. Ikeda and T. Nihira. Avenolide, a *Streptomyces* hormone controlling antibiotic production in *Streptomyces avermitilis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 16410-16415 (2011).
15. Chu, W.K.W. Ikeda, H. Cane, D.E. Cloning and characterization of Pfl\_1841, a 2-methylenebornane synthase in *Pseudomonas fluorescens* PfO-1. *Tetrahedron*, **67**, 6627-6632 (2011).
16. S. Takahashi, A. Toyoda, Y. Sekiyama, H. Takagi, T. Nogawa, M. Uramoto, R. Suzuki, H. Koshino, T. Kumano, S. Panthee, T. Dairi, J. Ishikawa, H. Ikeda, Y. Sakaki and H. Osada. Reveromycin A biosynthesis uses RevG and RevJ for stereospecific spiroacetal formation. *Nat. Chem. Biol.*, **7**, 461-468 (2011).
17. T. K. Miyamoto, S. Kitani, M. Komatsu, H. Ikeda and T. Nihira. The autoregulator-receptor homologue AvaR3 plays a regulatory role in antibiotic production, mycelial aggregation and colony development of *Streptomyces avermitilis*. *Microbiology*, **157**, 2266-2275 (2011).
18. M-J. Seo, D. Zhu, S. Endo, H. Ikeda and D. E. Cane. Genome mining in *Streptomyces*. Elucidation of the role of Baeyer-Villiger monooxygenases and non-heme iron-dependent dehydrogenase/oxygenases in the final steps of the biosynthesis of pentalenolactone and neopentalenolactone. *Biochemistry*, **50**, 1739-1754 (2011).

19. D. Zhu, M.-J. Seo, H. Ikeda and D. E. Cane. Genome mining in *Streptomyces*. Discovery of an unprecedented P450-catalyzed oxidative rearrangement that is the final step in the biosynthesis of pentalenolactone. *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 2128-2131 (2011).
20. S. Takamatsu, X. Lin, A. Nara, M. Komatsu, D. E. Cane and H. Ikeda. Characterization of a silent sesquiterpenoid biosynthetic pathway in *Streptomyces avermitilis* controlling *epi*-isozizaene and albaflavenone biosynthesis and isolation of a new oxidized *epi*-isozizaene metabolite. *Microb. Biotechnol.*, **4**, 184-191 (2011).
21. S. Giglio, W.K.W. Chou, H. Ikeda and D. E. Cane. Monis, T. Biosynthesis of 2-methylisoborneol in *Cyanobacteria*. *Environ. Sci. Technol.*, **45**, 992-998 (2011).
22. Takamatsu, S. Xu, L-H. Fushinobu, S. Shoun, H. Komatsu, M. Cane, D.E. Ikeda, H. Pentalenic acid is a shunt metabolite in the biosynthesis of the pentalenolactone family of metabolites: Hydroxylation of 1-deoxypentalenic acid mediated by CYP105D7 (SAV\_7469) of *Streptomyces avermitilis*. *J. Antibiot.*, **64**, 65-71 (2011).
23. N. Kato, H. Suzuki, H. Takagi, M. Uramoto, S. Takahashi and H. Osada. Gene disruption and biochemical characterization of verruculogen synthase of *Aspergillus fumigates*. *Chembiochem*, **12**, 711-714 (2011).
24. N. Kato, M. Tokuoka, Y. Shinohara, M. Kawatani, M. Uramoto, Y. Seshime, I. Fujii, K. Kitamoto, T. Takahashi, S. Takahashi, Y. Koyama and H. Osada. Genetic safeguard against mycotoxin cyclopiazonic acid production in *Aspergillus oryzae*. *Chembiochem*, **12**, 1376-1382 (2011).
25. H. Suzuki, S. Takahashi, H. Osada and K. Yoshida. Improvement of transformation efficiency by strategic circumvention of restriction barriers in *Streptomyces griseus*. *J. Microbiol. Biotechnol.*, **21**, 675-678 (2011).
26. S. Panthee, S. Takahashi, H. Takagi, T. Nogawa, E. Oowada, M. Uramoto and H. Osada. Furaquinocins I and J: Novel polyketide isoprenoid hybrid compounds from *Streptomyces reveromyceticus* SN-593. *J. Antibiot.*, **64**, 509-513 (2011).
27. H. Takayama, S. Takahashi, H. Osada, Y. Iwabuchi and N. Kanoh. Detection of cytochrome P450 substrates using small-molecule droplet array on NADH-immobilized solid surface. *Chembiochem*. **12(18)**, 2748-2752 (2011).
28. T. Nogawa, S. Takahashi, A. Okano, M. Kawatani, M. Uramoto, T. Saito and H. Osada. Spirotoamides A and B, novel 6,6-spiroacetal polyketides isolated from a microbial

metabolite fraction library. *J. Antibiot.*, DOI: 10.1038/ja.2011.121. (2011).

29. T. Doi, T. Muraoka, T. Ohshiro, D. Matsuda, M. Yoshida, T. Takahashi, S. Omura, and H. Tomoda, Conformationally Restricted Analog and Biotin-Labeled Probe Based on Beauveriolide III, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **22**(1), 696–699 (2012).
30. M. Yoshida, Y. Fujino, K. Saito, and T. Doi, Regioselective Synthesis of Flavone Derivatives via DMAP-catalyzed Cyclization of *o*-Alkynoylphenols, *Tetrahedron*, **67**, 9993–9997 (2011).
31. M. Yoshida, Y. Fujino, and T. Doi, Synthesis of  $\gamma$ -Benzopyranone by TfOH-Promoted Regioselective Cyclization of *o*-Alkynoylphenols, *Org. Lett.*, **13**, 4526–4529 (2011).
32. T. Doi, Y. Numajiri, T. Takahashi, M. Takagi, and K. Shin-ya, Solid-phase Total Synthesis of (–)-Apratoxin A and Its Analogues and Their Biological Evaluation, *Chem. Asian J.*, **6**, 180–188 (2011).
33. T. Doi, K. Shibata, M. Yoshida, M. Takagi, M. Tera, K. Nagasawa, K. Shin-ya, and T. Takahashi, (*S*)-Stereoisomer of Telomestatin as a Potent G-quadruplex Binder and Telomerase Inhibitor, *Org. Biomol. Chem.*, **9**, 387–393 (2011).

#### 平成 24 年度

34. T. Kawahara, M. Takagi, and K. Shin-ya. Three new depsipeptides, JBIR-113, JBIR-114 and JBIR-115, isolated from a marine sponge-derived *Penicillium* sp. fS36. *J. Antibiot.*, **65**, 147-150 (2012).
35. T. Hosoya, T. Hirokawa, M. Takagi, and K. Shin-ya. Trichostatin analogs JBIR-109, JBIR-110, and JBIR-111 from the marine sponge-derived *Streptomyces* sp. RM72. *J. Nat. Prod.*, **75**, 285-289 (2012).
36. M. Izumikawa, M. Takagi, and K. Shin-ya. JBIR-78 and JBIR-95: Phenylacetylated peptides isolated from *Kibdelosporangium* sp. AK-AA56. *J. Nat. Prod.*, **75** (2), 280-284 (2012).
37. M. Takagi, Jun-ya Ueda, Ji-Hwan Hwang, J. Hashimoto, M. Izumikawa, H. Murakami, Y. Sekido, and K. Shin-ya. Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitor from an anamorphic fungus. *J. Nat. Prod.*, **75** (4), 764-767 (2012).
38. T. Kawahara, T. Hosoya, M. Tsukamoto, S. Okabe, H. Yamamura, M. Hayakawa, H. Seimiya, M. Takagi, and K. Shin-ya. JBIR-120: A new growth inhibitor of

- hormone-refractory prostate cancer cells. *J. Antibiot.*, **65** (7), 373-375 (2012).
39. C. Maruyama, J. Toyoda, Y. Kato, M. Izumikawa, M. Takagi K. Shin-ya, H. Katano, T. Utagawa, and Y. Hamano. A stand-alone adenylation domain catalyzes multiple amide-bond formation in streptothricin biosynthesis. *Nat. Chem. Biol.*, **8** (9), 791-797 (2012).
  40. T. Kawahara, A. Nagai, M. Takagi, and K. Shin-ya. JBIR-137 and JBIR-138, new secondary metabolites from *Aspergillus* sp. fA75J. *J. Antibiot.*, **65** (10), 535-538 (2012).
  41. M. Takagi, and K. Shin-ya. Construction of a natural product library containing secondary metabolites produced by actinomycetes. *J. Antibiot.*, **65** (9), 443-447 (2012).
  42. T. Kawahara, A. Nagai, M. Takagi, and K. Shin-ya. A new furaquinocin derivative, JBIR-136, from *Streptomyces* sp. 4963H2. *J. Antibiot.*, **65** (11), 579-581 (2012).
  43. T. Kawahara, J.-H. Hwang, M. Izumikawa, J. Hashimoto, M. Takagi, and K. Shin-ya. JBIR-129 and -139, cytotoxic 34-membered polyol macrolides of microbial origin. *J. Nat. Prod.*, **133**, 1638-1641 (2012).
  44. T. Kawahara, M. Izumikawa M. Takagi, and K. Shin-ya. Relative configuration of JBIR-129, a cytotoxic 34-membered glycosidic polyol macrolide from *Streptomyces* sp. RK74. *Org. Lett.*, **14** (17), 4434-4437 (2012).
  45. A. Aroonsri, S. Kitani, J. Hashimoto, I. Kosone, M. Izumikawa, M. Komatsu, N. Fujita, Y. Takahashi, K. Shin-ya, H. Ikeda, and T. Nihira. Pleiotropic control of secondary metabolism and morphological development by KsbC, a butyrolactone-autoregulator receptor homologue in *Kitasatospora setae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **78**, 8015-8024 (2012).
  46. T. Hosoya, M. Takagi, and K. Shin-ya. New pyridone alkaloids JBIR-130, JBIR-131 and JBIR-132 from *Isaria* sp. NBRC 104353. *J. Antibiot.*, doi: 10.1038/ja.2012.106.
  47. M. Komatsu, K. Komatsu, H. Koiwai, Y. Yamada, I. Kozone, M. Izumikawa, J. Hashimoto, M. Takagi, S. Omura, K. Shin-ya, D.E. Cane, H. Ikeda. Engineered *Streptomyces avermitilis* host for heterologous expression of biosynthetic gene cluster for secondary metabolites. *ACS Synth. Biol.* doi: 10.1021/sb3001003 (2013).
  48. D. Zhu, Y. Wang, M. Zhang, H. Ikeda, Z. Deng, and D. E. Cane. Product-mediated regulation of pentalenolactone biosynthesis in *Streptomyces* by the MarR/SlyA family activators PenR and PntR. *J. Bacteriol.* **195**, 1255-1266 (2013)



49. H. Yamamura, Y. Ohnishi, J. Ishikawa, N. Ichikawa, H. Ikeda, M. Sekine, T. Harada, S. Horinouchi, M. Otoguro, T. Tamura, K. Suzuki, Y. Hoshino, A. Arisawa, Y. Nakagawa, N. Fujita, and M. Hayakawa. Complete genome sequence of the motile actinomycete *Actinoplanes missouriensis* 431<sup>T</sup> (= NBRC 102363<sup>T</sup>). *Stand. Genome Sci*, **7**, 294-303 (2012).
50. A. Aroonsri, S. Kitani, H. Ikeda, and T. Nihira. Kitasataline, a novel beta-carboline alkaloid from *Kitasatospora setae* NBRC 14216. *J. Biosci. Bioeng.* **114**, 56-58 (2012).
51. J. Inokoshi, M. Matsuhama, M. Miyake, H. Ikeda, and H. Tomoda. Molecular cloning of the gene cluster for lariatins biosynthesis of *Rhodococcus jostii* K01-B0171. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **95**, 451-460 (2012).
52. N. Koyama, Y. Tokura, D. Münch, H.-G. Sahl, T. Schneider, Y. Shibagaki, H. Ikeda, and H. Tomoda. The nonantibiotic small molecule cyclabdan enhances the potency of  $\beta$ -lactams against MRSA by inhibiting pentaglycine interpeptide bridge synthesis. *PLoS One*, **7**, e48981 (2012).
53. Y. Yamada, D. E. Cane, and H. Ikeda. Diversity and Analysis of Bacterial Terpene Synthases. In David A. Hopwood, ed. *Natural Product Biosynthesis by Microorganisms and Plants, Part A, Methods in Enzymology Vol. 515*, pp.123-162, Burlington, Academic Press (2012).
54. H. Ikeda. Designing of *Streptomyces* host for secondary metabolite production. *IFO Res. Commun.* **26**, 159-173 (2012).
55. T. Nogawa, S. Takahashi, A. Okano, M. Kawatani, M. Uramoto, T. Saito, and H. Osada. Spirotoamides A and B, novel 6,6-spiroacetal polyketides isolated from a microbial metabolite fraction library. *J. Antibiot.*, **65**, 123-128, 2012.
56. T. Nogawa, S. Takahashi, Y. Sekiyama, H. Takagi, M. Uramoto, H. Koshino, M. Kawatani, T. Shimizu, and H. Osada. Creation of novel reveromycin derivatives by alcohol-added fermentation. *J. Antibiot.* 2012 Dec 12. doi: 10.1038/ja.2012.115.
57. K. Ohsawa, M. Yoshida, and T. Doi. A direct and mild formylation method for substituted benzenes utilizing dichloromethyl methyl ether—silver trifluoromethanesulfonate. *J. Org. Chem.*, **78**, 3438-3444 (2013).
58. M. Yoshida, K. Saito, Y. Fujino, and T. Doi. A concise synthesis of 3-aroylflavones via Lewis base 9-azajulolidine—catalyzed tandem acyl transfer—cyclization. *Chem. Commun.*, **48**, 11796-11798 (2012).

59. K. Inamoto, L. D. Campbell, T. Doi, and K. Koide. A highly sensitive fluorescence method reveals the presence of palladium in a cross-coupling reaction mixture not treated with transition metals. *Tetrahedron Lett.*, **53**, 3147-3148 (2012).
60. K. Inamoto, J. Kawasaki, K. Hiroya, Y. Kondo, and T. Doi. Tandem-type Pd(II)-catalyzed oxidative Heck reaction/ intramolecular C-H amination sequence: A novel route to 4-aryl-2-quinolinones. *Chem. Commun.*, **48**, 4332-4334 (2012).
61. K. Inamoto, C. Hasegawa, K. Hiroya, Y. Kondo, T. Osako, Y. Uozumi, and T. Doi. Use of dimethyl carbonate as a solvent greatly enhances the biaryl coupling of aryl iodides and organoboron reagents without adding any transition metal catalysts. *Chem. Commun.*, **48**, 2912-2914 (2012).
62. T. Doi, K. Oikawa, J. Suzuki, M. Yoshida, and N. Iki. Development of a near infrared fluorescence labeling reagent: synthesis of indole-functionalized indocyanine green derivatives. *Synlett*, 306-310 (2012).

【論文】(総説)

平成 23 年度

1. 高橋 俊二.微生物の英知を生かす、バイオメディア 90 巻 2 号 p.95 2012
2. S. Takahashi, H. Osada. Highlight of the month, Biology: Journey of many steps. RIKEN Research Vol 6, Number 9, p.2-3, 2011.
3. 高橋 俊二, 長田 裕之.リベロマイシン生合成におけるスピロアセタール環化酵素の発見、バイオサイエンスとインダストリー Vol. 69 (6), 486-487, 2011.
4. 長田 裕之, 高橋 俊二. 抗生物質研究からケミカルバイオロジー研究へ 特集 / これからの天然物化学 科学工業 Vol.62 (8), p.8[588]-13[593], 2011.

平成 24 年度

5. 新家 一男. 分子標的薬ーがんから多疾患までの治療をめざしてー、テロマータンパク質・テロメララーゼ系」、日本臨床 Vol.70, 140-143, 2012.
6. 池田 治生. 放線菌のゲノムデザイン. 穴澤秀治 監修 「微生物を活用した新世代の有用物質生産技術」、シーエムシー出版. 42-48, 2012.
7. 小松 護、池田 治生. 放線菌における物質生産のための合成生物学. 生物工学会誌, Vol. 90, 285-288, 2012.

8. N. Kato, S. Takahashi, T. Nogawa, T. Saito, and H. Osada, Construction of a microbial natural product library for chemical biology studies. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 16: 101-108, 2012. DOI 10.1016/j.cbpa.2012.02.016
9. 高橋俊二、長田裕之. リベロマイシン A 生合成に関わる未知酵素の解明—スピロアセタール環化酵素の発見、化学と生物, Vol.51, 138-140, 2013.

【外部発表】(a) 学会発表・講演

平成 23 年度

1. H. Ikeda. The Genome-Minimized *Streptomyces* Host for the Secondary Metabolism. BIT'S 4<sup>th</sup> Annual World Congress of Industrial Biotechnology, ibio-2011, Darlian, China, 2011.4.26.
2. H. Ikeda. Synthetic Biology of the Secondary Metabolism in the Industrial Microorganism. IUMS 2011, Sapporo, Japan, 2011.9.8
3. H. Ikeda & D. E. Cane. Discovery of new branch of pentalenolactone family tree and two different region-specific Baeyer-Villiger monooxygenases. IUMS 2011, Sapporo, Japan, 2011.9.9
4. H. Ikeda. Engineered *Streptomyces* host for heterologous expression of secondary metabolism. ESF-EMBO Symposium on “Synthetic Biology of Antibiotic Production”, Sant Feliu de Guixols, Spain, 2011.10.6.
5. 藤江 学、小柳 亮. 「OIST でのゲノム研究の現状-技術的改良とその成果-」新学術領域「複合適応形質進化の遺伝子基盤解明」、インフォマティクスオープンセミナー、2011 年 7 月 4 日
6. 藤江 学. 「OIST におけるゲノムシーケンスの現状-次世代シーケンサーの技術的課題とその克服-」、沖縄ゲノムサイエンス講演会、2011 年 9 月 9 日
7. 宇佐美 剛志、小柳 亮. 「OIST でのゲノム解析：次世代シーケンス解析の紹介から産業応用例」、南方資源利用技術研究会、2011 年 11 月 25 日
8. 藤江 学、宇佐美 剛志、小柳 亮. 「OIST での放線菌ゲノム解析」、「知的クラスター形成に向けた研究拠点構築事業」シンポジウム、2011 年 12 月 20 日
9. 小曾根 郁子. イオンモビリティを利用した低分子化合物の構造解析、第 38 回 BMS コンファレンス、2011 年 7 月 10 日

10. 高木 基樹. 放線菌が生産する多様な二次代謝産物を用いた化合物ライブラリーの構築、第 26 回日本放線菌学会大会 (学会賞受賞講演)、2011 年 9 月 8 日
11. 高木 基樹、新家 一男. 放線菌由来の二次代謝産物を用いた天然物化合物ライブラリー、第 26 回日本放線菌学会大会、2011 年 9 月 8 日
12. 永井 文、Shams Tabrez Khan、高木 基樹、新家 一男. マングローブ土壌からの放線菌の単離および二次代謝産物、第 26 回日本放線菌学会大会、2011 年 9 月 8 日
13. 小曾根 郁子、高木 基樹、新家 一男. UPLC-TOF-MS を用いた放線菌二次代謝産物プロファイリング解析、第 26 回日本放線菌学会大会、2011 年 9 月 8 日
14. 泉川 美穂、上田 純也、小曾根 郁子、山村 英樹、早川 正幸、高木 基樹、新家 一男. *Streptomyces* sp. 及び *Kibdelosporangium* sp. から単離された新規フェニルアセチル化ペプチド化合物に関する研究、第 26 回日本放線菌学会大会、2011 年 9 月 9 日
15. 吉田 将人、藤野 雄太、齋藤 虹矢、土井 隆行. 位置選択的環化反応を利用したフラボノイド類縁体の合成研究、第 100 回有機合成シンポジウム、2011 年 11 月 11 日
16. 吉田 将人、大澤 宏祐、高木 基樹、広川 貴次、植草 義徳、加藤 晃一、新家 一男、夏目 徹、土井 隆行. タンパク質間相互作用阻害活性を示す Thielocin B1 の全合成と相互作用解析、第 53 回天然有機化合物討論会、2011 年 9 月 28 日
17. 土井隆行. 生物活性機能発現をめざした天然物合成、類縁体合成、分子プローブ合成、平成 23 年度前期有機合成化学講習会、2011 年 6 月 23 日
18. 大澤 宏祐、吉田 将人、高木 基樹、新家 一男、土井 隆行. タンパク質間相互作用阻害活性を示す Thielocin B1 の全合成、第 99 回有機合成シンポジウム、2011 年 6 月 16 日、
19. S. Takahashi, K. Takuto and H. Osada. Exquisite control of Spiroacetal Formation in reveromycin A biosynthesis. The 6<sup>th</sup> Korea-Japan Chemical Biology Symposium, 2012 年 1 月 26~28 日
20. S. Takahashi, T. Kumano, H. Takagi, T. Nogawa, E. Oowada, S. Panthee, M.

Uramoto, H. Koshino, and H. Osada. Deciphering of reveromycin A biosynthesis, H. RIKEN-MAXPLANCK JOINT RESEARCH CENTER Kick Off Symposium, (Max Planck), Dortmund, Germany, Mar 6-7, 2012.

21. N. Kato, H. Okumura, S. Takahashi, and Osada H. Functional characterization of verruculogen synthase FtmF of *Aspergillus fumigates*”, RIKEN-MAXPLANCK JOINT RESEARCH CENTER Kick Off Symposium, (Max Planck), Dortmund, Germany, Mar 6-7, 2012.

22. 高山 浩、守谷 崇、川又 綾乃、高橋 俊二、長田 裕之、岩渕 好治、叶 直樹. 化合物アレイ型プラットフォームを用いた cytochrome P450 の基質スクリーニング法の開発、ケミカルバイオロジー学会、2012 年 6 月 7~9 日

#### 平成 24 年度

23. S. Takahashi, S. Panthee, and H. Osada. Novel compound which up-regulates secondary metabolite gene cluster. The International Conference of Natural Product Biosynthesis, MEXT Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovation Areas; Biosynthetic machinery, 日米生合成シンポジウム、June17-22 , 2012.

24. N. Kato, H. Okumura, H. Suzuki, S. Takahashi and H. Osada A point mutation in *ftmD* inactivates the fumitremorgin biosynthetic pathway in *Aspergillus fumigates* Af293. The International Conference of Natural Product Biosynthesis, Awaji Yumebutai, June (2012) 日米生合成シンポジウム、June17-22 , 2012.

25. 高橋 俊二. 放線菌二次代謝産物の生合成、第 3 回生合成マシナリー札幌セミナー、2012 年 7 月 23 日

26. 高橋俊二、宮澤岳、熊野匠人、大輪田恵利、高木海、浦本昌和、清水猛、長田裕之. リベロマイシン生合成における 3 級水酸基のサクシニル化、第 27 回 放線菌学会、2012 年 9 月 6-7 日

27. 宮澤岳、高橋俊二、高木海、浦本昌和、長田裕之. 2-アルキルマロニル-CoA 生合成経路の解析、第 27 回 放線菌学会、2012 年 9 月 6-7 日

28. S. Panthee, S. Takahashi, T. Hayashi, T. Shimizu, M. Muroi, T. Nogawa, Y. Futamura, and H. Osada. Identification of small molecules inducing reveromycin production. 第 27 回 放線菌学会、2012 年 9 月 6-7 日

29. 野川俊彦、高橋俊二、関山恭代、高木海、岡野亜紀子、浦本昌和、川谷誠、越野広雪、清水猛、長田裕之. 新規リベロマイシン誘導体の創製と活性評価、第 54 回天然有機化合物討論会、2012 年 9 月 18-20 日
30. S. Takahashi, S. Nagano, T. Nogawa, H. Takagi, M. Uramoto, N. Kanoh, Y. Shiro, and H. Osada, Structure and Function of P450revI in Reveromycin A Biosynthesis. チトクロム P450 発見 50 周年記念シンポジウム、2012 年 12 月 2-3 日
31. 宮澤岳、高橋俊二、本郷やよい、Lauren Ray、中村健道、Gregory L Challis、長田裕之. [3,3-D<sub>2</sub>]heptanoic acid を用いたリベロマイシン D 生合成経路の解析、日本農芸化学会、2013 年 3 月 24-28 日
32. 高橋 俊二、宮澤 岳、熊野 匠人、大輪田 恵利、高木 海、野川 俊彦、清水 猛、浦本 昌和、長田 裕之. リベロマイシン生合成におけるサクシニル化機構の解析、日本農芸化学会、2013 年 3 月 24-28 日
33. S. Panthee, S. Takahashi, T. Hayashi, T. Shimizu, M. Muroi, and H. Osada. Secondary metabolite production in *Streptomyces* can be induced by  $\beta$ -carboline compounds. 日本農芸化学会、2013 年 3 月 24-28 日
34. 加藤直樹、野川俊彦、高橋俊二、長田裕之. 病原性糸状菌 *Aspergillus fumigatus* の第 8 染色体上の二次代謝遺伝子クラスターに含まれる転写活性化因子の役割、日本農芸化学会、2013 年 3 月 24-28 日
35. 土井隆行. 生物活性環状デブシペプチド天然物の全合成と機能解明に向けたアプローチ、第 44 回若手ペプチド夏の勉強会、2012 年 8 月 5 日～7 日
36. 塚本裕一、川瀬歩、土井隆行. アリルパラジウム中間体を求核剤として用いるアルデヒドの不斉分子内アリル化反応、第 38 回反応と合成の進歩シンポジウム、2012 年 11 月 5 日～6 日
37. 吉田将人、石田恵崇、竹内久征、中川大、八代田陽子、吉田稔、高木基樹、新家一男、土井隆行. デストラキシン E およびその誘導体の全合成と生物活性評価、第 49 回ペプチド討論会プログラム、2012 年 11 月 7 日～9 日
38. 藤原広一、塚本裕一、土井隆行. 2-アルキル-2-ヒドロキシ-3-フラノン骨格構築法の開発および E-492 類の全合成研究、第 102 回有機合成シンポジウム、2012 年 11 月 8 日～9 日

39. 土井 隆行. 天然物の全合成と機能解明に向けたアプローチ、日本薬学会第 133 年会（学術振興賞受賞講演）、2013 年 3 月 27 日橋本 拓哉、橋本 絢子、新家 一男、池田 治生、西山 真、葛山 智久. BAC を利用した 17 員環マクロサイクリック化合物 versipelostatin の異種生産、日本農芸化学会 2013 年度大会、2013 年 3 月 26 日
40. 松田 研一、長谷部 文人、富田 武郎、志波 優、吉川 博文、新家 一男、葛山 智久、西山 真. 新規アミノ酸キャリアタンパク質を用いて生合成される天然化合物の探索、日本農芸化学会 2013 年度大会、2013 年 3 月 26 日
41. 林 健文、西山 真、葛山 智久. *Saccharothrix* sp. ST-888 が生産する除草剤 phosphonothrixin の生合成遺伝子のクローニング、日本農芸化学会 2013 年度大会、2013 年 3 月 26 日
42. 工藤 慧、葛山 智久、西山 真. HDAC 阻害剤 trichostatin A 生合成遺伝子のクローニング、日本農芸化学会 2013 年度大会、2013 年 3 月 26 日
43. 泉川美穂、本橋慶一郎、佐藤龍太郎、永井文、大西康夫、高木基樹、新家一男、新規ナフトキノ系化合物 JBIR-85 の単離、構造決定および生合成に関する研究、2012 年度（第 27 回）日本放線菌学会大会、2012 年 9 月 7 日
44. 泉川美穂、伊藤将士、河原哲平、坂田紀秋、土田外志夫、新家一男、中皮腫細胞に対して細胞毒性活性を示す化合物 MBJ-0020 に関する研究、日本農芸化学会 2013 年度大会、2013 年 3 月 27 日
45. 河原 哲平、泉川 美穂、Hwang Ji-Hwan、橋本 絢子、高木 基樹、新家 一男. 放線菌 *Streptomyces* sp.由来の 34 員環マクロリド配糖体の単離と構造、第 54 回天然有機化合物討論会、2012 年 9 月 18 日
46. I. Kozone, and K. Shin-ya, Large-scale and wide-range library construction of biosynthesis gene cluster from actinomycetes, The International Conference of Natural Product Biosynthesis, 2012 年 6 月 18,19 日
47. 小曾根 郁子、酒井 紀子、鈴木 真理、西田 みち代、永井 文、白石 和子、橋本 絢子、高木 基樹、新家 一男、放線菌由来生合成遺伝子クラスターの大規模かつ広域的なライブラリー構築、2012 年度（第 27 回）日本放線菌学会大会、2012 年 9 月 6 日
48. 小曾根 郁子、酒井 紀子、鈴木 真理、西田 みち代、永井 文、白石 和子、橋本 絢子、高木 基樹、新家 一男、放線菌由来生合成遺伝子クラスターの大規模かつ広域的なライブラリー構築、日本農芸化学会 2013 年度大会、2013 年 3 月 25 日

49. 藤江 学 「次世代シーケンサーでのサンプル調製のコツ ～デジタル PCR の利用～」 Bio-Rad ランチョンセミナー 日本ゲノム微生物学会、長浜バイオ大学 2013年3月10日

【外部発表】(b)新聞・雑誌等への掲載

なし

【外部発表】(c)その他

なし



## 2. 分科会における説明資料

次ページより、プロジェクト推進・実施者が、分科会においてプロジェクトを説明する際に使用した資料を示す。

健康安心イノベーションプログラム  
「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発  
／有用天然化合物の安定的な生産技術開発」  
平成23(2011)年度～平成24(2012)年度 2年間  
(事後評価)

## プロジェクトの概要

1. 事業の位置付け・必要性について
2. 研究開発マネジメントについて

NEDO

バイオテクノロジー・医療技術部

2013年12月11日

1/19

発表内容

公開

- |                               |  |
|-------------------------------|--|
| 1. 事業の位置付け・必要性について            | (1) NEDOの事業としての妥当性<br>(2) 事業目的の妥当性   |
| 2. 研究開発マネジメントについて             | (1) 研究開発目標の妥当性<br>(2) 研究開発計画の妥当性<br>(3) 研究開発実施の事業体制の妥当性<br>(4) 研究開発成果の実用化に向けた<br>マネジメントの妥当性<br>(5) 情勢変化への対応等 |
| 3. 研究開発成果について                 | (1) 目標の達成度と成果の意義<br>(2) 知的財産権等の取得および<br>標準化の取り組み<br>(3) 成果の普及  |
| 4. 実用化に向けての見通し<br>および取り組みについて | (1) 成果の実用化の見通し<br>(2) 実用化に向けた具体的取り組み   |

2/19

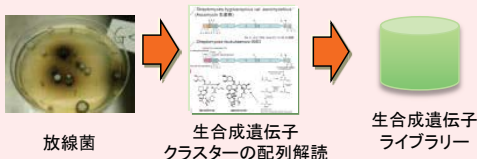
## 事業の背景など

- ・製薬企業の研究開発費は増大の一途であるものの、承認される薬剤の数は増えていない。研究開発費の増大分が主として臨床開発費に充てられていることもその理由の一つであるが、創薬ヒット化合物の発見につながる新たなスクリーニング手法の技術革新と技術実証の不足により、新規医薬品候補化合物の探索効率が低下している可能性も指摘されている。
- ・創薬ヒット化合物の探索については、コンビナトリアルケミストリーによる化合物合成とそのライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングが盛んに行われたが、必ずしも期待された成果が出ておらず、豊富な生物活性と大きなケミカルスペースを持った天然化合物が再注目されている。
- ・微生物は、天然化合物のリソースとして最も有望なものの一つであるが、培養抽出物として安定的かつ大量に取得できないなど、そのままではスクリーニングの効率化に様々な問題点がある。

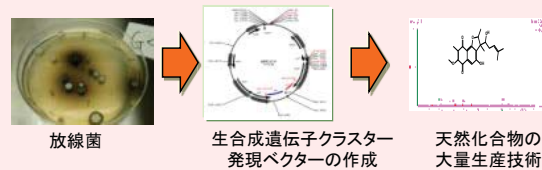
微生物の持つ天然化合物の生合成遺伝子を取り出して別の宿主菌株で発現させるなど、目的とする天然化合物を安定的かつ効率よく発現させる手法を開発することが重要

### 有用天然物の安定的な生産技術開発

#### 1) 生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築



#### 2) 安定生産技術の開発



加速

創薬シーズ探索

ターゲットの絞り込み

化合物等の探索

前臨床

民間による臨床開発

事業原簿 I-1, 2頁

3/19

## NEDOが関与する意義

本事業は健康安心イノベーションプログラム(経産省)の一環として実施。

### 目的

今後、世界に類を見ない少子高齢化が進展する我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会を実現することは喫緊の課題である。具体的には、個の医療を通じて健康寿命の延伸、QOL (Quality of Life : 生活の質) の向上を図ることが求められている。

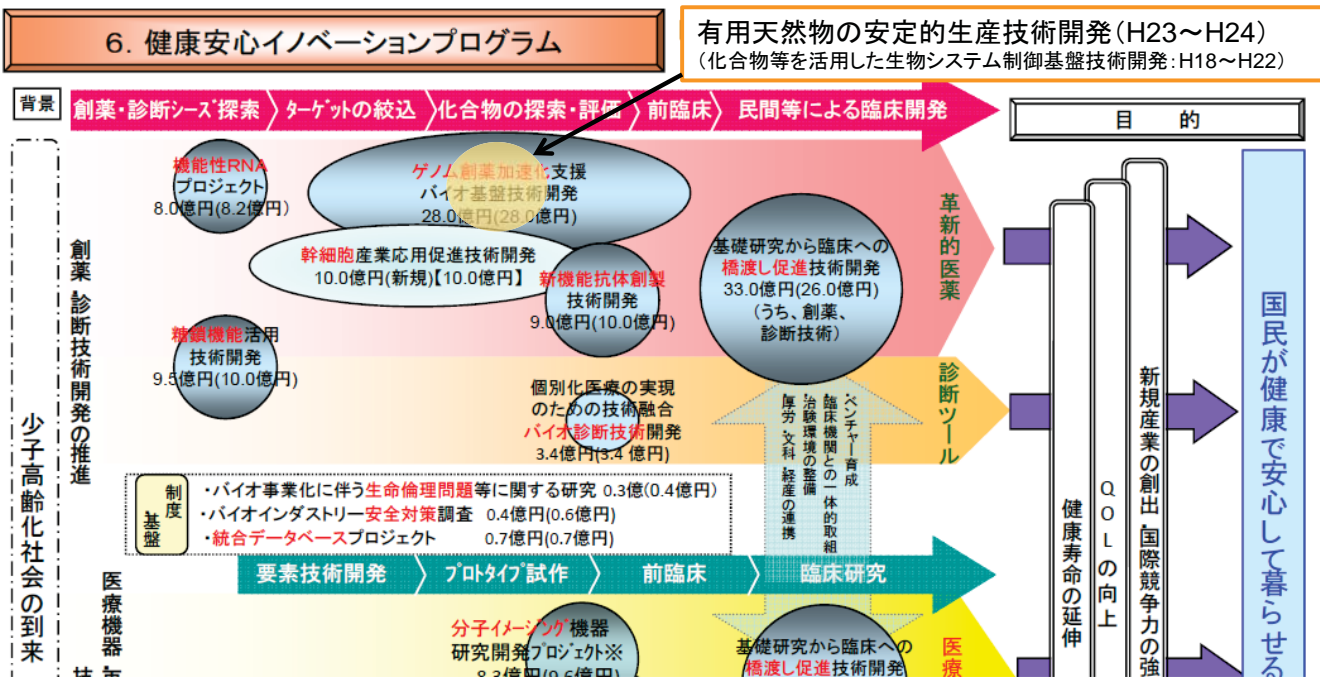
この目的を達成するため、創薬に資する基盤技術の開発、再生医療の確立、医療機器・福祉機器の開発等の手段を適切に組み合わせることによって、健康維持増進、疾患の早期診断、及び適切な治療法の提供を実現するほか、関連産業の競争力強化・ベンチャー企業の創出を図る。

「有用天然物の安定的生産技術開発」

事業原簿 I-1頁

4/19

## 健康安心イノベーションプログラムでの位置付け



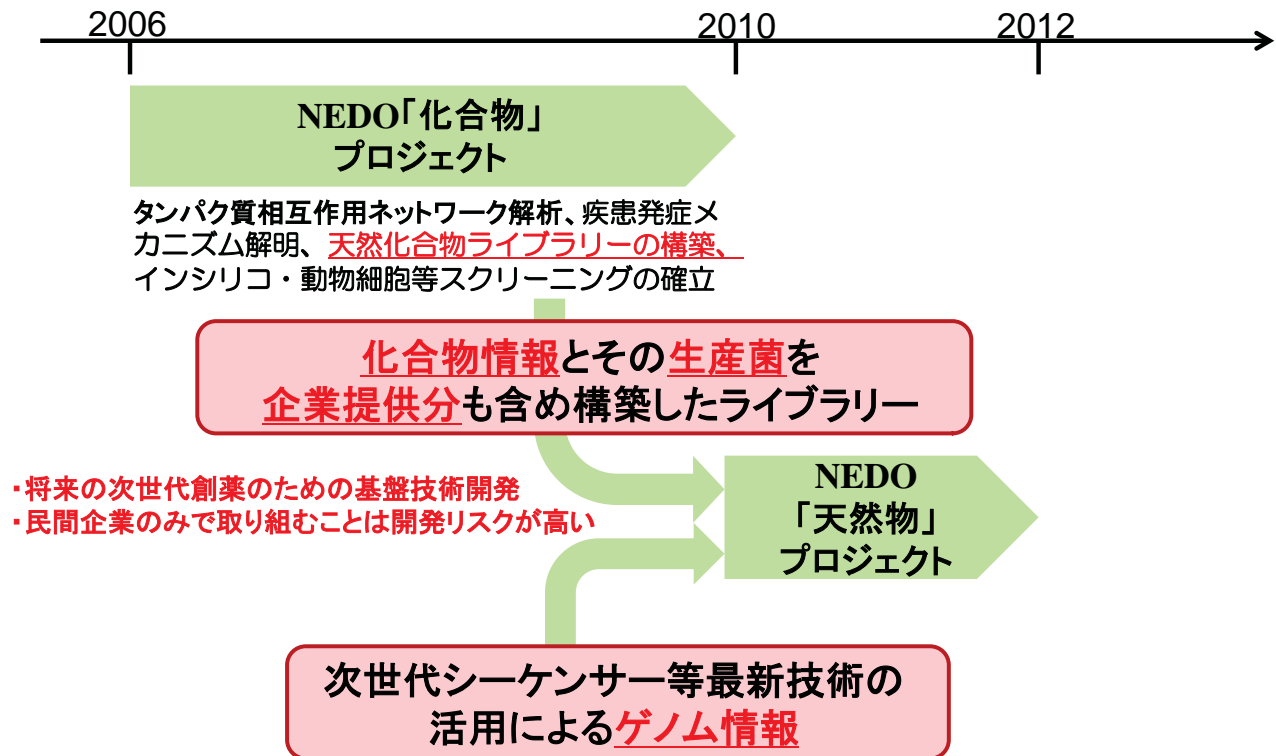
※経済産業省イノベーションプログラム(IPG)21年度より抜粋

## NEDOが関与する必要性

- NEDOPJ「化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発」での参画企業からの提供分も含む世界に類を見ない天然化合物ライブラリーを構築
- 従来の職人芸とも言える育種による有用物質生産から、ゲノム情報をベースに生合成遺伝子資源としてのライブラリー化及び有効な活用を可能とする汎用生産系の構築は極めてチャレンジング
- 生産菌を含む3つの放線菌のゲノム解析の完了により比較ゲノム解析のアプローチが可能となったこと、次世代シーケンス技術の進展などを背景とし、安定的生産技術として成立するか見極める

民間企業単独で開発することは極めて困難であり、異なる事業体の連携推進というNEDOの保有する機能が貢献できる内容である

## NEDOが関与する必要性



## 実施の効果(費用対効果)

### 天然物由来医薬品の国内売上げ(2012年)

化合物	領域	由来	売上(億円)
タクロリムス	免疫抑制薬	微生物産物	494
プラバスタチン	高脂血症用薬	微生物産物+微生物変換	258
クラリスロマイシン	抗菌薬	微生物産物+化学変換	216
ボグリボース	糖尿病治療薬	微生物産物+化学変換	193

出展: <http://nk.jiho.jp/servlet/nk/related/html/1226615503891.html>  
 2012年度決算・医療用医薬品国内売上高ランキング上位100より

## 国内外の主な化合物ライブラリー

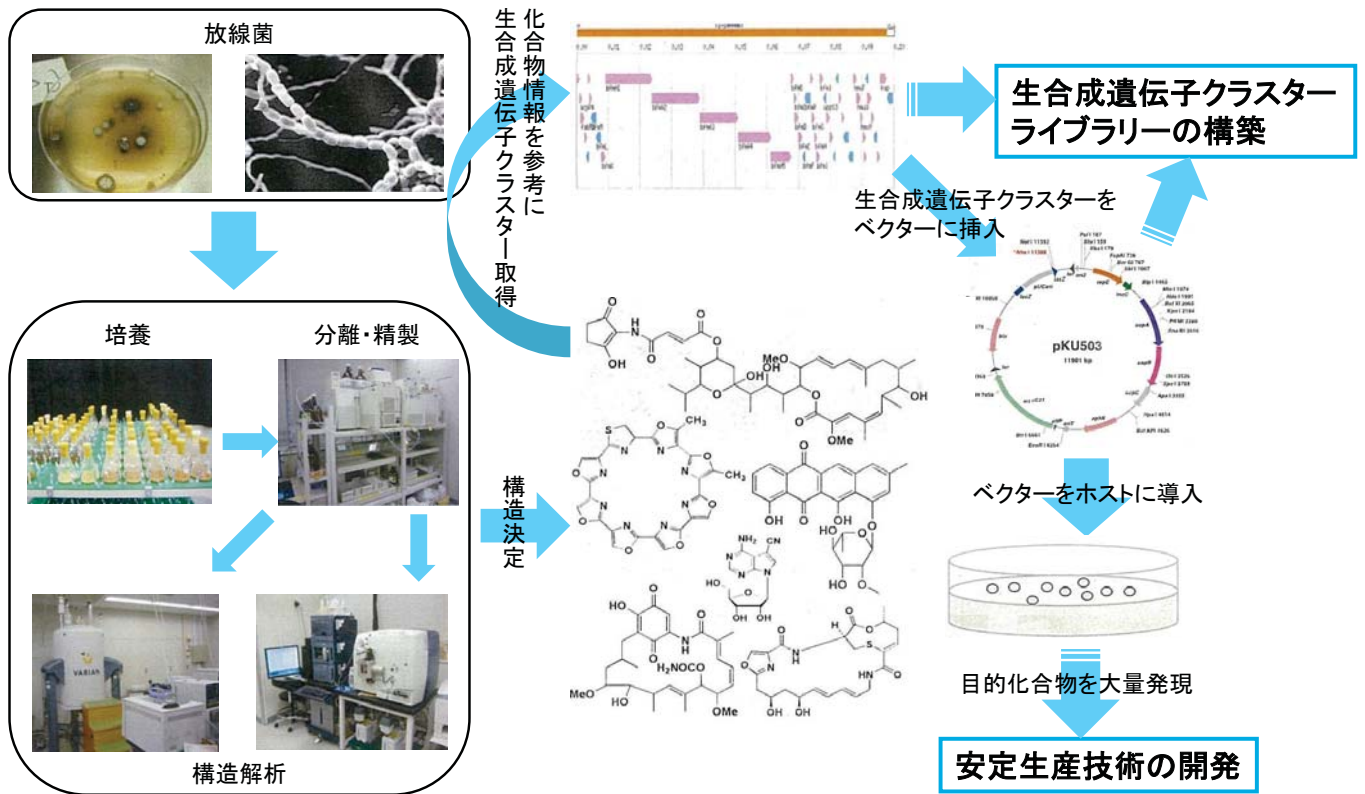
	主体	化合物数	内訳
経済産業省	次世代天然物化学技術 研究組合	約30万	天然化合物 (合成化合物は 数%程度)
文部科学省	東京大学生物機能制御 化合物ライブラリー機構	約20万	合成化合物
米国(NIH)	Molecular Libraries Initiative	約40万	合成化合物 (天然化合物は 数%程度)

## 世界に類を見ない天然化合物ライブラリー

## 研究開発目標と根拠

研究開発項目	研究開発目標	根拠
(1) 生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築	放線菌由来の有用天然物の合成に必要な40個の生合成遺伝子クラスターを取得し、その生産物に対応づけたデータベースを構築する。	・対象を放線菌に絞り、短期間で集中的に開発を行い、有用天然物の安定的生産技術としての見極めを付ける目的で数値化した目標値で40個程度は開発期間・規模に鑑みて妥当
(2) 安定生産技術の開発	上記40個の生合成遺伝子クラスター全てについて、化合物生産株となる別の宿主放線菌へ導入し、目的の天然物を5 mg/Lレベルで安定的に生産する技術を開発する。	・機能保持細胞株を用いた初期のスクリーニングで用いる上で十分と想定される生産量を数値目標として設定 ・達成には大きな開発要素があるため目標として妥当

## 事業の概要



事業原簿 I-2頁

11/19

## 事業の目標

### ➤ 【最終目標】(平成24年度)

有用天然物の合成に必要な40個の生合成遺伝子クラスターを取得し、その生産物に対応づけたデータベースを構築する。これら40個の生合成遺伝子クラスター全てについて、化合物生産株となる別の宿主放線菌へ導入し、目的の天然物を5 mg/Lレベルで安定的に生産する技術を開発する。さらにこれら40個について、安定的な生産が可能な天然物と困難なものを体系的に整理し、生産が困難なものについてはその原因を解明し、生産の改善を図る。

## 事業の目標

研究開発項目	研究開発の内容	開発内容詳細
(1) 生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築	(1)-1 異種発現生産の標的とする化合物の生合成遺伝子クラスターの同定	放線菌が生産する広範な種類からなる天然化合物リソースから構造及び活性がユニークな天然物由来の化合物を対象に、異種発現系に供する40個程度の化合物を選抜し、それらの生合成遺伝子クラスターの同定する。
	(1)-2 生合成遺伝子クラスターの取得	同定した生合成遺伝子クラスター情報を基に、40個程度の生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築および生産物を対応づけたデータベースを構築する。
(2) 安定生産技術の開発	(2)-1 異種発現システムを用いた生産実証による汎用性の検証	不要な内在性の二次代謝産物生合成遺伝子クラスターを欠失させ、前駆体の供給を目的産物の合成に至適化した株(SUKA株等)を、異種発現システムの基本ホストとして用い、企業での応用を見据えた共通プラットフォームとなる異種発現技術を検証確立する。
	(2)-2 異種発現システムの改良による安定生産技術の開発	生産実証により得られた結果を活用し、プロモーターやレギュレーター制御等に関わる異種発現ベクターの開発や、異種発現ホストの改良を行い生産の有無を確認する。

事業原簿 II-1,2頁

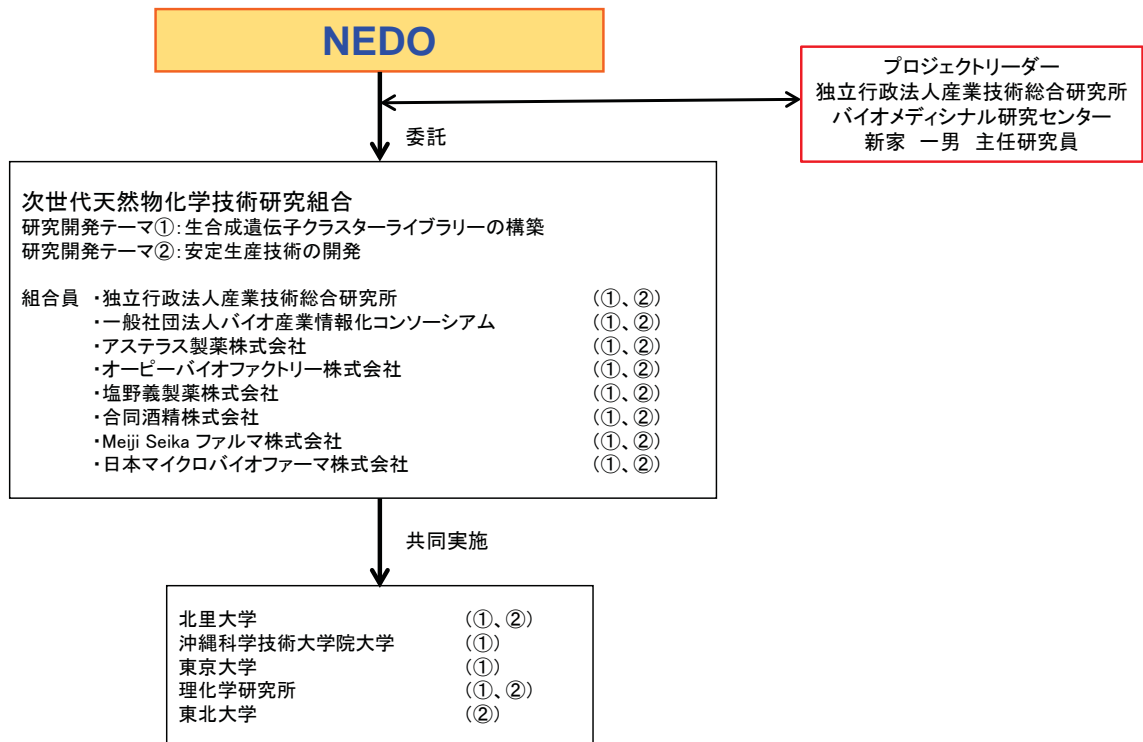
13/19

## 研究開発のスケジュールと予算

	2011	2012
研究開発予算(百万円)	289	389
(1)-1 異種発現生産の標的とする化合物の生合成遺伝子クラスターの同定		
(1)-2 生合成遺伝子クラスターの取得		
(2)-1 異種発現システムを用いた生産実証による汎用性の検証		
(2)-2 異種発現システムの改良による安定生産技術の開発		



## 研究開発の実施体制



## 研究開発推進委員会

氏名	所属	役職
仁平 卓也 (委員長)	大阪大学 生物工学国際交流センター センター長 分子微生物学研究室	教授
江口 正	東京工業大学大学院 理工学研究科 物質科学専攻	教授
上村 大輔	神奈川大学理学部化学科	教授
磯貝 隆夫	福島県立医科大学 創薬関連TR部門 ゲノム塩基配列解析分野	特任教授
中川 智	協和発酵バイオ株式会社ヘルスケア商品開発センター 学術研究企画室	マネージャー

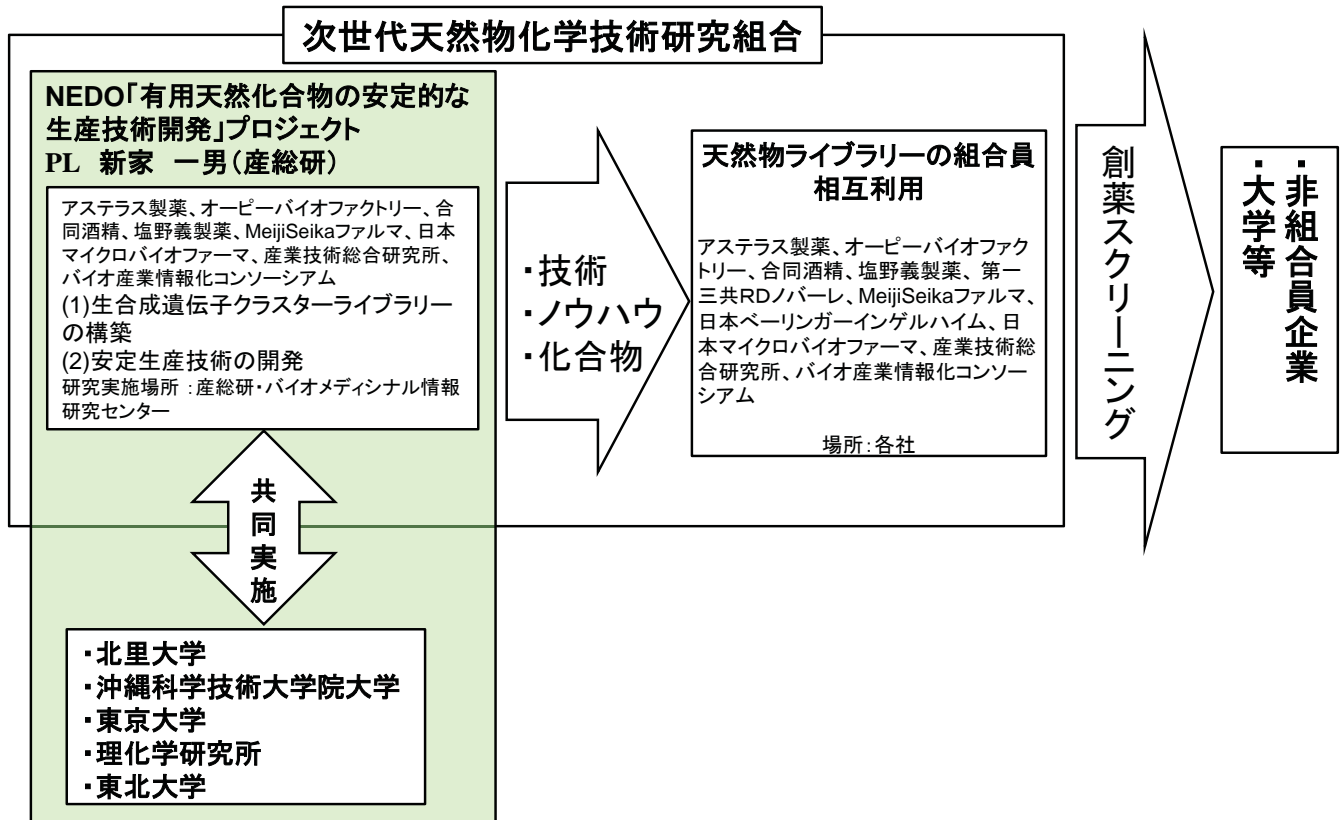
年2回委員会を開催し、以下の技術的内容の助言等により研究開発の推進を図った。

- ・研究対象化合物の選定
- ・方法の妥当性及び研究開発の進捗について

開催日  
 2011年7月25日  
 2012年2月7日  
 2012年9月12日  
 2013年2月5日

## 知的財産の取り扱いについて

- ▶ 「独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第25条の規定等に基づき、原則として、全て受託先に帰属させるものとする。
- ▶ 受託先の次世代天然物化学技術研究組合においては、知的財産権取扱規約により、組合又は組合員の研究員が他の組合員の研究員と共同で完成した知的財産権は、その持分比率に応じて当該組合員に帰属するものとする。



## 財源の追加について

- 平成23年度の研究成果として「標的化合物によっては元生産菌の生産培地でしか生産されない場合がある」ことを明らかとなり、「異種発現システムを用いた生産実証による汎用性の検証」をする上で、複数の培地について生産性を検討する必要が生じた
- 生産検討培地を1種類から12種類に増加
- 平成24年8月に98百万円の追加予算を配賦
- 最新の高性能質量分析装置等を2台を追加導入
- 期間内に増加分の検討培地の解析を完了

健康安心イノベーションプログラム  
「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発  
／有用天然化合物の安定的な生産技術開発」  
平成23(2011)年度～平成24(2012)年度 2年間  
(事後評価)

プロジェクトの概要

3. 研究開発成果について  
4. 実用化に向けての見通し  
および取り組みについて

NEDO

バイオテクノロジー・医療技術部

2013年12月11日

1/19

発表内容

公開

- |                               |  |
|-------------------------------|--|
| 1. 事業の位置付け・必要性について            | (1) NEDOの事業としての妥当性<br>(2) 事業目的の妥当性   |
| 2. 研究開発マネジメントについて             | (1) 研究開発目標の妥当性<br>(2) 研究開発計画の妥当性<br>(3) 研究開発実施の事業体制の妥当性<br>(4) 研究開発成果の実用化に向けた<br>マネジメントの妥当性<br>(5) 情勢変化への対応等 |
| 3. 研究開発成果について                 | (1) 目標の達成度と成果の意義<br>(2) 知的財産権等の取得および<br>標準化の取り組み<br>(3) 成果の普及  |
| 4. 実用化に向けての見通し<br>および取り組みについて | (1) 成果の実用化の見通し<br>(2) 実用化に向けた具体的取り組み   |

2/19

(1) 個別研究開発項目の目標と達成状況

	目標	成果	達成度	今後の課題
1) 生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築	有用天然物の合成に必要な40個程度の生合成遺伝子クラスターを取得し、その生産物に対応づけたデータベースを構築する。	BACベクターを用いた、巨大生合成遺伝子取得法を確立した結果、大幅な効率化に成功し、総計64個の生合成遺伝子クラスターを取得した	◎	今後は、より大きなサイズのBACライブラリー調製技術、および放線菌以外の微生物への応用が望まれる。
2) 安定生産技術の開発	40個程度の生合成遺伝子クラスター全てについて、化合物生産株となる別のホスト放線菌へ導入し、目的の天然物を5 mg/Lレベルで安定的に生産する技術を開発する。さらにこれら40個程度について、安定的な生産が可能な天然物と困難なものを体系的に整理し、生産が困難なものについてはその原因を解明し、生産の改善を図る	64化合物について異種発現生産の検討を行い、さらに遺伝子改変、遺伝子導入法などの改良を行った結果、 > 5 mg/L: 32化合物 (80%) < 5 mg/L: 12化合物 (30%) 生産無し: 20化合物であった。	○	遺伝子改変を行う事により、高確率で異種発現誘導および生産性向上を行えることを示すことが出来たが、巨大生合成遺伝子に関しては、遺伝子改変を容易に行えない。この辺りに関しては、当研究開発のみでは解決出来るものではなく、将来のさらなる遺伝子技術の進歩が望まれる。

事業目標

・生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築

(1)-1 異種発現生産の標的とする化合物の生合成遺伝子クラスターの同定

成果

放線菌ゲノムの高速・高精度ドラフトゲノムシーケンス法の確立



Roche 454



MiSeq

放線菌ゲノムは高いGC含量 (70%) となり、繰り返し配列が多いなど、極めてゲノム解析が困難な微生物であり、世界でも正確に解析出来る機関は限定されている

次世代シーケンサーを用いた高速かつ高精度にシーケンスする技術を確立し、2年間で44菌株を解析

MiSeqを用いた新たな解析法の改良により、>100/年の解析が可能なシステムを確立した

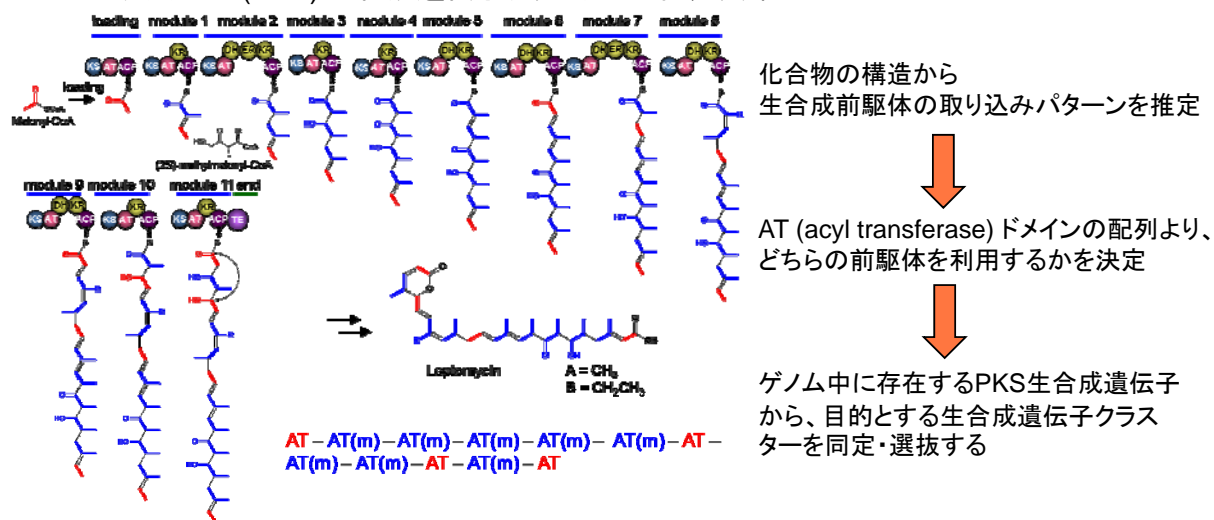
## 事業目標

・生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築

(1) - 1 異種発現生産の標的とする化合物の生合成遺伝子クラスターの同定

## 成果

## 型ポリケタイド (PKS) 生合成遺伝子クラスターの同定法確立



事業原簿 III-19~29

5/19

## 事業目標

・生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築

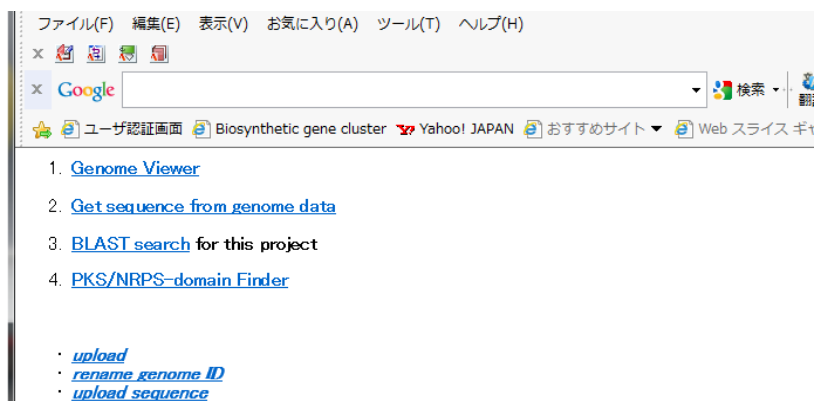
(1) - 1 異種発現生産の標的とする化合物の生合成遺伝子クラスターの同定

## 成果

ゲノム解析ソフトの開発:

- ・アッセンブル、アノテーションされたデータを研究者間で情報共有可能
- ・Webでのアクセスで、IPアドレスおよびパスワードによるセキュリティー管理。
- ・ゲノムという巨大なデータのやりとりの必要が無く、各機関での解析結果をup to dateにアップデート可能。
- ・会合でのmtg (1~1.5ヶ月毎に開催) を頻繁に開催する必要が無い(会合時のmtgに持ち歩きは不可能)。
- ・各企業毎に個別のサイトを設定することにより機密性を維持。

## サイトオープニング画面



事業原簿 III-17~18

6/19

事業目標

- ・生成遺伝子クラスターライブラリーの構築

(1) - 1 異種発現生産の標的とする化合物の生成遺伝子クラスターの同定

成果

ゲノム解析ソフトの開発:

解析画面

事業目標

- ・生成遺伝子クラスターライブラリーの構築

(1) - 1 異種発現生産の標的とする化合物の生成遺伝子クラスターの同定

成果

ゲノム解析ソフトの開発:

検索結果画面

「KS」をキーワードに検索  
56個のIDを表示

ID	Start	End	Gene	MW	Definition	Note	Category
EM52_01090	214000	212738	aacP	43710	putative alpha-oxoacyl-ACP synthase II(KS)		
EM52_01074	949599	844839	zsaA	41731	type-III PKS		t3pls
EM52_01082	872975	874189	fadA	42137	putative acyl-CoA thiolase(KS)		
EM52_01051	1147297	1148505	neqR	41141	putative 3-oxoacyl-ACP synthase III(KS)		
EM52_01091	1941706	1967661		889736	modular polyketide synthase (KS-AT-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP-KS-AT-DH-ER-KR-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP-KS-AT-DH-KR-KR-ACP)		leptomycin ? t1 pls
EM52_01092	1967720	1975123		255296	modular polyketide synthase (KS-AT-DH-KR-ACP-KS-AT)		leptomycin ? t1 pls
EM52_01093	1975148	1980723		531726	modular polyketide synthase [AT-DH-KR-ACP-KS-AT-DH-ER-KR-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP]		leptomycin ? t1 pls
EM52_01094	1990943	2001408		362720	modular polyketide synthase (KS-AT-DH-KR-ACP-KS-AT-KR-ACP)		leptomycin ? t1 pls
EM52_01095	2001482	2008032		75160	modular polyketide synthase (KS-AT)		leptomycin ? t1 pls
EM52_01742	2060963	2074669		465549	modular polyketide synthase (KS-AT-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP-KS-AT-DH-ER-KR-ACP)		t1 pls
EM52_01743	2074791	2084294		329997	modular polyketide synthase (KS-AT-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP)		t1 pls
EM52_01744	2084331	2095136		371810	modular polyketide synthase (KS-AT-DH-KR-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP)		t1 pls
EM52_01745	2095133	2098405		106892	modular polyketide synthase (KS-AT)		t1 pls
EM52_02201	2827662	2826577		247643	modular polyketide synthase (KS-AT-ACP-KS-AT-ACP-TE)		t1 pls
EM52_02202	2833364	2827731		195005	modular polyketide synthase (KS-AT-DH-KR-ACP)		pericidinA1 t1 pls
EM52_02203	2840029	2833391		223439	modular polyketide synthase (KS-AT-DH-ER-KR-ACP)		pericidinA1 t1 pls
EM52_02204	2845463	2840322		178311	modular polyketide synthase (KS-AT-DH-KR-ACP)		pericidinA1 t1 pls
EM52_02205	2855800	2845571		357480	modular polyketide synthase (KS-AT-KR-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP)		pericidinA1 t1 pls
EM52_02206	2863627	2855846		270318	modular polyketide synthase (KS-AT-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP)		pericidinA1 t1 pls
EM52_02404	2892280	2875929		469947	modular polyketide synthase and non-ribosomal peptide synthetase (A-KR-ACP-KS-AT-ACP/T-C-A-T)		t2 pls
EM52_03048	3846414	3847478	zsaB	37625	type-III PKS		t2 pls
EM52_03397	4004679	4003438	aacP	42821	putative chain length factor (3-oxoacyl-ACP synthase III(KS))		t2 pls
EM52_03398	4005941	4004685	aacA	44054	putative 3-oxoacyl-ACP synthase I(KS)		t2 pls
EM52_03511	4161673	4198731		816671	modular polyketide synthase (KS-AT-KR-ACP-KS-AT-KR-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP)		t1 pls
EM52_03518	4198774	4191638		170150	modular polyketide synthase (KS-AT-KR-ACP)		t1 pls
EM52_03519	4191688	4206330		458481	modular polyketide synthase (KS-AT-KR-ACP-KS-AT-KR-ACP-KS-AT-KR-ACP-TE)		t1 pls
EM52_03521	4207963	4224389		564856	modular polyketide synthase (KS-AT-DH-ER-KR-ACP-KS-AT-KR-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP)		t1 pls
EM52_03524	4224387	4229069		161111	modular polyketide synthase (KS-AT-KR-ACP)		t1 pls
EM52_03523	4229088	4240200		380309	modular polyketide synthase (KS-AT-KR-ACP-KS-AT-DH-ER-KR-ACP)		t1 pls
EM52_03531	4247635	4275600	plsA	934753	modular polyketide synthase (KS-AT-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP-KS-AT-DH-ER-KR-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP-KS-AT-DH-KR-ACP)		t1 pls
EM52_03532	4275987	4265970		335902	modular polyketide synthase (KR-ACP-KS-AT-KR-ACP-KS-AT-KR-ACP)		t1 pls
EM52_03533	4286007	4297076		390609	modular polyketide synthase (KS-AT-DH-ER-KR-ACP-KS-AT-KR-ACP)		t1 pls
EM52_03534	4297091	4321525	zsaA	838241	modular polyketide synthase (KS-AT-KR-ACP-KS-AT-DH-ER-KR-ACP-KS-AT-KR-ACP-KS-AT-KR-ACP-KS-AT-KR-ACP)		t1 pls
EM52_03540	4387039	4390260		112624	modular polyketide synthase (KS-AT-ACP)		t1 pls
EM52_03521	4390932	4397050		229716	modular polyketide synthase (KS-AT-DH-ER-KR-ACP)		t1 pls
EM52_03522	4397155	4403431		319138	modular polyketide synthase (KS-AT-KR-ACP-KS-AT-KR-ACP)		t1 pls
EM52_03523	4405424	4410417		413190	modular polyketide synthase (KS-AT-DH-KR-ACP-KS-AT-DH-ER-KR-ACP)		t1 pls

事業目標

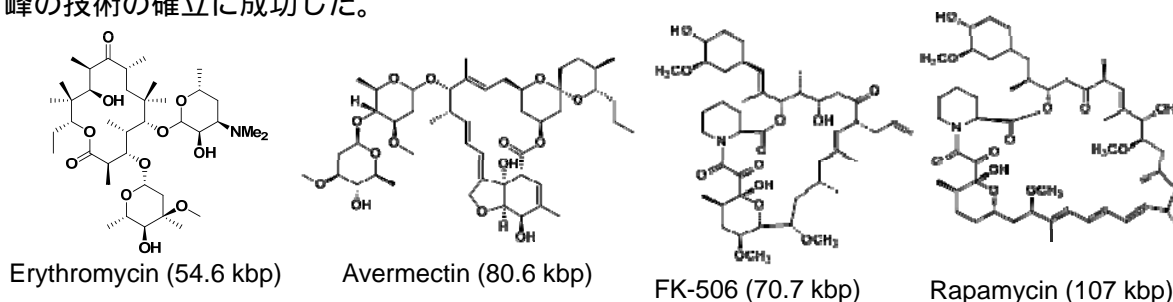
・生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築

(1) - 2 生合成遺伝子クラスターの取得

成果

生合成遺伝子クラスターの取得は、~40 kbpまでのサイズはCosmidベクターを用い、それ以上のサイズはBAC (Bacterial Artificial Chromosome) ベクターを用いた。放線菌が生産する代表的な化合物群であり、臨床薬として用いられているerythromycin、avermectin、FK-506、rapamycinのような型PKS生合成経路で生産されるが、その巨大な生合成遺伝子クラスターを取得するためには、BAC (Bacterial Artificial Chromosome) ベクターを用いたゲノムライブラリー作製技術の開発が必須である。

本研究開発で、BACライブラリー作製技術に関して、種々の改良を行った結果、世界最高峰の技術の確立に成功した。

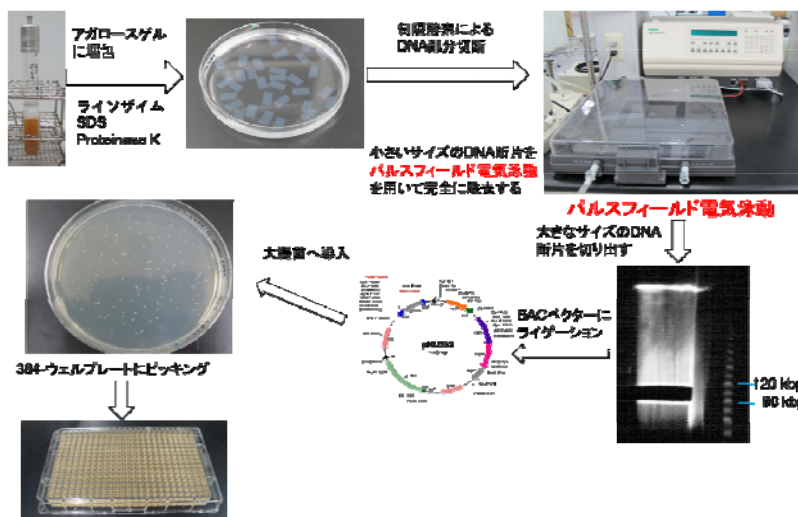


事業目標

・生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築

(1) - 2 生合成遺伝子クラスターの取得

成果



生合成遺伝子クラスター取得数

Cosmid: 25化合物  
BAC: 39化合物  
総計64化合物  
(目標値: 40化合物)



## 事業目標

・安定生産技術の開発

(2)－1 異種発現システムを用いた生産実証による汎用性の検証

## 成果

親株が工業生産株であり、内在性生合成遺伝子クラスターをノックアウトしたSUKA (SUKA17) 株を、メインの放線菌ホストとして用いた。

この他のホストとして、世界中でホスト菌株として汎用されている*S. albus* J1074株 (制限修飾系変異株、SAL1074)、および*S. lividans* KASU-1 (幾つかの内在性生合成遺伝子をノックアウトしている)

Cosmidで取得した生合成遺伝子クラスターの異種発現生産

ホスト	生合成遺伝子 クラスター数	形質 転換体	形質転換体 取得率	化合物 生産株数	生産株 取得率
SUKA17	25 個	25 個	100%	17個	68%
SAL1074	14 個	14 個	100%	6 個	43%
KASU-1	15 個	15 個	100%	5 個	33%

事業原簿 Ⅲ-35～39

11/19

## 事業目標

・安定生産技術の開発

(2)－1 異種発現システムを用いた生産実証による汎用性の検証

## 成果

メインとして用いたSUKA17株が最も高い生産性であった。これにより、工業生産株であり、内在性生合成遺伝子クラスターをノックアウトするシステムが有効であることを明らかにすることが出来た。SAL1074株の内在性生合成遺伝子クラスターをノックアウトした株も同様に、化合物生産性の向上が観察された。

Cosmidで取得した生合成遺伝子クラスターの異種発現生産 (化合物生産量)

生産性	SUKA17	SAL1074	KASU-1
> 5 mg/L	13 個 (76%)	4 個 (67%)	3 個 (60%)
1-5 mg/L	1 個	0 個	1 個
< 1 mg/L	3 個	2 個	1 個
生産化合物数	17 個	6 個	5 個

事業原簿 Ⅲ-35～39

12/19

## 事業目標

・安定生産技術の開発

(2)－1 異種発現システムを用いた生産実証による汎用性の検証

## 成果

親株が工業生産株であり、内在性生合成遺伝子クラスターをノックアウトしたSUKA (SUKA17) 株を、メインの放線菌ホストとして用いた。

この他のホストとして、世界中でホスト菌株として汎用されている*S. albus* J1074株 (制限修飾系変異株、SAL1074)、および*S. lividans* KASU-1 (幾つかの内在性生合成遺伝子をノックアウトしている)

BACで取得した生合成遺伝子クラスターの異種発現生産

ホスト	生合成遺伝子 クラスター数	形質 転換体	形質転換体 取得率	化合物 生産株数	生産株 取得率
SUKA17	39 個	18 個	46%	12 個	67%
SAL1074	38 個	27 個	71%	14 個	52%
KASU-1	38 個	38 個	100%	11 個	29%

事業原簿 Ⅲ-40～45

13/19

## 事業目標

・安定生産技術の開発

(2)－1 異種発現システムを用いた生産実証による汎用性の検証

## 成果

メインとして用いたSUKA17株が最も高い生産性であった。これにより、工業生産株であり、内在性生合成遺伝子クラスターをノックアウトするシステムが有効であることを明らかにすることが出来た。SAL1074株の内在性生合成遺伝子クラスターをノックアウトした株も同様に、化合物生産性の向上が観察された。

BACで取得した生合成遺伝子クラスターの異種発現生産 (化合物生産量)

生産性	SUKA17	SAL1074	KASU-1
> 5 mg/L	9 個 (75%)	3 個 (21%)	4 個 (37%)
1-5 mg/L	0 個	1 個	1 個
< 1 mg/L	3 個	9 個	6 個
生産化合物数	12 個	14 個	11 個

事業原簿 Ⅲ-40～45

14/19

## 事業目標

・安定生産技術の開発

(2)–2 異種発現システムの改良による安定生産技術の開発

## 成果

SUKA17株は、異種発現生産成功率および生産量が高いがBACの遺伝子導入率が低い。この遺伝子導入率の低さを克服することにより、異種発現生産の成功率を上げることが期待される。この問題を克服するため、線状染色体SAP1を用いて遺伝子導入する新規なシステムの確立に成功した。

SAP1法によるSUKA22株への生合成遺伝子クラスター導入および異種発現生産

BAC	化合物	SUKA17	J1074	KASU1	SUKA22/SAP1
1	ivermectin	0	0	0	40
2	bafilomycin	11	< 1	< 1	20
3	diazepinomicin	0	< 1	0	3.5
4	企業株1		1.2	0.9	1
5	factumycin	0	0	0	0
	(β-carboline)	21	0	1.8	72
6	FK-506			0	< 1
7	pentalenolactone	0	0.5	0	< 1
8	rapamycin			< 1	X
9	asukamycin		< 1	0	102
10	nemadectin	6.6	0	0	140
11	concanamycin				25

- これまで、年に数個の化合物を対象にした、ラボスケールで行っていた、個々の化合物に関する個別研究であった生合成遺伝子のクローニング、および異種発現生産研究に関して、一気に検証例を押し上げることにより、今後の産業応用が可能な一般的・汎用性の高い技術として確立したことは大変意義深い。また、日本が世界をリードして来た天然物化学をさらなる高みに引き上げることができた研究開発であった。
- 巨大生合成遺伝子クラスター取得技術として、BACベクターを用いる手法の開発を行ったが、世界でも限定したラボのみが取り扱える技術を、誰もが使える技術として確立したことは、今後我が国のこの分野の研究を大きく発展させることが期待される。また、BAC技術は、今後益々発展すると考えられるシークエンス技術の進歩とテーラーメイド医療へ大きく貢献することが期待される(次世代シークエンサーを用いたドラフトゲノムシークエンスとBACの精密シークエンスとのマッチング)。
- 本研究開発の最も大きな成果の一つは、これまでほとんど報告例が無かった大きな生合成遺伝子クラスターから生合成される化合物の異種発現生産と、それを実現するための技術の確立にある。また、これまで、自然から単離した菌株が生産しなかった化合物の生産を誘導できたこと、また生産性の向上を応用レベルで達成できたことは、今後の創薬スクリーニングに大きく貢献するものと考えられる。

## (3) 知的財産権、成果の普及

平成23年4月～平成25年12月

	平成23年度	平成24年度
特許出願(うち外国出願)	0	0
論文(査読付き)	33	29
外部発表	21	27
その他	4	5
計	58	61

事業原簿 III-49

平成25年12月11日現在 17/19

## 実用化の考え方

当該研究開発に係る生合成遺伝子クラスターライブラリーや技術の公開及び利用により、医薬品の開発に貢献する

## 4. 実用化の見通しについて (2) 成果の実用化可能性

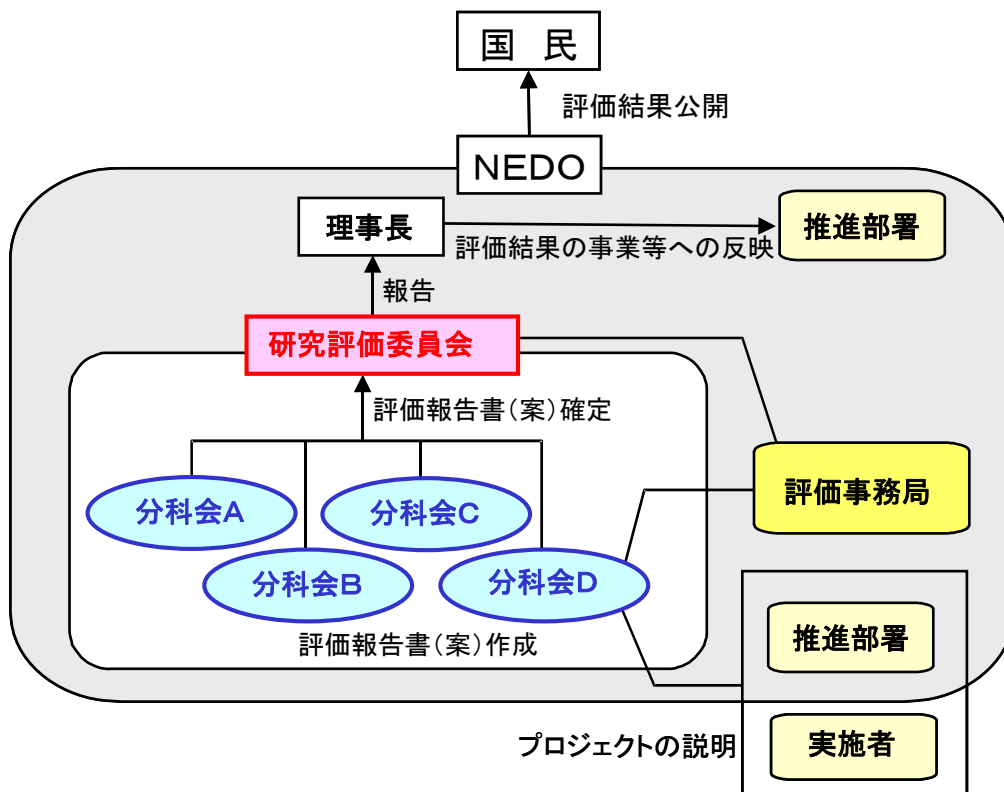
実用化項目	成果の実用化可能性	実用化までのシナリオ
次世代シークエンサーを用いた精密シークエンスによる目的生合成遺伝子の同定技術	○	既に幾つかの遺伝子に関しては、組合企業において産業利用されており、今後の本分野でのスタンダード法として普及させる。また、BACライブラリーと組み合わせた新規高精度シークエンス法を確立し、様々な生物の精密標準ゲノムシークエンス法として広く普及させ、テーラーメイド医療などでの産業応用に展開する。
BACベクターを用いた、巨大サイズのゲノムライブラリー作製技術およびクロニング法	○	BACライブラリー調製技術に関しては、受託事業として次世代天然物化学技術研究組合が事業化を行う。これまで誰も達成出来ていない、メタゲノム的手法による、巨大生合成遺伝子クラスターを取得可能な画期的技術として磨き上げ、新規化合物生産に応用する。
異種発現生産した化合物の創薬等スクリーニングへの応用	○	既に次世代天然物化学技術研究組合が行っている、天然物ライブラリーの普及活動に用いられており、今後の創薬等スクリーニングに広く利用する。 異種発現生産した化合物のうち、産業上有用な化合物に関しては、開発企業での応用試験を進める
生合成遺伝子クラスターの取得および異種発現生産に関するツールおよび技術に関するツール及びシステム	○	直ぐにでも、ライセンス化による普及利用を進める

## 参考資料 1 評価の実施方法

本評価は、「技術評価実施規程」（平成 15 年 10 月制定）に基づいて研究評価を実施する。

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）における研究評価の手順は、以下のように被評価プロジェクトごとに分科会を設置し、同分科会にて研究評価を行い、評価報告書（案）を策定の上、研究評価委員会において確定している。

- 「NEDO 技術委員・技術委員会等規程」に基づき研究評価委員会を設置
- 研究評価委員会はその下に分科会を設置



## 1. 評価の目的

評価の目的は「技術評価実施規程」において。

- 業務の高度化等の自己改革を促進する
- 社会に対する説明責任を履行するとともに、  
経済・社会ニーズを取り込む
- 評価結果を資源配分に反映させ、資源の重点化及び業務の効率化を  
促進する

としている。

本評価においては、この趣旨を踏まえ、本事業の意義、研究開発目標・計画の妥当性、計画を比較した達成度、成果の意義、成果の実用化の可能性等について検討・評価した。

## 2. 評価者

技術評価実施規程に基づき、事業の目的や態様に即した外部の専門家、有識者からなる委員会方式により評価を行う。分科会委員選定に当たっては以下の事項に配慮して行う。

- 科学技術全般に知見のある専門家、有識者
- 当該研究開発の分野の知見を有する専門家
- 研究開発マネジメントの専門家、経済学、環境問題、国際標準、その他社会的ニーズ関連の専門家、有識者
- 産業界の専門家、有識者
- ジャーナリスト

また、評価に対する中立性確保の観点から事業の推進側関係者を選任対象から除外し、また、事前評価の妥当性を判断するとの側面にかんがみ、事前評価に関与していない者を主体とする。

これらに基づき、分科会委員名簿にある6名を選任した。

なお、本分科会の事務局については、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構評価部が担当した。

## 3. 評価対象

平成23年度に開始された「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発／有用天然化合物の安定的な生産技術開発」プロジェクトを評価対象とした。

なお、分科会においては、当該事業の推進部署から提出された事業原簿、プ



プロジェクトの内容、成果に関する資料をもって評価した。

#### 4. 評価方法

分科会においては、当該事業の推進部署及び研究実施者からのヒアリングと、それを踏まえた分科会委員による評価コメント作成、評点法による評価及び実施者側等との議論等により評価作業を進めた。

なお、評価の透明性確保の観点から、知的財産保護の上で支障が生じると認められる場合等を除き、原則として分科会は公開とし、研究実施者と意見を交換する形で審議を行うこととした。

#### 5. 評価項目・評価基準

分科会においては、次に掲げる「評価項目・評価基準」で評価を行った。これは、研究評価委員会による『各分科会における評価項目・評価基準は、被評価プロジェクトの性格、中間・事後評価の別等に応じて、各分科会において判断すべきものである。』との考え方に従い、第1回分科会において、事務局が、研究評価委員会により示された「標準的評価項目・評価基準」（参考資料1-7頁参照）をもとに改定案を提示し、承認されたものである。

プロジェクト全体に係わる評価については、主に事業の目的、計画、運営、達成度、成果の意義や実用化に向けての見通しや取り組み等を評価した。

## 評価項目・評価基準

### 1. 事業の位置付け・必要性について

#### (1) NEDOの事業としての妥当性

- ・ 「健康安心イノベーションプログラム」の目標達成のために寄与しているか。
- ・ 民間活動のみでは改善できないものであること、又は公共性が高いことにより、NEDOの関与が必要とされる事業か。
- ・ 当該事業を実施することによりもたらされる効果が、投じた予算との比較において十分であるか。

#### (2) 事業目的の妥当性

- ・ 内外の技術開発動向、国際競争力の状況、エネルギー需給動向、市場動向、政策動向、国際貢献の可能性等から見て、事業の目的は妥当か。

### 2. 研究開発マネジメントについて

#### (1) 研究開発目標の妥当性

- ・ 内外の技術動向、市場動向等を踏まえて、戦略的な目標が設定されているか。
- ・ 目標達成度を測定・判断できる具体的かつ明確な開発目標を設定しているか。

#### (2) 研究開発計画の妥当性

- ・ 目標達成のために妥当なスケジュール、予算（各個別研究テーマごとの配分を含む）となっているか。
- ・ 目標達成に必要な要素技術を取り上げているか。
- ・ 研究開発フローにおける要素技術間の関係、順序は適切か。
- ・ 継続プロジェクトや長期プロジェクトの場合、技術蓄積を、実用化の観点から絞り込んだうえで活用が図られているか。

#### (3) 研究開発実施の事業体制の妥当性

- ・ 真に技術力と事業化能力を有する企業を実施者として選定しているか。
- ・ 適切な研究開発実施体制になっており、指揮命令系統及び責任体制が明確になっているか。

- ・ 目標達成及び効率的実施のために必要な実施者間の連携が十分に行われる体制となっているか。
- ・ 知的財産取扱（実施者間の情報管理、秘密保持、出願・活用ルール含む）に関する考え方は整備され、適切に運用されているか。

#### (4) 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性

- ・ 成果の実用化につなげる戦略が明確になっているか。
- ・ 成果の実用化シナリオに基づき、成果の活用・実用化の担い手、ユーザーが関与する体制を構築しているか。
- ・ 全体を統括するプロジェクトリーダーが選任されている場合、成果の実用化シナリオに基づき、適切な研究開発のマネジメントが行われているか。
- ・ 成果の実用化につなげる知財戦略(オープン/クローズ戦略等)が明確になっており、かつ妥当なものか。

#### (5) 情勢変化への対応等

- ・ 進捗状況を常に把握し、社会・経済の情勢の変化及び政策・技術動向等に機敏かつ適切に対応しているか。

### 3. 研究開発成果について

#### (1) 目標の達成度と成果の意義

- ・ 成果は目標を達成しているか。
- ・ 成果は将来的に市場の拡大あるいは市場の創造につながることで期待できるか。
- ・ 成果は、他の競合技術と比較して優位性があるか。
- ・ 目標未達成の場合、達成できなかった原因が明らかで、かつ目標達成までの課題を把握し、この課題解決の方針が明確になっているなど、成果として評価できるか。
- ・ 設定された目標以外に技術的成果があれば付加的に評価する。
- ・ 世界初、世界最高水準、新たな技術領域の開拓、又は汎用性のある成果については、将来の産業につながる観点から特に顕著な成果が上がっている場合は、海外ベンチマークと比較の上で付加的に評価する。
- ・ 投入された予算に見合った成果が得られているか。
- ・ 大学又は公的研究機関で企業の開発を支援する取り組みを行った場合には、具体的に企業の取り組みに貢献しているか。

(2) 知的財産権等の取得及び標準化の取組

- ・ 知的財産権等の取扱（特許や意匠登録出願、著作権や回路配置利用権の登録、品種登録出願、営業機密の管理等）は事業戦略、又は実用化計画に沿って国内外に適切に行われているか。

(3) 成果の普及

- ・ 論文等の対外的な発表は、将来の産業につながる観点から戦略的に行われているか。
- ・ 成果の活用・実用化の担い手・ユーザー等に対して、適切に成果を普及しているか。また、普及の見通しは立っているか。  
一般に向けて広く情報発信をしているか。

4. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

本項目における「実用化」の考え方

当該研究開発に係る生合成遺伝子クラスターライブラリーや技術の公開および利用により、医薬品の開発に貢献する。

(1) 成果の実用化の見通し

- ・ 実用化イメージに基づき、課題及びマイルストーンが明確になっているか。
- ・ プロジェクトの直接の成果ではないが、特に顕著な波及効果(技術的・経済的・社会的効果、人材育成等)がある場合には付加的に評価する。

(2) 実用化に向けた具体的取り組み

- ・ 成果の実用化に向けて、誰がどのように引き続き研究開発に取り組むのか明確になっているか。

## 標準的評価項目・評価基準

平成25年5月16日

NEDO

### はじめに

本「標準的評価項目・評価基準」は、「技術評価実施規程」に定める技術評価の目的※を踏まえ、NEDOとして評価を行う上での標準的な評価項目及び評価基準として用いる。

本文中の「実用化・事業化」に係る考え方及び評価の視点に関しては、対象となるプロジェクトの特性を踏まえ必要に応じ評価事務局がカスタマイズする。

※「技術評価実施規程」第5条(技術評価の目的) ①業務の高度化等自己改革の促進、②社会への説明責任、経済・社会ニーズの取り込み、③評価結果の資源配分反映による、資源の重点化及び業務の効率化促進

なお「評価項目」、「評価基準」、「評価の視点」は、以下のとおり。

- ◆評価項目：「1. . . .」
- ◆評価基準：上記、各項目中の「(1) . . . .」
- ◆評価の視点：上記、各基準中の「・」

### 評価項目・基準・視点

#### 1. 事業の位置付け・必要性について

##### (1) NEDOの事業としての妥当性

- ・ 特定の施策（プログラム）、制度の下で実施する事業の場合、当該施策・制度の目標達成のために寄与しているか。
- ・ 民間活動のみでは改善できないものであること、又は公共性が高いことにより、NEDOの関与が必要とされる事業か。
- ・ 当該事業を実施することによりもたらされる効果が、投じた予算との比較において十分であるか。

##### (2) 事業目的の妥当性

- ・ 内外の技術開発動向、国際競争力の状況、エネルギー需給動向、市場動向、政策動向、国際貢献の可能性等から見て、事業の目的は妥当か。

## 2. 研究開発マネジメントについて

### (1) 研究開発目標の妥当性

- ・ 内外の技術動向、市場動向等を踏まえて、戦略的な目標が設定されているか。
- ・ 目標達成度を測定・判断できる具体的かつ明確な開発目標を設定しているか。

### (2) 研究開発計画の妥当性

- ・ 目標達成のために妥当なスケジュール、予算（各個別研究テーマごとの配分を含む）となっているか。
- ・ 目標達成に必要な要素技術を取り上げているか。
- ・ 研究開発フローにおける要素技術間の関係、順序は適切か。
- ・ 継続プロジェクトや長期プロジェクトの場合、技術蓄積を、実用化の観点から絞り込んだうえで活用が図られているか。

### (3) 研究開発実施の事業体制の妥当性

- ・ 真に技術力と事業化能力を有する企業を実施者として選定しているか。
- ・ 適切な研究開発実施体制になっており、指揮命令系統及び責任体制が明確になっているか。
- ・ 研究管理法をを経由する場合、研究管理法が真に必要な役割を担っているか。
- ・ 目標達成及び効率的実施のために必要な実施者間の連携 and/or 競争が十分に行われる体制となっているか。
- ・ 知的財産取扱（実施者間の情報管理、秘密保持、出願・活用ルール含む）に関する考え方は整備され、適切に運用されているか。

### (4) 研究開発成果の実用化・事業化に向けたマネジメントの妥当性

（基礎的・基盤的研究開発及び知的基盤・標準整備等研究開発の場合は、「事業化」を除く）

- ・ 成果の実用化・事業化につなげる戦略が明確になっているか。
- ・ 成果の実用化・事業化シナリオに基づき、成果の活用・実用化の担い手、ユーザーが関与する体制を構築しているか。
- ・ 全体を統括するプロジェクトリーダーが選任されている場合、成果の実用化・事業化シナリオに基づき、適切な研究開発のマネジメントが行われているか。

- ・ 成果の実用化・事業化につなげる知財戦略(オープン/クローズ戦略等) や標準化戦略が明確になっており、かつ妥当なものか。

#### (5) 情勢変化への対応等

- ・ 進捗状況を常に把握し、社会・経済の情勢の変化及び政策・技術動向等に機敏かつ適切に対応しているか。

### 3. 研究開発成果について

#### (1) 目標の達成度と成果の意義

- ・ 成果は目標を達成しているか。
- ・ 成果は将来的に市場の拡大あるいは市場の創造につながることを期待できるか。
- ・ 成果は、他の競合技術と比較して優位性があるか。
- ・ 目標未達成の場合、達成できなかった原因が明らかで、かつ目標達成までの課題を把握し、この課題解決の方針が明確になっているなど、成果として評価できるか。
- ・ 設定された目標以外に技術的成果があれば付加的に評価する。
- ・ 世界初、世界最高水準、新たな技術領域の開拓、又は汎用性のある成果については、将来の産業につながる観点から特に顕著な成果が上がっている場合は、海外ベンチマークと比較の上で付加的に評価する。
- ・ 投入された予算に見合った成果が得られているか。
- ・ 大学又は公的研究機関で企業の開発を支援する取り組みを行った場合には、具体的に企業の取り組みに貢献しているか。

#### (2) 知的財産権等の取得及び標準化の取組

- ・ 知的財産権等の取扱（特許や意匠登録出願、著作権や回路配置利用権の登録、品種登録出願、営業機密の管理等）は事業戦略、又は実用化計画に沿って国内外に適切に行われているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、得られた研究開発の成果に基づく国際標準化に向けた提案等の取組が適切に行われているか。

#### (3) 成果の普及

- ・ 論文等の対外的な発表は、将来の産業につながる観点から戦略的に行われているか。
- ・ 成果の活用・実用化の担い手・ユーザー等に対して、適切に成果を普及しているか。また、普及の見通しは立っているか。

- ・ 一般に向けて広く情報発信をしているか。

#### (4) 成果の最終目標の達成可能性(中間評価のみ設定)

- ・ 最終目標を達成できる見込みか。
- ・ 最終目標に向け、課題とその解決の道筋が明確に示され、かつ妥当なものか。

### 4. 実用化・事業化に向けての見通し及び取り組みについて

#### 本項目における「実用化・事業化」の考え方

当該研究開発に係る試作品、サービス等の社会的利用(顧客への提供等)が開始されることであり、さらに、当該研究開発に係る商品、製品、サービス等の販売や利用により、企業活動(売り上げ等)に貢献することを言う。

なお、評価の対象となるプロジェクトは、その意図する効果の範囲や時間軸に多様性を有することから、上記「実用化・事業化」の考え方はこうした各プロジェクトの性格を踏まえ必要に応じカスタマイズして用いる。

#### (1)成果の実用化・事業化の見通し

- ・ 産業技術としての見極め(適用可能性の明確化)ができているか。
- ・ 実用化に向けて課題が明確になっているか。課題解決の方針が明確になっているか。
- ・ 成果は市場やユーザーのニーズに合致しているか。
- ・ 実用化に向けて、競合技術と比較し性能面、コスト面を含み優位性は確保される見通しはあるか。
- ・ 量産化技術が確立される見通しはあるか。
- ・ 事業化した場合に対象となる市場規模や成長性等により経済効果等が見込めるものとなっているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、国際規格化等、標準整備に向けた見通しが得られているか。
- ・ プロジェクトの直接の成果ではないが、特に顕著な波及効果(技術的・経済的・社会的効果、人材育成等)がある場合には付加的に評価する。

#### (2)実用化・事業化に向けた具体的取り組み

- ・ プロジェクト終了後において実用化・事業化に向けて取り組む者が明確になっているか。また、取り組み計画、事業化までのマイルストーン、



事業化する製品・サービス等の具体的な見通し等は立っているか。

◆プロジェクトの性格が「**基礎的・基盤的研究開発**」である場合は以下を適用

4. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

(1) 成果の実用化の見通し

- ・ 実用化イメージに基づき、課題及びマイルストーンが明確になっているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、国際規格化等、標準整備に向けた見通しが得られているか。
- ・ プロジェクトの直接の成果ではないが、特に顕著な波及効果(技術的・経済的・社会的効果、人材育成等)がある場合には付加的に評価する。

(2) 実用化に向けた具体的取り組み

- ・ 成果の実用化に向けて、誰がどのように引き続き研究開発を取り組むのか明確になっているか。

◆プロジェクトの性格が「**知的基盤・標準整備等の研究開発**」である場合は以下を適用

4. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

(1) 成果の実用化の見通し

- ・ 整備した知的基盤についての利用は実際にあるか、その見通しが得られているか。
- ・ 公共財として知的基盤を供給、維持するための体制は整備されているか、その見込みはあるか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、国際規格化等、標準整備に向けた見通しが得られているか。
- ・ J I S 化、標準整備に向けた見通しが得られているか。注) 国内標準に限る
- ・ 一般向け広報は積極的になされているか。
- ・ プロジェクトの直接の成果ではないが、特に顕著な波及効果(技術的・経済的・社会的効果、人材育成等)がある場合には付加的に評価する。

(2) 実用化に向けた具体的取り組み

成果の実用化に向けて、誰がどのように引き続き研究開発を取り組むのか明確になっているか。

## 参考資料 2 評価に係る被評価者意見

研究評価委員会（分科会）は、評価結果を確定するにあたり、あらかじめ当該実施者に対して評価結果を示し、その内容が、事実関係から正確性を欠くなどの意見がある場合に、補足説明、反論などの意見を求めた。研究評価委員会（分科会）では、意見があったものに対し、必要に応じて評価結果を修正の上、最終的な評価結果を確定した。

評価結果に対する被評価者意見は全て反映された。

## 参考資料 3 分科会議事録

**研究評価委員会**  
**「ゲノム創薬加速化支援バイオ産業基盤技術開発／有用天然化合物の安定的な生産技術開発」**  
**(事後評価) 分科会**  
**議事録**

日 時：平成25年12月11日(水) 13:00～18:00

場 所：WTC コンファレンスセンター Room A (世界貿易センタービル3階)

出席者(敬称略、順不同)

<分科会委員>

分科会長	早川 正幸	山梨大学 大学院医学工学総合研究部 医学・工学融合学域 教授(生命環境学部長)
分科会長代理	及川 英秋	北海道大学 大学院理学研究院 化学部門 有機反応論研究室 教授
委員	江口 正	東京工業大学 大学院理工学研究科 物質科学専攻 教授
委員	五味 勝也	東北大学大学院 農学研究科 生物産業創成科学専攻 遺伝子情報システム学分野 教授
委員	中川 智	協和発酵バイオ株式会社 ヘルスケア商品開発センター 学術研究企画室 室長
委員	村田 道雄	大阪大学 大学院理学研究科 化学専攻 生体分子化学研究室 教授

<推進者>

山崎 知巳	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部 部長
加藤 紘	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部 プログラムマネージャー
三代川 洋一郎	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部 主任研究員
坂本 俊一	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部 主査

<実施者>

新家 一男 (PL)	独立行政法人 産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 次世代天然物化学技術研究組合 上級主任研究員
池田 治生	北里大学 北里生命科学研究所 教授
高橋 俊二	理化学研究所 基幹研究所 ケミカルバイオロジー研究領域 ユニットリーダー
南 多善	次世代天然物化学技術研究組合 専務理事
佐藤 文治	次世代天然物化学技術研究組合 研究開発部長
葛山 智久	東京大学 生物生産工学研究センター 准教授

<企画調整>

林 智佳子	NEDO 総務企画部 主任
-------	---------------

<事務局>

竹下 満	NEDO 評価部 部長
保坂 尚子	NEDO 評価部 主幹
成田 健	NEDO 評価部 主査

## 議事次第

### 【公開セッション】

1. 開会、分科会の設置について、資料の確認
2. 分科会の公開について
3. 評価の実施方法について
4. 評価報告書の構成について
5. プロジェクトの概要説明
  - 5-1. 事業の位置付け・必要性、研究開発マネジメントについて
  - 5-2. 研究開発成果および実用化に向けての見通し及び取り組みについて
  - 5-3. 質疑

### ◆非公開資料の取り扱いに関する説明（評価部）

### 【非公開セッション】

6. プロジェクトの詳細説明
  - 6-1. 合成遺伝子クラスターライブラリーの構築
  - 6-2. 安定生産技術の開発
  - 6-3. 実用化に向けた見通し及び取り組み
7. 全体を通しての質疑

### 【公開セッション】

8. まとめ・講評
9. 今後の予定、その他
10. 閉会

## 議事内容

1. 開会、分科会の設置について、資料の確認
  - ・開会宣言（事務局）
  - ・研究評価委員会分科会の設置について、資料1-1、1-2に基づき事務局より説明。
  - ・早川分科会長挨拶
  - ・出席者（委員、推進者、実施者、事務局）の紹介（事務局、推進者）
  - ・配布資料確認（事務局）
2. 分科会の公開について

事務局より資料2-1及び2-2に基づき説明し、議題6.「プロジェクトの詳細説明」、議題7.「全体を通しての質疑」を非公開とすることが了承された。
3. 評価の実施方法について

評価の手順を事務局より資料3-1～3-5に基づき説明し、了承された。
4. 評価報告書の構成について

評価報告書の構成を事務局より資料4に基づき説明し、事務局案どおり了承された。
5. プロジェクトの概要説明
  - 5-1. 事業の位置付け・必要性、研究開発マネジメントについて
  - 5-2. 研究開発成果および実用化に向けての見通し及び取り組みについて推進部、実施者より資料6-1～6-2に基づき説明が行われた。

【早川分科会長】 ただいまの説明に意見、質問等お願いします。技術の詳細は後ほど議題6で議論します。

ここでは主に事業の位置付け・必要性、マネジメント等についてお願いします。

【及川分科会長代理】 研究の対象となる化合物はクラスターから生成が予想されるものにしたのですか。

【産総研：新家上級主任研究員 (PL)】 2通りの考え方で標的化合物を決定しました。エリスロマイシンやエバーメクチン、FK506、ラパマイシンなどの生合成遺伝子として報告されたものは絶対に作らせたかったので対象にしました。それ以外に、シークエンスの結果として見つけた面白い遺伝子を対象にしました。

【及川分科会長代理】 我々も研究対象に設定して研究を展開していますが、狙って採ることは意外に難しい。化合物を40個採ることは厳しいハードルだったと思います。これだけ採ることができればかなりの数の論文を書くことができます。化合物の安定性や、導入遺伝子、PKS（ポリケチド合成酵素）などを扱った場合に勝手に組み換わることもあると思います。技術的なことですが、それはどうですか。

【産総研：新家上級主任研究員 (PL)】 対象化合物の選抜とは離れるかもしれませんが、SUKA株に関しては、タイプI PKSは非常に成績が良かった。できなかった化合物のほうが少なかったと思います。

【及川分科会長代理】 大腸菌などで行うと起こりそうなことが、この株では使えた、事業化はこれによって大きく進んだということですか。

【産総研：新家上級主任研究員 (PL)】 はい。BAC (Bacterial Artificial Chromosome) のクローンは大腸菌内でも安定していますが、コスミドは配列によっては不安定なものもあります。コスミドレベルでシークエンスする方はホスミドも使うとよく言います。我々の場合、コスミドで採った遺伝子が不安定なので、BACで作直す、またはBACに載せ換えることも行っていました。

ご質問は中で不安定に組み換えが起きるかどうかですが、放線菌内で培養中に組み換えが起きて壊れることは、我々が見ている中ではほとんどありませんでした。もっとも、SUKA株に入れる時にメチル化を外します。メチル化を外すと不安定になる現象があるので、遺伝子によっては不安定なものがあると思います。ただし、入れてしまえばゲノムに組み込まれる形で安定して保存されます。

【及川分科会長代理】 遺伝子の発現制御は難しい部分があります。我々も異種発現等を試みる場合は博打のような形で、入れて作るという感じで進めています。これだけの数を手がけてくると、何か見えてくるものがあると思います。そういう副産物はこの事業を通して何かありますか。

【産総研：新家上級主任研究員 (PL)】 個々の化合物ではあまりわかりませんでした。ホストによって好き嫌いがあるという傾向は若干見られました。それから、耐性遺伝子が重要と思われませんが、この事業の本来の目標は、何も行わないで、どの程度可能か確かめることでした。何も行わなくとも5割から6割はできる。きちんと生産する菌に入れればできることを証明したことが一つの成果です。制御はプロモーターを変えたり、耐性遺伝子を足して作ることができるので、目的にかなった化合物を作ろうと思えば作ることのできる時代になってきた。ただし、ホストによっては好き嫌いが多少あるため、良いホストをいくつか作っておくことが大切な点だと思います。

【五味委員】 及川分科会長代理の質問に関連しますが、多くの研究を行い、素晴らしい成果を挙げました。最初に研究対象となる化合物40個を選ぶ時、構造の特性でテルペンやPKS系、ペプチド系などいろいろある中で、バラエティを幅広く捉えたのか、重要性から進めたのか、化合物選択のプライオリティは何かありますか。

【産総研：新家上級主任研究員 (PL)】 まず、構造のバラエティは、この後にスクリーニングサンプルに加

えたいということと、どれだけ汎用性が高いかを証明するために、各グループ、一般的に分類されている化合物は全て行おうということで選びました。それぞれの中では、たとえばタイプⅠPKS で容易なものを選ぶのではなくて、医薬品になっているもの、タイプⅡであればアドリアマイシンなど、そういうものを狙う選び方をしました。

【早川分科会長】 今の質問ですが、最終的に、化合物の種類によって異種での発現が起きにくいものときやすいもの、そういう分類は何かできますか。

【産総研：新家上級主任研究員 (PL)】 確実にはできません。そういった傾向の存在がわかった程度です。できないわけではありませんが、絶対的なことは言えません。たとえばタイプⅡPKS ではアルブスがよいのではないかと、といった知識が経験的に増えてきました。

【早川分科会長】 ありがとうございます。そのほかに何かありますか。

【村田委員】 大変すばらしい業績で驚いています。天然物化学の立場から言うと、1 リッターに 5 ミリグラムは微妙な量です。実際に 5 ミリグラムをきちんと採ることができますか。

【産総研：新家上級主任研究員 (PL)】 最初に作るか、作れないかは 100 ミリリットルの培養で、UV や質量計測器の大きさでどの程度作るか算定して判断しています。作るものに関しては、全て 1 リットルから 2 リットル培養して、重さを測定した量をそこに記載しています。

【村田委員】 きちんと抽出して精製しているのですね。

【産総研：新家上級主任研究員 (PL)】 全部精製しました。そのまま配ることができる形になっています。

【村田委員】 それは素晴らしい。今後の課題になるかもしれませんが、実際に化合物を作って、こういう方法で使うとすれば、10 リッターで 50 ミリグラム採っても少し足りないことがあります。その場合、生産性を上げる方向性は、たとえば利用する企業などが行うとすれば、その後のことはお任せするのですか。

【産総研：新家上級主任研究員 (PL)】 いえ、今、後継プロジェクトでセットを作っています。たとえば、レギュレーターセットを作り、それを組み込むことによって生産性を上げる。それから、耐性を強くすることによって生産性を上げる。自分がだめになって作らなくなるパターン也多そうです。研究を進めていく中で、中間体まで作るのですが最終産物に至らないものがかなりありましたので、そうした方法で対処しています。それから、同じホストの中でも、皆さんも培地検討をよく行うと思います。培地検討を行うと一気に 10 倍上がることもあります。

もう一つ。これはまだ証明できていませんが、同じホストの中でもノンスコアを作るとたくさん作る場合もあるようなので、そういったことで上げている例もあります。

【村田委員】 後継プロジェクトも含めて、5mg/l から上げることも視野に入れて研究しているのですか。

【産総研：新家上級主任研究員 (PL)】 そうです。重要なもの、たとえばラパマイシンや FK506 は 1mg/l が達成できていないので、今作らせようと取り組んでいます。

それから、精製に関して全部実施したと言いましたが、このシステムの非常に良いところは、内在性の生合成遺伝子をカットしているので精製が容易なことです。推進委員会でもよく言うのですが、私の中学生の子供を液クロの横に立たせて「おまえ、やれ」と言ってもできるほどです。きれいに、そのピークしか出てきません。たとえば企業で使用してもらう時に、天然物のアイソレーションができる方は少なくなったと思いますが、たくさん作らせれば合成化合物よりも容易に精製ができるプロファイリングになっています。これは後でいろいろ例が出てくると思います。非常に精製が容易です。



精製が大変なためにもものが確保できない例がたくさんありますが、そうしたこともクリアできる優秀なシステムではないかと思えます。

【村田委員】 最終的な産業応用を考えると、スクリーニングにも、ライブラリーの拡充にも使うことができますね。それと、臨床試験などの物質生産とは話が違うといえますか、研究の方向性が違います。どちらに重点を置いて進めますか。

【産総研：新家上級主任研究員 (PL)】 両面行っています。ラパマイシンなどの重要なものはいかに生産性を上げるか研究しています。開発中の化合物で生産が少なく、かつ有機合成が難しい化合物は、NE DO の課題解決型実用化開発助成事業でいくつか受けているものがあります。もう一つは、海洋微生物が作るものを作らせようという応用面が広がっており、両面で進めています。

【村田委員】 確かに、ソースを変えてライブラリーを拡充することは重要と思ひ質問しました。

【早川分科会長】 そのほかにありますか。では、私から。

後継プロジェクトの話が出ました。差し支えない範囲で、この成果を後継プロジェクトにどのようにつなげていくのか、その観点から説明をお願いします。

【産総研：新家上級主任研究員 (PL)】 後継プロジェクトは経産省直執行のプロジェクトとして動いています。このプロジェクトの成果を後継プロジェクトにどう生かしていくか、一例として、今までメタゲノムを使う場合は BAC ではなくコスミドで採っていた。すると 50kbp 以内、メタゲノムで行うと短いものしか採れません。そこを BAC で大きく一度に採る研究に取り組んでいます。土壌や海綿、ホヤの中の微生物から BAC を作って、そのライブラリーを作ると、普通の放線菌では 384 ウェルプレート 2 枚程度で埋まります。生合成遺伝子のパターンがわかっているものだけですが、その中から欲しい対象を容易に引っ張ってくることができます。そうしたことを後継プロジェクトで進めています。

また、なぜ作るかということについて。このプロジェクトでは 40 化合物、実際には 64 個の化合物を手がけました。その結果として培地により作る、作らない、のパターンをたくさん持っています。しかも、違う生産菌のシーケンスを行い比べてもわからない部分が、同一のホストで作る、作らないを制御しているので、遺伝子発現パターンやメタボロームの部分で、なぜ作るか、なぜ生産性が上がるか、原因を究明しようとしています。

【早川分科会長】 ありがとうございます。そのほか、委員の先生方、何かありますか。よろしいですか。ほかにもご意見、ご質問があるかと思えますが、本プロジェクトの詳細はこの後説明してもらいます。その際に質問をお願いします。

#### 【非公開セッション】

#### 6. プロジェクトの詳細説明

- 6-1. 生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築
- 6-2. 安定生産技術の開発
- 6-3. 実用化に向けた見直し及び取り組み

#### 7. 全体を通しての質疑

省略

#### 【公開セッション】

#### 8. まとめ・講評

【早川分科会長】 委員から講評をいただきます。村田委員から始めて最後に私という順番にします。まず村

田委員お願いします。

【村田委員】 研究の内容を聞き、様々なことが可能になったことに強い感銘を受けました。当初の研究目的が有用な天然化合物を安定的に生産することであったため、特にライブラリー構築等と関連して説明が行われました。それは非常に重要なことです。今後も継続していけば、我が国の製薬や伝統的な天然化合物を使った産業の復活につながるので、ぜひ強化すべき分野です。

加えて、派生してくるものがたくさんありそうです。素晴らしい技術から派生してくる少し違った分野にも役立ち、産業利用が進む方向で今後成果が利用されていくとなおよいと思います。

【早川分科会長】 ありがとうございます。次に中川委員、お願いします。

【中川委員】 2点あります。私は2年間、この研究を行っている時から推進委員として見ていました。当初の目的をほぼ達成するよい成果が出ています。今日も話を聞きながら、この成果でどのようにして儲けるか、どのようにすれば儲かるか、ここまでできればお金を儲けることができるのではないかと考えていました。ただ、組合員がどこまでお金儲けをしてよいかわかりません。シークエンスも含めて、組合に加入していない池田先生、北里大学も入っています。トータルシステムとして提供することが重要かもしれません。お金を儲ける手段を考えることができればよいと思います。

もう一つ、当初の目的に、この技術をもとにした天然化合物研究の復興があります。次のプロジェクトも始まっていますが、当初の目的を加速する戦略、方策を意識して、経済産業省の資金も使いながら、成果を日本が潤うところに早く直結させてほしいと思います。

【早川分科会長】 ありがとうございます。では、五味委員、お願いします。

【五味委員】 私は、ものづくりということではカビを使っています。今日、放線菌の偉大さを、バクテリアで育成も早いという有利な点を利用して実現したことを知り、感銘を受けました。2年間でこれだけ高いレベルの目標を達成したことは素晴らしい。もともと新家氏の産業総合研究所が様々な化合物のライブラリーを持ち、池田氏の放線菌の宿主-ベクター系とマッチして目標を達成した。同時に、シークエンスも、次世代または次々世代シークエンサーを使った正確、精度の高い技術が医療という別分野で利用できる波及効果もあった。このプロジェクトの成果、単なる天然化合物だけでなく、違う部分にも進展したことは素晴らしいと思います。

もう一つは、中川委員が言われた通り、日本の強い分野だった天然物化合物の技術をもとに企業と産官学が連携して、もう一度素晴らしいものに発展させてもらうとよいと感じました。

【早川分科会長】 ありがとうございます。それでは、江口委員、お願いします。

【江口委員】 ミリグラムの化合物を40個以上という最初の目的を2年間のプロジェクトで本当に達成できるのかと思っていました。それが早々と1年半ほどで達成して、もとのプロジェクトの目的だけではなく、幅広く様々なことに裾野を広げたことは、このプロジェクトの一つの成果であると思います。

もちろん、評価委員の皆さんが言われたように、日本の天然化合物の研究を再び盛んにする。日本の学問領域に成果を戻すことで日本の科学界、それに引き続いて産業界の活性化に貢献できるとよい。また、できると思っています。後継プロジェクトも含めて今後より一層努力してほしいと思います。

【早川分科会長】 ありがとうございます。及川委員、お願いします。

【及川分科会長代理】 我々も大学の研究室の中で細々と似た研究を続けており、企業がもう採れないといって撤退する中で、なぜこれほどポテンシャルがあるのにと歯がゆい思いをしていました。ゲノムの解析技術の進展と共に、実はこういうふうにできると実例を挙げたことは大きな成果だと思います。

クラスター技術の取得、特に大きな遺伝子は個人の実験室で扱えないと思っていました。しかし、ある程度のノウハウを習得すれば研究者も企業も使うことができるという視点を与え、もう一度見直してみようというところまで持ってきたことは大きな成果だと思います。

生物のシステムを使いこなすことはそう簡単なことではありません。材料の専門家と話をするとギャップを感じるのですが、やはり足し算ではなく、複雑なファクターを全部整理して解く必要があるという面があります。そこも含めて、短い期間ながらこれだけ使うことができる技術になったことを示したことは高く評価すべきです。

後継プロジェクトも走っています。その中から何か実用的なものが見付かってくれば、もう一度、こうした素晴らしい技術を日本は持っているとし示してみせることができると思いました。

**【早川分科会長】** ありがとうございます。それでは、私から。

各委員の話の繰返しになりますが、このプロジェクトは「健康安心イノベーションプログラム」の一貫として、最終的な目標は健康寿命の延長、新規産業の創出に結びつくと思います。創薬や企業の競争力強化につながる基礎的研究がこのプロジェクトで確立されたと高く評価できると思います。

先ほど来お話があったように、世界をリードしていた我が国の天然物化合物の研究、新家先生に代表される研究と、放線菌ゲノムに関する最先端の研究、池田先生の研究、BACベクターを用いた生合成遺伝子ライブラリーの構築やクローニング、異種放線菌への導入、そうした高い技術を企業でも導入可能なレベルまで押し上げた、一般化したことは評価できると思います。

既に新しいプロジェクトを進めています。私は微生物の多様性などを研究しているので、その観点から、ストレプトミセス以外の生物、希少な放線菌も含んだ生物にも今後、研究を発展させてほしいと思います。生物は無限なので、こうした天然物の研究もさらに発展していくと感じました。

委員の先生からご意見をいただきました。さらに補足はありませんか。よろしいでしょうか。

では、推進部長、プロジェクトリーダーから最後に何か一言あればお願いします。

**【NEDO：山崎部長】** バイオ部長の山崎です。本日は闊達な審議、また、大変ためになるコメントを多々いただき、ありがとうございます。

早川分科会長にまとめていただいたように、私ども、本プロジェクトへの高い評価とともに、今後、実用化に向けた期待をいただいたと理解しています。2年間という短期間でありましたが、当初の目標を超える成果を得ました。皆様が言われたように、世界をリードする技術をビジネスにつなげることが重要です。日本では「技術で勝ってビジネスで負ける」とよく言われますが、そうならないように、一つでも実用化の成功事例を作っていくことが大事だと思っています。

改めて、本日はどうもありがとうございます。

**【産総研：新家上級主任研究員（PL）】** プロジェクト開始当時は様々な改革が行われようとしていた時であり、このプロジェクトが成立するかどうかという時もありました。その時に、経産省の新階氏に尽力していただきました。同省製造産業局生物化学産業課の方々にも各省に働きかけていただき、プロジェクトを立ち上げることができたことに感謝します。また、これらの方々による後継プロジェクトへの支援にも感謝します。

NEDOにも多くの支援をしてもらいました。加速予算を1億円獲得して質量分析器を入れようとした時に、このような細かなことを聞くのかと思うこともありましたが、あれが入ったおかげで研究を早めることができました。プロジェクトの立ち上がり時に制度的なトラブルがあり、うまくいかない

のではないかと思った時に、主査から、予算が獲得できたのだからドンと構えて進めましようと言われたことを今でも覚えています。そうした形で多くの方々の支援に感謝します。

推進委員の先生方にも様々なコメントをもらいました。産総研ではよく「部隊」といいますが、この部隊は大変よく働きます。今この場にいませんが、そのスタッフたちにも感謝します。これができないという、池田先生がすぐに解決してくれました。その結果がこの成果になったと思います。プロジェクトを実施してもらった高橋先生、葛山先生、シークエンスを行ってもらった藤江氏、佐藤先生にも感謝したいと思います。

9. 今後の予定、その他

10. 閉会

## 配布資料

- 資料 1-1 研究評価委員会分科会の設置について
- 資料 1-2 NEDO 技術委員・技術委員会等規程
- 資料 2-1 研究評価委員会分科会の公開について (案)
- 資料 2-2 研究評価委員会関係の公開について
- 資料 2-3 研究評価委員会分科会における秘密情報の守秘について
- 資料 2-4 研究評価委員会分科会における非公開資料の取り扱いについて
- 資料 3-1 NEDO における研究評価について
- 資料 3-2 技術評価実施規程
- 資料 3-3 評価項目・評価基準
- 資料 3-4 評点法の実施について (案)
- 資料 3-5 評価コメント及び評点票 (案)
- 資料 4 評価報告書の構成について (案)
- 資料 5-1 事業原簿 (公開)
- 資料 5-2 事業原簿 (非公開)
- 資料 6-1 プロジェクトの概要説明資料 (公開)  
事業の位置付け・必要性、研究開発マネジメント
- 資料 6-2 プロジェクトの概要説明資料 (公開)  
研究開発成果、実用化に向けての見通し及び取り組み
- 資料 7-1 プロジェクトの詳細説明資料 (非公開)  
生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築
- 資料 7-2 プロジェクトの詳細説明資料 (非公開)  
安定生産技術の開発
- 資料 7-3 プロジェクトの詳細説明資料 (非公開)  
実用化に向けての見通し及び取り組み
- 資料 8 今後の予定

## ○その他

以上

## 参考資料4

評価結果を受けた今後の取り組み方針について

評価結果を受けた今後の取り組み方針について

評価における主な今後の提言	今後の取り組み方針
<p>○異種放線菌ホスト株へ導入した巨大生合成遺伝子クラスター、休眠あるいは未知の生合成遺伝子クラスターの恒常的発現が成されるような手法を研究、開発していただきたい。</p> <p>○放線菌の属種は極めて多様であり、Streptomyces 属以外の希少放線菌の生合成遺伝子クラスターへも適用できれば、天然物スクリーニングの新たな展開を導くと思われる。</p> <p>○本技術は、創薬を目的とした天然物化合物研究のみならず、グリーンバイオ領域をはじめ、広くバイオテクノロジー産業に活用できるものと思われるので、技術活用を求めるべく、NEDO・実施者は一般への広報活動も強化して欲しい。</p>	<p>○経済産業省で実施中の後継プロジェクトにおいての検討を予定している。</p> <p>○経済産業省で実施中の後継プロジェクトにおいての検討を予定している。</p> <p>○関連学会や展示会等において後継プロジェクトの進捗を踏まえながら成果をPRしていく。</p>

本研究評価委員会報告は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）評価部が委員会の事務局として編集しています。

平成26年3月

**NEDO 評価部**

部長 竹下 満

主幹 保坂 尚子

担当 成田 健

\*研究評価委員会に関する情報は NEDO のホームページに掲載しています。

([http://www.nedo.go.jp/introducing/iinkai/kenkyuu\\_index.html](http://www.nedo.go.jp/introducing/iinkai/kenkyuu_index.html))

〒212-8554 神奈川県川崎市幸区大宮町1310番地

ミュージアム川崎セントラルタワー20F

TEL 044-520-5161 FAX 044-520-5162