

NEDOが推進するスマートセル・プロジェクト Smart Cell Project Promoted by NEDO

植物・微生物から工業材料を生産する、革新的バイオテクノロジーの開発
Development of "made-in-Japan" innovative biotechnologies for efficient production of industrial materials using plants and microorganisms

国立研究開発法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構
材料・ナノテクノロジー部 バイオエコノミー推進室
〒212-8554 神奈川県川崎市幸区大宮町1310 ミューザ川崎セントラルタワー 19F
Tel 044-520-5220 Fax 044-520-5223
<https://www.nedo.go.jp>

New Energy and Industrial Technology Development Organization
Materials Technology and Nanotechnology Department
Bioeconomy Promotion Division
MUZA Kawasaki Central Tower 19F, 1310 Omiya-cho, Saiwai-ku, Kawasaki City, Kanagawa 212-8554 Japan
Tel +81-44-520-5220 Fax +81-44-520-5223
<https://www.nedo.go.jp/english/index.html>

国立研究開発法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構
New Energy and Industrial Technology Development Organization

目次

■植物・微生物から工業材料を生産する国産の革新的バイオテクノロジーの開発	P03・05・06
■2016-2020年度研究実施体制	P09・10
■ゲノム編集の国産技術基盤プラットフォームの確立	P13
■遺伝子発現ON/OFFスイッチングプラットフォームの開発と イソプレノイド合成経路遺伝子群の発現制御	P15
■物質集積メカニズムの制御による高次物質生産技術	P17
■新旧植物バイオ技術による代謝系の改変	P19
■植物の代謝多段改変と高効率培養による活性型ビタミンD ₃ 生産システムの開発	P21
■医薬品中間体原料植物の代謝変換によるアルカロイド製造技術の開発	P23
■新規のジャガイモシストセンチュウ防除剤の開発	P25
■イチイ細胞培養によるタキサン系医薬中間体10-DABの効率生産法開発	P27
■シソの健康機能性成分を高含有化する技術開発	P29
■情報技術を核とした超高速スマートセル創出プラットフォームの開発	P31
■植物由来の高機能プラスチック	P35
■体外診断用医薬品酵素コレステロールエステラーゼの大量生産を目的とする スマートセルの開発	P37
■希少アミノ酸エルゴチオネイン(EGT)高生産スマートセルの開発	P39
■スマートセル技術を応用した天然ヒト型長鎖セラミド高含有醤油麹菌の開発	P41
■酵素設計技術を活用した高付加価値化成品の製造法開発	P43
■おわりに	P45

Contents

■Development of Production Techniques for Highly Functional Biomaterials Using Smart Cells of Plants and Other Organisms	P04・07・08
■Implementation Structure (FY2016-FY2020)	P11・12
■Development of new genome editing techniques, and the use in plant engineering	P14
■Development of gene-expression ON/OFF switching platform and strict regulation of biosynthetic pathways for valuable biomaterials	P16
■Regulation technology of plant metabolite accumulation toward high production of valuable compounds	P18
■Engineering plant secondary metabolism by combination of traditional and cutting-edge biotechnologies	P20
■Development of an active vitamin D ₃ production system by multi-step metabolic engineering and highly efficient plant tissue culture	P22
■Alkaloid Production Using Metabolic-Engineered Medicinal Plants	P24
■Development of new controlling agents against potato cyst nematode	P26
■Development of an efficient production system for a pharmaceutical intermediate 10-DAB using yew-tree cell culture technology	P28
■Development of novel techniques to produce perilla rich in functional ingredients	P30
■Development of super high-speed smart cell creation platform based on IT	P33・34
■High-performance plastic derived from plants	P36
■Development of Burkholderia stabilis smart cell for over production of cholesterol esterase for diagnostics	P38
■Development of Smartcell for High production of Rare Amino Acid, Ergothioneine	P40
■Development of Shoyu Koji mold that produce a high content of natural long-chain human ceramide by using smart cell technology	P42
■Development of production method for high value chemical products using enzyme design technology.	P44
■Conclusion	P46

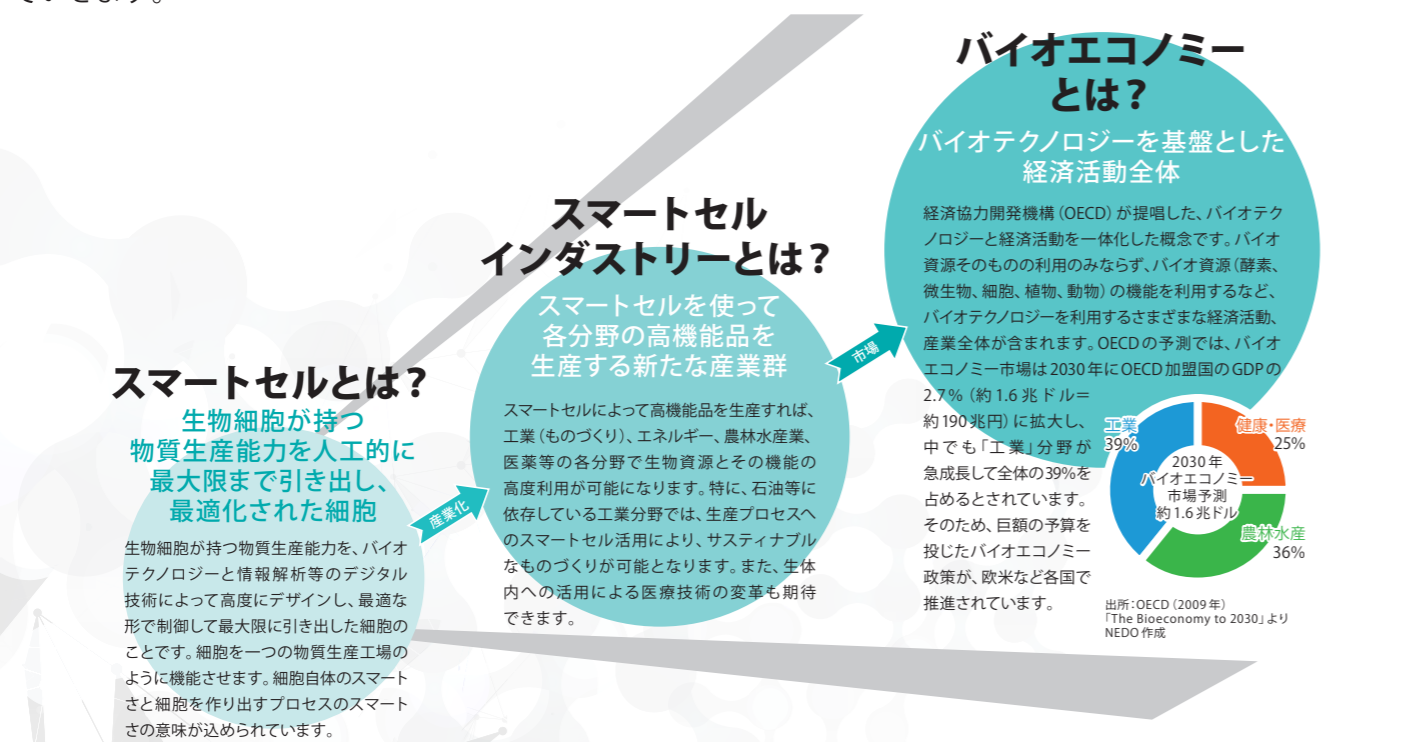
植物・微生物から工業材料を生産する 国産の革新的バイオテクノロジーの開発

プロジェクト実施の背景と目的

昨今地球温暖化の問題に加え、海洋プラスチックごみ問題など新たな課題が世界的に大きく注目を集めています。これらのエネルギー・地球環境問題は一国だけで解決できる問題ではなく、世界全体で考える必要があります。NEDOは「持続可能なエネルギー」「サーキュラーエコノミー」「バイオエコノミー」の一体的な推進が、今後「持続可能な循環型社会」実現のカギとなると考え、いかにこの3つの柱でイノベーションを生み出し、経済合理性を持って社会実装していくかに注力すべく、総合戦略を検討しています。

3つの柱の一つであるバイオエコノミーは欧米を中心に市場の拡大が見込まれる中、我が国としても同分野での競争力強化が急務です。とりわけ、近年のバイオテクノロジーはITや人工知能(AI)等の最先端デジタル技術と融合することにより、目覚ましい進化、発展を遂げています。短期間かつ低コストで膨大なゲノム(遺伝子情報)の集積、解析、改変が可能になったため、これまで利用が難しかった「潜在的な生物機能」を最大限まで引き出したり、生物機能を制御することが可能となりました。このように生物による高効率物質生産の可能性が期待される中、国として本分野の市場形成を促進するための技術基盤の確立、及びその生産実証研究は重要です。

NEDOでは、植物と微生物の2つをテーマに、ものづくりの生産プロセスとして適用できるよう高度に最適化された細胞「スマートセル」を創りだすため、2016年度から「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」(スマートセルプロジェクト)に取り組んでいます。本プロジェクトでは必要な技術開発を行い、高機能品の生産技術を集積したプラットフォームを整備し、国内企業の競争力を確保することにより、我が国のバイオエコノミーを推進していきます。



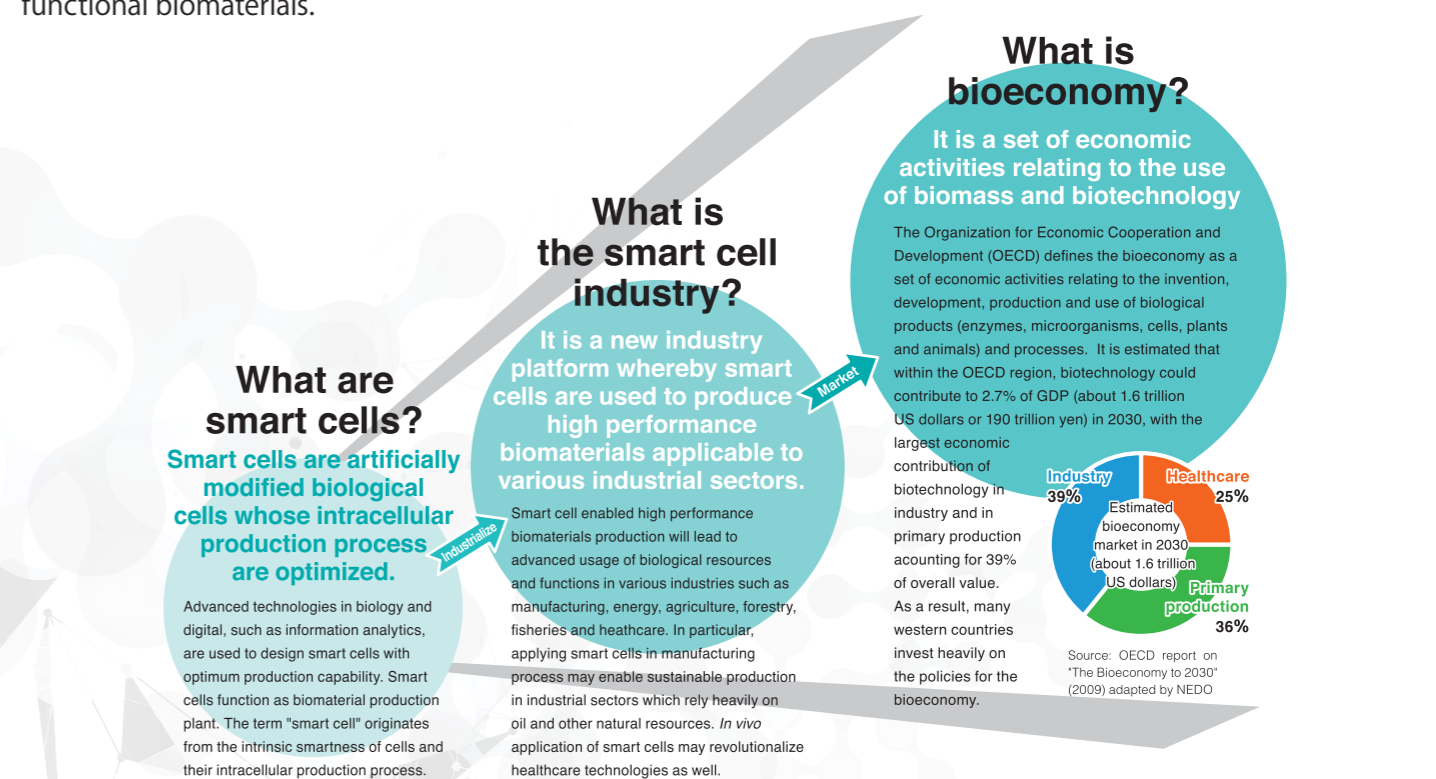
Development of Production Techniques for Highly Functional Biomaterials Using Smart Cells of Plants and Other Organisms

Background and purpose of project implementation

Seas polluted with plastic waste and other new global concerns are emerging in addition to the familiar issue of global warming. Energy and environmental challenges cannot be addressed by any single country alone. Such challenges require a globally coordinated approach. NEDO believes that the key to establishing sustainable circular society is pursuit of sustainable energy, a circular economy, and biotechnology in an integrated manner. The three pillars underpin the comprehensive strategy that NEDO is shaping to drive innovation that offers feasible solutions to address the challenges faced by our society.

Market of bioeconomy, one of the three pillars, has expanded mainly in Europe and US. In Japan, there is an urgent need to enhance competitiveness in this field. The landmark accomplishments of biotechnology owes much to its convergence with cutting-edge digital technology such as IT and AI. We can now accumulate, analyze and modify large amount of genome data (genetic information) in short period of time and at a low cost, allowing us to bring out and control the "potential of biological function" in full. Highly-efficient material production by living organisms has been highly anticipated, and there is a need to establish a technological base and experimental verification of the production to promote market formation in this field.

In 2016, NEDO launched the Smart Cell Project "Project for Development of Production Techniques for Highly Functional Biomaterials Using Smart Cells of Plants and Other Organisms" to create smart cells that are highly optimized of the use in manufacturing process from plants and microorganisms. In addition to the development of the required technology, this project will promote the Japanese bioeconomy and ensure the competitiveness of domestic companies by developing a platform that integrates various production technologies for highly functional biomaterials.

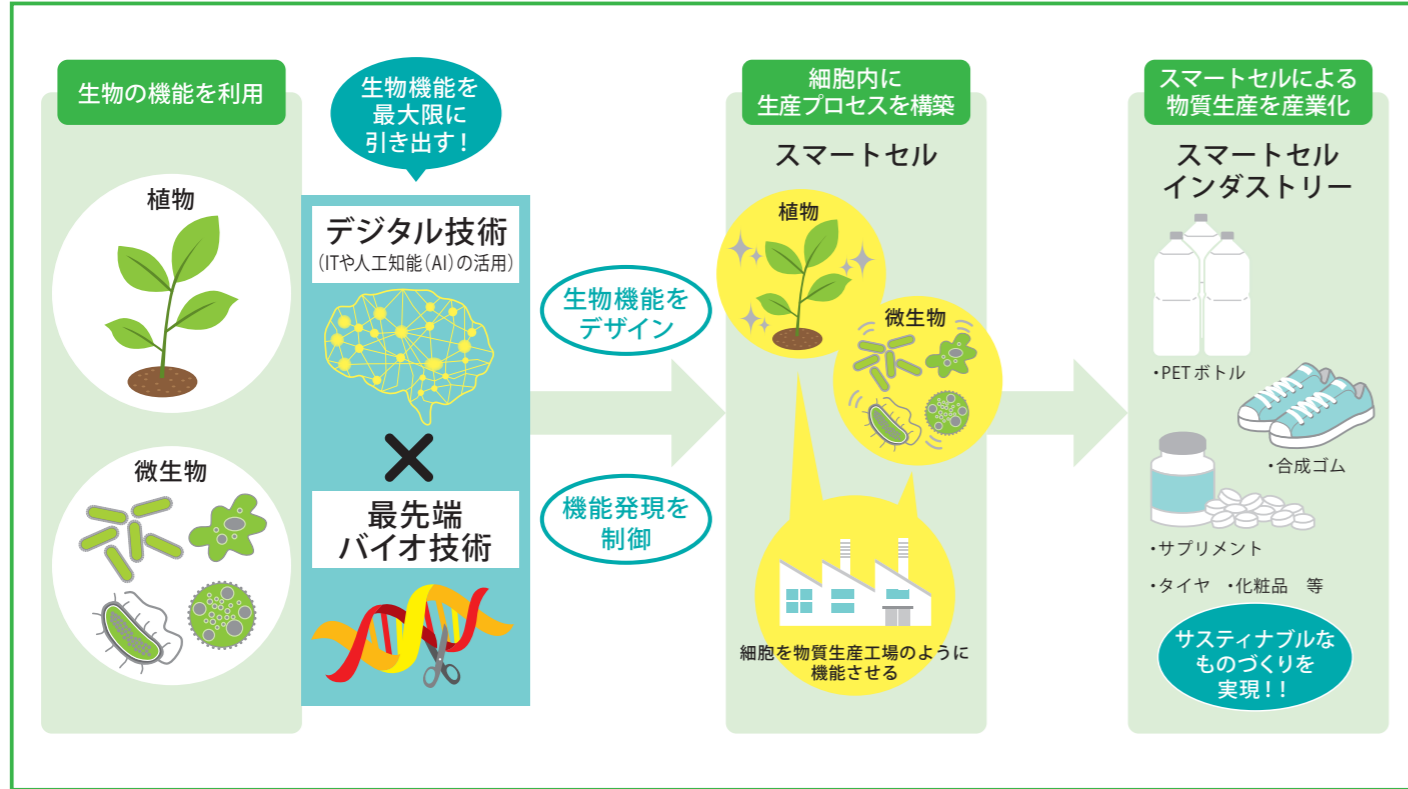


プロジェクトの目標

- 植物等の生物が持つ物質生産能力を人工的に最大限引き出した細胞“スマートセル”を構築します。
- 化学合成では生産が難しい有用物質の創製、または従来の生産性を凌駕する基盤技術を開発します。
- 特定の生産物質における実用化技術を確立します。

プロジェクトイメージ

NEDOプロジェクトの概念図



生産効率を向上させるための情報取得・基盤技術開発



生産を実現するスマートセル統合プラットフォームの整備



情報技術と高効率なゲノム編集技術や長鎖DNA合成技術を駆使し、産業上有用な化合物を生物プロセスにより生産する新たな産業の創出へ

研究開発項目

- 研究開発項目① 「植物の生産性制御に係る共通基盤技術開発」(委託事業)
- 研究開発項目② 「植物による高機能品生産技術開発」(助成事業)
- 研究開発項目③ 「高生産性微生物創製に資する情報解析システムの開発」(委託事業)
- 研究開発項目④ 「微生物による高機能品生産技術開発」(助成事業)

研究開発項目およびスケジュール

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

プロジェクト推進体制

プロジェクトリーダー：九州大学 名誉教授 久原哲
 サブプロジェクトリーダー：産業技術総合研究所 植物分子工学研究グループ長 松村健
 プロジェクトマネージャー：NEDO 材料・ナノテクノロジー部 バイオエコノミー推進室 林智佳子
 参画機関 (2020年9月現在)

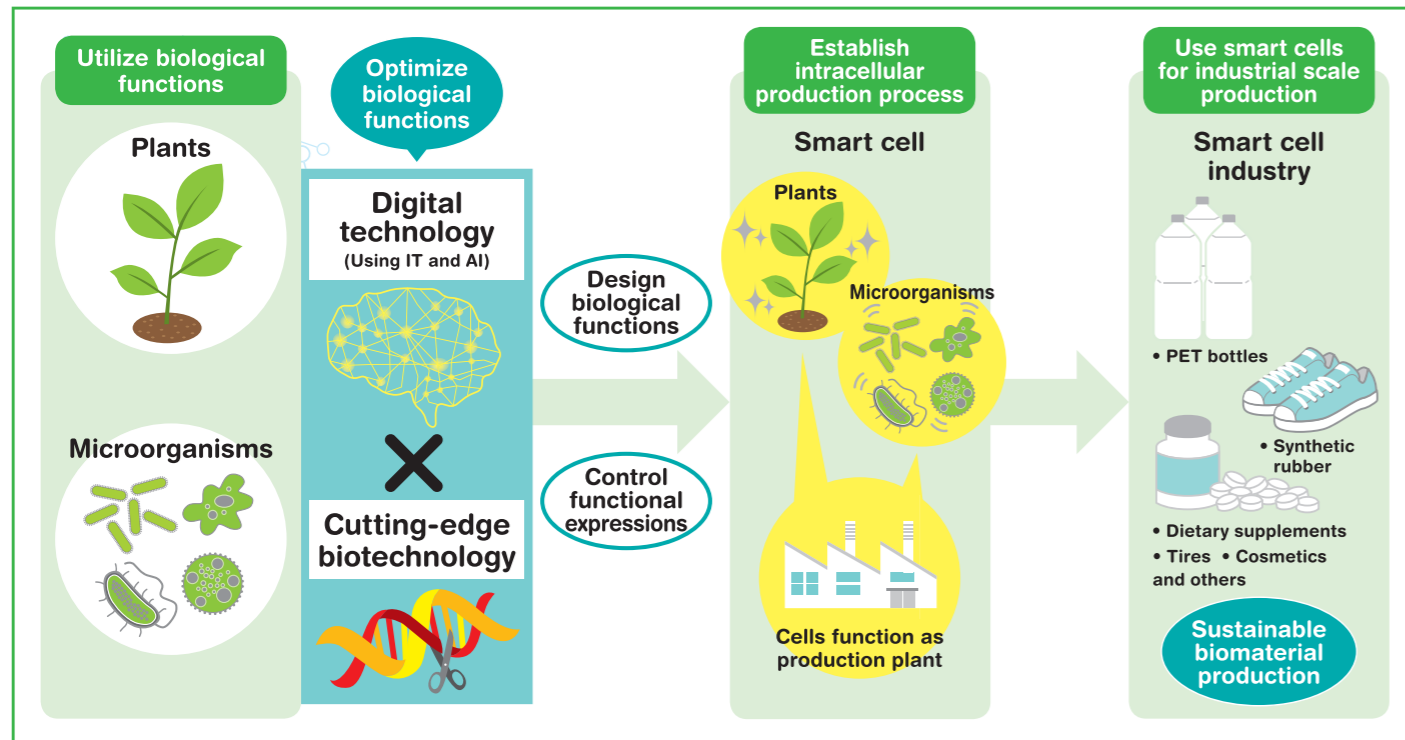
- 研究開発項目① エディットフォース(株)、かずさDNA研究所、九州大学、京都大学、近畿大学、神戸大学、産業技術総合研究所、高崎健康福祉大学、千葉大学、筑波大学、東京大学、徳島大学、奈良先端科学技術大学院大学、広島大学、北海道科学技術総合振興センター、北海道大学、明治大学、横浜国立大学、理化学研究所
- 研究開発項目② 味の素(株)、(株)アミノアップ、キリンホールディングス(株)、神戸天然物化学(株)、(株)竹中工務店、ホクサン(株)、北海道三井化学(株)
- 研究開発項目③ 神戸大学、産業技術総合研究所、味の素(株)、石川県立大学、江崎グリコ(株)、九州大学、京都大学、神戸天然物化学(株)、JSR(株)、(株)島津製作所、製品評価技術基盤機構、地球環境産業技術研究機構、筑波大学、東京大学、東北大学、長岡技術科学大学、新潟薬科大学、(株)ニコンインステック、バイオインダストリー協会、日立製作所(株)、不二製油グループ本社(株)、三菱ケミカル(株)、理化学研究所
- 研究開発項目④ 旭化成ファーマ(株)、天野エンザイム(株)、東レ(株)、長瀬産業(株)、福岡県醤油醸造協同組合

Project goals

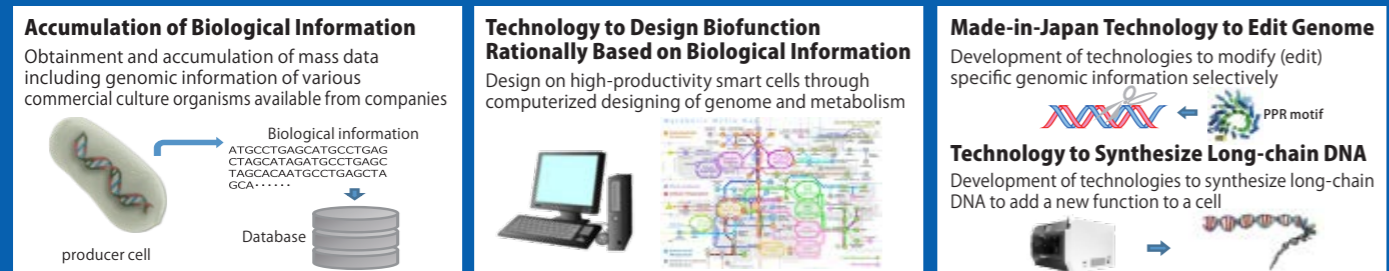
- To establish the smart cell, a cell in which living organism's capacity to produce materials is brought out to the maximum extent.
- To develop the base technology for creating useful materials difficult to produce in chemical synthesis or exceeding productivity by conventional methods.
- To establish practical utilization technology in the specific production material.

Project image

Conceptual Diagram of the NEDO Project



Obtainment of Information and Development of Basic Technologies to Improve Production Efficiency



Establishment and Improvement of Integration Platform to Actualize Production of Smart Cells



Creating new industry in which industrially useful compounds can be produced by biological processes, by using information technology, high efficient genome editing technology and long-chain DNA synthesis technology

Research and development items

- Research and development item 1: Development of common base technology related to the production efficiency of plants (commissioned project)
- Research and development item 2: Development of production technology for highly functional products using plants (subsidy project)
- Research and development item 3: Development of information analysis system that contributes to the creation of high productivity microorganisms (commissioned project)
- Research and development item 4: Development of production technology for highly functional products using microorganisms (subsidy project)

Research and development schedule

	FY2016	FY2017	FY2018	FY2019	FY2020	FY2021
1. Development of common base technology related to the production efficiency of plants [commissioned]	Development of made-in-Japan genome editing technology			Verification of suitability for practical plant and improvement of technology		
	Development of metabolic gene expression regulation technology					
	Development of expression regulation technology in cultivation and growing environment					
2. Development of production technology for highly functional products using plants [subsidy]	Identification of metabolic pathways and key genes			Optimization of cultural environment conditions	Demonstration of productivity	
	Development of transformation technology					
3. Development of information analysis system that contributes to the creation of high productivity microorganisms [commissioned]	Development of gene sequence design system		Verification of effectiveness	Improvement and packaging of development system		
	Development of high-throughput synthesis, analysis and evaluation method					
4. Development of production technology for highly functional products using microorganisms [subsidy]				Development of practical target through system utilization		

Project framework

Project Leader : Dr. Satoru Kuhara, Kyushu Univ., Professor emeritus
 Deputy Project Leader : Dr. Takeshi Matsumura, Plant Molecular Technology Research Group Leader, Bioproduction Research Institute, AIST
 Project Manager : Chikako Hayashi, Project Coordinator, Bioeconomy Promotion Division, Materials Technology and Nanotechnology Department, NEDO
 Participating organizations (As of Sep., 2020)

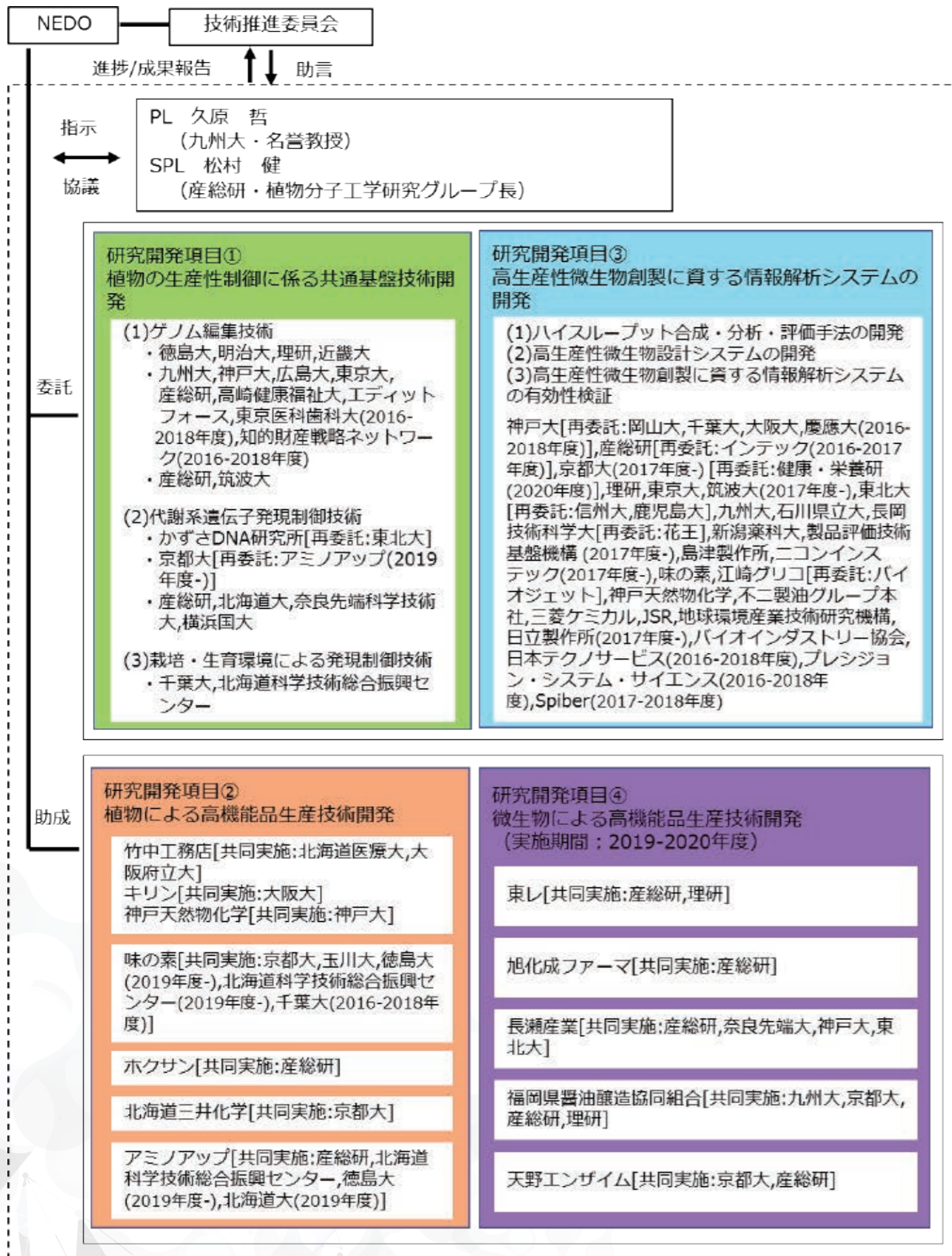
R & D item ① EditForce Inc., Kazusa DNA Research Institute, Kyoto University, Kyushu University, Kinki University, Kobe University, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Chiba University, University of Tsukuba, Takasaki University Health & Welfare, The University of Tokyo, Tokushima University, Nara Institute of Science and Technology, Hiroshima University, Northern Advancement Center for Science & Technology, Hokkaido University, Meiji University, Yokohama National University, RIKEN

R & D item ② Ajinomoto Co. Inc., Amino Up Co., Ltd., Kirin Holdings Co. Ltd., KNC Laboratories Co. Ltd., Takenaka Corp., Hokusan Co. Ltd., Hokkaido Mitsui Chemicals, Inc.

R & D item ③ Ajinomoto Co. Inc., Ishikawa Prefectural Univ., Ezaki Glico Co., Ltd., Kyushu Univ., Kyoto Univ., Kobe Univ., KNC Laboratories Co. Ltd., AIST, JSR Corp., Shimadzu Corp., NITE, RITE, Univ. of Tsukuba, The Univ. of Tokyo, Tohoku Univ., Nagaoka Univ. of Technol., Niigata Univ. of Pharmacy and Applied Life Sciences (NUPALS), NIKON INSTECH CO.,LTD., JBA, Hitachi, Ltd., Fuji Oil Holdings Inc., Mitsubishi Chemical Corp., RIKEN

R & D item ④ Asahi Kasei Pharma Corp., Amano Enzyme Inc., Toray Industries, Inc., NAGASE & CO., LTD., Fukuoka SoySauce Brewing Cooperation

2016-2020年度研究実施体制



■ 調査研究事業

<調査研究>

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

■ 技術推進委員 (2016-2020年度)

【植物テーマ】

- 委員長 桑田 茂 (明治大学)
委員 青木 俊夫 [2018年度まで] (日本大学)
委員 石井 明子 (国立医薬品食品衛生研究所)
委員 石井 哲也 (北海道大学)
委員 大滝 義博 ((株)バイオフロンティアパートナーズ)
委員 峰野 純一 (タカラバイオ(株))
委員 矢野 孝彦 [2019年度~] (大正製薬(株))

【微生物テーマ】

- 委員長 木野 邦器 (早稲田大学)
委員 大滝 義博 ((株)バイオフロンティアパートナーズ)
委員 五味 勝也 (東北大学)
委員 関 実 (千葉大学)
委員 森 浩禎 (奈良先端技術大学院大学)

敬称略)

2016-2020 年度研究実施体制



■ Prior survey

- Studies on R&D direction in the field of the material production by using Smart Cel (2016 / Mitsubishi Chemical Research Corp.)
- New regulation proposal on genetically modified organism in contained use (2016 / JBA)
- Analysis of the ripple effect on environment and economy in the field of material production by using Smart Cell and the trend survey of the related technologies (2017-2018 / Mitsubishi Chemical Research Corp.)
- Examination of new issues to be solved for promotion of social implementation of smart cell related technology
 - Research area: Development of an integrated web tool for novel genome editing systems (2018-2019 / Meiji Univ., Tokushima Univ.)
 - Research area: Development of innovative delivery of molecules to genome-edit plants (2018-2019 / BEX CO., LTD. [Recommissioned: Chiba Univ.], Kyusyu Univ.)
 - Research area: Research and Study for High Efficiency Methane Production by Applying Deep Learning Analysis to Gene Expressions of Anaerobic Microbial Community and Real Time Analysis of Odorous Components (2018-2019 / Hitachi Zosen Corp. [Recommissioned: Hitz biomass lab inc., Global Center for Medical Engineering and Informatics, Osaka Univ.]
 - Research area: Development of robust microorganisms and simple production process (2018-2019 / JGC JAPAN CORPORATION, Sojo University, Nara Institute of Science and Technology)
 - Research area: Extraction of tasks for socially implementing isoprene and highly functional isoprene derivative manufacturing technology derived from plant materials (2018-2019 / Mitsubishi Chemical Research Corp., Bridgestone Corp., JSR Corp., Mitsubishi Chemical Corp.)
 - Research area: Development of a Platform for Label-Free Sorting of Highly Productive Cells by High-Performance Raman Flow Cytometry (2018 / euglena Co., Ltd., The Univ. of Tokyo)
 - Research area: Study on conversion of raw materials and diversification of outlets for C4 chemicals (2018 / Chitose Laboratory Corp., Daicel Corp. [Recommission: Nihon Univ., Tohoku Univ.]
 - Research area: Search for Useful Monomer Compounds Synthesized Biologically (2018 / RIKEN, AIST)
- Benchmark survey for realization of bio-economy society (2019-2020 / Mitsubishi Chemical Research Corp.)

■ Advisory board (2016-2020)

<R&D field ① and ②>

Chairman	Shigeru Kuwata	(Meiji Univ.)
Member	Toshio Aoki	[-2018] (Nihon Univ.)
Member	Akiko Ishii	(National institute of health sciences)
Member	Tetsuya Ishii	(Hokkaido Univ.)
Member	Yoshihiro Otaki	(Biofrontier partners, Inc.)
Member	Junichi Mineno	(Takara Bio Inc.)
Member	Takahiko Yano	[2019-] (Taisyo pharmaceutical holdings)

<R&D field ③ and ④>

Chairman	Kuniki Kino	(Waseda Univ.)
Member	Yoshihiro Otaki	(Biofrontier partners, Inc.)
Member	Katsuya Gomi	(Tohoku Univ.)
Member	Minoru Seki	(Chiba Univ.)
Member	Hirotsada Mori	(Nara Institute of Science and Technology)

植物・実用化
ゲノム編集の国産技術基盤プラットフォームの確立
九州大学、徳島大学、産業技術総合研究所、神戸大学、広島大学、東京大学、高崎健康福祉大学、
理化学研究所、筑波大学、明治大学、近畿大学、エディットフォース株式会社

研究開発の目的

- ・海外技術に依存しない国産のゲノム編集関連技術の基盤プラットフォームを形成します。
- ・植物を利用した高機能バイオ化合物の生産性向上に適用します。

ゲノム編集に利用可能な、ゲノムから一箇所のDNA配列を認識する「A. DNA認識モジュール」、ゲノムに様々な編集効果をもたらす「B. ゲノム改変技術」、ゲノム編集モジュールの「C. 導入技術」、および上記の研究開発を支える「D. 共通支援ツール・基盤」「E. 知財戦略」までの、ゲノム編集技術の適用に必要な一連の基盤技術群の研究開発を進めています。

研究開発の概要

A. DNA認識モジュール、の開発

- (ZF、TALE、CRISPR以外の技術を開発)
- A-1. DNA-PPR* (タンパク質性; エディットフォース・八木)
- A-2. TiD* (ガイドRNA性; 徳島大・刑部)
- A-3. 新規タンパク質性 (インフォ活用; 東大・谷内江、他)
- A-4. PODiR* (ガイドRNA性; 産総研・間世田、他)

B. ゲノム改変技術、の開発

- (単純なゲノム切断、以外の様々な改変技術を開発)
- B-1. 多様なゲノム改変* (神戸大・西田)
- B-2. 精密なゲノム設計 (広島大・野村)
- B-3. 新規切断ドメイン* (広大・山本)
- B-4. オルガネラゲノム編集 (高崎・吉積)
- B-5. RNA編集* (九大・中村)

C. 導入技術、の開発

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

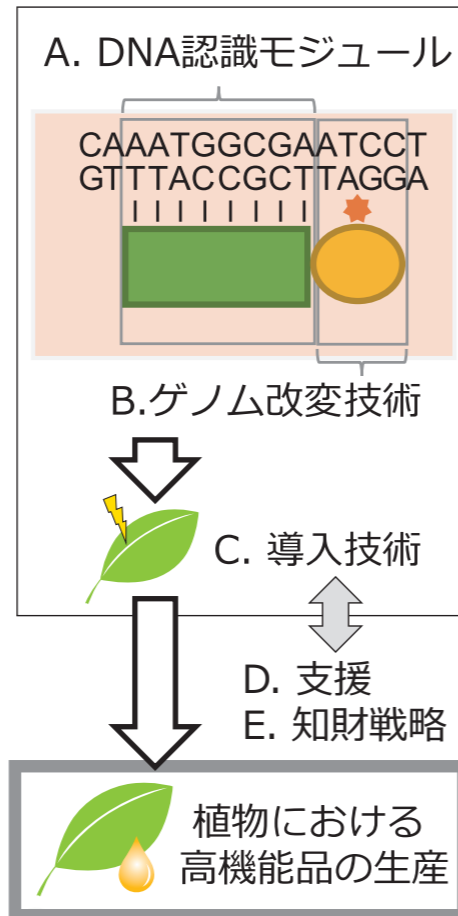
D. 共通支援ツール・基盤 (理研・岡田、明治・矢野他)

E. 知財戦略 (九大・中村)

技術のパッケージ化

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

* 特許取得済み、申請済み



実施者からの一言

- ・標的配列、所望の改変方法を提供いただければ、ゲノム編集適用に必要な技術を一連のパッケージとして提供致します (部分的な利用も可能)。
- ・海外の既存技術に抵触しない技術の開発、植物での利用に必要な技術群のパッケージ化を主眼としています。ゲノム編集の商業利用でお困りの方、ぜひご相談ください。

連絡先 中村崇裕 (九州大学) tnaka@agr.kyushu-u.ac.jp

Plant
Development of new genome editing techniques, and the use in plant engineering
Kyushu Univ., Tokushima Univ., Kobe Univ., Hiroshima Univ., Tokyo Univ., Tsukuba Univ., AIST, RIKEN, Takasaki Univ. Health & Welfare, Kinki Univ., Meiji Univ., EditForce Inc.

Research and development purpose

- Establishment of new, free-standing genome editing techniques.
- Application of the new genome editing techniques in production of high-functional biomaterials using plant.

This R&D theme is supported by NEDO, focusing on a series of genome editing techniques including (A) DNA recognition module, (B) various effector, (C) delivery system, (D) support unit, (E) IP strategy, and further, the packaging to establish user-friendly application..

Research and development outline

A. DNA recognition module(s)

- A-1. DNA-binding PPR* (Protein-based) (Dr. Yagi, EditForce Inc)
- A-2. TiD* (guide RNA-based) (Dr. Osakabe, Tokushima Univ.)
- A-3. Novel protein-based module (Dr. Yahie, Tokyo Univ. et al.)
- A-4. PODiR* (guide RNA-based) (Dr. Maseda, AIST et al.)

B. Effectors and applications

- B-1. Various applications* (Dr. Nishida, Kobe Univ.)
- B-2. Precise genome design using recombinase (Dr. Nomura, Hiroshima Univ.)
- B-3. Novel nuclease* (Dr. Yamamoto, Hiroshima Univ.)
- B-4. Organelle genome editing (Dr. Yoshizumi, Riken)
- B-5. Transcriptome (RNA) editing* (Dr. Nakamura, Kyushu Univ.)

C. delivery system

- C-1. DIVE (surface charge control)* (Dr. Kato, AIST)
- C-2. Nano-needle* (Dr. Nakamura, AIST)
- C-3. Cell penetrating peptide* (Dr. Yoshizumi, Takasaki Univ. H&W)

D. Supporting Unit

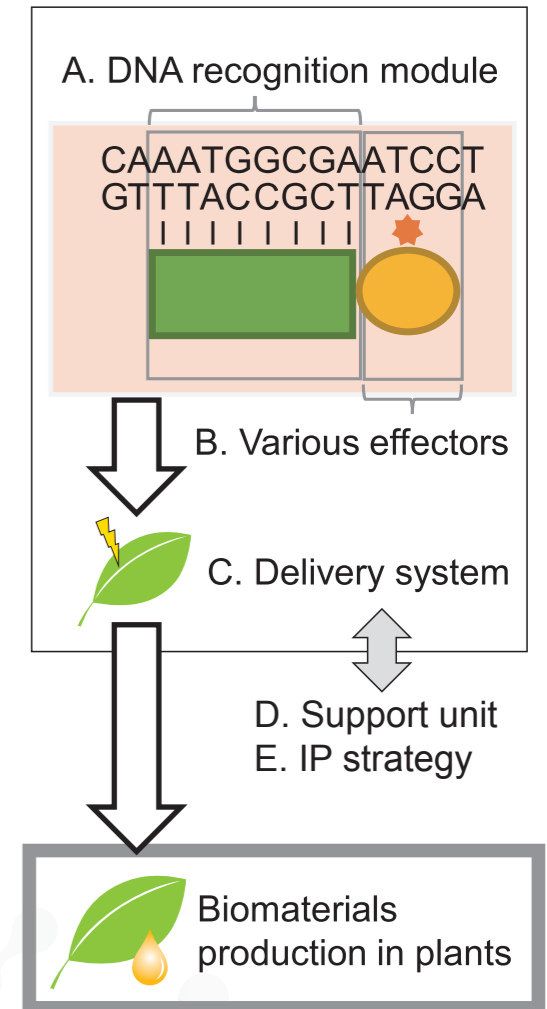
- (9) In silico screening & verification (Dr. Okada, Tokyo Univ.; Dr. Yano Meiji Univ. et al)

E. IP strategy (Dr. Nakamura, Kyushu Univ.)

Packaging

1. [DNA-binding PPR]+[novel nuclease]+[nano-needle/peptide]
2. [TiD]+[nano-needle/peptide]

* Patent filed/registered



Contact Dr. Takahiro NAKAMURA, Kyushu Univ. tnaka@agr.kyushu-u.ac.jp

植物・実用化
遺伝子発現ON/OFFスイッチングプラットフォームの開発とイソプレノイド合成経路遺伝子群の発現制御
かずさDNA研究所/再委託:東北大学

Plant
Development of gene-expression ON/OFF switching platform and strict regulation of biosynthetic pathways for valuable biomaterials
Kazusa DNA Research Institute, Tohoku University

研究開発の目的

- 複数の組換え遺伝子を含む長鎖DNAを植物へ遺伝子導入し、発現ON/OFFさせる技術を確認します。
- その遺伝子導入領域をゲノム編集ステーションとして活用できる共通基盤技術を確認します。

Research and development purpose

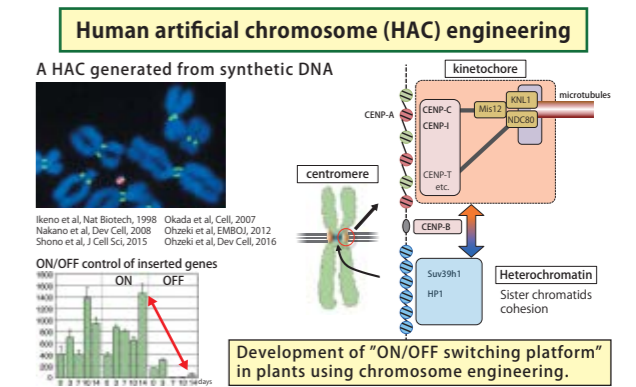
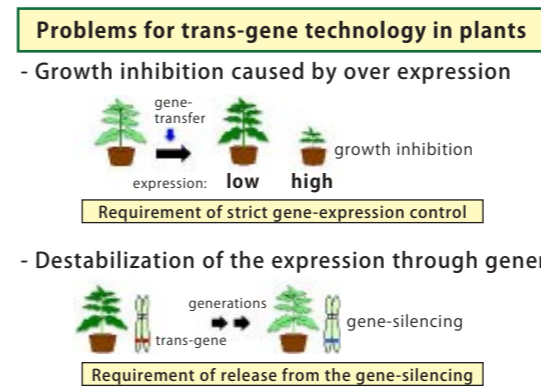
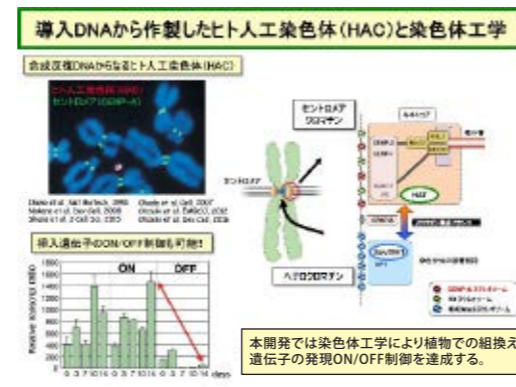
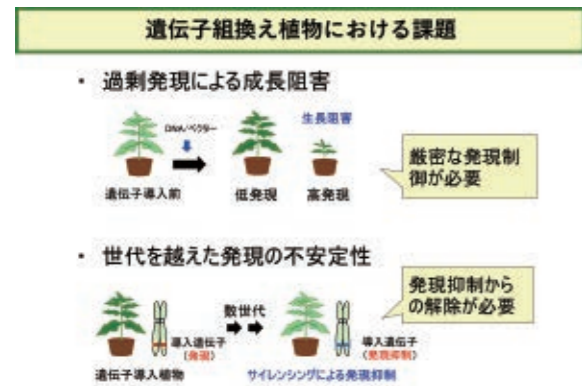
We will develop "gene-expression ON/OFF switching platform" in plants by taking advantage of chromosome engineering and long-DNA transgenic technologies. We will exploit the "switching platform" as "genome editing station" for producing valuable biomaterials.

研究開発の概要

- ① 染色体工学と長鎖DNA導入技術を駆使した「発現ON/OFFスイッチングプラットフォーム」の構築
- ② 部位特異的組換えサイトを導入した「ゲノム編集ステーション」の開発
- ③ 挿入した多重遺伝子の安定性評価
- ④ 多重連結したイソプレノイド合成経路遺伝子群の導入と発現制御 (東北大)

Research and development outline

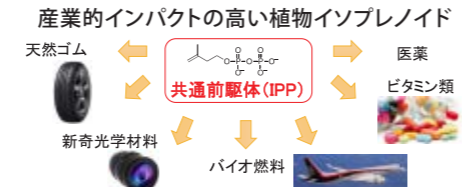
- ① Development of "gene-expression ON/OFF switching platform" by using chromosome engineering and long-DNA transgenic technology,
- ② Development of "genome editing station" by introducing various site-specific recombination sequences,
- ③ Stability test of the multiple trans-genes expression,
- ④ Development of gene-expression manipulating technology of biosynthetic pathways for valuable biomaterials



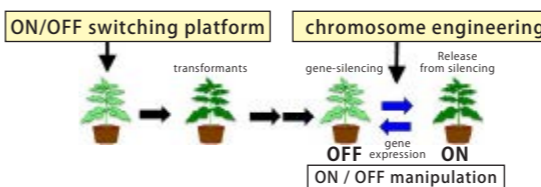
① 発現ON/OFFスイッチングプラットフォームの開発



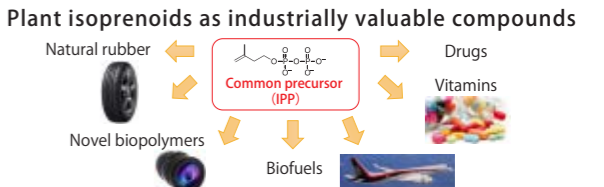
④ イソプレノイド合成経路遺伝子群の発現制御技術の開発



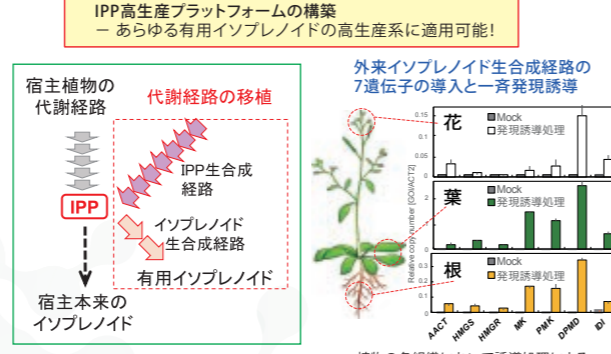
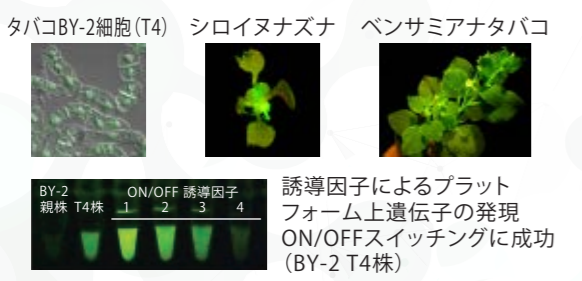
① Development of "ON/OFF switching platform"



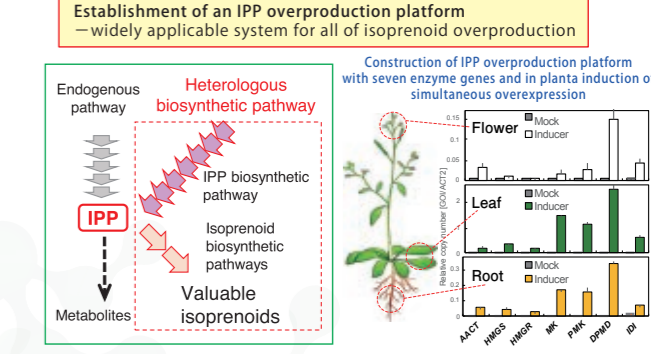
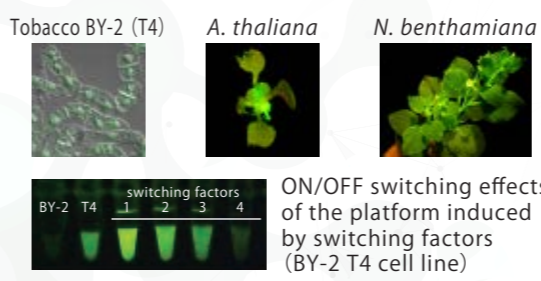
④ Metabolic engineering of IPP biosynthetic pathways



プラットフォーム上EYFPマーカー遺伝子からの発現



EYFP gene expression from the switching platform



実施者からの一言

「発現ON/OFFスイッチングプラットフォーム」を植物細胞へ導入し、ON/OFFスイッチングに成功したので、世界に先駆けた新規性の高い技術開発が期待できます。

Message from researchers

By introducing the gene expression ON/OFF switching platform into plant cells, we succeeded in switching the gene ON/OFF. Therefore, achieving the world's first innovative technology development is promising.

物質集積メカニズムの制御による高次物質生産技術
—植物における代謝産物の蓄積機構の制御技術の開発—
京都大学/生存圏研究所、化学研究所

Regulation technology of plant metabolite accumulation
toward high production of valuable compounds
Kyoto University: Research Institute for Sustainable Humanosphere, Institute for Chemical Research

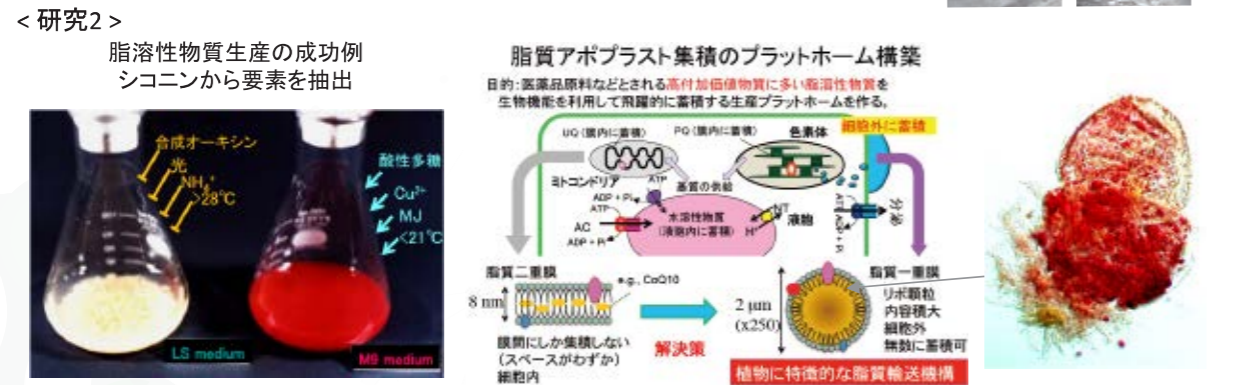
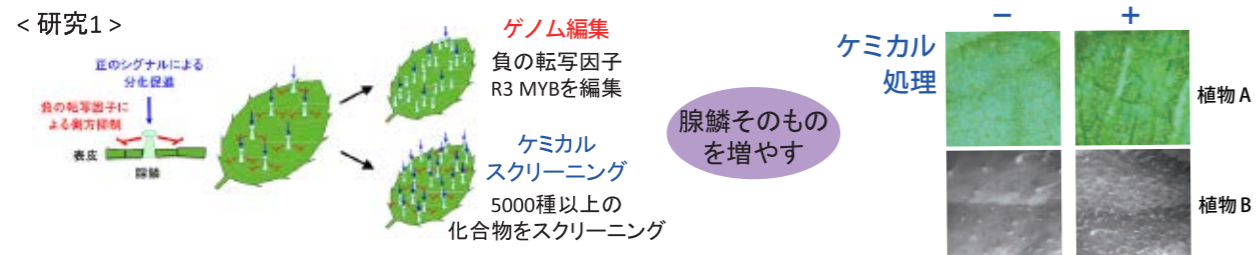
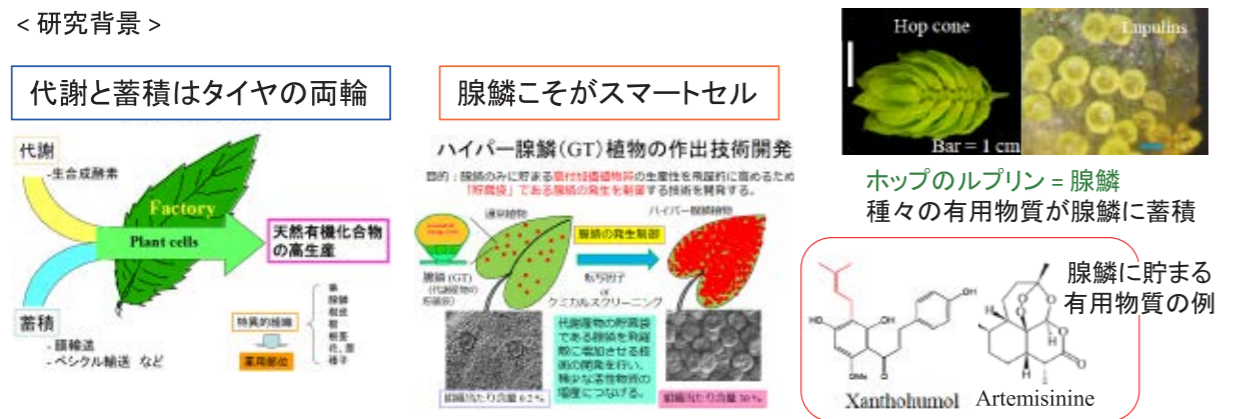
研究開発の目的

- ① 転写因子によるゲノム編集、およびケミカルを用いた腺鱗（蓄積器官）数の制御技術の開発
- ② 「細胞内輸送カーゴ」による脂溶性物質の分泌機構の要素化技術の開発
- ③ 「蓄積プロセス」の制御と「蓄積の場」の増産とを組み合わせた高次有用物質生産技術の開発

Research and development purpose

- ① Regulation of glandular trichome density genetically via genome editing or physiologically with chemicals
- ② Molecular dissection of “intracellular transport cargo” for lipophilic metabolite secretion
- ③ Integration of “accumulation processes” and “increment of smart cells” toward high production of valuable plant metabolites

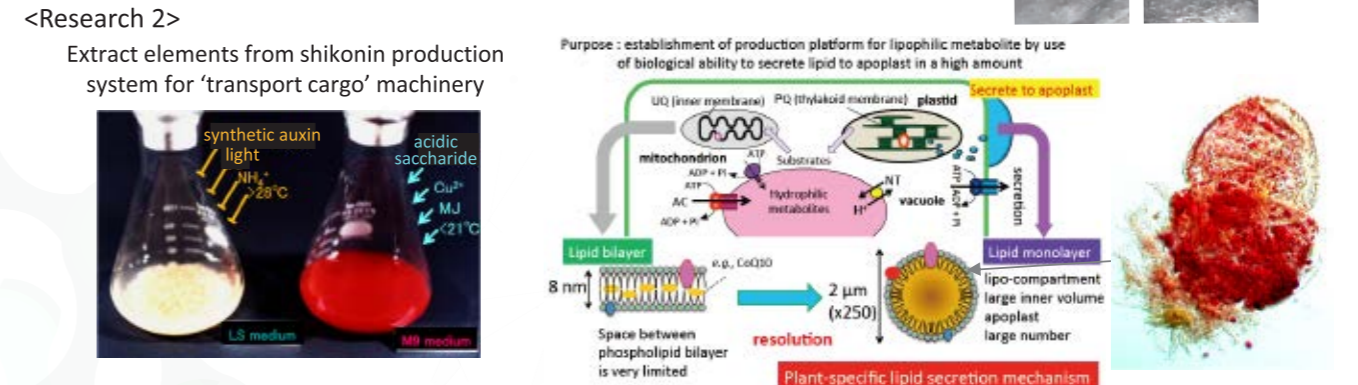
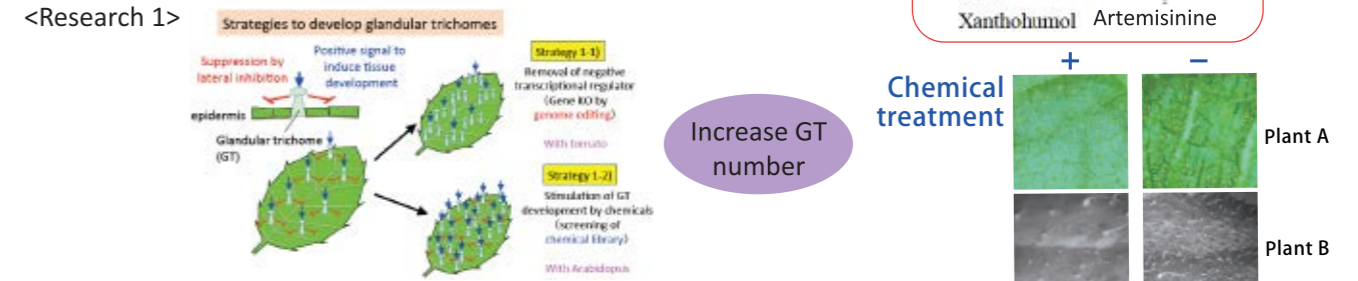
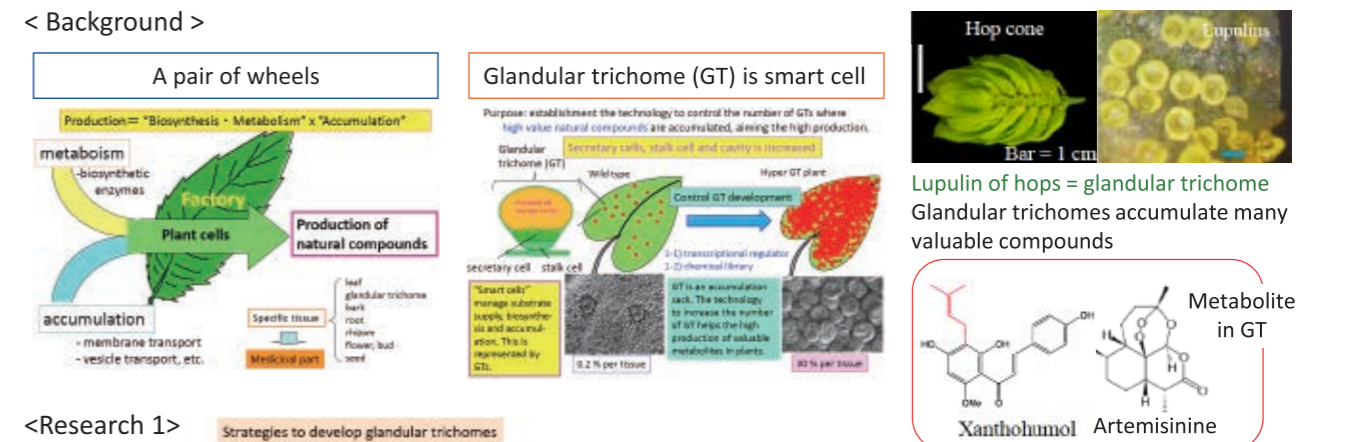
研究開発の概要



実施者からの一言

- 「輸送と蓄積」は代謝・生合成に比べ、あまり顧みられてこなかった視点ですが、輸送・蓄積なくして物質生産はありません。輸送制御は次世代の生産技術要素と考えます。
- 腺鱗は、有用物質（特に脂溶性）の生産工場です。その数の制御は、物質生産に直接役立つ技術として期待されます。
- 植物の有用代謝産物、腺鱗を有する植物、脂質植物などに興味のある企業との連携を歓迎します。

Research and development outline



Message from researchers

- Without transport and accumulation, production of metabolites cannot be established. Regulation of transport is a next generation technology for metabolite production.
- Glandular trichomes (GT) are "smart cells" especially for lipophilic metabolites. Regulation of GT density directly reflects to the metabolites accumulation level in a tissue.
- Companies having interests on plant lipids and other secondary metabolites are highly welcome.

植物・実用化
新旧植物バイオ技術による代謝系の改変
—遺伝子操作と特殊栽培技術、さらには、それらの融合による二次代謝産物高効率生産技術の開発—
(国研)産業技術総合研究所、北海道大学、奈良先端科学技術大学院大学、横浜国立大学、千葉大学、(公財)北海道科学技術総合振興センター

Plant
Engineering plant secondary metabolism by combination of traditional and cutting-edge biotechnologies
Efficient production of secondary metabolites by combinations of genetic engineering and specialized environment control.
National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Hokkaido University, Nara Institute of Science and Technology, Yokohama National University, Chiba University, Northern Advancement Center for Science & Technology

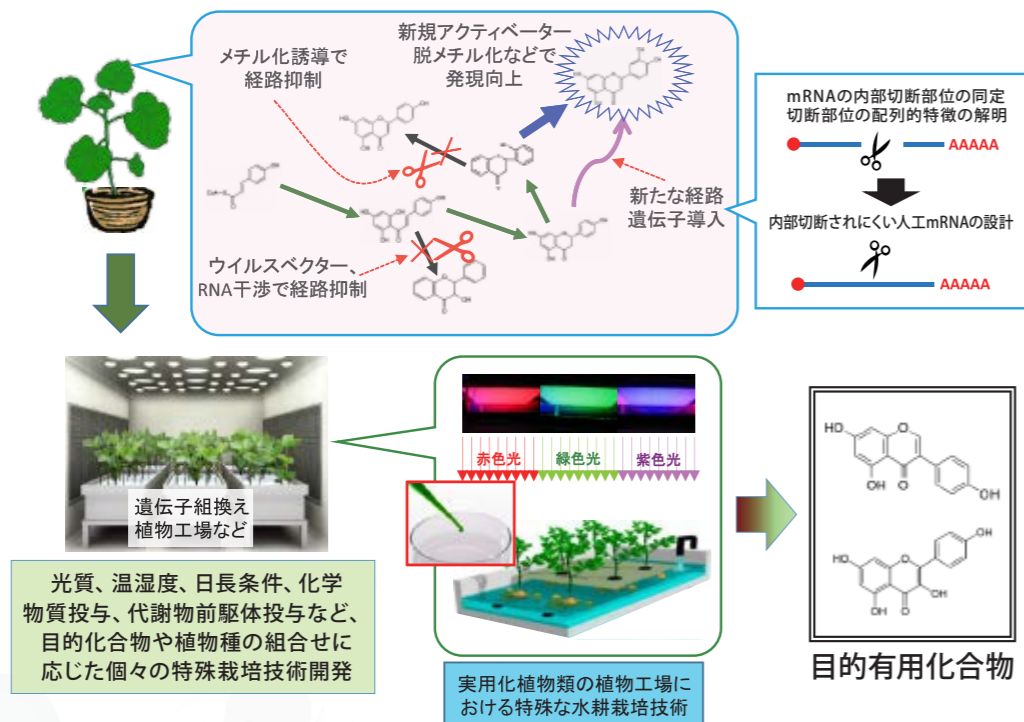
研究開発の目的

- 植物の遺伝子組換え技術、特に既存の遺伝子発現制御技術に加え、植物体内で誘導されるDNAメチル化による発現抑制の回避技術の開発、高発現化のための遺伝子構造の探索、発現アクティベーターの探索を行い、これらの組合せによる代謝系遺伝子の制御を試みます。
- 実用化されている作物種においては、目的物質の代謝関連遺伝子が明らかでは無く、遺伝子操作ができない場合も多々あります。一方、栽培環境変化によって代謝産物が増減することが知られており、遺伝子や代謝経路が解明されて無くても代謝産物量のコントロールが可能な場合もあります。その環境制御の戦略構築の一助となるべく、種々の環境下における代謝主経路の遺伝子変動を解明します。
- 上記二つの技術の融合により、技術の応用範囲の拡大、高効率化も検討します。

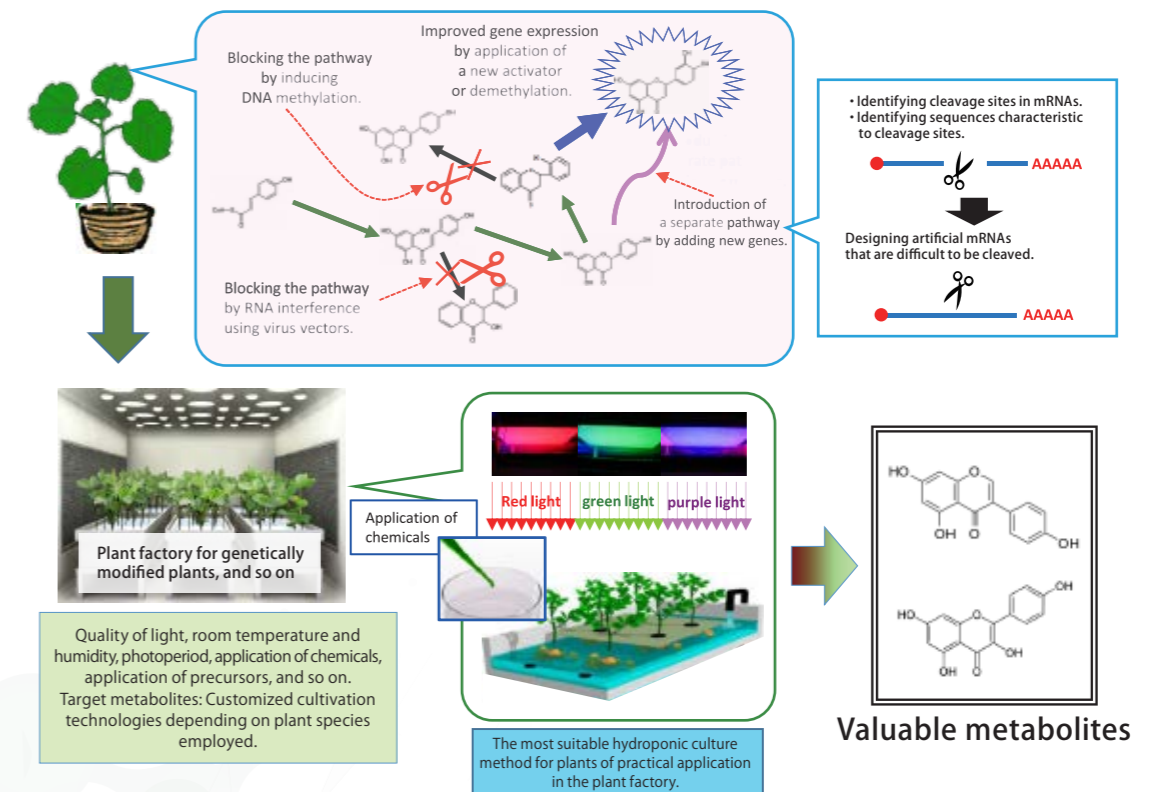
Research and development purpose

- In addition to plant genome recombinant technologies, new technologies such as prevention of DNA methylation, elucidation of key sequences critical to high expression of genes, and searching for activators for gene expression will be utilized for controlled manipulation of gene expression involved in secondary metabolism.
- In many crop species, genes involved in secondary metabolite productions are almost unknown. Consequently, genetic manipulations for higher production of useful secondary metabolites are not possible. On the other hands, there are ample evidence that environments and conditions for cultivation could critically affect the yield of secondary metabolites without elucidating genes and pathways of the relevant secondary metabolism. In order to assist developing strategies for higher production of useful secondary metabolites by controlling cultivating condition and gene expression changes under various cultivating conditions will be examined.
- By utilizing combinations of above technologies, effective application methods will be evaluated.

研究開発の概要



Research and development outline



実施者からの一言

- 実施者らは、既にウイルスベクターやAgroinfectionなどの高効率一過性発現系、遺伝子発現抑制技術としてVIGS、RNAi法等の応用実績を有する。また、遺伝子組換え植物体の作出や、種々のRNA silencing suppressorなどの利用が可能です。
- 植物において遺伝子構造を人工的に設計することで更なる高発現化を可能とし、また、高効率遺伝子発現モニタリング系を駆使して二次代謝物質高蓄積に有効な新規化合物群を見出した。
- 様々な栽培環境下における二次代謝経路主要遺伝子の発現解析を行い、インデックスが整備されつつあり、有効性を確認する実証試験にも取り組んでいます。

Message from researchers

- Researchers in charge have good skills of following techniques; highly expressive plant virus vectors, high-gene expression by transient agro-infection system, virus-induced gene silencing (VIGS) as a gene suppression technique. And they are capable of conducting following experiments; stable gene expression by plant transformation, utilization of many RNA silencing suppressors for effective exogenous gene expression in plants.
- Researchers have made possible higher expression by artificially designing the gene structure in plants. Hi-speed and hi-throughput analysis system is also available. Using high-throughput gene expression monitoring system, we discovered novel compounds that induce high-level accumulation of secondary metabolites. • Researchers have obtained profiles of the secondary metabolic-related gene expression under various environment stress conditions. Demonstration experiments are undertaken to show the efficacy of our findings.

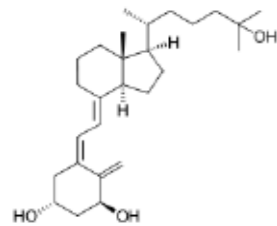
**植物の代謝多段階改変と高効率培養による
活性型ビタミンD₃生産システムの開発**
(株)竹中工務店、キリンホールディングス(株)、神戸天然物化学(株) / 大阪大学、大阪府立大学、神戸大学、北海道医療大学

研究開発の目的

- 複数の遺伝子組換え・ゲノム編集により、活性型ビタミンD₃高蓄積スマートセル植物を創出します。
- 袋型培養槽を用いた植物培養、環境制御、抽出精製により、植物有用成分の高効率生産プロセスを開発します。
- 活性型ビタミンD₃高蓄積植物の高効率生産により、活性型ビタミンD₃中間体販売を事業化します。

研究開発の概要

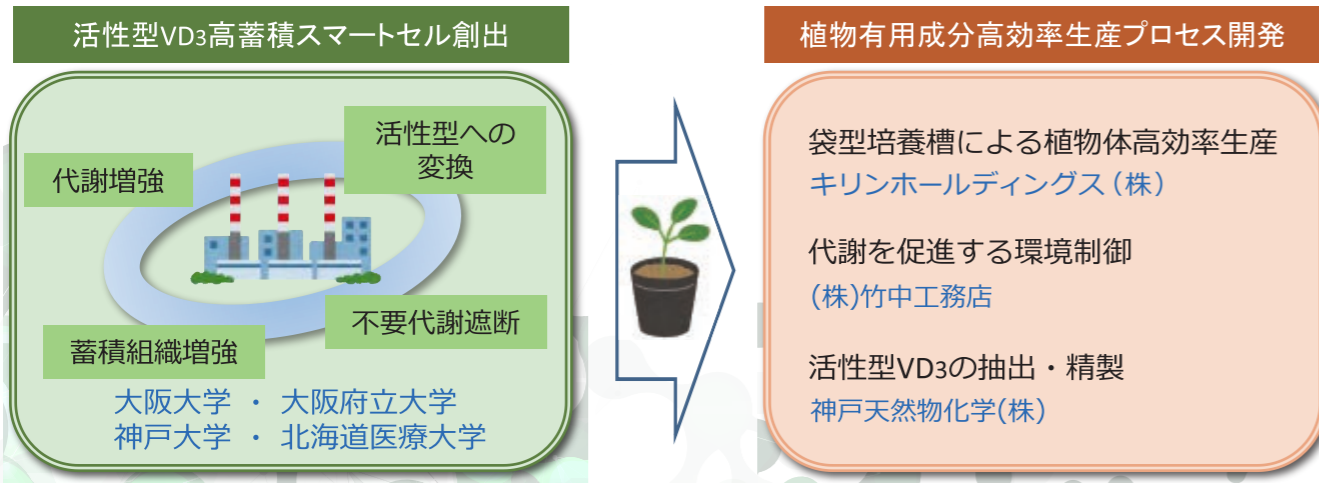
[健康長寿社会に寄与する活性型ビタミンD₃(カルシトリオール)]



- カルシトリオールは生体カルシウム・リン代謝を調整する成分で、人体に必要不可欠な成分
- 骨粗鬆症、慢性腎不全、副甲状腺機能低下症等の治療に有効
- 既存製品は、複数工程が必要な化学合成を行うことで供給

[植物による活性型ビタミンD₃生産に向けた研究開発]

- 活性型ビタミンD₃およびビタミンD₃は、一部の種の植物体内に存在することが知られています。しかし、その含有量は微量(数十ng/g(FW))です。
- 活性型ビタミンD₃に至るまでの ①代謝増強 ②不要代謝遮断 ③蓄積組織増加 ④活性型への変換に着目した遺伝子操作による代謝経路改変で産生量を増加させます。
- さらに袋型培養技術を用いた植物体高効率生産手法、光質など環境制御技術による代謝促進手法、成分含有量に応じた効率的抽出精製手法を組み合わせることで、生産システム構築を行います。



実施者からの一言

スマートセル植物の創出から生産プロセスの開発まで、スマートセル事業実現に向けた生産技術の一貫開発体制構築を、産学連携で目指します。

連絡先 小島倫直((株)竹中工務店) kojima.michinao@takenaka.co.jp

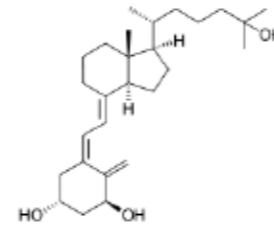
**Development of an active vitamin D₃ production system by multi-step
metabolic engineering and highly efficient plant tissue culture**
Takenaka Corp., Kirin Holdings Co. Ltd., KNC Laboratories Co. Ltd, Osaka University, Osaka Prefecture University, Kobe University, Health Sciences University of Hokkaido

Research and development purpose

- Generate "smart-cell" plants highly accumulating active vitamin D₃ (VD₃) through the utilization of cutting-edge recombinant DNA and genome editing techniques.
- Develop a remarkably efficient production platform for useful plant-derived compounds based on bag-type bioreactors, environmental control technology and efficient extraction and purification methods.
- Establish an enterprise for commercializing active VD₃ intermediates produced by highly-efficient plant tissue culture production systems.

Research and development outline

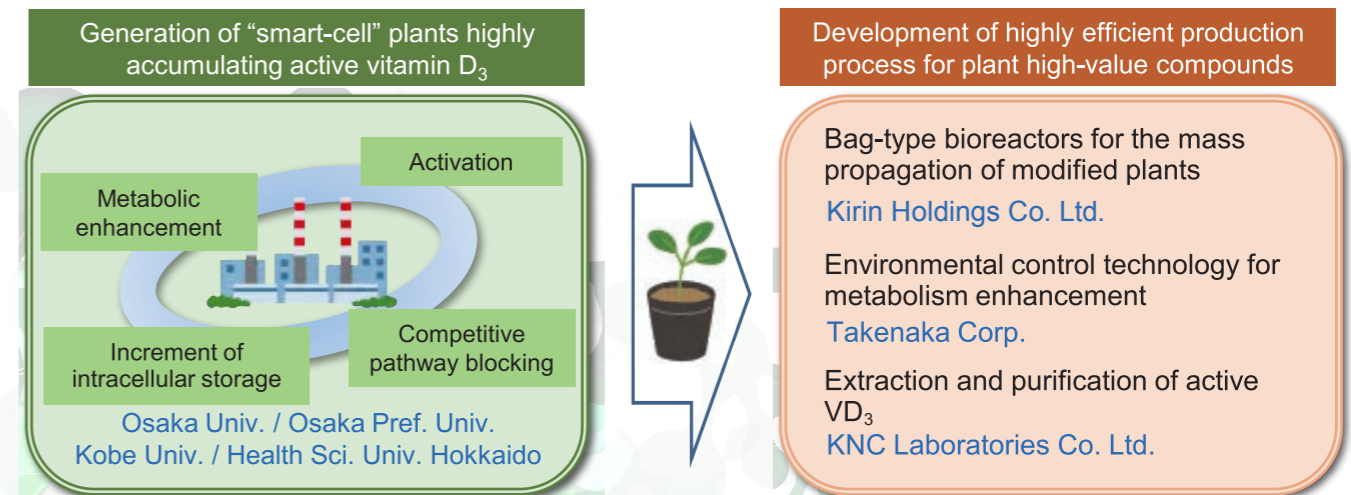
Active vitamin D₃ (calcitriol) for a healthy longevity society



- Calcitriol is an indispensable molecule for human body that regulates calcium and phosphorus metabolism.
- It is used as an effective treatment for osteoporosis, chronic renal failure, hypoparathyroidism and other diseases.
- Current supply of existing products requires multiple-step chemical synthesis.

R&D for plant active vitamin D₃ production

- Active/inactive VD₃ is reported to occur only at trace levels in certain plant species.
- We will increase the yield of VD₃ production by multi-step metabolic engineering; scheme: 1) Metabolic enhancement, 2) Competitive pathway blocking, 3) Increment of intracellular storage, and 4) Conversion to active form (activation).
- Moreover, we will establish a production system including the use of: bag-type bioreactors, environmental control technology (e.g. tuning light quality) for metabolism enhancement, and efficient compound-specific extraction/purification methods.



Message from researchers

We are going to work toward smart cell industry business by building an integrated production system under academic-industrial collaboration.



植物

医薬品中間体原料植物の代謝変換による アルカロイド製造技術の開発

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

研究開発の目的

- 植物由来天然物医薬品原料を植物工場生産する技術プラットフォームを構築します。
- Catharanthus roseus* (ニチニチソウ) のモノテルペンインドールアルカロイドの含量増大技術を開発します。
- Catharanthus roseus* (ニチニチソウ) の人工光型植物工場での栽培生産技術を最適化します。

研究開発の概要



- ▲植物由来天然物→医薬品等の原料としての需要
- ▲栽培化されておらず野外の自生植物を採取する場合もある

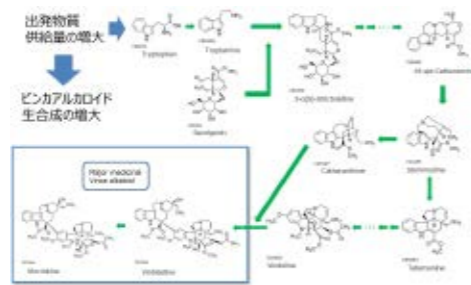


- 想定される需要を満たすと原料植物が絶滅 (Sustainability)
- 野外採集・生産からの収穫量・有効成分のばらつき (Stability)
- 野外採集・生産からの有害成分の混入 (Safety)

植物工場での3つのSを解決 → 医薬品原料の安定供給



Catharanthus roseus ニチニチソウ → ビンカアルカロイドの原料植物



①ビンカアルカロイド含量増大遺伝子の特定

- ・生成出発物質の供給
- ・輸送蓄積機構の制御
- ・新規な増産貢献遺伝子
- ・中間体蓄積技術の開発

②ニチニチソウ形質転換体の作出

- ・高効率で再現性のある形質転換系



③ニチニチソウの人工光型植物工場栽培技術

- ・高度な環境制御
- ・バイオマス向上
- ・高含量化



実施者からの一言

- 植物での合成生物学からのアプローチになります。
- 扱っている植物は、ニチニチソウがメインとなりますが、他の植物、他の天然物をご研究されている先生方との連携を期待しています。
- さらに、微生物での合成生物学の知見・技術との融合にも意欲があります。

連絡先 木坂 広明 (味の素(株)) hiroaki_kisaka@ajinomoto.com



Plant

Alkaloid Production Using Metabolic-Engineered Medicinal Plants

Ajinomoto Co. Inc., Kyoto University, Chiba University, Tamagawa University, Tokushima University, Northern Advancement Center for Science & Technology

Research and development purpose

- To develop the technology platform for the production of raw materials of plant-derived medicines in plant factory
- To increase the monoterpene indole alkaloid contents in *Catharanthus roseus*
- To optimize the cultivation technique of *Catharanthus roseus* in closed artificially-lighting plant factory

Research and development outline



- ▲ plant-derived natural products→highly demanded as medicines
- ▲ Depending on wild-grown plants in some cases



Challenges are

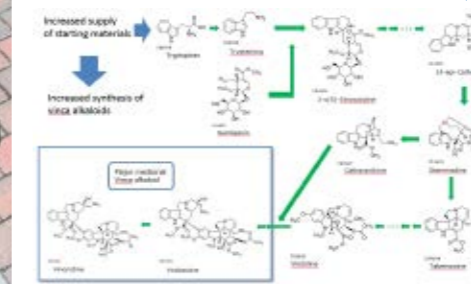
- Sustainability : hard to keep enough amount of field-grown plants
- Stability : Instability of yield and ingredients from field-grown plants
- Safety : Incorporation of undesirable substances

Resolution to three S by plant factory

→ Stable supply of plant raw materials



Catharanthus roseus → plant raw materials of vinca alkaloids



I. Strategies for increased synthesis of vinca alkaloids

- ・ Supply of starting materials
- ・ Transport and deposition
- ・ Intermediate metabolites accumulation analysis

II. Transformation of *Catharanthus roseus*

Efficient and reproducible transformation technique



III. Development of the cultivation of *Catharanthus roseus* in plant factory

Strict environment control for increased bio mass and alkaloids content



Message from researchers

- This research is dedicated to synthetic biology in plants.
- We're now focused in Madagascar periwinkle but we also believe this methods will contribute to other medicinal plant improvement.
- We further believe our research will be inspired by advice and comments from experts of synthetic biology in micro organism.

新規のジャガイモシストセンチュウ防除剤の開発
組換えナス科植物によるジャガイモシストセンチュウ孵化促進物質の生産
ホクサン(株) / (国研) 産業技術総合研究所

Development of new controlling agents against potato cyst nematode
Production of substances which stimulate the hatching of potato cyst nematodes using transgenic solanaceous plants
Hokusan Co. Ltd., National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

研究開発の目的

Research and development purpose

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

Developing a system for mass-producing new agricultural materials which stimulate the hatching of PCN to be used as main ingredients in agricultural products against potato cyst nematodes which are causing enormous damage worldwide and for which no effective countermeasures or controlling agents have yet been developed

【ジャガイモシストセンチュウ (PCN) とは】

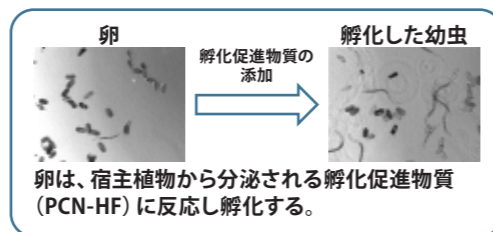


【What are potato cyst nematodes (PCN)?】



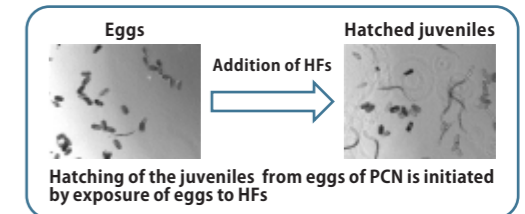
【PCN 孵化促進物質 (PCN-HF) とは】

- ・宿主植物 (ジャガイモ・トマト) にて生産される
- ・PCNシスト中の卵の孵化を促す活性を有する物質
- ・複数種類存在し、同定されている物質もある
- ・既知の手法 (化学合成や天然物精製手法) による大量生産は、コスト等の理由で困難

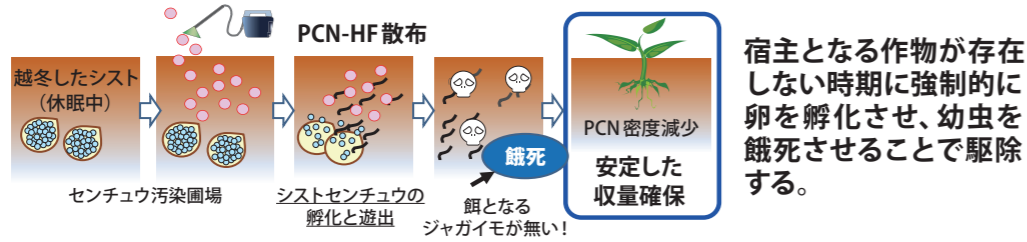


【What are PCN hatching factors (PCN-HF)?】

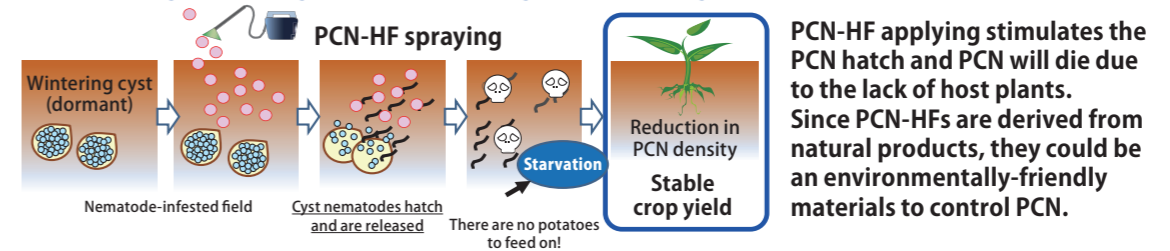
- ・Produced by the host plants (potatoes/tomatoes)
- ・Substances which stimulate hatching of the juveniles from the PCN cysts
- ・There exist many varieties, some of which have been identified.
- ・Mass production by known methods (chemical synthesis and natural purification) is problematic due to high costs



《孵化促進物質 PCN-HF による防除方法》



《Controlling/attacking nematodes using PCN hatching factors (PCN-HF)》



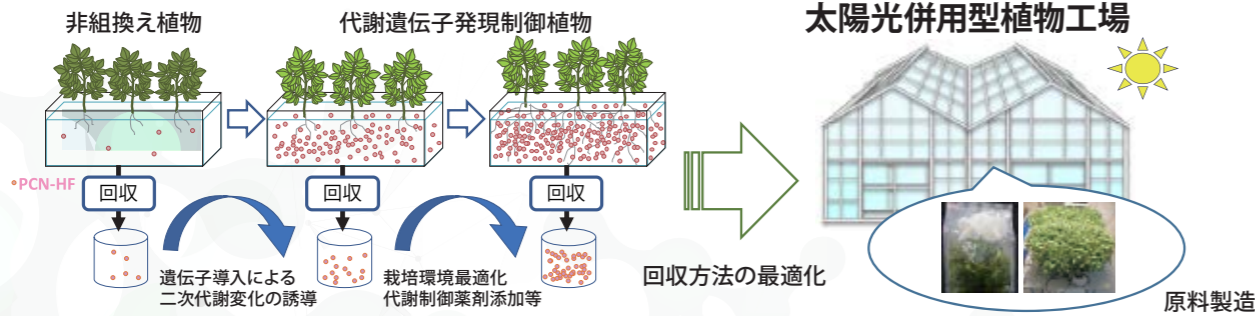
研究開発の概要

Research and development outline

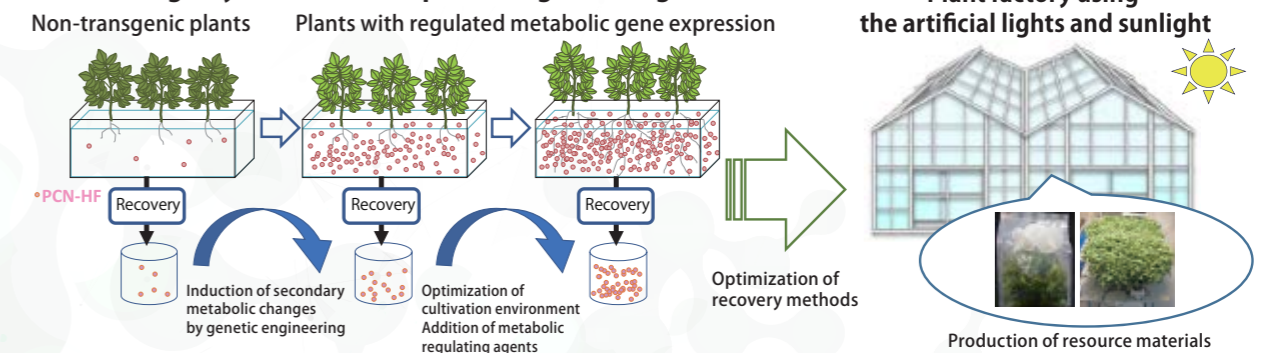
- ・ジャガイモシストセンチュウ宿主植物であるナス科植物の遺伝子組換えによる代謝遺伝子の発現制御
- ・PCN-HFを高生産する植物体の作出・選抜
- ・組換え植物を用いた植物工場での高生産栽培条件の最適化と孵化促進物質回収方法の確立

- ・Regulating the expression of metabolic genes by transgenic solanaceous plants which are the host crop of potato cyst nematodes
- ・Producing and selecting plants that are expressing high amounts of PCN-HF
- ・Optimizing high-volume cultivation conditions in plant factories using transgenic plants and establishing methods for the recovery of hatching factors

【孵化促進物質の大量生産系の確立】



【Establishing a system for mass-producing hatching factors】



実施者からの一言

Message from researchers

ホクサン(株)は、農薬の製造販売メーカーであり、農薬開発のノウハウを持っています。また、(国研)産業技術総合研究所と共同で開発した、閉鎖型植物工場を利用した遺伝子組換えイチゴを原薬とした動物用医薬品の事業化に成功した実績を有しております。

Hokusan Co. Ltd. is a company that manufactures and sales agrochemicals. We have high techniques and know-how about the pesticide development. Hokusan and AIST developed a strawberry that produces canine interferon and uses the fruit itself as an active pharmaceutical ingredient (active ingredient). It is currently the only pharmaceutical in the world that uses a genetically-modified plant as an active ingredient.

連絡先 田林紀子 (ホクサン(株)) noriko-tabayashi@hokusan-kk.jp

**イチイ細胞培養による
タキサン系医薬中間体 10-DAB の効率生産法開発**
北海道三井化学(株) / 京都大学

**Development of an efficient production system for a pharmaceutical
intermediate 10-DAB using yew-tree cell culture technology**
Hokkaido Mitsui Chemicals, Inc., Kyoto University


研究開発の目的

- 標的遺伝子の改変／発現制御による、タキサン系医薬中間体 10-DAB 高生産スマートセルを作出します。
 - イチイ細胞の遺伝子組換え技術の開発
 - タキサン系化合物高生産株の取得
 - タキサン系化合物の輸送、蓄積制御
- 植物細胞培養向け袋型バイオリアクターを開発します。

Purpose

- Establishment of yew-tree "Smart-cell" line having high productivity of 10-DAB by the genetic modification or the regulation of targeted gene expression
 - Development of gene recombination technology for yew-tree cells
 - Acquisition of cell lines having high productivity of taxanes
 - Control of transport and accumulation of taxanes
- Development of Single-use bioreactor for yew-tree cell culture

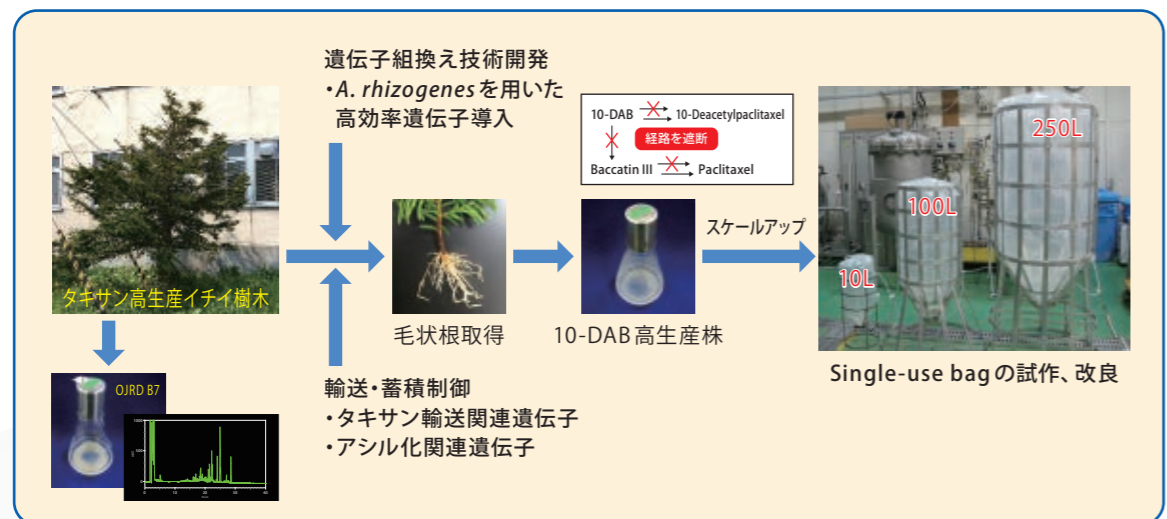

研究開発の概要



◆背景

- イチイ樹木は重要なタキサン系抗がん剤 paclitaxel を生産しますが、その含量は 100ppm 以下。
- イチイ樹木は生長が著しく遅く、栽培に 10 年以上の期間を必要とするため、原料の安定確保には天候の影響や病害虫発生リスクが高い。
- タキサン系抗がん剤は複雑な構造を有し、化学合成による製造での産業化は現実的ではありません。
- 日本におけるタキサン系抗がん剤 (paclitaxel, docetaxel, cabazitaxel 等) は年間 12 万人に使用され、ほぼ全ての原料が海外からの輸入に頼っています。

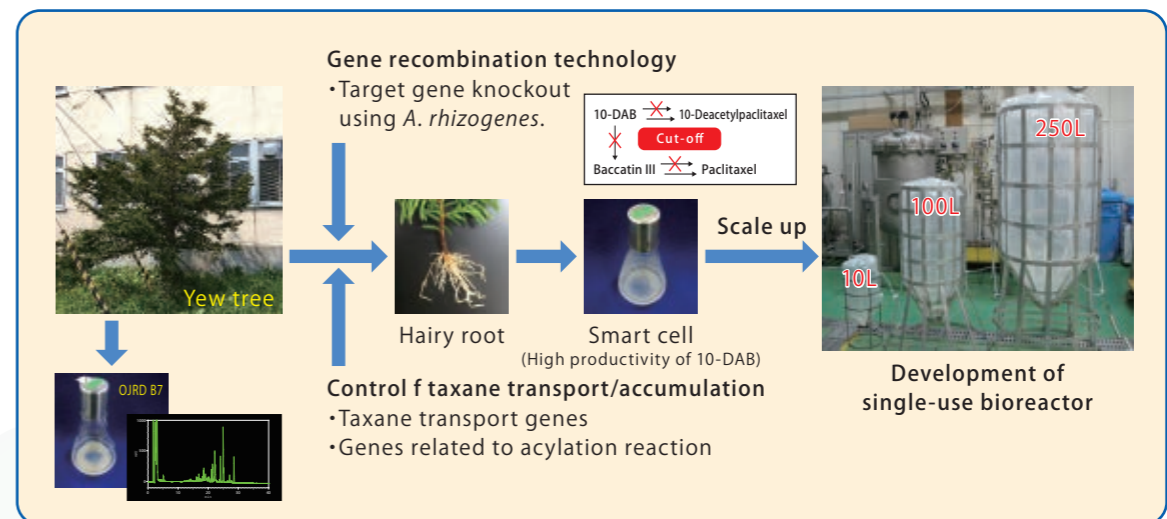
→ スマートセルを作出し、『ecology』『Traceability』『Sustainability』を満足する生産法を構築

◆Background

- Yew tree produces an important taxane-based anti-cancer drug paclitaxel, but its content is about 100ppm or less.
- Yew tree grows remarkably slowly, and requires a period of 10 years or more for cultivation. Therefore, there is high risk to the stable securing of raw materials.
- Taxane-type anticancer drugs have a complicated structure, and industrialization by chemical synthesis is not realistic.
- Taxane-type anticancer drugs (paclitaxel, docetaxel, cabazitaxel etc.) are used by 120,000 people per year in Japan, and most of the raw materials depend on foreign imports.

→ Development of an efficient 10-DAB production system by constructing yew tree "smart cell" lines.



実施者からの一言

植物細胞培養技術は、植物が生産する機能性成分を効率良く生産できる技術で、無菌条件下、半永久的に細胞を培養増殖させることが可能です。一度培養株を確立してしまえば元の植物資源は必要とせず、また安定した生産供給が可能であり、土壌の使用も必要無いことから有害な物質の混入もありません。本研究では、植物資源の安定確保が難しくなりつつある中で、『Ecology』『Traceability』『Sustainability』の面で利点を持つ本技術と遺伝子発現制御技術を組み合わせ、生長が遅い樹木に含まれる機能性微量成分の効率生産にチャレンジしています。また、本技術は化粧品や機能性食品の原料開発にも応用可能です。

連絡先 多葉田 誉 (北海道三井化学(株)) homare.tabata@mitsuichemicals.com

Message from the implementer

Steadily securing plant resources that have been used for pharmaceuticals, functional foods and cosmetic ingredients is becoming difficult year by year. We are working on the production of phytochemicals that are difficult to produce, using plant cell culture technology with the advantages of ecology, traceability and sustainability.

In this study, we aim to establish the novel functional phytochemicals production system with a combination of plant cell culture technology and gene control technology.

植物・実用化 シソの健康機能性成分を高含有化する技術開発
～古来より利用されてきたシソを用いて～
(株)アミノアップ/ (国研) 産業技術総合研究所、(公財) 北海道科学技術総合振興センター、徳島大学

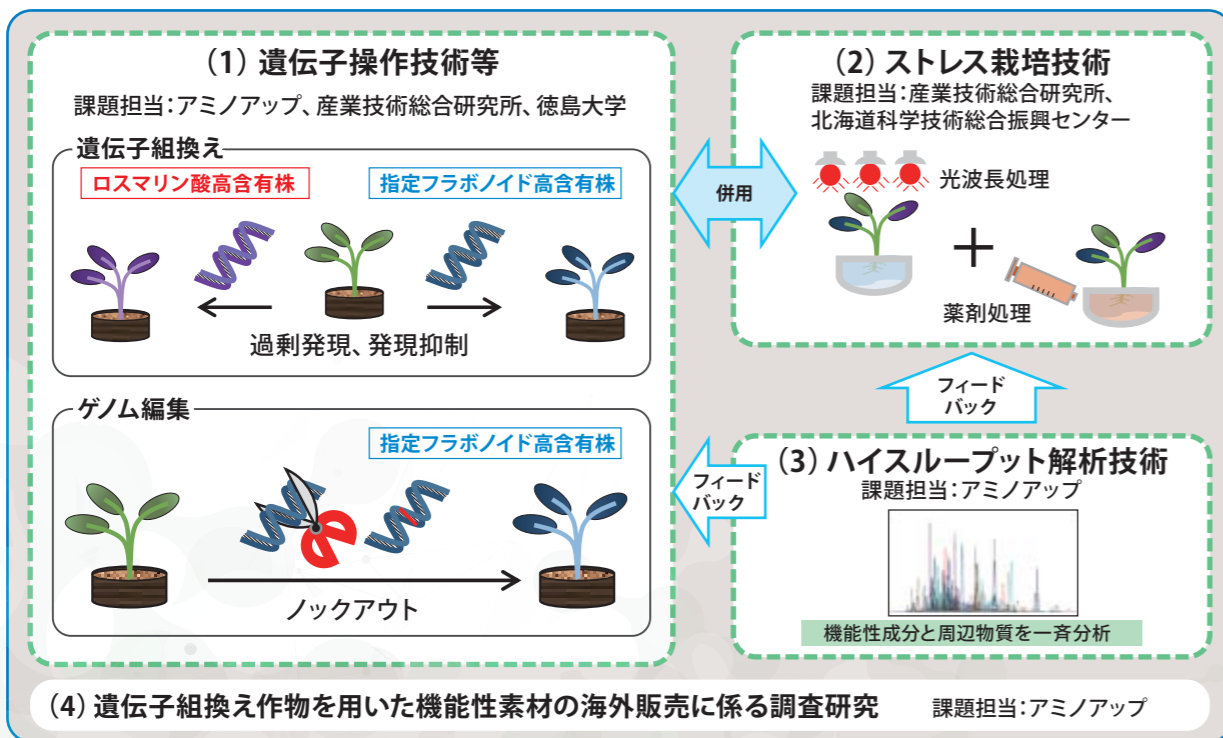
Plant Development of novel techniques to produce perilla rich in functional ingredients
Amino Up Co., Ltd.,
National Institute of Advanced Industrial Science and Technology,
Northern Advancement Center for Science & Technology, Tokushima University

研究開発の目的

- ・高齢化社会において、健康寿命や労働寿命の延伸、疾病予防のため健康機能性成分が注目されています。
- ・シソには健康に寄与する成分が含まれていることが古くから知られています。

シソが持つ健康機能性成分の高含有化を目的として技術開発を行います。

研究開発の概要



実施者からの一言

シソの遺伝子組換え技術及びストレス栽培技術（一部成分の高含有化）を確立致しました。

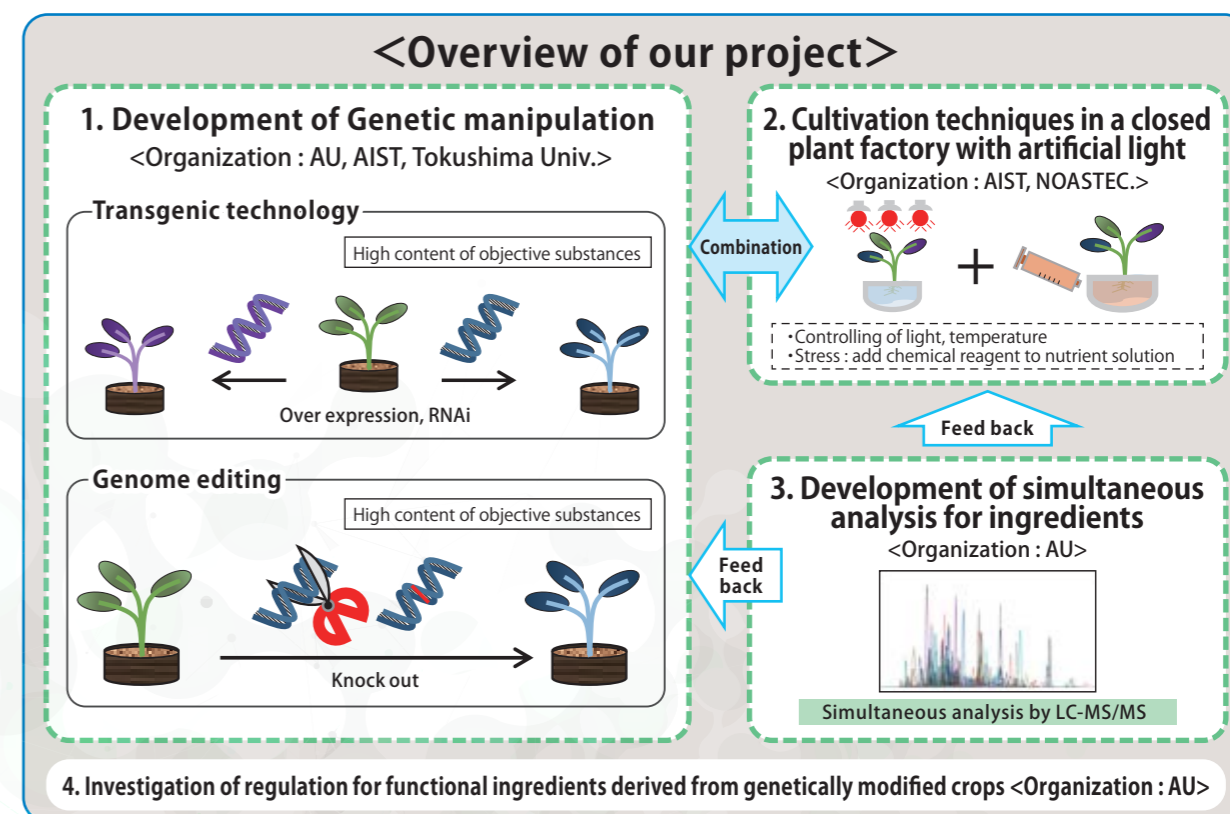
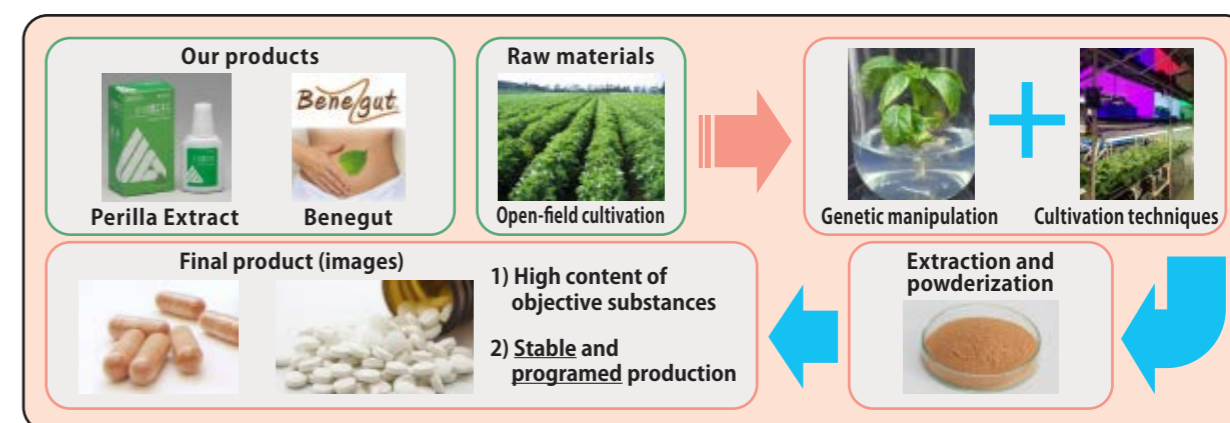
連絡先 後藤 一法 ((株)アミノアップ) goto@aminoup.jp

Research and development purpose

- ・ In the aging society, various phytochemicals associated with human health are getting attention in terms of disease prevention and healthy life expectancy.
- ・ Perilla has been known to contain beneficial ingredients that contribute to human health since early times.

To develop new perilla plant containing high level functional ingredients

Research and development outline



AU: Amino Up Co., Ltd.; AIST: National Institute of Advanced Industrial Science and Technology; NOASTEC: Northern Advancement Center for Science & Technology

情報技術を核とした超高速スマートセル創出プラットフォームの開発

委託先: 神戸大学、産業技術総合研究所、味の素㈱、江崎グリコ㈱、神戸天然物化学㈱、JSR㈱、備前津製作所、不二製油グループ本社㈱、三菱ケミカル㈱、地球環境産業技術研究機構 (RITE)、理化学研究所、石川県立大学、東北大学、長岡技術科学大学、新潟薬科大学、京都大学、九州大学、㈱日立製作所、東京大学、筑波大学、㈱ニコンインテック、製品評価技術基盤機構 (NITE)、バイオインダストリー協会
再委託先: 大阪大学、岡山大学、千葉大学、バイオジェット㈱、鹿児島大学、信州大学、花王㈱

研究開発の目的

- 有用物質の生産性を大幅に高めるスマートセルの設計図を構築し、従来と比較して飛躍的に実効性の高い遺伝子配列情報を提供する**スマートセル設計システム**を開発する。
- スマートセル設計システム**の開発に必要なデータを取得するために、多様性を有する微生物を短時間で構築する技術を開発するとともに、生産性データおよびオミクスデータを高精度かつハイスループットに取得する、**ハイスループット合成・分析・評価技術**を開発する。
- 民間企業が標的とする特定の生産物質で、**スマートセル設計システム**および**ハイスループット合成・分析評価技術**の有効性を検証するとともに、実用化技術を開発する。

研究開発の概要

(1) ハイスループット合成・分析・評価技術の開発

Design (変更計画) → **Build** (構築微生物) → **Test** (測定データ) → **Learn** (アルゴリズム) → **Design**

DBTL cycle

ハイスループット微生物構築・評価技術
膨大な種類のDNAを微生物に導入するため、再現性の高いハイスループット自動形質転換システムを開発しました。

長鎖DNA合成技術
30kbを超える長鎖DNAを2週間程度の短期間に、低コストで、正確に構築することが可能となりました。長鎖DNAのコンビナトリアルライブラリ技術と情報解析を組み合わせて、高生産微生物を効率よく得る方法の開発と実証を行いました。

シャーシ微生物高速育種法
有用化合物の共通前駆体（ハブ化合物）を高生産できる微生物を「シャーシ微生物」と呼びます。長鎖DNA合成技術、ハイスループット微生物構築・評価技術、高精度メタボローム解析技術を組み合わせることで、シャーシ微生物を高速育種する手法を開発しました。

輸送体探索技術
情報解析技術と輸送体探索技術の融合により、探索に要する時間を大幅に短縮し、ターゲット化合物を輸送する輸送体の探索技術を開発しました。

非破壊型細胞評価技術
細胞の自家蛍光パターンを指標に、1細胞の解像度で非破壊的に細胞の種類を識別したり、細胞の代謝状態を推測したりすることができる細胞評価技術: CRIF法を開発しました。

ハイスループットトランスクリプトーム解析技術
トランスクリプトーム解析の信頼性を向上するためのスパイクイン用核酸標準物質を開発、頒布体制を構築しました。未分解RNAのみを選択的に解析する技術を確認し、実施が難しかった試料の解析を可能にする技術を開発しました。

データ解析プラットフォーム

LC/MS/MS SFC/MS/MS SFE-SFC/MS/MS

高精度メタボローム解析技術
ロボットによる再現性の高い多検体前処理と水溶性代謝物の網羅的な検出により、物質生産に適した培養条件や細胞の把握、代謝合成経路のボトルネック反応の同定を実現しました。

メタボローム解析サンプル調製専用自動前処理システム

パイロット設備

遺伝子群抽出法の開発
ネットワークモデルに組み入れるべき遺伝子を選出する

ネットワーク推定法の開発
遺伝子間の発現依存関係を明らかにする

ダイナミクス解析法の開発
定量的シミュレーションを行い、標的遺伝子を絞り込む

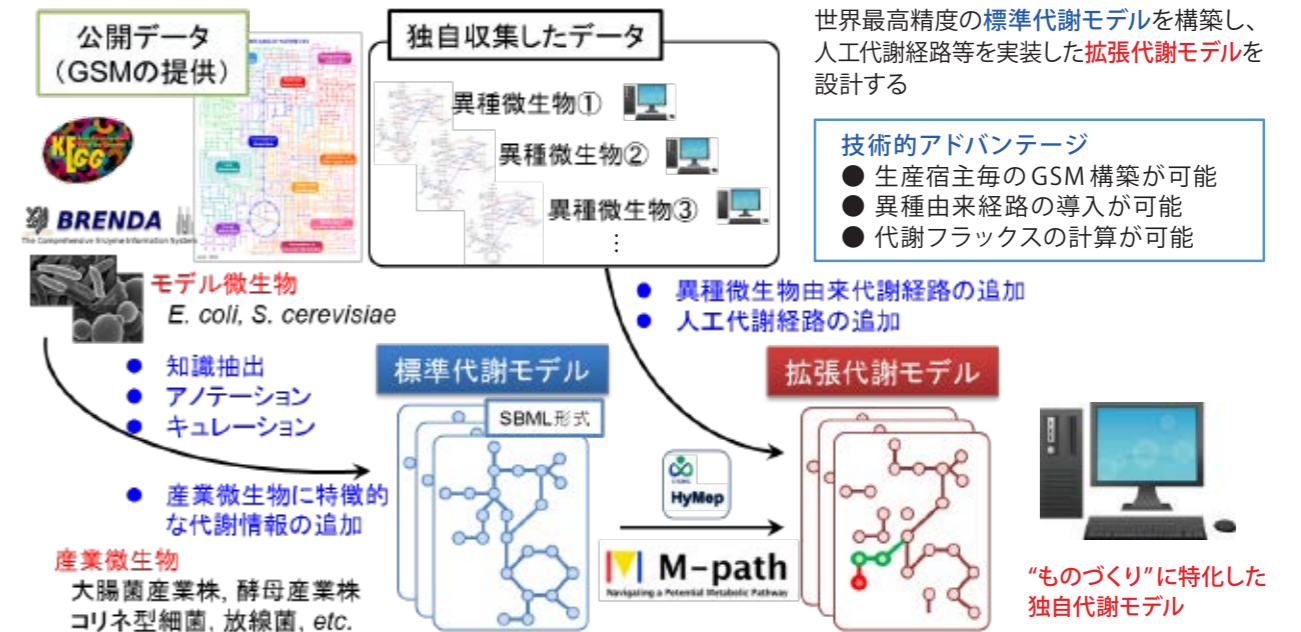
発見量最適化手法の確立
wild H1

遺伝子発現制御ネットワークを最適化する情報解析技術

標的遺伝子の探索後、情報解析技術を用いてタンパク質生産量を最適化する遺伝子配列を設計する

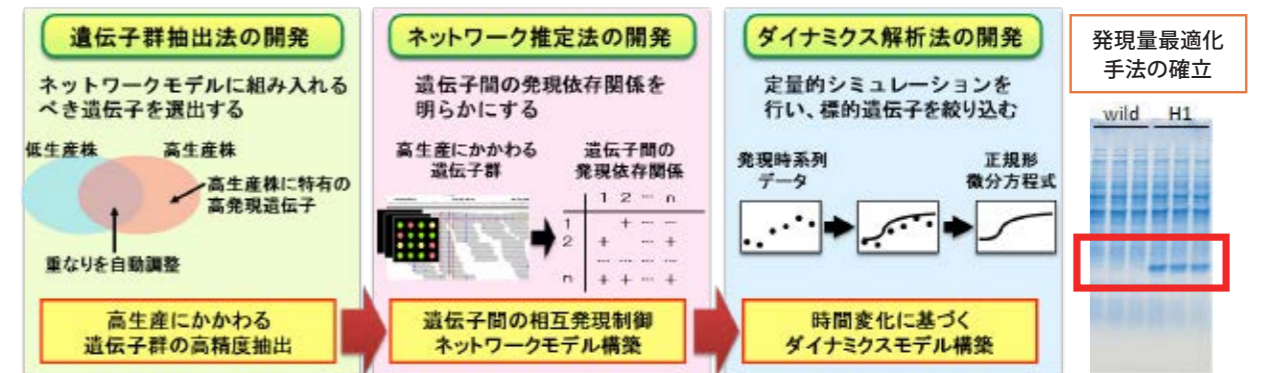
(2) 高生産性微生物（スマートセル）設計システムの開発

代謝系を設計する情報解析技術



研究開発項目(1)で取得した実験データを制約条件としてモデルに反映し、特定の物質の生産に必要な情報が選択された高度生産細胞モデルを構築する

遺伝子発現制御ネットワークを最適化する情報解析技術



(3) 高生産性微生物創製に資する情報解析システムの有効性検証

- 超高速育種の実現
情報技術で示された変更指針を育種株に導入し、物質生産株の開発期間を従来の1/10に短縮する
- 従来育種を超える生産性向上
従来育種手法で生産性を限界まで高めた微生物に対して、さらに高い生産性を実現させる
- 新規の物質生産株の創出
従来の育種手法では微生物生産が実現できなかった物質（例えば植物で合成されている物質）を生産する、新規微生物株を創出する
- 成果の事業化を目指したアウトリーチ活動
開発技術のビジネスモデルの確認および課題抽出、技術情報の広報活動、勉強会の企画に取り組む

実施者からの一言

情報技術とバイオテクノロジーを融合・システム化することにより、日本独自の産業微生物「スマートセル」を超高速に育種する技術を開発し、世界的に優位な高機能品生産技術を確立します。

連絡先 蓮沼誠久 (神戸大学) hasunuma@port.kobe-u.ac.jp

Development of super high-speed smart cell creation platform based on IT

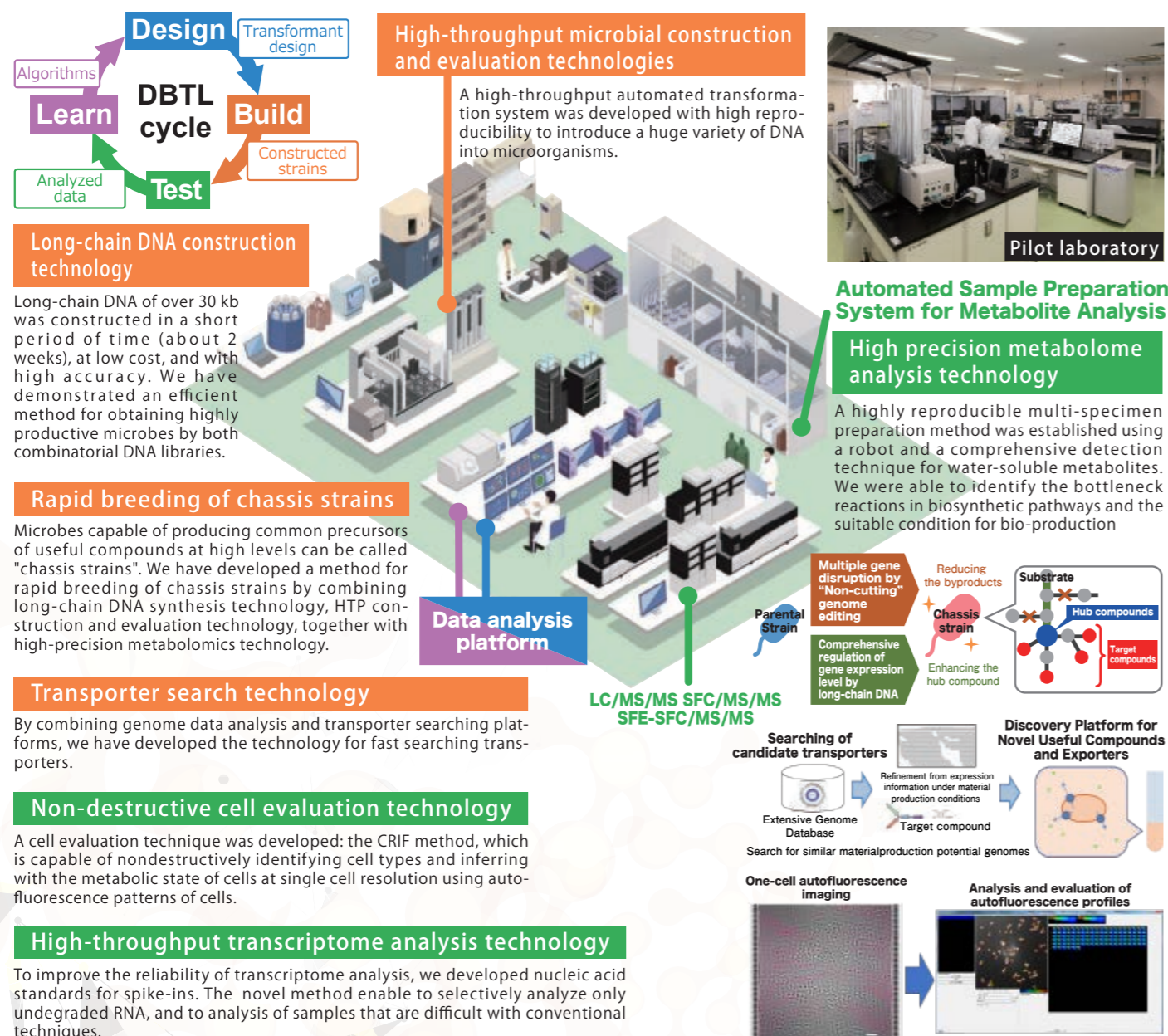
Kobe Univ., The National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Ajinomoto Co., Inc., Ezaki Glico Co., Ltd., KNC Laboratories Co., Ltd., JSR Corporation, Shimadzu Corporation, Fuji Oil Co., Ltd., Mitsubishi Chemical Corporation, Research Institute of Innovative Technology for the Earth(RITE), RIKEN, Ishikawa Prefectural Univ., Tohoku Univ., Nagaoka Univ. of Technology, Niigata Univ. of Pharmacy and Applied Life Sciences, Kyoto Univ., Kyusyu Univ., Hitachi, Ltd., Tokyo Univ., Tsukuba Univ., NIKON INSTECH CO., LTD., National Institute of Technology and Evaluation(NITE), Japan Bioindustry Association, Osaka Univ., Okayama Univ., Chiba Univ., BioJet Co., Ltd., Kagoshima Univ., Shinshu Univ., Kao Corporation

Research and development purpose

- **Gene sequence design system** that designs a smart cell greatly enhancing the productivity of useful substances to provide dramatically more effective gene sequence information will be developed.
- In order to acquire the data necessary for the development of gene sequence design system, high-throughput **(HTP) synthesis, analysis and evaluation technology** that acquire productivity data and omics data with high accuracy and high throughput from wide variety of microorganisms developed in a short time.
- The effectiveness of gene sequence design system and HTP synthesis, analysis and evaluation technology will be verified with specific production substances targeted by private enterprises to develop practical technology.

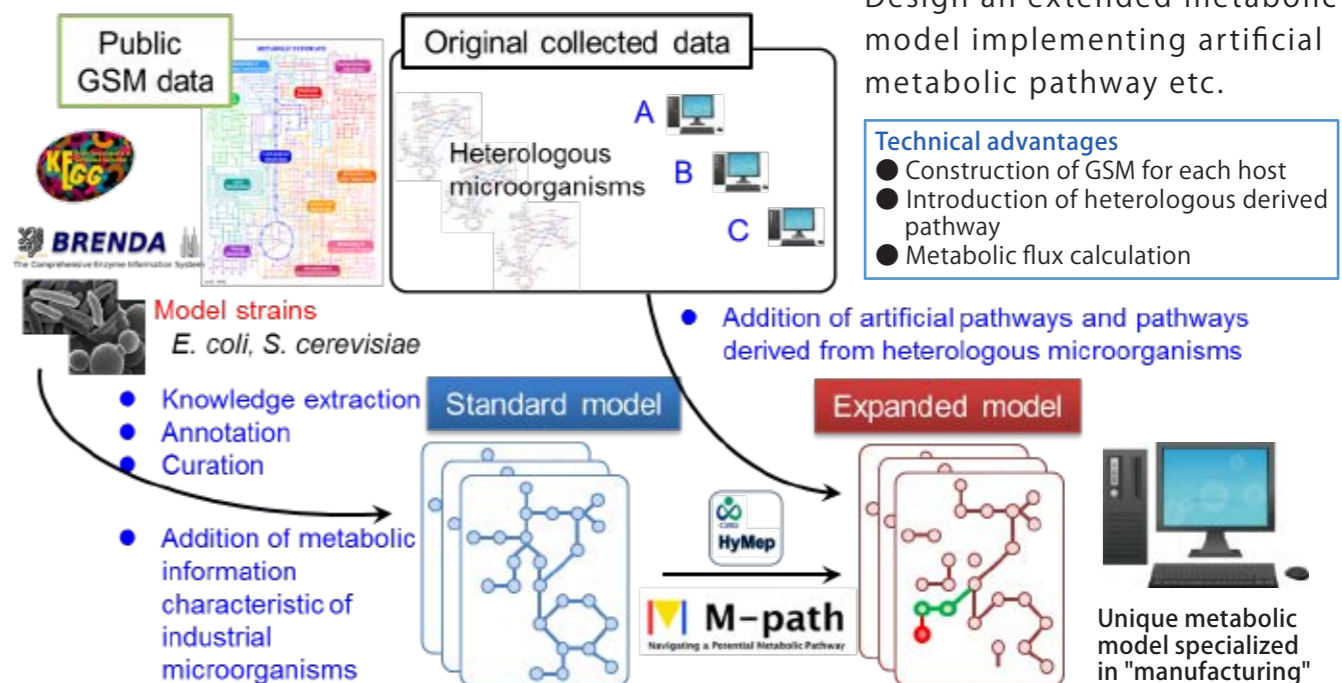
Research and development outline

(1) Development of HTP synthesis, analysis and evaluation technology



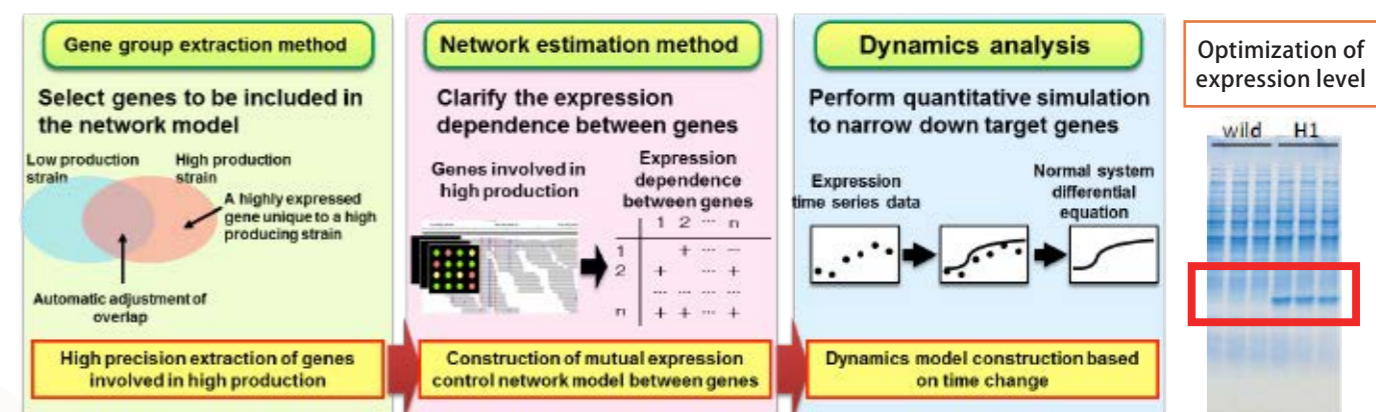
(2) Development of SMART-Cell design system

Information analysis technology to design metabolic system



The experimental data acquired is reflected in the model as a constraint condition to design a highly productive cell model in which information necessary for the production of a specific substance is selected.

Information analysis technology to optimize gene expression control network



After searching for the target gene, a gene sequence that optimizes protein production is designed.

(3) Validity verification of SMART-cell creating platform

- Realization of super fast breeding
Shortening the development period of material production stocks to 1/10 of conventional product
- Productivity improvement over conventional breeding
Realization of higher productivity for microorganisms that increased productivity to the limit by conventional breeding techniques
- Creation of new substances producing strains
Construction of a novel microbial strain that produces substances that could not be produced by conventional microbial process
- Outreach activities aimed at commercializing the results
Confirmation of the business model of the developed technology. And work on problem extraction, PR activities for technical information, and planning of study sessions.

Message from researchers

By systematizing IT and biotechnology, we will develop technologies for breeding Japan's unique industrial microorganism "smart cell" at ultra high speed to establish high-performance material production system.

植物由来の高機能プラスチック
—ポリアミド原料の発酵生産技術開発—
東レ(株) / (国研)産業技術総合研究所、(国研)理化学研究所

High-performance plastic derived from plants
-Development of fermentation technology for polyamide precursor production-
Toray Industries, Inc. / AIST, RIKEN

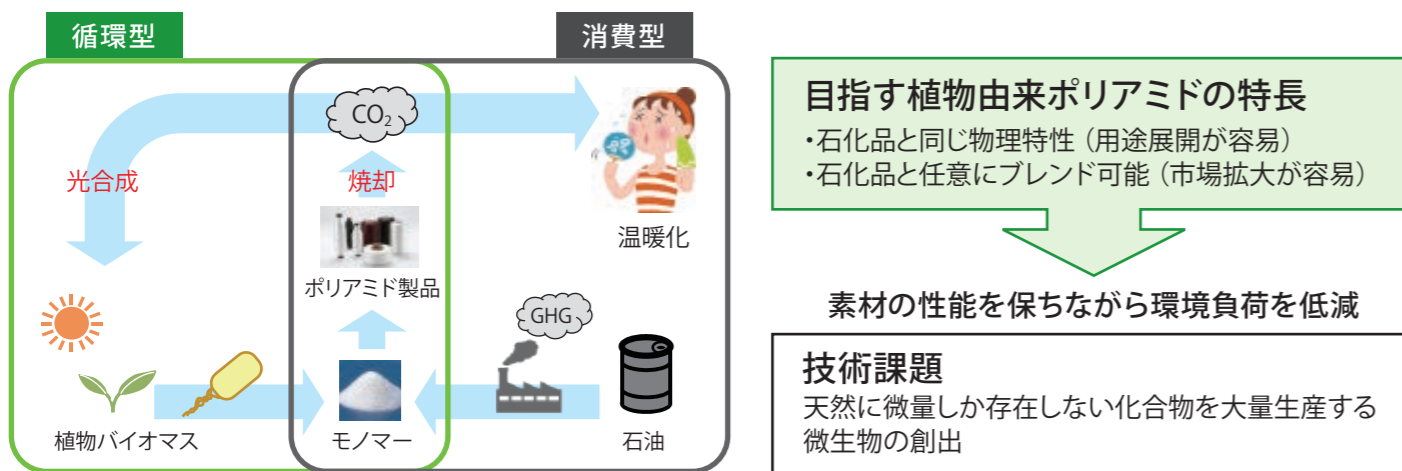
研究開発の目的

- 現在普及している高機能プラスチック（ポリアミド）原料を石油から植物バイオマスに置き換え可能にする技術を開発し、温室効果ガス（GHG）排出削減および持続可能な循環型社会の構築に貢献します。
- スマートセルプロジェクト基盤技術を活用し、ポリアミド原料となる化合物を微生物発酵により高生産する技術を開発します。

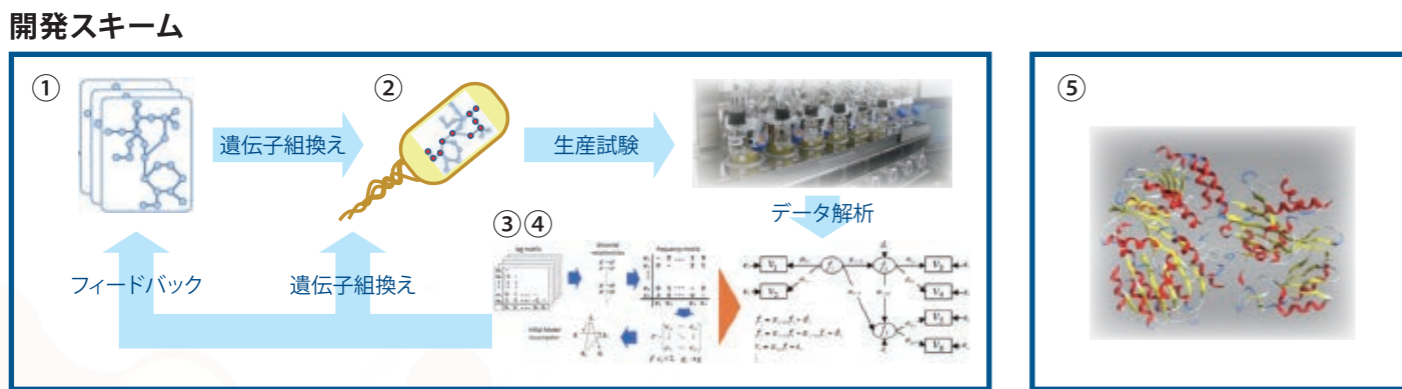
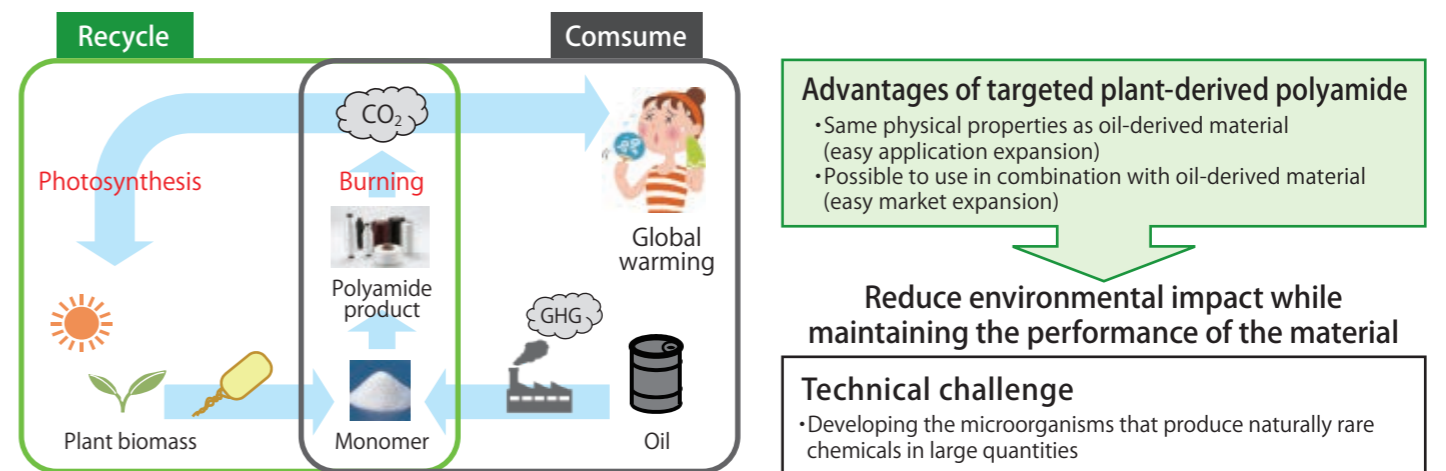
Research and development purpose

- Develop an alternative technology to produce the raw materials of currently oil-derived high-performance plastic (polyamide) from plant biomass to reduce Green House Gas (GHG) emission and contribute to sustainable society.
- Apply the basic technologies of "Smart Cell" project to develop a new microbial fermentation process for the high-level production of the polyamide precursor.

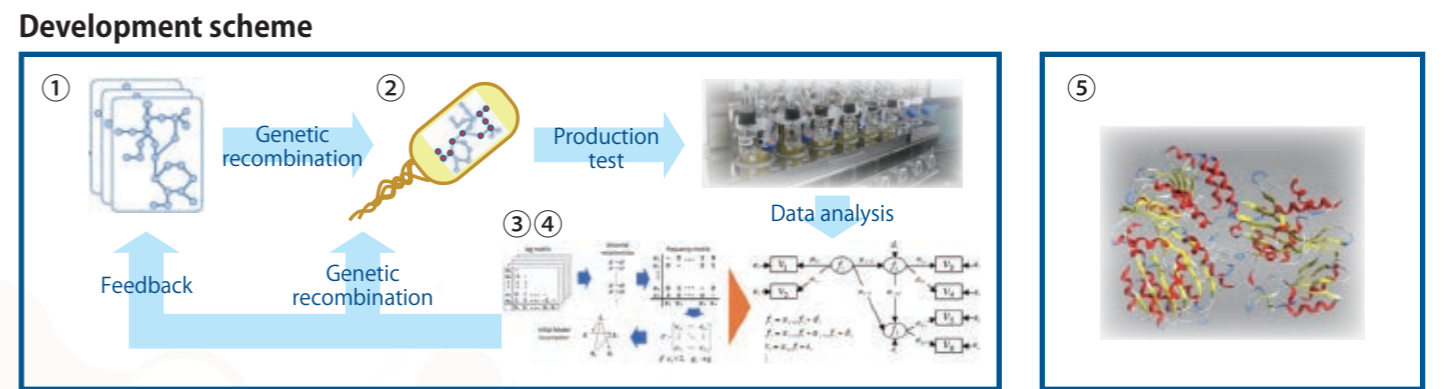
研究開発の概要



Research and development outline



- ① 生産性を最大化する生合成経路の設計
- ② 高生産微生物の作製・評価
- ③ オミクスデータに基づく潜在的な生産性向上遺伝子の探索
- ④ RNA二次構造予測による遺伝子発現の最適化
- ⑤ 立体構造シミュレーションによる生合成酵素の高機能化



- ① Design metabolic pathway that maximizes productivity
- ② Develop and test high-production strains
- ③ Search for latent genes that improve production level based on omics data
- ④ Optimize gene expression based on the RNA secondary structure prediction
- ⑤ Improve the function of the biosynthetic enzyme based on MD simulations and structure analysis

実施者からの一言

- プラスチック原料のバイオベース化により地球温暖化抑制に取り組みます。
- 合成生物学的アプローチにより短期間での生産性向上を目指します。
- 本技術を実用化し、工業分野でのバイオエコノミー実現に向けた一翼を担ってまいります。

Message from researchers

- Our research will contribute to reduce global warming by replacing oil-derived raw materials of plastic with plant biomass-derived materials.
- We aim to improve productivity in a short time-frame by applying synthetic biology technologies.
- We intend to take a role in the construction of industrial bioeconomy by implementing the technologies developed in this project.

連絡先 磯部匡平（東レ（株）） kyohei.isobe.f3@mail.toray

体外診断用医薬品酵素コレステロールエステラーゼの大量生産を目的とする *Burkholderia stabilis* スマートセルの開発
旭化成ファーマ(株) / (国研) 産業技術総合研究所

Development of *Burkholderia stabilis* smart cell for over production of cholesterol esterase for diagnostics
Asahi Kasei Pharma Corporation, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

研究開発の目的

- 体外診断医薬品酵素である *Burkholderia stabilis* 由来コレステロールエステラーゼの大量生産が目的です。
- コレステロールエステラーゼの分泌生産能力を最大化した *B. stabilis* スマートセルを開発します。
- *B. stabilis* スマートセルによる組換えコレステロールエステラーゼの生産技術を確認し実用化します。

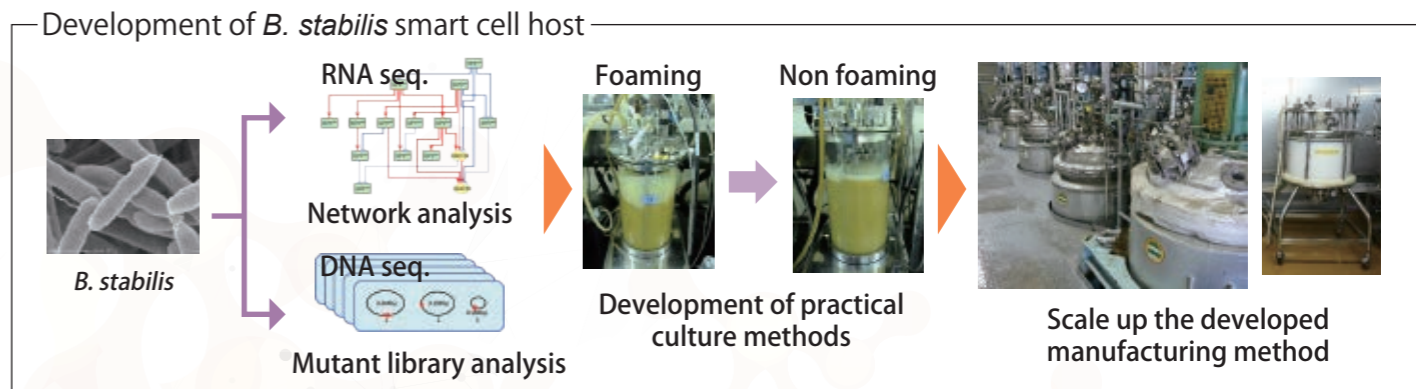
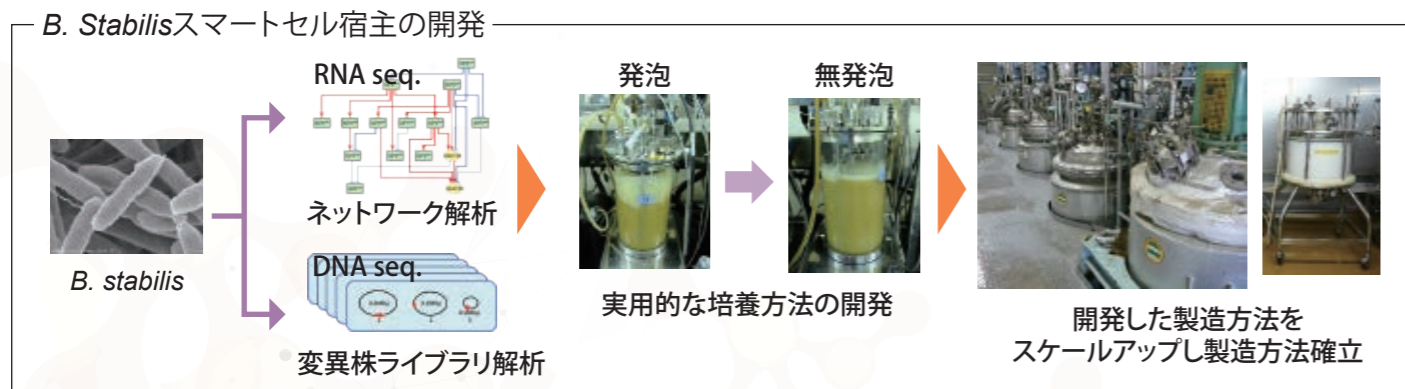
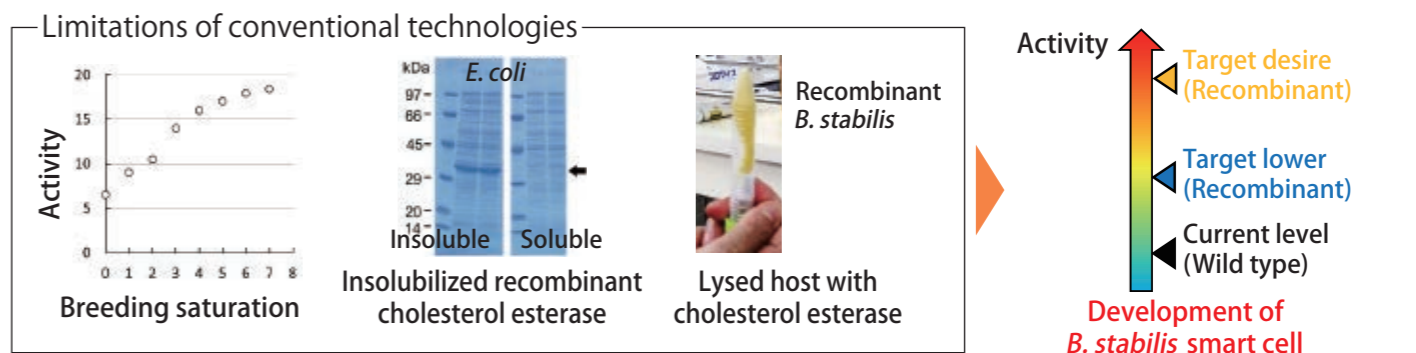
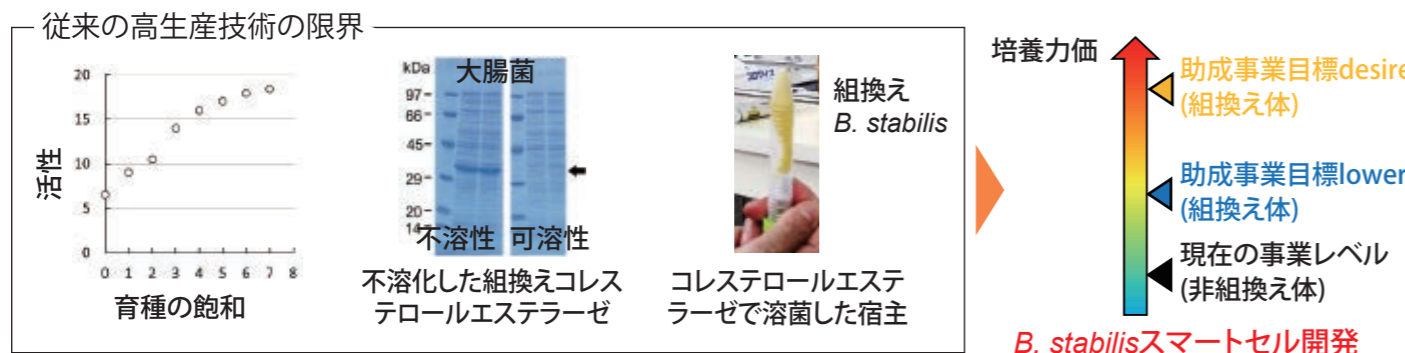
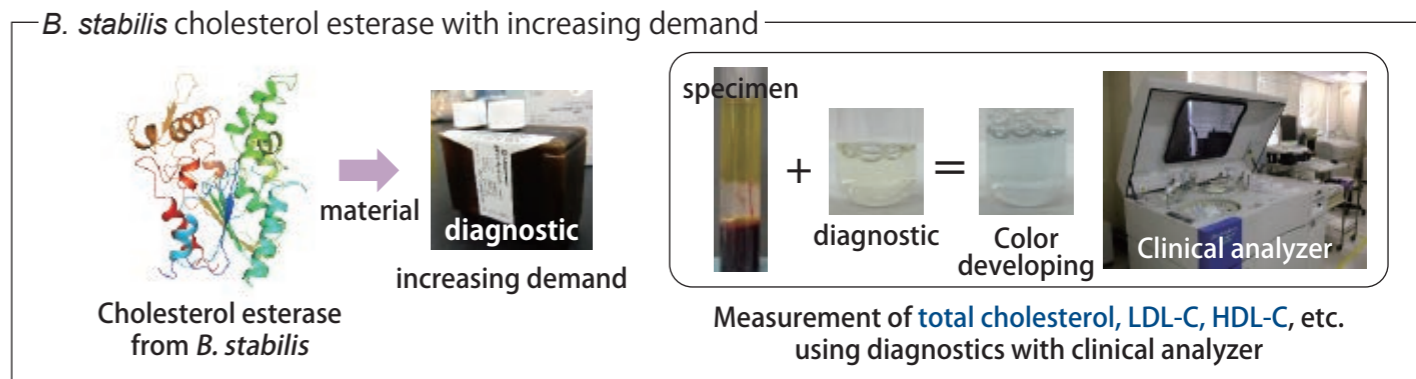
Research and development purpose

- To overproduce cholesterol esterase from *B. stabilis*, an enzyme for diagnostics.
- To develop *B. stabilis* smart cell that maximizes the secretion of cholesterol esterase.
- To establish the recombinant cholesterol esterase production technology using the *B. stabilis* smart cell.

研究開発の概要



Research and development outline



実施者からの一言

- ドライ解析を用いることで、従来の育種では成しえなかった短期間での高生産化を目指します。
- 同様の分泌発現システムを持つ類縁酵素への横展開を期待しています。

Message from researchers

- By using dry analysis, we aim to rapid development of *B. stabilis* smart cell never achieved before.
- We expect to expand to similar enzymes with similar secretory expression systems.

連絡先 酒瀬川 信一 (旭化成ファーマ(株)) sakasegawa.sb@om.asahi-kasei.co.jp

微生物 **希少アミノ酸エルゴチオネイン (EGT) 高生産スマートセルの開発**
長瀬産業(株) / (国研) 産業総合技術研究所、神戸大学、奈良先端科学技術大学院大学、東北大学

Microbe **Development of Smartcell for High production of Rare Amino Acid, Ergothioneine**
NAGASE & CO.,LTD., National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Kobe University, Nara Institute of Science and Technology, Tohoku University

研究開発の目的

- 近年、ビタミン様物質として注目される希少アミノ酸エルゴチオネイン (EGT) のバイオプロセスによる大量生産技術を確立します。

Research and development purpose

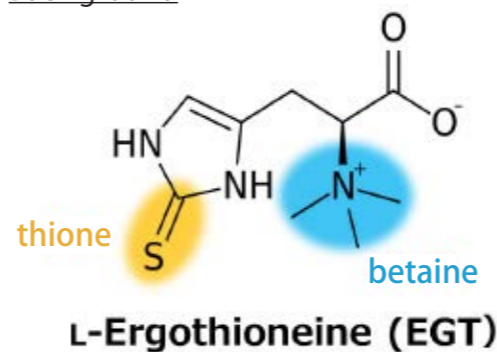
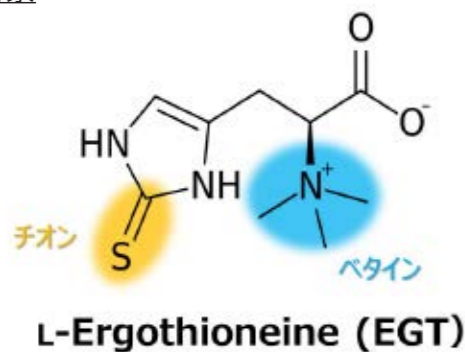
- We will establish "Smartcell" and fermentation process for mass production of the rare amino acid, ergothioneine, which is a vitamin-like compound.

研究開発の概要

- ◆ 背景
- エルゴチオネイン (EGT) は一部のキノコや微生物のみが見つかる天然の希少アミノ酸で、強い抗酸化活性をもちます。
 - ヒトは体内でEGTを合成できませんが、EGT 特異的な取込みシステムが発見されており、キノコ等のEGTを含む食事からEGTを体内に取り込み各種臓器に蓄積しています。さらに、脳では神経新生の誘導効果など特徴的な生理機能が発見されているビタミン様物質です。
 - 食品、化粧品、医薬品等の市場での利用が期待され、様々な分野でその利用に関する研究が進んでいます。
 - 市場での利用が期待されるEGTですが、現状は有機合成法・抽出法による製造は、製造コスト、安定供給に課題があり、特にサプリメントなどの低価格製品市場での利用が困難な状況です。

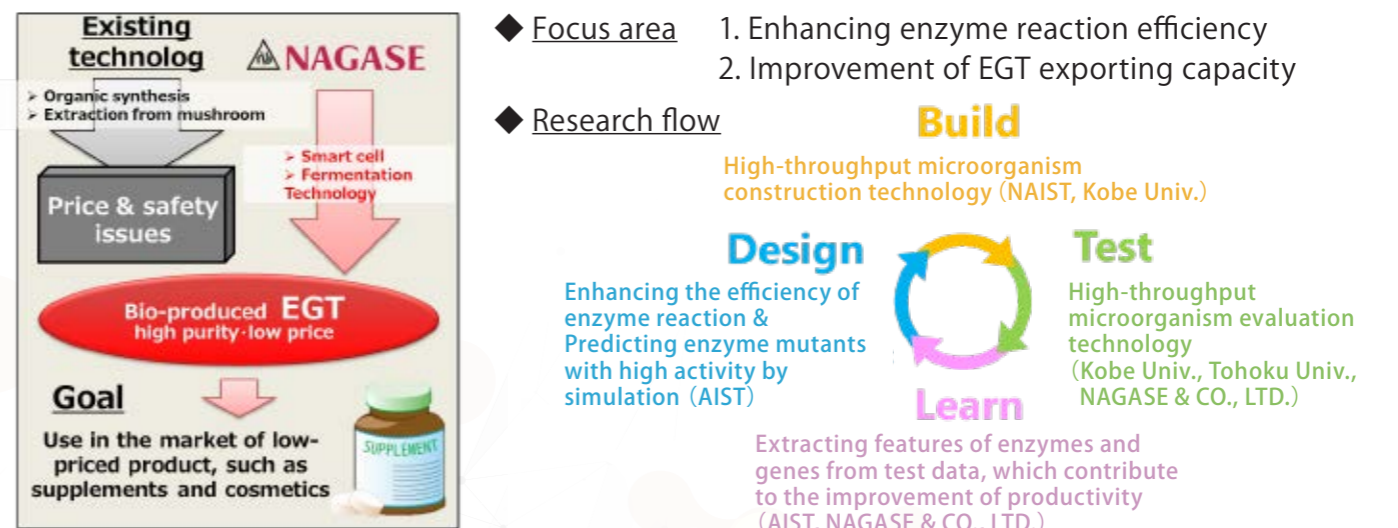
Research and development outline

- ◆ Back ground
- Ergothioneine (EGT) is a natural rare amino acid produced only by some mushrooms and microorganisms. EGT has strong antioxidant activity.
 - Humans cannot synthesize EGT, and take it from meals such as mushrooms. EGT-specific uptake systems have been discovered in human and that moves EGT into cells in the various organs. So, it is thought as a vitamin-like compound. Furthermore, an inducing effect of neurogenesis has been found in the brain.
 - Expected to be used in food, cosmetics, pharmaceuticals, etc. markets, research on their use is progressing in various fields.
 - Although the high potential of EGT, it is difficult to expand the market because of the manufacturing cost and stable supply.



◆ ゴール
発酵技術を用いることで、これまで困難であったEGTの安価かつ安全な大量生産プロセスの確立を目指します。

◆ Goal
Development of a cost-effective EGT fermentation process that has previously been difficult using the smartcell technology.



スマートセルプロジェクトの基盤技術 (特にDBT領域) を活用することで、シミュレーションにより選び出した、多様な変異体、酵素、輸送体をハイスループットに評価し、実用化可能なレベルでEGTを生産可能な生産菌株・培養プロセスの開発を進めます。

Basic technologies of smart cell project (especially the DBT domain) accelerates the evaluation process of various mutants, enzymes, and transporters selected by simulation. We will continue to develop strains and culture processes, which can produce EGT at a practical level.

実施者からの一言

- EGTの生理活性に関する基礎研究も進めております。
- EGTに関してご興味ありましたら、是非ご連絡ください。

Message from researchers

- We are also conducting basic research on the biological activity of ergothioneine
- If you are interested in ergothioneine, please contact us.

◆ 連絡先 仲谷豪 (長瀬産業(株)) takeshi.nakatani@nagase.co.jp



微生物

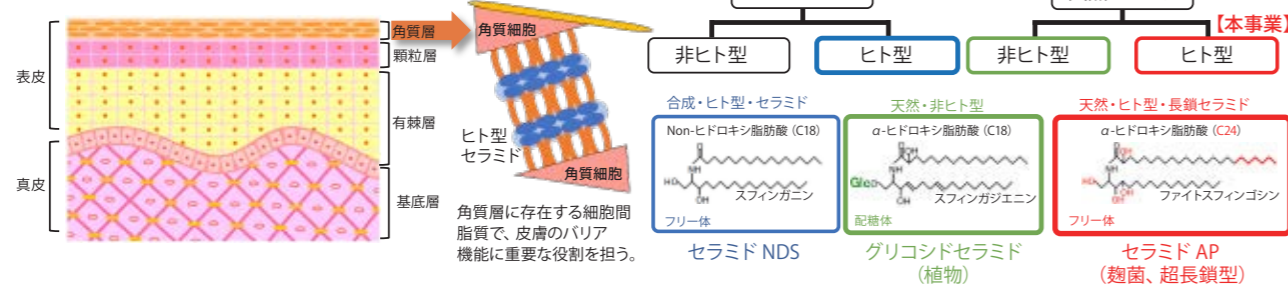
スマートセル技術を活用した天然ヒト型長鎖セラミド高含有醤油麹菌の開発

福岡県醤油醸造協同組合／九州大学、京都大学、(国研) 理化学研究所、(国研) 産業技術総合研究所

研究開発の目的

セラミドとは

セラミドとはスフィンゴ脂質の一種で皮膚の最外層で肌を保護する

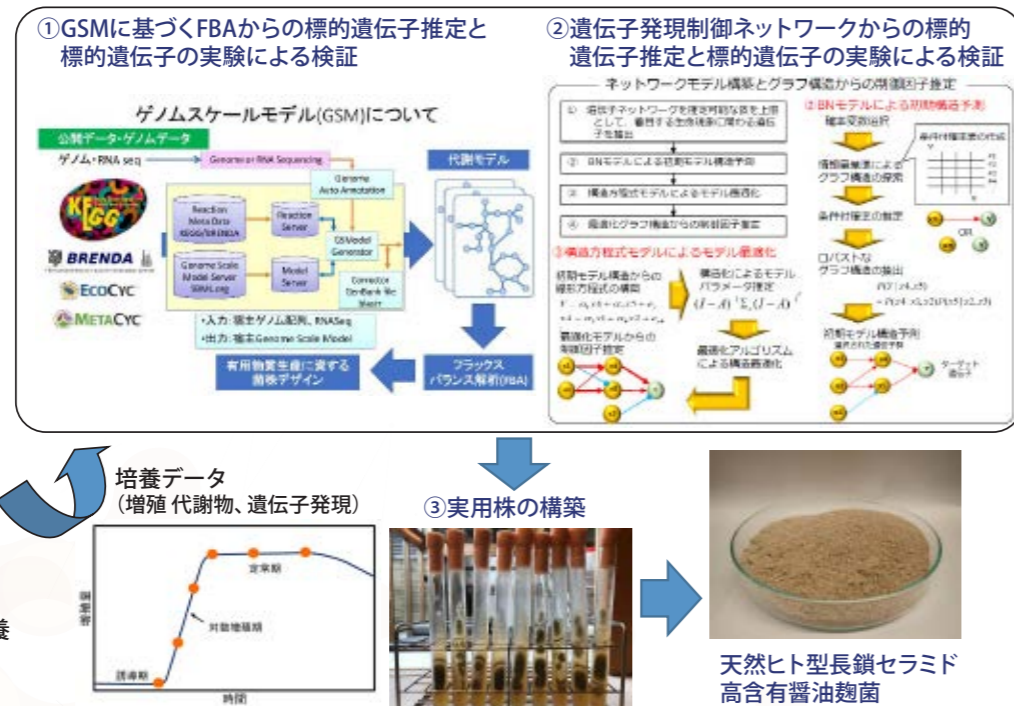


- スマートセル技術を活用して、醤油麹菌のヒト型セラミド産生に関与する遺伝子を推定します。
- 遺伝子組換え技術を活用して、それらの遺伝子の遺伝子破壊株と過剰株を構築し、天然ヒト型長鎖セラミド高含有麹菌を取得します。

研究開発の概要



醤油麹菌
アスペルギルスオリゼー
麹菌の液体発酵培養



実施者からの一言

スマートセル技術を活用して天然長鎖ヒト型セラミドを高含有した麹菌を作出し、天然長鎖ヒト型セラミドの事業を創出します。

連絡先 植木達朗 (福岡県醤油醸造協同組合) ueki@fsjk.or.jp



Microbe

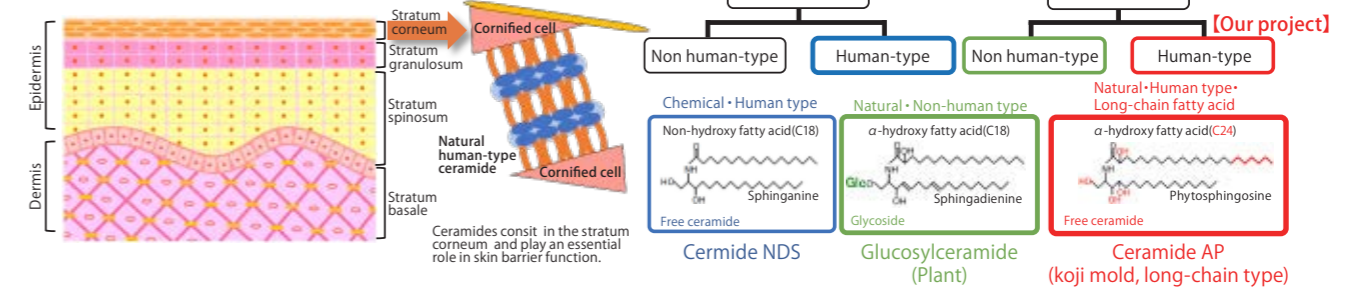
Development of Shoyu Koji mold that produce a high content of natural long-chain human ceramide by using smart cell technology

Fukuoka Soy Sauce Brewing Cooperation, Kyushu University, Kyoto University, RIKEN, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

Research and development purpose

What is ceramide?

Ceramide is a type of sphingolipid that forms the outermost layer of the skin and protects the skin.

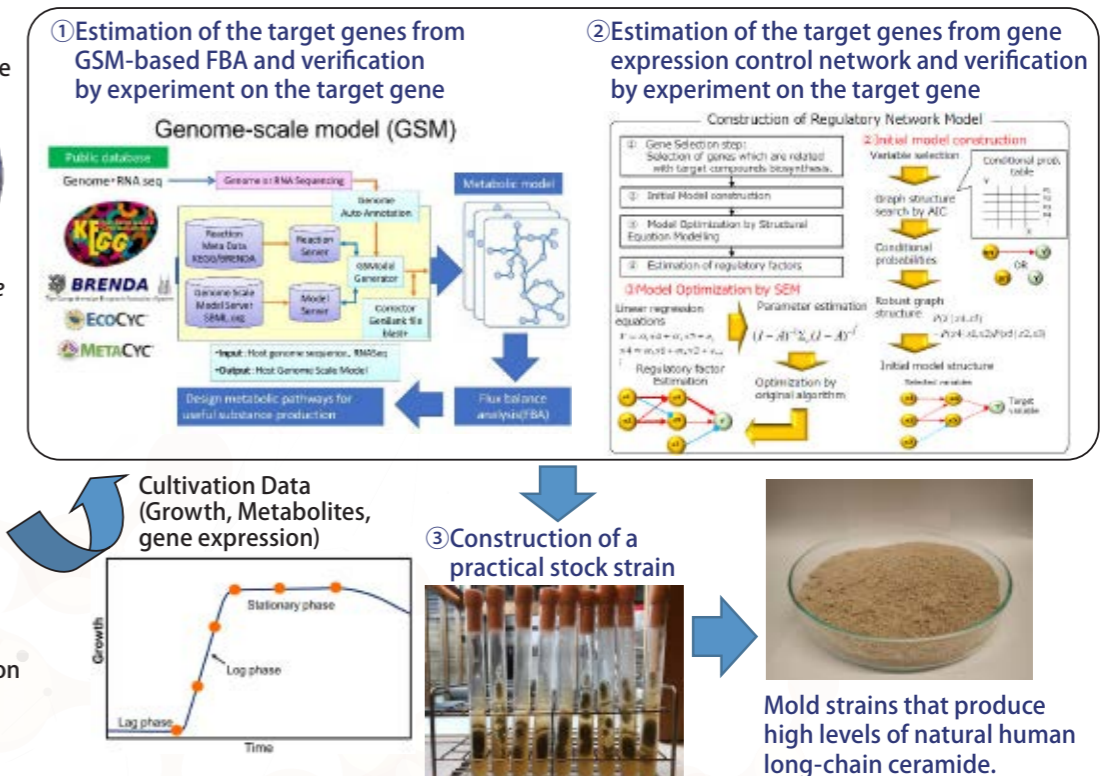


- By using smart cell technology, we estimate the genes involved in the production of human ceramide by *Aspergillus oryzae*.
- We create strains with disrupted or overexpressed genes by using the DNA recombination technology and obtain mold strains that can produce high levels of natural human long-chain ceramide.

Research and development outline



Koji mold for Shoyu manufacture
Aspergillus oryzae
Liquid fermentation



Message from researchers

By using smart cell technology, we create mold strains that produce a high content of natural long-chain human ceramide and establish a business of natural long-chain human ceramide.

酵素設計技術を活用した高付加価値化成品の製造法開発
天野エンザイム(株) / (国研)産業技術総合研究所、京都大学

Development of production method for high value chemical products using enzyme design technology.
Amano Enzyme Inc., National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Kyoto University

研究開発の目的

- 酵素設計技術を活用した優れた産業用酵素の開発を行います。
- リパーゼの開発: バイオプロセスによる香料原料生産を目指します。
- P450酸化酵素の開発: 化学プロセスでは合成が困難な物質の生産を目指します。

Research and development purpose

- Development of the valuable industrial enzymes using enzyme design technology.
- Development of Lipase enzyme: Production of flavoring materials for by bioprocess.
- Development of P450 oxidase enzyme: Production of chemical products instead of chemical process.

研究開発の概要

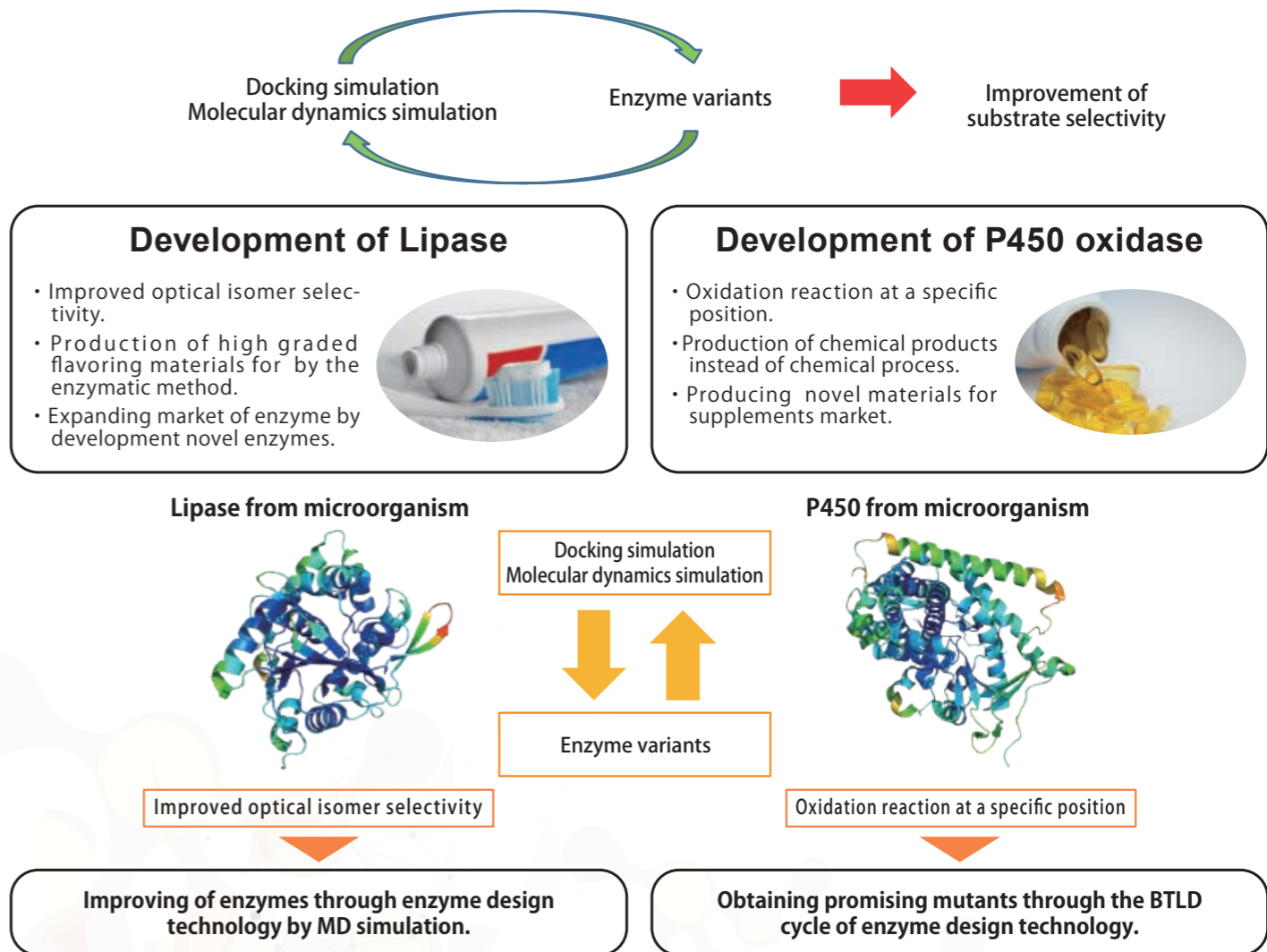
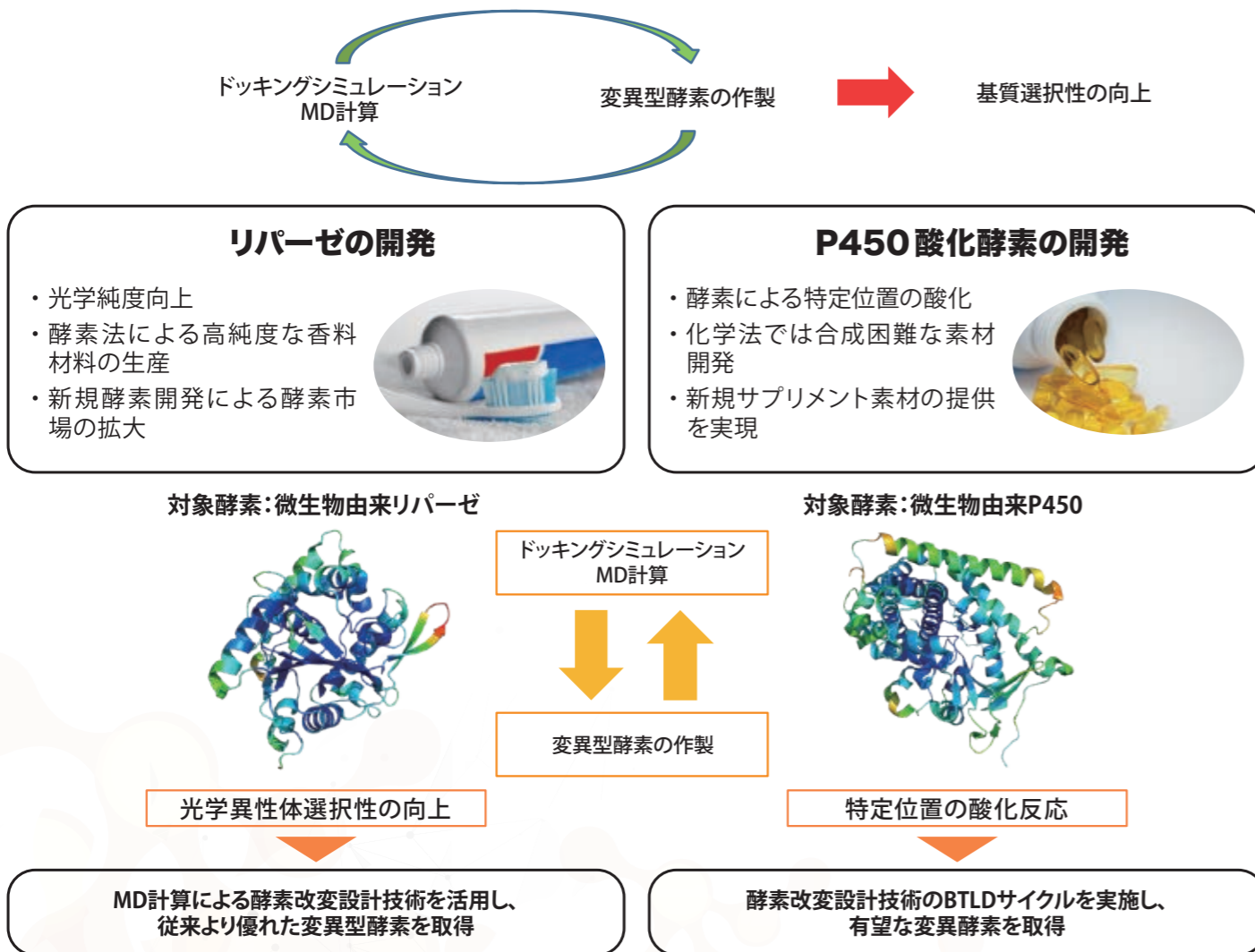
分子動力学 (MD) 計算による酵素設計技術

研究開発項目③で構築された基盤技術を活用し、基質選択性が向上した酵素を開発します。

Research and development outline

Enzyme design by the molecular dynamics simulation

Using basic technology from pervious project, we will develop the enzyme, which are improvement of substrate selectivity.



実施者からの一言

- タンパク質のMD計算モデルを活用した合理的な酵素設計手法の導入を目指しています。
- バイオプロセスによる高付加価値物質の製造を目指します。

Message from researchers

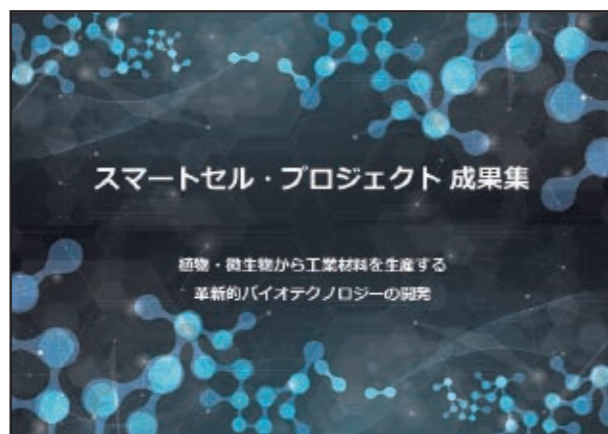
- Introducing the molecular dynamics simulations toward enzyme design.
- Trying the production of high-value substances by bioprocess.

連絡先 小池田 聡 (天野エンザイム(株)) satoshi_koikeda@amano-enzyme.com

おわりに

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

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



【プロジェクトマネージャー (PM)】

梅田 到 (2016年4月~2016年7月)
林 智佳子 (2016年8月~現在)

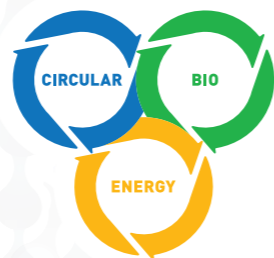
【プロジェクト担当者】

後藤 謙太 (2016年4月~2017年3月)
中井 岳 (2016年4月~2016年7月)
大竹 淳之 (2016年4月~2020年3月)
河辺 智康 (2016年5月~2020年4月)
尾野 直紀 (2016年9月~2017年3月)

齋藤 貴博 (2017年4月~2019年3月)
尾上 尚子 (2017年4月~2019年9月)
金田 晃一 (2019年4月~現在)
秋葉 幸範 (2019年10月~現在)
高槻 賢一 (2019年10月~現在)
土谷 浩史 (2020年4月~現在)
伊藤 雅人 (2020年4月~現在)

(2020年10月現在)

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



3 Essential Social Systems for Sustainable Society

Conclusion

In recent years, there have been various developments toward the realization of a sustainable society. One significant development is the formulation of a biotech strategy for the first time in 11 years in June 2019 by the government's "Council for Integrated Innovation Strategy". In January 2020, the "Progressive Environment Innovation Strategy" was formulated to solve climate change problems, which is an urgent global issue. In line with these actions, the industry, academia, and government are expected to strengthen their efforts to create progressive innovations that contribute to solving the problems from their respective standpoints.

Aiming to create a bio-economy and realize a carbon recycling society, this project has been working on technological developments that will lead to the expansion of industrial applications of material production using biological processes. We hope that the results generated from this project can be recognized by as many people as possible and can contribute to solving social issues and Japan's economic development.



【Project Manager (PM)】

Itaru Umeda (Apr 2016~Jul 2016)
Chikako Hayashi (Aug 2016~Present)

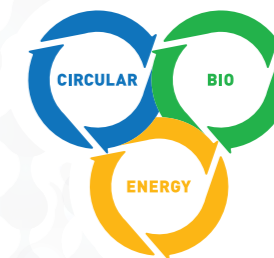
【Project Person in Charge】

Kenta Goto (Apr 2016~Mar 2017)
Gaku Nakai (Apr 2016~Jul 2016)
Atsushi Ohtake (Apr 2016~Mar 2020)
Tomoyasu Kawabe (May 2016~Apr 2020)
Naoki Ono (Sep 2016~May 2017)

Takahiro Saito (Apr 2017~May 2019)
Naoko Onoe (Apr 2017~Sep 2019)
Koichi Kaneda (Apr 2019~Present)
Yukinori Akiba (Oct 2019~Present)
Kenichi Takatsuki (Oct 2019~Present)
Hirofumi Tsuchiya (Apr 2020~Present)
Masato Ito (Apr 2020~Present)

(As of October 2020)

NEDO has defined circular economy, bio-economy, and sustainable energy as the "three social systems that realize a sustainable society" and has established a symbol mark that expresses them. The Comprehensive R&D Principles for Sustainable Society 2020 (the NEDO's principle), which realizes the integrated and organic promotion of these three social systems and summarizes the ideal way of technological developments and the direction to aim for in order to solve the climate variability problems, has been formulated (February 2020).



3 Essential Social Systems for Sustainable Society