

## スマートセルプロジェクトとは

2016年度～2020年度

NEDO「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」事業の概要はこちら

### スマートセルとは？

生物細胞が持つ  
物質生産能力を人工的に  
最大限まで引き出し、  
最適化した細胞

### スマートセル インダストリーとは？

スマートセルを使って  
各分野の高機能品を  
生産する新たな産業群

### バイオエコノミー とは？

バイオテクノロジーを基盤とした  
経済活動全体



出典：OECD（2009年）  
「The Bioeconomy to 2030」より  
NEDO作成

## INFORMATION

2022/10/12

これ以後のニュース、情報は、バイオものづくりプロジェクトホームページをご覧ください

2022/10/05

【ご案内】「"バイオものづくり"に向けた微生物の利活用基礎講座」受講生募集のお知らせ（11/15、無料オンラインセミナー）

2022/10/04

【ニュースリリース】油脂酵母からのパーム油代替油脂で世界トップレベルの生産量（98g/L）を実現—低環境負荷な油脂の安定供給により、脱炭素社会実現に貢献—（不二製油）

more

## Technology Introduction

技術紹介

Theme 1

長鎖DNA合成技術  
(神戸大学 柘植)



Theme 2

メタボライトセンサ  
構築技術  
(千葉大学 梅野)



Theme 3

高精度メタボローム  
解析技術  
(神戸大学 蓮沼・望月)



Theme 4

定量ターゲット  
プロテオーム解析技術  
(大阪大学 松田)



## NEDOスマートセルプロジェクト技術セミナー (要旨集)



### INFORMATION

2022/10/12

これ以後のニュース、情報等は、バイオものづくりプロジェクトホームページをご覧ください

2022/10/05

【ご案内】「"バイオものづくり"に向けた微生物の利活用基礎講座」受講生募集のお知らせ（11/15、無料オンラインセミナー）

2022/10/04

【ニュースリリース】油脂酵母からのパーム油代替油脂で世界トップレベルの生産量（98g/L）を実現—低環境負荷な油脂の安定供給により、脱炭素社会実現に貢献—（不二製油）

[more](#)

## Technology Introduction

技術紹介

Theme 1

長鎖DNA合成技術  
(神戸大学 柘植)



Theme 2

メタライトセンサ  
構築技術  
(千葉大学 梅野)



Theme 3

高精度メタボローム  
解析技術  
(神戸大学 蓮沼・望月)



Theme 4

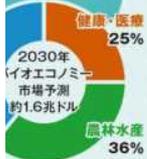
定量ターゲット  
プロテオーム解析技術  
(大阪大学 松田)



## バイオ×デジタルで切り拓く未来 「スマートセルインダストリー」

スマートセルインダストリーについて動画でご紹介しています

盤とした



OECD (2009年)  
Bioeconomy to 2030] より  
作成

### INFORMATION

2022/10/12

これ以後のニュース、情報等は、バイオものづくりプロジェクトホームページをご覧ください

2022/10/05

【ご案内】「"バイオものづくり"に向けた微生物の利活用基礎講座」受講生募集のお知らせ（11/15、無料オンラインセミナー）

2022/10/04

【ニュースリリース】油脂酵母からのパーム油代替油脂で世界トップレベルの生産量（98g/L）を実現—低環境負荷な油脂の安定供給により、脱炭素社会実現に貢献—（不二製油）



more

## Technology Introduction

技術紹介

Theme 5

サンプル非破壊型  
細胞評価技術  
(筑波大学 野村)



Theme 6

代謝経路設計技術  
(理化学研究所 白井)



Theme 7

酵素改変設計技術  
(産業技術総合研究所 亀田)



Theme 8

導入遺伝子配列設計技術  
(産業技術総合研究所 亀田)



Theme 9

発現制御ネットワーク  
構築技術  
(産業技術総合研究所 油谷)



Theme 10

文献等からの知識抽出  
・学習技術  
(京都大学 荒木)



Theme 11

輸送体探索技術  
(東北大学 阿部)



Theme 12

HTPトランスクリプトーム  
解析技術  
(産業技術総合研究所 三谷)



## ▶ Introduction Video

スマートセルプロジェクト紹介動画



[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#)

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

お知らせ

Information

TITLE

## 記事一覧

2022年10月12日

これ以後のニュース、情報等は、バイオものづくりプロジェクトホームページをご覧ください

2022年10月 5日

【ご案内】 「"バイオものづくり"に向けた微生物の利活用基礎講座」受講生募集のお知らせ（11/15、無料オンラインセミナー）

2022年10月 4日

【ニュースリリース】 油脂酵母からのパーム油代替油脂で世界トップレベルの生産量（98g/L）を実現 一低環境負荷な油脂の安定供給により、脱炭素社会実現に貢献—（不二製油）

2022年8月30日

【ニュースリリース】 世界初 非可食バイオマスを原料とする糖からナイロン原料を創出 一環境配慮型ナイロン66の実用化に向けたバイオアジピン酸の合成に成功—（東レ）

2022年8月 4日

【ニュースリリース】 バイオ由来製品の実用化に向け、産業用物質生産システムの実証6件に着手 一バイオ産業の裾野拡大や炭素循環型社会の実現を目指す—（NEDO）

2022年8月 4日

【プレスリリース】 バイオプロセス×AIのdigzyme、放線菌宿主によるカンナビノイド化合物生産システム実証プロジェクトがNEDO事業に採択 *in silico*デザインを活用したカンナビノイド化合物のバイオプロセス開発を加速（digzyme）

2022年7月 6日

【ニュースリリース】 バイオものづくり分野の人材育成プログラムを順次開講—理論から実践までを学び、バイオものづくり人材の育成を目指す—（大阪工業大学）

2022年7月 6日

【ご案内】 2023年4月開講予定 NEDO 特別講座：バイオものづくり分野の人材育成プログラム開講へ！～理論から実践までを学び、バイオものづくり人材の育成を目指す～（大阪大学）

2022年7月 6日

【ご案内】 バイオフィラウンドリ事業にかかる人材育成プログラム～NEDO プロジェクトを核としたバイオものづくり人材養成にかかる特別講座の開催～（Green Earth Institute）

2022年7月 1日

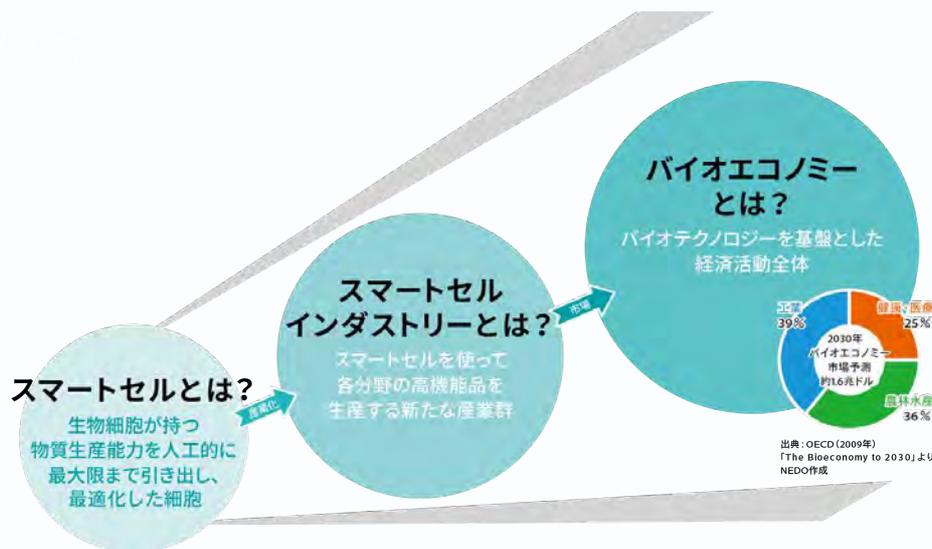
【ニュースリリース】 バイオものづくり分野の人材育成プログラムを順次開講 一理論から実践までを学び、バイオものづくり人材の育成を目指す—（NEDO）



## スマートセルプロジェクトとは Smartcell Project

### スマートセルプロジェクトのご紹介

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で、目覚ましい進化、発展を遂げています。それに伴い、植物や微生物等の生物を用いた物質生産技術が注目されており、全世界で関連市場が今後急速に拡大していくと予想されています。これに対して現在、欧米を中心にその市場獲得に向けた取り組みが進められているところであり、我が国の競争力確保のためには、情報技術を利用した合理的な遺伝子設計と、大規模な遺伝子組換えの融合による我が国独自の技術構築が必要となります。



2016年度～2020年度の5年間にわたり、NEDOでは「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」事業を行っています。遺伝子設計に必要な精緻で大規模な生物情報を高速に取得するシステム、細胞内プロセスの設計、国産のゲノム編集技術、植物の育種や生育を制御する技術などを研究開発しています。これらを利用して微生物や植物といった生物の物質生産機能を制御・改変することで、省エネルギー・低コストに高機能品生産をする「スマートセルインダストリー」の産業化を目指しています。

NEDOプロジェクトの概念図



NEDO「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」事業・プロジェクト概要

[https://www.nedo.go.jp/activities/ZZJP\\_100118.html](https://www.nedo.go.jp/activities/ZZJP_100118.html)

Focus NEDO第70号 バイオ×デジタルで切り拓く未来 スマートセルインダストリー／オープンイノベーションの挑戦！

[https://www.nedo.go.jp/library/ZZ\\_focus\\_70\\_index.html](https://www.nedo.go.jp/library/ZZ_focus_70_index.html)

FocusNEDO 第78号が発行されました。「特集2」で環境にやさしいスマートセル技術が掲載されています。

[https://www.nedo.go.jp/library/ZZ\\_focus\\_78\\_index.html](https://www.nedo.go.jp/library/ZZ_focus_78_index.html)

スマートセル・プロジェクト成果集パンフレットが発行されました。

[https://www.nedo.go.jp/library/pamphlets/ZZ\\_pamphlets\\_00054.html](https://www.nedo.go.jp/library/pamphlets/ZZ_pamphlets_00054.html)

Nature誌（Volume 584, Issue 7819, 6 August 2020）に掲載された特集の別刷り版ができました。

Focal Point — Synthetic Biology in Japan [日本語版](#)（PDF 4.2MB） / [英語版](#)（PDF 2.7MB）

## 微生物

NEDOスマートセルプロジェクト技術セミナー「スマートセル創出プラットフォームの構築と実証」要旨集

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

(一財)バイオインダストリー協会の機関誌「バイオサイエンスとインダストリー」に連載した"高生産性微生物創製技術とその応用例"を1冊

にまとめました。 [https://www.jba.or.jp/activity/rd\\_project/2220/](https://www.jba.or.jp/activity/rd_project/2220/)

## ゲノム編集

ゲノム編集産業化ネットワーク

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

## バイオものづくりプロジェクト（2020-2026年度）

NEDO事業紹介サイト

[https://www.nedo.go.jp/activities/ZZJP\\_100170.html](https://www.nedo.go.jp/activities/ZZJP_100170.html)

プロジェクト概要・開発技術・バイオフィアウンドリー・人材育成紹介サイト

<https://www.jba.or.jp/b-production/>

## その他関連サイト

NEDO材料・ナノテクノロジー部

<https://www.nedo.go.jp/activities/introduction4.html>

バイオインダストリー協会

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

## 関連機関

■バイオフィアウンドリー実験室の紹介

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

微生物育種の効率化、スマートセルの高速創出に資する要素技術を集積したバイオフィアウンドリー実験室を、神戸大学統合拠点に整備しました。（2020年10月）



お知らせ

Information

TITLE

## 記事一覧

2022年10月12日

これ以後のニュース、情報等は、バイオものづくりプロジェクトホームページをご覧ください

2022年10月 5日

【ご案内】 「"バイオものづくり"に向けた微生物の利活用基礎講座」受講生募集のお知らせ（11/15、無料オンラインセミナー）

2022年10月 4日

【ニュースリリース】 油脂酵母からのパーム油代替油脂で世界トップレベルの生産量（98g/L）を実現 一低環境負荷な油脂の安定供給により、脱炭素社会実現に貢献—（不二製油）

2022年8月30日

【ニュースリリース】 世界初 非可食バイオマスを原料とする糖からナイロン原料を創出 一環境配慮型ナイロン66の実用化に向けたバイオアジピン酸の合成に成功—（東レ）

2022年8月 4日

【ニュースリリース】 バイオ由来製品の実用化に向け、産業用物質生産システムの実証6件に着手 一バイオ産業の裾野拡大や炭素循環型社会の実現を目指す—（NEDO）

2022年8月 4日

【プレスリリース】 バイオプロセス×AIのdigzyme、放線菌宿主によるカンナビノイド化合物生産システム実証プロジェクトがNEDO事業に採択 *in silico*デザインを活用したカンナビノイド化合物のバイオプロセス開発を加速（digzyme）

2022年7月 6日

【ニュースリリース】 バイオものづくり分野の人材育成プログラムを順次開講—理論から実践までを学び、バイオものづくり人材の育成を目指す—（大阪工業大学）

2022年7月 6日

【ご案内】 2023年4月開講予定 NEDO 特別講座：バイオものづくり分野の人材育成プログラム開講へ！～理論から実践までを学び、バイオものづくり人材の育成を目指す～（大阪大学）

2022年7月 6日

【ご案内】 バイオフィラウンドリ事業にかかる人材育成プログラム～NEDO プロジェクトを核としたバイオものづくり人材養成にかかる特別講座の開催～（Green Earth Institute）

2022年7月 1日

【ニュースリリース】 バイオものづくり分野の人材育成プログラムを順次開講 一理論から実践までを学び、バイオものづくり人材の育成を目指す—（NEDO）



FAQ

## Frequently Asked Questions

### 1) もう少し知りたい

**Q：プロジェクトで開発した技術について知りたいのですが、どうしたらよいですか**

A：本プロジェクトの事業期間は、2016年から2020年度までの5年間です。2018年8月29日に開催された研究評価委員会での資料は、下記からダウンロード可能です。

研究評価委員会「植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」（中間評価）分科会  
[https://www.nedo.go.jp/introducing/iinkai/ZZBF\\_100309.html](https://www.nedo.go.jp/introducing/iinkai/ZZBF_100309.html)

**Q：技術セミナーの開催予定はありますか**

A：プロジェクト最終年度である2020年度は、技術セミナーの開催を予定しています。詳細は、本ホームページの[お問い合わせコーナー](#)からご質問ください。

**Q：所属する機関でセミナーを実施していただけますか**

A：ご講演をお願いしたいプロジェクト関係者との調整が必要ですが、可能です。

**Q：プロジェクトで開発した技術についての書籍などはありますか**

A：「スマートセルインダストリー-微生物細胞を用いた物質生産の展望-」という書籍が、2018年6月20日に（株）シーエムシー出版から発刊されています（ISBN:978-4-7813-1334-4）。また、（一財）バイオインダストリー協会の機関誌「バイオサイエンスとインダストリー」にも連載を行っています。

書籍のリンク：[https://www.cmcbooks.co.jp/products/detail.php?product\\_id=5447](https://www.cmcbooks.co.jp/products/detail.php?product_id=5447)

### 2) 開発された技術を使ってみたい

**Q：技術を活用したい場合には、どうしたらよいですか。**

A：本ホームページのお問い合わせコーナーから、お問い合わせください。必要に応じて面談などを行い、ご要望についてヒアリングさせていただきます（無料です）。

**Q：問い合わせ内容を外部に公開することはありますか**

A：外部に公開することはありません。但し、ご相談される内容に対応できる適切な研究者がいるかなど、必要に応じて、本プロジェクトリーダーである久原哲九州大学名誉教授、ならびに、NEDO担当者と情報共有する場合がございますのでご留意下さい。

**Q：共同研究などの経費について教えてください**

A：本プロジェクト関係者と共同研究を実施する場合には、プロジェクト関係者の所属する機関のルールに従い、共同研究費などの経費が発生することがあります。研究内容や研究期間などによって実際の研究費は異なってきますので、ご相談のうえ決定させていただきます。

Q：発生した知的財産権はどうなりますか

A：本プロジェクト関係者との共同研究により得られた成果についての知的財産権の権利関係は、共同研究開始前に確認するようにしてください。

### 3) その他、お願いなど

- 秘密保持契約、具体的な技術提供や技術提携等の条件などについては、当事者間で協議いただきますようお願いいたします。
- 技術利用における権利・義務関係の確認や共同研究契約等は当事者同士で十分協議をしてください。
- JBAよりマッチング状況や進捗等をお問い合わせすることがあります。ご理解ご協力のほど、よろしくお願いいたします。
- 個社名や内容を公開することはありませんが、技術利用状況を分析して利用する場合があります。

最終更新日：2022年11月14日 11:43

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

お問い合わせ

Contact Us

## お問い合わせフォーム

下記よりお問い合わせください

### スマートセルサイト・お問い合わせフォーム

ご要件 **必須**

選択してください

お問い合わせ内容（自由記述） **必須**

入力例：微生物による〇〇の生産を検討しています。そこで△△技術や□□技術を使いたいのですが、申込みや手続きはどのようにすればよいでしょうか。

姓名 **必須**

入力例：慈英美 英太郎

姓

名

姓名(フリガナ)

入力例：ジェイビー エイタロウ

セイ(カタカナ)

メイ(カタカナ)

所属 **必須**

入力例：株式会社〇△□

### 部署

入力例：〇△□事業部

### 役職

入力例：□□チームリーダー

### メールアドレス 必須

入力例:foo@example.com

確認のためもう一度入力してください

### 電話番号 必須

入力例:03-1234-5678

### 所属先住所・都道府県 必須

選択してください



### 所属先住所・都道府県以下 必須

入力例：〇〇区△△1-2-3□□ビル4階

確認

最終更新日：2022年11月14日 10:23

[プロジェクト主旨](#)

[プロジェクト概要](#)

[技術紹介](#)

[技術活用事例](#)

[個別技術紹介](#)

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-  
2731

新着情  
報

FAQ

ご相談窓  
口

スマートセルプロジェクト  
とは

## NEDO「スマートセルプロジェクト」とは？ 地球環境の維持と持続可能な経済にとって、一つの答え

### 1. スマートセル？「賢い細胞」？何が賢いのでしょうか？

微生物は人々の暮らしに役立つ様々な物質を作り出す能力を持っています。アミノ酸・核酸などの調味料、日本酒などの酒類、食品加工などに使われる酵素、医薬品の原料など。人間は、時間をかけて、その能力を少しずつ少しずつ高めてきました。

この微生物の持つ物質生産能力を人為的に高めたものがスマートセル。最先端の技術を使えば、その微生物が本来作ることができない物質も、生産できるように改変することが可能になりつつあります。

例えば、私たちが血液循環の改善のために摂取する「血液サラサラ」のためのEPA（エイコサペンタエン酸）という物質があります。このEPAは主にイワシやサバ、アジなどの青魚の生体内の脂肪酸から抽出されています。しかし、現在この原料である青魚資源の枯渇が危惧され、新たな原材料の確保が課題になっています。

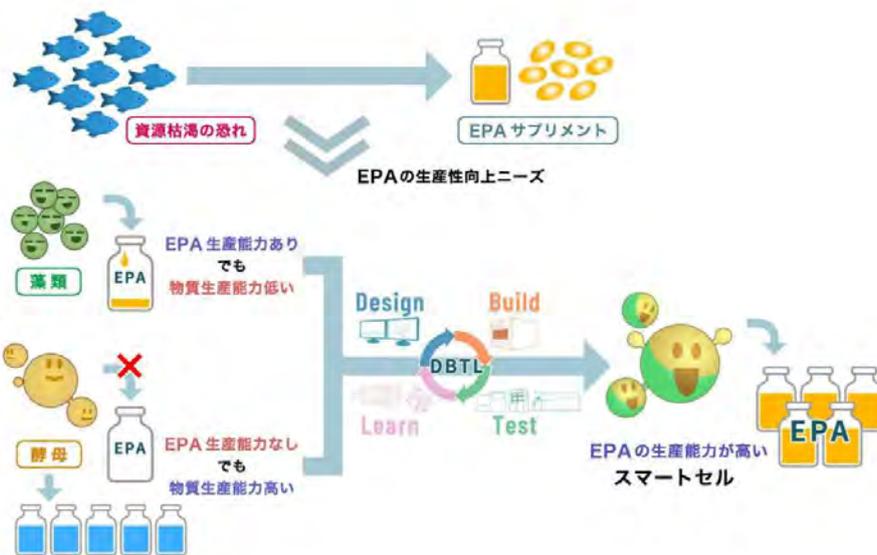
一方、魚以外にも、藻類がEPAを作ることは知られていますが、この藻類によるEPA生産の製造効率が低いことも同じく知られています。しかし、もしこの藻類の細胞が持つEPAを合成する機能を、酵母等（例えば油脂酵母等）の微生物を用いて、人為的手段により大量に生産することができれば、この課題は解決します。すなわち、私たちは、イワシやサバという天然資源を消費することなく、大量のEPAを生産することができるようになります。

こんな場面に登場するのが「スマートセル」です。「スマートセル」＝「賢い細胞」とは、高度にデザインされ、これまで利用し得なかった生物機能が引き出された細胞であり、例えば、目的とする物質の製造機能を合理的に高めた細胞のことを言います。さらには、1つ1つの細胞が物質生産工場になることで、産業化が実現します。

「スマートセル」は、このように現在の産業界が抱える様々な課題を解決する優れた手段として、近年、世界的にも期待されてきました。そして、その期待は、「スマートセルプロジェクト」による技術開発の成果として、具体的な事例を積み重ね、いま現実のものとなろうとしています。

### 2. スマートセル創出プラットフォームを構築しました

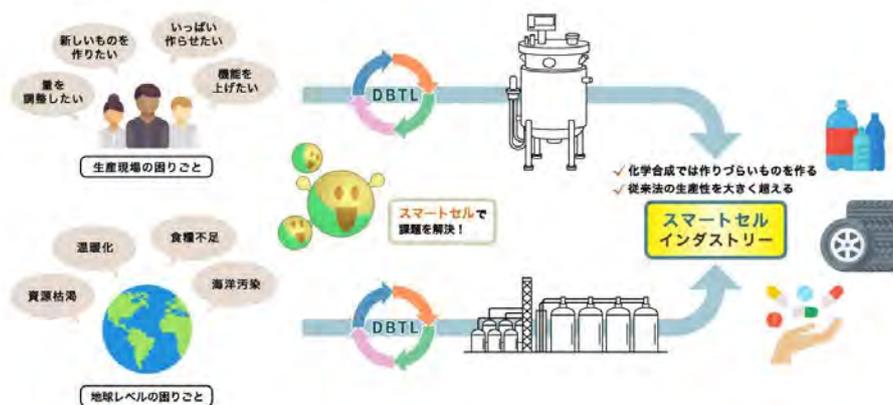
スマートセルプロジェクトの成果の一つは、「スマートセル」を作る一連の研究開発工程を効率的に進めるためのプラットフォームの構築です。



スマートセルプロジェクトでは、スマートセルを作成する工程を「Design・設計」→「Build・構築」→「Test・評価」→「Learn・学習」の4つのプロセスに分類し、それぞれの工程に必要な技術を開発したうえで、それらの技術を統合したプラットフォーム、「スマートセル創出プラットフォーム」を構築しました。

この5年間にわたるプロジェクトの研究成果であるスマートセル創出プラットフォームを活用することで、この事業領域への参入を希望する新たな企業や研究者が、従来に比べて短期間に事業化を達成することを可能にします。

### 3. スマートセル創出プラットフォームを活用してください



石油をベースとした産業による近代化は大きな役割を果たした一方、様々な地球環境の課題も生み出しています。スマートセルインダストリーは、これらの課題を解決できる次世代の産業としても期待されています。

世界の海を汚染するプラスチック問題1つ取り上げても、化石資源に由来しない生分解性プラスチックの工業化は火急の問題です。産業発展と引き換えに、地球の温暖化や環境汚染も進める石油資源活用に対して、積極的な生物資源・生物機能活用に軸足を置くスマートセルインダストリーは、言葉通りの意味で21世紀の人類を支えるものとなるでしょう。

このようにスマートセルインダストリーの扉が開かれつつあります。明日からでもスマートセルインダストリーの仲間になりたい方は、スマートセル担当窓口にご連絡を！ ⇒ [こちら](#)

最終更新日：2022年11月14日 11:42

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#)

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#) | [FAQ](#) | [ご相談窓口](#) | [スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## プロジェクト概要 Project Summary

### プロジェクトの概要

国連は持続可能な社会を実現するための目標SDGsを掲げ、国際社会は生物資源とバイオテクノロジーを用いて地球規模の課題と経済発展の共存を目指す「バイオエコノミー」の導入をはじめている。例えば、バイオマスをはじめとする再生可能資源を有効に利用したり、人の生活を豊かにする機能性素材や汎用化学品を環境調和型のバイオプロセスで製造する取り組みが国家レベルで戦略的に行われている。近年、DNAシーケンシング、バイオインフォマティクス、ゲノム合成、ゲノム編集等に技術革新が起こり、今まで利用しえなかった潜在的な生物機能を引き出すことが可能になってきた。さらに、ビッグデータやロボット技術の活用による自動化、IoT化がバイオ産業の急速な進展を後押ししている<sup>1,2)</sup>。

我が国では2016年よりNEDOスマートセルプロジェクト（以降、本プロジェクト）が実施され、バイオ×デジタルの取り組みが進められている。「生物細胞が持つ物質生産能力を人工的に最大限まで引き出し、最適化した細胞」をスマートセルと定義し、スマートセルの設計図をデザインするためのバイオインフォマティクスと、設計図を具現化するためのバイオテクノロジーの要素技術が開発されている。例えば、計算機上で代謝経路設計や遺伝子発現制御ネットワーク解析を行う情報解析技術や、長鎖DNA合成技術、ハイスループットな物質生産性評価技術、ハイスループットなオミクス解析技術等の開発が進められている。これにより、微生物を用いて機能性素材の創出がこれまでにない期間、コスト、性能で開発できることが検証されてきている。

従来、微生物が産生するアミノ酸、核酸、有機酸、アルコール、ガス、脂質、ビタミン、抗生物質等は従来、食品、医薬品、酵素、化粧品、エネルギー等、多岐にわたる産業で利用されてきた。

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

このプラットフォームの基本概念として、図1に示すDBTL（Design-Build-Test-Learn）サイクルを採用している。「Design」領域では、代謝経路設計、酵素選択や改変、遺伝子発現制御を目的とした情報解析システムを組み込んだスマートセル設計システムの開発を行っている。「Build」領域では、設計したスマートセルを具現化するために、長鎖DNA合成、ハイスループットな組換え微生物構築などの技術開発を行っている。構築された微生物について、生産性解析や各種オミクス解析を行うのが「Test」領域である。得られたデータは「Learn」領域の技術である特徴量抽出に供し、その情報をあらためて「Design」に活かす。このDBTLサイクルを回すことで、微生物育種を効率化し、スマートセルの創出を行っている。



図1. DBTLサイクルの概要

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

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

[⇒DL領域についてはこちら](#)

[⇒BT領域についてはこちら](#)

## プロジェクトの体制

本プロジェクトは以下の研究開発項目から構成されている。

### (1) ハイスループット合成・分析・評価手法の開発

わが国の独自技術である長鎖DNA合成技術を超高速化することで、高度の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、情報解析に必要な生産性データおよびオミクスデータを高精度かつ高スループットで取得する分析・評価技術、を開発する。

### (2) 高生産性微生物設計システムの開発

取得したデータを基に、有用物質の生産性を画期的に高め、従来と比較して圧倒的に現実性を高めた代謝モデル、遺伝子発現制御モデル、統合モデル（これらを生産細胞モデルと称する）を構築し、生産細胞モデルを具現化する遺伝子配列を設計するシステム、「高生産性微生物設計システム」を開発する。

### (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

出芽酵母や大腸菌等の汎用宿主微生物だけでなく、産業用微生物にも適用性を広げ、民間企業が標的とする特定の生産物質で有効性を検証するとともに実用化技術を開発する。さらには、基盤技術を集約したファウンドリー（バイオフィファウンドリー）を構築し、微生物物質生産における新規産業形態の創出を目指す。

## 参考文献

- 1) スマートセルインダストリー-微生物細胞を用いた物質生産の展望- (バイオテクノロジーシリーズ), シーエムシー出版 (2018)
- 2) Hillson, N. *et al.*, Nature Communications., 10, 2040 (2019)

最終更新日: 2022年11月14日 12:51

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## プロジェクト概要 Project Summary

THEME

### DL (Design-Learn) 領域概要

油谷 幸代

国立研究開発法人産業技術総合研究所  
生体システムビッグデータ解析OIL 副ラボ長



#### この領域でできること

本プロジェクトにおけるDBTLサイクルとは、Design(細胞設計)→Build(宿主構築)→Test(生産性評価)→Learn(結果の学習)であるが、この中で細胞設計であるDesignと結果の学習であるLearnの部分について、情報解析技術が利用されている。

#### DL領域の紹介

ビジネスの分野において、PDCAサイクルという手法が一般化されつつある。PDCAサイクルはPlan(計画)・Do(実行)・Check(評価)・Action(改善)を繰り返し実行することで、ビジネスマネジメントにおける各種管理業務を継続的に改善していく戦略的手法の事であるが、このサイクル的改善手法は微生物による効率的物質生産を目的としている本プロジェクトでもDBTLサイクルとして展開されている。本プロジェクトにおけるDBTLサイクル (Design(細胞設計)→Build(宿主構築)→Test(生産性評価)→Learn(結果の学習)) の中で細胞設計であるDesignと結果の学習であるLearnの部分について、情報解析技術が利用されている。

我が国における発酵生産分野の歴史は長く、宿主微生物等の育種改変技術ではこれまで諸外国を先行してきた。しかし、合成生物学を利用した「バイオものづくり」の分野は欧米諸国の後塵を拝している。欧米諸国で実施されている「バイオものづくり」では、ロボティクスを活用した大規模データ取得、機械学習・深層学習等のAI技術による改変候補遺伝子の同定と、宿主細胞の遺伝子改変の実施によって従来法より効率的に物質生産株を作製している。本プロジェクトでは、これらの概念の長所は取り入れつつも、単なる後追いではなく、世界的競争力を強化し日本における「モノづくり産業」を活性化させるための新規情報解析技術としてのスマートセル設計システムを開発している。

欧米で先行している宿主細胞改変で利用されている情報科学技術は、基本的に機械学習を基盤としている。この技術の長所は、大量データ(数万~数十万サンプル)がある場合は高精度のルール抽出が可能になるとともに、時間経過とともにデータ数が増えれば増えるほどその精度はより高くなることが挙げられる。その一方で、一定の精度を出すためには宿主細胞および生産物質毎に数万サンプル程度の大量データを必要とするため、コスト的な面で負荷がかかる点が懸念される。現時点において、本分野で後塵を拝している我が国がこれらの先行国との国際競争を対等に行うためには、機械学習のみを利用した時の短所である「大量データ」と「宿主依存型」の2点を解消することが必須である。そこで本プロジェクトでは、「スマートセル=高度に合理化され人為的に設計された高機能な物質生産能力を有する生体細胞」を構築するために、我が国独自の情報解析技術や優位に立っている情報生物学的手法を統合的に組み合わせることで、①現実的なデータ数(最小100サンプル程度)で、②より正確で、③宿主非依存的に利用可能なスマートセル設計システムを開発している。

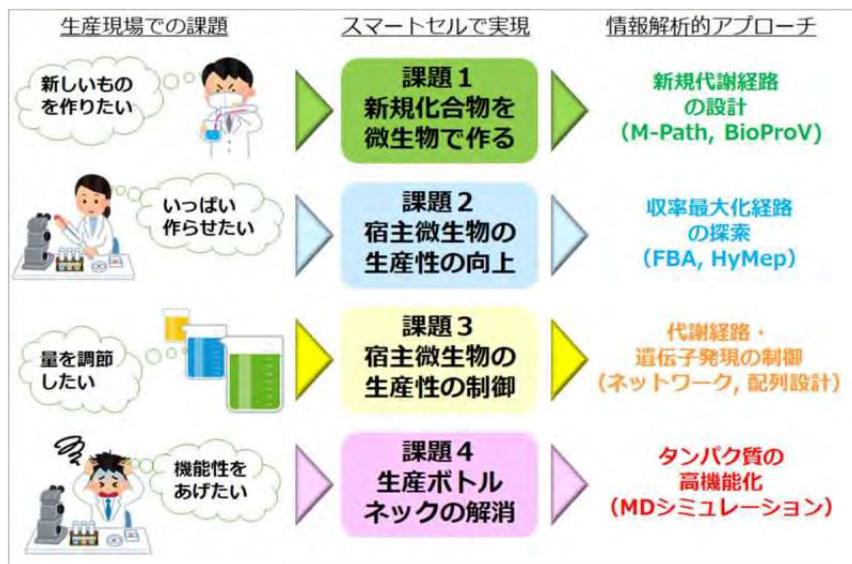


図1. 現場課題を情報解析へ

本システム開発にあたり、生産現場での課題と情報解析による解決法・アプローチの関連性を示したものが図1である。左に生産現場における各種課題を記載している。まず、これらの課題をスマートセルという新概念の生体細胞で実現するために課題を4つに大別した。この4課題を解決する情報解析手法として下記の情報解析技術の開発を行っている。

- ≫文献等からの知識抽出・学習技術（機械学習を活用した酵素提案・スマートセル設計支援知識ベース）
- ≫代謝経路設計技術
- ≫発現制御ネットワーク構築技術
- ≫導入遺伝子配列設計技術
- ≫酵素改変設計技術

上記の情報解析技術において、理論的基盤は既にプロジェクト参画者によって論文発表されており、理論体系としては確立されてきたものである<sup>1)-4)</sup>。本プロジェクトでは、このように理論的に裏打ちされた各種技術の実用化利用を目的とし、生産現場において様々な課題を有する実証課題群と連携している。開発してきた理論基盤を各実証課題におけるスマートセル設計用に改良・改変を行うとともに、得られた結果を物質生産現場へフィードバックすることで、より実践的に利活用できる情報解析技術の開発を行ってきた。

最後に、本プロジェクトで開発しているスマートセル設計システム全体構成を図2に示す。本システムは、上述した各種情報解析技術の基盤として本プロジェクトで構築したデータベースを中心に、各種情報解析技術が格納データに対して適用可能な構成となっている。芯円に位置するデータベース内にはプロジェクトで測定された各種データの他、既存データベースからスマートセル設計に必要な各種データが学習用に格納されている。これらの公知データとオリジナルデータを複合的に利用し、中円に記載されている各種情報解析技術を適用する。情報解析技術の適用によって、外円に記載された各種「モデル」が構築される。ここで導出される「モデル」とは、生体細胞の持つ機能をグラフもしくはパスウェイ、シミュレーションで表現した生命活動を簡易的に示したシステム概略図を意味する。こうして構築された各種モデルを解釈することで、従来型育種では想定できなかった改変候補遺伝子の提案、宿主細胞への導入遺伝子配列の設計、従来生体細胞がもっていなかった新奇生成経路の提案などを実現している。

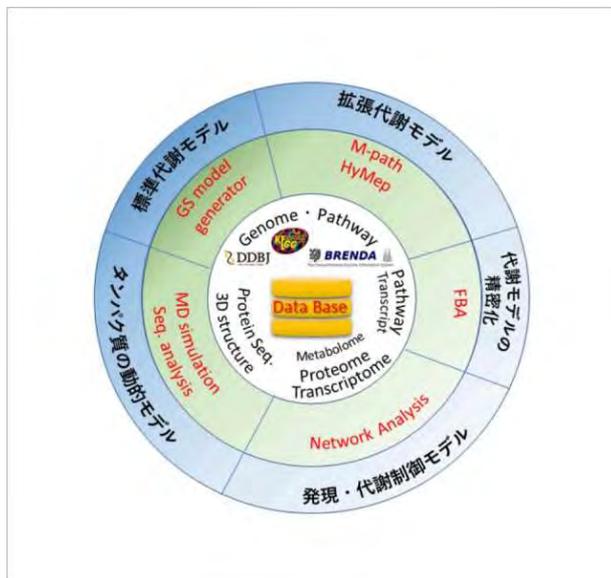


図2. スマートセル設計システム全体像

## 参考文献

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

最終更新日：2023年5月8日 11:03

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## プロジェクト概要 Project Summary

THEME

### BT (Build-Test) 領域

蓮沼 誠久

神戸大学 先端バイオ工学研究センター  
センター長・教授



#### この領域でできること

DBTLのBuildおよびTest工程の要素技術としては、近年、自動化技術の進展が著しい。従来の微生物育種では、微生物に導入するDNAを設計し、そのDNAを入手した後、プラスミド構築、形質転換（遺伝子組換え）、培養条件の検討、生産性評価を人間の手で行っていたのに対し、プラスミド構築から簡易的な生産性評価までを半自動で行うロボットが開発されてきている。

#### BT領域の紹介

一般に、遺伝子組換えを利用する微生物育種では、特定の遺伝子の発現量を、特定の時期に、特定の度合いで強化あるいは抑制する必要がある。これを実現するには遺伝子の発現調節に関与する分子を部品（パーツ）として手元にとっておく必要がある。この部品は例えば、プロモーター、リプレッサー、RBS、ターミネーター等であるが、DNAパーツと総称されている。今日の分子生物学的知見ではDNAパーツの仕様は不明確であり、組み合わせ次第で遺伝子の発現量が変わるため、実験による試行錯誤が必要である。そこで、米国等のバイオベンチャーではカタログ化したDNAパーツとロボティクスを活用してバイオ操作を自動で行うラボオートメーションシステムを既に作り上げている。

NEDOスマートセルプロジェクトでは、世界一高いDNA集積精度を有する長鎖DNA合成技術のハイスループット化や、長鎖DNAを利用して多様性を有する微生物を短時間で構築する技術、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で取得する技術、といった独自ハイスループット技術の開発を進めてきた。具体的には以下の研究開発に取り組んでいる

##### Build工程

- 1.長鎖DNA合成・解析技術の開発
- 2.ハイスループット微生物構築・評価技術の開発
- 3.化合物排出輸送体探索プラットフォームの構築

##### Test工程

- 4.メタボライトセンサの開発
- 5.自家蛍光顕微鏡の開発
- 6.トランスクリプトーム解析技術の開発
- 7.高精度定量ターゲットプロテオーム解析技術の開発
- 8.メタボローム解析技術の開発
- 9.評価系のネットワーク化

長鎖DNAは一度の組換えで多数の遺伝子の発現を強化・抑制できるため、微生物の高速育種に極めて有用である。情報解析で設計された新規代謝経路を短時間で具現化することにもつながる。これまでの主な成果は以下の通りである。

- 30 kb超の長鎖DNAを正確（変異率0.1%以下）に低価格（5円/塩基）で従来の1/4以下の期間（2週間程度）で合成する技術の確立
- 96穴プレートフォーマットの半自動ハイスループット形質転換技術の構築

- 化合物排出輸送体を探索するプラットフォームの開発
- 画像解析等により目的物質の生産性をハイスループットに評価する技術の開発
- タンパク質の定量が可能な微生物プロテオーム解析技術の開発
- 前処理ロボットの開発等によるスループット、精度、網羅性の高いメタボローム解析システムの構築

本プロジェクトでは、要素技術のスマートセル創出プラットフォーム（図1）への組み込みを進めている。また、独自のハイスループット評価技術の高精度化を図り、情報解析技術との連携を強化して体系的なデータの取得・管理を行っている。

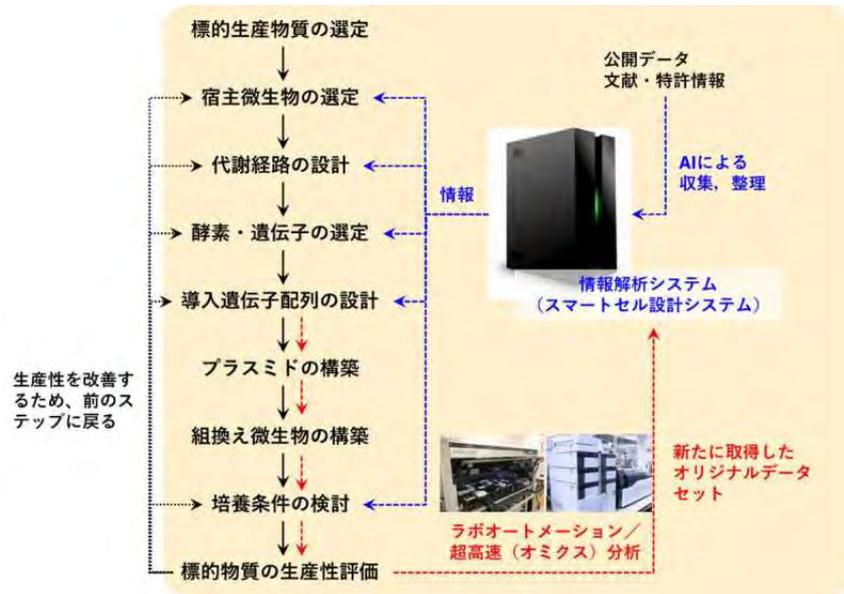


図1. スマートセル創出プラットフォームを利用したワークフローの例

バイオ生産で求められる有用物質の多くは、細胞内で共通の前駆体から生合成されており、この前駆体を「ハブ化合物」、ハブ化合物の生産性が高い株を「シャーシ株」と定義した。ひとたびシャーシ株が開発できていると、これを宿主として目的生産株の育種期間を短縮することが可能なため、シャーシ株は産業界からのニーズが高い。

従来、有用宿主の単離・育種には膨大な時間を要してきたが、本プロジェクトでは長鎖DNAを用いた高効率な多重遺伝子導入・破壊技術、複数遺伝子の発現量最適化技術、半自動ハイスループット形質転換技術、ハイスループット評価技術を活用することで、シャーシ株ならびに実用株の開発期間を短縮することが可能である。

出芽酵母や大腸菌等の汎用微生物だけでなく、産業用微生物にも適用性を広げ、民間企業が標的とする特定の生産物質でスマートセル創出プラットフォームの有効性を検証している。

最終更新日：2022年11月14日 12:33

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#)

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

技術紹介

Technology Introduction

Theme 1

長鎖DNA合成技術  
(神戸大学 柘植)



Theme 2

メタボライトセンサ  
構築技術  
(千葉大学 梅野)



Theme 3

高精度メタボローム  
解析技術  
(神戸大学 蓮沼・望月)



Theme 4

定量ターゲット  
プロテオーム解析技術  
(大阪大学 松田)



Theme 5

サンプル非破壊型  
細胞評価技術  
(筑波大学 野村)



Theme 6

代謝経路設計技術  
(理化学研究所 白井)



Theme 7

酵素改変設計技術  
(産業技術総合研究所 亀田)



Theme 8

導入遺伝子配列設計技術  
(産業技術総合研究所 亀田)



Theme 9

発現制御ネットワーク  
構築技術  
(産業技術総合研究所 油谷)



Theme 10

文献等からの知識抽出  
・学習技術  
(京都大学 荒木)



Theme 11

輸送体探索技術  
(東北大学 阿部)



Theme 12

HTPトランスクリプトーム  
解析技術  
(産業技術総合研究所 三谷)







の合成に特化した、低コストで、200塩基の一本鎖DNA96本を、約1日で合成するDNA化学合成装置を開発した（図2左）。また、化学合成したDNAを、相補性を利用して張り合わせ、伸長するために、新規のPCR方法を開発した。これにより、どのような配列であっても3日程度で二本鎖のDNAを準備することが可能となった。この二本鎖DNAをいったん大腸菌でクローニングし、塩基配列が正しいクローンのみを選択してOGAB法の材料に用いる工程も、液体分注ロボットによる大幅な自動化を達成した（図2中央）。これらの研究開発の結果、30 kb程度の長鎖DNAを、1塩基当たり数円がかつ2週間程度の短期間で製造できるようになり、従来の時間コスト、金銭コストの大幅な削減を達成した。



図2. 神戸大学に構築した長鎖DNA合成トータルシステム

## 参考文献

- 1) K. Tsume, K. Matsui, and M. Itaya : Gene cluster or operon design by ordered gene assembly in *Bacillus Subtilis* (OGAB) method, *Nucleic Acids Res.*, 31, e133 (2003)
- 2) K. Tsume, Y. Sato, Y. Kobayashi, M. Gondo, M. Hasebe, T. Togashi, M. Tomita, and M. Itaya : Method of preparing an equimolar DNA mixture for one-step DNA assembly of over 50 fragments, *Sci. Rep.*, 5, 10655 (2015)

## 関連特許

特許第4479199号 「挿入DNAユニットを含むプラスミドの製造方法」  
 特許第6440636号 「単位DNA組成物の調製方法及びDNA連結体の作製方法」

最終更新日：2022年11月14日 11:48

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
 〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#) [FAQ](#) [ご相談窓口](#) [スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

技術紹介

Technology Introduction

THEME

メタボライトセンサ構築技術

梅野 太輔

千葉大学大学院工学研究院  
教授



この技術でできること

進化工学的手法を用いて任意の代謝物（メタボライト）のセンサを開発すること、それを用いて生合成経路やスマートセルの開発と改良

技術紹介

細胞が持つ物質生産能力を最大限に引き出した「スマートセル」を構築するためには、宿主ゲノムの組織的な変異導入による多くの宿主ライブラリを作製し、試す必要がある。また、導入する生合成経路も、1つ1つの遺伝子の発現レベルや用いる遺伝子の種類などの試行錯誤が重要となる。宿主ライブラリと生合成ライブラリのかけ合わせによって得られる膨大なそれぞれの検体に対して、特定の代謝物の蓄積レベルを調べることができるならば、個々の目標に対するスマートセル構築を飛躍的に高速化できる。我々は、(1) バイオセンサの高速進化工学プラットフォーム<sup>1, 2)</sup>、(2) 生合成酵素をバイオセンサの分子認識素子として利用する手法<sup>3)</sup>、の2つを組み合わせ、様々な代謝物に対するメタボライトセンサを開発する技術<sup>4)</sup>を開発する。バイオセンサは、転写因子の制御下に蛍光遺伝子などのレポータ遺伝子を配置したものを基本とする。遺伝子発現レベルを出力とすることにより、進化工学を簡単にする。我々は、独自に開発した転写因子の高速で高効率な進化工学手法を開発した<sup>1-3)</sup>。この手法の特徴は、出力ONの状態とOFFの状態のどちらも、すべて液体操作のみで、短期間に選抜できることにある。これは、多くのバイオセンサの開発を、マルチウェルプレートを用いて同時に実施することを可能とする。

スマートセルプロジェクトにはさまざまな開発目標があり、それぞれ、標的となる代謝物が異なる。自然界には無数に存在する代謝物すべてにセンサを用意することは困難であった。本研究では、生合成酵素をセンサ素子にできるセンサの設計技術を開発し、これまで作れなかった様々な代謝中間体を標的としたセンサの製作が可能となった。

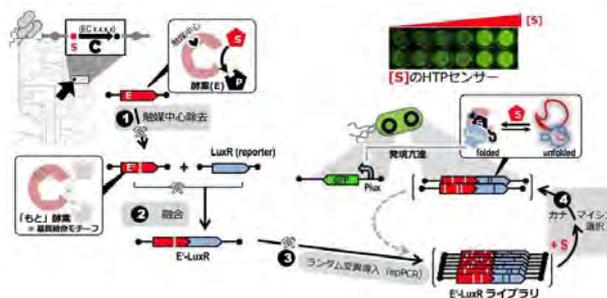


図. メタボライトに対するバイオセンサの開発サイクル

本プロジェクトでは、宿主細胞に再構築された様々な生合成経路の中間体に対するバイオセンサのオンデマンド開発を実施している。本技術で作製したセンサを用い、スマートセル開発サイクルで生み出される様々な宿主・生合成ライブラリのなかから、超高速な優れた変異体の選抜・取得が可能となった。

- 1)Y. Tashiro, et al.: Nucleic Acids Res., 39, e12(2011)
- 2)M. Tominaga, et al., PLOS ONE, 10, e0120243(2015)
- 3)K. Saeki, et al., ACS Synth. Biol., 5, 1201~1210(2016)
- 4)Y. Kimura, et al., ACS Synth. Biol., 9, 567~575(2020)

## 関連特許

特許第5959127号  
特許第5904494号 (US9、315、816)  
特許第5757608号  
特願2018-057314

最終更新日：2022年11月14日 12:50

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

技術紹介

Technology Introduction

THEME

長鎖DNA合成技術

柘植 謙爾

神戸大学科学技術イノベーション研究科  
特命准教授



この技術でできること

設計された長鎖DNAを短期間に、低コストで、正確に構築することができる

技術紹介

スマートセル開発のスピードアップにおいては、DBTLサイクルをいかに早く回転させるかが焦点となる。各ステップについて見ると、Buildステップ、すなわち、Designで設計された配列を持つ菌株を実際に構築するステップに最も時間がかかる。その中でも設計された配列を持つ長鎖DNA合成には、従来数カ月と長期間を要するという状況であった。

本技術では、長鎖DNAを構築するために、独自開発したOGAB (Ordered Gene Assembly in *Bacillus subtilis*) 法という遺伝子集積技術を用いた(図1)<sup>1),2)</sup>。OGAB法は、枯草菌のプラスミド形質転換系を利用した多重DNA断片の集積法で、DNA断片の末端に設計した3~4塩基の特異性を利用して、最大で50個を超えるDNA断片を一度の操作で連結する。任意の長鎖DNAを構築するためには、化学合成した一本鎖DNAを出発材料としてOGAB法に用いる数100~数1,000 bpのサイズの二本鎖DNA断片を準備する必要がある。これまでは、この合成を受託DNA合成会社に委託していたが、50個のDNA断片を同時に発注しようとする、多くのDNA断片は問題なく合成される一方で、合成を受け付けてもらえないケース、あるいは、合成を試みたが結果的に合成できずにキャンセルされるケースが必ずといってよいほど発生する。その場合、他の受託合成会社へ再発注する、あるいはDNA断片の設計を変更するなどの方策を行い、最終的に必要なすべてのDNA断片を準備するのに2カ月という長期間を要することもあった。

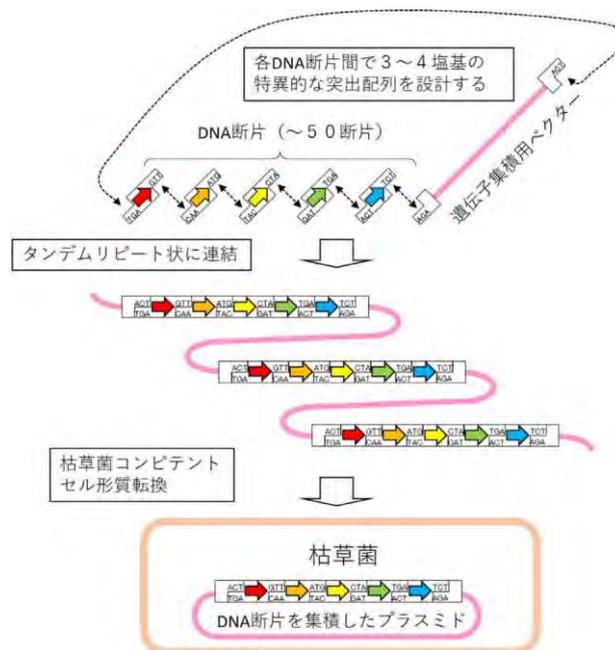


図1. OGAB法による遺伝子集積の概要

そこで、DNA断片の調達時間を短縮するために、化学合成で構築した長鎖DNAの大量調製が可能なトータルシステムを神戸大学内に整備し、全体を俯瞰した技術開発を行った(図2)。個別には、まず日本テクノサービス(株)との共同研究により、長鎖DNA

の合成に特化した、低コストで、200塩基の一本鎖DNA96本を、約1日で合成するDNA化学合成装置を開発した（図2左）。また、化学合成したDNAを、相補性を利用して張り合わせ、伸長するために、新規のPCR方法を開発した。これにより、どのような配列であっても3日程度で二本鎖のDNAを準備することが可能となった。この二本鎖DNAをいったん大腸菌でクローニングし、塩基配列が正しいクローンのみを選択してOGAB法の材料に用いる工程も、液体分注ロボットによる大幅な自動化を達成した（図2中央）。これらの研究開発の結果、30 kb程度の長鎖DNAを、1塩基当たり数円がかつ2週間程度の短期間で製造できるようになり、従来の時間コスト、金銭コストの大幅な削減を達成した。



図2. 神戸大学に構築した長鎖DNA合成トータルシステム

## 参考文献

- 1) K. Tsume, K. Matsui, and M. Itaya : Gene cluster or operon design by ordered gene assembly in *Bacillus Subtilis* (OGAB) method, *Nucleic Acids Res.*, 31, e133 (2003)
- 2) K. Tsume, Y. Sato, Y. Kobayashi, M. Gondo, M. Hasebe, T. Togashi, M. Tomita, and M. Itaya : Method of preparing an equimolar DNA mixture for one-step DNA assembly of over 50 fragments, *Sci. Rep.* , 5, 10655 (2015)

## 関連特許

特許第4479199号 「挿入DNAユニットを含むプラスミドの製造方法」  
 特許第6440636号 「単位DNA組成物の調製方法及びDNA連結体の作製方法」

最終更新日：2022年11月14日 11:48

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
 〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#) [FAQ](#) [ご相談窓口](#) [スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

技術紹介

Technology Introduction

THEME

定量ターゲットプロテオーム解析技術

松田 史生

大阪大学大学院情報科学研究科  
教授



この技術でできること

数十種のタンパク質の発現量を高感度に一斉定量する。

使用された技術活用事例

有用芳香族化合物

$\omega$ -3系多価不飽和脂肪酸含有油脂

技術紹介

スマートセルプロジェクトでは、細胞が持つ物質生産能力を最大限に引き出すために、代謝経路の合理的な改変が求められる。代謝経路の改変では宿主微生物のゲノムを人為的に書き換え、酵素タンパク質存在量を増減させる。細胞内のタンパク質には、転写、翻訳、タンパク質分解における様々な要因が関わるため、デザイン通り酵素タンパク質が増減できたか迅速に評価する計測手法が必要となる。そこで、トリプシン消化ペプチド混合物を液体クロマトグラフで分離し、トリプル四重極型質量分析装置の選択反応モニタリングモード (Multiple Reaction Monitoring ; MRMモード) で分析する高精度定量ターゲットプロテオミクス法が、スマートセルの評価に最適であることに注目した。現在、(株)島津製作所と共同で純国産ターゲットプロテオミクス分析システムの開発を進めている (図1)。

- ターゲットタンパクのトリプシン消化ペプチドをナノLC-MS/MSで定量する。
- 従来法 (二次元電気泳動) より高い**選択性、定量精度、スループット**
- 各宿主、各酵素タンパク質毎に**MRMメソッドの作成が必要**



図1. 定量プロテオミクス法の概要

ターゲットプロテオミクス法の要点は、サンプル前処理法と定量用分析メソッド (MRMアッセイメソッド) の構築にある。まず、サンプル前処理として、50 $\mu$ gのトータルタンパク質を含む100  $\mu$ L程度の粗タンパク質抽出液を出発点とした。これを還元アルキル化したのち、一晚トリプシン消化を行い、得られたトリプシン消化ペプチドを固相抽出法により脱塩する。この出芽酵母用の前処理法は、油脂酵母、大腸菌、コリネ菌といった様々な有用微生物において有効であった。

データ取得にはナノLC-MS/MS (LCMS<sup>TM</sup>-8060 (株)島津製作所) を利用している。本システムは、1秒当たりのMRMチャンネル数を最大500まで増やすことができるため、定量プロテオーム解析用に適した性能を持つ。現在のシステムでは感度を重視して、ナノLCを採用し、1分析当たりの所要時間は1.5時間に設定することで、一般的な20~30サンプル程度の分析プロジェクトを2日程度で終了できるスループットを実現している。

MRMアッセイメソッドとは、測定対象タンパク質から生成する多数のトリプシン消化ペプチドから、LC-MSで高感度に検出可能な定量ペプチドを3~4種選抜し、さらに、各ペプチドに最適なMRM系列を4つ選抜したものである。MRMアッセイメソッドはタンパク質のアミノ酸配列に依存しているため、タンパク質ごとに作成する必要がある。MRMアッセイメソッド構築を効率化するには、探索するMRMを減らす必要がある。そこで、ペプチドの配列から定量に適したペプチドを予測する新たな手法を開発した。これは、従来法とは違う観点で、MRMアッセイメソッドに採用される見込みのない (Hopeless) ペプチドを探索する方法で、良いペプチドの見逃しを最小限としたまま、全体の3~4割のペプチドをHopelessとして取り除くことに成功した<sup>1)</sup>。今後もMRMアッセイメソッド構築法の効率化を進めることが、迅速なMRMメソッドの作成、ひいては迅速なスマートセル開発につながると期待される。

これらの手法を用いて大腸菌、出芽酵母、コリネ菌、油脂酵母などの中心代謝酵素タンパク質のMRMアッセイメソッド作成が完了している。また作成したMRMアッセイメソッドは質量分析装置のメーカーが異なっても互換性があることが知られている。そこで、スマートセルプロジェクトで作成したMRMアッセイメソッドをデータベース化し、必要に応じてカスタマイズできる基盤構築を進めている(図2)。

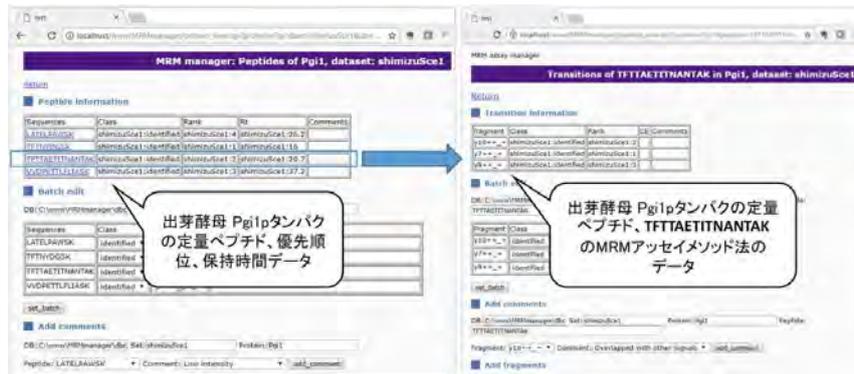


図2. MRMアッセイ法データベース

## 参考文献

1)F. Matsuda, A. Tomita, and H. Shimizu : Prediction of hopeless peptides unlikely to be selected for targeted proteome analysis, *Mass Spectrom.* 6(1), A0056 (2017)

最終更新日：2022年11月14日 12:34

プロジェクト主旨 | プロジェクト概要 | 技術紹介 | 技術活用事例 | 個別技術紹介 |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

新着情報

FAQ

ご相談窓口

スマートセルプロジェクトとは

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## 技術紹介 Technology Introduction

THEME

### サンプル非破壊型細胞評価技術

野村 暢彦  
筑波大学 生命環境系  
教授



#### この技術でできること

細胞の自家蛍光パターンを指標に、一細胞の解像度で非破壊的に細胞の種類を識別し、細胞の代謝状態を推測する。

#### 技術紹介

##### 1. 細胞評価技術の現状と課題

「細胞評価技術」は、細胞の育種技術や、幹細胞から目的細胞への分化誘導技術、合成生物学的手法による人工細胞合成技術などの根幹をなす技術でありながら、多くの時間と労力を必要とする。例えば、有用物質高生産菌の表現系の評価には、育種した有用物質生産菌をバッチ培養し、菌体が生産した有用物質を抽出し定量する。そのため、細胞の培養時間や定量に伴う煩雑な作業が育種の律速となっている。他にも既存の細胞評価技術には、蛍光タンパク質発現、抗体染色などが存在するが、いずれも多くの場合、細胞の改変や破壊を伴うプロセスが必要で、生の細胞の性質を非破壊的かつ網羅的に評価する方法はあまり例がない。さらに、既存の細胞評価方法では、細胞集団の平均的な表現系を評価するため、増殖や分化に伴い出現する一部形質の異なった細胞の表現系は無視されてしまう。不均一な細胞集団の中から目的の細胞のみを選抜するためには、1細胞ごとに表現系を評価できる方法が必要である。

##### 2. 自家蛍光を用いた1細胞レベルかつ非破壊の細胞評価方法の開発

そこで我々は最近、細胞の自家蛍光パターンを指標に、「1細胞レベル」かつ「非破壊的」に細胞を識別したり、代謝状態を推測したりすることができる革新的な細胞評価技術"CRIF法 (Confocal Reflection microscopy-assisted single-cell Innate Fluorescence)"を開発した<sup>1)</sup>。

細胞内のタンパク質や代謝産物は様々な波長・強弱の自家蛍光を発しており、それらを総合した自家蛍光パターンは各細胞の性質を表現する「指紋」として機能する。CRIF法は、反射顕微鏡法で細胞の位置および形態情報を<sup>2),3)</sup>、共焦点レーザー顕微鏡法により細胞の自家蛍光情報を取得する。そして、1細胞ごとに画像解析を行うことで、体系的かつ総合的に各細胞の自家蛍光情報を抽出し、自家蛍光パターンとして再構築することにより、各細胞を識別する「細胞の指紋」を取得することができる。さらに、「細胞の指紋」を様々な種類の機械学習に供することで、自家蛍光パターンに潜在する細胞ごとの特徴を反映した機械学習モデルを構築することができ、高精度な細胞種の識別や、代謝状態の予測が可能であることが明らかとなった(図1)。これまでの研究では、生育段階の異なる細胞の識別や、緑膿菌および大腸菌において1遺伝子の変異しただけの細胞も見分けることが可能であった(図2)。

##### 3. 今後の展望

ほぼ無限のバリエーションがある「細胞の指紋」を識別するこのCRIF方法においては、数十種類(原理的には数百種類でも)の細胞種や代謝状態が識別できる可能性がある。またこの方法は、生きたままのintactな細胞の性質を1細胞レベルで解析できるシンプルな手法であるため、様々な分野の細胞育種技術、幹細胞の分化誘導技術、人工細胞合成技術など、細胞の性質評価が必須の技術を効率化させる鍵となる技術になると考えられる。現在我々は、CRIF法のスクリーニングにおける実用化を目指し、CRIF法により細胞の性質を評価したのちに、効率的に目的の細胞を分取する技術の開発を行っている。また、日本の顕微鏡メーカーと協力しながら、CRIF法の一連のプロセス(顕微鏡観察、細胞の指紋の抽出、機械学習による細胞の性質の評価)を、ハイスル

ーブット行えるシステムの開発も行っている。将来的には、微生物、植物、動物の細胞育種などの基礎研究から、再生医療などの応用研究まで幅広い分野でCRIF法を活用できるよう、汎用性の高い細胞評価技術としての確立を目指す。

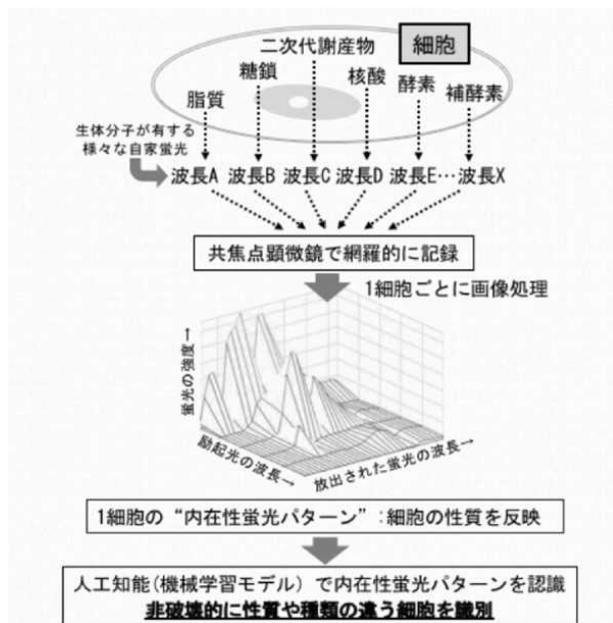


図1. CRIF (Confocal Reflection microscopy-assisted single-cell Innate Fluorescence) 法概念図

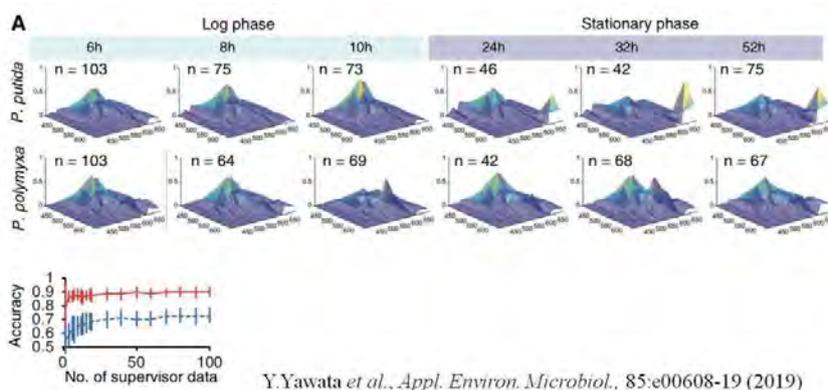


図2. *P.putida*および*P.polymyxa*の各生育段階における平均自家蛍光パターン（上段）、ニューラルネットワークによる対数増殖期と定常期の細胞の分類（下段 赤：*P.putida*、青：*P.polymyxa*）

## 参考文献

- 1) Y. Yawata, T. Kiyokawa, Y. Kawamura, T. Hirayama, K. Takabe, N. Nomura : Intra- and interspecies variability of single-cell innate fluorescence signature of microbial cell, *Appl. Environ. Microbiol.*, 85, e00608-19 (2019)
- 2) Y. Yawata, K. Toda, E. Setoyama, J. Fukuda, H. Suzuki, H. Uchiyama, and N. Nomura : Monitoring biofilm development in a microfluidic device using modified confocal reflection microscopy, *J. Biosci. Bioeng.*, 110, 377-380 (2010)
- 3) Y. Yawata, N. Nomura, and H. Uchiyama : Development of a novel biofilm continuous culture method for simultaneous assessment of architecture and gaseous metabolite production, *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 5429-5435 (2008)

## 関連特許

特許第6422616号 「データ作成方法及びデータ使用方法」



## 技術紹介 Technology Introduction

THEME

### 代謝経路設計技術

白井 智量

国立研究開発法人理化学研究所

環境資源科学研究センター 細胞生産研究チーム 副チームリーダー



### この技術でできること

人工的な代謝反応経路を設計し、目的の化合物を高生産する細胞代謝の設計を行うことができます。また、その設計図にもとづき、遺伝子改変の候補（欠損および強化）を抽出・提案することができます。

使用された技術活用事例 [有用芳香族化合物](#) [ω-3系多価不飽和脂肪酸含有油脂](#)

### 技術紹介

バイオテクノロジー産業において、従来から微生物の「発酵」を利用した有用化合物の生産は多々行われてきた。近年、微生物の「発酵」を利用した有用化合物の生産技術が非化石原料の活用技術の1つとして利用されている。植物や光合成微生物などにより炭酸固定されてきた糖などを炭素源として利用し、遺伝子改変された微生物に目的の有用化合物を生産させるというものである。この「合成生物学」を利用した微生物生産技術については欧米が先行しており、多くの汎用化学品については既に発酵生産による製造技術のカタログ化が進んでいる。カタログ化されている汎用化学品の具体的な例として、自動車用燃料を代替するバイオエタノール、ポリ乳酸の原料である乳酸をはじめ、1,3-プロパンジオール、 $\gamma$ -アミノ酪酸、4-アミノ桂皮酸などの汎用ポリマー原料が挙げられる。さらに製造産業へ適用された例として、米国のバイオベンチャーであるGenomatica社とBASF社(独)が共同で、基幹汎用化合物である1,4-ブタンジオール（BDO）を年間5万トン以上生産することに成功している。

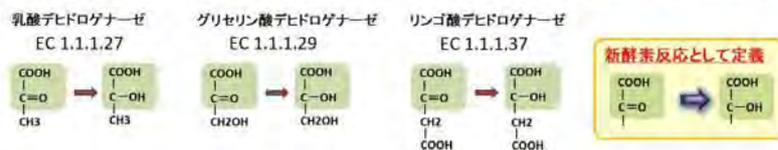
有用化合物を微生物に生産させるとき、細胞内の炭素の流れだけでなく、エネルギーの生産・消費や酸化還元バランスをも含めた『代謝』を最適に設計する技術は必須である。なぜなら細胞内の表現型を理解し、その情報を目的の細胞の代謝設計およびその後の育種に応用できるからである。しかし、1つの細胞内で1,000以上存在する代謝反応を人間の頭だけで考えるには限界があり、コンピュータによる計算力が必須となる。特に近年においては、ゲノムシーケンス技術と情報処理技術の革新によるアノテーションの迅速化により、ゲノムスケールレベルで全代謝反応をコンピュータ上に記述できるようになった。つまり、ある環境での微生物細胞の代謝の振る舞いを予測する技術が確立された（ゲノムスケールモデル：GSM）。現在はGSMを用いた細胞の代謝設計から、実際の実験による検証までをシステムティックに行い、ハイスループットに目的化合物の生産性を向上させる研究が盛んである。しかし、既存のGSMでは非天然化合物の生合成経路を予測・設計することはできない。また、宿主細胞以外が持つ代謝反応を利用した設計も困難である。我々は、これらの問題を解決する技術となる2つの代謝設計ツールを開発している。

#### (1) BioProV: 人工代謝経路の設計ツール

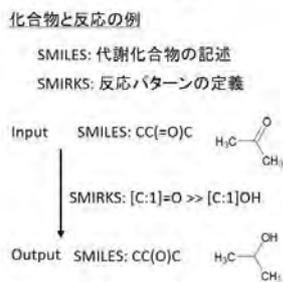
このツールの概要は以下の通りである（図1）。

1. KEGG (<http://www.genome.jp/kegg/>) や BRENDA (<http://www.brenda-enzymes.org/>) といった代謝反応・酵素反応が格納されているデータベースから、個々の酵素という概念を外し、化学反応パターンだけを記述した。そして、同様の化学反応パターンをひとつの化学反応として再分類化し、コンピュータに学習させた（図1 (a)）。
2. 学習の方法としては、各反応において、前駆体と生成物を SMILES という表記方法で記述し、その反応メカニズムを SMIRKS という方法で全て記述した（図1 (b)）。
3. 実際のシミュレーションにおいては、目的化合物を SMILES で記述し、インプットデータとする。そして、それをもとにランダムにかつ網羅的に前駆体を逆合成していく。その逆合成された前駆体の中に、生体内での存在が既知の化合物が出てくるとシミュレーションが成功となる。つまり、その既知の生体化合物を出発物質として、設計された人工代謝反応を実現することができれば、目的の化合物が生合成できる（図1 (c)）。

(a) 約3,000の既知の酵素反応(i.e., EC number)を反応パターンに注目して400種類の反応に再分類化



(b) 化合物と反応の定義・記述



(c) 経路探索アルゴリズム

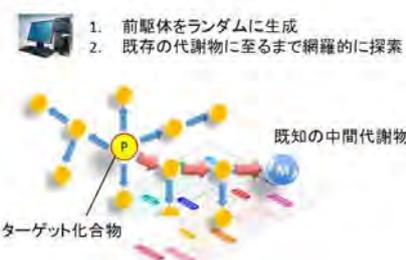


図1. 人工代謝反応を設計するBioProVの概要

なお、京都大学・荒木通啓先生の開発によるM-Path<sup>1)</sup>もアルゴリズムは異なるがコンセプトは同じで、人工代謝経路を設計するツールとして知られている。

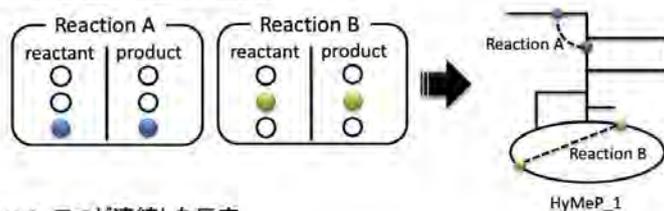
## (2)HyMeP：ハイブリッド代謝設計ツール

既存のGSMでは、宿主細胞が持つ代謝反応の範囲内でしか代謝設計はできない。そこで、宿主細胞以外の生物が持つ代謝反応を網羅的に付加し、目的の化合物を効率良く生産するためのハイブリッドな代謝設計ができるツールを開発した<sup>2)</sup>。このツールの概要は以下の通りである。

- 1.KEGGデータベース (<http://www.genome.jp/kegg/>)にある全生物種の代謝反応から、利用する宿主細胞が持つ代謝反応を除いたものをデータベースとして格納した。
  - 2.作成したデータベースから宿主細胞のGSMに接続する反応経路を選び出し、ハイブリッドな代謝経路 (HyMeP) を構築した (図2)。
  - 3.構築したHyMePを使って目的化合物を最大生産することのできる効率の良い代謝経路を設計した。
- HyMePによる理想的な代謝設計図を描くことにより、迅速で合理的な代謝設計が可能になる。

### 2つの外来反応を追加する場合

#### Pattern 1: それぞれが独立した反応



#### Pattern 2: ニつが連続した反応

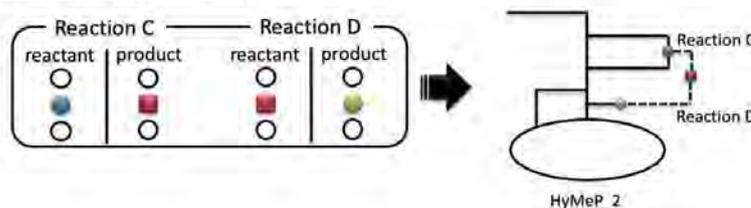


図2. 2つの外来反応を宿主の代謝モデルに付加しHyMePを構築するスキーム

微生物細胞を用いて有用化合物を効率的に生産させるには、コンピュータ計算による細胞内の最適な代謝経路の設計は必要不可欠である。我々は、新規な代謝経路を提案するツール：BioProVと、ハイブリッドな代謝設計により有用化合物の効率的な生産を可能にするツール：HyMePを開発してきたが、この2つを組み合わせることにより、例えば石油由来の非天然の有用化合物を微生物細胞に生産させるための最適な代謝経路の設計が可能になる。今後は、設計された代謝経路を実現する代謝反応を高活性化することが重要となろう。

## 参考文献

- 1) M. Araki, R.S. Cox 3rd, H. Makiguchi, T. Ogawa, T. Taniguchi, K. Miyaoku, M. Nakatsui, K.Y. Hara, and A. Kondo : M-path: a compass for navigating potential metabolic pathways, *Bioinformatics*, 31(6), 905~911 (2015)
- 2) T. Shirai, T. Osanai, and A. Kondo : Designing intracellular metabolism for production of target compounds by introducing a heterologous metabolic reaction based on a *Synechosystis* sp. 6803 genome-scale model, *Microb. Cell Fact.*, 15(13), DOI 10.1186/s12934-016-0416-8 (2016)

最終更新日：2022年11月14日 11:34

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

技術紹介

Technology Introduction

THEME

酵素改変設計技術

亀田 倫史

国立研究開発法人産業技術総合研究所 人工知能研究センター  
主任研究員



この技術でできること

分子動力学シミュレーションに依る解析に基づき遺伝子配列を改変することで、酵素活性を高活性化させるなど蛋白質を高機能化させる。

技術紹介

スマートセルプロジェクトでは、細胞が持つ物質生産能力を最大限に引き出した「スマートセル」を構築し、従来の合成法では生産が難しい有用物質の創製、生産プロセスの低コスト化や省エネ化の実現を目標としている。我々は細胞内で実際に物質生産を担う主体である酵素に着目し、その機能を向上させる酵素改変部位を予測する手法を開発した。酵素は物質生産の原料となる基質と適切に結合し、酵素-基質複合体を形成することで目的の反応生成物（主産物）を生成する。しかし酵素と基質の形状によっては反応効率が著しく減少したり、目的でない反応物（副産物）の生成により主産物の純度が低下したりする場合がある。そこで我々は酵素の一部を改変し、その構造を主産物生成に適した形に改良することで、酵素の持つ物質生産能力を最大限に引き出すことを目指した。

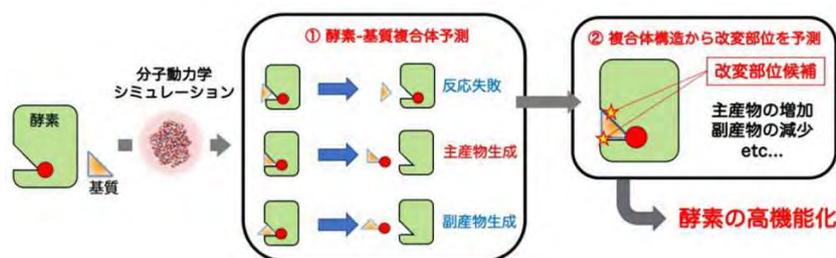


図1. 酵素改変部位予測法の2つのステップ

本酵素改変部位予測法では、2つのステップによって酵素の高機能化を実現する（図1）。第1のステップでは、独自に開発した分子動力学（Molecular Dynamics, MD）シミュレーション手法（Adaptive Lambda Square Dynamics, ALSD）法<sup>1,2)</sup>を用いて、酵素と基質が取り得る様々な複合体構造を原子レベルで網羅的に探索する。第2のステップでは、ALSD法によって得られた原子レベルの複合体構造情報から酵素と基質の相互作用パターンを詳細に解析し、主産物生成量を増加、あるいは副産物生成量を減少させることができると考えられる酵素改変部位を提案する。

酵素高機能化を実現する上での大きなブレイクスルーとなったのは、強力なシミュレーション手法であるALSD法<sup>1,2)</sup>を利用することにある。MDではコンピューター上に酵素と基質、それを取り囲む水分子やイオンなどの溶媒の環境を再現し、現実と同様の時系列変化を追跡していくことで酵素-基質複合体の構造を探索することになる。しかし従来のMD手法は複合体構造を探索するのに多大な計算時間と計算資源を必要とするため、実際の酵素改変研究へ適用することは非常に困難であった。一方ALSD法は、任意に選択した特定の部位（例えば基質）の構造変化を格段に促進させることができるように改良されたMD手法であり、現在行なっている研究では、酵素ポケット内の基質の構造変化を促進させることにより、主産物、あるいは副産物を生成する際様々な複合体構造を網羅的に探索し、酵素-基質間の相互作用パターンを詳細に解析することで、数日から1週間程度のシミュレーション時間で酵素改変部位予測を行うことが可能となった。

実際の適用例として、図2を示す。この酵素は反応効率が高いものの、副産物生成が多く、目的とする化合物は、全反応物の13%しか存在しない。本手法を用いることで、その収率を70%程度まで高めることに成功した。また、生産物終了そのものも、6

倍程度まで向上させることに成功した。

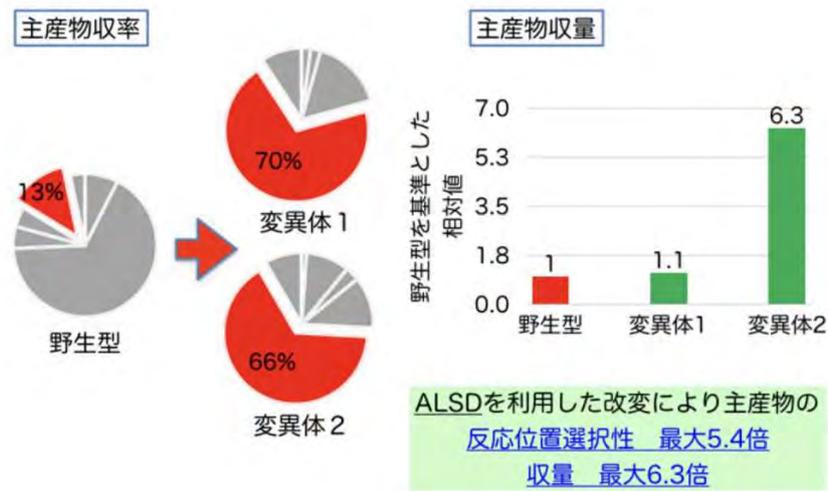


図2. 酵素改変部位予測法によって提案された変異体の主産物収率、収量例

## 参考文献

- 1) J. Ikebe, S. Sakuraba, and H. Kono : Adaptive lambda square dynamics simulation: an efficient conformational sampling method for biomolecules, J. Comput. Chem., 35(1), 39~50 (2014)
- 2) J. Ikebe, K. Umezawa, and J. Higo : Enhanced sampling simulations to construct free-energy landscape of protein-partner substrate interaction, Biophys. Rev., 8, 1~8 (2016)

最終更新日：2022年11月14日 12:35

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#)

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

技術紹介

## Technology Introduction

THEME

### 導入遺伝子配列設計技術

亀田 倫史

国立研究開発法人産業技術総合研究所 人工知能研究センター  
主任研究員



### この技術でできること

遺伝子配列を改変することにより、タンパク質発現量を制御（増大・減少）させる。

使用された技術活用事例

[有用芳香族化合物](#)

### 技術紹介

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

本研究<sup>1)</sup>では、産総研が所有する*Rhodococcus*属放線菌におけるタンパク質生産実験データの情報解析を行った。このデータは、204個の遺伝子について、遺伝子配列とタンパク質生産量が紐付いたデータとなっている。遺伝子配列から様々な配列特徴量の計算を行い、タンパク質発現量と配列特徴量の相関を評価した。その結果、遺伝子配列の先頭部分におけるmRNAの2次構造形成度およびCodon Adaptation Index (CAI) という配列特徴量が、タンパク質生産量と高い相関を示した。この結果に基づき、2次構造を取りにくく、なおかつCAIが高くなるように遺伝子配列を設計する新しいコドン最適化手法を開発した。本手法では、まず元となる遺伝子配列に対して、タンパク質のアミノ酸配列が同じでコドンの使用パターンのみが変更されたDNA配列をコンピューター上で有り得る全通り生成する。次に、生成したそれぞれの配列に対して、先頭部分におけるmRNAの2次構造形成度とCAIを計算する。これにより、CAIが指定された閾値以上に高く、なおかつ2次構造を最も取りにくいような最適配列を探索する。一般に、ある遺伝子配列に対してコドン使用パターンの変更されたDNA配列は膨大な数が存在するため、このような探索問題は非常に長い計算時間が必要となり実用的ではない。今回、産総研所有データの情報解析によって、遺伝子配列の先頭部分がタンパク質発現量に特に重要であることが示された。これにより探索範囲を配列先頭部分のみに絞ることで計算の高速化が可能となり、本手法を実現することができた。以上のように、実験データ取得と情報解析を密に連携させることで、これまでにない新しいコドン最適化手法の開発に成功した。

本手法の有効性を検証するために、12個の遺伝子について配列設計を行い、*Rhodococcus*属放線菌に導入してタンパク質生産量を評価した。各遺伝子について、CAIの閾値設定を様々に変えて、タンパク質生産量を向上させる配列6種類、低下させる配列3種類を設計し、野生型配列9と比較する実験を3回ずつ実施するという大規模な検証を行った（12遺伝子×10配列×3回=360実験）。その結果、9個の遺伝子（75%）で野生型配列よりも生産量を向上することに成功し、さらにCAIの最適な閾値設定についても明らかになった（図2）。特に、野生型配列でのタンパク質生産量が少なかった5個の遺伝子については、全て（100%）において配列設計による生産量の改善が見られた（図3）。この結果は、本手法が生産の難しいタンパク質に対して特に有効であることを示している。また、タンパク質生産量の低下については、12個の遺伝子全てについて、期待通りに生産量が減少した。また、本手法の設計される配列が野生型配列に対して先頭部分のみに変異を含むことにはもう1つ利点がある。（図1）。それは、設計配列を合成する際には、全長遺伝子合成のようなコストの高い方法ではなく、変異導入プライマーによるPCRみで可能な非常に簡便で安価な方法を用いることができることである。さらに、本手法はCAIを対象の微生物に合わせることで、*Rhodococcus*属以外の様々な微生物にも適用することができ、実際に、その効果を確認している。

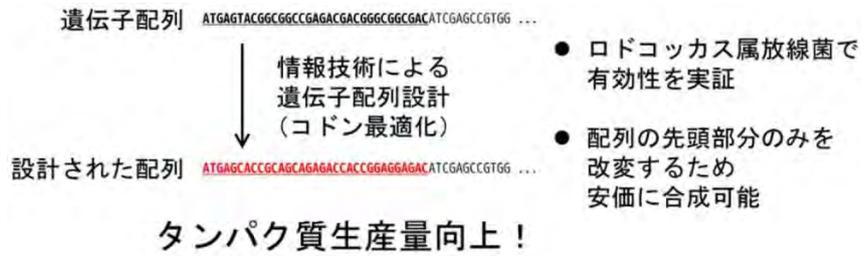


図1. 情報技術による遺伝子配列設計でタンパク質生産量を向上

野生型配列でのタンパク質生産量	配列設計の有効性を検証した遺伝子数	タンパク質生産量の向上した遺伝子数	成功率 (%)
小	5	5	100
中	4	3	75
大	3	1	33
合計	12	9	75

図2. 遺伝子配列設計によるタンパク質生産量向上の有効性検証

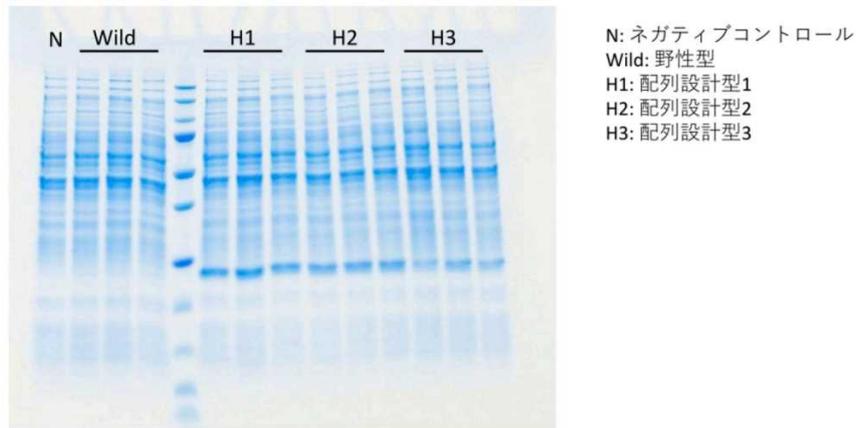


図3. 野生型配列でのタンパク質生産量が少ない遺伝子の配列設計による改善例

## 参考文献

1) Y. Saito, W. Kitagawa, T. Kumagai, N. Tajima, Y. Nishimiya, K. Tamano, Y. Yasutake, T. Tamura, and T. Kameda : Developing a codon optimization method for improved expression of recombinant proteins in actinobacteria, *Sci. Rep.*, 9(1), 8338 (2019)

最終更新日: 2022年11月14日 12:35

プロジェクト主旨 | プロジェクト概要 | 技術紹介 | 技術活用事例 | 個別技術紹介

一般財団法人バイオインダストリー協会  
 〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

新着情報

FAQ

ご相談窓口

スマートセルプロジェクトとは

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

技術紹介

Technology Introduction

THEME

発現制御ネットワーク構築技術

油谷 幸代

国立研究開発法人産業技術総合研究所  
生体システムビッグデータ解析OIL 副ラボ長



この技術でできること

遺伝子発現データからの遺伝子間相互作用をネットワークモデルとして表現することで、細胞内で起こっている現象を一つのシステムとして理解し、人為的制御を行うための改変候補遺伝子を提案する。

使用された技術活用事例

有用芳香族化合物

$\omega$ -3系多価不飽和脂肪酸含有油脂

技術紹介

微生物による効率的物質生産を実現するためには、物質生産時に微生物細胞内で起こっている現象メカニズムを理解し、それを1つの稼働システムとして制御することが必要である。この生体細胞内における複雑な「システム」を理解し活用するためには、遺伝子の発現制御ネットワークモデルが有用である。我々は遺伝子間の制御関係をネットワークモデルとして構築することで、生体細胞内で起こっているプロセスを因果グラフとして表現し、そのプロセス工程におけるボトルネック探索や効率化に必要な改変操作ポイント探索を可能にするための技術開発を行った。

第一に、物質生産性に寄与する遺伝子群を推定技術の開発を行った。生体細胞において、物質生産等の細胞内現象に必要な遺伝子は約10%~20%と推定されていることから、物質生産に貢献している遺伝子群を同定する必要がある。本研究では、統計検定、相関解析、論理演算を組み合わせることでより高精度に物質生産関連遺伝子群を抽出できるフローを開発した（図1）。

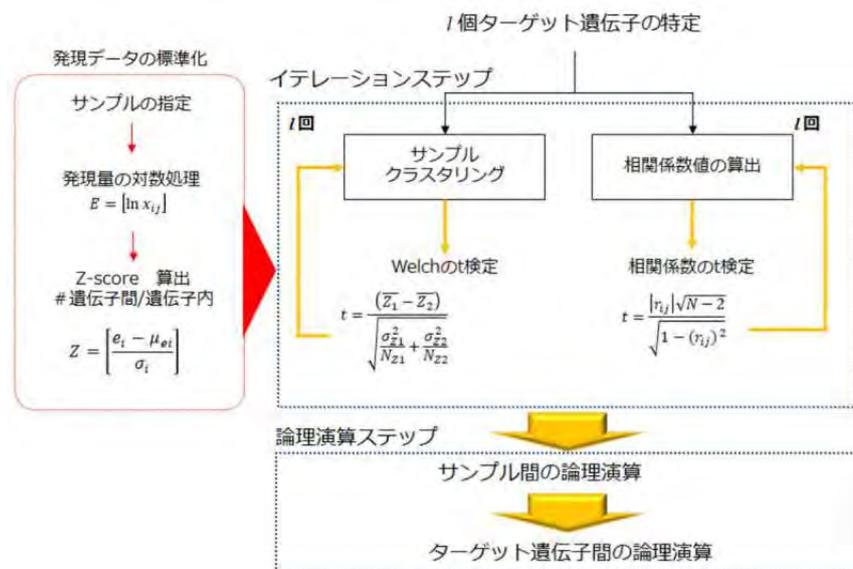


図1. 論理演算を組み合わせた遺伝子選択フロー

第2に遺伝子間の制御関係をネットワークモデル化する技術の開発を行った。前項で選択された遺伝子群は、ターゲット物質の生産量と相関している可能性が高い遺伝子群であり、選択された遺伝子群とターゲット物質の関係性には方向性がない。そこで、選択された遺伝子群から物質生産プロセスにおいてターゲット物質の上流に位置し、ターゲット物質の生産量を調節する制御因子となりうる遺伝子をネットワークモデルによって明らかにする必要がある。本研究では、ベイジアンネットワーク1)と、産総研で開発してきた構造方程式モデル2,3)を組み合わせ、より高精度なネットワーク構造推定を行っている（図2）。

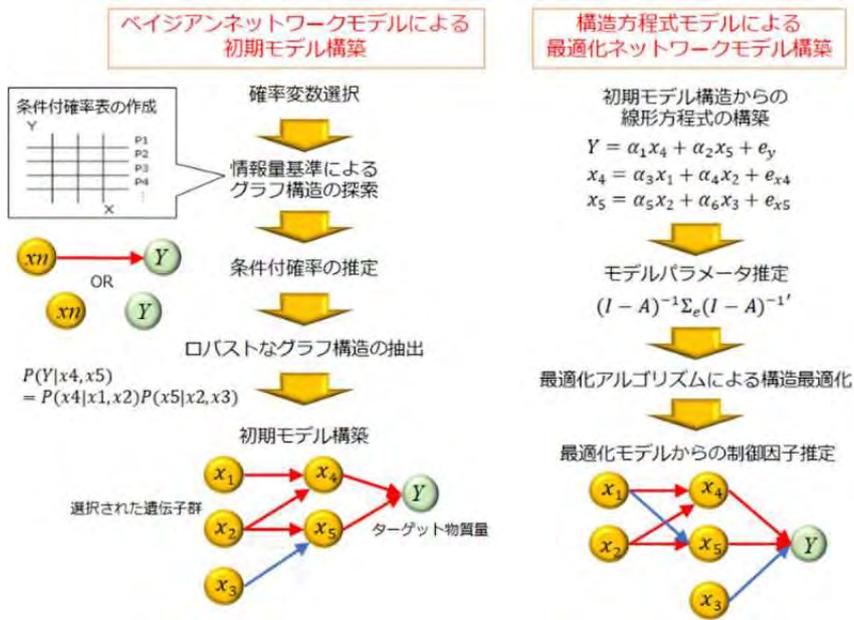


図2. ネットワークモデル構築とグラフ構造からの制御因子推定

構築されたネットワークモデルの再帰的構造を包含していることから、ネットワークモデルに存在する「どのノード（遺伝子）」がターゲット物質の量を調節する上で効率的な制御因子となりうるか推定し提案している。ターゲット物質の量を調節（最大化・最小化）するために必要な制御因子を探索するアルゴリズムを開発し、改変候補遺伝子を提案している。これまでに、2倍～10倍程度の生産量増加に寄与する遺伝子の探索に成功した。

## 参考文献

- 1) N. Friedman, M. Linial, I. Nachman, and D. Pe'er : Using Bayesian networks to analyze expression data, J. Comput. Biol., 7(3-4), 601~620 (2000)
- 2) S. Aburatani : Application of structure equation modeling for inferring a serial transcriptional regulation in yeast, Gene Reg. Sys. Biol., 5, 75-88 (2011)
- 3) S. Aburatani and H. Toh : Structural equation modeling for systems biology, in Encyclopedia of Information Science and Technology, 3rd Edition, pp.458~478, IGI Global, (2015)

最終更新日：2022年11月14日 12:36

プロジェクト主旨 | プロジェクト概要 | 技術紹介 | 技術活用事例 | 個別技術紹介 |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

新着情報

FAQ

ご相談窓口

スマートセルプロジェクトとは

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

技術紹介

Technology Introduction

THEME

文献等からの知識抽出・学習技術

荒木 通啓  
京都大学大学院医学研究科  
特定教授



この技術でできること

スマートセルに関する文献・公開データから微生物開発に有用な知識を抽出し、生産性向上に有望な遺伝子改変や酵素遺伝子などの、現状の設計を改良する次の一手を提案することができます。

使用された技術活用事例 [有用芳香族化合物](#) [ω-3系多価不飽和脂肪酸含有油脂](#)

技術紹介

スマートセル開発のDBTLサイクル（Design-Build-Test-Learn）における学習(Learn)プロセス、すなわち各種データ・モデルの解釈と、それをもとにした次の設計仮説の創出プロセスは、個人の知識背景や、手作業による文献・データベースの検索・調査に依存している。こうした属人的な知識獲得プロセスは、スマートセル開発において律速であるとともに、体系的な知識蓄積・発見・再利用が困難であるなど、技術的に解決すべき大きな課題となっている。例えば、代謝経路設計から代謝モデル構築・最適化や、酵素遺伝子や改変候補遺伝子の探索は、既存の文献・データベース情報からの知識抽出に大きく依存している。既存の代謝パスウェイ・酵素反応データベースには、スマートセル開発に必要な十分な知識が記載されていないケースも多く、スマートセル開発を志向した文献知識抽出については再考の余地が十分にあった。加えて、近年の機械学習・人工知能（AI）技術の進展に伴い、既存データからの新たな知識・パターン抽出も可能となってきたことから、こうした技術の応用も期待されている。こうした背景のもと、本プロジェクトでは、代謝・酵素設計提案をサポートする文献からの知識ベース開発と酵素遺伝子探索にフォーカスした機械学習技術の開発を実施している。

(1) 知識ベース開発

属人的な微生物の設計知識を整理し、再利用可能な形式に体系化するために、微生物株の設計履歴と、それに紐づく各株の遺伝子改変内容を、目的・手段・根拠情報といった形で整理蓄積する技術を開発した。蓄積された知識を、改変履歴に沿ってツリー形式で「見える化」することで、これまでの設計データの俯瞰や新しい仮説の着想に利用することができる。また、蓄積・体系化された設計履歴を起点として、連携する知識抽出技術を呼び出し、設計改良につながる有用情報を提示する。

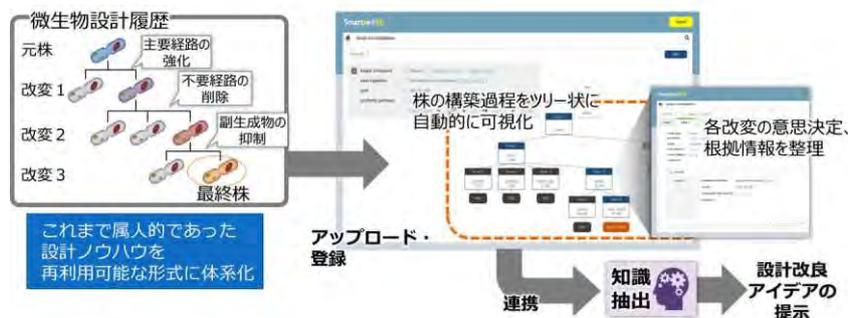


図1. スマートセル設計支援知識ベース

知識抽出技術は、代謝系設計・遺伝子改変に関する文献の特徴を自然言語処理・文献検索技術により識別し、スマートセル設計に有用な文献情報を広く収集するスマートセル文献自動収集技術と、収集した文献情報から、これまでの代謝系設計・遺伝子改変と関係が深い遺伝子改変を抽出・提案する有望遺伝子レコメンド技術から構成される。これらの技術により、知識ベースに

蓄積された既存の株設計の履歴から、その設計に関連した文献情報を収集し、現在の設計に追加すべき遺伝子改変を提案する。結果として、DBTLサイクルの回転を効率化し、所望のスマートセル創製までの工数短縮が期待できる。



図2. 設計履歴を起点とした、文献情報からの遺伝子改変提案

## (2) 酵素反応データ学習と活性推定モデル

代謝設計により出力される代謝経路には、未知・既知を問わずに推定された酵素遺伝子候補が複数出現することになり、代謝経路で実際に構築していく上で、酵素遺伝子の選択が重要な課題となってくる。本技術は、基質・生成物の化学構造や酵素アミノ酸配列を数値化し、酵素反応としての正・負判別を行い、新たな基質・生成物と酵素アミノ酸配列の組合せを有するテストデータに対してスコアを付与して正・負判別を実施する。従来の機械学習・深層学習ベースの手法とともに、実証検証データを取り込むことで、モデルの改善を実施する取り組みも行っている。一例を示すと、機械学習法により判別された結果の分布を比較することにより、酵素遺伝子選択の指針を与える技術(図3)の開発や、基質・生成物の化学構造を学習させた深層生成モデルを用いて、既知・未知の酵素反応後によって起こり得る化合物構造を予想し、新規代謝経路を探索する技術<sup>2)</sup>(図4)を開発している。

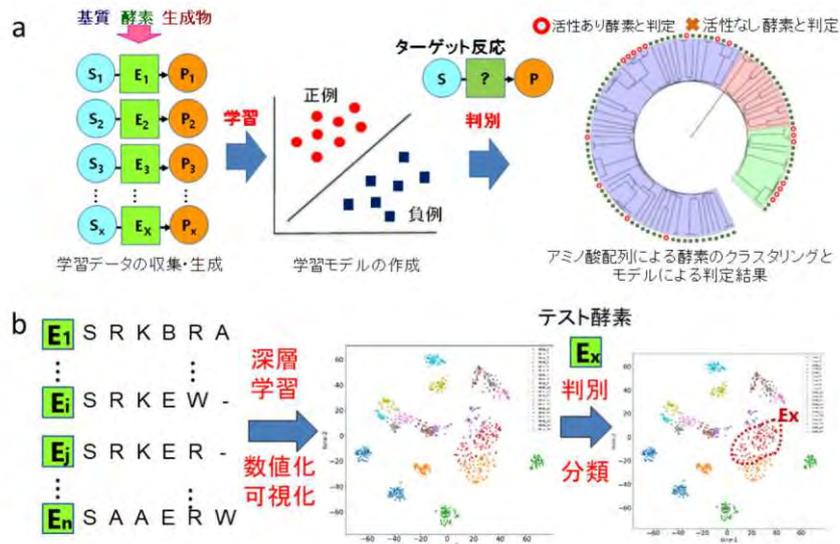
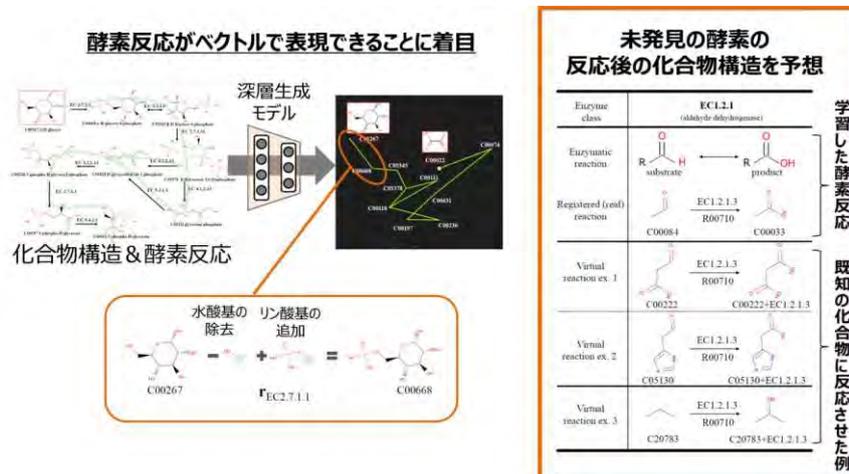


図3. 酵素反応データ学習と活性推定モデルの開発



## 参考文献

- 1) Watanabe, N., Murata, M., Ogawa, T., Vavricka, C.J., Kondo, A., Ogino, C., \*Araki, M.: Exploration and Evaluation of Machine Learning-Based Models for Predicting Enzymatic Reactions, Journal of Chemical Information and Modeling, 60(3), 1833-1843 (2020)
- 2) Fuji, T., Nakazawa, S. and Ito, K.: Feasible-Metabolic-Pathway-Exploration Technique using Chemical Latent Space, Bioinformatics (2020)

最終更新日：2022年11月14日 12:49

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

技術紹介

Technology Introduction

THEME

輸送体探索技術

阿部 敬悦

東北大学大学院農学研究所・応用微生物学分野  
教授



この技術でできること

目的化合物を細胞外に排出する輸送体を探索する。

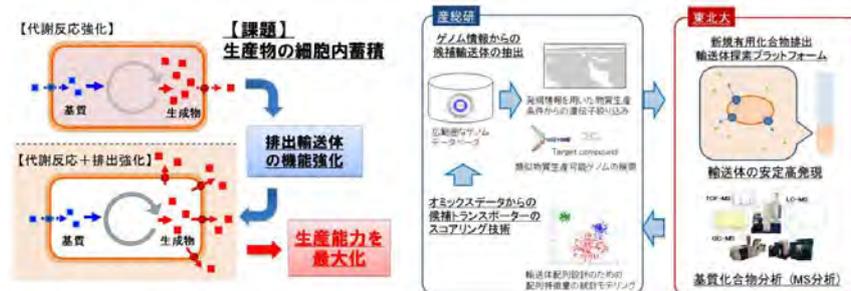
使用された技術活用事例

有用芳香族化合物

技術紹介

微生物等を用いて化合物を生産する場合、特に膜不透過性の化合物をターゲットとする場合は、生産物の宿主細胞外への排出は生産の効率化を左右する。仮に、生産物の細胞外への排出が滞ると、生産物が細胞内に蓄積し、負のフィードバックが起こり生合成反応を阻害される。このような場合、ターゲットとする化合物を細胞外に適切に輸送する『輸送体』の細胞膜上での発現が解決策となる<sup>1)</sup>。近年のゲノム解析の進展により生物のゲノム上には、300~1,000の輸送体をコードする遺伝子が存在する明らかにされている。一方で、輸送体は膜に局在するため精製の際には細胞膜から界面活性剤を用いて可溶化する必要がある。また、酵素学的な機能の解析をするためには人工膜小胞（リポソーム）再構成法などの難しい技術が必要になる。そのため、多くの輸送体遺伝子の機能は未知のまま残されている。実際に、ターゲットとする化合物の排出輸送体を論文情報やゲノム情報を元に調べても、対象の輸送体にたどり着かない場合が多いのが現状である。本プロジェクトでは(国研)産業技術総合研究所（産総研）の有する情報解析技術と東北大学で開発された輸送体探索技術との融合により、従来の輸送体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の開発を行った。

産総研・創薬基盤研究部門・油谷らのグループはゲノム情報や遺伝子転写解析のデータを基に、標的化合物の生産に寄与する輸送体遺伝子を抽出する技術を開発した。この技術を用いて、ゲノムにコードされた輸送体遺伝子から候補となる輸送体遺伝子の絞り込みを実施した。続いて、東北大学において、独自に開発を進めてきた輸送体探索技術<sup>2)</sup>を応用し、産総研・油谷らにより抽出された輸送体遺伝子の機能を質量分析などの技術を用いて実験的に調査し、ターゲット化合物を輸送する輸送体の探索を実施した。本プロジェクトにおいて、従来と比較して1/3~1/5の短期間にアミノ酸、有機酸（コウジ酸等）の輸送体の探索に成功した。さらに、探索した輸送体遺伝子の導入により、ターゲット化合物の生産が効率化できることを証明した。



1) 七谷圭, 中山真由美, 新谷尚弘, 阿部敬悦, 第12章 微生物の膜輸送体探索と産業利用—輸送工学の幕開け—, スマートセルインダストリー, CMC出版 (2018)

2) A. Sasahara, K. Nanatani, M. Enomoto, S. Kuwahara, and K. Abe : Substrate specificity of the aspartate:alanine antiporter (AspT) of *Tetragenococcus halophilus* in reconstituted liposomes, J. Biol. Chem., 286, 29044~29052 (2011)

## 関連特許

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

最終更新日: 2022年11月14日 11:47

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

技術紹介

Technology Introduction

THEME

HTPトランスクリプトーム解析技術

三谷 恭雄

産業技術総合研究所

生物プロセス/バイオメディカル研究部門



この技術でできること

信頼性の高いトランスクリプトーム解析技術の確立を目指す。

技術紹介

多様な産業微生物に適用可能な信頼性の高いトランスクリプトーム解析技術の確立のために、スパイクイン用核酸標準物質の開発とその利用方策を検証する。また、そのための核酸標準物質の簡便な値付けの手法を確立する。産業微生物では特に培養後期などに目的有用物質の生産が高くなる例が見られるが、そうした試料から良い状態でのRNA抽出は困難である。未分解RNAのみを選択的に解析する技術を確立することにより、これまで実施が難しかったトランスクリプトーム解析を可能にする技術開発を行っている。



核酸標準物質の開発

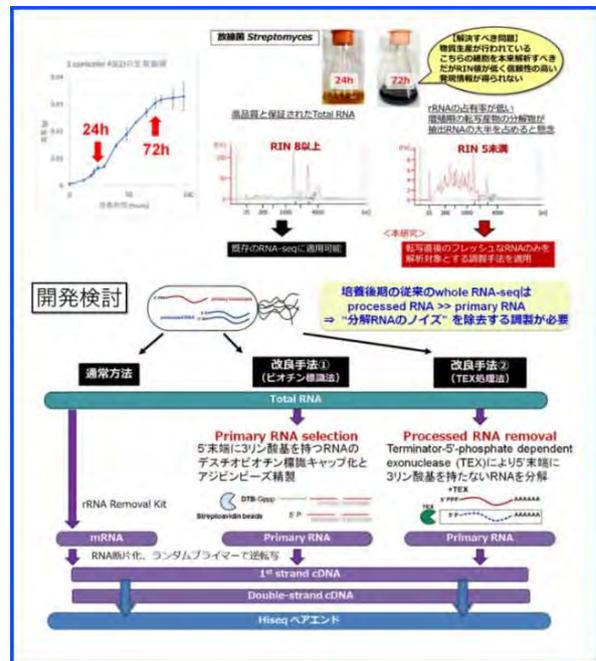
- スパイクイン用長鎖DNA標準物質の開発
- スパイクイン用RNA標準物質の開発 (GCバリエーションの拡充)

核酸標準物質の値付け

- デジタルドロップレットPCR
- 蛍光相関分光法 (一分子定量)



スパイクイン用核酸標準物質の開発と検証



未分解RNA選択的調整技術の適用

参考文献

1) 三谷ら, スマートセルインダストリー-微生物細胞を用いた物質生産の展望-, シーエムシー出版 (2018)

2) A. Sasaki, J. Yamamoto, M. Kinjyo, and N. Noda : Absolute quantification of RNA molecules using fluorescence correlation spectroscopy with certified reference materials , Anal. Chem., 90, 10865~10871 (2018)

最終更新日：2022年11月14日 11:48

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## 技術活用事例 Application Examples

TITLE

### 技術活用事例 一覧

#### 有効性検証

スマートセル創出を目指し、DBTLサイクルを回すために必要なさまざまな要素技術を開発しました。それらの技術が、有用化合物の生産菌の造成において、どのように活用されたのかを紹介します。

##### 事例01

糸状菌を用いた有用タンパク質同時生産制御

##### 事例02

コリネ菌を用いた有用芳香族化合物の生産性向上

##### 事例03

$\omega$ -3系多価不飽和脂肪酸含有油脂の生産性向上

##### 事例04

代謝経路や酵素の設計、メタボローム解析に基づく大腸菌でのアルカロイド高生産

##### 事例05

希少アミノ酸エルゴチオネイン高生産スマートセルの開発

##### 事例06

植物由来の高機能プラスチックーポリアミド原料の発酵生産技術開発ー

##### 事例07

微生物を用いたパプリカ由来カロテノイドの新規生産法

##### 事例08

酵素設計技術を活用した化成品製造法の開発

##### 事例09

体外診断用医薬品酵素生産 コレステロールエステラーゼ生産スマートセルの開発

最終更新日：2023年6月16日 16:03

## 技術活用事例 Application Examples

THEME

### 糸状菌を用いた有用タンパク質同時生産制御

#### 使用した技術

発現制御ネットワーク構築

##### 実施機関

長岡技術科学大学、花王(株)、(一財)バイオインダストリー協会、九州大学、(国研)産業技術総合研究所

##### 研究開発のゴール

糸状菌が分泌する種々の植物バイオマス糖化酵素について、それぞれの生産比率をコントロールし、様々な組成の植物バイオマスの糖化に最適な酵素標品の生産菌株を構築する技術基盤を得る。

##### 目的

植物バイオマスは、地球上に大量に存在する持続可能なバイオマスである。植物の非可食部分である植物細胞壁を構成する多糖を加水分解（糖化）することで得られる糖は、バイオ燃料の原料となるだけでなく、微生物を用いた高付加価値品生産のための炭素源として用いることができる。微生物を用いたモノづくりを基盤としたバイオエコノミー社会創成のためにも、植物細胞壁の糖化技術は必須のものである。糸状菌は植物細胞壁多糖を効率的に糖化できる微生物由来の酵素「セルラーゼ」を生産することから、セルラーゼを用いた植物バイオマスの酵素的糖化を目的とした研究開発が進められている。日本においては、1980年代からセルラーゼ高生産性の糸状菌トリコデルマ・リーセイ (*Trichoderma reesei*) を用いた開発が進められてきた。当初は突然変異の誘発によって酵素生産能力の向上が図られ、最終的に取得されたPC-3-7株は現在でも工業用酵素生産株開発のベース株として用いられている。また、遺伝子組み換えによって糖化に重要な役割を果たす酵素をPC-3-7株で生産させることで、世界トップレベルの植物バイオマス糖化能力を持つ糖化酵素の生産株の開発に成功している。しかしながら、植物バイオマスの種類によってその細胞壁多糖の構成成分の組成が異なるため、植物バイオマスに合わせた最適な酵素成分で構成された糖化酵素「テーラーメイド型糖化酵素」の作出が現在求められている（図1）。

これまでの菌株開発は、過去の論文、研究室で得られた知見に基づいた開発であり、酵素生産量全体のコントロールは可能であるものの、特定の複数の酵素の生産量のみを制御することは困難であった。しかし、複数遺伝子を制御する因子の同定は研究者の経験や直感に頼ったこれまでのWet中心の研究手法では困難である。そこで、スマートセルプロジェクトではトリコデルマ・リーセイすべての遺伝子の発現データを大量に準備し、スマートセル設計システムのネットワークモデル構築技術を最大限に活用してどの遺伝子がどの遺伝子を制御しているのか、そのネットワークがどのような構造をとっているのかを明らかにするとともに、糖質加水分解酵素群の生産比率を制御する因子を同定することを目的としている。

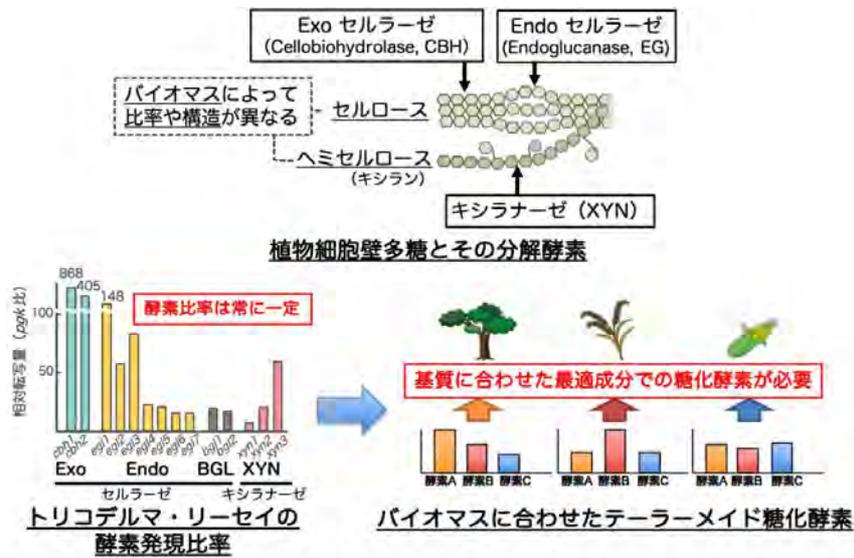


図1 本研究開発の背景

## 結果・成果

セルラーゼ生産条件下および非生産条件下における全遺伝子発現データを約200サンプル使用し、図2に示したDBTLサイクルに基づいて遺伝子発現ネットワークを設計し、ターゲット酵素の遺伝子発現に影響を与える可能性のある遺伝子を複数推定した。それら遺伝子の破壊株を構築することによってセルラーゼ生産性、酵素生産比率の解析を行った。その結果、特定のセルラーゼの生産をコントロールしている制御遺伝子を発見することができ、この制御遺伝子を活用することで特定の植物バイオマスに対する糖化能力を向上させることに成功した。構築した遺伝子制御ネットワークはプロトタイプであるが、現在得られている成果をフィードバックし、さらなる情報解析を進めて高精度化を進めている。しかし、現時点においてもトリコデルマ・リーセイの研究者にとって予想することがはるかに困難であった遺伝子が酵素成分の生産バランスに大きな影響を与えていたため、本研究をさらに進展させることで今後も新たな知見が得られることが期待される。

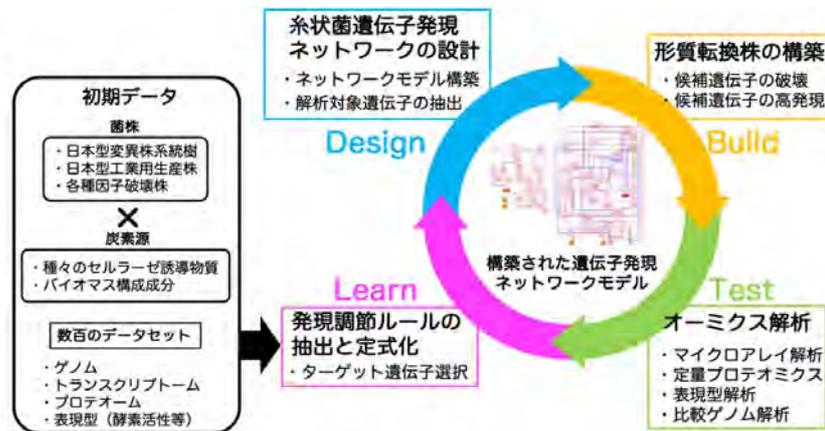


図2 本研究開発の流れ

## この研究で得られたデータ

プロジェクト (糸状菌を用いた有用タンパク質同時生産制御による有効性検証)

— NITE生物資源データプラットフォーム(DBRP) から提供 (制限公開データを含みます)

最終更新日: 2022年11月14日 12:37

プロジェクト主旨 | プロジェクト概要 | 技術紹介 | 技術活用事例 | 個別技術紹介

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

新着情報 | FAQ | ご相談窓口 | スマートセルプロジェクトとは

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## 技術活用事例 Application Examples

THEME

### コリネ菌を用いた有用芳香族化合物の生産性向上

#### 使用した技術

[代謝経路設計](#)、[導入遺伝子配列設計](#)、[発現制御ネットワーク構築](#)、[文献等からの知識抽出・学習（機械学習を活用した酵素提案・スマートセル設計支援知識ベース）](#)、[輸送体探索](#)、[HTPトランスクリプトーム解析](#)、[高精度メタボローム解析](#)、[定量ターゲットプロテオーム解析](#)

#### 実施機関

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

#### 研究開発のゴール

発酵生産困難な物質の高生産株を短期間で開発する。

#### 目的

スマートセル設計技術を代表的な産業微生物であるコリネ菌に適用し、これまで発酵生産が困難だった物質の生産株を従来よりも短い期間で育種開発することを目指した。

RITEはこれまでにコリネ菌 (*Corynebacterium glutamicum*) を活用した発酵生産技術の開発を行ってきた<sup>1-3)</sup>。*C. glutamicum*は非病原性、非運動性の土壌性グラム陽性桿菌で、グルタミン酸を培地中に排出する微生物として日本で発見された。RITEは独自に*C. glutamicum*R株を単離し、全ゲノム配列を決定している。今回、この菌を生産宿主とし、有用芳香族化合物の1つ(化合物A)を生産ターゲットとして生産株の開発を進めた。

化合物Aは電子部品製造の際に利用される他、医薬品原料、香料原料として大きな市場を有する。このように化合物Aは産業的な利用価値が高いものの、これまで生物を利用して高濃度生産された例はない。微生物全般に対して強い毒性を示すことと、糖からの代謝経路のステップ数が多く複雑なことがその原因だと考えられる。また、*C. glutamicum*は元々この化合物Aの生産経路を持たない。そこで、本プロジェクトにおいて複数のスマートセル設計技術を駆使することにより、高生産株の短期間育種を試みた。

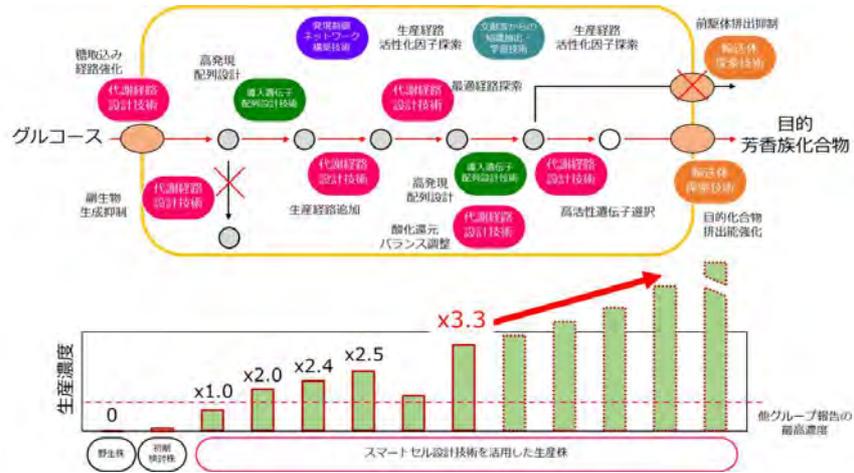
#### 結果・成果

土壌細菌である*C. glutamicum*は化合物Aを分解し自身の栄養とすることができる。そこでまず化合物Aと、化合物Aの前駆体を分解する酵素遺伝子の破壊株を作製した。これを親株とし、化合物A生産に必要な遺伝子を導入しただけの生産株を作製した。スマートセル設計技術を利用せずに作製したこの株は極めて低濃度の化合物Aを生産した。

*C. glutamicum*で化合物Aを生産しうることがわかったもののその生産量は微量であったため、スマートセル設計技術の適用を試みた。「ハイスループット(HTP)トランスクリプトーム解析技術」、「高精度メタボローム解析技術」、「定量ターゲットプロテオーム解析技術」を活用することで遺伝子型の異なる複数の生産株から大量のデータを得た。これとゲノム情報を用い、「代謝経路設計技術」、「導入遺伝子配列設計技術」から複数の遺伝子改変提案を受けた。この提案には破壊すべき副生経路遺伝子、高発現させるべき生産経路遺伝子、新たに導入すべき外来遺伝子、発現量が増加する遺伝子配列等が含まれていた。これらの改変指針に基づき*C. glutamicum*の育種を進めたところ、化合物Aの生産性が大幅に向上した。その結果、過去に他グループから報告された生産濃度を上回り、世界最高の濃度に達した。現時点では生産株に未適用だが、「発現制御ネットワーク構築技術」、「文献等からの知識抽出・学習技術」、「輸送体探索技術」からの改変提案においても改善を示唆する予備検討結果を得ている。

ため、さらなる生産性の向上が期待できる。また、特筆すべき点として、各スマートセル設計技術は併用可能であることが挙げられる。それぞれ代謝改変指針を導き出すアプローチが全く異なるため、生産株育種の過程で各技術からの改変提案を1つの生産株系列に積み重ねることが可能である。これにより下図に示したように野生株から順次生産性が大きく向上していく成果を得た。

以上のように、複数のスマートセル設計技術を活用することで生産困難なターゲット物質の1つである有用芳香族化合物Aの短期間での生産株構築と生産性の大幅な向上を達成した。



### この研究で得られたデータ

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

— NITE生物資源データプラットフォーム(DBRP) から提供 (制限公開データを含みます)

### 参考文献

- 1) 豊田 晃一, 乾 将行 : 炭素循環社会の実現を目指したバイオリファイナー技術の開発, 環境技術, 48, 141-145 (2019)
- 2) T. Kogure, T. Kubota, M. Suda, K. Hiraga, and M. Inui : Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for shikimate overproduction by growth-arrested cell reaction, *Metab. Eng.*, 38, 204-216 (2016)
- 3) T. Kubota, A. Watanabe, M. Suda, T. Kogure, K. Hiraga, and M. Inui : Production of para-aminobenzoate by genetically engineered *Corynebacterium glutamicum* and non-biological formation of an N-glucosyl byproduct, *Metab. Eng.*, 38, 322-330 (2016)

最終更新日 : 2022年11月14日 12:39

プロジェクト主旨 | プロジェクト概要 | 技術紹介 | 技術活用事例 | 個別技術紹介 |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

新着情報 | FAQ | ご相談窓口 | スマートセルプロジェクトとは

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## 技術活用事例 Application Examples

THEME

### ω-3系多価不飽和脂肪酸含有油脂の生産性向上

#### 使用した技術

[発現制御ネットワーク構築](#)、[文献等からの知識の抽出・学習（機械学習を活用した酵素提案](#)・[スマートセル設計支援知識ベース](#)）、[長鎖DNA合成](#)、[高精度メタボローム解析](#)、[定量ターゲットプロテオーム](#)

#### 実施機関

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

#### 研究開発のゴール

ω-3系脂肪酸を高効率で合成できる新規油脂酵母を開発し、魚の乱獲等で需要に対する供給が滞っているω-3系脂肪酸市場への供給を行う。

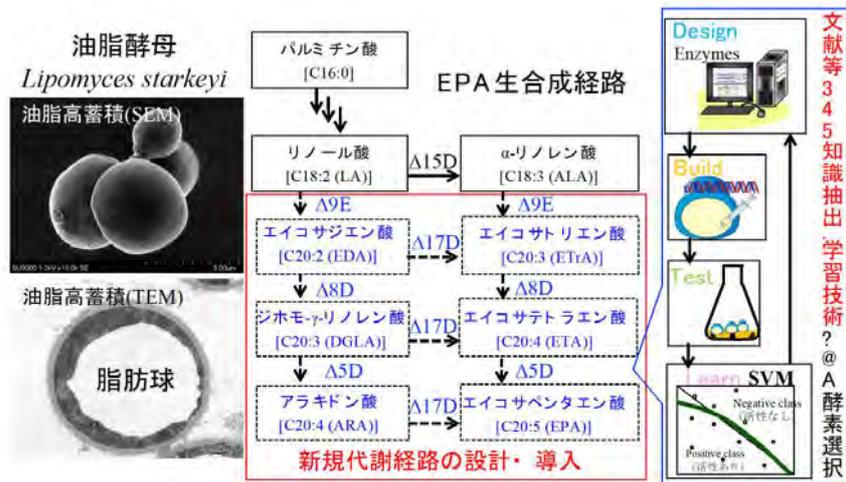
#### 目的

多価不飽和脂肪酸のω-3系脂肪酸は、人間の生体内では合成できないため、必須脂肪酸として知られており、脳・網膜の働きを保つのに必須である。ω-3系脂肪酸を多く含む食材は一部の植物油や魚油に限られるため、意識して摂取する必要がある。また、ω-3系脂肪酸のα-リノレン酸は、動脈硬化予防効果を有するエイコサペンタエン酸(EPA)や認知症予防効果を有するドコサヘキサエン酸(DHA)へ変換されることもあり、世界各国で摂取目安量が決められ、積極的に摂取することが求められている。新興国を中心にω-3系脂肪酸の需要が急増して世界市場規模は拡大しているが、ω-3系脂肪酸の原料である魚油は、乱獲により供給量が減少し続けており、需要を賄うだけの供給量を将来確保できない可能性がある。海外では、微細藻類による商業生産が行われ始めているが、生産効率が悪く、価格が魚油由来に比べ数倍と割高であり、市場に十分供給できるものではない。このような状況を考慮して、我々は、細胞内に乾燥菌体重量の70%以上の油脂を高蓄積できる潜在能力の高い油脂酵母*Lipomyces starkeyi*に注目し、ω-3系脂肪酸高含有油脂を生産できる新規な油脂酵母の構築を目指している。

#### 結果・成果

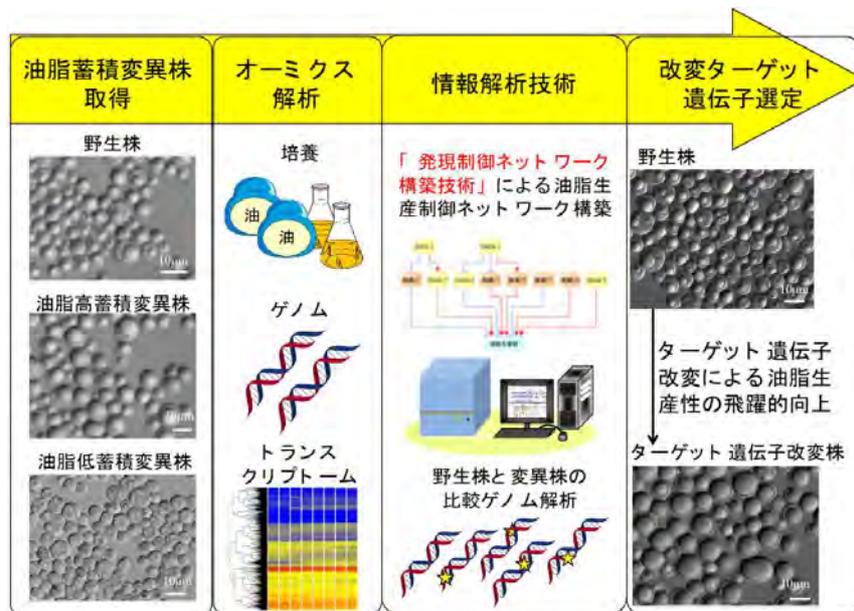
##### ①脂肪酸組成の改変（ω-3系脂肪酸含有率の向上）

ゲノム解析等から油脂酵母*L. starkeyi*はω-3系脂肪酸としてα-リノレン酸までしか合成できない。我々はEPA等のα-リノレン酸よりも不飽和度の高いω-3系多価不飽和脂肪酸を油脂酵母で合成させるため、スマートセル基盤技術の「文献等からの知識の抽出・学習技術」及び「長鎖DNA合成技術」を活用して、ω-3系多価不飽和脂肪酸合成経路の導入、続いてω-3系脂肪酸含有率を向上させるための酵素選択・改変を行い、油脂酵母*L. starkeyi*でω-3系多価不飽和脂肪酸の生産を可能にし、その含有率を向上させた。



②油脂生産性の向上（油脂量、対糖油脂収率の向上）

油脂生産性の向上においては、油脂蓄積変異株を取得し<sup>1,2)</sup>、オーミクス解析（「高精度メタボローム解析技術」、「定量ターゲットプロテオーム解析技術」）を行うことで得られたデータを活用したスマートセル基盤技術の「発現制御ネットワーク構築技術」で油脂生産ネットワークを構築し、油脂生産を制御する新規因子を見いだした。また、その因子の活用により油脂生産性を約2倍向上させることに成功した。また、野生株と油脂蓄積変異株の比較ゲノム解析により原因遺伝子を同定した結果、上記とは異なる油脂生産を制御する新規因子を見だし、その因子の活用により油脂生産性を約4倍向上させることに成功した。



この研究で得られたデータ

プロジェクト（ω-3系多価不飽和脂肪酸含有油脂の生産性向上による有効性検証）  
 - NITE生物資源データプラットフォーム(DBRP) から提供（制限公開データを含みます）

参考文献

1) H. Yamazaki H, S. Kobayashi, S. Ebina, S. Abe, S. Ara, Y. Shida, W. Ogasawara, K. Yaoi, H. Araki, H. Takaku : Highly selective isolation and characterization of *Lipomyces starkeyi* mutants with increased production of triacylglycerol, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 103 (15), 6297-6308 (2019)

関連特許

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

## 技術活用事例 Application Examples

THEME

# 代謝経路や酵素の設計、メタボローム解析に基づく大腸菌でのアルカロイド高生産

## 使用した技術

[代謝経路設計技術](#)、[文献等からの知識の抽出・学習（機械学習を活用した酵素提案](#)・[スマートセル設計支援知識ベース](#)）、[高精度メタボローム解析技術](#)

### 実施機関

神戸大学、石川県立大学

### 研究開発のゴール

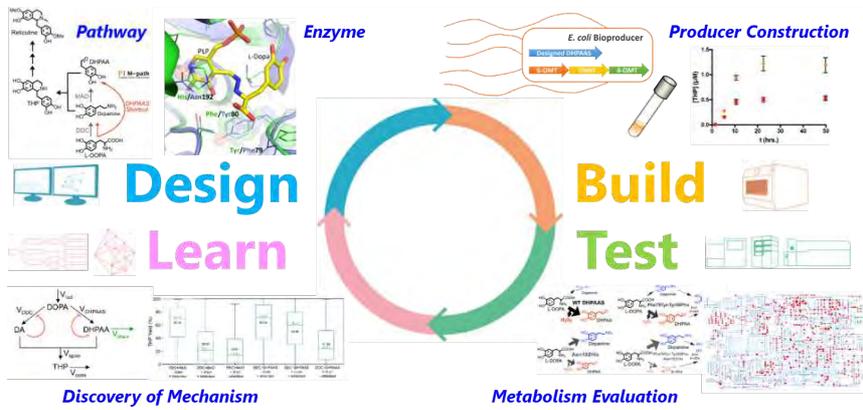
微生物を利用して植物由来天然物であるベンジルイソキノリンアルカロイド類（BIAs）を高生産する。

### 目的

植物由来天然物であるBIAsには、オピオイド系鎮痛剤をはじめ医薬品原料として重要な化合物が多く含まれる。従来、商用製品は植物からの抽出により得られてきたが、効率面やコスト面での課題があった。近年、大腸菌や酵母での生産研究が報告されているものの、生産量が低く実用化に向けては生産性の向上が求められていた。そこで、バイオインフォマティクスと合成生物学を組合せて形成するDBTL（Design-Build-Test-Learn）ワークフローを用いて、BIAs生合成のボトルネックを解消する。

### 結果・成果

これまでの研究から、BIAsの前駆体化合物テトラヒドロパペルロリン（THP）を細胞内で生成させる酵素の活性が弱いことがわかっており、このボトルネックの解消が鍵となっていた。高機能な有用物質を大量に生産させるスマートセルを構築するためには、生産量や収率を高める代謝経路を設計し、設計を具現化するための遺伝子を宿主微生物細胞に導入する必要がある。そこで、荒木博士が開発したバイオインフォマティクス技術による代謝設計ツール「M-path」を用いて、従来のボトルネックとなる代謝経路をショートカットするとともにBIAsの生産性向上に寄与する新規の代謝経路を設計した。さらに、新規ショートカット経路を構成する酵素を自然界から探索し、構造シミュレーションを活用してアミノ酸配列を改変することで、新規経路だけでなく従来経路もバランスよく併せ持つ酵素の作出に成功した。こうして設計した代謝経路と酵素に関連する遺伝子を大腸菌に導入して検証試験を行ったところ、菌内でも両方の代謝経路が効率よく機能し、BIA生合成の代謝中間体であるTHPの生産量を2倍以上増大させることに成功した。さらに、生産菌のメタボローム解析を行った結果、生産性のさらなる向上につながる代謝ルールを見出した。このルールに基づいて培養条件の検討を行ったところ、BIAsの一種であるレチクリン生産量を7倍以上増大させることに成功した。微生物発酵法によるBIA生産の実現に一歩近づいた。



## この研究で得られたデータ

プロジェクト（微生物を用いたアルカロイド等の新規生産法の有効性検証）

－ NITE生物資源データプラットフォーム(DBRP) から提供（制限公開データを含みます）

## 参考文献

Vavricka, C.J., Yoshida, T., Kuriya, Y., Takahashi, S., Ogawa, T., Ono, F., Agari, K., Kiyota, H., Li, J., Ishii, J., Tsuge, K., Minami, H., Araki, M.\*, Hasunuma, T.\*, Kondo, A.: Mechanism-based tuning of insect 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde synthase for synthetic bioproduction of benzyloisoquinoline alkaloids, *Nature Communications*, 10, 2015(2019)

最終更新日：2022年11月14日 12:37

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#)

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

© Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## 希少アミノ酸エルゴチオネイン高生産スマートセルの開発

### 使用した技術

[代謝経路設計技術](#)、[高精度メタボローム解析](#)、[HTPトランスクリプトーム解析技術](#)、[酵素改変設計技術](#)、[導入遺伝子配列設計技術](#)、[HTP微生物構築・評価技術](#)、[輸送体探索技術](#)

#### 実施機関

長瀬産業(株)、(国研)理化学研究所、神戸大学、(国研)産業技術総合研究所、奈良先端科学技術大学院大学、東北大学

#### 研究開発のゴール

エルゴチオネイン（EGT）は、キノコなどに微量含まれる抗酸化能に優れた天然アミノ酸であり、食品、化粧品、医薬品などの幅広い分野での利用が期待されている。既存の抽出法や有機合成法は、コストや環境負荷が高く、EGT普及の課題となっている。安価かつ高純度なEGTを提供可能なバイオプロセスを確立し、市場への普及を目指す。

#### 目的

EGTはキノコなどに微量含まれる抗酸化能に優れた天然アミノ酸で、食品、化粧品、医薬品等の幅広い分野での利用が期待されている<sup>1)</sup>。加齢研究の第一人者であるカリフォルニア大学バークレー校のBruce Ames名誉教授は「EGTは『長寿ビタミン』と呼ばれる化合物群の1つであり、長期的な健康には必要で食事から摂取しなければならないため、ビタミンの新しいグループとして位置付けよう」と提案している<sup>2)</sup>。最近の研究で、EGTは活性酸素種を消去し、加齢によって起こるしわや、虚弱体質、認知機能低下などの発現を遅らせる可能性があることが示されている。また、体内EGTレベルの低下と、軽度認知障害、パーキンソン病、白内障、心血管疾患との間には相関性があることも示されている。

EGTはキノコなどの一部の微生物によってのみ作られる。一方、2005年に、ヒトの体には脳、皮膚、目、肝臓といった酸化的ストレスや炎症の影響を受けやすい組織や細胞が、EGTを取り込んで蓄積する機構（輸送体）が発見された<sup>3)</sup>。この輸送体の発見と上記の機能性の解明により、近年EGTの利用への期待が高まっている。

既存のEGTの製法としては、天然物からの抽出法、化学合成法などが知られている。しかし、抽出法では天然物中のEGTが微量であること、化学合成法では環境負荷が大きいことなどから安価で環境にやさしい製造方法が確立されておらず、EGTの普及の課題となっている。こうした背景から、ナガセR&Dセンターでは、2015年より微生物を用いた発酵法でEGTを安定供給できる環境配慮型バイオ生産プロセスの開発を開始した。



図1. 本研究開発の目的

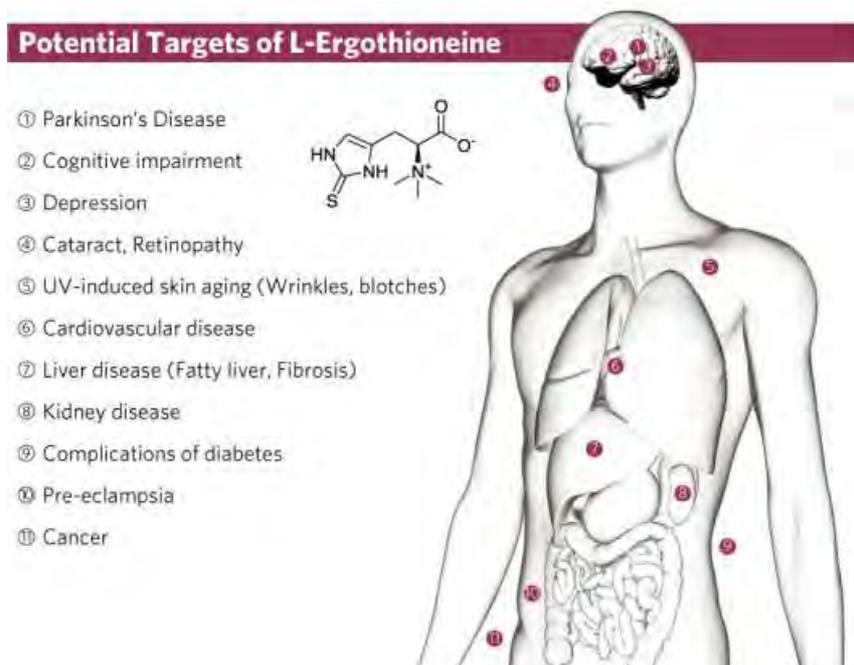


図2. エルゴチオネインに期待される領域

## 結果・成果

2016年度からは、NEDOのスマートセルプロジェクトに参画し「代謝経路設計技術」、「高精度メタボローム解析技術」、「HTPトランスクリプトーム解析技術」、「酵素改変設計技術」、「導入遺伝子配列設計技術」、「HTP微生物構築・評価技術」、「輸送体探索技術」という6種類のスマートセル基盤技術を活用し、微生物細胞のEGT生産能力向上を目指してきた。これまでに、各スマートセル技術の活用により細胞内の生産反応の最適化に成功したことで、研究開始時の約1,000倍と飛躍的な生産性の向上を実現した。

現在は、開発した生産菌株を活用した培養プロセスのスケールアップを進め、さらにこれまで当社で独自に開発してきた高度精製技術と組み合わせることで、安価かつ高純度なEGTを提供可能なバイオプロセスの早期の完成を目指している。

## Build

HTP微生物構築技術  
(奈良先端大・神戸大)  
輸送体探索技術  
(東北大)

## Design

代謝経路設計技術  
(理研)  
酵素改変設計技術  
(産総研)  
導入遺伝子配列設計技術  
(産総研)



## Test

高精度メタボローム解析技術  
(神戸大)  
HTPトランスクリプトーム解析技術  
(産総研)  
HTP微生物評価技術  
(神戸大・東北大・長瀬産業)

## Learn

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

図3.本研究開発の流れ

## 参考文献

- 1) I. K. Cheah: Ergothioneine; antioxidant poteital, physiological function and role in disease, Biochimica et Biophysica Acta, 1822, 784-793(2012)
- 2) B. N. Ames: Prolonging healthy aging: longevity vitamins and proteins, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 115, 10836-10844(2018)
- 3) D. Grundemann et al.: Discovery of the ergothioneine transporter, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 102, 5256-5261(2005)

最終更新日：2022年11月14日 12:48

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## 技術活用事例 Application Examples

THEME

# 植物由来の高機能プラスチックーポリアミド原料の発酵生産技術開発ー

## 使用した技術

[代謝経路設計技術](#)、[酵素改変設計技術](#)、[導入遺伝子配列設計技術](#)、[発現制御ネットワーク構築技術](#)

### 実施機関

東レ(株)、(国研)産業技術総合研究所、(国研)理化学研究所

### 研究開発のゴール

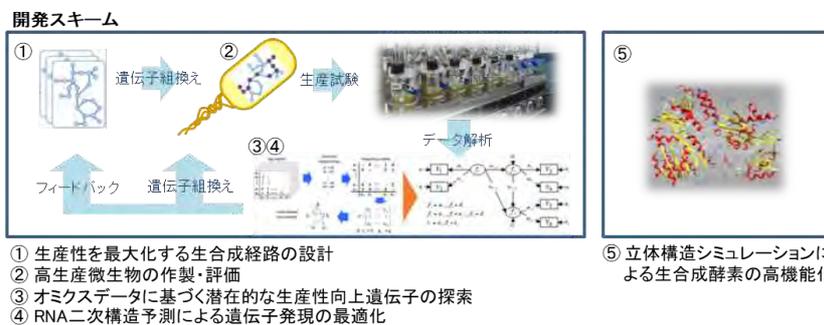
既存の高機能プラスチック（ポリアミド）原料を植物バイオマスから微生物発酵により高生産する技術を開発し、既存品と置き換えることでプラスチック製造におけるカーボンリサイクルを実現する。

### 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する。目指す植物由来ポリアミドは、既存品と同じ物理特性であり任意にブレンド可能であるため、用途展開および市場拡大が容易であることが大きな特長である。

このようなポリアミド原料の微生物生産は、世界的に研究開発がなされているが実用化には至っておらず、天然に通常存在しない化合物を大量生産する微生物の創出が課題である。本課題は、世界初となる本ポリアミド原料生産の実用化に向けてスマートセル基盤技術を活用し、微生物の生産性を短期間で大幅に向上させることを目的とする。

### 結果・成果



①生産性を最大化する生合成経路の設計

②高生産微生物の作成・評価

ポリアミド原料の生合成経路の最適化を目的として、代謝予測（基盤技術）と実験検証に基づく株の遺伝子改変に取り組み、生産性を3.2倍に向上させることに成功した。

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

種々の生産株および培養条件下での培養試験で取得したトータルRNAをRNA-seqに供し、得られた遺伝子発現データを元に発

現制御ネットワーク推定（基盤技術）を実施した。そこで見いだされた、ポリアミド原料の生産性向上に寄与すると推定される5遺伝子の評価を行った結果、生産性が向上した3遺伝子の取得に成功した(最大1.3倍向上)。

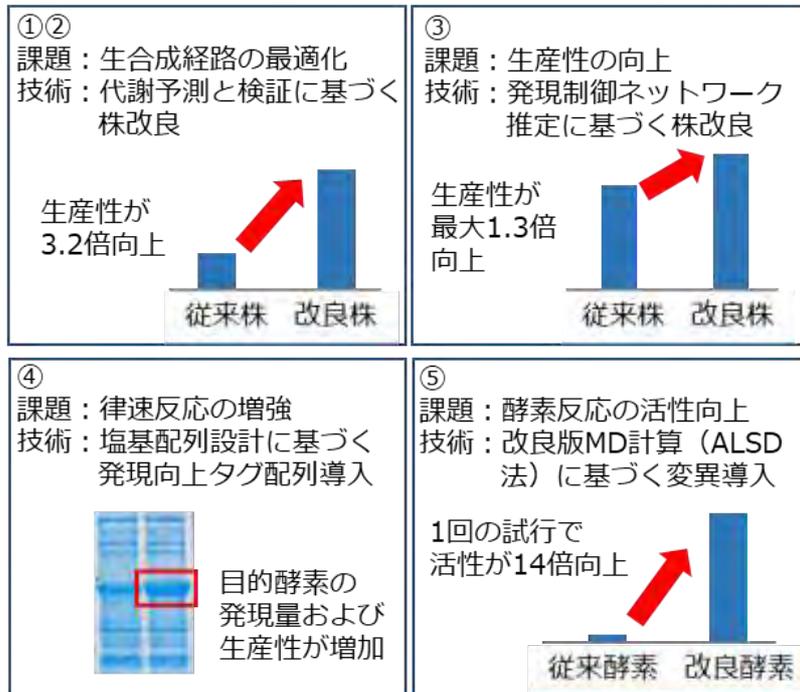
#### ④RNA二次構造予測による遺伝子発現の最適化

ポリアミド原料の生合成において律速となっている酵素の発現量向上を目的として、mRNAの二次構造予測に基づく塩基配列設計（基盤技術）を実施した。目的酵素遺伝子のORF上流に翻訳を促進するタグ配列を付加することで、発現量および生産性を向上させることに成功した。

#### 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

生合成酵素の活性向上を目的として、酵素の立体構造に基づく改変に取り組んだ。改良されたMD計算方法であるALSD法（基盤技術）を用いて目的活性の向上に寄与するアミノ酸残基を推定した。最も評価スコアが高かったアミノ酸残基を他の19種類のアミノ酸残基に置換した変異体を作成・評価した結果、1回のMD計算試行で活性が14倍に向上した変異体の取得に成功した。

### 【成果】



### 関連特許

出願準備中

最終更新日：2022年11月14日 12:43

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#)

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## 技術活用事例 Application Examples

THEME

# 微生物を用いたパプリカ由来カロテノイドの新規生産法

## 使用した技術

文献等からの知識抽出・学習技術（機械学習を活用した酵素提案）

### 実施機関

江崎グリコ(株)、(国研)産業技術総合研究所、京都大学、石川県立大学

### 研究開発のゴール

パプリカ由来の希少カロテノイドを高効率に生産できる微生物を開発する。

### 目的

食品用色素には天然色素と合成色素が存在するが、近年、天然色素のニーズが急激に上昇している。現在、天然色素の原料となる植物の調達に関しては、その大半を中国に依存しているのが現状である。原料を植物に頼らず微生物において色素生産が実現できれば、原料調達の問題が回避でき、日本企業が世界をリードできると考えられる。一方、カロテノイド色素は、可視光、紫外線の吸収機能、活性酸素の消去機能、完全な共役電子系、などの特徴を有する機能材料であり、色素としての利用以外に、生理機能素材としての健康食品、化粧品への利用が世界的に進むと考えられている。

本研究では、パプリカ由来希少カロテノイドの微生物生産実現のため、「カロテノイド代謝工学」（ウエット技術）と「機械学習情報解析」（ドライ技術）を組み合わせ、実用的なカロテノイド生産系を構築する。

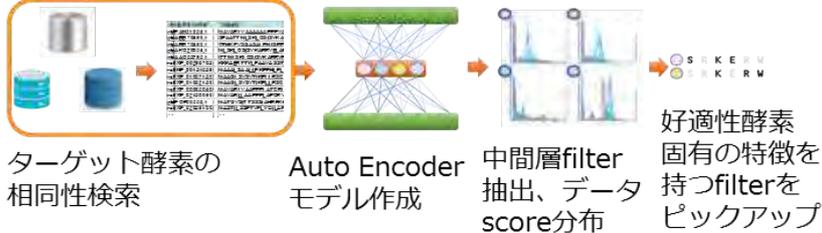
### 結果・成果

①カロテノイドB産生微生物の構築、改良（含有率の向上）



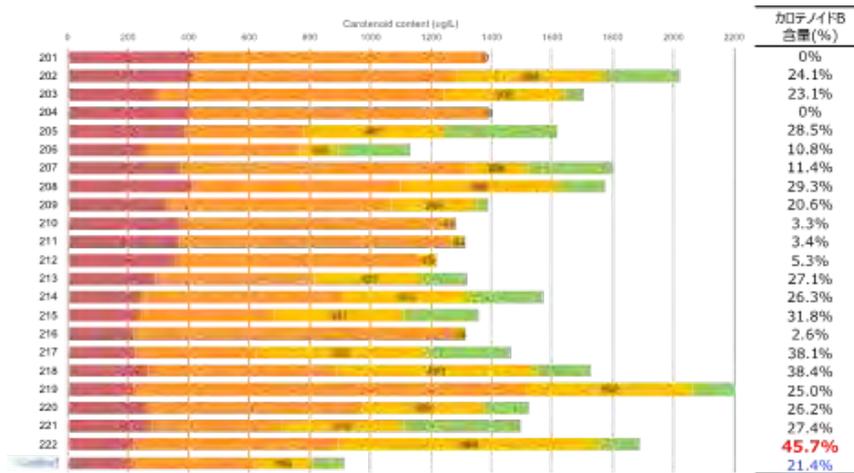
機械学習情報解析の結果提供された約7,000種類の候補遺伝子から系統樹分析も併用して候補遺伝子を絞り込み、約200種類の候補遺伝子をそれぞれ大腸菌に実装し、カロテノイドBの生産割合を測定した。その結果、カロテノイドBの生産割合を当初の21.4%から45.7%に上昇した大腸菌株を構築することができた。

「文献等からの知識技術・学習技術」を活用



②カロテノイド生産性の向上

①で構築したカロテノイドB高生産大腸菌株のミニジャーにおける培養諸条件を検討した（温度、通気量、攪拌速度、誘導剤添加量、添加タイミング等）。さらに、グルコースを唯一の炭素源とする流加培養を行い、菌体増殖フェーズと物質生産フェーズの制御を行ったところ最大で大腸菌培養液当たり、20.1mg/Lのカロテノイド生産性を示した。



この研究で得られたデータ

プロジェクト（微生物を用いたパブリカ由来カロテノイドの新規生産法の有効性検証）  
 - NITE生物資源データプラットフォーム(DBRP) から提供（制限公開データを含みます）

参考文献

1) Takemura, M. *et al.*: Pathway engineering for efficient biosynthesis of violaxanthin in *Escherichia coli*, *Appl Microbiol and Biotechnol*, 103(23-24), 9393~9399(2019)  
 2) Araki, M. *et al.*: Exploration and evaluation of machine learning-based models for predicting enzymatic reactions, *J. Chem. Inf. Model.*, 60(3), 1833~1843 (2020)

最終更新日：2022年11月14日 12:39

プロジェクト主旨 | プロジェクト概要 | 技術紹介 | 技術活用事例 | 個別技術紹介

一般財団法人バイオインダストリー協会  
 〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

新着情報

FAQ

ご相談窓口

スマートセルプロジェクトとは

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## 技術活用事例 Application Examples

THEME

### 酵素設計技術を活用した化成品製造法の開発

#### 使用した技術

酵素改変設計技術

##### 実施機関

天野エンザイム(株)、(国研)産業技術総合研究所、京都大学

##### 研究開発のゴール

化学物質の製造において、環境に対する負荷が小さくなるように設計、製造することはグリーンケミストリーと呼ばれて注目を集めている。近年、環境意識の高まり、SDGsへの関心、また各国政府の規制強化により、化成品製造への酵素利用が急速に進んでいる。グリーンケミストリー実現のために、産業的に有用な工業用酵素を開発して環境負荷の少ないプロセス開発を目指している。

##### 目的

酵素は金属触媒などと比べて環境負荷が少ない天然型触媒であり、バイオプロセスによる物質生産への転換には必須な技術要素である。しかし、必ずしも工業プロセスに最適ではなく、反応プロセスによっては目的物質が十分に得られない場合がある。そのため、酵素改良によるプロセス改善は、グリーンケミストリー実現に重要である。

近年、理論的な酵素設計技術が急速に発展しており、特に分子動力学 (MD) 計算による酵素-基質反応のシミュレーションと、それを利用した酵素設計技術は大きな注目を集めている。本事業では、スマートセルプロジェクトで開発された基盤技術である「MD計算とドッキングシミュレーションによる酵素設計技術」を活用して、2種類の微生物由来酵素を対象にそれぞれの改良酵素を開発した。



##### 結果・成果

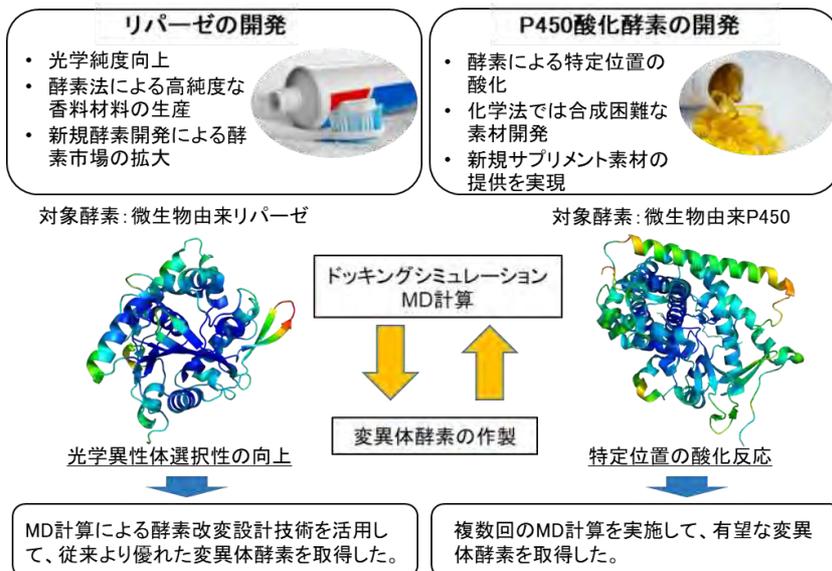
###### 対象①：微生物由来リパーゼ

メントールは、冷涼感のある香料原料として最も需要の多い素材のひとつである。現状、微生物由来リパーゼを触媒とするメントール製造法では、最終製品中L-メントールの光学異性純度が植物由来の天然メントールより低く、高純度メントールの製造には使用できない。そこで、「MD計算とドッキングシミュレーションによる酵素設計技術」を活用して、L-メントールに対する選択性が向上した新規酵素を開発した。MD計算により酵素-基質のドッキングに関わるアミノ酸を予測して、変異体を設計した。実際に変異体酵素を評価した結果、既存酵素よりも優れた光学異性体選択性を持つ新規酵素を迅速かつ効率的に開発した。

###### 対象②：微生物由来P450酸化酵素

ω3系高度不飽和脂肪酸 (ω3系脂肪酸) は魚油に多く含まれる機能性脂肪酸であり、抗炎症作用、動脈硬化の予防、認知症予防などの健康増進作用が知られている。近年、ω3系脂肪酸の生体内代謝に関する研究が進み、位置特異的に酸化された誘導体が生理機能に重要であると報告されている。そこで、微生物由来P450酸化酵素を利用して、ω3系脂肪酸を位置特異的に酸化する酵素

を開発した。「MD計算とドッキングシミュレーションによる酵素設計技術」を活用して、MD計算による変異設計と変異体のラゴ評価を行った。その結果、 $\omega$ 3系脂肪酸に対する酸化位置特異性が大幅に向上した新規酵素を開発した。



## 今後の展望

### ①微生物由来リパーゼ

アプリケーションに適した固定化酵素の開発、製造、販売を進める。新開発酵素を利用して、環境負荷が少ない高品質メントールの製造法を提案していく。

### ②微生物由来P450酸化酵素

化学プロセスでは難しい位置特異的な酸化反応を実現できる酵素を開発した。今後、産業実用化を目指して、さらなる酵素の改良、工業プロセスの開発を進める。 $\omega$ 3系脂肪酸誘導体の開発で健康長寿社会の実現に貢献する。

最終更新日：2022年11月14日 12:44

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#)

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## 技術活用事例 Application Examples

THEME

# 体外診断用医薬品酵素生産 コレステロールエステラーゼ生産スマートセルの開発

## 使用した技術

発現制御ネットワーク構築技術

### 実施機関

旭化成ファーマ(株)、(国研)産業技術総合研究所

### 研究開発のゴール

コレステロールエステラーゼの生産能力を上げたバークホルデリア・スタビリススマートセルを構築する。

### 目的

病院での診察や健康診断では、健康状態のチェックや体調不良の原因を調べる検査、さらに治療効果を確認するといった用途で多くの体外診断用医薬品が使用されている。例えば血中コレステロールを測定する体外診断用医薬品では、コレステロールエステラーゼという酵素を用いて体内のコレステロール濃度を測定するのが一般的である。

コレステロールエステラーゼは、微生物のバークホルデリア・スタビリス (*Burkholderia stabilis*) などから菌体外に分泌・生産されることが知られているが、この野生株におけるコレステロールエステラーゼの分泌は複雑に制御されていることから、従来法に基づいた大腸菌を宿主とした遺伝子組換え技術による高生産化は困難で、野生株を育種する古典的な方法での高生産化が試みられてきたのが実情である。しかしそのような育種法を用いてもその生産量は野生株の約2.8倍までしか上昇させることができなかったため、育種法に比べ、より国際競争力があり低コストで高い生産効率が見込まれる新たな技術の開発が求められている。

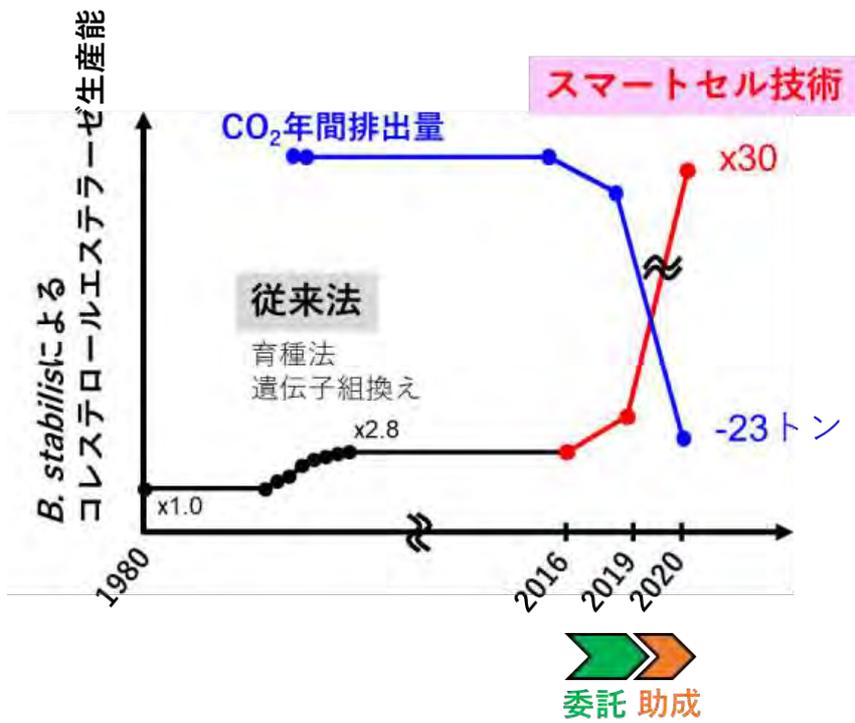
### 結果・成果

まずバークホルデリア・スタビリス野生株の全ゲノム解読を行い、ゲノム上にコードされている遺伝子を特定した。その結果、野生株は三つの環状染色体を持ち、それらの染色体に6,764個の遺伝子がコードされていることを発見した。次に、複数の条件で培養した菌体からRNAを抽出し、次世代ゲノムシーケンス解析により各遺伝子の転写量を算出し、得られた各遺伝子の転写量情報を基に、培養条件や培養液組成の変化に影響されず、構成的に遺伝子を強く発現制御するプロモーター候補を九つ選定し、各候補の配列が発現量の異なるプロモーターとして機能することを発見した。

次に、スマートセル技術を用いた宿主の改良に取り組み、コレステロールエステラーゼの生産能力向上に寄与する、従来は機能が不明であった特異的な遺伝子を見出すことに成功した。

構築した新規プロモーターを利用した発現技術と構築した改変型宿主を組み合わせることにより、コレステロールエステラーゼの分泌生産量が野生株の30倍以上に向上することを発見し、従来の育種法では解決できなかった高生産型スマートセルの構築に成功した。

これにより年間に使用する培養量と製造回数を削減しても従来と同量のコレステロールエステラーゼ生産が可能となり、結果として生産工程における電力消費量をCO<sub>2</sub>排出量で換算すると年間約23トンの削減効果（従来比約96%削減）が期待できる。このスマートセルで生産したコレステロールエステラーゼを早期に事業化し、高機能な化学品や医薬品原料などを生産する「スマートセルインダストリー」の実現を目指す。



#### この研究で得られたデータ

プロジェクト（コレステロールエステラーゼの生産性向上による有効性検証）

－ NITE生物資源データプラットフォーム(DBRP)から提供（制限公開データを含みます）

#### 参考文献

Konishi, K. *et al.*: Genome Announc, 5(29), e00636-17(2017)

Yoshida, K. *et al.*: Biosci Biotechnol Biochem, 83(10),1974~1984 (2019)

最終更新日：2022年11月14日 12:40

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#)

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

個別技術紹介

Individual Technology

TITLE

個別技術紹介 一覧

個別技術紹介

本プロジェクトでは、スマートセル創出に有用な様々な要素技術を開発しました。これらの要素技術を組み合わせ、DBTLワークフローのサイクルを回すことにより、目的とする有用化合物の生産性向上が期待されます。

Design

代謝経路設計技術

白井 智量  
国立研究開発法人理化学研究所

Design

酵素改変設計技術

亀田 倫史  
国立研究開発法人産業総合研究所

Design

導入遺伝子配列設計技術

亀田 倫史  
国立研究開発法人産業総合研究所

Design

タンパク質耐熱化

亀田 倫史  
国立研究開発法人産業総合研究所

Design

発現制御ネットワーク構築技術

油谷 幸代  
国立研究開発法人産業総合研究所

Build

有用DNA因子の抽出技術

寺井 悟朗  
東京大学新領域創成科学研究科

Build

シャーシ株構築技術

蓮沼 誠久  
神戸大学先端バイオ工学研究センター

Build

HTP微生物構築・評価技術

石井 純  
神戸大学先端バイオ工学研究センター

Build

長鎖DNA合成技術

柘植 謙爾  
神戸大学科学技術イノベーション研究科

Build

目的遺伝子クローン単離技術

谷内江 望  
東京大学先端科学技術研究センター

Build

輸送体探索技術

阿部 敬悦  
東北大学大学院農学研究科

Test

メタボライトセンサ構築技術

梅野 太輔  
千葉大学大学院工学研究院

Test

HTPトランスクリプトーム解析技術

三谷 恭雄  
国立研究開発法人 産業技術総合研究所

Test

高精度メタボローム解析技術

蓮沼 誠久  
神戸大学先端バイオ工学研究センター

Test

定量ターゲットプロテオーム解析技術

松田 史生  
大阪大学大学院情報科学研究科

Test

サンプル非破壊型細胞評価技術

野村 暢彦  
筑波大学 生命環境系

Learn

文献等からの知識抽出・学習技術（機械学習を活用した酵素提案）

荒木 通啓  
京都大学医学研究科

Learn

文献等からの知識抽出・学習技術（スマートセル設計支援知識ベース）

荒木 通啓  
京都大学医学研究科

最終更新日：2022年11月14日 12:40

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

## 代謝経路設計技術

白井 智量

国立研究開発法人理化学研究所



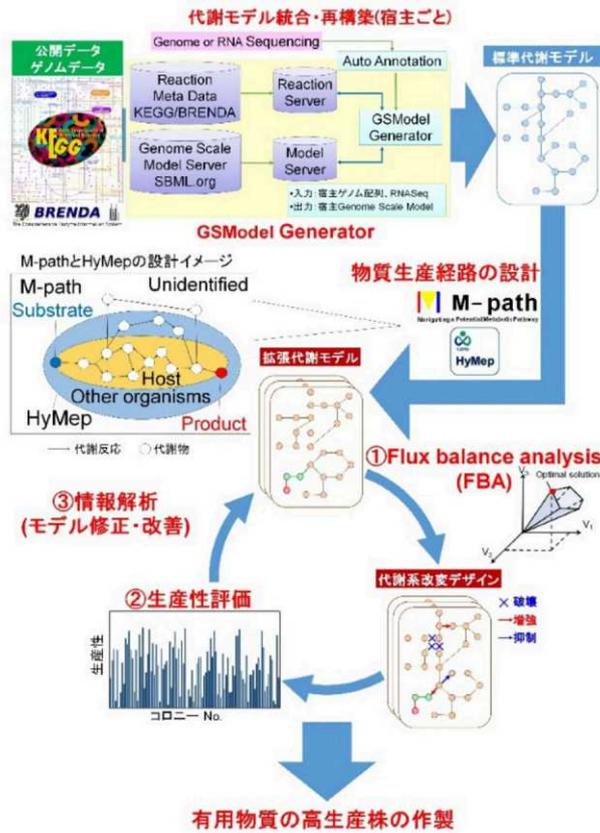
### 要旨

ゲノム情報に基づいた代謝反応モデル(Genome Scale Model : GSM)を利用した代謝設計により、有用化合物を高効率で生産する微生物の設計提案を行うことを目的としています。個々の代謝設計ツールを連携させながら、オミクスデータを導入した予測精度の高いツールの実用化に取り組んでいます。

### 研究の内容

有用化合物を微生物に生産させるとき、細胞内の炭素の流れだけでなく、エネルギーの生産・消費や酸化還元バランスをも含めた『代謝』を最適に設計する技術は必須である。なぜなら細胞内の表現型を理解し、その情報を目的の細胞の代謝設計およびその後の育種に応用できるためである。しかし、1つの細胞内で1,000以上存在する代謝反応を人間の頭だけで考えるのには限界があり、コンピュータによる計算力が必須となる。特に近年、ゲノムシーケンス技術と情報処理技術の革新によるアノテーションの迅速化により、ゲノムスケールレベルで全代謝反応をコンピュータ上に記述できるようになった。これにより、ある環境での微生物細胞の代謝の振る舞いを予測する技術が確立されている（ゲノムスケールモデル：GSM）。現在はGSMを用いた細胞の代謝設計から、実際の実験による検証までをシステムティックに行い、ハイスループットに目的化合物の生産性を向上させる研究が盛んとなっている。本プロジェクトにおいて、我々は、ゲノム情報から代謝反応を自動で作成するシステムを開発した。しかし、既存のGSMでは非天然化合物の生合成経路を予測・設計すること、宿主細胞以外が持つ代謝反応を利用した設計は困難である。

本プロジェクトでは、これらの問題を解決する技術となる代謝設計ツールを開発し、実用微生物へ技術展開している。



## 産業界などへのアピールポイント

開発した各代謝設計ツールと相互に機能化した代謝設計システムを運用し、産業界や研究機関等からのニーズに合わせた自由度の高い代謝設計システムの開発を目指しています。

目的化合物の生産に向けた代謝設計に関する有用情報の提供を目指しています。

## 参考文献

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

最終更新日：2022年11月14日 11:49

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#)

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

新着情報

FAQ

ご相談窓口

スマートセルプロジェクトとは

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

酵素改変設計技術

亀田 倫史

国立研究開発法人産業総合研究所



要旨

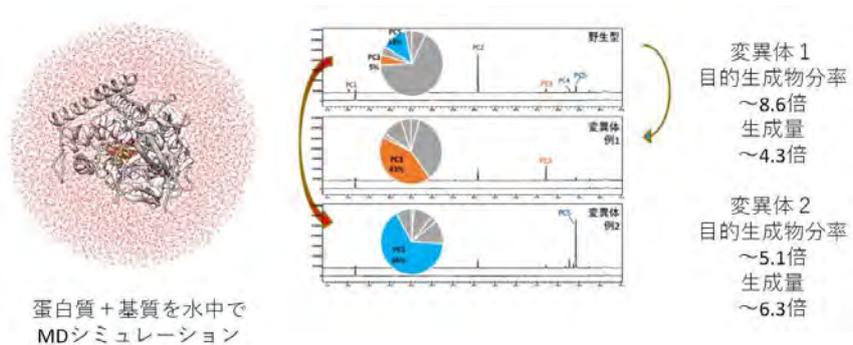
分子動力学（MD）シミュレーションを用いて酵素を分析し、高活性変異体を推定する。

研究の内容

本研究では、分子動力学（MD）シミュレーションを用いて、酵素の高活性化に取り組んだ。

シミュレーションにより、酵素・活性部位付近での基質の向き・動きを解析することにより、高活性化と思われる変異体を推定した。

本手法によって設計した変異体を用いて、反応生成物分率が最大で8.6倍、反応量は最大で6.3倍向上することを実験で確認している。



産業界などへのアピールポイント

本手法は立体構造が解かれている酵素であれば、なんでも適用することができる。

最終更新日：2022年11月14日 12:32





個別技術紹介

## Individual Technology

THEME

# MDシミュレーションによる蛋白質耐熱化

亀田 倫史

国立研究開発法人産業総合研究所

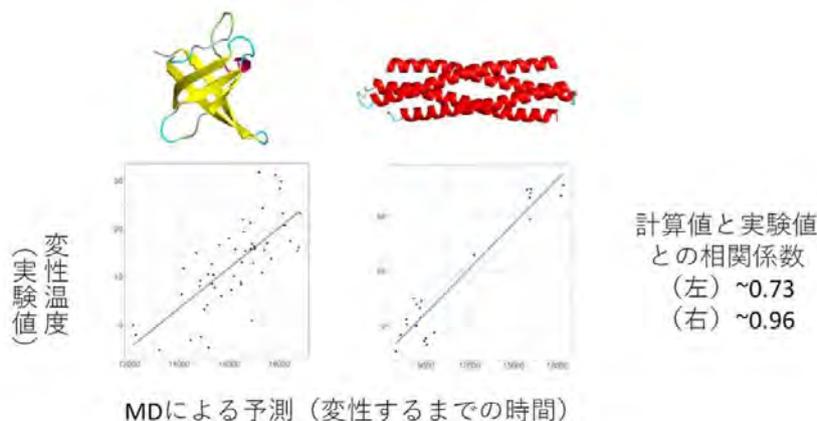


## 要旨

分子動力学（MD）シミュレーションを用いて蛋白質変異体群を分析し、その熱安定性（変性温度）を高精度で予測できることを発見した。本手法に基づき、耐熱化変異体を設計し、実際に安定性が向上することを確認した。

## 研究の内容

本研究では、分子動力学（MD）シミュレーションを用いて、蛋白質の耐熱化（熱安定性の向上）に取り組んだ。蛋白質変異体群を高温でシミュレーションし、変性するまでの時間を推定した。得られた時間は、実験により得られた変性温度とよく相関することを発見した。そこで、様々な変異体のシミュレーションを行い、耐熱性が向上すると思われる変異体を推定した。それらを熱測定実験で実際に耐熱性が向上することを確認している。



## 産業界などへのアピールポイント

本手法は立体構造が解かれている酵素であれば、なんでも適用することができる。

最終更新日：2022年11月14日 11:46

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

発現制御ネットワーク構築技術

油谷 幸代

国立研究開発法人産業総合研究所



要旨

物質生産時に微生物細胞内で起こっている現象メカニズムを理解し、それを一つの稼働システムとして制御することを目指し、遺伝子発現データから物質生産に寄与している遺伝子を選択し、それらの相互作用をネットワークモデルとして表現することで、人為的制御を行うための改変候補遺伝子を提案する。

研究の内容

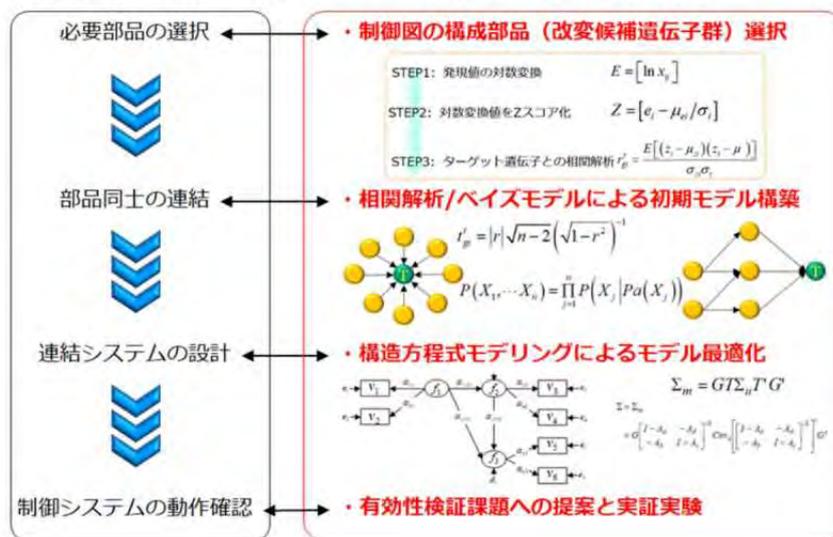
微生物による効率的物質生産を実現するためには、物質生産時に微生物細胞内で起こっている現象メカニズムを理解し、それを一つの稼働システムとして制御することが必要である。この生体細胞内における複雑な「システム」を理解し活用するためには、遺伝子の発現制御ネットワークモデルが有用である。我々は遺伝子間の制御関係をネットワークモデルとして構築することで、生体細胞内で起こっているプロセスを因果グラフとして表現し、そのプロセス工程におけるボトルネック探索や効率化に必要な改変操作ポイント探索を可能にするための技術開発を行った。

物質生産性に寄与する遺伝子群を推定技術として、本研究では統計検定、相関解析、論理演算を組み合わせることでより高精度に物質生産関連遺伝子群を抽出できるフローを開発した。

制御システムの部品として、候補遺伝子が選択されたのち、遺伝子間の制御関係をネットワークモデル化を実施している。先に選択されたターゲット物質の生産量と相関している可能性が高い遺伝子群の中から、物質生産プロセスにおいてターゲット物質生産量を調節する制御因子となりうる遺伝子をネットワークモデルによって明らかにしている。本研究では、ベイジアンネットワーク<sup>1)</sup>と、産総研で開発してきた構造方程式モデル<sup>2), 3)</sup>を組み合わせることで、より高精度なネットワーク構造推定を行っている。

一般的な制御システム設計フロー

宿主細胞制御システム設計フロー



産業界などへのアピールポイント

これまでに、従来型育種では探索できなかった改変候補遺伝子を数多く提案し、2~10倍程度の生産量増加に成功していることから、本技術は高生産性微生物創製に資する技術と言える。さらに、本技術は遺伝子発現データのみならず、数値データであればどのようなデータにでも適用可能な技術であり、その適用範囲は広い。微生物による物質生産のみならず、ブラックボックスとなっているある種のシステムを制御する必要がある場合には適用可能な技術である。

## 参考文献

- 1) N. Friedman *et al.* : J. Comput. Biol., 7(3-4), 601-620 (2000)
- 2) S. Aburatani : Gene Reg. Sys. Biol., 5, 75-88 (2011)
- 3) S. Aburatani and H. Toh : Encyclopedia of Information Science and Technology, 3rd Edition, pp.458-478, IGI Global (2015)

最終更新日：2022年11月14日 11:46

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

有用DNA因子の抽出技術

寺井 悟朗

東京大学新領域創成科学研究科



要旨

多種多様な長鎖DNAを一度にまとめて合成する技術を、長鎖DNAのコンビナトリアルライブラリ技術と呼ぶ。我々はこの技術により得られたデータを利用して、効率よくDBTLサイクルを回すための技術開発を行っている。

研究の内容

スマートセルの構築に必要な遺伝子回路の設計は、必要な遺伝子のセットを揃えるばかりでなく、遺伝子が協調的に働くように各遺伝子の発現量を調整することが必要となる。新規代謝経路の構築では、10個以上の遺伝子を必要とする場合もあり、発現量を調節すべき箇所（パラメーター）が非常に多い。従来はパラメーターの調整に年オーダーの時間を要しており、その効率化が課題であった。我々はOGAB法<sup>1)</sup>を基礎とする長鎖DNAのコンビナトリアルライブラリ技術を利用して、この課題を解決する方法の開発に取り組んでいる。例えば、長鎖DNA上のある位置にA、A'、A''という発現量や活性が少しずつ異なる遺伝子をランダムにコードしたコンビナトリアル長鎖DNAライブラリを同時に合成することが出来る技術を開発した（図1）。この多様な長鎖DNAを導入した株の生産量と長鎖DNA配列から、目的物質の高生産に寄与する複数遺伝子組み合わせを抽出する。たとえば、図1(a)のようにオレンジの遺伝子Aを持っていれば他の遺伝子がどのようなものであっても高生産株になる場合は、高生産株を持つ長鎖DNAをいくつかシーケンスすれば容易にその法則を見つけることが出来る。しかしながら、図1(b)のようにオレンジの遺伝子U,W,Zのうち2つを持っていれば高生産株になる、というように複数遺伝子の組み合わせにより生産量が決まることも多い。そこで、図1(b)のような場合であっても法則を発見する方法を開発している。抽出した遺伝子組み合わせを持つ株に対して、さらに別の遺伝子セットを持つ長鎖DNAコンビナトリアルライブラリを次のDBTLサイクル<sup>※</sup>に導入することにより、目的物質の生産量がさらに高い株を発見できる可能性がある。長鎖DNAライブラリ株の作成と得られるデータの情報解析をこのように組み合わせることにより、少ないDBTLサイクル数で高生産株を作り出すことが出来ると期待される。

※)Design⇒Built⇒Test ⇒Learnのサイクル

(a) 単一の遺伝子が生産量に影響を与える例



(b) 複数遺伝子の組合せが生産量に影響を与える例



図1. 長鎖DNAコンビナトリアルライブラリの概要とその解析結果のイメージ

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、目的化合物の高生産株を効率よく得る方法の開発と実証を行っている。

## 参考文献

1) Tsuge *et al.*, Method of preparing an equimolar DNA mixture for one-step DNA assembly of over 50 fragments. *Sci Rep.* 2015 5:10655

最終更新日：2022年11月14日 11:36

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

シャーシ株構築技術

連沼 誠久

神戸大学先端バイオ工学研究センター



要旨

先進的なバイオテクノロジーと計算科学を組合せたDBTL型ワークフローを構築し、様々な有用物質を生産する微生物を超高速に構築する技術を開発した。

研究の内容

本PJではバイオベース製品の効率的生産株（微生物）群の樹立に向け、合成生物学と計算科学を組み合わせた「設計（Design）、構築（Build）、試験（Test）、学習（Learn）」からなるDBTLのワークフローの開発を目指してきた。我々はバイオ産業で求められる有用物質は共通の前駆物質（ハブ化合物）から生合成されていることに着目した。ハブ化合物の生産性が高い株（シャーシ株）の合理的設計に基づく高速育種は、有用物質生産微生物（スマートセル）の開発期間の短縮化に有効である。本研究では、スマートセルプロジェクトで開発した高速微生物育種ワークフロー（スマートセル開発ワークフロー）により従来の開発より極めて短期間（約3~4カ月）で $\alpha$ -ケトグルタル酸またはチロシン高生産性大腸菌シャーシ株を開発した。 $\alpha$ -ケトグルタル酸シャーシ株を使って、健康増進効果が知られるテアニンや $\gamma$ -アミノ酪酸（GABA）、合成樹脂の原料である6-アミノカプロン酸をそれぞれ高生産するスマートセルを作出した。またチロシンシャーシ株を使って、プラスチック等の原料である $p$ -クマル酸、オピオイド系鎮痛剤の原料であるレチクリン、栄養機能食品であるレスベラトロールをそれぞれ高生産するスマートセルを作出した。シャーシ株を使うことで、従来数年かかっていた微生物開発期間の大幅な短縮に成功した。

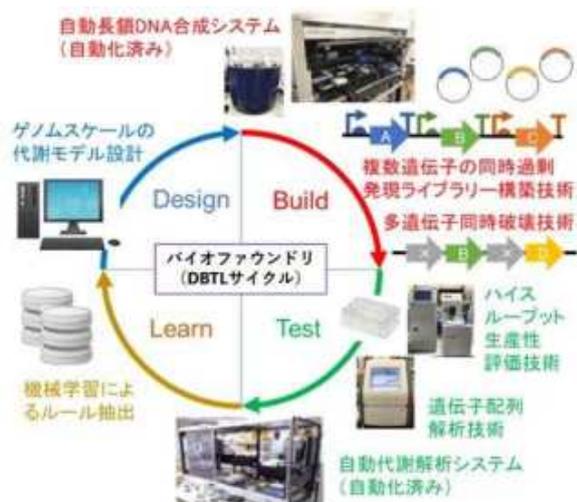


図1. スマートセル開発ワークフロー

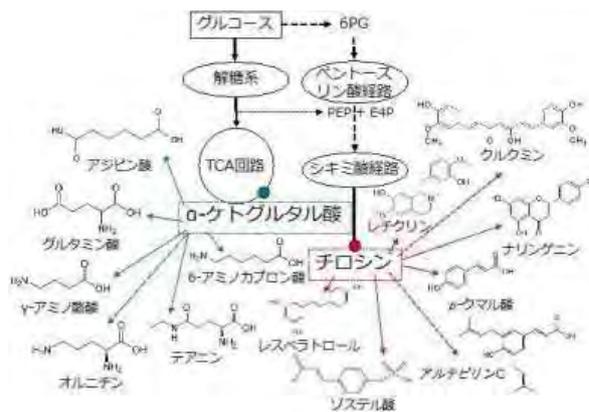


図2. 有用物質はハブ化合物を起点として生合成される

産業界などへのアピールポイント

スマートセルを開発するプラットフォームを確立しました。スマートセルPJで開発した要素技術（代謝設計技術、長鎖DNA合成技術、ハイスループット組換え技術、高速・高精度の細胞代謝物測定技術等）を統合的に利用することが可能となり、**競争優位性の確立に重要な『超高速微生物株開発』**ができるようになりました。

## 参考文献

- 1) Vavricka, C.J. *et al.*: Trends in Biotechnology, 38(1), 68-82(2019)
- 2) Vavricka, C.J. *et al.*: Nature Communications, 10(1), 2336(2019)
- 3) スマートセルインダストリー ―微生物細胞を用いた物質生産の展望―, シーエムシー出版(2018)

## 関連特許

特願2020-203335 「有用化合物を高生産する代謝改変微生物株の構築方法及び代謝改変大腸菌株」 発明者：蓮沼誠久ら、出願人：神戸大学・東京大学

最終更新日：2022年11月14日 12:42

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

HTP微生物構築・評価技術

石井 純

神戸大学先端バイオ工学研究センター



要旨

莫大な数の微生物の形質転換体（DNA導入株）をセミオートで作出して、その生産性を高速に評価するハイスループット（HTP）微生物構築・評価技術により、スマートセル開発を加速する。

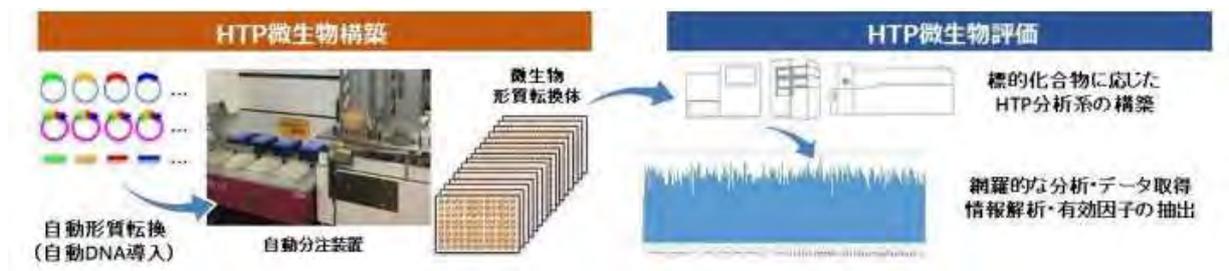
研究の内容

微生物での有用物質生産において遺伝子組換えにより様々な酵素やタンパク質を発現させることはもはや必須となりつつあるが、どの遺伝子を発現または破壊すれば生産量が大きく向上するかは、ごく一部の遺伝子を除いてまだほとんど不明である。スマートセル開発においては、目的化合物の生産量を向上できる改変ポイントとなる候補遺伝子をいかにして見出すかが鍵となり、情報解析による合理的な代謝デザインとともに、*in silico*では推定できない有効遺伝子を探索するアプローチも組み合わせることが重要である。

本研究では、物質生産の宿主として最もよく利用されている大腸菌と出芽酵母を対象に、プラスミドDNAをセミオートメーションで導入できる自動形質転換システム（HTP微生物構築技術）と、生産量を高速に評価できる標的化合物に応じた分析メソッド（HTP微生物評価技術）を開発した。本手法により、一度に数千株以上の形質転換体を作成して、目的化合物の生産量を測定することが可能となった。

本技術を用いることで、大腸菌や酵母の一遺伝子破壊株ライブラリ（約4,000~5,000株の遺伝子破壊株コレクション）に外来代謝経路遺伝子を発現するプラスミドDNAを自動で導入し、個別の形質転換体の生産性データを網羅的に取得できるようになった。これにより、*in silico*だけでは予測の難しかった有効な遺伝子破壊も見いだすことが可能となった。また、取得した網羅的な分析結果は、情報解析モデルを高度化する上でも重要なデータとなる。

本技術は、自動DNA合成技術と組み合わせることで、*in silico*によりデザインされた任意のDNA配列候補を網羅的に分析することも可能となるため、スマートセル開発のコアとなるDesign-Build-Test-Learn (DBTL) サイクルを高速に回す上で重要な役割を果たす。



産業界などへのアピールポイント

大腸菌および酵母において、数千株以上の遺伝子組換え体を一気に作出することが可能となった。標的とする化合物に対して HTP評価系を構築することができれば、作出したすべての形質転換体の生産性データを取得することができる。これにより、従来のランダムな変異育種では成し得なかった、意図的にデザインしたDNA配列について膨大な数のバリエーションを評価することが可能となった。本技術は、使い方次第で様々な有効遺伝子や組み合わせも迅速に探索できる無限の可能性を秘めた技術であ

り、学術的に意味のある遺伝子を同定できるだけでなく、産業利用においても特許化が可能な新たな有効遺伝子を探索する上でも威力を発揮する。

## 参考文献

石井純ら：「微生物を用いた物質生産とハイスループット微生物構築技術」，スマートセルインダストリー（第1編 第2章 第1節），CMC出版（2018）

石井純：「微生物での発酵生産と実験の自動化」，新型コロナで変わる時代の実験自動化・遠隔化，羊土社（2021年1月号，第39巻，第1号，8-12）

最終更新日：2022年11月14日 12:41

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

長鎖DNA合成技術

柘植 謙爾

神戸大学科学技術イノベーション研究科



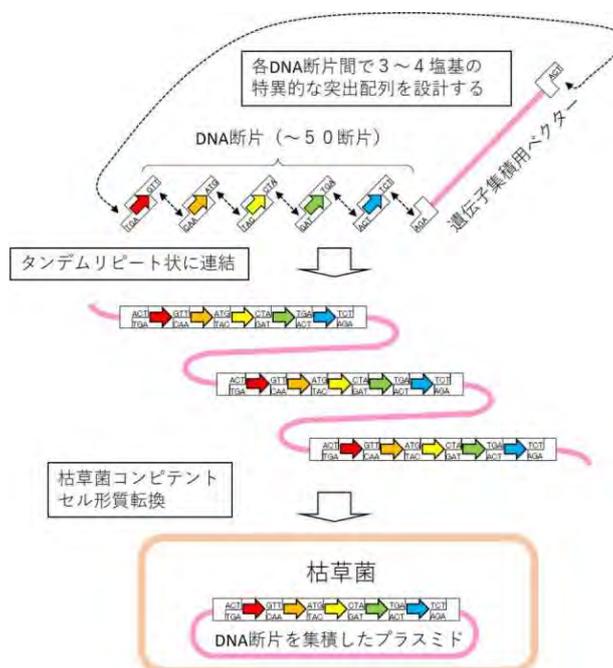
要旨

スマートセル開発においては、設計された長鎖DNA配列を持つ菌株の構築に従来数カ月を要し、高速化の障害となっていた。今回開発した一連の技術により、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った。

研究の内容

長鎖DNAを構築は、独自開発したOGAB法という遺伝子集積技術を用いた<sup>1),2)</sup>。本方法は、枯草菌のプラスミド形質転換系を利用した多重DNA断片の集積法で、DNA断片の末端に設計した3～4塩基の特異性を利用して、最大で50個を超えるDNA断片を一度の連結操作で連結する。従来は、このDNA断片の合成を受託DNA合成会社に委託していたが、50個のDNA断片を同時に発注しようとする、多くのDNA断片は問題なく合成される一方で、合成されない・できない断片が出てきて、最終的に必要なすべてのDNA断片を準備するのに2カ月という長期間を要していた。

そこで、DNA断片の調達時間を短縮するために、化学合成から構築した長鎖DNAの大量調製までの一貫工程を実施可能なトータルシステムを整備し、全体を俯瞰した技術開発を行った。個別には、日本テクノサービス（株）との共同研究により、長鎖DNAの合成に特化した、低コストでハイスループットなDNA化学合成機を開発した。また、化学合成したDNAを、相補性を利用して張り合わせて伸長するために、新規のPCR方法を開発し、どのような配列であっても3日程度で二本鎖のDNAを準備することが可能となった。これを一旦大腸菌でクローニングし、塩基配列が正しいクローンのみを選択してOGAB法の材料に用いるが、この大腸菌クローニングの工程も、液体分注ロボットによる大幅な自動化を達成した。これらの研究開発の結果、30 kb程度の長鎖DNAを、2週間程度という期間で、1塩基当たり数円のコストで、製造できるようになり、従来時間コスト、金銭コストの大幅な削減を達成した。



## 産業界などへのアピールポイント

OGAB法は、従来時間がかかっていたり、あるいは、GC含量などが高いなどの理由により合成できなかった長鎖DNAを短期間に低コストで合成することが可能です。本研究開発で得られた成果は、神戸大学発ベンチャー会社の（株）シンプロジェンでの受託長鎖DNA合成事業により事業化されました。

## 参考文献

- 1) K. Tsuge *et al.* : Nucleic Acids Res., 31, e133 (2003)
- 2) K. Tsuge *et al.* : Sci. Rep., 5, 10655 (2015)

## 関連特許

特許第4479199号 特許第6440636号

最終更新日：2022年11月14日 12:32

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

目的遺伝子クローン単離技術

谷内江望

東京大学先端科学技術研究センター

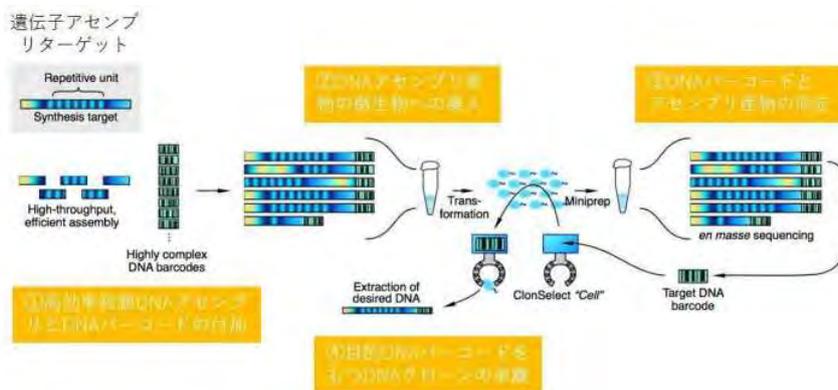


要旨

あらゆるDNAアセンブリ反応はその効率が完全でない。DNAアセンブリ反応後、ゲノム編集によって目的の反応産物をもつ微生物細胞クローンのみを選択的にラベル化し単離する技術を樹立した。

研究の内容

あらゆるDNAアセンブリ反応はその効率が完全でなく、アセンブリ反応産物を微生物細胞に導入し、クローン化とDNAシーケンシングによる評価を必要とする。したがって、反応効率の低いサンプルほど評価クローン数が増加し、このプロセスがボトルネックになる。アセンブリ反応産物に分子DNAバーコードを付加、反応産物プールを一斉に超並列シーケンシング技術で解析後、ゲノム編集によって目的の反応産物をもつ細胞をDNAバーコード依存的にラベル化し単離する選択的クローン単離技術を樹立した。これによって従来のDNAアセンブリプロセスを1000倍加速する。



産業界などへのアピールポイント

長鎖DNAの構築 (build) はDBTLサイクルの要であり、このプロセスの加速なくしては有用微生物生産プロセスのスケール化は見込めない。近年までにDNAアセンブリ後に目的のDNAアセンブリ産物を効率良く得る方法がなかったために、DNAアセンブリ自体の効率向上などが進められてきたが、様々なケースのDNAアセンブリに対して本質的にbuildプロセスを加速する方法はなかった。本技術はこれを突破する。

参考文献

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

## 関連特許

特願2019-012268

最終更新日：2022年11月14日 12:31

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

輸送体探索技術

阿部 敬悦

東北大学大学院農学研究科

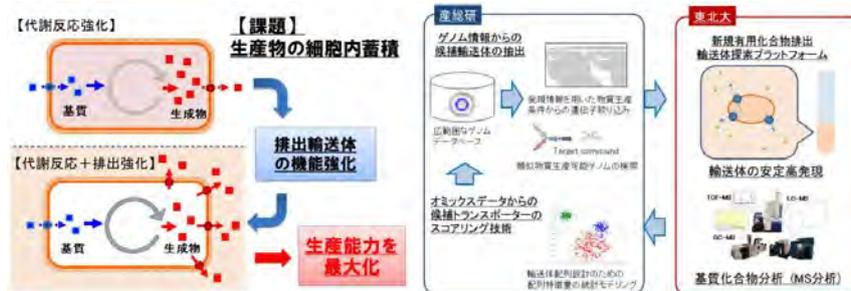


要旨

細胞内での物質変換には基質の取り込みが必要である。また、生産物は細胞外に排出されなければ、培地中に回収することができない。本技術は、物質生産の効率化に重要な化合物輸送体の探索技術である。

研究の内容

微生物等を用いて化合物を生産する場合、特に膜不透過性の化合物をターゲットとする場合は、生産物の宿主細胞外への排出は生産の効率化を左右する。仮に、生産物の細胞外への排出が滞ると、生産物が細胞内に蓄積し、負のフィードバックが起こり生成反応を阻害される。このような場合、ターゲットとする化合物を細胞外に適切に輸送する『輸送体』の細胞膜上での発現が解決策となる。本プロジェクトでは(国研)産業技術総合研究所(産総研)の有する情報解析技術と東北大学で開発された輸送体探索技術との融合により、従来の輸送体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た。



産業界などへのアピールポイント

近年のゲノム解析の進展により生物のゲノム上には、300~1,000個の輸送体をコードする遺伝子が存在する明らかにされている。一方で、多くの輸送体遺伝子の機能は未知のまま残され、ターゲットとする化合物の排出輸送体を論文情報やゲノム情報を元に調べても、対象の輸送体に辿り着かない場合が多いのが現状である。本技術は、ターゲット化合物の輸送体探索を簡略化し、物質生産の効率化を実現に向けた技術である。

参考文献

- 1) 七谷圭ら：第12章 微生物の膜輸送体探索と産業利用—輸送工学の幕開け—, スマートセルインダストリー, CMC出版 (2018)
- 2) A. Sasahara *et al.* : J. Biol. Chem., 286, 29044-29052 (2011)

関連特許

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

最終更新日：2022年11月14日 12:31

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

## メタボライトセンサ構築技術

梅野 太輔

千葉大学大学院工学研究院



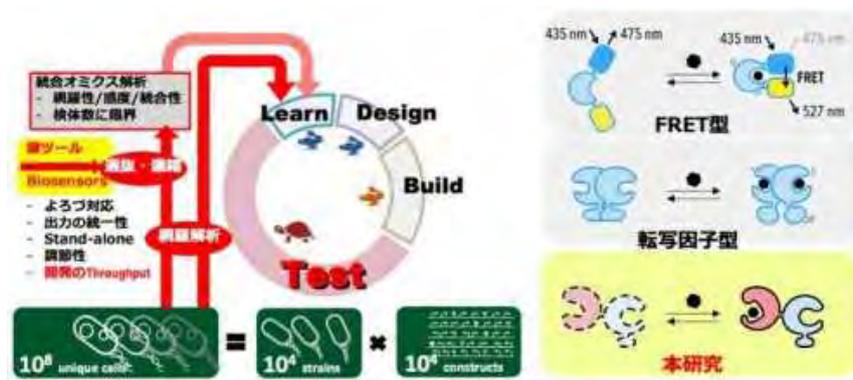
### 要旨

スマートセル開発に必要な再現性とスループットを持って、様々な代謝物に対するセンサのオンデマンド開発を行うための技術を開発する。得られたセンサを用いることによって、物質生産に適した培養条件や細胞の把握、代謝生成経路のボトルネック反応の同定を実現する。

### 研究の内容

メタボローム解析は、細胞内に存在する多様な代謝物の蓄積量を一齐に明らかにするが、検体数をかせぐのは困難である。対してバイオセンサは、少数の代謝物に限定されるが、数千~数百万の検体を同時に検出・解析できる。Design、Buildのスループットが飛躍的に高まった現在、任意の代謝物を任意の感度でみるセンサの開発・整備を整えることによって、質の高いDBTLサイクルを高速にまわすことが可能となる。メタボローム解析と併用することによって、物質生産に適した培養条件や細胞を知ることが可能になる。

バイオセンサは大別して、FRET型、転写因子型、の2つのタイプがある。いずれも標的代謝物との結合に伴う構造変化を読み出すものであり、進化工学技術を用いたとしても、その開発には時間がかかる。本研究では、構造変化の設計を要しない、開発速度の高いセンサ開発原理を採用する。そのセンサ開発の工程は、(1) 標的となる代謝物を基質とする酵素の選定、(2) 転写因子との遺伝子レベルでの融合、(3) ランダム変異の導入、(4) 機能選抜、からなる。この工程の完成によって、およそ1カ月で任意の代謝物に応答するバイオセンサを作製することが可能となった。



メタボライトセンサの作製図

### 産業界などへのアピールポイント

当該技術の開発を通して、様々な代謝物センサが高い任意性をもって開発できるようになる。その感度や出力特性のラインナップ化も可能である。様々な代謝物に対するバイオセンサを取り揃え、そしてこれらを本プロジェクトのハイスループット形質転換システムと併用することにより、DBTLサイクルのハイスループット化が可能となる。バイオセンサは細胞内の代謝物レベルをレポートするため、網羅的解析にも応用できるため、メタボローム解析と併用することによって、輸送システムを含めた細胞解析も可能とする。

## 参考文献

- 1) M. Tominaga, et al.: PLOS ONE, 10, e0120243(2015)
- 2) K. Saeki, et al.: ACS Synth. Biol., 5, 1201-10(2016)
- 3) Y. Kimura, et al.: ACS Synth. Biol., 9, 567-75 (2020)

## 関連特許

特許第5959127号  
特許第5904494号 (US9, 315, 816)  
特許第5757608号  
特願2018-057314

最終更新日：2022年11月14日 12:49

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan BioIndustry Association. All rights reserved.

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

HTPトランスクリプトーム解析技術

三谷 恭雄

国立研究開発法人 産業技術総合研究所



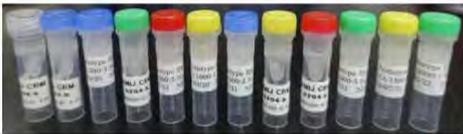
要旨

信頼性の高いトランスクリプトーム解析技術の確立のために、各種スパイクイン物質の開発を行い、まずはPJ内での検証を進めます。さらに、産業微生物への適用に向けて、各種技術開発を進めています。

研究の内容

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

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



核酸標準物質の開発

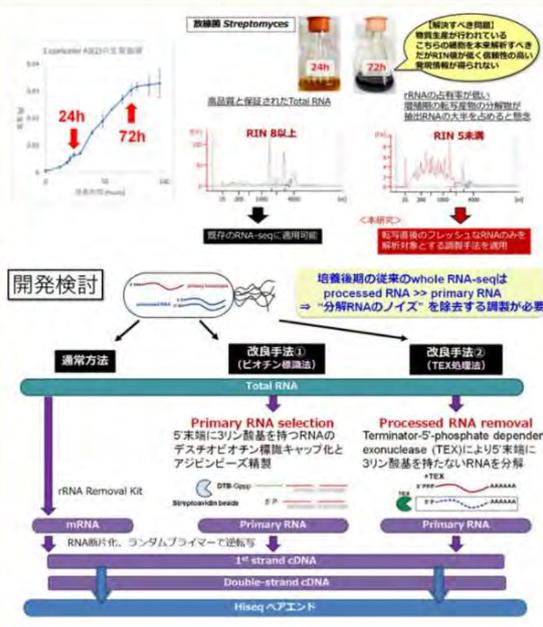
- スパイクイン用長鎖DNA標準物質の開発
- スパイクイン用RNA標準物質の開発 (GCバリエーションの拡充)

核酸標準物質の値付け

- デジタルドロップレットPCR
- 蛍光相関分光法 (一分子定量)



スパイクイン用核酸標準物質の開発と検証



開発検討

通常方法 vs 改良手法1 (ビオチン標識法) vs 改良手法2 (TEX処理法)

Primary RNA selection: 5'末端に3リン酸基を持つRNAのデスチオビオチン種間キャップ化とアジピンビーズ精製

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

1<sup>st</sup> strand cDNA, Double-strand cDNA, HiSeq ヘッドエンド

未分解RNA選択的調整技術の適用

産業界などへのアピールポイント

今日、微生物を用いた物質生産効率の向上において、RNA-Seqによるトランスクリプトーム解析は不可欠の技術要素となっています。そのため、様々なキットが入手可能となっている反面、ユーザー毎にこれらの適用可能性を確かめる必要があり、多くの場合には経験則に頼っている側面があるかと思えます。また、得られたデータについても、検体間でのきちんとした定量的な比較

ができなければ場合によっては結果が意味をなさなくなってしまう恐れがあります。こうした、疑問の解決にお役に立てる技術・ノウハウをご提供できるよう技術開発を進めております。

## 参考文献

- 1) 三谷ら, スマートセルインダストリー-微生物細胞を用いた物質生産の展望-, シーエムシー出版 (2018)
- 2) Noda, N. *et al.*, *Anal. Chem.*, 90, 10865-10871 (2018)

最終更新日: 2022年11月14日 12:30

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#)

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

高精度メタボローム解析技術

連沼 誠久

神戸大学先端バイオ工学研究センター



要旨

スマートセル開発に必要な質の高い（高再現性）メタボロームデータを超高速に提供する。ロボットによる高精度な多検体前処理と網羅性高いLC-MS分析法により、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する。細胞の物質生産能力と遺伝子改変の因果関係を明らかにする。

研究の内容

メタボローム解析は、細胞内に存在する多様な代謝物の蓄積量（プールサイズ）を一斉に明らかにする技術である。メタボロームデータには、細胞の生育環境や遺伝的背景が反映されるため、メタボローム解析を行うことで物質生産に適した培養条件や細胞を知ることが可能になる。

解析の工程は、細胞懸濁液から細胞内代謝物を抽出する前処理工程、LC-MS/MS等により代謝物の量を測定する工程、データ解析工程からなる。従来、前処理工程は人手による煩雑な作業でデータのばらつきを発生させていた。そこで、この工程を完全ロボット化し、人間の20倍以上の処理速度と熟練者を上回る再現性を実現した。

前処理後の測定については、イオンペア剤を添加しないLC-MS/MSシステムを構築してS/N比を向上させた。微生物スマートセルの設計に必要な代謝物186成分の分離・検出を可能にしている。

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



図1. メタボローム解析用自動前処理ロボット

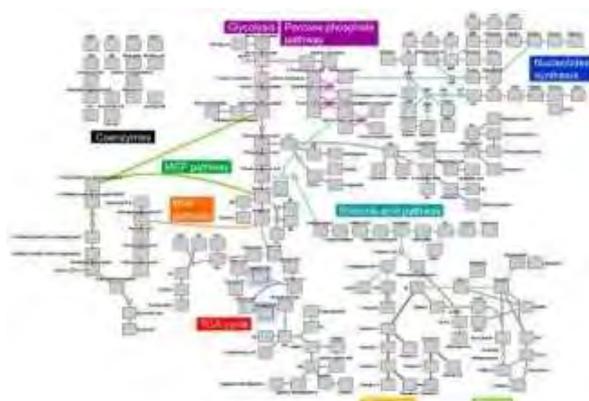


図2. スマートセル設計に必要な代謝物の代謝経路への投影例

産業界などへのアピールポイント

当該技術の開発を通して、再現性の高いメタボロームデータを大量に得ることにより、ブラックボックスだった生産と代謝の因果関係（代謝制御メカニズム）が明らかになり、解析結果を組み込んだDBTLサイクルの開発が可能になる。代謝制御メカニズム

の解明は、**画期的な生産株（スマートセル）と生産方法の知財化の際に極めて有用な情報を与える**。本手法は細胞外に分泌される代謝物の網羅的解析にも応用できるため、バイオ生産過程の生産株の評価（物質収支の算出等）においても有効である。

## 参考文献

- 1) Vavricka, C.J. *et al.*: Trends in Biotechnology, 38(1), 68-82(2019)
- 2) Hasunuma, T. *et al.*: ACS Synthetic Biology, 8(12), 2701-2709(2019)
- 3) Vavricka, C.J. *et al.*: Nature Communications, 10(1), 2336(2019)
- 4) Hasunuma, T. *et al.*: Metabolic Engineering, 48, 109-120(2018)

## 関連特許

特願2018-134171、特願2018-134174、特願2018-134169、特願2018-134177、特願2018-134179

最終更新日：2022年11月14日 12:42

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

## 定量ターゲットプロテオーム解析技術

松田 史生

大阪大学大学院情報科学研究科



### 要旨

スマートセルが発現している数十種のタンパク質の発現量を高感度に一斉定量する手法を開発した。大腸菌、出芽酵母、コリネ菌、油脂酵母などの中心代謝酵素タンパク質のMRMアッセイメソッド作成が完了した。スマートセルプロジェクトで作成したMRMアッセイメソッドをデータベース化した。

### 研究の内容

スマートセルプロジェクトでは、細胞が持つ物質生産能力を最大限に引き出すために、代謝経路の合理的な改変が求められる。代謝経路の改変では宿主微生物のゲノムを人為的に書き換え、酵素タンパク質存在量を増減させる。細胞内のタンパク質量には、転写、翻訳、タンパク質分解に関わる様々な要因が関わるため、デザイン通り酵素タンパク質量が増減できたか迅速に評価する計測手法が必要となる。そこで、トリプシン消化ペプチド混合物を液体クロマトグラフで分離し、トリプル四重極型質量分析装置の選択反応モニタリングモード (MRM) モードで分析する高精度定量ターゲットプロテオミクス法が、スマートセルの評価に最適であることに注目した。島津製作所と共同で純国産ターゲットプロテオミクス分析システムの開発を進めている (図1) サンプル前処理の出発点は、50μgのトータルタンパク質を含む100 μl程度の粗タンパク質抽出液である。これを還元アルキル化後、トリプシン消化を一晩行い、得られたトリプシン消化ペプチドは固相抽出法を用いて脱塩する。出芽酵母用の前処理法が、油脂酵母、大腸菌、コリネ菌といったさまざまな有用微生物において有効であることを確かめた。データ取得にはナノLC-MS/MS(島津製作所LCMS-8060)を利用している。一般的な20-30サンプル程度の分析プロジェクトを2日程度で終了できるスループットを実現している。

大腸菌、出芽酵母、コリネ菌、油脂酵母などの中心代謝酵素タンパク質のMRMアッセイメソッド作成が完了している。また作成したMRMアッセイメソッドをデータベース化し、必要に応じてカスタマイズできる基盤構築を進めている。

- ターゲットタンパクのトリプシン消化ペプチドをナノLC-MS/MSで定量する。
- 従来法 (二次元電気泳動) より高い**選択性、定量精度、スループット**
- 各宿主、各酵素タンパク質毎に**MRMメソッドの作成が必要**



### 産業界などへのアピールポイント

数十種のタンパク質の発現量を高感度に一斉定量することができます。

抗体の作成が必要ありません。

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

サンプル非破壊型細胞評価技術

野村 暢彦

筑波大学 生命環境系

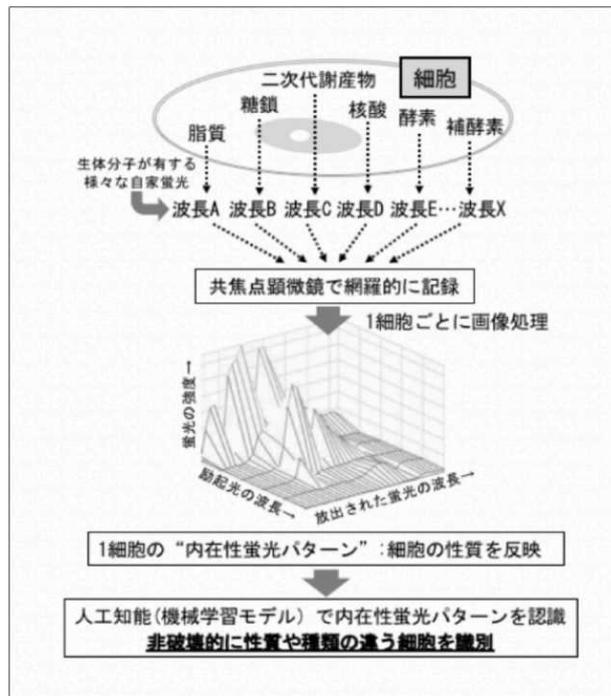


要旨

細胞の自家蛍光パターンを指標に、一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(Confocal Reflection microscopy-assisted single-cell Innate Fluorescence analysis)を開発した。

研究の内容

細胞内のタンパク質や代謝産物は様々な波長・強弱の自家蛍光を発しており、それらを総合した自家蛍光パターンは各細胞の性質を表現する「指紋」として機能する。CRIF法<sup>1)</sup>は、反射顕微鏡法で細胞の位置および形態情報を取得し<sup>2)3)</sup>、共焦点レーザー顕微鏡法により細胞の自家蛍光情報を取得する方法である。そして、一細胞ごとに画像解析を行うことで、体系的かつ総合的に各細胞の自家蛍光情報を抽出し、自家蛍光パターンとして再構築することにより、各細胞を識別する「細胞の指紋」を取得することができる。さらに、「細胞の指紋」を様々な種類の機械学習に供する事で、自家蛍光パターンに潜在する細胞ごとの特徴を反映した機械学習モデルを構築することができ、高精度で細胞種を識別したり、代謝状態を予測したりすることが可能であることがこれまでの研究から分かってきている。細胞に備わる自家蛍光を利用するため、蛍光タンパク質発現遺伝子の導入や染色といった特別な処理は必要なく、つまり生きてままのintactな細胞の性質を分析できる。従来の蛍光タンパク質標識を用いた手法などでは、特定の細胞の追跡や遺伝子発現のモニタリングに煩雑な遺伝子操作が必要であったのに対し、CRIF法では、目的の性質を持った細胞を非常にシンプルに見分けることができる可能性がある。さらに本手法は、共焦点プラットフォームを用いるため、3次元空間の解析に対応しており、3次元的な細胞集団、例えばコロニーやバイオフィームなど、を構成する細胞の性質評価も可能であり、細胞の情報を空間的な情報と結びつけることで、新たな知見の発見に貢献できることが期待できる。



## 産業界などへのアピールポイント

CRIF法では、生きたままのintactな細胞の性質を一細胞レベルで解析できるシンプルな手法であるため、微生物、植物、動物など様々な分野の細胞育種技術、幹細胞の文化誘導技術、人工細胞合成技術など、細胞の性質評価が必須の技術を効率化させる鍵となる技術になると考えられる。様々な分野の基礎研究から、再生医療などの応用研究まで幅広い分野でCRIF法を活用できるよう、多様な研究機関や企業と積極的に関わり、汎用性の高い技術としての確立を目指す。

## 参考文献

- 1) 特許6422616:データ作成方法及びデータ使用方法,平成30年10月26日,発明者:野村 暢彦ら,特許権者:国立大学法人 筑波大学
- 2) Y. Yawata *et al.*: Appl. Environ. Microbiol., 85, e00608-19 (2019)
- 3) Y. Yawata *et al.*: J. Biosci. Bioeng., 110, 377-380 (2010)

最終更新日: 2022年11月14日 11:43

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

文献等からの知識抽出・学習技術  
(機械学習を活用した酵素提案)

荒木 通啓  
京都大学医学研究科

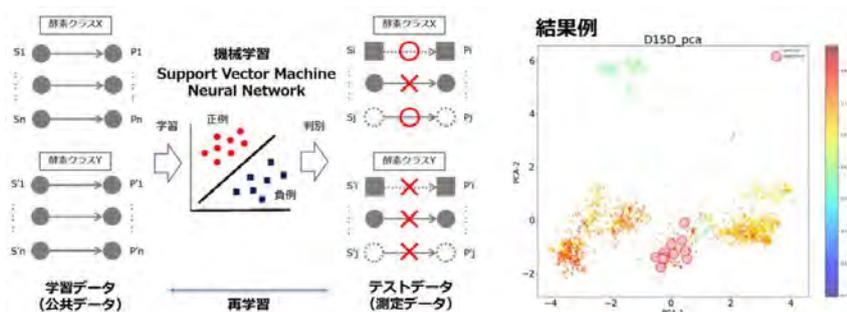


要旨

スマートセル設計における情報解析システムでは、代謝経路設計から代謝モデル構築・最適化といったプロセスに加えて、酵素遺伝子や変異候補遺伝子の探索において、文献・データベース情報からの知識抽出に依存しており、酵素遺伝子探索にフォーカスした機械学習技術を開発している。

研究の内容

代謝設計により出力される代謝経路には、未知・既知を問わず推定された酵素遺伝子候補が複数出現することになり、代謝経路を実際に構築していく上で、酵素遺伝子の選択が重要な課題となってくる。しかしながらこの点に関して、現在のところ各人がKEGG・BRENDAといった各酵素反応データベースに拡散した情報、文献・特許情報をマニュアルで調査し、研究者の直観による意思決定がなされている状況であり、酵素遺伝子の効率のかつ信頼性の高い選択方法の開発が強く望まれている。機械学習法は学習データをもとに、予測したいテストデータに対して判別・分類などを行う手法であり、近年のデータ量の増加、計算機性能の向上により、様々な分野で応用されている。本分野においても例外ではなく、機械学習法により、既知の酵素反応データをもとに学習を行い、新しい酵素反応を見出ししていくことができれば、非常に有用な方法となる。我々は基質・生成物と酵素アミノ酸配列の組合せを考慮した機械学習法、深層学習を応用した酵素アミノ酸配列の特徴抽出手法を開発することで、従来の配列比較法やクラスタリング法では見いだせない特徴抽出を目指している。



産業界などへのアピールポイント

新規代謝経路を実現するための酵素遺伝子探索や既知代謝経路中の新たな基質特異性・活性を有する酵素遺伝子バリエーションの探索において、新たな有用酵素遺伝子を発見に貢献できる。

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

個別技術紹介

Individual Technology

THEME

文献等からの知識抽出・学習技術  
(スマートセル設計支援知識ベース)

荒木 通啓  
京都大学医学研究科



要旨

スマートセル設計における情報解析システムでは、代謝経路設計から代謝モデル構築・最適化といったプロセスに加えて、酵素遺伝子や改変候補遺伝子の探索において、文献・データベース情報からの知識抽出に依存しており、文献からの知識ベース開発を開発している。

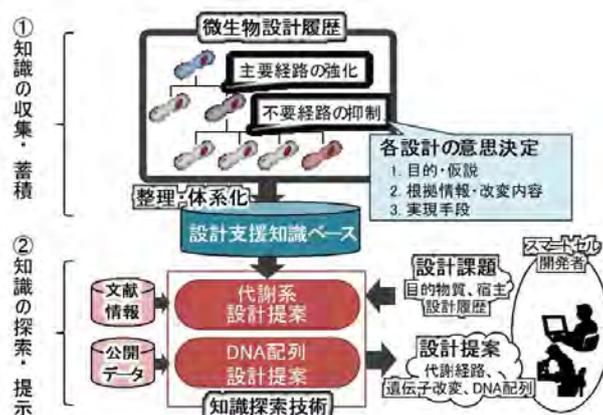
研究の内容

スマートセル開発に特化した知識ベースの構築と、それを支えるAI技術の開発を目的に、知識ベースの概念設計・要素AI技術開発・ワークフロー開発に取り組んでいる。

知識ベースの構築には、大きく次の2つのプロセスの開発が必要である(図1)。すなわち、①知識の収集・蓄積：過去に実施されたスマートセル開発における様々な試行錯誤過程を、事象の関係性を整理して再利用可能な「知識」として蓄積するプロセス、②知識の探索・提示：スマートセル開発者(ユーザー)の問いかけ(クエリ)に対し、蓄積された知識から、ユーザーの解釈、意思決定を支援する事象、仮説、因果関係、または参考となる文献情報を提示するプロセス、である。

①においては、所望のスマートセル実現に向けて実施されてきた株改変の履歴、すなわち設計履歴の整理・体系化を行っている。具体的には、各改変株作製における意思決定内容を、「改変の目的、仮説」「その根拠となる情報と改変内容」「実現手段(合成・検証手段)」に正規化してデータベースエンジンに格納する。

これにより、後述の知識抽出処理において、株改変目的や内容・手段といった軸での横断的探索に活用する。加えて、改変の元となった親株からの派生関係をツリー状に体系化することにより、見落としした改変・実験への気づきや、それに基づく新たな設計仮説着想の支援などの効果が期待できる。②においては、ユーザーにより操作端末を介して入力されたクエリに対して、データベースから知識を探索し、ユーザーに設計提案として提示する知識探索技術を開発している。具体的には、目的物質・宿主や、これまでに実施した設計履歴などをクエリとして、データベース・文献等に蓄積された情報からクエリ内容に関連性の高い情報を横断的に探索し、代謝経路・遺伝子改変・DNA配列など、探索された知識をユーザーに分かりやすい形で提示する技術である。



## 産業界などへのアピールポイント

文献・公開データから、短時間で膨大な知識を網羅的・包括的に処理し、スマートセル設計の定石を提案するとともに、"セレンディブ"な設計指針の提案も期待でき、スマートセルの創製を加速することに貢献できる。

## 参考文献

1) Y. Saito *et al.* : Sci. Rep., 9(1), 8338 (2019)

最終更新日：2022年11月14日 12:29

[プロジェクト主旨](#) | [プロジェクト概要](#) | [技術紹介](#) | [技術活用事例](#) | [個別技術紹介](#) |

一般財団法人バイオインダストリー協会  
〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-26-9 TEL 03-5541-2731

[新着情報](#)

[FAQ](#)

[ご相談窓口](#)

[スマートセルプロジェクトとは](#)

©Copyright © Japan Bioindustry Association. All rights reserved.