

「革新的バイオマテリアル実現のための高機能化ゲノムデザイン技術開発」

基本計画

経済産業省製造産業局生物化学産業課

1. 研究開発の目的・目標・内容

(1) 研究開発の目的

本研究開発事業は、機能性材料等の生産のために、微生物等の遺伝子を目的に合わせて設計及び合成し、物質生産を超高効率に行うための新たな技術の確立を目的とする。

1953年に遺伝物質であるDNAの構造が解明されて以来、遺伝子をコードするトリプレット暗号の解読、DNAを特定の位置で切断する制限酵素やDNAを連結するリガーゼの発見などを経て、1970年代には遺伝子を生物から取り出し、組換えて、生物の性質を改変するバイオテクノロジーが起きてきた。バイオテクノロジー産業は、遺伝子組換え技術を基盤として、有用物質の生産等を行っている。従来の遺伝子組換え技術は、既存の様々な生物から有用物質の生産に関わる遺伝子を特定し、クローニングし、微生物等の生産宿主に組み込むことにより、物質生産を行ってきた。プロモーターの改変や、宿主の突然変異の利用など、さまざまな工夫がされてきたが、生産性の向上が困難であるのも現実である。

1995年に、初めてゲノムの全塩基配列が微生物で決定されて以降、微生物から植物やヒトまで多種多様な生物のゲノム情報が解読され、ゲノムデータベースに蓄積している。さらに、それぞれの遺伝子発現情報が解析され、遺伝子の生化学的機能の解明が進み、それら膨大な情報がデータベースに納められ公開されてきている。バイオインフォマティクスの進展により、さまざまな遺伝子が比較され、共通性が抽出され、機能解明や機能改変に貢献できるようになってきた。

2010年には、米国のベンター研究所により、マイコプラズマの全ゲノム(約100万塩基対)のDNAを化学合成して細胞に組み込むことで、化学合成した遺伝子だけで細胞増殖させることに成功した。我が国でも、慶應大学の板谷教授グループにより、枯草菌を用いて約350万塩基対からなる光合成細菌の全ゲノムDNAのクローニングに成功しており、ゲノムサイズの長鎖DNAの合成及び操作技術が現れてきている。これらの技術の延長線上には、目的に合わせて組み合わせた多数の遺伝子を設計し、その設計通りに長鎖DNAを合成し、目的の性質をもつ遺伝子組換え微生物を作製して利用する新たな技術の出現が期待される。

その第一歩として、目的とする代謝経路を形成する多数の遺伝子を扱う技術が必要である。すなわち、対象となるタンパク質をコードする遺伝子群、その制御領域、転写因子を含めた多数の遺伝子群(以下、「遺伝子クラスター」という。)の設計・合成技術と微生物への組み込み技術の開発が必須である。

本研究開発事業では、大規模なゲノム情報を基盤とした遺伝子設計技術と長鎖DNA合成技術の融合により、新たに設計された遺伝子クラスターを組み込んだ微生物を作製する。

これにより、従来は合成が困難であった物質の生産、有用物質生産効率の大幅な向上、環境負荷の低減、及びこれら微生物による生産プロセスの開発効率を飛躍的に向上させる技術の開発を目指す。

（２）研究開発の目標

①最終目標（平成28年度末）

遺伝子組換え微生物による物質生産を向上させるための遺伝子設計技術を確立する。設計に基づいて 5 万塩基対以上の長鎖 DNA を正確に合成する手法を開発し、長鎖 DNA を宿主となる微生物に安定に導入する技術を確立する。作製した遺伝子クラスター導入微生物を用いることにより、従来、合成が困難であった産業上有用な物質群の合成、あるいは、従来の数十倍以上の高効率、大量生産、環境負荷低減での産業上有用な物質の生産を実現する。

②中間目標（平成26年度末）

大規模な遺伝子クラスターの設計のプロトタイプを開発する。5 万塩基対以上の長鎖 DNA を合成する技術を開発する。遺伝子クラスター導入微生物のプロトタイプを用いて、目的物質の生産を行い、遺伝子の設計技術に反映させるために微生物の応答についての各種データの取得を行う。

（３）研究開発内容

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

- ① 遺伝子設計技術の開発
- ② 長鎖DNA合成・操作技術の開発
- ③ 革新的バイオマテリアル生産技術の開発

２．研究開発の実施方式

（１）研究開発の実施体制

本研究開発は、経済産業省が、単独ないし複数の原則、本邦の企業、研究組合、公益法人等の研究機関（原則、国内に研究開発拠点を有していること。ただし、国外企業の特別な研究開発能力、研究施設等の活用あるいは国際標準獲得の観点からの国外企業との連携が必要な場合はこの限りではない。）から公募によって研究開発実施者を選定後、共同研究契約等を締結する研究体を構築し、委託して実施する。

（２）研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有する経済産業省は、研究開発を統括するために配

置するプロジェクトリーダー（PL）と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、コアとなる開発項目毎にサブプロジェクトリーダー（SPL）を配置し、PL、SPL及び経済産業省をメンバーとする定期的な進捗連絡会議を開催し、情報共有を徹底すると共に、課題の設定、問題点の把握と解決・対策に向けて、経済産業省が積極的に加わり議論し推進し、経済産業省に設置する研究開発推進委員会等、外部有識者の意見を運営管理に反映させる。

3. 研究開発の実施期間

本研究開発の実施期間は、平成24年度から平成28年度までの5年間とする。

4. 評価に関する事項

経済産業省は、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義並びに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の中間評価を平成 26 年度、事後評価を平成 29 年度に実施する。なお、評価の時期については、当該研究開発に係る技術動向、政策動向や当該研究開発の進捗状況等に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

5. その他重要事項

（1）研究開発成果の取り扱い

①共通基盤技術の形成に資する成果の普及

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

解析技術

評価技術

化合物情報等、本技術開発を通じて得られる有用な情報

②知的基盤整備事業又は標準化等との連携

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

③知的財産権の帰属

委託研究開発の成果に関わる知的財産権については、産業競争力強化法（平成12年4月19日法律第44号）第19条及び同法施行令第11条の規定等に基づき、同法令を遵守すること、及び研究開発実施者が本研究開発により得られた知的財産の適切な管理を行う取り決め等を策定することを条件に、原則として、すべて受託先に帰属させるものとする。

④ 成果の産業化

委託者は、本研究開発から得られる研究開発成果の産業面での着実な活用を図るた

め、本研究開発の終了後に実施すべき取り組みのあり方や研究開発成果の産業面での活用のビジネスモデルを立案するとともに、立案した取り組みのあり方とビジネスモデルについて、研究開発の進捗等を考慮して、研究開発期間中に必要な見直しを行う。

委託者は、上記で立案した取り組みとビジネスモデルを本研究開発終了後、実行に移し、成果の産業面での活用に努めるものとする。

（２）基本計画の変更

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

（３）関連指針の厳守

当該プロジェクトの実施にあたっては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（平成13年度文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）等、研究開発関連の指針を厳守しなければならない。また、本研究開発成果の事業化においては、「経済産業分野のうち個人情報を用いた事業分野における個人情報保護ガイドライン」（平成16・12・24製局第1号）を厳守しなければならない。

6．基本計画の改訂履歴

（１）平成24年3月制定。

(別 紙) 研究開発計画

研究開発項目①「遺伝子設計技術の開発」

1. 研究開発の必要性

人類は、微生物による発酵などを利用して、有用物質を生産してきた。これまでに様々な生物から産業上有用な物質が発見され、その産生に関与する遺伝子が同定されてきている。人間の生活に有用な化合物の産生を含む生体内の代謝反応は、多くの段階で構成されており、それぞれの段階は異なる遺伝子にコードされた酵素によって触媒されることが多い。したがって、各酵素の反応効率を上げるだけでなく、それらが協調的に働くように遺伝子発現を制御することが必要になる。

また、宿主微生物にとって異物である産業上有用な物質を合成させると、それを抑制する反応がしばしば惹起され、生産性の向上を阻害することが知られている。ゲノムワイドの解析技術の発達により、抑制反応等に関与する遺伝子を同定し、抑制反応等を予測することができるようになった。その結果を活用して宿主微生物ゲノムの遺伝子操作により代謝経路の制御を行うなど、微生物を全体としてシステム化することによって、生産性を大幅に効率化する遺伝子設計技術の開発が必要である。比較的少数の遺伝子を対象とした合成生物学的な回路設計、遺伝子クラスター設計に加えて、ゲノム全体を対象に多変異を導入する手法や、真核微生物ゲノムの再構築技術が報告され始めている。

ここでは、物質生産に関与する遺伝子群とその制御領域、転写因子等を含めた遺伝子クラスターを設計する技術を開発する。これらの制御の問題に加え、転写や翻訳の効率などを考慮して遺伝子クラスターの塩基配列を設計し、それを培養の容易な宿主微生物に導入することで、有用物質の効率的な産生を行わせることができれば、その生成に必要な時間やコストなどを大きく削減できるものと期待される。

2. 具体的研究開発内容

遺伝子設計技術を確立するために、以下の項目の研究開発を行ない、生産宿主微生物のゲノムワイドの解析から物質の生産性に関与する遺伝子の同定技術の開発、産業上有用な性質に改変した酵素等タンパク質をコードする遺伝子及び制御領域の設計、5万塩基対以上の合成すべき長鎖 DNA 塩基配列の設計を行う。

(1) 有用物質生産に関与する遺伝子群の効率的な探索・解析・抽出技術の開発

多様な生物が持っている産業上有用なタンパク質は、今や、多様なファミリーが発見され、その情報が蓄積されてきており、それらの性質と DNA 塩基配列の関係も明らかにされつつあることから、新規な有用遺伝子の探索とともに、それらの情報をデータベース化し、

情報基盤として活用する。

物質合成経路に関与する遺伝子群の同定、合成経路のメカニズム解析を行う。微生物にとっての異物の生産を抑制するような防御反応や恒常性を維持しようとする調節反応等が起きていると考えられる。そこで、これらの反応に関与している遺伝子群を効率的に同定し、モデルを構築し、改変することにより有用な物質生産をする遺伝子組換え微生物の作製に資する技術を開発する。

(2) 物質生産に関与する遺伝子の設計・構築技術の開発

a) タンパク質及び制御系の設計

(1) で構築したデータベース等を活用することにより、合成経路のモデル構築、産業上有用なタンパク質として最適な性質、あるいは非天然型の活性や特異性をもつように遺伝子を設計する技術、これらの遺伝子を適切に発現させるための制御系を設計する技術を開発する。設計したタンパク質を産生して解析し、より高度化する技術も開発する。

b) 遺伝子クラスター設計及び最適化

産業上有用な化合物の合成には、多段階の酵素反応を要することが多い。複数の遺伝子よりなる合成経路を設計するためには、それら複数の酵素等のタンパク質をコードする領域以外に、それらの遺伝子発現を協調的に制御する機構が必要であり、それらの反応を解析・予測する技術を開発し、多数のコード領域及び制御領域を含めた遺伝子クラスター全体を設計する技術を開発する。

また、研究開発項目③からの生産物や遺伝子発現等の情報及びデータベースからの情報をもとに、新たな合成経路の予測、制御機構の予測、阻害因子等の関与等を予測するなど、物質生産の合成経路のモデルを構築し、効果的な改変部位を提示する技術を開発する。

(3) 微生物ゲノムの設計及び解析支援システムの開発

上記で開発した情報基盤としてのデータベース等に基づき、遺伝子設計及び解析支援システム（ソフトウェア）を開発する。バイオ関連の研究者等に利用しやすくするための、インターフェースの開発も行うなど、ユーザー（本事業研究開発項目③実施者等）が使用し、意見交換を実施し、さらなる改良を行う。

3. 達成目標

(1) 最終目標（平成 28 年度末）

研究開発項目③の微生物による有用物質の高効率生産実現のために、5 万塩基対以上に対応できる新規遺伝子クラスターの設計技術確立する。

(2) 中間目標 (平成 26 年度末)

生産宿主とする微生物に有用遺伝子を組み込んだ際に引き起こされる様々な反応等を解析し、その結果をデータベース化するとともに微生物の応答を解析・予測し、生産性の向上や生産が困難な物質の効率的生産を実現する遺伝子クラスター設計技術のプロトタイプを開発し、研究開発項目②に提供する。

研究開発項目②「長鎖DNA合成・操作技術の開発」

1. 研究開発の必要性

産業上有用な化合物には、分子構造が複雑であるために、あるいは、バイオマス由来原料からの目的物質合成のために、多段階の酵素反応が必要である。それらの酵素等をコードする多数の遺伝子を同時に微生物に組み込むことにより、目的の化合物の合成を1工程で、省エネルギーな製造プロセスで行うことができる。そのためには、多数の遺伝子やその制御領域を含む長鎖DNAを合成する必要がある。

現在のDNA合成技術では、約100塩基対以上のオリゴDNAを1塩基の間違いもなく化学合成することは困難であり、数100～数千塩基対からなる遺伝子の合成は、オーバーラップする配列のオリゴDNAを組み合わせて連結する方法で行われているが、遺伝子クラスターを微生物に組み込んで物質生産させるためには、5万塩基対以上の長鎖DNAを正確に合成する技術の開発が必要である。

さらに、合成した長鎖DNAは、物理的に極めて脆弱であり、切れやすいので、完全な形で取り扱い、微生物に導入することが困難である。そこで、安定に、高い信頼性で、5万塩基対以上の長鎖DNAを操作し、宿主となる微生物に組み込む手法の開発が必要である。

2. 具体的研究開発内容

(1) 長鎖DNA合成技術の開発

多段階の合成経路を宿主微生物に組み込み遺伝子の改変を行うために、5万塩基対以上の長鎖DNAを正確に合成する方法の開発を行う。現在のDNA合成技術では、100塩基を超えるとエラーが入る確率が高まるため、100塩基程度のオリゴDNAを合成し、連結させることにより、数千塩基対のDNAの合成を手作業で行っている。また、GC含量の高い領域など合成が困難なDNA塩基配列の合成技術や、多数のDNA断片を効率よく連結して、5万塩基対以上の長鎖DNAを正確に合成する技術の開発を行う。

(2) 長鎖DNAによる効率的遺伝子組込技術の開発

約5万塩基対以上の長鎖DNAは、物理的に脆弱で実験操作的に取り扱いが難しいため、合成した長鎖DNAを宿主微生物に組み込むことが困難である。そこで、長鎖DNAが壊れないように安定に操作し、生産宿主となる微生物に効率的に導入する技術の開発を行う。作製された遺伝子クラスター導入微生物を研究開発項目③に提供する。

(3) 長鎖DNA合成の自動化技術の開発

長鎖DNAを合成する技術を、再現性よく、効率化するために、プロトコルを確立するとともに、当該技術の動向を調査し、自動化装置開発のための基礎データを作成する。

3. 達成目標

(1) 最終目標 (平成 28 年度末)

設計された 5 万塩基対以上の遺伝子クラスターDNA を正確に合成する手法を確立する。
また、合成した 5 万塩基対以上の遺伝子クラスターを宿主微生物に組み込む技術を確立する。

(2) 中間目標 (平成 26 年度末)

5 万塩基対以上の長鎖 DNA 合成技術を開発する。また、長鎖 DNA を宿主微生物に組み込む手法を開発する。

研究開発項目③「革新的バイオマテリアル生産技術の開発」

1. 研究開発の必要性

バイオプロセスは、生物が作り出す酵素により常温常圧で反応するため、複雑な構造の高分子の合成や、環境負荷が少なく省エネルギーな物質製造方法として期待されている。1970年代以降、遺伝子組換え技術が登場すると、微生物への個別遺伝子の導入やランダムな変異を利用して生産方法を向上させる試みが行われてきた。しかし、バイオプロセスにおいて、より効率的な物質生産を行うためには、多数の遺伝子を計画的に導入・改変し、多数の酵素反応を精密に制御すると同時に、宿主微生物の最適化を行う必要がある。

本研究開発では、新たに設計された遺伝子クラスターからなる長鎖 DNA を導入すると同時にゲノムを改変した宿主微生物を作製し、革新的バイオマテリアルや人工酵素あるいは産業上有用な物質の生産を行う。また、遺伝子クラスター導入微生物における微生物の応答の解析、当該微生物を用いた最適培養条件の検討、産業的に実施可能な目的物質の生産方法の開発を行ない、本技術の優位性を検証し、その結果を再び遺伝子クラスターの設計と宿主微生物の最適化に反映させる。

2. 具体的研究開発内容

研究開発項目①、②により開発された遺伝子クラスター導入微生物を用いた産業的に有用な物質の効率的生産技術の開発を行う。

(1) 遺伝子クラスター導入微生物の最適化技術の開発

遺伝子組み換え微生物では、細胞の恒常性維持あるいは防御反応等のために、生産性の阻害に関わる様々な現象が起きることが知られており、遺伝子クラスター導入微生物においても同様の問題が発生することが懸念される。そこで、遺伝子クラスター導入微生物のマルチオミックス解析を行い、当該微生物細胞内で生じているタンパク質・化合物生産の阻害因子や関与する遺伝子等を特定し、ゲノム改変や遺伝子クラスターの設計に反映させるためのデータ取得を行う。

(2) 有用物質の効率的生産技術の開発

遺伝子クラスター導入微生物を用いて、革新的バイオマテリアルや従来効率的に合成できなかった産業上有用な物質について、高効率な生産や環境負荷低など社会から求められる産業上の観点から、生産効率の飛躍的向上や環境負荷低減を実現する。

3. 達成目標

(1) 最終目標（平成 28 年度末）

最適化された遺伝子クラスター導入微生物を用いることにより、従来、合成が困難であ

った産業上有用な物質群の合成、あるいは、従来の数十倍以上の高効率、大量生産、環境負荷低減での産業上有用な物質の生産を実現する。

(2) 中間目標 (平成 26 年度末)

遺伝子クラスター導入微生物のプロトタイプを作製し、目的物質を生産させた際の微生物の応答について解析データを取得し、研究開発項目①に提供する。