Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-06

ホモγ-ポリグルタミン酸の低コスト・高効率な微生物生産プロセスの開発に向けた研究とバイオファウンドリにおける事業化検討

山本，純也

(Degree)
博士（科学技術イノベーション）
(Date of Degree)
2022-09-25
(Date of Publication)
2025-09-25
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲第8478号
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100477904

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

博 士 論 文 （ 略 版 ）

（論文題目）

ホモγ-ポリグルタミン酸の低コスト・高効率な

微生物生産プロセスの開発に向けた研究と

バイオファウンドリにおける事業化検討

２０２２年７月

神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科

（氏名）　山 本　純 也

目次

まえがき 4

1 先端研究 6

1.1 細胞分化の抑制による γ-PGA の高生産化 6

1.1.1 序論 6

1.1.2 材料と方法 10

1.1.3 結果 16

1.1.4 考察 30

Supplement Data 33

1.2 γ-PGA 合成酵素の改変による γ-L-PGA の生産 47

1.3 先端研究の総括 48

Supplement Data 50

参考文献 51

2 事業化検討 55

2.1 バイオファウンドリの背景 58

2.1.1 合成生物学と DBTL サイクル 58

2.1.2 DBTL サイクルの各工程 59

2.1.3 バイオファウンドリ 62

2.2 バイオファウンドリ業界の分析 64

2.2.1 外部環境分析 64

2.2.2 内部環境分析 67

2.3 バイオファウンドリ企業のベンチマーク分析 79

2.3.1 主要 3 社のビジネスモデルとバリューチェーン 79

2.3.2 バリューチェーンのベンチマーク分析 91

2.3.3 バリューチェーンからみるバイオファウンドリの戦略分析 99

2.4 半導体ファウンドリ（TSMC）との比較分析 104

2.4.1 TSMC のベンチマーク分析 104

2.4.2 TSMC とバイオファウンドリの比較分析 107

2.4.3 TSMC の成功事例からみるバイオファウンドリの戦略分析 115

2.5 バッカス社への戦略提言 117

2.5.1 注力すべき市場分野と製品・物質 117

2.5.2 バッカス社の戦略分析 120

2.5.3 戦略提言 128

2.6.2 バッカス社における戦略に沿った事業化提案 133

2.7 事業化検討の総括 136

補足 137

補足 **1** 米国バイオファウンドリのベンチマーク企業３社の情報 137

補足 **2 TSMC** の情報 143

参考文献 145

謝辞 148

まえがき

環境問題、食糧問題、健康問題といった地球規模の課題を背景に、2009 年に OECD により「バイオエコノミー」という概念が提唱された。バイオエコノミーとは生物学的製品やプロセスの発明、開発、生産、利用に関連する一連の経済活動を指す概念であり、諸問題の解決に大きく貢献することが期待されている。

2030 年のバイオエコノミーの市場規模は 1.6 兆 USD と予測されており、その中でも産業バイオ関連分野の市場規模が最も高い割合を占めている。そして、プラスチックによる環境汚染問題を背景に、自然環境中で分解する生分解性プラスチックや植物由来の原料から生産されるバイオマスプラスチックなどのバイオプラスチックの需要が高まりつつある。

筆者は、新たなバイオプラスチック原料として、L 体のグルタミン酸から構成されるホモ γ-L-ポリグルタミン酸（γ-L-PGA）に着目した。γ-L-PGA は、同一構造の L-グルタミン酸のみからなることから、互いに異なる構造を持つ D 体と L 体からなるヘテロ γ-PGA（γ-DL-PGA）とは異なり、立体規則性が高い。そのため、結晶性が高く、強固なプラスチックとなるポテンシャルを持ち、また COOH 基の架橋効率や化学反応効率が高い。これらの特徴から、γ-L-PGA をプラスチック原料として利用することで、新たな機能を持つバイオプラスチック素材の開発が期待できる。

一方で、γ-L-PGA を生産する微生物は、好塩古細菌 *Natrialba aegyptiaca* の 1 種類しか報告されていない。また、この微生物の増殖と γ-L-PGA 生産には、酵母抽出液やカザミノ酸などのリッチな栄養源が必要で、かつ、その生産効率は低い。そのため、現在の γ-L-PGA の生産は高コスト・低効率で、その販売価格は 1 kg あたり 50 万円と極めて高価であり、γ-L-PGA の実用化はその高い保湿力を活用した高価な化粧品原料に限定されている。

物質生産能に優れた枯草菌（*Bacillus subtilis*）という微生物を宿主として、γ-L-PGA 生産を実現できれば、その低コスト・高効率化が期待できる。枯草菌は、グルコース・アンモニアを単一の炭素源・窒素源とした安価な最少培地で増殖するため、培地コストを大幅に低減できる。また、遺伝子操作が簡便で、グラム陽性細菌のモデル微生物として

研究が大きく進んでおり、遺伝子の改変による高効率化が期待できる。そして、低コスト・高効率な γ-L-PGA の生産プロセスを開発できれば、化粧品原料として γ-L-PGA を高い利益率で販売するだけでなく、巨大市場であるバイオプラスチックの原料として、γ-L-PGA を大規模に生産・販売し、大きな利益を獲得していくことも期待できよう。

本論文は、第一部の「先端研究」と第二部の「事業化検討」で構成される。

第一部の「先端研究」では、γ-L-PGA を低コストで高生産する枯草菌株の開発に向けた、理系研究成果について述べる。まず、γ-PGA の高生産化を実現した「ゲノム縮小株における γ-PGA の高生産」の研究成果について述べる。枯草菌などのモデル細菌では、ゲノム上の非必須遺伝子領域を大規模に欠失した「ゲノム縮小株」の研究が大きく進んでいる。競合する代謝経路や不要な代謝経路を大幅に除去することで、目的とする有用物質の生産能力の飛躍的な向上が実現している。例えば、ゲノムの 20.7%にあたる約 874 kb の DNA を欠失した枯草菌 MGB874 株では、アルカリセルラーゼやアルカリプロテアーゼといった分泌異種酵素の生産性が向上したことが報告されている。一方で、ゲノム縮小に伴うネガティヴな表現型も見られ、最少培地での増殖速度の低下が確認されている。これまでの筆者らの研究から、MGB874 株では、枯草菌が持つ細胞分化機能の誘導によって、増殖速度の低下が引き起こされ、さらには物質生産能の低下にも繋がることが示唆された。本研究では、細胞分化の抑制によって増殖速度の回復を実現し、さらには、増殖速度が回復した要因の考察と γ-PGA 高生産に向けた検証を行い、最終的に γ-PGA の高生産化を実現した。

つづいて、バクテリアにおける γ-L-PGA 生産を初めて実現した「枯草菌における γ-L-PGA 生産の実現」の研究成果について述べる。（略）

総括として、これら 2 つの研究成果を統合することで、従来の *N. aegyptiaca* による γ-L-PGA 生産と比較して低コスト・高効率な γ-L-PGA 生産が実現し得ることを示した。

第二部の「事業化検討」では、第一部の研究成果の事業化を検討した。第一部の研究成果から、従来の生産方法よりも圧倒的に低コストに γ-L-PGA を生産できるようになったが、それでもなお、バイオプラスチック原料として利用できるレベルには及ばなか

った。さらなる高生産化に向けた研究開発には、バイオファウンドリのプラットフォームを利用することが効果的であると考えられたため、神戸大学発のバイオファウンドリ「株式会社バッカス・バイオイノベーション」での事業化を検討した。

しかし、創業期のバッカス社にも事業成功に向けた戦略の分析が必要である。そこで、先行する米国バイオファウンドリ Amyris 社、Ginkgo Bioworks 社、Zymergen 社の 3 社をベンチマークの対象としてバリューチェーン分析を行い、バイオファウンドリの戦略のオプションを分析した。さらに、ファウンドリビジネスの成功事例である半導体ファウンドリ TSMC (Taiwan Semiconductor Manufacturing Company)のバリューチェーンとの比較分析を行い、当面のバイオファウンドリに求められる戦略を分析した。

これらの分析結果から、創業期のバッカス社には、市場を絞りこんで宿主を限定し、「データアセット」と呼ばれるバイオファウンドリの競争優位の源泉を効率的に蓄積していくことが重要であるとの戦略提言を行った。そして、この戦略提言に従い、バッカス社に γ-L-PGA に関する理系研究成果の事業化提案を行った。当面は、γ-L-PGA を化粧品原料として生産・販売して利益を獲得し、その間に利益を元手に高生産化の研究開発を行い、枯草菌のデータアセットを蓄積していく。そして、将来的には、蓄積したデータアセットを活用して、巨大市場であるバイオプラスチック原料としての事業化や、枯草菌を利用した様々な有用物質の高生産と事業化を目指していく戦略をバッカス社に提案した。

1 先端研究

1.1 細胞分化の抑制による γ-PGA の高生産化

1.1.1 序論

ゲノム上の非必須遺伝子領域を大規模に欠失し、競合する代謝経路や不要な代謝経路を除去することで、目的とする有用物質の生産能力の飛躍的な向上が期待できる [1]。このような非必須遺伝子領域が大規模に欠失した微生物株を「ゲノム縮小株」と言い、

枯草菌などのモデル細菌ではその研究が大きく進んでいる。そして、必須遺伝子の研究による生命の基本原理の解明といった学際的な成果だけでなく、産業応用が期待できる研究成果がいくつか報告されている [2]。例えば、ゲノムの 20.7%にあたる約 874 kb の DNA を欠失した枯草菌 MGB874 株では、アルカリセルラーゼやアルカリプロテアーゼといった分泌異種酵素の生産性が向上したことが報告されており [3] [4]、また、ゲノムの 36%にあたる約 1460 kb の DNA を欠失した枯草菌 PG10 株では、枯草菌での発現が困難なブドウ球菌抗原や抗菌ペプチドの生産が実現したことが報告されている [5] [6]。

しかし、バクテリアのゲノム縮小においては、増殖速度の低下や細胞・核様体の形態異常といったネガティヴな表現型が現れることもある [7] [8]。枯草菌 PG10 株の場合、発現が困難であったタンパクやペプチドを生産できる形質を獲得したにもかかわらず、リボソーム遺伝子の抑制によるものと考えられる増殖速度の低下が見られた [9]。増殖速度の低下は、最終的な物質生産能の低下にも繋がると考えられることから、ゲノム縮小株の産業利用の拡大には、増殖速度の低下というネガティヴな表現型を伴わないゲノム縮小株の創出が求められる。

枯草菌 MGB874 株においても、最少培地での増殖速度の低下が確認される [3]。これまでの筆者らの研究で、MGB874 株では AbrB が制御する細胞分化に関連する遺伝子の発現レベルが、野生型株よりも上昇することが分かっている。枯草菌は、胞子、コンピテンス、運動性、細胞外マトリックス生産、分解酵素生産、抗菌物質分泌など、表現型の異なる様々な細胞へと変化する「細胞分化」を誘導することが知られており [10]、AbrB はその細胞分化に関わる約 250 遺伝子を直接抑制するグローバルレギュレーターである（**Fig. 1A**） [11] [12]。細胞分化の誘導は、リン酸化された Spo0A（Spo0A~P）が、この *abrB* 遺伝子のプロモーター領域の転写開始部位下流に結合して、AbrB の発現を抑制することで開始される [13]（**Fig. 1B**）。興味深いことに、*spo0A* 遺伝子の 62 番目のコドンが終止コドンへと変異した *spo0A12* 変異株では [14]、野生型株と比較して AbrB の発現レベルは 2~4 倍に上昇し、様々な最少培地で増殖速度が著しく増加し、さらに *abrB* 遺伝子を欠損させると野生型株と比較しても増殖速度は低下したとの報告がある [15]。これらのことから、最少培地条件における増殖期の細胞では、Spo0A によって *abrB* 遺伝子の転写が抑制されると、多数の AbrB 制御遺伝子が誘導され、それによって増殖に

必要な栄養源と分化に必要な栄養源が競合して、増殖速度が低下することが示唆された（**Fig. 1**）。つまり、AbrB が高発現する場合は、AbrB 制御遺伝子はより厳密に抑制されるため、増殖速度は上昇するが、AbrB が発現しない場合は、AbrB 制御遺伝子の発現が大きく誘導され、増殖速度が低下すると考えられる。

以上の知見と仮説から、MGB874 株では AbrB が制御する遺伝子の発現レベル上昇によって細胞分化が誘導され、それが細胞へ負荷となって増殖速度の低下に繋がっていると考えた。同様に、細胞分化の誘導によって、物質生産に必要な栄養源と分化に必要な栄養源が競合し、物質生産能の低下に繋がっていると考えた。そこで、AbrB を高レベルで恒常的に発現させて細胞分化を抑制することで、MGB874 株の増殖速度低下の抑制と物質生産能の向上を実現できるという仮説を立てた。

本研究では、まず AbrB の恒常的な高発現が MGB874 ゲノム縮小株の増殖に及ぼす影響について検討した。そして、最少培地で観られた増殖速度の低下を解決し、その要因の考察や γ-PGA 高生産化に向けた検証を行い、最終的には γ-PGA の高生産化を実現した。本研究は、ゲノム縮小により引き起こされる問題の一部を、グローバルな転写制御システムの発現レベルを変化させることによって解決できること実証したものであり、将来的には、様々な有用物質の高生産を実現するためのキーテクノロジーとして活用されることが期待できよう。

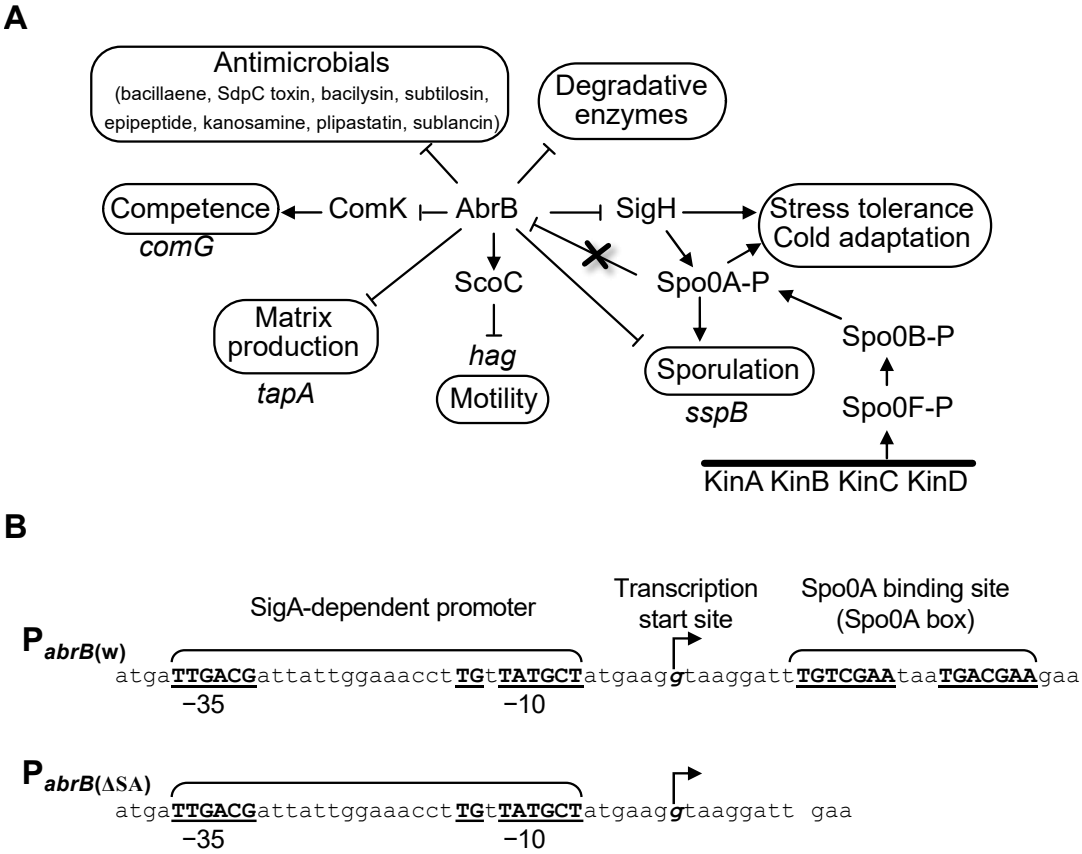


Figure 1. Transcriptional network centered on AbrB and the $P_{abrB(\Delta SA)}$ mutation.

(A) Spo0A is phosphorylated via a multicomponent system called phosphorelay from at least four sensor kinases (KinA, KinB, KinC, and KinD) to two phosphotranferases (Spo0F and Spo0B). Repression of differentiation genes by AbrB is released by a decrease in the level of AbrB due to transcriptional repression of *abrB* caused by binding of Spo0A-P to the Spo0A box at the *abrB* promoter region. $P_{abrB(\Delta SA)}$, an *abrB* promoter in which the Spo0A-binding sequence was deleted, is relieved from Spo0A-P-mediated repression without losing Spo0A function (indicated by a cross). Genes whose promoters used in this study are also indicated. (B) Sequences and features of the *abrB* promoter regions of the wild-type ($P_{abrB[w]}$) and the Spo0A box-deleted mutant ($P_{abrB[\Delta SA]}$).

1.1.2 材料と方法

(1) 株の構築

本研究で使用した株とプラスミドを **Table S1** に示す。また、菌株の構築と検証に使用したプライマーを **Table S2** に示す。プロファージ誘導と抗生物質産生の干渉を避けるため、親株である 168 株の代わりに、2 つのプロファージ（SPβ と PBSX）、7 つのプロファージ様領域（pro1～pro7）、および plipastatin と bacillaene の合成遺伝子（それぞれ *pps* と *pks*）を削除した OA105 株を野生型株としてほとんどの実験で使用した [16]。A-001 株と A-024 株は、それぞれ 168 株と MGB874 株をトリプトファン非要求性に回復させたものである。

(2) 培養条件

菌株は、MOPS 緩衝液を用いた最少培地（MMOPS 培地） [16]に以下の修正を加え、培養した。まず、グリセロールストックを MYC 寒天培地（10 g L^{-1} グルコース、1 g L^{-1} Yeast Extract [Difco Laboratories, Franklin Lakes, NJ, USA]および 0.4 g L^{-1} カザミノ酸 [Difco Laboratories]を添加した MMOPS 培地）に接種し、37 ℃で 10 時間培養を行った。前培養は、コロニーから細胞を採取し、600 nm の光学密度（OD_{600}）が 0.01 になるように 10 g L^{-1} グルコースを含む MMOPS 培地 30 mL に接種し、300 mL フラスコを用いて 200 rpm で振とうしながら 37 ℃で OD_{600} が 1-2 になるまで培養を行った。本培養では、この前培養液を、OD_{600} が 0.1 以下になるように 10 g L^{-1}、20 g L^{-1} または 50 g L^{-1} グルコースを含む MMOPS 培地 50 mL に接種して、500 mL フラスコを用いて 37 ℃、200 rpm で振とうして培養を行った。特に説明がない限り、酸性 pH では溶解するが中性 pH ではほとんど溶解しない 40 g $L^{-1}CaCO_3$ を添加して、培養液を中性 pH に維持した。

(3) β-ガラクトシダーゼアッセイ

液体培地中の β-ガラクトシダーゼ活性をモニターするために、20 g L^{-1} グルコースを含む MMOPS 培地で 37 ℃で振とう培養を行い、2 時間ごとに 1 mL の培養液を採取し、以前に報告された方法で [17]、β-ガラクトシダーゼ活性を測定した。β-ガラクトシダーゼ活性を正確に測定するために、$CaCO_3$ は添加しなかった。そのため定常期には pH が低下するので、定常期における活性は測定しなかった。

(4) 長時間培養における増殖と蛍光測定

マイクロプレートリーダー（BioTek, Vinooski, VT, USA）を用いた長期培養には、上記と同様に MMOPS 培地を用いたが、以下の変更を加えた。前培養には、5 g L^{-1} グルコースを含む MYC 寒天培地を使用した。マイクロプレートリーダーでの OD_{600} と蛍光の測定のため、$CaCO_3$ は添加せず、20 g L^{-1} グルコースを含む MMOPS 培地を使用した。本培養では、0.15 mL の MMOPS 培地で OD_{600} が 0.02 になるように前培養液を接種し、96-well black/clear bottom plate（Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA）で 37 ℃、速度設定"Fast"で振とうし、45 時間にわたり OD_{600}（必要に応じて蛍光）の読み取りを 0.5 時間おきに実施した。長期培養中の通気性を確保し、培地の乾燥を防ぐため、マイクロプレートは酸素透過性透明膜（0.3 mm 厚のポリジメチルシロキサン（PDMS）シート, VECELL Inc., Fukuoka, Japan)で密封した。

(5) フローサイトメトリー解析

フローサイトメトリー解析は、以前に報告された方法に [18]、以下の修正を加えて行った。上述のマイクロプレートリーダーで培養した細胞を採取し、4% (v/v) ホルムアルデヒドで 25 ℃、30 min 固定した。PBS 緩衝液（1 mM KH_2PO_4, 3 mM Na_2HPO_4, 155mM NaCl）に懸濁し、超音波処理せずに CytoFlexS（Beckman Coulter, Brea, CA, USA）を用いてフローサイトメトリー分析を行った。データ解析は、CytoExpert ソフトウェアを用い

て行った。緑色蛍光は fluorescein isothiocyanate channel（525/40 BP）を使用して、488 nm の励起光により検出した。1,500 events s^{-1} 未満の速度で、合計 100,000 events を検出した。

(6) トランスクリプトーム解析

トランスクリプトーム解析と代謝解析には、10 g L^{-1} グルコースを含む MMOPS 培地を使用し、培地の pH を中性に保つために 40 g L^{-1} $CaCO_3$ を添加した。$CaCO_3$ は抽出の過程で RNA を分解する。高純度の超微粒子 $CaCO_3$（1-50 μm, Shiraishi Kogyo Kaisha, Ltd., Osaka, Japan）は EDTA と混合すると溶解することが分かったため、この超微粒子 $CaCO_3$ を RNA 抽出に用い、等量の 0.5 M EDTA（pH 8.0）と混合して 25℃、3 min で溶解した。そして、5000×g で 3 分間遠心分離して細胞を回収し、RNAprotect Bacteria Reagent (QIAGEN, Hilden, Germany)と 0.5 M EDTA を 2：1 の割合で含む溶液に再懸濁し、25℃で 5 min 静置した。細胞は 15,000×g、1 min で遠心してペレット化し、使用時まで-80℃で保存した。OD_{600} を測定するには、細胞と $CaCO_3$ 懸濁液を 5 倍量の HE buffer (0.1 M EDTA, 0.1 M HEPES, pH 7.0)と混合し、あらかじめ超微粒子 $CaCO_3$ を溶解しておいた。

RNA 抽出、相補的 DNA (cDNA)合成、末端標識、オリゴヌクレオチドタイリングチップとのハイブリダイゼーションは、Affymetrix の取扱説明書に従い、以前に報告された方法で行った [19]。トランスクリプトーム解析には、Affymetrix GeneChips を使用した。ハイブリダイゼーションシグナルデータ、バックグラウンド補正、データの正規化、個々の遺伝子の発現レベルの決定は、すべて In Silico Molecular Cloning program, array edition (In Silico Biology)を用いて、以前に報告された方法 [20]に若干の修正を加えて行なった。本研究では、完全にマッチしたプローブのシグナル強度からミスマッチプローブのシグナル強度を差し引くことで、相対的なシグナル強度を算出し、各実験でシグナル平均が 500 となるように補正した。本トランスクリプトームの生データ（CEL フォーマット）は、ArrayExpress データベースのアクセッション番号 E-MTAB-11245 に寄託されている。中枢代謝経路（CMP）に関与する遺伝子の機能分類は、*Subti*Wiki データベースに従って割り当てた [21]。AbrB regulon には、AbrB によって活性化されることが知られてい

る 7 つの転写ユニットが含まれているが、分子メカニズムは明らかではないため、本研究では *Subti*Wiki データベースに記載されている AbrB によって直接抑制される遺伝子（AbrB 制御遺伝子）のみを解析対象とした。CMP 遺伝子と AbrB 制御遺伝子、およびアミノ酸とプリン／ピリミジンヌクレオチドの生合成に関与する遺伝子の全体的な転写変化の差は、片側マン・ホイットニーの *U* 検定で評価し、p 値＜0.05 は統計的に有意とみなした（**Table S3**）。CMP 関連遺伝子と AbrB 関連遺伝子の両方に分類される遺伝子は、この分析から除外した。p 値は box-whisker plot に示している。

MGB874 株と OA191 株の間で発現変動する遺伝子（DE 遺伝子）を抽出し、機能エンリッチメント解析を行うために、枯草菌 168 株の KEGG（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes）パスウェイ [22]と NetworkAnalyst ツール [23]を使用した。正規化したデータを $\log_2$ 変換し、limma プログラムで処理し [24]、volcano plot として可視化した。$\log_2$ fold change ≥ 1（発現増加）または ≤ -1（発現減少）であり、かつ $p < 0.05$ の遺伝子を DE 遺伝子とした（**Table S3**）。また、volcano plot 解析で検出するのと同様の数の DE 遺伝子を検出する 1.5 倍をカットオフ値として、発現が増加・減少した遺伝子を評価した（**Table S3**）。

(7) 細胞外グルコース量と代謝産物の測定

培養上清中のグルコース濃度は、酵素電極式グルコースセンサー（BF-5, Oji Scientific Instruments, Hyogo, Japan）を用いて測定した。培養上清中の酢酸、アセトイン、コハク酸濃度は、TSKgel OApak-A および TSKgel OApak-P カラム(Tosoh, Tokyo, Japan)を用いて、UV 検出器（210 nm）を備えた高速液体クロマトグラフィー（Shimadzu, Kyoto, Japan）により測定した。詳細な方法は以前に報告された通りである [25]。グルコースの消費と酢酸の生成の比速度の定義は以下である。

$$d[\mathrm{glucose}]/dt = -\nu X$$
$$d[\mathrm{acetate}]/dt = \rho X$$

X はバイオマス濃度（g-dry cell weight [DCW] L^{-1}）を表し、ν および ρ (mmol g-DCW^{-1} h^{-1})は、積算バイオマス濃度（g-DCW L^{-1} h）とグルコースまたは酢酸濃度（mmol L^{-1}）との回帰線の傾きとして算出している [26]。

(8) タンパク質を構成するアミノ酸の質量アイソトポマー分布（MIDs）測定

対数増殖期（7.5 - 8 h）の細胞を適量（OD_{600} × 培養液量 [mL] = 8）、遠心分離により回収した。この細胞を 2 mL の 0.2 mol L^{-1} HCl で洗浄して $CaCO_3$ を除去し、さらに 2 mL の生理食塩水で洗浄した。コスモナイスフィルターW (0.45 μm; Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) で濾過し、600 μM シクロロイシン 10 μL と混合して乾燥し、50 μL のアセトニトリルに溶かした。1%の *tert*-ブチルジメチルクロロシランを含む N-(*tert*-ブチルジメチルシリル)-N-メチル-トリフルオロアセトアミドを 50 μL 加えた後、105 ℃で 1 時間静置して、誘導体化した。タンパク質を構成するアミノ酸の MIDs は、ガスクロマトグラフ/質量分析計（Agilent 7890A GC および 5975C Mass Selective Detector; Agilent Technologies, Santa Clara, USA）と DB-5MS+DG カラム (Agilent Technologies) を用いて測定した。詳細な方法は以前に報告された通りである [25]。

(9) ^{13}C-代謝フラックス解析

フラックスの推定は、枯草菌の CMP を考慮した。炭素原子の遷移をモデル化するために、elementary metabolite unit (EMU)のフレームワークを使用した [27]。全ての反応、CMP における炭素原子の遷移、前駆体代謝物からアミノ酸への炭素原子の遷移を **Table S4** に示す。排出フラックスは、測定された比増殖速度と枯草菌のバイオマス合成に必要な前駆体使用量から決定した [28]。フラックス分布は、アミノ酸の MIDs の実測値とシミュレーション値の間の残差平方和を最小にするように推定された。MIDs の実測値とシミュレーション値の比較は、**Table S5** にまとめている。適合度はカイ二乗検定を使用して評価した。各フラックスの 95%信頼区間は、グリッドサーチアルゴリズムを用いて計算した [29]。計算は、MATLAB R2014a (Mathworks, Natick, MA, USA) の

OpenMebius ソフトウェアを用いて行った [30]。

(10) γ-PGA 生産量測定

A-278 株（A-024: *tufA-pgdS* [*spc*], *amyE*::P_{rrnO}-*pgsBCAE* [*cat*], Δ*pgsBCAE-pgdS*）および A-306 株（A-278: $P_{abrB[\Delta SA]}$ [*erm*]）を 50 g L^{-1} グルコース添加 MMOPS 培地で 24 時間培養した。得られた培養上清をサイズ排除クロマトグラフィ（SEC）カラム(TSKgel G6000PWXL + G4000PWXL; TOHSO, Tokyo, JPN)を備えた HPLC を用いて、以前に報告された方法で解析した [31]。

1.1.3 結果

(1) AbrB プロモーターの Spo0A 結合領域の欠失とそれによる MGB874 株の増殖抑制の緩和

ゲノム縮小株である MGB874 株を親株とした γ-PGA 生産株を構築すれば、その高生産が期待できる。さらなる γ-PGA 高生産化に向けては、まず MGB874 株の増殖が、ゲノム縮小前の OA105 株と比較して遅い原因を特定し、対策することが求められる。これまでに行ったトランスクリプトーム解析の結果、グルコースとアンモニアをそれぞれ単一の炭素源・窒素源とした MMOPS 最少培地において、AbrB が制御する遺伝子の発現が増加することが分かっている。MGB874 株では、ゲノム縮小によって AbrB による遺伝子抑制が一部解除され、AbrB 制御遺伝子の発現が増加し、増殖速度の低下が誘導されたと推測される（**Fig. 1A**）。そこで、*spo0A* ヌル変異株 [15]のように AbrB を高発現させることで、増殖速度の低下が緩和されると考えた。この予測に反して、Δ*spo0A* 株では増殖速度の低下は緩和されず、むしろ非常に長いラグタイムが発生するというネガティヴな影響が増大してしまった（**Fig. S1**）。また、*spo0A* の転写を活性化する *sigH* の欠損株においても、同様のラグタイムが見られ、Spo0A と SigH は MMOPS 最少培地における MGB874 株の生育に重要な役割を担っていることが示された。SigH は枯草菌の酸性／アルカリ性条件やエタノール含有条件における生存に必須であり [32]、また、Spo0A は 20℃の低温条件における最少培地での生存に必須である（**Fig. 1A**） [33]。SigH と Spo0A は様々なストレスへの適応に必要であることから、栄養源が限られた MMOPS 最少培地での生育においても重要な役割を果たしており、これら遺伝子の欠損による増殖速度の回復は困難であると考えられる。

そこで、まずは Spo0A の機能を欠失せずに AbrB の発現レベルを上げることを試みた。AbrB の発現レベルはプロモーター領域に存在する Spo0A box と呼ばれる配列に Spo0A~P が結合することで低下するため [13]、この Spo0A box を削除したプロモーター$P_{abrB(\Delta SA)}$を設計した（**Fig. 1B**）。結果として、期待通り $P_{abrB(\Delta SA)}$を導入した MGB874 株の増殖速度は、ゲノム縮小前の親株である OA105 株のレベルまで回復した（**Fig. 2**）。

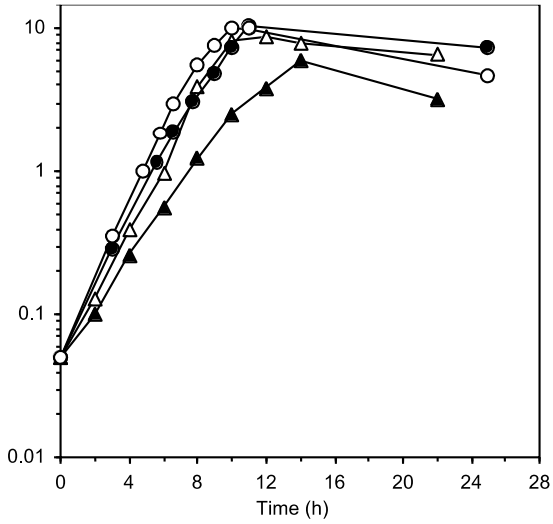


Figure 2. Growth of the wild-type and genome-reduced strain and their $P_{abrB(\Delta SA)}$-introduced derivatives.

Growth curves of the wild-type strain (OA105, closed circles [●]) and its $P_{abrB(\Delta SA)}$ derivative (OA190, open circles [○]), the genome-reduced strain (MGB874, closed triangles [▲]) and its $P_{abrB(\Delta SA)}$ derivative (OA191, open triangles [△]) grown in the minimal medium containing 10 g L^{-1} glucose are shown.

(2) $P_{abrB(\Delta SA)}$導入による AbrB の恒常的発現とそれによる AbrB 制御遺伝子の発現抑制

最少培地における MGB874 株では、Spo0A の発現により AbrB の転写が一部抑制され、それによって AbrB 制御遺伝子が多数誘導され、対数増殖期の細胞に負荷がかかり、増殖速度が低下すると予測した。前述したとおり、Spo0A-box を欠失した $P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によって増殖速度の回復を実現したが、実際に AbrB が高発現するかを確認するために、20 g L^{-1} グルコースを含む MMOPS 最少培地において、LacZ assay を用いて AbrB プロモーター活性をモニタリングした。ゲノム上の *amyE* 領域に、野生型の $P_{abrB(W)}$と *lacZ* を融合したカセット（$P_{abrB[W]}$-*lacZ*）と、$P_{abrB(\Delta SA)}$と *lacZ* を融合したカセット（$P_{abrB[\Delta SA]}$-*lacZ*）を導入し、その活性を比較した（**Fig. 3A**）。結果として、対数増殖期において $P_{abrB(W)}$-*lacZ* の活性は低いレベルで維持されたのに対し、$P_{abrB(\Delta SA)}$-*lacZ* の活性は増加した。このことから、最少培地では Spo0A の活性化によって $P_{abrB(W)}$を抑制するが、$P_{abrB(\Delta SA)}$では Spo0A box の欠失によってその抑制が誘導されないことが示された。

つづいて、$P_{abrB(\Delta SA)}$による *abrB* の高レベルの転写が、AbrB 制御遺伝子の抑制に十分かどうかを調べるために、AbrB 制御遺伝子のひとつで抗菌物質 SDP の生産に関与する *sdpA* [34]のプロモーター活性を、$P_{abrB(W)}$野生型株と $P_{abrB(\Delta SA)}$導入株との間で比較した（**Fig. 3B**）。$P_{abrB(W)}$野生型株では、対数増殖期の後半（10 時間後）から $P_{abrB(W)}$-*lacZ* の転写は誘導されるが低いために、P_{sdpA}-*lacZ* の転写は大きく誘導された。つまり、$P_{abrB(W)}$野生型株において AbrB は発現するが、そのレベルは低いために *sdpA* 遺伝子は発現することが示された。一方、$P_{abrB(\Delta SA)}$導入株では、$P_{abrB(\Delta SA)}$-*lacZ* の転写レベルは約 6.7 倍に増大し（**Fig. 3A**）、P_{sdpA}-*lacZ* の転写は定常期に入ってもほぼ完全に抑制され続けた（**Fig. 3B**）。このように $P_{abrB(\Delta SA)}$導入株では、AbrB がその制御遺伝子のひとつである *sdpA* 遺伝子の発現を抑制するのに十分なレベルで高発現していることが示された。

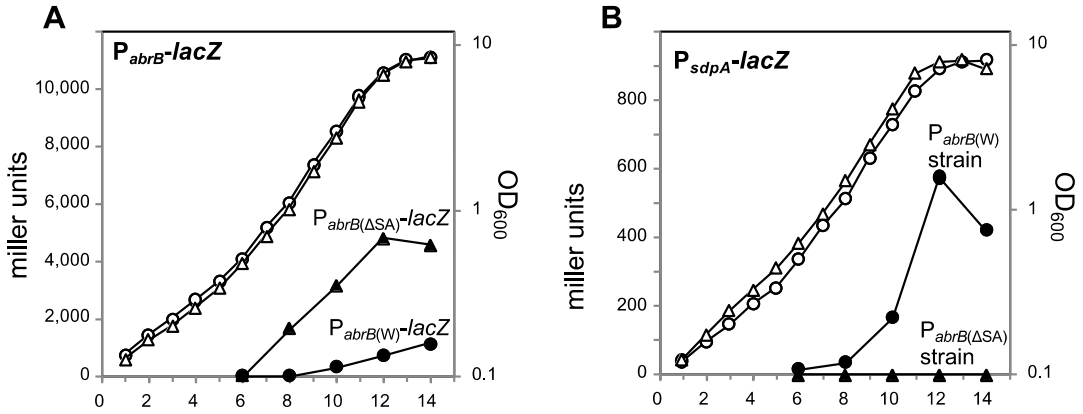


Figure 3. Effect of deletion of the Spo0A binding sequence at the abrB promoter.

(A and B) LacZ assay of OA105-derived strains cultured in the minimal medium containing 20 g L^{-1} glucose. (A) The expression of $P_{abrB(W)}$-*lacZ* (OA124, closed circles [●]) and $P_{abrB(\Delta SA)}$-*lacZ* (OA125, closed triangles [▲]) and the growth of the OA124 (open circles [○]) and OA125 (open triangles [△]) strains carrying these promoter fusions are shown. (B) The expression of P_{sdpA}-*lacZ* in $P_{abrB(W)}$ (OA131, closed circles [●]) and $P_{abrB(\Delta SA)}$ (OA137, closed triangles [▲]) and the growth of the OA131 (open circles [○]) and OA137 (open triangles [△]) strains carrying these promoter fusions are shown.

(3) $P_{abrB(\Delta SA)}$導入による細胞分化遺伝子の発現抑制

さらに、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によって、様々な細胞分化遺伝子が抑制されるかを確認した。枯草菌における細胞分化は、一部の細胞がそれぞれ、運動性、細胞外マトリックス産生、

胞子形成、コンピテンスなどの各表現型に特異的な遺伝子を発現することで、異なる機能を持つ細胞へと分化する [10] [11] [12]。そこで、GFP レポーターアッセイを用いて、それぞれの特異的な細胞分化遺伝子のプロモーター活性が $P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によって抑制されるかを観察した。運動性、細胞外マトリックス、胞子、コンピテンスの誘導においてのみ特異的に発現する *hag*、*tapA*、*sspB*、*comG* のプロモーター（**Fig. 1A**）と *gfp* を融合したカセット（P_{hag}-*gfp*、P_{tapA}-*gfp*、P_{sspB}-*gfp*、P_{comG}-*gfp*）を *amyE* 領域にそれぞれ導入し、その活性をマイクロプレートリーダーで 45 時間にわたりモニタリングした（**Fig. 4A**）。MGB874 株を親株とした場合、すべてのプロモーターにおいて、いずれも異なるタイミングで活性化が見られた（**Fig. 4A**）。一方、$P_{abrB(\Delta SA)}$を持つ場合、P_{hag}-*gfp* は低い活性を示し、また P_{tapA}-*gfp*、P_{sspB}-*gfp*、P_{comG}-*gfp* の活性はほぼ完全に抑制された（**Fig. 4B**）。

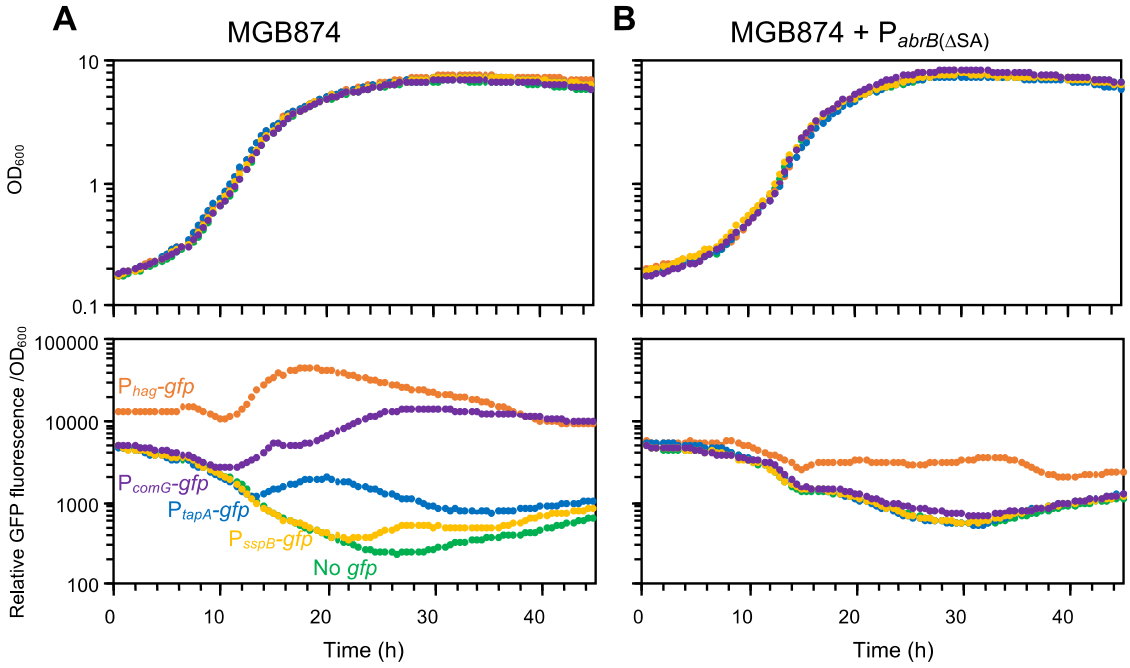


Figure 4. Effect of $P_{abrB(\Delta SA)}$ on the activities of P_{hag}-*gfp*, P_{tapA}-*gfp*, P_{sspB}-*gfp*, and P_{comG}-*gfp*.

(A) OA225 (MGB874 carrying P_{hag}-*gfp*, orange), OA226 (MGB874 carrying P_{tapA}-*gfp*, blue), OA227 (MGB874 carrying P_{sspB}-*gfp*, yellow), OA228 (MGB874 carrying P_{comG}-*gfp*, purple), and MGB874 (green) were grown in the minimal medium containing 20 g L^{-1} glucose, and the fluorescence intensity and OD_{600} were recorded every 30 min.

(B) OA229 (MGB874 carrying P_{hag}-*gfp*, $P_{abrB[\Delta SA]}$, orange), OA230 (MGB874 carrying P_{tapA}-*gfp*, $P_{abrB[\Delta SA]}$, blue), OA231 (MGB874 carrying P_{sspB}-*gfp*, $P_{abrB[\Delta SA]}$, yellow), OA232 (MGB874 carrying P_{comG}-*gfp*, $P_{abrB[\Delta SA]}$, purple), and OA191 (MGB874 carrying $P_{abrB[\Delta SA]}$, green) were grown and the fluorescence intensity and OD_{600} were recorded as in panel (A).

なお、細胞分化はすべての細胞で一様に誘導されるものでない [10]。そこで、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によって、細胞分化が誘導されている細胞の割合がどのように変化するかをフローサイトメトリー解析によって調べた。細胞分化遺伝子のプロモーター活性を持つ細胞の割合を解析したところ、MGB874 株では、細胞集団の半分以上において P_{hag}-*gfp* の活性化が見られ、また、細胞集団のごく一部において P_{tapA}-*gfp*、P_{sspB}-*gfp*、P_{comG}-*gfp* の活性化が見られた（**Fig. 5**）。一方で、$P_{abrB(\Delta SA)}$を持つ場合、全てのプロモーターにおいてそれらのヒストグラムは単一のピークを示した。このことから、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によって、細胞分化がほぼ完全に抑制され、枯草菌 MGB874 株は均質な未分化細胞集団となることが示唆された。

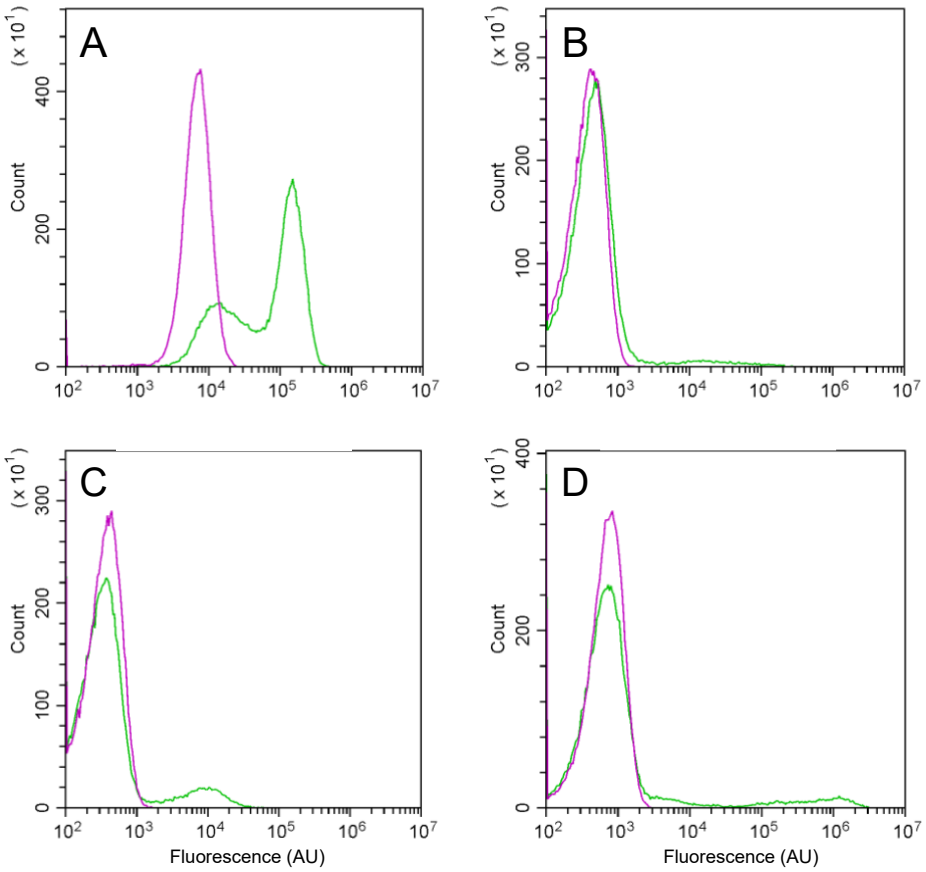


Figure 5. Flow cytometric analysis of the expression of P_{hag}-*gfp* (A), P_{tapA}-*gfp* (B), P_{sspB}-*gfp* (C), and P_{comGA}-*gfp* (D) in MGB874 (green line) and its $P_{abrB(\Delta SA)}$-derivative (purple line).

Cells were cultured as described in the legend to Fig. 4 for 20 h (A and B) or 30 h.

(4) $P_{abrB(\Delta SA)}$導入による MGB874 株における中枢代謝経路遺伝子の転写減少の回復

これまでの実験結果から、MGB874 株では、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によって複数の細胞分化遺伝子の発現が抑制され、均質な未分化細胞集団となったことで、増殖速度が回復したと考えられる。しかし、増殖速度回復の具体的な要因は分かっておらず、その要因の解明が求められる。また、細胞分化の抑制が γ-PGA の高生産に繋がるかも定かでなく、その検証が必要である。そこで、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入が細胞内全体の転写にどのような影響を及ぼすかを、タイリングアレイ法によるトランスクリプトーム解析により調べ、増殖速度回復の要因の考察と γ-PGA 高生産に向けた検証を行った。

Fig. 6 は OA105 株、MGB874 株およびそれぞれの $P_{abrB(\Delta SA)}$導入株について、10 g L^{-1} グルコースを含む MMOPS 最少培地での対数増殖期の細胞における全遺伝子の転写レベルを表したものである。まず、増殖速度低下の要因となったゲノム縮小が細胞内の転写にどのような影響を及ぼすかを検証した。MGB874 株と OA105 株のトランスクリプトームプロファイルを比較すると、MGB874 株では、AbrB 制御遺伝子の多くで発現レベルが高く、中枢代謝経路（CMP）に関与する遺伝子の多くでその発現レベルは低かった（**Fig. 6A**）。また、AbrB 制御遺伝子の全体的な転写レベルの差は、MGB874 株と OA105 株の間で統計的に有意ではなかったものの（**Fig. 6E**）、MGB874 株における AbrB 制御遺伝子の 21%は高い転写レベルを示した（**Table S3**）。一方で、CMP 遺伝子の全体的な転写レベルは、MGB874 株において有意に低く（**Fig. 6F**）、CMP 遺伝子の 21%は低い転写レベルを示した（**Table S3**）。

本研究では、細胞の増殖に必要な要素を作るために最も重要な経路として、解糖系、ペントースリン酸経路（PPP）、TCA サイクル（ピルビン酸脱炭酸反応を含む）、糖新生、オーバーフロー代謝を中枢代謝経路（CMP）として扱う。MGB874 株において、CMP 遺伝子の転写レベルの低下が見られたことから、増殖速度の低下は CMP 遺伝子の発現低下によるものと考えられた。また、γ-PGA は CMP である解糖系、TCA サイクルを介して生産される。このことから、CMP 遺伝子の発現低下は、γ-PGA 生産にもネガティヴな影響を与えることが示唆された。

すでに述べた通り、MGB874 株に $P_{abrB(\Delta SA)}$を導入すると、その増殖がゲノム縮小前（OA105 株）のレベルにまで回復した（**Fig. 2A**）。この導入によって、AbrB 制御遺伝子と CMP 遺伝子の全体の転写レベルに統計的に有意な差が生じ（**Figs. 6E**, **6F**）、親株の MGB874 株と比較して $P_{abrB(\Delta SA)}$導入株では、AbrB 制御遺伝子の 54%が発現低下し、CMP 遺伝子の 21%が発現増加した（**Table S3**, **Figs 6B**, **6E**, **6F**）。

さらに、発現変動（DE）遺伝子の遺伝子セットエンリッチメント解析では、様々な代謝経路の濃縮が検出された（$p = 3.0 \times 10^{-4}$）。野生型株（MGB874 株）と $P_{abrB(\Delta SA)}$導入株（OA191 株）のボルケーノプロットでは、CMP に関与する遺伝子をドットで色分けしている（**Fig. 7C**）。$P_{abrB(\Delta SA)}$導入株において、発現量の増加が統計的に有意であったのは、解糖系の 5 つの遺伝子（*ptsG*, *pfkA*, *tpi*, *pgk*, *pgm*）、ピルビン酸脱炭酸反応の 2 つの遺伝子（*pdhA*, *pdhB*）、糖新生の 1 つの遺伝子（*malS*）、酢酸オーバーフローの 1 つの遺伝子（*ackA*）の計 9 つの遺伝子のみであったが、発現量の増加はほとんどの CMP 遺伝子で見られた（**Figs 6B, 7A and 7C**）。$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によって、MGB874 株の増殖速度が回復したのは、CMP 遺伝子の発現レベルの増加によるものと考えられ、解糖系と TCA サイクルを介して生産される γ-PGA の高生産にも繋がることが示唆された。

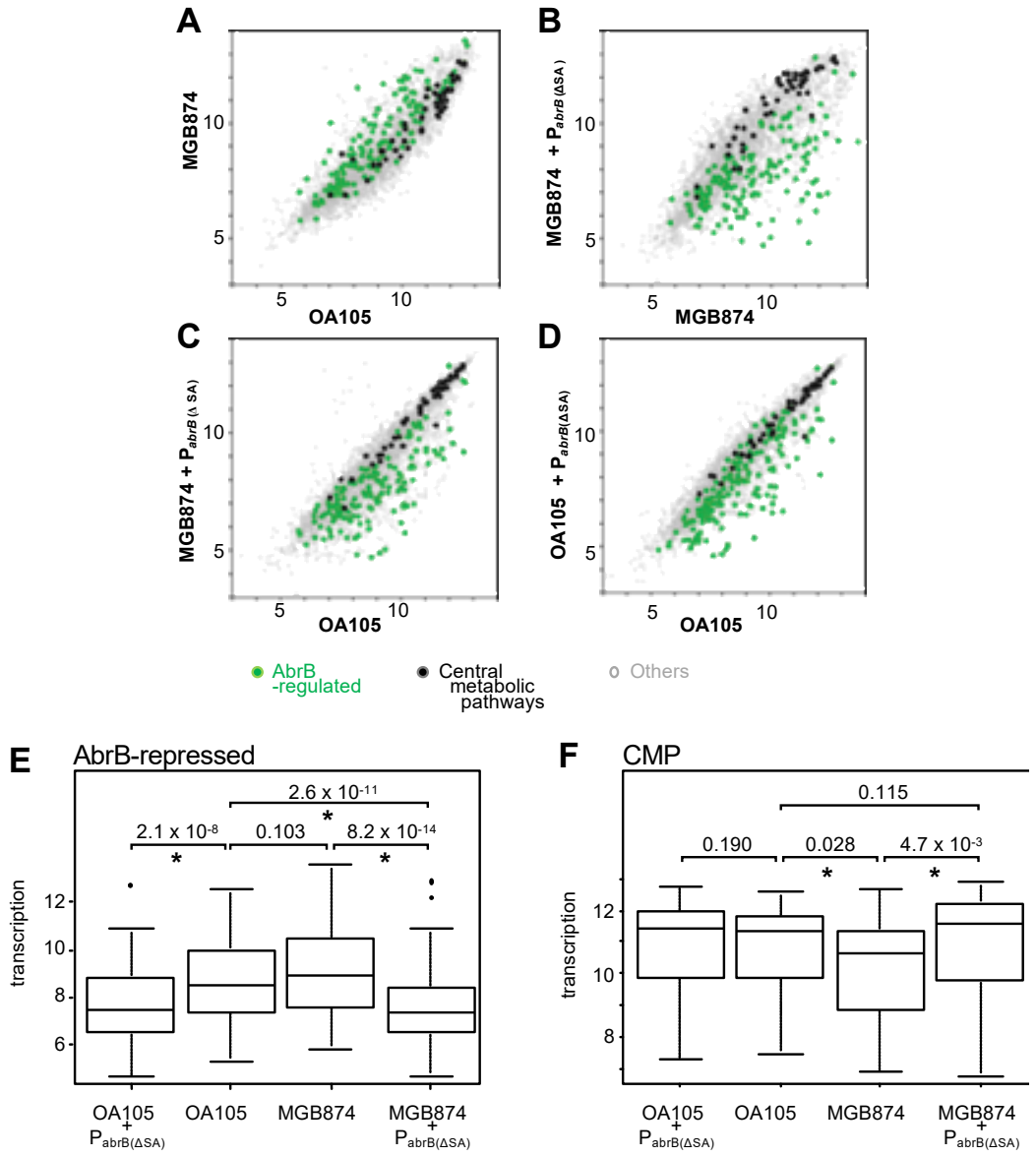


Figure 6. Comparison of the transcriptome profiles of AbrB-regulated and CMP genes between OA105 and MGB874 with or without the $P_{abrB(\Delta SA)}$ mutation.

(A–D) Scatter plots (log_2 scale) of the transcriptional signals of each gene. AbrB-regulated (green) and CMP (black) genes are shown as colored dots. The other genes are shown as gray dots. (A) Scatter plots of OA105 and MGB874 cells. (B) Scatter plots of the MGB874 and MGB874 containing $P_{abrB(\Delta SA)}$ strains (OA191). (C) Scatter plots of the OA105 and MGB874 containing $P_{abrB(\Delta SA)}$ strains (OA191). (D–F) Box plots (log_2 scale) of transcription levels of AbrB-regulated and CMP genes in the OA105, MGB874, OA105 containing $P_{abrB(\Delta SA)}$ (OA190), and MGB874 containing $P_{abrB(\Delta SA)}$ (OA191) strains. Whiskers show minimum and maximum values, boxes represent the 25–75% data ranges, and horizontal lines within boxes are medians. P values calculated with one-sided Mann–Whitney *U* test are shown. P values lower than 0.05 were considered to be significantly different (marked with an asterisk).

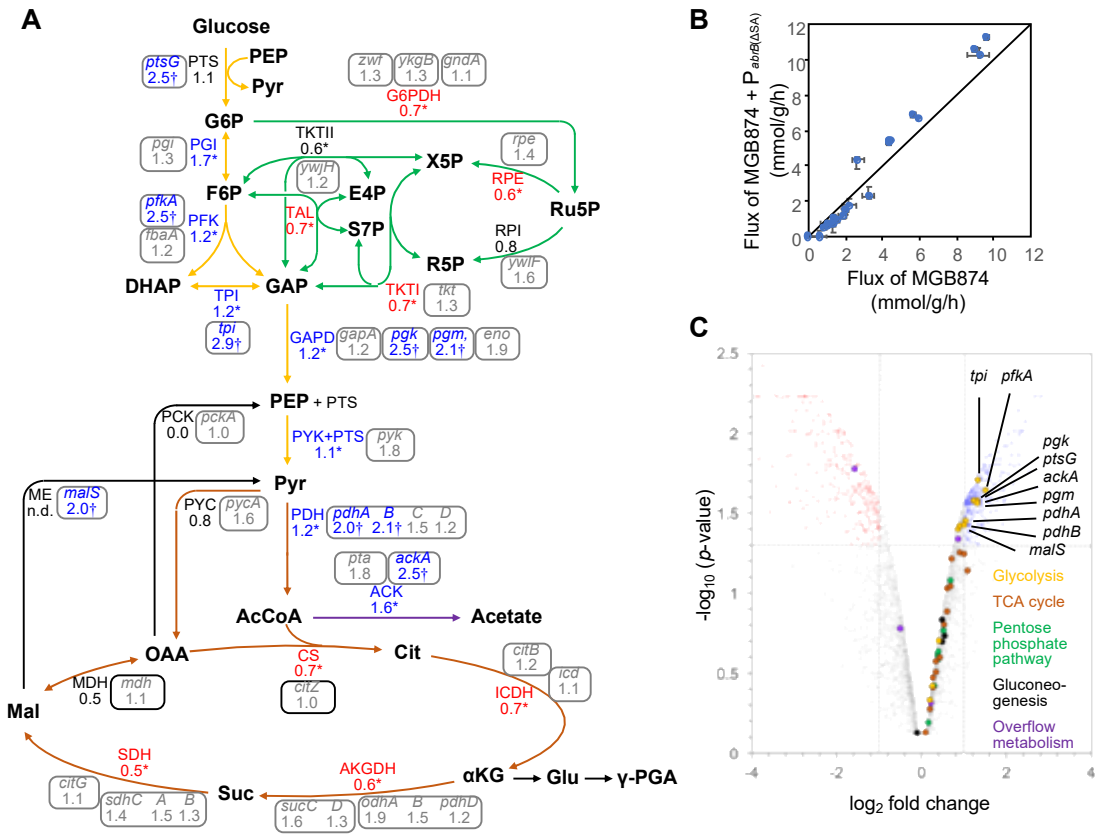


Figure 7. Metabolic flux distributions in the CMP in exponentially growing cells cultured in the minimal medium containing 10 g L^{-1} glucose in MGB874 and its $P_{abrB(\Delta SA)}$-introduced derivative (OA191).

(A) Relative values of the absolute flux values (mmol g^{-1} DCW h^{-1}) of OA191 compared to those of MGB874 are shown beside the flux of the pathway indicated by the arrow. Asterisks indicate significant differences because the 95% confidence interval does not overlap between the strains. Relative value of malic enzyme (ME) is shown as "n.d." because both flux values are zero. The enzymes catalyzing each reaction in the pathways were assigned according to the *SubtiWiki* database, and the fold change (without $\log_2$ transformation) in the transcription levels of the genes in OA191 compared with those in MGB874 are shown in enclosed boxes. Differentially expressed genes, as judged by a volcano plot in panel C, are marked with a dagger (†). The metabolite abbreviations are as follows: G6P, glucose-6-phosphate; F6P, fructose-6-phosphate; DHAP, dihydroxyacetone-3-phosphate; GAP, glyceraldehyde-3-phosphate; PEP, phosphoenolpyruvate; Pyr, pyruvate; Ru5P, ribulose-5-phosphate; X5P, xylulose-5-phosphate; R5P, ribose-5-phosphate; E4P, erythrose-4-phosphate; S7P, sedoheptulose-7-phosphate; AcCoA, acetyl-CoA; Cit, citric acid; αKG, α-ketoglutaric acid; Suc, succinic acid; Mal, malic acid; OAA, oxaloacetic acid; Glu, glutamic acid. (B) Absolute flux values (mmol g^{-1} DCW h^{-1}) in the CMP of MGB874 compared to those of the $P_{abrB(\Delta SA)}$ strain using scatter plots. (C) Volcano plot analysis of the gene expression levels between MGB874 and OA191. Dots for genes involved in glycolysis, pentose phosphate pathway, TCA cycle, gluconeogenesis, and overflow metabolism in the CMP are separately colored as indicated in the inset. Genes with $\log_2$ fold change ≥ 1 (upregulated) or ≤ 1 (downregulated) and $p < 0.05$ were considered to be differentially expressed.

(5) $P_{abrB(\Delta SA)}$導入による MGB874 株における解糖系フラックスの増大

$P_{abrB(\Delta SA)}$による転写の変化、特に CMP 遺伝子の転写レベルの増大に伴って、その代謝はどのように変化するかを調べるため、MGB874 株と $P_{abrB(\Delta SA)}$導入株の ^{13}C-代謝フラックス解析も同時に実施した。フラックス最適化後の質量アイソトポマー分布（MIDs）の実測値とシミュレーション値の間の残差平方和は、MGB874 株で 65.5、$P_{abrB(\Delta SA)}$変異株で 87.1 であった。適合度のカイ二乗検定の閾値は 118.8（独立データ数 111、反応モデルの自由度 16）であり、推定フラックス分布は実測 MIDs を説明できることが示唆された。CMP のフラックス分布を **Fig. 7A** に、関連する 95%信頼区間を **Table S6** に示す。$P_{abrB(\Delta SA)}$導入株では、特に解糖系フラックスの増大が見られ、例えば、解糖系の上流のグルコース-6-リン酸のイソメラーゼ反応においては、MGB874 株では 2.3 - 3.0 mmol g-DCW^{-1} h^{-1} であったのに対し、$P_{abrB\ (\Delta SA)}$導入株では 3.8 - 4.5 mmol g-DCW^{-1} h^{-1} と増大していることが示された。また、$P_{abrB(\Delta SA)}$導入株では、ピルビン酸脱炭酸反応と酢酸オーバーフローにおける代謝フラックスの増大も見られた（**Fig. 7A**, **Table 1**）。そして、これらフラックスの増大は、エンリッチメント解析で見出された優位な変化ともほとんど一致する（**Fig. 7C**）。

一方で、$P_{abrB(\Delta SA)}$導入株の PPP および TCA サイクルのフラックスの値は低下した。なお、これらの経路の遺伝子の転写量は、$P_{abrB(\Delta SA)}$導入株の方が高レベルであったものの統計的に有意な差は見られなかった。これらのことから、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入は PPP や TCA サイクルよりも、解糖系、ピルビン酸脱炭酸反応、酢酸オーバーフローのフラックスの増大を引き起こすことが示された。

Table 1. Growth rate and glucose uptake, acetate production, and succinate production of MGB874 and its $P_{abrB(\Delta SA)}$ strains.

Strain	Growth rate (h^{-1}) (1)	Specific rate (mmol g-DCW^{-1} h^{-1}) (2)		
		Glucose uptake	Acetate production	Succinate production
MGB874	0.46 ± 0.01	5.9 ± 0.7	2.7 ± 0.6	0.2 ± 0.1
OA191 (MGB874: $P_{abrB(\Delta SA)}$)	0.51 ± 0.04	6.7 ± 0.9	4.4 ± 0.2	0.2 ± 0.0
p-value	0.054	0.15	4.8×10^{-3}	0.81

(1) The growth characteristics of the indicated strains in the minimal medium containing 10 g L^{-1} glucose over 5–6 h.

(2) The data are presented as the mean ± SD (n = 3).

(6) $P_{abrB(\Delta SA)}$導入によるプリン/ピリミジンヌクレオチドとアミノ酸の合成に関与する遺伝子の転写の増大

また、機能的エンリッチメント解析の結果、プリン代謝、ピリミジン代謝（それぞれ $p = 1.6 \times 10^{-5}, 3.3 \times 10^{-6}$）と、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸代謝（$p = 5.2 \times 10^{-5}$）の濃縮も検出された。プリン代謝により生産されるプリンヌクレオチドはアデニンとグアニン、ピリミジン代謝により生産されるピリミジンヌクレオチドはシトシンとチミン（ウラシル）であり、DNA および RNA を構成する要素である。また、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸を含むアミノ酸は、細胞壁やタンパクを構成する要素である。すなわち、プリン/ピリミジンヌクレオチドとアミノ酸（特に γ-PGA を構成するグルタミン酸）は、細胞の増殖と γ-PGA 生産に重要な要素であり、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によるこれら遺伝子の発現増大が、増殖速度の回復の要因と考えられるとともに、γ-PGA 生産量の増大にも繋がることが示唆された。

そこで、アミノ酸とプリン/ピリミジンヌクレオチドの生合成に関わる遺伝子の転写プロファイルを、散布図（**Figs. 8A-D**）、転写変化全体の統計的評価（**Figs. 8E-G**）、ボルケーノプロット（**Fig. 8H**）を用いて比較検討した。全体的な傾向は、CMP 遺伝子の転

写変化で見出されたものと同様であった。いずれの場合も、MGB874 株ではゲノム縮小前の OA105 株と比較して全体の転写レベルが有意に低く、プリン、ピリミジン、アミノ酸の生合成に関与する遺伝子のうち、それぞれ 80%、83%、30%の遺伝子が低い転写レベルを示した（**Table S3**）。さらに、MGB874 株に $P_{abrB(\Delta SA)}$を導入すると、これら遺伝子群の全体の転写レベルは OA105 株のレベルまで回復し（**Figs 8E-8G**）、プリン、ピリミジン、アミノ酸の生合成の遺伝子のうち、それぞれ 85%、67%、33%の遺伝子が高い転写レベルを示した（**Table S3**）。

以上の結果から、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入による増殖速度の回復は、プリン／ピリミジンヌクレオチドとアミノ酸の生合成遺伝子の発現レベルの増大によるものと考えられる。そして特に、グルタミン酸代謝遺伝子の発現レベルが統計的に優位に増大したことからも、γ-PGA 生産の増大に繋がることが示唆された。

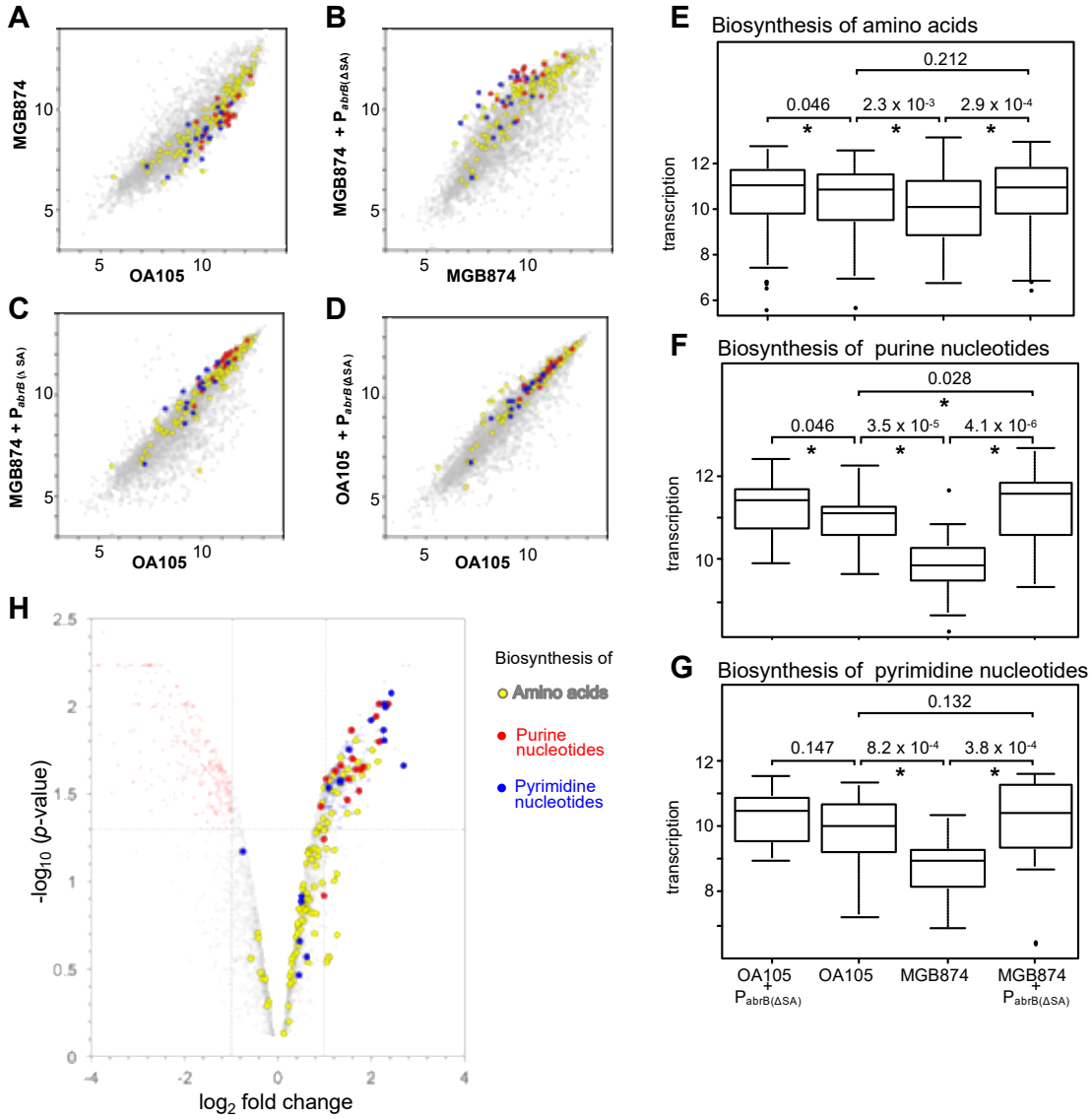


Figure 8. Comparison of transcriptome profiles of genes involved in the biosynthesis of amino acids and purine/pyrimidine nucleotides.

(A–D) Scatter plots ($\log_2$ scale) of the transcriptional signals of each gene. Genes involved in the biosynthesis of amino acids and purine and pyrimidine nucleotides are indicated by yellow, red and blue dots, respectively (CMP genes are included in "other genes"). (D–F) Box plots ($\log_2$ scale) of transcription levels of genes involved in the biosynthesis of amino acids and purine and pyrimidine nucleotides. Details are the same as described in the legend for Fig. 6D–F. (G) Volcano plot analysis of the gene expression levels between MGB874 and OA191. The genes involved in the biosynthesis of amino acids and purine and pyrimidine nucleotides are colored as in panels (A)-(C).

(7) $P_{abrB(\Delta SA)}$導入による γ-PGA 生産量の増大

枯草菌では、グルコースを炭素源とした場合、解糖系、TCA サイクル、グルタミン酸合成経路を介して生産されるグルタミン酸が重合することで、γ-PGA が合成される。$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によって、解糖系とピルビン酸脱炭酸反応では、転写量の統計的に優位な増大と代謝フラックスの増大、TCA サイクルでは転写量の増大、グルタミン酸合成経路では転写量の統計的に優位な増大が見られた。これらの結果から、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によって、γ-PGA の高生産化が実現し得ることが示唆された。

そこで、MGB874 株に、グルタミン酸から γ-PGA を合成する酵素遺伝子 *pgsBCAE* を新たに導入し、γ-PGA 生産株を構築した。その結果、50 g L^{-1} グルコースを含む MMOPS 最少培地で 24 時間培養後、2.2 g L^{-1} の γ-PGA が生産された（**Table 2**）。さらに、$P_{abrB(\Delta SA)}$を導入すると γ-PGA 生産量は 4.1 g L^{-1} と約 1.9 倍に増大し、また、OD_{600} あたりの γ-PGA 生産量（γ-PGA 生産効率）も約 1.8 倍に増大した。このように、AbrB の恒常的発現により、γ-PGA の生産性が飛躍的に向上した枯草菌株の構築に成功した。

Table 2. γ-PGA production in MGB874 and its $P_{abrB(\Delta SA)}$ derivative.

Strain	γ-PGA production (1)	
	g L^{-1}	g L^{-1} OD_{600}^{-1}
A-278 (MGB874: γ-PGA production genes (2))	2.2 ± 0.1 (100)	0.25 ± 0.014 (100)
A-306 (MGB874: γ-PGA production genes, $P_{abrB(\Delta SA)}$)	4.1 ± 1.4 (189)	0.45 ± 0.032 (182)
p-value	0.042	9.8×10^{-4}

(1) The data are presented as means ± SD (n = 3). Relative γ-PGA production compared to that of A-278 are indicated in parentheses.

(2) P_{rrnO}-*pgsBCAE* (to overexpress the γ-PGA synthase genes) and *tufA-pgdS* (to overexpress a γ-glutamyl hydrolase gene to decrease culture viscosity and increase γ-PGA productivity) are inserted in the *amyE* region. The *pgsBCAE-pgdS* sequence in the original chromosome region has been deleted.

1.1.4 考察

ゲノム縮小株は、有害なリスクを持つ遺伝子や重要度の低い遺伝子を取り除き、微生物が持つ物質生産能を向上させることを目的としている。実際に、ゲノム上の約 20.7% の遺伝子領域を欠失した枯草菌 MGB874 株では、セルラーゼとプロテアーゼの生産性の向上が見られている [3] [4]。しかしながら、その代償として最少培地での増殖速度の低下というネガティヴな表現型が見られた。AbrB が制御する細胞分化に関連する遺伝子がゲノム縮小前よりも高発現したことから、細胞分化誘導によって細胞に負荷がかかっていることが示唆され、それによって増殖速度の低下、さらには γ-PGA を含む物質生産能の低下にまで繋がる可能性が考えられた。MGB874 株では、AbrB 自体の転写レベルの変化は見られなかったことから（**Table S3**）、AbrB 制御遺伝子の発現増大は、セリン・スレオニンキナーゼによる AbrB のリン酸化 [35]、あるいは AbrB の抑制因子である AbbA の結合 [36]などの AbrB 活性を低下させるメカニズムが要因となった可能性が考えられる。正確な要因は明らかではないが、MGB874 株の増殖速度の低下は、一部の AbrB 制御遺伝子の高い転写レベルとそれによる細胞分化誘導が原因であると仮説を立てた。そして、この仮説を支持するように、AbrB の恒常的な発現を可能にするプロモーター$P_{abrB(\Delta SA)}$を導入すると、MGB874 株の増殖抑制は緩和された。

$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によって、様々な細胞分化遺伝子のプロモーター活性が抑制された。AbrB によって直接抑制されるプロモーターP_{tapA}-*gfp*、P_{sspB}-*gfp* だけでなく、間接的に抑制されるプロモーターP_{hag}-*gfp*、P_{comG}-*gfp* のいずれにおいても、最少培地においてその活性が抑制された。この結果は、$P_{abrB(\Delta SA)}$によって AbrB を中心とした転写ネットワークが強固に抑制され、様々な表現型を持つ細胞への分化が抑制されていることを示している。ただし、ヒストグラムから見ても明らかなように、細胞分化は細胞集団のごく一部でしか起こっておらず、$P_{abrB(\Delta SA)}$による細胞分化遺伝子の抑制が、トランスクリプトームや代謝の変化にどの程度寄与しているかは不明である。

また、P_{hag}-*gfp* においては活性が抑制されたメカニズムも不明である。P_{hag}-*gfp* で見られた二峰性の発現パターンは、P_{hag}-*yfp* を用いた枯草菌 NCBI3610 株においても報告さ

れているが [37]、この報告では、鞭毛のフィラメントの合成に必須のシャペロンタンパク質をコードする *flgN* (*yvyG*)を欠損すると、P_{hag}-*yfp* の高い方のピークのみが見られたとある。この変化は P_{hag} の活性化を担う SigD のアンチシグマ因子である FlgM の制御が変化したためと考えられている。一方、$P_{abrB(\Delta SA)}$を導入した MGB874 株では、より低い強度のピークのみが観察された。この株では *flgN*、*flgM*、*sigD* の転写量は変化しなかったことから、これらの遺伝子とは独立して P_{hag}-*gfp* が抑制されていることが示された。また、*hag* の発現制御因子である ScoC も、$P_{abrB(\Delta SA)}$変異株ではその発現レベルが高くなかったことから、ScoC も同様に P_{hag}-*gfp* の抑制に関与していないと考えられる（Fig. 1）[38]。このように、AbrB の恒常的発現によって P_{hag} の活性がどのように抑制されたかは不明であり、そのメカニズムを解明するにはさらなる研究が必要である。

以上の結果から、$P_{abrB(\Delta SA)}$導入株で見られた増殖速度の回復は、AbrB が直接または間接的に制御する細胞分化遺伝子の発現抑制によるものと考えられた。そして、細胞分化遺伝子の発現抑制に伴い、細胞増殖と物質生産に重要な遺伝子である、中枢代謝経路（CMP）遺伝子や、アミノ酸およびプリン／ピリミジンヌクレオチドの生合成に関与する遺伝子の発現が、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によってゲノム縮小前と同等レベルに回復した。また、解糖系とピルビン酸脱炭酸反応の代謝フラックスが増大していることも明らかとなった。これらの結果から、MGB874 株では AbrB 制御遺伝子の発現レベルの増大によって細胞に負荷がかかり、これら重要な代謝経路の遺伝子が抑制され、増殖速度の低下の原因となっており、さらには、物質生産能の低下に繋がることも示唆された。そして、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によって、これら経路が活性化して MGB874 株の増殖は回復したことから、増殖抑制は AbrB 制御遺伝子の発現レベルの増大によって直接的または間接的に誘導されているものであることが明らかとなった。さらに、これら活性化した経路を介して生産される γ-PGA の生産能はおおよそ倍増し、MGB874 株の細胞分化の抑制による γ-PGA の高生産化が実現した。

本研究では、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入によってグローバル転写制御因子 AbrB を恒常的に高発現し、細胞分化遺伝子の発現を抑制することで、最少培地における増殖速度の回復と γ-

PGA 生産量の向上を実現した（**Table 2**）。そして、グローバル転写制御因子によって制御される遺伝子群を強力に抑制することは、細胞の負荷を軽減し、高い物質生産性を実現するための有効な戦略であることが示された。これは、不要な遺伝子が半端に残っていたり、転写ネットワークが乱れていたりするゲノム縮小株だけでなく、様々な細菌種による有用物質の高生産において生じるであろう、転写ネットワークの乱れなどにも有効だと考えられ、バクテリアによる有用物質生産において、極めて重要な技術となることが期待される。

Supplement Data

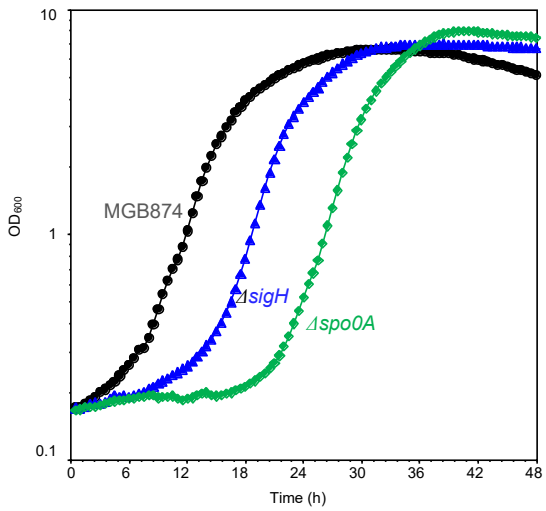


Figure S1 Growth of genome reduction strain (MGB874) and MGB874-derived Δ*sigH* strain and Δ*spo0A* strain.

The cells were aerobically cultured in the minimal medium containing 20 g L^{-1} glucose in 96-well plate at 37˚C using microplate reader (Synergy H1, TioTek) to automatically measure OD_{600} for 48 hours.

Table S1 Strains and plasmids.

Strains & plasmids	Genotype and comments	Transformation	Reference
Strains			
168	*trpC2*		Laboratory stock
OA105	168: ΔSPβ, ΔPBSX, *Δskin*, *Δpps*, *Δpks*, Δpro1–7, *trp+*		[16]
MGB874	Genome reduction strain		[3]
A-024	MGB874: *trp+*	PCR → MGB874	This study
JA007	A-024: *Δspo0A* (*cat*)	PCR → MGB874	This study
JA008	A-024: *ΔsigH* (*cat*)	PCR → MGB874	This study
OC014	168: *amyE* :: *lacZ* (*cat*)	pDL2 → 168	This study
OA020	168: $P_{abrB(\Delta SA)}$ (*cat*)	PCR → 168	This study
OA021	168: *amyE* :: $P_{abrB(W)}$-*lacZ* (*spc*)	PCR → OC014	This study
OA022	168: *amyE* :: $P_{abrB(\Delta SA)}$-*lacZ* (*spc*)	PCR → OC014	This study
OA028	168: *amyE* :: P_{sdpA}-*lacZ* (*spc*)	PCR → OC014	This study
OA034	168: *amyE* :: P_{sdpA}-*lacZ* (*spc*), $P_{abrB(\Delta SA)}$ (*cat*)	OA028 → OA020	This study
OA123	OA105: $P_{abrB(\Delta SA)}$ (*cat*)	OA020 → OA105	This study
OA124	OA105: *amyE* :: $P_{abrB(W)}$-*lacZ* (*spc*)	OA021 → OA105	This study
OA125	OA105: *amyE* :: $P_{abrB(\Delta SA)}$-*lacZ* (*spc*)	OA022 → OA105	This study
OA131	OA105: *amyE* :: P_{sdpA}-*lacZ* (*spc*)	OA028 → OA105	This study
OA137	OA105: *amyE* :: P_{sdpA}-*lacZ* (*spc*), $P_{abrB(\Delta SA)}$ (*cat*)	OA034 → OA105	This study
OA190	OA105: $P_{abrB(\Delta SA)}$ (*erm*)	pCm::Em → OA123	This study
OA191	A-024: $P_{abrB(\Delta SA)}$ (*erm*)	OA190 → MGB874	This study
OA224	A-024: *amyE*:: *gfp* (*cat*)	PCR → MGB874	This study
OA225	A-024: *amyE*:: P_{hag}-*gfp* (*spc*)	PCR → OA224	This study
OA226	A-024: *amyE*:: P_{tapA}-*gfp* (*spc*)	PCR → OA224	This study
OA227	A-024: *amyE*:: P_{sspB}-*gfp* (*spc*)	PCR → OA224	This study
OA228	A-024: *amyE*:: P_{comGA}-*gfp* (*spc*)	PCR → OA224	This study
OA229	A-024: $P_{abrB(\Delta SA)}$ (*erm*), *amyE*:: P_{hag}-*gfp* (*spc*)	PCR → OA224	This study
OA230	A-024: $P_{abrB(\Delta SA)}$ (*erm*), *amyE*:: P_{tapA}-*gfp* (*spc*)	PCR → OA224	This study
OA231	A-024: $P_{abrB(\Delta SA)}$ (*erm*), *amyE*:: P_{sspB}-*gfp* (*spc*)	PCR → OA224	This study
OA232	A-024: $P_{abrB(\Delta SA)}$ (*erm*), *amyE*:: P_{comGA}-*gfp* (*spc*)	PCR → OA224	This study
A-278	A-024: *tufA-pgdS* (*spc*), *amyE*::P_{rrnO}-*pgsBCAE* (*cat*), *ΔpgsBCAE-pgdS*	PCR → A-024	This study
A-306	A-024: *tufA-pgdS* (*spc*), *amyE*::P_{rrnO}-*pgsBCAE* (*cat*), *ΔpgsBCAE-pgdS*, $P_{abrB(\Delta SA)}$ (*erm*)	OA190 → A-278	This study
A-001	168: *trp+*	PCR → 168	This study
A-395	A-001: $P_{abrB(\Delta SA)}$ (*erm*)	OA190 → A-001	This study
plasmids			
pDL2	An integration vector at *amyE* in *B. subtilis* with *amyE*3', *cat*, cloning sites, *lacZ* and *amyE*5'.		[39]
pCm::Em	pUC18 with the insertion of *erm* gene in the middle of *cat* gene.		Yoshimura and Ogasawara, unpublished

Table S2 Primers

Primer name	Sequence	Template for PCR	Reference
***Δspo0A* (*cat*)**			
spo0A-1s	ACGGTTATTGATGATGACAAAGTAG	168 genome	
spo0A-1f	CAAAAGGAATGGTGTTGAAAATTAC	168 genome	
spo0A-1r	GCTCTTCTGGTGGAGTCTATCC GTTTCTTCCTCCCCAAATGTAGTTAAC	168 genome	
rPCR-CmF2	GGATAGACTCCACCAGAAGAGC ATCATCGGCAATAGTTACCC	pDLT3	[40]
rPCR-CmR2	CCAGGATGTAGTATCCTTCCG CGGCGTAGAGGATCTGGAGC	pDLT3	
spo0A-2f	CGGAAGGATACTACATCCTGG GAGCTTATTAAGTGGTCATTAAATC	168 genome	
spo0A-2r	CCCTTTATATAAATAGTTTGTGTACAC	168 genome	
spo0A-2s	TTGTGAACACACAAGGCTGGGTGCC	168 genome	
***ΔsigH* (*cat*)**			
sigH-1s	CCCATGGATATCCTGTTAGTAGACG	sequencing primer	
sigH-1f	AACAGTTTTGAAGAGGCGAGAGACG	168 genome	
sigH-1r	GCTCTTCTGGTGGAGTCTATCC GCGCACGTAGATAGAAATATTATAC	168 genome	
rPCR-CmF2	GGATAGACTCCACCAGAAGAGC ATCATCGGCAATAGTTACCC	pDLT3	[40]
rPCR-CmR2	CCAGGATGTAGTATCCTTCCG CGGCGTAGAGGATCTGGAGC	pDLT3	
sigH-2f	CGGAAGGATACTACATCCTGG ATTCGCGAAATCAGTTTGTAATAGG	168 genome	
sigH-2r	TATGATCTATTATAGCACGTATTGC	168 genome	
sigH-2s	AAATAGGCGGCAAGCCTATGATAAC	168 genome	
$P_{abrB(\Delta SA)}$ (*cat*)			
metS-check-F	AAGATAGATGTCCCCGTTATCAAGAAGC	168 genome	
Dspo0Abox-FF	TTTGAATATCTGCCGCTGCGCGATC	168 genome	
Dspo0Abox-FR	GCTCTTCTGGTGGAGTCTATCC TGATTATATACGACAAAATTCGAC	168 genome	
rPCR-CmF2	GGATAGACTCCACCAGAAGAGC ATCATCGGCAATAGTTACCC	pDLT3	[40]
rPCR-CmR2	CCAGGATGTAGTATCCTTCCG CGGCGTAGAGGATCTGGAGC	pDLT3	
Dspo0Abox-PF	CGGAAGGATACTACATCCTGG AATGAAATAAAAAACTTTGGTTCG	168 genome	
Dspo0Abox-PR	AAATCCTTACCTTCATAGCATAACAAGG	168 genome	
Dspo0Abox-BF	TATGCTATGAAGGTAAGGATTT GAAAAATATAATTTAAACAAATAAG	168 genome	
Dspo0Abox-BR	TCGAGCATTACATTTCGAAAGGCGC	168 genome	
yabC-check-R	CAAACGAGGATCAGATACGCGGCG	168 genome	
dspo0A-CF	GAAGGTAAGGATTTGAAAAATATAATTT	sequencing primer	
***amyE*::$P_{abrB(\Delta SA)}$-*lacZ* (*spc*) and *amyE*::$P_{abrB(W)}$-*lacZ* (*spc*)**			
lacZ-FF	GGGTTCGAGAGTTCCTCAGGCTGTC	OC014 genome	
lacZ-FR	CGGAAGGATACTACATCCTGG GACGCATCGTGGCCGGCATC	OC014 genome	
rPCR-specF	GGATAGACTCCACCAGAAGAGC TCGAGTTCAAAAATTATATGGAGATCTG	pJL62	[41]
rPCR-specR	CCAGGATGTAGTATCCTTCCG TCGAGGTTATTGCAATAAAATTAGCC	pJL62	
abrBP-lacZ-F	GCTCTTCTGGTGGAGTCTATCC AATGAAATAAAAAACTTTGGTTCG	168 genome	
abrBP-lacZ-R	TCCACAGTAGTTCACCACCTTT GAGATACTTATTTGTTTAAATTATA	168 genome	
lacZ-BF	AAAGGTGGTGAACTACTGTGGAAGTTAC	OC014 genome	
lacZ-BR	AGGTCAAATTCAGACGGCAAACGAC	OC014 genome	
lacZ-sR1	TGGCAACATGGAAATCGCTGATTTG	sequencing primer	
***amyE*::P_{sdpA}-*lacZ* (*spc*)**			
sdpAP-lacZ-F	GCTCTTCTGGTGGAGTCTATCC AAGTTCCCAAATTCAATTCTGG	168 genome	
sdpAP-lacZ-R	TCCACAGTAGTTCACCACCTTT GATGTAGATTACCTCCTCTAAGC	168 genome	
***amyE*:: *gfp* (*cat*)**			
amyE-gfp-FF	AATAAGGAGTGTCAAGAATGTTTGC	168 genome	
amyE-gfp-FR	CGGAAGGATACTACATCCTGG GCATACGTATCATGCGACTCTACCC	168 genome	
rPCR-CmF2	GGATAGACTCCACCAGAAGAGC ATCATCGGCAATAGTTACCC	pDLT3	[41]
rPCR-CmR2	CCAGGATGTAGTATCCTTCCG CGGCGTAGAGGATCTGGAGC	pDLT3	
gfp-F	GCTCTTCTGGTGGAGTCTATCC GGA GGTAGAAAAAATGAGTAAAGGAG	pGFPuv4	

gfp-R	CTATCACCGCCCAGCCTAAACGGAT TGTCTCATGAGCGGATACATATTTG	pGFPuv4	
amyE-gfp-BF	ATCCGTTTAGGCTGGGCGGTGATAG	168 genome	
amyE-gfp-BR	AATGGGGAAGAGAACCGCTTAAGCC	168 genome	
***amyE*:: P$_{hag}$-*gfp* (*spc*)**			
amyE-gfp-FF	AATAAGGAGTGTCAAGAATGTTTGC	168 genome	
amyE-gfp-FR	CGGAAGGATACTACATCCTGG GCATACGTATCATGCGACTCTACCC	168 genome	
rPCR-specF	GGATAGACTCCACCAGAAGAGC TCGAGTTCAAAAATTATATGGAGATCTG	pJL62	[41]
rPCR-specR	CCAGGATGTAGTATCCTTCCG TCGAGGTTATTGCAATAAAATTAGCC	pJL62	
Phag-F	GCTCTTCTGGTGGAGTCTATCC AAGCTTGGAATTGACGCCCCAAAGC	168 genome	
Phag-R	TCCTTTACTCATTTTTTCTACCTCC CTGAATATGTTGTTAAGGCACGTCC	168 genome	
gfp-F-NoTag	GGAGGTAGAAAAAATGAGTAAAGGAG	OA225 genome	
gfp-BR1	TTTGAAGTTAGCTTTGATTCCATTC	OA225 genome	
***amyE*:: P$_{tapA}$-*gfp* (*spc*)**			
PyqxM-F	GCTCTTCTGGTGGAGTCTATCC CACATTGTTTGATCATCATGCTGTC	168 genome	
PyqxM-R	TCCTTTACTCATTTTTTCTACCTCC TGTAAAACACTGTAACTTGATATG	168 genome	
***amyE*:: P$_{sspB}$-*gfp* (*spc*)**			
PsspB-F	GCTCTTCTGGTGGAGTCTATCC GCTGACGAGCCTGCTCTTACAAACG	168 genome	
PsspB-R	TCCTTTACTCATTTTTTCTACCTCC TTTTTATTTAGTATGGTTGGGTTAAC	168 genome	
***amyE*:: P$_{comGA}$-*gfp* (*spc*)**			
PcomGA-F	GCTCTTCTGGTGGAGTCTATCC CACATCTACAGTTCTGATCTATCTC	168 genome	
PcomGA-R	TCCTTTACTCATTTTTTCTACCTCC TTTCAACGCATATTGTAGAAAAAG	168 genome	
***ΔpgsBCAE-pgdS* (merker free)**			
pgs-DFl	ATCATGAACAATCCGAAGTT	MGB874	
pgs-DRl	TCTTTTTCTTTGCTTTTCGACATCTCCTTC	MGB874	
pgs-DF2	TCGAAAAGCAAAGAAAAAGACTCCAATCTC	MGB874	
pgs-DR2	CTGATTGGGTAGGATCCGCGTAATGGCGGTACGATCCACG	MGB874	
pAPNC-F	CGACAGCGGAATTGACTCAAGC	TMO310	[42]
chpA-R	CGCGGATCCTACCCAATCAGTACGTTAATTTTG	TMO310	
pgs-lF	GAGTCAATTCCGCTGTCGTCCTGCAGACAAACTGCATG	MGB874	
pgs-IR	GGACAAAAACGATCGGAATG	MGB874	
***tufA-pgdS* (*spc*)**			
tufA-lf	GTAGAACGCGGACAAGTTAAAGTCG	MGB874	
tufA-lr	TGTGTTCATTAATGTTCCCTCCTTA TTACTCAGTGATTGTAGAAACAACG	MGB874	
BSpgdS-F	TAAGGAGGGAACATTAATGAACACA CTGGCAAACTGGAAGAAGTTT	MGB874	
BSpgdS-R	GCTCTTCTGGTGGAGTCTATCC AAAAAACGAGACCCACAGGGGTCTCGTTTAATTATTGCACCC GTATACTTCCTGCGTATTT	MGB874	
rPCR-specF	GGATAGACTCCACCAGAAGAGC TCGAGTTCAAAAATTATATGGAGATCTG	pJL62	[41]
rPCR-specR	CCAGGATGTAGTATCCTTCCG TCGAGGTTATTGCAATAAAATTAGCC	pJL62	
tufA-2f	CGGAAGGATACTACATCCTGG GCTTATCTTTTTCTTGTATAATAGG	MGB874	
tufA-2r	CATAATACGTGTAAAATAAATCAGG	MGB874	
***amyE*::P$_{rrnO}$-*pgsBCAE* (*cat*)**			
amyE-UF	GGAGTGTCAAGAATGTTTGCAAAACGATTC	MGB874	
amyE-UR	ATCATCGCTCATCCATGTCG	MGB874	
amyE-PrrnO-F	GTCGACATGGATGAGCGATGATATGTATCCATATCCGAATGA AAT	RIK356 strain	[43]
PrrnO-bs-pgsR	CAGGCTATAATGAGTAACCACATTTGATATGCCTCCTAAATT TTTA	RIK356 strain	
bs-pgsF	ATGTGGTTACTCATTATAGCCTGTGCTGTC	MGB874	
bs-pgs-catR	CTAATGGGTGCTTTAGTTGAAGATTATTTATTGGCGTTTACC GGT	MGB874	
cat-F	TCTTCAACTAAAGCACCCAT	pDLT3-introduced 168genome	[40]
amyE-DR	TCAATGGGGAAGAGAACCGCTTAAGCCCGA	pDLT3-introduced 168genome	

Table S3 Comparison of transcription of CMP and AbrB-regulated genes.

Gene name	Gene symbol	Note	Deleted genes in MGB874	MGB874_s1 (A-024_s1)	MGB874_s2 (A-024_s2)	MGB874 + $P_{abrB(\Delta SA)}$_s1 (OA191_s1)	MGB874 + $P_{abrB(\Delta SA)}$_s2 (OA191_s2)	OA105	OA105 + $P_{abrB(\Delta SA)}$ (OA190)	OA191 / MGB874 (for Volcano plot)			OA191 / MGB874					MGB874 / OA105				
													1st set		2nd set			1st set		2nd set		
										log_2 fold change (average)	*p* values [1*]	DE [*2]	log_2 fold change	1.5 x [*3]	log_2 fold change	1.5 x [*3]	Reproducibly detected [*4]	log_2 fold change	1.5 x [*3]	log_2 fold change	1.5 x [*3]	Reproducibly detected
CMP genes										Upregulated		11 / 52 (21%)			Upregulated		16 / 52 (31%)			Upregulated		1 / 52 (2%)
										Downregulated		0 / 52 (0%)			Downregulated		0 / 52 (0%)			Downregulated		11 / 52 (21%)
Glycolysis																						
tpi	BSU_33920			1,239	1,780	3,963	4,571	2,897	3,564	1.52	2.0E-03	+	1.68	+	1.36	+	+	-1.23	-	-0.70	-	-
pfkA	BSU_29190			801	863	2,226	1,951	1,761	2,504	1.33	1.3E-03	+	1.47	+	1.18	+	+	-1.14	-	-1.03	-	-
pgk	BSU_33930			1,671	2,315	4,598	5,253	3,453	4,109	1.32	3.1E-03	+	1.46	+	1.18	+	+	-1.05	-	-0.58		
ptsG	BSU_13890			1,475	2,143	4,609	4,260	3,096	3,663	1.32	3.6E-03	+	1.64	+	0.99	+	+	-1.07	-	-0.53		
pgm	BSU_33910			2,042	2,679	4,575	5,118	3,585	4,214	1.05	6.4E-03	+	1.16	+	0.93	+	+	-0.81	-	-0.42		
mgsA	BSU_22480			376	495	913	828	964	1,220	1.01	7.4E-03	+	1.28	+	0.74	+	+	-1.36	-	-0.96	-	-
eno	BSU_33900			2,027	2,338	3,877	4,257	3,082	3,582	0.90	7.5E-03		0.94	+	0.86	+	+	-0.60	-	-0.40		
pyk	BSU_29180			1,747	2,053	3,435	3,515	2,944	3,706	0.88	8.2E-03		0.97	+	0.78	+	+	-0.75	-	-0.52		
pgi	BSU_31350			2,493	2,904	3,742	3,437	3,336	3,719	0.41	1.1E-01		0.59	+	0.24			-0.42		-0.20		
fbaA	BSU_37120			3,966	4,864	5,402	5,160	5,029	5,447	0.27	2.8E-01		0.45		0.09			-0.34		-0.05		
gapA	BSU_33940			5,996	6,894	7,081	7,757	6,049	6,932	0.21	3.7E-01		0.24		0.17			-0.01		0.19		
glcT	BSU_13880			184	198	520	390	371	528	1.24	3.2E-03	+	1.50	+	0.98	+	+	-1.01	-	-0.91	-	-
cggR	BSU_33950			2,881	1,918	2,549	2,512	2,113	2,381	0.11	fo		-0.18		0.39			0.45		-0.14		
Pentose phosphate pathway																						
rpe	BSU_15790			1,011	777	1,415	1,149	1,096	1,237	0.52	8.6E-02		0.48		0.56			-0.12		-0.50		
zwf	BSU_23850			1,218	1,623	2,045	1,713	1,773	2,079	0.41	1.6E-01		0.75	+	0.08			-0.54		-0.13		
tkt	BSU_17890			1,936	2,458	3,010	2,768	3,109	3,044	0.40	1.3E-01		0.64	+	0.17			-0.68	-	-0.34		
ykgB	BSU_13010			2,282	2,037	2,521	3,169	2,015	2,499	0.39	1.5E-01		0.14		0.64	+		0.18		0.02		
ywjH	BSU_37110			2,729	3,847	3,919	4,092	3,790	4,135	0.31	2.8E-01		0.52		0.09			-0.47		0.02		
gndA	BSU_23860			2,336	3,557	3,188	3,280	2,975	3,289	0.17	5.7E-01		0.45		-0.12			-0.35		0.26		
ywlF	BSU_36920			457	558	885	749	841	937	0.69	2.9E-02		0.96	+	0.42			-0.88	-	-0.59	-	-
TCA cycle																						
pdhB	BSU_14590			1,255	2,315	3,531	3,719	2,856	3,653	1.09	2.3E-02	+	1.49	+	0.68	+	+	-1.19	-	-0.30		
pdhA	BSU_14580			1,337	2,090	3,257	3,458	2,776	3,578	1.01	1.5E-02	+	1.28	+	0.73	+	+	-1.05	-	-0.41		
odhA	BSU_19370			1,686	2,390	3,785	3,737	2,771	2,801	0.91	1.5E-02		1.17	+	0.64	+	+	-0.72	-	-0.21		
pycA	BSU_14860			2,612	2,989	4,551	4,617	3,380	4,017	0.71	1.7E-02		0.80	+	0.63	+	+	-0.37		-0.18		
sucC	BSU_16090			2,371	3,181	4,408	4,451	3,373	3,710	0.69	3.2E-02		0.89	+	0.48			-0.51		-0.08		
pdhC	BSU_14600			2,810	3,920	4,943	5,182	4,128	4,760	0.61	5.6E-02		0.81	+	0.40			-0.56		-0.07		
sdhA	BSU_28440			1,595	1,858	2,742	2,510	1,952	2,010	0.61	3.4E-02		0.78	+	0.43			-0.29		-0.07		
odhB	BSU_19360			2,883	3,882	4,707	4,977	3,709	3,758	0.53	7.5E-02		0.71	+	0.36			-0.36		0.07		
sdhC	BSU_28450			875	793	1,347	941	1,108	1,008	0.43	1.5E-01		0.62	+	0.25			-0.34		-0.48		
sucD	BSU_16100			3,719	4,967	5,229	5,702	4,364	4,777	0.35	2.1E-01		0.49		0.20			-0.23		0.19		
sdhB	BSU_28430			2,563	2,947	3,560	3,384	2,554	2,459	0.34	1.6E-01		0.47		0.20			0.00		0.21		
pdhD	BSU_14610			4,119	5,356	5,621	5,730	4,945	5,353	0.27	2.9E-01		0.45		0.10			-0.26		0.11		
citB	BSU_18000			4,400	4,722	5,545	5,443	4,225	4,055	0.27	2.3E-01		0.33		0.20			0.06		0.16		
icd	BSU_29130			6,246	7,245	7,487	7,657	6,063	6,904	0.17	fo		0.26		0.08			0.04		0.26		
mdh	BSU_29120			6,231	6,717	6,660	6,953	5,503	6,217	0.07	fo		0.10		0.05			0.18		0.29		
citZ	BSU_29140			6,619	6,781	6,367	6,734	5,066	5,711	-0.03	fo		-0.06		-0.01			0.39		0.42		
ccpC	BSU_14140			606	490	700	560	1,082	932	0.20	4.4E-01		0.21		0.19			-0.84	-	-1.14	-	-
citG	BSU_33040			2,406	3,247	3,124	2,892	2,748	2,912	0.10	6.8E-01		0.38		-0.17			-0.19		0.24		
Gluconeogenesis																						
malS	BSU_29880			1,122	1,079	2,104	2,333	1,896	2,490	1.01	3.9E-03	+	0.91	+	1.11	+	+	-0.76	-	-0.81	-	-
glpX	BSU_37090			1,893	2,110	3,012	2,616	2,687	2,684	0.49	6.8E-02		0.67	+	0.31			-0.51		-0.35		
pckA	BSU_30560			447	440	444	407	560	490	-0.06	fo		-0.01		-0.11			-0.33		-0.35		
gapB	BSU_29020			119	101	112	94	200	263	-0.10	6.9E-01		-0.09		-0.11			-0.75	-	-0.98	-	-
yqfL	BSU_25240			349	515	664	580	632	662	0.55	9.6E-02		0.93	+	0.17			-0.86	-	-0.29		
ccpN	BSU_25250			297	410	528	455	532	483	0.49	1.1E-01		0.83	+	0.15			-0.84	-	-0.38		
fbp	BSU_40190		Deleted					344	337													
Overflow metabolism																						
ackA	BSU_29470			486	601	1,544	1,158	1,199	1,568	1.31	3.3E-03	+	1.67	+	0.95	+	+	-1.30	-	-1.00	-	-
pta	BSU_37660			862	1,000	1,842	1,561	1,765	2,119	0.87	1.0E-02		1.09	+	0.64	+	+	-1.03	-	-0.82	-	-
lctP	BSU_03060			119	2,136	154	3,566	131	158	0.56	fo		0.37		0.74	+		-0.14		4.02	+	
alsD	BSU_36000			444	291	541	262	584	755	0.07	fo		0.28		-0.15			-0.39		-1.01	-	
alsS	BSU_36010			293	181	403	130	446	511	-0.01	fo		0.46		-0.48			-0.61	-	-1.30	-	-
ldh	BSU_03050			410	5,651	264	6,009	181	270	-0.27	fo		-0.64	-	0.09			1.18	+	4.96	+	+
rex	BSU_05970			607	488	712	567	764	786	0.22	4.0E-01		0.23		0.22			-0.33		-0.65	-	
alsR	BSU_36020			350	436	259	297	247	212	-0.49	8.2E-02		-0.43		-0.55			0.50		0.82	+	
bdhA	BSU_06240	AbrB-rep		3,244	3,765	1,298	1,078	2,775	873	-1.56	8.3E-04	-	-1.32	-	-1.80	-	-	0.23		0.44		

Gene name	Gene symbol	Additional information	Deleted genes in MGB874	MGB874_s1 (A-024_s1)	MGB874_s2 (A-024_s2)	MGB874 + $P_{abrB(\Delta SA)}$_s1 (OA191_s1)	MGB874 + $P_{abrB(\Delta SA)}$_s2 (OA191_s2)	OA105	OA105 + $P_{abrB(\Delta SA)}$ (OA190)	OA191 / MGB874 (for Volcano plot) log$_2$ fold change (average)	OA191 / MGB874 (for Volcano plot) *p* values [1*]	OA191 / MGB874 (for Volcano plot) DE [*2]	OA191 / MGB874 1st set log$_2$ fold change	OA191 / MGB874 1st set 1.5 x [*3]	OA191 / MGB874 2nd set log$_2$ fold change	OA191 / MGB874 2nd set 1.5 x [*3]	OA191 / MGB874 Reproducibly detected [*4]	MGB874 / OA105 1st set log$_2$ fold change	MGB874 / OA105 1st set 1.5 x [*3]	MGB874 / OA105 2nd set log$_2$ fold change	MGB874 / OA105 2nd set 1.5 x [*3]	MGB874 / OA105 Reproducibly detected
AbrB-repressed genes										Upregulated		1 / 155 (1%)			Upregulated		1 / 155 (1%)			Upregulated		33 / 155 (21%)
										Downregulated		83 / 155 (54%)			Downregulated		94 / 155 (61%)			Downregulated		13 / 155 (8%)
abrB	BSU_00370			3,623	3,814	7,425	8,082	4,030	6,797	1.06	3.1E-03	+	1.04	+	1.08	+	+	-0.15		-0.08		
rok	BSU_14240			746	573	1,065	1,002	920	1,278	0.66	3.5E-02		0.51		0.81	+		-0.30		-0.68	-	
yvcA	BSU_34850			58	97	106	82	87	61	0.31	3.8E-01		0.87	+	-0.24			-0.59	-	0.16		
ycbE	BSU_02480			88	100	122	101	92	95	0.24	3.2E-01		0.48		0.01			-0.07		0.12		
ycbC	BSU_02460			118	147	138	167	126	133	0.21	4.2E-01		0.23		0.19			-0.09		0.23		
rqcH	BSU_15640			288	296	349	325	386	392	0.21	3.5E-01		0.28		0.13			-0.42		-0.38		
yphE	BSU_22820			764	576	1,069	543	1,298	1,098	0.20	6.2E-01		0.48		-0.09			-0.77	-	-1.17	-	-
tkmA	BSU_36260			197	123	284	106	423	404	0.16	fo		0.53		-0.20			-1.10	-	-1.79	-	-
ptpZ	BSU_36240			165	223	247	163	256	212	0.07	fo		0.58		-0.45			-0.64	-	-0.20		
epsL	BSU_34250			129	121	146	114	164	113	0.05	fo		0.17		-0.08			-0.34		-0.44		
yphF	BSU_22810			775	658	969	550	1,324	1,164	0.03	fo		0.32		-0.26			-0.77	-	-1.01	-	-
ycbD	BSU_02470			197	193	203	192	160	171	0.02	fo		0.05		-0.01			0.31		0.28		
ugd	BSU_36230			322	266	372	231	855	1,415	0.00	fo		0.21		-0.20			-1.41	-	-1.68	-	-
ctaB	BSU_14880			1,104	1,737	1,353	1,338	1,457	1,503	-0.04	fo		0.29		-0.38			-0.40		0.25		
sdpR	BSU_33790			394	192	251	267	320	245	-0.09	fo		-0.65	-	0.48			0.30		-0.74	-	
ycbG	BSU_02500			265	216	267	188	320	282	-0.09	fo		0.01		-0.20			-0.27		-0.57		
yocH	BSU_19210			6,367	5,342	4,810	6,014	6,056	7,132	-0.12	6.4E-01		-0.40		0.17			0.07		-0.18		
rocB	BSU_37770			138	143	125	122	127	97	-0.18	3.9E-01		-0.14		-0.22			0.12		0.17		
mcpA	BSU_31240			122	143	115	116	187	115	-0.19	4.0E-01		-0.08		-0.29			-0.61	-	-0.39		
yhaQ	BSU_09890			95	107	88	88	104	69	-0.20	3.8E-01		-0.12		-0.28			-0.13		0.04		
ybfQ	BSU_02330			1,035	917	902	759	993	946	-0.24	3.3E-01		-0.20		-0.27			0.06		-0.12		
ycbH	BSU_02510			187	196	178	145	186	129	-0.25	3.0E-01		-0.07		-0.44			0.01		0.08		
epsI	BSU_34290			170	175	146	143	162	132	-0.26	2.5E-01		-0.23		-0.29			0.08		0.12		
cwlS	BSU_19410			275	495	288	321	467	235	-0.28	4.4E-01		0.07		-0.62	-		-0.77	-	0.08		
rocC	BSU_37760			227	210	206	157	189	139	-0.28	2.8E-01		-0.14		-0.42			0.26		0.15		
ywbF	BSU_38340			253	312	261	200	501	369	-0.30	2.8E-01		0.05		-0.64	-		-0.99	-	-0.68	-	-
ptkA	BSU_36250			487	521	488	344	699	539	-0.30	2.9E-01		0.00		-0.60	-		-0.52		-0.42		
sdpI	BSU_33780			564	353	342	380	371	344	-0.31	3.4E-01		-0.72	-	0.10			0.60	+	-0.07		
spoIIAA	BSU_23470			1,444	2,133	1,196	1,651	1,801	2,167	-0.32	3.3E-01		-0.27		-0.37			-0.32		0.24		
tlpA	BSU_31250			158	146	117	123	129	87	-0.34	1.5E-01		-0.43		-0.25			0.29		0.18		
sinR	BSU_24610			1,073	880	859	680	1,699	1,821	-0.35	2.1E-01		-0.32		-0.37			-0.66	-	-0.95	-	-
epsD	BSU_34340			119	156	120	95	145	100	-0.35	2.2E-01		0.01		-0.71	-		-0.29		0.11		
yfmJ	BSU_07450			454	689	360	527	327	272	-0.36	3.1E-01		-0.33		-0.39			0.47		1.07	+	
epsH	BSU_34300			311	327	239	256	234	165	-0.36	1.3E-01		-0.38		-0.35			0.41		0.48		
spoIIAB	BSU_23460			1,745	2,337	1,390	1,737	1,732	2,114	-0.38	2.0E-01		-0.33		-0.43			0.01		0.43		
rocA	BSU_37780			164	201	149	126	196	177	-0.41	1.4E-01		-0.14		-0.68	-		-0.26		0.04		
ycbF	BSU_02490			250	254	182	194	185	134	-0.42	8.5E-02		-0.46		-0.39			0.43		0.46		
sigF	BSU_23450			1,649	2,206	1,245	1,622	1,524	1,843	-0.42	1.7E-01		-0.41		-0.44			0.11		0.53		
epsF	BSU_34320			142	143	117	96	141	90	-0.43	1.0E-01		-0.28		-0.58			0.01		0.03		
yqzG	BSU_24650			116	34	47	46	213	221	-0.44	fo		-1.31	-	0.43			-0.88	-	-2.64	-	-
tapA	BSU_24640			55	69	51	39	55	36	-0.45	fo		-0.11		-0.80	-		0.01		0.32		
yvcB	BSU_34840			277	838	388	313	498	226	-0.47	4.3E-01		0.48		-1.42	-		-0.84	-	0.75	+	
epsK	BSU_34265			234	230	167	163	158	119	-0.49	5.4E-02		-0.49		-0.50			0.57		0.54		
sigH	BSU_00980			2,260	2,194	1,632	1,440	2,083	1,430	-0.54	4.6E-02		-0.47		-0.61	-		0.12		0.08		
rpmGB	BSU_00990			1,328	1,312	933	882	1,326	893	-0.54	4.0E-02		-0.51		-0.57			0.00		-0.02		
epsC	BSU_34350			155	168	119	103	156	111	-0.54	4.8E-02		-0.38		-0.70	-		-0.01		0.11		
yhaP	BSU_09900			97	84	75	50	84	72	-0.56	9.7E-02		-0.36		-0.76	-		0.20		0.00		
sipW	BSU_24630			90	114	90	50	84	39	-0.60	1.4E-01		0.00		-1.20	-		0.11		0.45		
epsN	BSU_34230			171	181	126	104	161	100	-0.62	3.4E-02		-0.44		-0.80	-		0.09		0.17		
rocG	BSU_37790			280	338	234	171	263	143	-0.62	5.9E-02		-0.26		-0.99	-		0.09		0.36		
nprE	BSU_14700			122	195	121	82	169	75	-0.63	1.2E-01		-0.01		-1.25	-		-0.47		0.21		
ywbE	BSU_38350			594	725	394	447	1,382	1,362	-0.64	3.3E-02		-0.59	-	-0.70	-	-	-1.22	-	-0.93	-	-
dacF	BSU_23480			276	217	171	137	417	516	-0.68	3.9E-02		-0.69	-	-0.66	-	-	-0.60	-	-0.94	-	-
epsJ	BSU_34280			136	157	108	77	160	97	-0.68	4.4E-02		-0.34		-1.02	-		-0.23		-0.03		
ahpT	BSU_14230			383	479	283	250	395	341	-0.69	2.9E-02		-0.44		-0.94	-		-0.04		0.28		
epsG	BSU_34310			102	111	65	66	100	66	-0.69	1.7E-02		-0.64	-	-0.75	-	-	0.02		0.15		
epsB	BSU_34360			161	187	100	113	183	138	-0.71	2.1E-02		-0.70	-	-0.72	-	-	-0.18		0.03		
bmrD	BSU_09720			405	337	231	218	581	869	-0.72	2.0E-02		-0.81	-	-0.63	-	-	-0.52		-0.79	-	
yvmC	BSU_35070			138	134	94	70	113	69	-0.75	2.5E-02		-0.56		-0.94	-		0.30		0.25		
epsE	BSU_34330			150	159	76	111	145	76	-0.75	3.4E-02		-0.98	-	-0.52			0.05		0.14		
bmrC	BSU_09710			296	201	158	131	429	658	-0.76	3.9E-02		-0.90	-	-0.62	-	-	-0.54		-1.09	-	
epsA	BSU_34370			150	143	88	82	169	88	-0.79	1.1E-02		-0.77	-	-0.80	-	-	-0.18		-0.24		
ybaJ	BSU_01510			346	440	310	155	513	334	-0.83	8.1E-02		-0.16		-1.51	-		-0.57		-0.22		
yocD	BSU_19170			207	174	178	62	346	224	-0.85	1.6E-01		-0.21		-1.49	-		-0.74	-	-1.00	-	-
yscB	BSU_28890			168	160	84	95	217	66	-0.87	7.5E-03		-1.00	-	-0.75	-	-	-0.37		-0.43		
cypX	BSU_35060			157	169	99	78	128	82	-0.89	1.0E-02		-0.66	-	-1.12	-	-	0.29		0.39		
xynD	BSU_18160			150	194	95	84	166	95	-0.93	1.0E-02		-0.65	-	-1.20	-	-	-0.15		0.23		
secE	BSU_01000			1,741	1,440	915	750	1,239	814	-0.93	9.5E-03		-0.93	-	-0.94	-	-	0.49		0.22		
epsM	BSU_34240			297	387	198	152	196	115	-0.97	1.3E-02		-0.59	-	-1.35	-	-	0.60	+	0.98	+	+
ybdO	BSU_02050			138	149	83	64	148	80	-0.98	7.8E-03		-0.74	-	-1.22	-	-	-0.10		0.01		
epsO	BSU_34220			129	153	89	55	143	66	-1.00	2.0E-02	-	-0.54		-1.47	-		-0.15		0.10		
yflD	BSU_07720			451	182	61	314	127	37	-1.05	2.8E-01		-2.88	-	0.79	+		1.83	+	0.52		
spoVG	BSU_00490			10,679	11,026	4,544	5,173	6,478	4,464	-1.16	2.2E-03	-	-1.23	-	-1.09	-	-	0.72	+	0.77	+	+
yvzA	BSU_34830			543	1,408	386	385	730	275	-1.18	5.3E-02		-0.49		-1.87	-		-0.43		0.95	+	
sigG	BSU_15330			504	506	206	229	1,017	1,103	-1.22	1.7E-03	-	-1.29	-	-1.14	-	-	-1.01	-	-1.01	-	-
yflA	BSU_07750			4,928	3,484	1,276	2,440	1,738	357	-1.23	2.3E-02	-	-1.95	-	-0.51			1.50	+	1.00	+	+
ywoF	BSU_36460			266	355	146	110	502	342	-1.28	4.6E-03	-	-0.87	-	-1.69	-	-	-0.91	-	-0.50		
sigE	BSU_15320			353	408	154	158	524	701	-1.28	1.5E-03	-	-1.20	-	-1.37	-	-	-0.57		-0.36		
slrR	BSU_34380			116	133	47	54	85	78	-1.31	1.6E-03	-	-1.32	-	-1.31	-	-	0.45		0.64	+	
ycdA	BSU_02780			4,219	4,105	1,848	1,490	3,972	1,977	-1.33	1.6E-03	-	-1.19	-	-1.46	-	-	0.09		0.05		
yvrP	BSU_33280			538	685	249	218	531	229	-1.38	1.7E-03	-	-1.11	-	-1.65	-	-	0.02		0.37		
spoIIGA	BSU_15310			262	183	88	80	299	433	-1.39	2.8E-03	-	-1.58	-	-1.20	-	-	-0.19		-0.71	-	
ahpA	BSU_14220			574	669	242	220	585	427	-1.42	1.0E-03	-	-1.25	-	-1.60	-	-	-0.03		0.19		
xynC	BSU_18150			320	347	147	101	268	181	-1.45	2.4E-03	-	-1.12	-	-1.77	-	-	0.26		0.37		
qcrB	BSU_22550			1,456	2,007	615	610	1,539	1,028	-1.48	1.6E-03	-	-1.24	-	-1.72	-	-	-0.08		0.38		
ybfP	BSU_02320			192	88	38	54	66	49	-1.51	1.6E-02	-	-2.32	-	-0.69	-	-	1.53	+	0.40		
dhbF	BSU_31960			3,332	4,421	1,142	1,490	4,145	1,477	-1.56	1.8E-03	-	-1.54	-	-1.57	-	-	-0.32		0.09		
ctaD	BSU_14900			600	757	269	176	646	671	-1.63	2.4E-03	-	-1.16	-	-2.10	-	-	-0.11		0.23		

cccA	BSU_25190		459	436	137	147	546	273	-1.66	3.7E-04	-	-1.75	-	-1.57	-	-	-0.25		-0.32		
comK	BSU_10420		283	289	117	69	270	327	-1.67	2.7E-03	-	-1.27	-	-2.07	-	-	0.07		0.10		
yflB	BSU_07735		477	247	76	132	238	141	-1.78	8.8E-03	-	-2.64	-	-0.91	-	-	1.01	+	0.06		
pnbA	BSU_34390		607	649	187	170	405	217	-1.82	2.5E-04	-	-1.70	-	-1.93	-	-	0.59	+	0.68	+	+
qcrC	BSU_22540		1,777	2,190	608	503	1,583	1,124	-1.83	4.7E-04	-	-1.55	-	-2.12	-	-	0.17		0.47		
sinI	BSU_24600		899	788	238	229	1,119	949	-1.85	2.5E-04	-	-1.91	-	-1.78	-	-	-0.32		-0.51		
ycbJ	BSU_02520		956	842	284	215	1,024	839	-1.86	5.0E-04	-	-1.75	-	-1.97	-	-	-0.10		-0.28		
rsiW	BSU_01740		2,005	1,391	498	424	1,372	681	-1.86	8.2E-04	-	-2.01	-	-1.71	-	-	0.55		0.02		
antE	BSU_25220		270	184	56	66	178	87	-1.87	8.7E-04	-	-2.26	-	-1.48	-	-	0.60	+	0.05		
yvnA	BSU_35050		126	140	46	26	270	251	-1.94	1.7E-03	-	-1.45	-	-2.44	-	-	-1.10	-	-0.95	-	-
ylbA	BSU_14940		1,696	1,562	376	471	1,478	870	-1.95	2.9E-04	-	-2.17	-	-1.73	-	-	0.20		0.08		
yvqJ	BSU_33140		288	317	82	75	227	124	-1.95	1.9E-04	-	-1.82	-	-2.08	-	-	0.34		0.48		
dhbE	BSU_31980		2,078	3,286	536	834	2,904	880	-1.97	2.2E-03	-	-1.96	-	-1.98	-	-	-0.48		0.18		
ywcE	BSU_38130		448	274	114	70	413	322	-1.97	2.8E-03	-	-1.98	-	-1.96	-	-	0.12		-0.59	-	
bacE	BSU_37700		973	1,269	339	236	463	236	-1.98	8.1E-04	-	-1.52	-	-2.43	-	-	1.07	+	1.46	+	+
ylaE	BSU_14750		291	325	84	73	197	72	-1.98	2.1E-04	-	-1.80	-	-2.15	-	-	0.57		0.72	+	
aprE	BSU_10300		572	682	163	154	366	112	-1.98	2.1E-04	-	-1.81	-	-2.15	-	-	0.64	+	0.90	+	+
dhbB	BSU_31970		2,995	3,788	637	1,042	3,294	1,023	-2.05	1.1E-03	-	-2.23	-	-1.86	-	-	-0.14		0.20		
yfmI	BSU_07460		130	245	58	32	54	32	-2.07	5.0E-03	-	-1.18	-	-2.96	-	-	1.28	+	2.19	+	+
spo0E	BSU_13640		2,855	3,525	313	1,717	966	419	-2.11	4.4E-02	-	-3.19	-	-1.04	-	-	1.56	+	1.87	+	+
pbpH	BSU_13980		395	435	102	87	223	113	-2.14	1.4E-04	-	-1.96	-	-2.32	-	-	0.82	+	0.96	+	+
ctaC	BSU_14890		347	651	110	105	435	478	-2.14	1.4E-03	-	-1.65	-	-2.63	-	-	-0.33		0.58		
yrzI	BSU_27190		587	303	117	76	1,124	1,665	-2.17	2.9E-03	-	-2.33	-	-2.00	-	-	-0.94	-	-1.89	-	-
ctaG	BSU_14930		776	736	217	130	603	505	-2.17	7.4E-04	-	-1.84	-	-2.51	-	-	0.36		0.29		
ybdZ	BSU_31959		2,611	3,141	544	711	3,012	775	-2.20	2.4E-04	-	-2.26	-	-2.14	-	-	-0.21		0.06		
ctaE	BSU_14910		585	635	169	95	571	557	-2.27	8.6E-04	-	-1.80	-	-2.75	-	-	0.04		0.15		
bacF	BSU_37690		1,144	1,063	284	181	337	185	-2.28	4.2E-04	-	-2.01	-	-2.55	-	-	1.76	+	1.66	+	+
bmrB	BSU_09700		359	309	75	60	394	487	-2.31	1.4E-04	-	-2.26	-	-2.36	-	-	-0.14		-0.35		
sigW	BSU_01730		3,682	2,469	654	549	2,085	960	-2.33	3.4E-04	-	-2.49	-	-2.17	-	-	0.82	+	0.24		
ctaF	BSU_14920		1,046	1,033	296	143	999	1,060	-2.34	1.5E-03	-	-1.82	-	-2.86	-	-	0.07		0.05		
bacD	BSU_37710		1,319	1,979	321	274	476	228	-2.44	2.7E-04	-	-2.04	-	-2.85	-	-	1.47	+	2.06	+	+
yknZ	BSU_14370		2,616	1,085	372	257	1,340	568	-2.45	3.2E-03	-	-2.81	-	-2.08	-	-	0.96	+	-0.31		
qcrA	BSU_22560		2,994	3,511	590	573	2,105	1,272	-2.48	6.3E-05	-	-2.34	-	-2.62	-	-	0.51		0.74	+	
dhbC	BSU_31990		4,867	6,005	758	1,205	4,521	1,453	-2.50	3.6E-04	-	-2.68	-	-2.32	-	-	0.11		0.41		
tasA	BSU_24620		409	522	89	70	255	85	-2.55	1.3E-04	-	-2.20	-	-2.89	-	-	0.68	+	1.03	+	+
bacA	BSU_37740		220	344	48	41	135	48	-2.64	2.3E-04	-	-2.19	-	-3.08	-	-	0.70	+	1.35	+	+
ctaO	BSU_12080		387	444	61	70	403	267	-2.67	5.0E-05	-	-2.67	-	-2.67	-	-	-0.06		0.14		
bacC	BSU_37720		996	1,601	211	184	399	157	-2.68	2.4E-04	-	-2.24	-	-3.12	-	-	1.32	+	2.00	+	+
yknX	BSU_14350		2,569	845	257	198	1,440	502	-2.71	4.0E-03	-	-3.32	-	-2.10	-	-	0.84	+	-0.77	-	
dhbA	BSU_32000		3,610	4,466	481	779	3,478	1,087	-2.71	2.7E-04	-	-2.91	-	-2.52	-	-	0.05		0.36		
ynzD	BSU_17920		703	641	121	86	303	153	-2.72	1.0E-04	-	-2.54	-	-2.90	-	-	1.21	+	1.08	+	+
besA	BSU_32010		2,941	2,545	415	407	2,228	456	-2.73	3.7E-05	-	-2.83	-	-2.64	-	-	0.40		0.19		
yvrO	BSU_33270		983	1,239	178	152	702	183	-2.75	6.5E-05	-	-2.46	-	-3.03	-	-	0.49		0.82	+	
yvrN	BSU_33260		1,215	1,331	209	163	727	146	-2.79	5.6E-05	-	-2.54	-	-3.03	-	-	0.74	+	0.87	+	+
yknY	BSU_14360		2,066	684	191	140	1,113	343	-2.86	3.2E-03	-	-3.43	-	-2.29	-	-	0.89	+	-0.70	-	
yerI	BSU_06640		1,558	1,604	250	163	945	455	-2.97	1.0E-04	-	-2.64	-	-3.30	-	-	0.72	+	0.76	+	+
ydjI	BSU_06210		3,733	512	186	151	938	153	-3.04	2.0E-02	-	-4.33	-	-1.76	-	-	1.99	+	-0.87	-	
bacB	BSU_37730		625	1,120	124	77	250	113	-3.10	4.5E-04	-	-2.33	-	-3.86	-	-	1.32	+	2.16	+	+
ntdR	BSU_10560		495	423	70	40	313	268	-3.12	1.8E-04	-	-2.82	-	-3.42	-	-	0.66	+	0.43		
yknW	BSU_14340		7,024	3,425	610	296	2,681	1,584	-3.53	7.7E-04	-	-3.53	-	-3.53	-	-	1.39	+	0.35		
ydjH	BSU_06200		2,479	494	103	84	825	101	-3.57	4.9E-03	-	-4.59	-	-2.55	-	-	1.59	+	-0.74	-	
rapH	BSU_06830		1,590	1,914	133	126	509	84	-3.76	8.9E-06	-	-3.58	-	-3.93	-	-	1.64	+	1.91	+	+
phrH	BSU_06839		715	952	49	69	298	34	-3.82	3.1E-05	-	-3.85	-	-3.79	-	-	1.26	+	1.67	+	+
ybdN	BSU_02040		317	770	45	27	109	36	-3.84	5.3E-04	-	-2.82	-	-4.86	-	-	1.54	+	2.82	+	+
yvgO	BSU_33410		3,376	2,741	173	253	586	109	-3.86	2.7E-05	-	-4.29	-	-3.44	-	-	2.53	+	2.23	+	+
sivC	BSU_15960		433	630	30	41	552	108	-3.90	3.6E-05	-	-3.86	-	-3.94	-	-	-0.35		0.19		
ybfO	BSU_02310		1,057	602	56	44	131	40	-4.00	6.2E-05	-	-4.23	-	-3.77	-	-	3.01	+	2.20	+	+
yxzE	BSU_38790		4,014	2,890	118	211	1,201	192	-4.43	5.1E-05	-	-5.08	-	-3.77	-	-	1.74	+	1.27	+	+
sdpC	BSU_33770		12,392	12,489	587	566	6,143	780	-4.43	2.5E-06	-	-4.40	-	-4.46	-	-	1.01	+	1.02	+	+
ydjG	BSU_06190		4,188	1,845	116	103	1,093	88	-4.67	8.7E-05	-	-5.18	-	-4.16	-	-	1.94	+	0.76	+	+
lip	BSU_02700		2,908	3,886	126	119	1,099	115	-4.78	4.3E-06	-	-4.53	-	-5.04	-	-	1.40	+	1.82	+	+
pspA	BSU_06180		5,122	3,966	125	168	1,484	93	-4.96	6.1E-06	-	-5.36	-	-4.56	-	-	1.79	+	1.42	+	+
bslA	BSU_31080		3,680	4,663	73	85	1,030	196	-5.71	1.6E-06	-	-5.65	-	-5.77	-	-	1.84	+	2.18	+	+
sdpB	BSU_33760		1,000	2,016	33	22	646	41	-5.72	2.9E-05	-	-4.91	-	-6.54	-	-	0.63	+	1.64	+	+
sdpA	BSU_33750		808	2,087	26	20	434	86	-5.84	5.7E-05	-	-4.96	-	-6.73	-	-	0.90	+	2.27	+	+
sivA	BSU_37800		2,256	4,166	54	17	1,144	143	-6.65	1.0E-04	-	-5.39	-	-7.91	-	-	0.98	+	1.86	+	+
yfmG	BSU_07480		2,988	4,060	28	27	285	29	-6.96	6.6E-07	-	-6.72	-	-7.21	-	-	3.39	+	3.83	+	+
epeX	BSU_40180	Deleted					4,386	278													
epeE	BSU_40170	Deleted					253	25													
yxbB	BSU_39890	Deleted					296	33													
yxbA	BSU_39900	Deleted					196	24													
yxbC	BSU_39880	Deleted					250	56													
yxnB	BSU_39910	Deleted					160	38													
epeP	BSU_40160	Deleted					649	156													
epeA	BSU_40150	Deleted					1,116	318													
yxaM	BSU_39930	Deleted					102	31													
epeB	BSU_40140	Deleted					1,022	327													
sboA	BSU_37350	Deleted					118	41													
asnH	BSU_39920	Deleted					126	46													
yxbD	BSU_39870	Deleted					97	39													
yxaJ	BSU_39950	Deleted					172	71													
albG	BSU_37430	Deleted					110	54													
yxaL	BSU_39940	Deleted					188	96													
albA	BSU_37370	Deleted					553	294													
albF	BSU_37420	Deleted					145	87													
yurI	BSU_32540	Deleted					391	235													
albE	BSU_37410	Deleted					168	102													
albC	BSU_37390	Deleted					347	223													
albD	BSU_37400	Deleted					223	146													
albB	BSU_37380	Deleted					785	551													
phy	BSU_19800	Deleted					92	65													
sboX	BSU_37360	Deleted					40	29													
yxaA	BSU_40040	Deleted					172	132													
yncM	BSU_17690	Deleted					893	740													
yxaB	BSU_40030	Deleted					246	208													
ycnI	BSU_03940	Deleted					375	362													
ycnJ	BSU_03950	Deleted					339	340													
ycnK	BSU_03960	Deleted					356	406													
yxeD	BSU_39590	Deleted					670	1,219													

Gene name	Gene symbol	Additional information	Deleted genes in MGB874	MGB874_s1 (A-024_s1)	MGB874_s2 (A-024_s2)	MGB874 + $P_{abrB(\Delta SA)}$_s1 (OA191_s1)	MGB874 + $P_{abrB(\Delta SA)}$_s2 (OA191_s2)	OA105	OA105 + $P_{abrB(\Delta SA)}$ (OA190)	OA191 / MGB874 (for Volcano plot) $\log_2$ fold change (average)	p values [1*]	DE [*2]	OA191 / MGB874 1st set $\log_2$ fold change	1.5 x [*3]	OA191 / MGB874 2nd set $\log_2$ fold change	1.5 x [*3]	Reproducibly detected [*4]	MGB874 / OA105 1st set $\log_2$ fold change	1.5 x [*3]	MGB874 / OA105 2nd set $\log_2$ fold change	1.5 x [*3]	Reproducibly detected
										Upregulated		24 / 106 (23%)			Upregulated		35 / 106 (33%)			Upregulated		1 / 106 (1%)
										Downregulated		0 / 106 (0%)			Downregulated		0 / 106 (0%)			Downregulated		32 / 106 (30%)
Biosynthesis and acquisition of amino acids																						
Arginine																						
carA	BSU_11230			1,094	603	2,994	2,762	2,115	2,662	1.82	2.6E-03	+	1.45	+	2.19	+	+	-0.95	-	-1.81	-	-
carB	BSU_11240			1,192	773	3,256	3,111	2,343	2,901	1.73	1.4E-03	+	1.45	+	2.01	+	+	-0.97	-	-1.60	-	-
ahrC	BSU_24250			203	259	763	710	567	767	1.68	6.3E-04	+	1.91	+	1.46	+	+	-1.48	-	-1.13	-	-
argD	BSU_11220			1,102	563	2,331	2,116	1,820	2,090	1.50	8.6E-03	+	1.08	+	1.91	+	+	-0.72	-	-1.69	-	-
argB	BSU_11210			1,053	535	1,764	1,737	1,535	1,664	1.22	1.9E-02	+	0.74	+	1.70	+	+	-0.54		-1.52	-	
argF	BSU_11250			1,926	1,260	3,223	3,336	2,583	3,165	1.07	1.1E-02	+	0.74	+	1.40	+	+	-0.42		-1.04	-	
argH	BSU_29440			2,383	1,996	3,510	3,663	2,974	3,376	0.72	1.9E-02		0.56		0.88	+		-0.32		-0.57		
argG	BSU_29450			1,643	1,755	2,607	2,855	2,596	3,110	0.68	1.9E-02		0.67	+	0.70	+	+	-0.66	-	-0.56		
argJ	BSU_11200			1,825	1,245	2,217	2,228	2,249	2,175	0.56	8.3E-02		0.28		0.84	+		-0.30		-0.85	-	
argC	BSU_11190			2,036	1,341	1,554	1,618	1,992	1,631	-0.06	fo		-0.39		0.27			0.03		-0.57		
sr1	BSU_14629			122	87	78	87	970	1,332	-0.32	2.6E-01		-0.66	-	0.01			-2.99	-	-3.49	-	-
Aromatic amino acids																						
trpE	BSU_22680			172	224	313	722	229	553	1.28	3.3E-02	+	0.87	+	1.69	+	+	-0.42		-0.03		
pheA	BSU_27900			450	464	1,161	946	811	964	1.20	2.5E-03	+	1.37	+	1.03	+	+	-0.85	-	-0.81	-	-
aroD	BSU_25660			545	806	1,423	1,265	1,225	1,337	1.02	1.2E-02	+	1.39	+	0.65	+	+	-1.17	-	-0.60	-	-
trpF	BSU_22650			386	380	461	1,858	515	1,574	1.27	1.1E-01		0.26		2.29	+		-0.41		-0.44		
trpC	BSU_22660			234	249	272	1,185	283	913	1.23	fo		0.22		2.25	+		-0.27		-0.18		
trpD	BSU_22670			230	308	280	1,182	316	909	1.11	1.7E-01		0.29		1.94	+		-0.46		-0.04		
trpB	BSU_22640			416	302	368	1,511	430	1,306	1.07	1.7E-01		-0.18		2.32	+		-0.05		-0.51		
tyrA	BSU_22610			1,371	1,687	2,899	2,547	2,048	2,634	0.84	1.3E-02		1.08	+	0.59	+	+	-0.58		-0.28		
trpA	BSU_22630			1,977	1,347	2,713	3,040	2,413	3,337	0.82	2.7E-02		0.46		1.17	+		-0.29		-0.84	-	
aroF	BSU_22710			1,127	1,801	2,572	2,342	2,102	2,171	0.78	4.2E-02		1.19	+	0.38			-0.90	-	-0.22		
aroB	BSU_22700			1,982	3,024	4,078	3,805	2,997	3,033	0.69	5.4E-02		1.04	+	0.33			-0.60	-	0.01		
aroA	BSU_29750			3,949	5,118	6,891	5,766	4,647	4,803	0.49	9.9E-02		0.80	+	0.17			-0.23		0.14		
hisC	BSU_22620			3,013	2,828	4,125	3,948	3,320	4,111	0.47	6.5E-02		0.45		0.48			-0.14		-0.23		
aroH	BSU_22690			3,054	4,132	4,632	4,737	3,505	3,620	0.40	1.5E-01		0.60	+	0.20			-0.20		0.24		
aroE	BSU_22600			2,756	3,033	3,590	3,542	2,972	3,279	0.30	1.9E-01		0.38		0.22			-0.11		0.03		
pabA	BSU_00750			632	773	793	887	750	910	0.26	2.9E-01		0.33		0.20			-0.25		0.04		
rtpA	BSU_02530			101	103	90	119	49	89	0.02	fo		-0.18		0.21			1.05	+	1.07	+	+
mtrB	BSU_22770			2,400	1,953	2,004	2,360	2,157	2,116	0.01	fo		-0.26		0.27			0.15		-0.14		
aroK	BSU_03150			171	141	185	129	181	194	-0.01	fo		0.11		-0.13			-0.08		-0.36		
aroC	BSU_23080			315	266	294	253	313	302	-0.09	fo		-0.10		-0.07			0.01		-0.24		
Aspartate/ asparagine																						
asnB	BSU_30540			750	891	2,081	1,601	1,607	1,865	1.16	4.6E-03	+	1.47	+	0.85	+	+	-1.10	-	-0.85	-	-
aspB	BSU_22370			1,551	1,972	3,276	2,814	2,906	3,357	0.80	1.9E-02		1.08	+	0.51			-0.91	-	-0.56		
asnH	BSU_39920		Deleted					126	46													
asnO	BSU_10790		Deleted					870	2,026													
Branched-chain amino acids																						
leuC	BSU_28260			3,646	3,890	5,990	5,884	4,880	5,097	0.66	2.1E-02		0.72	+	0.60	+	+	-0.42		-0.33		
ilvH	BSU_28300			2,198	2,816	3,538	3,923	3,242	3,412	0.58	5.2E-02		0.69	+	0.48			-0.56		-0.20		
leuA	BSU_28280			3,762	4,279	5,850	5,966	4,411	4,632	0.56	4.1E-02		0.64	+	0.48			-0.23		-0.04		
leuB	BSU_28270			3,795	3,970	5,626	5,546	4,424	4,563	0.53	4.4E-02		0.57		0.48			-0.22		-0.16		
ywaA	BSU_38550			1,559	2,026	2,752	2,346	2,959	3,787	0.52	8.3E-02		0.82	+	0.21			-0.93	-	-0.55		
leuD	BSU_28250			3,439	3,141	4,561	4,251	3,690	3,769	0.42	9.1E-02		0.41		0.44			-0.10		-0.23		
ilvB	BSU_28310			2,445	2,721	3,252	3,515	2,973	3,116	0.39	1.1E-01		0.41		0.37			-0.28		-0.13		
ilvD	BSU_21870			2,257	2,639	3,245	2,962	2,953	3,380	0.35	1.6E-01		0.52		0.17			-0.39		-0.16		
ilvC	BSU_28290			5,038	5,659	6,271	6,600	5,340	5,557	0.27	2.5E-01		0.32		0.22			-0.08		0.08		
ybgE	BSU_02390			792	812	932	786	1,363	1,658	0.09	fo		0.23		-0.05			-0.78	-	-0.75	-	-
ilvA	BSU_21770			2,393	2,420	2,385	2,303	2,423	2,667	-0.04	fo		-0.01		-0.07			-0.02		0.00		
yabJ	BSU_00480			2,084	2,008	1,860	2,043	2,174	2,150	-0.07	fo		-0.16		0.03			-0.06		-0.11		
Cysteine																						
cysE	BSU_00930			261	409	586	783	580	680	1.05	1.9E-02	+	1.17	+	0.94	+	+	-1.15	-	-0.50		
mccB	BSU_27250			210	173	428	330	224	429	0.98	9.7E-03		1.03	+	0.93	+	+	-0.09		-0.37		
mccA	BSU_27260			248	170	354	300	234	411	0.67	5.5E-02		0.51		0.82	+		0.08		-0.46		
cysK	BSU_00730			4,456	4,187	3,546	3,703	3,745	4,380	-0.25	2.6E-01		-0.33		-0.18			0.25		0.16		
ascR	BSU_29400			167	234	99	178	132	111	-0.57	1.7E-01		-0.76	-	-0.39			0.34		0.83	+	

Glutamate/ glutamine/ ammonium assimilation																						
gltA	BSU_18450		818	1,368	4,281	4,397	2,932	3,812	2.04	1.0E-03	+	2.39	+	1.68	+	+	-1.84	-	-1.10	-	-
gltB	BSU_18440		2,505	3,023	7,001	7,147	5,155	5,976	1.36	1.3E-03	+	1.48	+	1.24	+	+	-1.04	-	-0.77	-	-
nrgB	BSU_36520		516	653	579	2,537	849	2,029	1.06	1.9E-01		0.17		1.96	+		-0.72	-	-0.38		
gltC	BSU_18460		592	448	725	768	749	824	0.53	7.0E-02		0.29		0.78	+		-0.34		-0.74	-	
glnA	BSU_17460		4,511	5,954	5,629	7,603	5,419	6,460	0.34	2.7E-01		0.32		0.35			-0.26		0.14		
glnR	BSU_17450		2,232	3,657	2,551	4,497	3,335	3,338	0.25	5.6E-01		0.19		0.30			-0.58		0.13		
tnrA	BSU_13310		117	171	149	187	153	168	0.24	4.3E-01		0.35		0.13			-0.38		0.16		
glnL	BSU_02450		146	128	127	90	166	111	-0.36	2.3E-01		-0.20		-0.52			-0.19		-0.38		
glnK	BSU_02440		143	144	118	97	136	106	-0.42	1.1E-01		-0.28		-0.56			0.07		0.08		
Histidine																						
hisB	BSU_34900		341	608	1,696	1,789	1,186	1,276	1.93	1.8E-03	+	2.31	+	1.56	+	+	-1.80	-	-0.96	-	-
hisD	BSU_34910		221	495	1,075	1,105	802	851	1.72	8.2E-03	+	2.28	+	1.16	+	+	-1.86	-	-0.70	-	-
hisA	BSU_34880		592	869	2,041	2,040	1,515	1,554	1.51	2.0E-03	+	1.79	+	1.23	+	+	-1.36	-	-0.80	-	-
hisH	BSU_34890		691	1,040	2,209	2,092	1,653	1,625	1.34	3.9E-03	+	1.68	+	1.01	+	+	-1.26	-	-0.67	-	-
hisG	BSU_34920		217	516	811	751	511	593	1.22	3.7E-02	+	1.90	+	0.54			-1.24	-	0.01		
prs	BSU_00510		757	987	1,971	1,486	1,632	2,059	0.99	1.3E-02		1.38	+	0.59	+	+	-1.11	-	-0.73	-	-
hisF	BSU_34870		1,169	1,440	2,543	2,512	1,852	1,895	0.96	6.5E-03		1.12	+	0.80	+	+	-0.66	-	-0.36		
hisI	BSU_34860		1,538	1,673	2,474	2,597	1,992	2,046	0.66	2.1E-02		0.69	+	0.63	+	+	-0.37		-0.25		
hisJ	BSU_29620		247	242	406	315	460	489	0.55	5.9E-02		0.71	+	0.38			-0.89	-	-0.93	-	-
Lysine/ threonine																						
lysC	BSU_28470		660	1,032	1,896	1,795	1,287	1,771	1.16	8.7E-03	+	1.52	+	0.80	+	+	-0.96	-	-0.32		
thrR	BSU_27910		744	707	1,720	1,437	1,164	1,290	1.12	3.1E-03	+	1.21	+	1.02	+	+	-0.65	-	-0.72	-	-
thrC	BSU_32250		2,470	3,764	4,543	4,988	4,494	5,160	0.64	6.6E-02		0.88	+	0.41			-0.86	-	-0.26		
lysA	BSU_23380		1,193	1,392	2,051	1,695	1,876	2,129	0.53	6.3E-02		0.78	+	0.28			-0.65	-	-0.43		
thrB	BSU_32240		3,974	4,888	5,031	5,636	4,568	5,318	0.27	2.8E-01		0.34		0.21			-0.20		0.10		
thrD	BSU_03790	Deleted					2,097	2,928													
Methionine/ S-adenosylmethionine																						
metI	BSU_11870		573	939	2,391	2,105	1,803	2,696	1.61	2.8E-03	+	2.06	+	1.16	+	+	-1.65	-	-0.94	-	-
metE	BSU_13180		1,658	2,379	5,354	5,176	3,881	5,448	1.41	2.5E-03	+	1.69	+	1.12	+	+	-1.23	-	-0.71	-	-
mtnX	BSU_13600		1,757	1,776	3,726	3,308	2,689	3,241	0.99	4.3E-03		1.08	+	0.90	+	+	-0.61	-	-0.60	-	-
metC	BSU_11880		1,138	1,508	2,435	2,438	1,919	2,388	0.90	1.2E-02		1.10	+	0.69	+	+	-0.75	-	-0.35		
metK	BSU_30550		1,030	1,808	2,220	2,294	2,035	2,582	0.73	7.2E-02		1.11	+	0.34			-0.98	-	-0.17		
mtnB	BSU_13610		2,658	2,631	4,153	3,939	3,353	3,920	0.61	2.6E-02		0.64	+	0.58			-0.34		-0.35		
hom	BSU_32260		1,424	1,940	2,603	2,459	2,801	3,613	0.61	5.3E-02		0.87	+	0.34			-0.98	-	-0.53		
patB	BSU_31440		323	356	613	429	476	547	0.60	6.7E-02		0.92	+	0.27			-0.56		-0.42		
mtnW	BSU_13590		1,092	1,125	1,536	1,512	1,310	1,502	0.46	6.6E-02		0.49		0.43			-0.26		-0.22		
mtnN	BSU_27270		1,151	1,059	1,609	1,398	1,435	2,190	0.44	8.8E-02		0.48		0.40			-0.32		-0.44		
mtnE	BSU_13580		1,215	1,453	1,846	1,714	1,583	2,123	0.42	1.1E-01		0.60	+	0.24			-0.38		-0.12		
mtnD	BSU_13620		3,848	3,793	4,809	4,675	3,924	4,325	0.31	1.7E-01		0.32		0.30			-0.03		-0.05		
metA	BSU_21910		391	387	540	335	596	657	0.13	6.8E-01		0.46		-0.21			-0.61	-	-0.62	-	-
mtnU	BSU_13570		1,039	1,003	1,057	959	1,031	1,242	-0.02	fo		0.03		-0.06			0.01		-0.04		
mtnK	BSU_13560		6,812	7,646	6,207	6,690	5,550	6,176	-0.16	fo		-0.13		-0.19			0.30		0.46		
mtnA	BSU_13550		8,377	9,039	7,480	7,818	6,348	6,950	-0.19	3.9E-01		-0.16		-0.21			0.40		0.51		
luxS	BSU_30670		3,250	2,911	2,169	2,497	2,566	2,588	-0.40	1.2E-01		-0.58		-0.22			0.34		0.18		
yoaD	BSU_18560		117	148	784	437	471	848	2.15	1.4E-03	+	2.74	+	1.56	+	+	-2.01	-	-1.67	-	-
yitJ	BSU_11010		461	678	1,458	1,253	1,093	1,690	1.27	5.0E-03	+	1.66	+	0.89	+	+	-1.25	-	-0.69	-	-
yxjH	BSU_38950		824	1,212	1,929	1,714	1,739	2,210	0.86	2.2E-02		1.23	+	0.50			-1.08	-	-0.52		
yxjG	BSU_38960		1,476	1,871	2,987	2,907	2,902	3,315	0.83	1.3E-02		1.02	+	0.64	+	+	-0.98	-	-0.63	-	-
ybgG	BSU_02410		227	234	417	304	411	435	0.63	4.8E-02		0.88	+	0.38			-0.86	-	-0.81	-	-
Proline																						
proJ	BSU_18470		770	426	1,314	761	2,105	3,523	0.80	1.1E-01		0.77	+	0.84	+	+	-1.45	-	-2.31	-	-
proB	BSU_13120		343	361	673	513	454	457	0.74	2.4E-02		0.97	+	0.50			-0.40		-0.33		
proH	BSU_18480		898	469	1,357	772	2,356	3,895	0.66	1.9E-01		0.60	+	0.72	+	+	-1.39	-	-2.33	-	-
proA	BSU_13130		781	1,093	1,293	1,221	1,038	827	0.44	1.3E-01		0.73	+	0.16			-0.41		0.07		
proI	BSU_23800		202	211	284	229	384	518	0.31	2.2E-01		0.49		0.12			-0.93	-	-0.86	-	-
proG	BSU_12910		491	360	391	335	599	552	-0.22	4.3E-01		-0.33		-0.10			-0.29		-0.74	-	
Serine/ glycine/ alanine																						
serC	BSU_10020		605	1,152	1,705	1,571	1,865	2,374	0.97	3.9E-02		1.49	+	0.45			-1.62	-	-0.69	-	-
glyA	BSU_36900		1,849	2,657	4,129	3,925	3,681	4,447	0.86	1.9E-02		1.16	+	0.56			-0.99	-	-0.47		
serB	BSU_28940		696	666	1,706	858	1,512	1,998	0.83	7.2E-02		1.29	+	0.36			-1.12	-	-1.18	-	-
serA	BSU_23070		3,873	4,567	4,721	4,563	4,356	4,939	0.14	fo		0.29		0.00			-0.17		0.07		
alaT	BSU_31400		1,033	1,100	1,815	1,318	1,754	2,078	0.54	7.9E-02		0.81	+	0.26			-0.76	-	-0.67	-	-

Gene name	Gene symbol	Additional information	Deleted genes in MGB874	MGB874_s1 (A-024_s1)	MGB874_s2 (A-024_s2)	MGB874 + $P_{abrB(\Delta SA)}$_s1 (OA191_s1)	MGB874 + $P_{abrB(\Delta SA)}$_s2 (OA191_s2)	OA105	OA105 + $P_{abrB(\Delta SA)}$ (OA190)	OA191 / MGB874 (for Volcano plot)			OA191 / MGB874					MGB874 / OA105				
													1st set		2nd set			1st set		2nd set		
										$\log_2$ fold change (average)	p values [1*]	DE [*2]	$\log_2$ fold change	1.5 x [*3]	$\log_2$ fold change	1.5 x [*3]	Reproducibly detected [*4]	$\log_2$ fold change	1.5 x [*3]	$\log_2$ fold change	1.5 x [*3]	Reproducibly detected
										Upregulated		15 / 20 (75%)			Upregulated		17 / 20 (85%)			Upregulated		0 / 20 (0%)
										Downregulated		0 / 20 (0%)			Downregulated		0 / 20 (0%)			Downregulated		16 / 20 (80%)
Biosynthesis of purine nucleotides																						
guaB	BSU_00090			888	1,895	2,695	2,511	2,234	2,811	1.00	5.0E-02		1.60	+	0.41			-1.33	-	-0.24		
purR	BSU_00470			1,503	1,367	1,608	1,486	1,595	1,482	0.11	fo		0.10		0.12			-0.09		-0.22		
adk	BSU_01370			3,213	3,207	6,626	6,572	4,867	5,570	1.04	3.0E-03	+	1.04	+	1.04	+	+	-0.60	-	-0.60	-	-
purT	BSU_02230			440	439	1,155	934	1,050	1,208	1.24	2.2E-03	+	1.39	+	1.09	+	+	-1.25	-	-1.26	-	-
guaA	BSU_06360			1,562	1,847	3,458	3,052	3,191	3,986	0.94	7.3E-03		1.15	+	0.72	+	+	-1.03	-	-0.79	-	-
purE	BSU_06420			339	488	1,455	905	942	1,398	1.50	6.0E-03	+	2.10	+	0.89	+	+	-1.48	-	-0.95	-	-
purK	BSU_06430			272	362	1,761	1,139	927	1,574	2.17	7.6E-04	+	2.69	+	1.65	+	+	-1.77	-	-1.36	-	-
purB	BSU_06440			679	1,142	3,263	2,871	2,138	2,856	1.80	2.0E-03	+	2.27	+	1.33	+	+	-1.66	-	-0.90	-	-
purC	BSU_06450			826	1,616	4,190	3,595	2,382	3,086	1.75	4.7E-03	+	2.34	+	1.15	+	+	-1.53	-	-0.56		
purS	BSU_06460			860	1,215	3,262	2,976	2,018	2,494	1.61	1.3E-03	+	1.92	+	1.29	+	+	-1.23	-	-0.73	-	-
purQ	BSU_06470			639	1,001	2,755	2,371	1,676	2,125	1.68	2.0E-03	+	2.11	+	1.24	+	+	-1.39	-	-0.74	-	-
purL	BSU_06480			815	1,387	3,957	3,698	2,608	3,067	1.85	1.7E-03	+	2.28	+	1.41	+	+	-1.68	-	-0.91	-	-
purF	BSU_06490			1,662	2,128	4,915	4,760	3,284	3,909	1.36	1.6E-03	+	1.56	+	1.16	+	+	-0.98	-	-0.63	-	-
purM	BSU_06500			665	869	3,630	3,242	2,195	2,699	2.17	2.2E-04	+	2.45	+	1.90	+	+	-1.72	-	-1.34	-	-
purN	BSU_06510			596	815	3,829	3,369	2,341	2,794	2.37	1.8E-04	+	2.68	+	2.05	+	+	-1.97	-	-1.52	-	-
purH	BSU_06520			846	1,188	4,477	4,225	2,797	3,461	2.12	3.3E-04	+	2.40	+	1.83	+	+	-1.73	-	-1.24	-	-
purD	BSU_06530			1,163	1,275	3,766	3,551	2,324	2,926	1.59	4.8E-04	+	1.70	+	1.48	+	+	-1.00	-	-0.87	-	-
ykkE	BSU_13110			668	590	694	622	803	964	0.07	fo		0.06		0.08			-0.27		-0.44		
purA	BSU_40420			728	1,107	2,837	2,321	2,325	3,556	1.52	3.0E-03	+	1.96	+	1.07	+	+	-1.67	-	-1.07	-	-
gmk	BSU_15680			853	658	1,796	1,247	1,495	1,900	1.00	1.6E-02		1.07	+	0.92	+	+	-0.81	-	-1.18	-	-
										Upregulated		12 / 18 (67%)			Upregulated		12 / 18 (67%)			Upregulated		0 / 18 (0%)
										Downregulated		0 / 18 (0%)			Downregulated		0 / 18 (0%)			Downregulated		15 / 18 (83%)
Biosynthesis of pyrimidine nucleotides																						
tmk	BSU_00280			610	452	656	808	601	693	0.47	1.2E-01		0.10		0.84	+		0.02		-0.41		
pyrR	BSU_15470			541	570	1,254	591	1,116	1,411	0.63	1.7E-01		1.21	+	0.05			-1.05	-	-0.97	-	-
pyrB	BSU_15490			99	138	637	526	301	496	2.31	2.7E-04	+	2.69	+	1.93	+	+	-1.60	-	-1.12	-	-
pyrC	BSU_15500			181	312	1,157	1,168	552	911	2.29	6.7E-04	+	2.67	+	1.90	+	+	-1.61	-	-0.82	-	-
pyrAA	BSU_15510			184	452	1,843	1,931	941	1,377	2.71	1.6E-03	+	3.32	+	2.09	+	+	-2.35	-	-1.06	-	-
pyrAB	BSU_15520			392	631	2,374	2,473	1,273	1,720	2.28	4.7E-04	+	2.60	+	1.97	+	+	-1.70	-	-1.01	-	-
pyrK	BSU_15530			380	520	2,420	2,392	1,220	1,675	2.44	1.4E-04	+	2.67	+	2.20	+	+	-1.68	-	-1.23	-	-
pyrD	BSU_15540			536	743	3,101	3,088	1,780	2,329	2.29	2.0E-04	+	2.53	+	2.05	+	+	-1.73	-	-1.26	-	-
pyrF	BSU_15550			667	914	3,171	3,085	1,774	2,323	2.00	3.7E-04	+	2.25	+	1.76	+	+	-1.41	-	-0.96	-	-
pyrE	BSU_15560			926	1,186	2,985	3,056	1,820	2,175	1.53	9.7E-04	+	1.69	+	1.37	+	+	-0.97	-	-0.62	-	-
pyrH	BSU_16510			1,277	1,268	3,071	2,403	2,559	3,021	1.09	4.3E-03	+	1.27	+	0.92	+	+	-1.00	-	-1.01	-	-
thyA	BSU_17680			145	144	97	76	150	107	-0.75	2.0E-02		-0.58		-0.91	-		-0.05		-0.05		
thyB	BSU_21820			241	255	780	526	628	905	1.37	3.3E-03	+	1.70	+	1.05	+	+	-1.38	-	-1.30	-	-
cmk	BSU_22890			373	257	550	330	776	754	0.46	2.4E-01		0.56		0.37			-1.06	-	-1.60	-	-
udk	BSU_27330			501	702	1,564	1,401	1,065	1,461	1.32	3.2E-03	+	1.64	+	1.00	+	+	-1.09	-	-0.60	-	-
upp	BSU_36890			1,105	1,030	1,612	1,446	1,626	1,836	0.52	5.2E-02		0.55		0.49			-0.56		-0.66	-	
tdk	BSU_37060			299	275	384	432	587	530	0.51	5.7E-02		0.36		0.65	+		-0.98	-	-1.09	-	-
pyrG	BSU_37150			409	597	1,333	1,181	970	1,348	1.34	3.6E-03	+	1.70	+	0.98	+	+	-1.25	-	-0.70	-	-

*1 165 genes with low relative abundance (average expression signal) and 158 low variance genes based on IQR (Interquartile Range), which were filtered out in the process of Limma program in NetworkAnalyst tool, are shown as "fo".

*2 Genes with $\log_2$ fold change ≥ 1 (upregulated, shown by "+") or ≤ 1 (downregulated, shown by "+") and a $p < 0.05$ were considered differentially expressed (DE).

*3 When the fold change is $\geq \log_2(1.5)$ (0.585), judged as "up-ragulated" (shown by "+"), and when the fold change is $\leq \log_2(1.5)$ (0.585), judged as "down-regulated" (shown by "-").

*4 When "+" is detected reproducibly in the two experiments, shown by "+", and when "-" is detected reproducibly in two experiments, shown by "-".

Table S4 Model for 13C-MFA.

Metabolic model

ID	Reactions	Net Flux	Carbon transitions
r1	Subs_Glc --> G6P	0	ABCDEF --> ABCDEF
r2	G6P --> F6P	1	ABCDEF --> ABCDEF
r3	F6P --> G6P	1	ABCDEF --> ABCDEF
r4	F6P --> DHAP + G3P	2	ABCDEF --> CBA + DEF
r5	DHAP + G3P --> F6P	2	CBA + DEF --> ABCDEF
r6	DHAP --> G3P	3	ABC --> ABC
r7	G3P --> DHAP	3	ABC --> ABC
r8	G3P --> PGP	4	ABC --> ABC
r9	PGP --> G3P	4	ABC --> ABC
r10	PGP --> PEP	5	ABC --> ABC
r11	PEP --> PGP	5	ABC --> ABC
r12	PEP --> PYR	0	ABC --> ABC
r13	PYR --> AcCoA + CO2_in	0	ABC --> BC + A
r14	AcCoA + OAA --> CIT	0	AB + CDEF --> FEDBAC
r15	CIT --> AKG + CO2_in	0	ABCDEF --> ABCDE + F
r16	AKG --> Sym_SUC + CO2_in	0	ABCDE --> BCDE + A
r17	Sym_SUC --> MAL	6	ABCD --> ABCD
r18	MAL --> Sym_SUC	6	ABCD --> ABCD
r19	MAL --> OAA	7	ABCD --> ABCD
r20	OAA --> MAL	7	ABCD --> ABCD
r21	PYR + CO2_in --> OAA	0	ABC + D --> ABCD
r22	MAL --> PYR + CO2_in	0	ABCD --> ABC + D
r23	OAA --> PEP + CO2_in	0	ABCD --> ABC + D
r24	G6P --> Ru5P + CO2_in	0	ABCDEF --> BCDEF + A
r25	Ru5P --> X5P	8	ABCDE --> ABCDE
r26	X5P --> Ru5P	8	ABCDE --> ABCDE
r27	Ru5P --> R5P	9	ABCDE --> ABCDE
r28	R5P --> Ru5P	9	ABCDE --> ABCDE
r29	R5P + X5P --> S7P + G3P	10	ABCDE + FGHIJ --> FGABCDE + HIJ
r30	G3P + S7P --> X5P + R5P	10	HIJ + FGABCDE --> FGHIJ + ABCDE
r31	G3P + S7P --> F6P + E4P	11	ABC + DEFGHIJ --> DEFABC + GHIJ
r32	E4P + F6P --> S7P + G3P	11	GHIJ + DEFABC --> DEFGHIJ + ABC
r33	E4P + X5P --> F6P + G3P	12	ABCD + EFGHI --> EFABCD + GHI
r34	G3P + F6P --> X5P + E4P	12	GHI + EFABCD --> EFGHI + ABCD
r35	PYR --> [Acetoin]	0	
r36	AcCoA --> [Acetate]	0	
r37	Sym_SUC --> [Succinate]	0	
r38	G6P --> [Biomass]	0	
r39	F6P --> [Biomass]	0	
r40	R5P --> [Biomass]	0	
r41	E4P --> [Biomass]	0	
r42	DHAP --> [Biomass]	0	
r43	PGP --> [Biomass]	0	
r44	PEP --> [Biomass]	0	
r45	PYR --> [Biomass]	0	
r46	AcCoA --> [Biomass]	0	
r47	OAA --> [Biomass]	0	
r48	AKG --> [Biomass]	0	
r49	Subs_CO2 --> CO2_in	13	A --> A
r50	CO2_in --> [CO2_ex]	13	

Carbon transitions in amino acid synthesis

Metabolite	Rxns	Carbon transitions
Ala85	PYR --> Ala85	ABC --> BC
Ala57	PYR --> Ala57	ABC --> ABC
Asx302	OAA --> Asx302	ABCD --> AB
Asx159	OAA --> Asx159	ABCD --> BCD
Asx85	OAA --> Asx85	ABCD --> BCD
Asx57	OAA --> Asx57	ABCD --> ABCD
Glx159	AKG --> Glx159	ABCDE --> BCDE
Glx85	AKG --> Glx85	ABCDE --> BCDE
Glx57	AKG --> Glx57	ABCDE --> ABCDE
Phe302	PEP + PEP + E4P --> Phe302	ABC + DEF + GHIJ --> AB
Phe159	PEP + PEP + E4P --> Phe159	ABC + DEF + GHIJ --> BCEFGHIJ
Phe85	PEP + PEP + E4P --> Phe85	ABC + DEF + GHIJ --> BCEFGHIJ
Phe57	PEP + PEP + E4P --> Phe57	ABC + DEF + GHIJ --> ABCEFGHIJ
Gly85	PGP --> Gly85	ABC --> B
Gly57	PGP --> Gly57	ABC --> AB
Ile159	OAA + PYR --> Ile159	ABCD + EFG --> BFCDG
Ile85	OAA + PYR --> Ile85	ABCD + EFG --> BFCDG
Leu159	AcCoA + PYR + PYR --> Leu159	AB + CDE + FGH --> BDGHE
Leu85	AcCoA + PYR + PYR --> Leu85	AB + CDE + FGH --> BDGHE
Ser302	PGP --> Ser302	ABC --> AB
Ser159	PGP --> Ser159	ABC --> BC
Ser85	PGP --> Ser85	ABC --> BC
Ser57	PGP --> Ser57	ABC --> ABC
Val302	PYR + PYR --> Val302	ABC + DEF --> AB
Val159	PYR + PYR --> Val159	ABC + DEF --> BCEF
Val85	PYR + PYR --> Val85	ABC + DEF --> BCEF
Val57	PYR + PYR --> Val57	ABC + DEF --> ABCEF
Thr85	OAA --> Thr85	ABCD --> BCD
Thr57	OAA --> Thr57	ABCD --> ABCD

Table S5 Measured and estimated MID of proteinogenic amino acids.

Name	Fragment	MID	S1 A-024		S2 OA191	
			Measured	Estiamted	Measured	Estiamted
Ala	[M-85]+	M+0	0.578	0.586	0.586	0.589
		M+1	0.152	0.149	0.143	0.139
		M+2	0.269	0.266	0.272	0.272
	[M-57]+	M+0	0.551	0.556	0.559	0.555
		M+1	0.160	0.159	0.153	0.159
		M+2	0.050	0.045	0.044	0.041
		M+3	0.240	0.239	0.244	0.245
Asx	[f302]+	M+0	0.606	0.605	0.620	0.616
		M+1	0.166	0.168	0.148	0.153
		M+2	0.228	0.227	0.232	0.231
	[M-159]+	M+0	0.433	0.436	0.448	0.451
		M+1	0.263	0.263	0.250	0.246
		M+2	0.219	0.219	0.219	0.221
		M+3	0.086	0.083	0.083	0.082
	[M-85]+	M+0	0.439	0.436	0.453	0.451
		M+1	0.266	0.263	0.253	0.246
		M+2	0.216	0.219	0.216	0.221
		M+3	0.080	0.083	0.079	0.082
	[M-57]+	M+0	0.394	0.392	0.413	0.409
		M+1	0.234	0.235	0.225	0.226
		M+2	0.164	0.160	0.150	0.143
		M+3	0.159	0.164	0.163	0.172
		M+4	0.048	0.049	0.049	0.050
Glx	[M-159]+	M+0	0.304	0.302	0.320	0.312
		M+1	0.239	0.237	0.224	0.218
		M+2	0.294	0.301	0.299	0.311
		M+3	0.107	0.104	0.099	0.098
		M+4	0.056	0.056	0.058	0.061
	[M-85]+	M+0	0.303	0.302	0.320	0.312
		M+1	0.239	0.237	0.222	0.218
		M+2	0.296	0.301	0.301	0.311
		M+3	0.107	0.104	0.098	0.098
		M+4	0.056	0.056	0.059	0.061
	[M-57]+	M+0	0.259	0.255	0.275	0.265
		M+1	0.219	0.219	0.211	0.208
		M+2	0.277	0.283	0.281	0.287
		M+3	0.151	0.151	0.143	0.146
		M+4	0.072	0.071	0.070	0.072
		M+5	0.021	0.022	0.020	0.022
Phe	[f302]+	M+0	0.688	0.671	0.691	0.670
		M+1	0.067	0.081	0.063	0.080
		M+2	0.245	0.248	0.247	0.250
	[M-159]+	M+0	0.223	0.211	0.225	0.212
		M+1	0.136	0.138	0.133	0.133
		M+2	0.222	0.227	0.225	0.230
		M+3	0.111	0.101	0.108	0.101
		M+4	0.137	0.142	0.137	0.144
		M+5	0.066	0.065	0.065	0.064
		M+6	0.072	0.079	0.073	0.080
		M+7	0.020	0.021	0.020	0.021
		M+8	0.013	0.016	0.014	0.016
	[M-85]+	M+0	0.225	0.211	0.226	0.212
		M+1	0.135	0.138	0.131	0.133
		M+2	0.223	0.227	0.227	0.230
		M+3	0.111	0.101	0.108	0.101
		M+4	0.136	0.142	0.137	0.144
		M+5	0.066	0.065	0.065	0.064
		M+6	0.071	0.079	0.074	0.080
		M+7	0.020	0.021	0.019	0.021
		M+8	0.013	0.016	0.015	0.016
	[M-57]+	M+0	0.219	0.200	0.219	0.200
		M+1	0.138	0.138	0.137	0.135
		M+2	0.139	0.144	0.138	0.143
		M+3	0.161	0.156	0.162	0.158
		M+4	0.128	0.132	0.128	0.131
		M+5	0.093	0.097	0.092	0.097
		M+6	0.059	0.061	0.059	0.061
		M+7	0.041	0.046	0.042	0.046
		M+8	0.009	0.014	0.013	0.014
		M+9	0.012	0.014	0.012	0.015

Gly	[M-85]+	M+0	0.713	0.711	0.713	0.712
		M+1	0.287	0.289	0.287	0.288
	[M-57]+	M+0	0.678	0.671	0.679	0.670
		M+1	0.070	0.080	0.069	0.080
		M+2	0.252	0.249	0.252	0.250
Ile	[M-159]+	M+0	0.261	0.255	0.272	0.265
		M+1	0.217	0.219	0.210	0.208
		M+2	0.278	0.283	0.281	0.287
		M+3	0.150	0.151	0.145	0.146
		M+4	0.071	0.071	0.070	0.072
		M+5	0.022	0.022	0.022	0.022
	[M-85]+	M+0	0.261	0.255	0.272	0.265
		M+1	0.218	0.219	0.211	0.208
		M+2	0.278	0.283	0.281	0.287
		M+3	0.150	0.151	0.144	0.146
		M+4	0.071	0.071	0.071	0.072
		M+5	0.021	0.022	0.021	0.022
Leu	[M-159]+	M+0	0.220	0.209	0.224	0.209
		M+1	0.231	0.240	0.230	0.236
		M+2	0.265	0.271	0.267	0.270
		M+3	0.178	0.178	0.176	0.180
		M+4	0.077	0.074	0.075	0.075
		M+5	0.028	0.028	0.028	0.029
	[M-85]+	M+0	0.236	0.209	0.233	0.209
		M+1	0.233	0.240	0.233	0.236
		M+2	0.259	0.271	0.262	0.270
		M+3	0.173	0.178	0.172	0.180
		M+4	0.073	0.074	0.072	0.075
		M+5	0.027	0.028	0.027	0.029
Ser	[f302]+	M+0	0.677	0.671	0.678	0.670
		M+1	0.067	0.080	0.067	0.080
		M+2	0.255	0.249	0.255	0.250
	[M-159]+	M+0	0.579	0.586	0.581	0.589
		M+1	0.168	0.147	0.168	0.139
		M+2	0.253	0.266	0.250	0.272
	[M-85]+	M+0	0.575	0.586	0.575	0.589
		M+1	0.165	0.147	0.167	0.139
		M+2	0.259	0.266	0.258	0.272
	[M-57]+	M+0	0.554	0.557	0.554	0.555
		M+1	0.163	0.159	0.164	0.159
		M+2	0.050	0.044	0.051	0.041
		M+3	0.233	0.240	0.231	0.245
Val	[f302]+	M+0	0.648	0.671	0.652	0.670
		M+1	0.090	0.081	0.085	0.080
		M+2	0.262	0.248	0.263	0.250
	[M-159]+	M+0	0.343	0.343	0.349	0.347
		M+1	0.175	0.174	0.166	0.164
		M+2	0.321	0.333	0.327	0.340
		M+3	0.090	0.079	0.085	0.076
		M+4	0.071	0.071	0.072	0.074
	[M-85]+	M+0	0.344	0.343	0.353	0.347
		M+1	0.175	0.174	0.168	0.164
		M+2	0.327	0.333	0.334	0.340
		M+3	0.082	0.079	0.073	0.076
		M+4	0.072	0.071	0.072	0.074
	[M-57]+	M+0	0.335	0.325	0.343	0.327
		M+1	0.177	0.176	0.171	0.171
		M+2	0.192	0.198	0.191	0.197
		M+3	0.185	0.189	0.186	0.193
		M+4	0.049	0.048	0.045	0.045
		M+5	0.063	0.064	0.064	0.067
Thr	[M-85]+	M+0	0.434	0.436	0.452	0.451
		M+1	0.266	0.263	0.249	0.246
		M+2	0.221	0.219	0.220	0.221
		M+3	0.079	0.083	0.079	0.082
	[M-57]+	M+0	0.391	0.392	0.411	0.409
		M+1	0.233	0.235	0.225	0.226
		M+2	0.166	0.160	0.151	0.143
		M+3	0.161	0.164	0.164	0.172
		M+4	0.049	0.049	0.050	0.050

Table S6 Best fitted flux and its 95% confidence interval.

ID	Reactions	Relative flux values (%)						Absolute flux values (mmol g^{-1} DCW h^{-1})					
		MGB874 (%)			MGB874+AbrB (%)			MGB874 (mmol/g/h)			MGB874+AbrB (mmol/g/h)		
		Best*1	LB*2	UB*2	Best*1	LB*2	UB*2	Best*1	LB*2	UB*2	Best*1	LB*2	UB*2
r1	Subs_Glc --> G6P	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	5.9	5.9	5.9	6.7	6.7	6.7
r2	G6P --> F6P	44.3	39.0	50.4	65.0	56.5	67.6	2.6	2.3	3.0	4.4	3.8	4.5
r3	F6P --> DHAP + G3P	74.2	72.5	76.3	81.2	78.3	82.0	4.4	4.3	4.5	5.5	5.3	5.5
r4	DHAP --> G3P	72.7	71.0	74.8	79.7	76.8	80.5	4.3	4.2	4.4	5.4	5.2	5.4
r5	G3P --> PGP	161.4	159.7	163.5	168.5	165.6	169.3	9.6	9.5	9.7	11.3	11.1	11.4
r6	PGP --> PEP	151.0	149.3	153.1	158.1	155.3	159.0	9.0	8.9	9.1	10.6	10.4	10.7
r7	PEP --> PYR	155.3	143.8	163.6	152.7	149.9	158.5	9.2	8.6	9.7	10.3	10.1	10.7
r8	PYR --> AcCoA + CO2_in	95.3	93.5	97.3	103.3	100.5	104.2	5.7	5.6	5.8	6.9	6.8	7.0
r9	AcCoA + OAA --> CIT	34.1	32.3	36.1	22.0	19.2	22.9	2.0	1.9	2.2	1.5	1.3	1.5
r10	CIT --> AKG + CO2_in	34.1	32.3	36.1	22.0	19.2	22.9	2.0	1.9	2.2	1.5	1.3	1.5
r11	AKG --> Sym_SUC + CO2_in	25.9	24.1	27.9	13.8	11.0	14.7	1.5	1.4	1.7	0.9	0.7	1.0
r12	Sym_SUC --> MAL	22.0	20.3	24.1	10.6	7.8	11.5	1.3	1.2	1.4	0.7	0.5	0.8
r13	MAL --> OAA	22.0	11.7	24.1	10.6	3.9	11.5	1.3	0.7	1.4	0.7	0.3	0.8
r14	PYR + CO2_in --> OAA	36.5	31.1	42.8	26.0	26.0	31.0	2.2	1.9	2.5	1.8	1.8	2.1
r15	MAL --> PYR + CO2_in	0.0	0.0	8.6	0.0	0.0	3.9	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.3
r16	OAA --> PEP + CO2_in	9.7	0.0	16.0	0.0	0.0	5.0	0.6	0.0	1.0	0.0	0.0	0.3
r17	G6P --> Ru5P + CO2_in	54.6	48.4	59.8	33.8	31.2	42.3	3.2	2.9	3.6	2.3	2.1	2.8
r18	Ru5P --> X5P	31.4	27.3	34.9	17.6	15.9	23.3	1.9	1.6	2.1	1.2	1.1	1.6
r19	Ru5P --> R5P	23.2	21.1	24.9	16.2	15.3	19.0	1.4	1.3	1.5	1.1	1.0	1.3
r20	R5P + X5P --> S7P + G3P	16.9	14.8	18.6	10.0	9.1	12.8	1.0	0.9	1.1	0.7	0.6	0.9
r21	G3P + S7P --> F6P + E4P	16.9	14.8	18.6	10.0	9.1	12.8	1.0	0.9	1.1	0.7	0.6	0.9
r22	E4P + X5P --> F6P + G3P	14.5	12.5	16.3	7.6	6.8	10.5	0.9	0.7	1.0	0.5	0.5	0.7
r23	PYR --> [Acetoin]	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
r24	AcCoA --> [Acetate]	44.8	44.8	44.8	65.0	65.0	65.0	2.7	2.7	2.7	4.4	4.4	4.4
r25	Sym_SUC --> [Succinate]	3.8	3.8	3.8	3.2	3.2	3.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
r26	G6P --> [Biomass]	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
r27	F6P --> [Biomass]	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
r28	R5P --> [Biomass]	6.3	6.3	6.3	6.2	6.2	6.2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
r29	E4P --> [Biomass]	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
r30	DHAP --> [Biomass]	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
r31	PGP --> [Biomass]	10.4	10.4	10.4	10.3	10.3	10.3	0.6	0.6	0.6	0.7	0.7	0.7
r32	PEP --> [Biomass]	5.5	5.5	5.5	5.4	5.4	5.4	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4
r33	PYR --> [Biomass]	23.5	23.5	23.5	23.4	23.4	23.4	1.4	1.4	1.4	1.6	1.6	1.6
r34	AcCoA --> [Biomass]	16.4	16.4	16.4	16.3	16.3	16.3	1.0	1.0	1.0	1.1	1.1	1.1
r35	OAA --> [Biomass]	14.8	14.8	14.8	14.7	14.7	14.7	0.9	0.9	0.9	1.0	1.0	1.0
r36	AKG --> [Biomass]	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6
r37	CO2_in -->	183.0	183.0	183.0	146.9	146.9	146.9	10.9	10.9	10.9	9.9	9.9	9.9

*1 Best denotes best fitted flux.

*2 LB and UB denote lower and upper bounds of the confidence interval of estimated flux.

1.2 γ-PGA 合成酵素の改変による γ-L-PGA の生産

（略）

1.3 先端研究の総括

本研究では、低コスト・高効率な γ-L-PGA 生産プロセスの開発に向けて、γ-L-PGA を高生産する枯草菌株を開発することを目指した。第一部では、その実現に必要な 2 つの研究成果について説明した。

第一章では、「細胞分化の抑制による γ-PGA の高生産化」について説明した。枯草菌 MGB874 株は、物質生産の障害となり得る非必須遺伝子領域を大規模に欠失したゲノム縮小株であり、この株を親株として γ-PGA 合成遺伝子を導入することで、その高生産が期待できる。一方で、MGB874 株では、ゲノム縮小前の親株である OA105 株と比較して、増殖速度の低下が見られ、これが γ-PGA 生産能の低下にも繋がると考えられた。このネガティヴな表現型は、細胞分化に関わる AbrB 制御遺伝子の発現増加によって、必要な栄養源が競合したことで引き起こされた可能性が示唆されたため、$P_{abrB(\Delta SA)}$を導入し、グローバル制御因子 AbrB を恒常的に高発現することで、細胞分化遺伝子を抑制し、増殖速度を回復させることを試みた。結果として、$P_{abrB(\Delta SA)}$の導入は、AbrB 制御下の細胞分化遺伝子の発現抑制、中枢代謝経路（CMP）遺伝子の発現増加、アミノ酸およびプリン／ピリミジンヌクレオチド生合成遺伝子の発現増加などを引き起こし、それに伴い増殖速度の抑制は緩和された。さらには、CMP 遺伝子やグルタミン酸合成遺伝子の発現増大に伴い、γ-PGA の生産量・生産効率は大きく向上し、MGB874 株における γ-PGA の高生産化を実現した。現在は、さらなる高生産化に向けて、*abrB* を含む多数の遺伝子を制御するグローバル制御因子 Spo0A の欠損を検討しており（**Fig. 1A**）、MMOPS 最少培地でも増殖できる Δ*spo0A* 株の突然変異株の取得を試みている。

第二章では、「γ-PGA 合成酵素の改変による γ-L-PGA の生産」について説明した。（略）

将来的には、これら 2 つの研究成果を統合することで、γ-L-PGA 高生産枯草菌株を開発し、低コスト高効率な γ-L-PGA の生産の実現とその事業化を目指す。第一章では、グルコースとアンモニアを単一の炭素源・窒素源とした最少培地で 4.1 g L^{-1} day^{-1} の γ-PGA 生産を実現した。第二章では、γ-DL-PGA のおよそ半分の生産効率で γ-L-PGA 生産を実現した。これらの結果から、最少培地において 2.05 g L^{-1} day^{-1} の γ-L-PGA 生産が実現し

得ると計算した。*N. aegyptiaca* の γ-L-PGA 生産と比較すると [59] [60] [61]、培地コストは 1,260 円/L から 186 円/L へと 1/8 の低下（**Table S9**）、生産効率は 0.83 g L^{-1} day^{-1} から 2.05 g L^{-1} day^{-1} へと 2.5 倍の増加を実現できるであろう。第二部では、本研究成果をもとに、γ-L-PGA のバイオプラスチックへの応用を見据えて、事業化検討を行っていく。

Supplement Data

Table S9. Media cost required for γ-L-PGA production

Strain	Main component	Price per gram [yen g^{-1}] (1)	Media cost [yen L^{-1}]
	22.5% NaCl	1.5	337
	3% Citrate-Na	6	180
N. aegyptiaca	1% Yeast Extract	34.3	343
	0.75% Casamino acid	53.4	40
	Total	-	**1,260**
	5% Glucose	2.8	140
B. subtilis	1.2% NH_4Cl	3.8	46
	Total	-	**186**

(1) Calculated based on selling price at Wako.

参考文献

[1] Landon, S., Rees-Garbutt, J., Marucci, L. *et al.* Genome-driven cell engineering review: *in vivo* and *in silico* metabolic and genome engineering. *Essays Biochem.* **63**, 267‑284 (2019).

[2] Juhas, M., Reuß, R. D., Zhu, B. *et al*. *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* essential genes and minimal cell factories after one decade of genome engineering. *Microbiology* **160**, 2341‑2351 (2014).

[3] Morimoto, T., Kadoya, R., Endo, K. *et al*. Enhanced recombinant protein productivity by genome reduction in *Bacillus subtilis*. *DNA Res.* **15**, 73‑81 (2008).

[4] Manabe, K., Kageyama, Y., Morimoto, T. *et al.* Improved production of secreted heterologous enzyme in *Bacillus subtilis* strain MGB874 via modification of glutamate metabolism and growth conditions. *Microb. Cell Fact.* **12**, 18 (2013).

[5] Suarez, A. R., Stülke, J., Dijl, M. J. Less is more: toward a genome-reduced *Bacillus* cell factory for "Difficult proteins". *ACS Synth. Biol.* **8**, 99−108 (2019).

[6] Tilburg, Y. A., van Heel, A. J., Stülke, J. *et al.* Mini *Bacillus* PG10 as a convenient and effective production host for lantibiotics. *ACS Synth. Biol.* **9**, 1833−1842 (2020).

[7] Ara, K., Ozaki, K., Nakamura, K. *et al. Bacillus* minimum genome factory: effective utilization of microbial genome information. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **46**, 169‑178 (2007).

[8] Hashimoto, M., Ichimura, T., Mizoguchi, H. *et al*. Cell size and nucleoid organization of engineered *Escherichia coli* cells with a reduced genome. *Mol. Microbiol.* **55**, 137‑149 (2005).

[9] Reuß, R. D., Altenbuchner, J., Mäder, U. *et al*. Large-scale reduction of the *Bacillus subtilis* genome: consequences for the transcriptional network, resource allocation, and metabolism. *Genome Res.* **27**, 289-299 (2016).

[10] Lopez, D., Vlamakis, H., Kolter, R. Generation of multiple cell types in *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiol. Rev.* **33**, 152‑163 (2009).

[11] Chumsakul, O., Takahashi, H., Oshima, T. *et al*. Genome-wide binding profiles of the *Bacillus subtilis* transition state regulator AbrB and its homolog Abh reveals their interactive role in transcriptional regulation. *Nucleic Acids Res.* **39**, 414-28 (2011).

[12] Chumsakul, O., Nakamura, K., Kurata, T. *et al*. High-resolution mapping of *in vivo* genomic transcription factor binding sites using *in situ* DNase I footprinting and ChIP-seq. *DNA Res.* **20**, 325‑337 (2013).

[13] Strauch, M., Webb, V., Spiegelman, G. *et al*. The SpoOA protein of *Bacillus subtilis* is a repressor of the *abrB* gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**, 1801‑1805 (1990).

[14] Kudoh, J., Ikeuchi, T., Kurahashi, K. Nucleotide sequences of the sporulation gene *spo0A* and its mutant genes of *Bacillus subtilis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 2665-2668 (1985).

[15] Fisher, H. S., Strauch, A. M., Atkinson, R. M. *et al*. Modulation of *Bacillus subtilis* catabolite repression by transition state regulatory protein AbrB. *J. Bacteriol.* **176**, 1903-12 (1994).

[16] Toya, Y., Hirasawa, T., Ishikawa, S. *et al*. Enhanced dipicolinic acid production during the stationary phase in *Bacillus subtilis* by blocking acetoin synthesis. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **79**, 2073‑2080 (2015).

[17] Lei, Y., Oshima, T., Ogasawara, N. *et al*. Functional analysis of the protein Veg, which stimulates biofilm formation in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* **195**, 1697‑1705 (2013).

[18] Mori, K., Verrone, V., Amatsu, R. *et al*. Assessment of *Bacillus subtilis* plasmid pLS20 conjugation in the absence of quorum sensing repression. *Microorganisms* **9**, 1931 (2021).

[19] Oshima, T., Ishikawa, S., Kurokawa, K. *et al*. *Escherichia coli* histone-like protein H-NS preferentially binds to horizontally acquired DNA in association with RNA polymerase. *DNA Res.* **13**, 141-53 (2006).

[20] Kusuya, Y., Kurokawa, K., Ishikawa, S. *et al*. Transcription factor GreA contributes to resolving promoter-proximal pausing of RNA polymerase in *Bacillus subtilis* cells. *J. Bacteriol.* **193**, 3090-9 (2011).

[21] Pedreira, T., Elfmann, C., Stülke, J. The current state of *Subti*Wiki, the database for the model organism *Bacillus subtilis*. *Nucleic Acids Res.* **50**, D875-D882 (2022).

[22] Kanehisa, M., Furumichi, M., Sato, Y. *et al*. KEGG: integrating viruses and cellular organisms. *Nucleic Acids Res.* **49**, D545‑D551 (2021).

[23] Zhou, G., Soufan, O., Ewald, J. *et al*. NetworkAnalyst 3.0: a visual analytics platform for comprehensive gene expression profiling and meta-analysis. *Nucleic Acids Res.* **47**,

W234-W241 (2019).

[24] Ritchie, E. M., Phipson, B., Wu, D. *et al.* limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Res.* **43**, e47 (2015).

[25] Usui, Y., Hirasawa, T., Furusawa, C. *et al*. Investigating the effects of perturbations to *pgi* and *eno* gene expression on central carbon metabolism in *Escherichia coli* using ^{13}C metabolic flux analysis. *Microb. Cell Fact*. **11**, 87 (2012).

[26] Matsuda, F., Toya, Y., Shimizu, H. Learning from quantitative data to understand central carbon metabolism. *Biotechnol. Adv.* **35**, 971-980. (2017).

[27] Antoniewicz, R. M., Kelleher, K. J., Stephanopoulos, G. Elementary metabolite units (EMU): a novel framework for modeling isotopic distributions. *Metab. Eng.* **9**, 68-86 (2007).

[28] Sauer, U., Hatzimanikatis, V., Hohmann, P. H. *et al.* Physiology and metabolic fluxes of wild-type and riboflavin-producing *Bacillus subtilis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**, 3687-96 (1996).

[29] Antoniewicz, R. M., Kelleher, K. J., Stephanopoulos, G. Determination of confidence intervals of metabolic fluxes estimated from stable isotope measurements. *Metab. Eng.* **8**, 324-337 (2006).

[30] Kajihata, S., Furusawa, C., Matsuda, F. *et al*. OpenMebius: an open source software for isotopically nonstationary ^{13}C-based metabolic flux analysis. *Biomed Res. Int.* **2014** 627014 (2014).

[31] Sawada, K., Araki, H., Takimura, Y. *et al.* Poly-L-gamma-glutamic acid production by recombinant *Bacillus subtilis* without *pgsA* gene. *AMB Express.* **8**, 110 (2018).

[32] Gaidenko, A. T., Price, W. C. General stress transcription factor σB and sporulation transcription factor σH each contribute to survival of *Bacillus subtilis* under extreme growth conditions *J. Bacteriol.* **180**, 3730–3733 (1998).

[33] M´endez, B. M., Orsaria, M. L., Philippe, V. *et al*. Novel roles of the master transcription factors Spo0A and σB for survival and sporulation of Bacillus subtilis at low growth temperature. *J. Bacteriol.* **186**, 989‑1000 (2004).

[34] Pérez Morales, G. T., Ho, D. T., Liu, W. T. *et al*. Production of the cannibalism toxin SDP is a multistep process that requires SdpA and SdpB. *J. Bacteriol.* **195**, 3244-51 (2013).

[35] Kobir, A., Poncet, S., Bidnenko, V. *et al.* Phosphorylation of *Bacillus subtilis* gene regulator AbrB modulates its DNA-binding properties. *Mol. Microbiol.* **92**, 1129‑1141 (2014).

[36] Banse, V. A., Chastanet, A., Rahn-Lee, L. *et al*. Parallel pathways of repression and antirepression governing the transition to stationary phase in *Bacillus subtilis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 15547-52 (2008).

[37] Cairns, S. L., Marlow, L. V., Kiley, B. T. *et al*. FlgN is required for flagellum-based motility by *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* **196**, 2216-26 (2014).

[38] Kodgire, P., Rao, K. K. *hag* expression in *Bacillus subtilis* is both negatively and positively regulated by ScoC. *Microbiology* **155**, 142‑149 (2009).

[39] Fukuchi, K., Kasahara, Y., Asai, K. *et al.* The essential two-component regulatory system encoded by *yycF* and *yycG* modulates expression of the *ftsAZ* operon in *Bacillus subtilis*. Microbiology **146**, 1573-1583 (2000).

[40] Morimoto, T., Loh, C. P., Hirai, T. *et al.* Six GTP-binding proteins of the Era/Obg family are essential for cell growth in *Bacillus subtilis.* Microbiology **148**, 3539-3552 (2002).

[41] Ledeaux, R. J., Grossman, D. A., Isolation and characterization of *kinC*, a gene that encodes a sensor kinase homologous to the sporulation sensor kinases KinA and KinB in *Bacillus subtilis. J. Bacteriol.* **177**, 166-75 (1995).

[42] Morimoto, T., Ara, K., Ozaki, K. *et al*. A simple method for introducing marker-free deletions in the *Bacillus subtilis* genome. *Methods Mol. Biol.* **765**, 345-358 (2011).

[43] Natori, Y., Tagami, K., Murakami, K. *et al*. Transcription activity of individual *rrn* operons in *Bacillus subtilis* mutants deficient in (p)ppGpp synthetase genes, *relA*, *yjbM*, and *ywaC. J. Bacteriol.* **191**, 4555-61 (2009).

2 事業化検討

第一部では、低コスト高効率な γ-L-PGA 生産の実現を目的とした先端研究について説明した。そして、得られた研究成果から、グルコースとアンモニアを単一の炭素源・窒素源とした最少培地において、1 日で 2.05 g/L の γ-L-PGA 生産が可能となり得ると計算した。グルコースの原料価格を 40 円/kg [62]、アンモニアの原料価格を 70 円/kg [63]とし、**図 1** の仮定に従うと、1 kg の γ-L-PGA の製造原価は 6,632 円と概算できる（**表 1**）。化粧品原料として実用化されている *N. aegyptiaca* 由来の γ-L-PGA の販売価格は 50 万円/kg であることから、γ-L-PGA 生産の圧倒的な低コスト化を実現できるであろう。

図 1　製造原価の構成

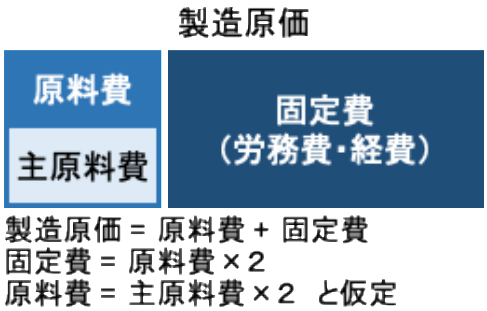
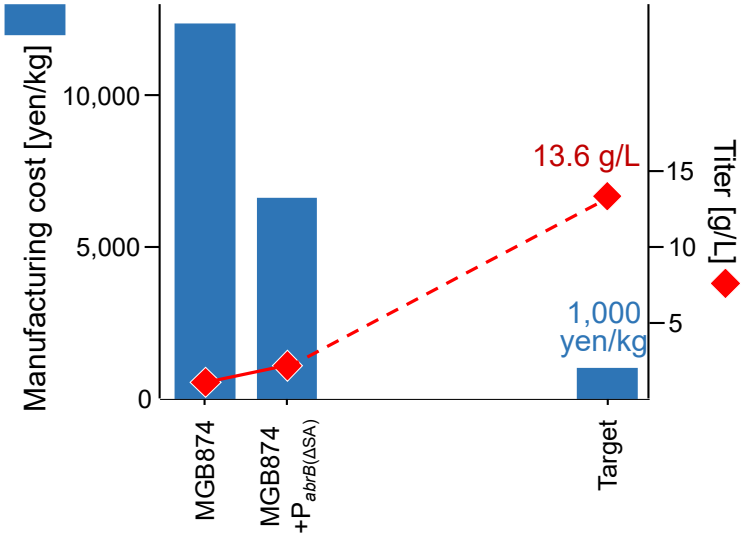


表 1　γ-L-PGA 製造原価の概算

Strain	Titer (g/L)	Manufacturing cost (yen/kg)
MGB874	1.10	12,360
MGB874 + $P_{abrB(\Delta SA)}$	2.05	**6,632**

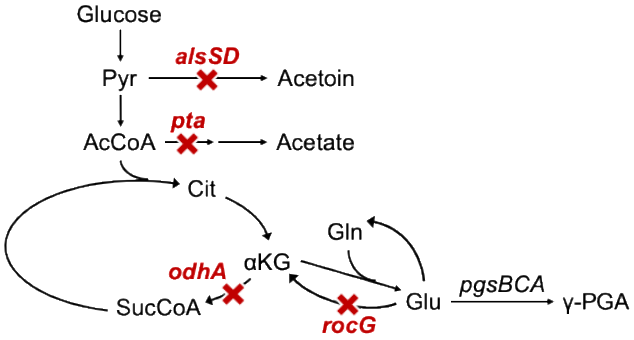
一方で、バイオプラスチックへの応用を見据えると、その機能価値にも依るが凡そ 1,000 円/kg レベルの製造原価が求められる。そして、そのためには 2.05 g/L の 6.6 倍となる 13.6 g/L の γ-L-PGA 生産を実現しなければならない（**図 2**）。

図 2　求められる γ-L-PGA の製造原価と生産量



このように、本研究成果によって、γ-L-PGA の製造原価を大幅に低下できるであろうが、バイオプラスチック原料に要求されるレベルには達しておらず、γ-L-PGA をさらに高生産する枯草菌株の研究開発が必要である。**1.3 先端研究の総括**でも触れたとおり、本研究の今後の展望として、*spo0A* の欠損による厳密な細胞分化抑制や（略）によって、γ-L-PGA の高生産化が期待できる。他にも、γ-L-PGA 生産に不要な代謝経路の欠損によって γ-L-PGA の高生産化が期待できる。例えば、**図 3** に示す *alsSD*、*pta*、*odhA*、*rocG* などの遺伝子を欠損することで、より多くの炭素源を γ-L-PGA 生産へと導くことが期待できる。

図 3　γ-L-PGA 高生産に向けた欠損遺伝子の候補



そして、これらの遺伝子改変に加えて、解糖系、TCA サイクル、グルタミン酸合成経路、γ-PGA 合成の遺伝子の発現強度を最適化していくことが高生産化には求められるであろう。ただし、グルコースから γ-L-PGA の合成経路に関与する遺伝子は、直接的に関与するものだけでも 22 種類ある（**表 2**）。例えば、発現強度を「大」、「中」、「小」の 3 段階に調節する場合、その遺伝子改変パターンは単純計算で 3^{22}≒300 億と極めて膨大なものとなる。そのため、人の手で仮説・検証を行っていくのはほぼ不可能であると言える。

表 2　γ-L-PGA 生産に直接関与する遺伝子

反応系	遺伝子
解糖系 （グルコース→ピルビン酸）	10種類（*ptsG*, *pgi*, *pfkA*, *fbaA*, *tpi*, *gapA*, *pgk*, *pgm*, *eno*, *pyk*）
ピルビン酸脱炭酸反応 （ピルビン酸→アセチルCoA）	4種類（*pdhA*, *pdhB*, *pdhC*, *pdhD*）
TCAサイクル （アセチルCoA→α-ケトグルタル酸）	3種類（*citZ*, *citB*, *icd*）
グルタミン酸合成経路 （α-ケトグルタル酸→グルタミン酸）	2種類（*gltA*, *gltB*）
γ-PGA合成 （グルタミン酸→γ-PGA）	3種類（*pgsB*, *pgsC*, *pgsA*）

このような研究開発は、コンピュータ支援・オートメーション化が進んだバイオファウンドリをプラットフォームとして活用することで可能となる。バイオファウンドリにおいて、γ-L-PGA を 13.6 g/L で高生産する枯草菌株の研究開発が成功し、γ-L-PGA を 1,000 円/kg で製造できるようになれば、バイオプラスチック原料としての利用も期待できる。そこで、筆者は神戸大学発バイオファウンドリ「株式会社バッカス・バイオイノベーション」における事業化を検討した。ただし、創業期のバッカス社自体にも成功に向けた戦略分析が必要であることから、まず、バッカス社の成功に向けた戦略の提言を行い、それを踏まえて本研究成果の事業化提案を行っていく。

2.1 バイオファウンドリの背景

2.1.1 合成生物学と DBTL サイクル

生物学では、「観察し、知り、解析する」時代から、「創り、利用する」時代へとパラダイムシフトが起きている [64]。細胞や遺伝子といった生物の構成要素を部品とみなし、それらを組み合わせて機能的な生物を創り出すことを目的とした新しい学問分野は「合成生物学」と呼ばれている。そして、機能的な生物を創出するプロセスは、Design（設計）、Build（構築）、Test（試験）、Learn（学習）の 4 つの工程から構成され、これら工程が連動したサイクルはそれぞれの頭文字を取って「DBTL サイクル」と呼ばれている [65] [66]。DBTL サイクルを繰り返すことで、例えば微生物の遺伝子を合理的かつ効率的に改変し、短期間でのスマートセル[1]の開発（生物機能の自在なエンジニアリング）が可能となることが期待される。

本来的に、生物学の研究は人の手で仮説と検証を繰り返し、その結果の蓄積によって発展してきた。しかし、合成生物学における DBTL サイクルは、デジタルテクノロジーとの融合により、これまでの生物学の研究活動とは次元が異なるワークフローとなっている。これまでの研究活動では仮説になり得なかったところまでを含めて、迅速かつ網羅的に検証を行うのである。DBTL サイクルは、合成生物学の要となるワークフローとして位置づけられる。

一見複雑そうな生物の機能は、わずか 4 種類の塩基（A、T、G、C）の羅列によってプログラムされている。この点は、コンピュータにおけるプログラムが 0 と 1 の 2 種類のデジタル信号として扱われていることと共通している。つまり、生物の遺伝情報は完全なデジタル情報であり、コンピュータで扱うことに親和性があると言える。しかし、たった 4 種類の塩基といっても、例えばヒトの遺伝情報は約 30 億の塩基からなるほど膨大であるため、その配列パターンは無限と言って差し支えないほど存在する。そのため、遺伝情報が現れた性質や特徴を統合的に解析し、遺伝情報とリンクさせることは容易ではなかった。

[1] 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 [66]。

ところが、デジタルテクノロジーの飛躍的な発展を背景に、統計解析や人工知能を活用して、それらの情報を統合的に扱うことができるようになってきた。さらに、そこへ遺伝情報を意図的に書き換えることができるゲノム編集技術が登場し、DNA をゼロから構築していく DNA 合成技術も大きく進展した。生物情報をデジタル情報として扱うための技術が出揃い、DNA コードの書き換えによる細胞機能のプログラミングが可能となったのである。

これは産業的に極めて大きな意味合いを持つ。産業バイオ業界では、これまでも微生物の遺伝子を改変してスマートセルを開発することで、様々な有用物質が発酵生産されてきたが、その開発には多大な時間とコストが必要であった。DBTL サイクルのワークフローをもとに細胞機能をプログラミングすることで、例えばこれまで微量しか得られなかった天然物を微生物で大量に生産する、化学的に生産されていた物質をより環境負荷の少ないバイオプロセスで生産するといったことが極めて短期間の研究開発で実現でき得るのである。

2.1.2 DBTL サイクルの各工程

DBTL サイクルの各工程は、複数の要素技術によって構成されている。業務改善のマネジメント手法である PDCA（Plan･Do･Check･Act）サイクルのように、それぞれの工程を順番に繰り返すことで、細胞の開発が行われる。微生物を利用して有用物質を生産することを念頭においた各工程は次のようなものとなる [65] [66] [67] [68]。

＜Design 工程＞

Design 工程では、目的とする有用物質を効率よく生産するために細胞の代謝経路や遺伝子配列を設計する。まず、細胞内での物質生産工程の大枠となる代謝経路を設計する。生物の代謝システムは非常に複雑であるため、代謝反応のネットワークモデルを駆使して、目的物質の生産に適した経路を設計していく。つぎに、その経路を細胞内で機能させるための遺伝子配列を、専用ソフトウェアを使用して設計する。多くの場合、一定の長さの規格化された遺伝子パーツを、レゴブロックのように様々なバリエーション

や連結パターンにより組み合わせて、膨大な種類の細胞を構築・試験できるように考慮する。生物の遺伝子は、非常に複雑な制御関係のもとで発現するため、こちらも同様に、遺伝子発現制御ネットワークモデルを駆使して、適した遺伝子配列を設計していく。これらネットワークモデルは、文献から抽出された公開情報に加えて、これまでの DBTL サイクルで生成された情報から構成されている。一度使用した代謝経路や遺伝子配列はデータベースに保存してカタログ化していく。その数が増えていくに従い、設計のパターンと効率性が増していくことになる。

＜Build 工程＞

Build 工程では、Design 工程での設計に基づいて、細胞内の遺伝子配列を実際に構築する。後の Learn 工程での学習に資するには、膨大な種類（数千から数十万レベル）の細胞の構築を構築することが重要になる。そして、DBTL サイクル期間の短縮に向けては、これら膨大な種類の細胞を高速で構築することが求められる。このような膨大な数の高速処理をハイスループットといい、Build 工程ではロボティクス技術による自動化によって、作業の正確性とスループット性を高めていくことが重要なポイントとなる。

＜Test 工程＞

Test 工程では、Build 工程で構築した細胞の評価・解析試験を行う。Test 工程において最も重要な試験は、目的物質の検出と定量である。しかし、構築した細胞のすべてを高精度に評価するには時間とコストを要するため、まず、分光学的手法やバイオセンサーなどを用いた簡便でハイスループットな評価試験を行う。そして、その中で優良な細胞を、クロマトグラフィーや質量分析などの高精度な方法で、目的物質の正確な検出と定量を行う。

また、目的物質の生産性はもちろんのこと、Test 結果を次の DBTL サイクルへフィードバックするために、各種測定機器を用いて統合的な測定データの取得を行う。特に、ゲノム解析、トランスクリプトーム解析、プロテオーム解析、メタボローム解析などのオミックス解析を組み合わせて活用することで、細胞内で起きている現象の統合的な解析試験が可能となる。Build 工程と同じく、Test 工程についてもロボティクス技術によ

る自動化によって精度とスループット性を向上させていくことが重要なポイントとなる。

＜Learn 工程＞

Learn 工程では、Test 工程で生み出された大量のデータから、統計解析や人工知能などを活用して知見を創出し、つぎの Design 工程へ提供する。そして、最終的には、最適な遺伝子配列と代謝経路を同定し、細胞の開発を完了する。従来の Learn 工程は、科学者の直感に基づいて行われていたが、デジタルテクノロジーの発展により、コンピュータ支援型の学習が可能となった。統計解析や人工知能などにより、ハイスループットに生成された膨大な Test データやオミックス解析で得られる大規模データを処理・解析できるようになっている。そして、それらデータを活用し、生産効率の上昇に向けた遺伝子配列と代謝経路の改善や、新規代謝経路の拡張を実現する遺伝子配列と代謝経路の予測などの学習を行う。これら学習内容は、つぎの Design 工程で活用される。

＜まとめ＞

A、T、G、C の 4 文字の羅列からなる膨大な遺伝情報から、微生物の代謝機能を理解することは容易ではない。本節で説明した DBTL サイクルのワークフローでは、まず特定の遺伝情報を持つ細胞を設計・構築し、その代謝機能を試験する。そして、この一連の流れをハイスループットに行い、細胞の遺伝情報と代謝機能に関する実験データを大量に蓄積する。この大量のデータを統計解析や人工知能を活用することで、特定の遺伝情報からどのような代謝機能が創り出されるかを学習できるのである。

このような学習を通して得られた遺伝情報と代謝機能に関する蓄積された知見は、つぎの効率的な細胞開発に繋がる重要な資産であり、筆者は「データアセット」と呼んでいる。データアセットの蓄積には時間とコストが必要なため、いかに経営資源を集中させて早く始めるかが非常に重要なポイントとなる。

2.1.3 バイオファウンドリ

バイオファウンドリとは、前述の DBTL サイクルのワークフローをもとにスマートセルを効率的に開発するプラットフォームである。これまでの産業バイオ業界内の企業にとって、スマートセルの研究開発を行うことは多大な時間とコストを要する上に、開発の成功確度が低いために大きなリスクであった。また、それぞれの企業が前述のような DBTL サイクルを実施するための経営資源を構築することも技術的・経済的に困難である。その中で、米国を中心にバイオファウンドリというプラットフォームが誕生し、産業バイオ業界のビジネスモデルが変容しつつある。

「ファウンドリ」というビジネスモデルは、半導体産業において初めて誕生した [69] [70] [71]。半導体の製造に特化するビジネスモデルのことをいい、1987 年に世界初の半導体ファウンドリである「台湾積体電路製造股份有限公司」（TSMC：Taiwan Semiconductor Manufacturing Company）が設立された [72]。それまでの半導体産業では、Intel 社や Samsung 社などの半導体の設計と製造を同じ企業が行う垂直統合型（IDM）のビジネスモデルが主流であった。しかし、市場が不安定な半導体産業において、莫大な投資が必要な半導体製造工場を建設し、半導体を製造するということは非常にリスクが大きかった。そのため、半導体の製造工場を持つことができない企業は、製造の遅れや設計技術の開示などのリスクを伴うにもかかわらず、製造を Intel 社や Samsung 社などの IDM に委託せざるを得なかった [73]。

そのような背景において、TSMC はリスクの大きい製造に特化し、このような工場を持たない企業（ファブレス）から、製造を受託するファウンドリビジネスを開始した。TSMC は設計を一切行わず、受託製造に特化しているため、ファブレスは製造の遅れや設計技術の開示などのリスクを抑えて、半導体の製造を委託できるようになった。そして、TSMC の設立と成長に伴い、1985 年に Qualcomm 社、1993 年に NVIDIA 社など数多くのファブレスが誕生し、現在も成長を続けている。

製造に特化した TSMC は、様々なファブレスとの協業により半導体の生産技術・ノウハウを蓄積し、今や Intel 社や Samsung 社などの IDM を凌ぐ世界最高水準の半導体生

産技術を有する。その技術力の高さは、かつてのライバルであった Intel 社が TSMC への依存度を高めるほどである [74]。半導体ファウンドリ TSMC は、設計と製造の水平分業を促し、半導体産業の既存のビジネスモデルを変えるだけに留まらず、半導体産業全体の覇権を握るようにまでなったのである。

これまでの産業バイオ業界では、スマートセルの研究開発とスマートセルを利用した目的物質の生産、つまり研究開発と生産を同一の企業内で行う一気通貫型のビジネスモデルが主流であった。しかし、効率が悪くリスクの大きいスマートセルの研究開発に対して、DBTL サイクルのワークフローをもとに研究開発の効率化を進めるバイオファウンドリが誕生した。今後、バイオファウンドリが大きく発展すれば、研究開発と生産の水平分業を促し、従来の産業バイオ業界のビジネスモデルを変え、やがては覇権を握るようになることも予見できる。

米国では既に、複数のバイオファウンドリが誕生し、そして急成長している。特に、Amyris、Ginkgo Bioworks、Zymergen は大きな注目を集めており、その注目度の高さは資金調達額と時価総額に大きく現れている。Amyris、Ginkgo、Zymergen はそれぞれ 18 億、24 億、14 億 USD の資金調達（**補足 1 表 42**、**表 45**、**表 48**）を実施し、5.8 億、38.3 億、1.3 億 USD の時価総額[2]を記録するなど、投資家を中心に注目を集め、高い時価総額と大規模な資金調達を達成している。そして、クライアントも米国企業に留まらず、欧州企業や日本企業にまで及び、既に米国バイオファウンドリが世界の産業バイオ業界の覇権を握りつつあると言って差し支えない。

[2] 2022 年 6 月 30 日時点, Macrotrends [101]を参照.

2.2 バイオファウンドリ業界の分析

2.2.1 外部環境分析

(1) PEST 分析

まずバイオファウンドリ業界を取り巻く産業バイオ業界の環境を分析するためにPEST 分析を行う。PEST 分析は政治（Politics）、経済（Economy）、社会（Society）、技術（Technology）の 4 つの要因からマクロ環境を分析する、フィリップコトラーにより提唱されたフレームワークである。PEST 分析を活用し、産業バイオ業界の実態と将来動向を分析する。それぞれの分析内容を**表 3** にまとめる [75] [76] [77]。

表 3　PEST 分析

要因	概要
政治的要因 (Politics)	• 2009年に、OECDによってバイオエコノミーの概念が提唱。世界各国がバイオエコノミーの発展に関連した戦略政策を策定。 • 2015年、国連総会において、2030年に向け取り組むべき17の「持続可能な開発目標（Sustainable Development Goals, SDGs）」が発表。 • 日本でも、バイオエコノミーの実現に向けて、「バイオ戦略2020」が策定。
経済的要因 (Economy)	• 2009年のOECDの発表では、世界のバイオエコノミーの市場規模は2030年には1.6兆USDへ拡大し、OECD全加盟国の総GDPの2.6%を占めると予測。 • 合成生物学ベンチャーへの投資総額は、2018年の約40億USDから、2020年には約80億USD、2021年には約180億USDと大幅に増大。 • 日本での合成生物学ベンチャーへの投資は活発とは言えない。合成生物学ベンチャーは、ほとんどが赤字スタートのため財務業績からの評価が難しく、専門性の高い投資家も限られることが要因。
社会的要因 (Society)	• 温室効果ガスの排出、石油資源の枯渇、プラスチックごみなどの環境問題や、それに伴う生態系の破壊は深刻で、環境負荷の低い・天然物質を代替するバイオ製品が注目。 • COVID-19の感染拡大を背景に、RNAワクチンなどのバイオテクノロジーへの関心の高まり。 • 遺伝子組換え種子・ゲノム編集作物などへの抵抗は依然として強い。
技術的要因 (Technology)	• 次世代シーケンサーの誕生による、ゲノム解析コストの著しい低下。 • 反応系の微小化やロボティクスの活用による、DNA合成コストの低下。 • CRISPR-Cas9の開発による、ゲノム編集技術の簡便化。 • デジタルテクノロジーの急速な発展による、大量のDNA情報の処理や、DNA情報と生物機能の高精度な解析の実現。 • バイオプロセスは、石油化学プロセスと比較すると極めてコスト高。対抗できるだけの低コストの実現には、極めて高い技術的な障壁 。

バイオテクノロジーやデジタルテクノロジーの発展により、スマートセル開発の効率化が飛躍的に向上しており、産業バイオ業界の大きな追い風となっている。さらには、環境問題を中心とした地球規模の諸問題の改善の必要性や、その改善に向けた政治的な戦略の策定なども産業バイオ業界の成長を大きく後押しするであろう。そして、こうした要因を背景に合成生物学の市場規模は大きく拡大することが予測されており、合成生物学ベンチャーへの投資も加速している。一方で、遺伝子組換え種子やゲノム編集作物への抵抗、さらにはバイオプロセスへの転換による高コスト化など大きな課題も存在する。また、日本においてもバイオ戦略の策定が進んではいるが、合成生物学ベンチャーへの投資が活発であるとは言えない状況である。

(2) 5-Forces 分析

バイオファウンドリ企業の競争優位性を分析するために 5-Forces 分析を行う。5-Forces とは、業界内の競争環境は 5 つの競争要因により決められるというマイケル・ポーターの考えに基づいた、業界内の競争環境を分析するフレームワークである。5 つの競争要因とは「新規参入」、「競合」、「代替品」、「供給者」、「購入者」であり、これら競争要因が企業の競争優位性を決定するとされている。5-Forces 分析を活用し、バイオファウンドリ業界の競争環境とバイオファウンドリ企業の競争優位性を分析する。それぞれの分析内容を**表 4** にまとめる [75]。

表 4　5-Forces 分析

脅威	概要
新規参入 低	• バイオファウンドリ事業には相当な経営資源が必要で、その参入障壁は非常に高い。
競合 中	• ファウンドリサービスを提供する企業は業界内に複数存在。 • 市場成長率が高い間は、シェアの奪い合いが緩和。
代替品 中	• テクノロジーの発展によりスマートセル開発の簡便化が進めば、バイオファウンドリへ開発を委託することが魅力的な選択肢とはなり得ない。
供給者 低	• バイオファウンドリはスマートセルを開発するために、遺伝情報や合成DNAなどの生物資源の調達が必要。 • 遺伝情報は論文などの公開情報から容易に調達可能。 • 合成DNAは合成受託サービス企業からの調達が必要であるが、その企業数は多い。
購入者 中	• バイオファウンドリは開発したスマートセルを、様々な市場分野のメーカーに提供。 • 潜在的な購入者がどれほど存在するかは不明。

バイオファウンドリ業界における脅威のレベルは全体として低い。特に、バイオファウンドリ事業には相当な経営資源が求められることから、「新規参入」の脅威は低い。その他の競争要因についても大きな脅威は存在しないが、潜在的な購入者がどれほど存在するか不明である点から、「購入者」の脅威は注視する必要がある。

(3) 外部環境分析まとめ

外部環境分析の結果をまとめると、バイオファウンドリを取り巻く産業バイオ業界は今後大きく成長していくことが予測される。また、バイオファウンドリの競争環境には今のところ大きな脅威は存在しない。一方で、遺伝子組換え・ゲノム編集微生物由来の食品への抵抗やバイオプロセスの高コスト化などの課題から、クライアントが大きく限定されることが起こり得る。

クライアントからのニーズの大きさは市場分野によって大きく異なると考えられる。クライアントが存在する市場分野を医薬品、アグリ、コンシューマー、食品、化学、燃料の 6 つに分類する（**表 5**）。詳細な分析は、**2.5.1 注力すべき市場分野と製品・物質**で後述するが、アグリ分野では遺伝子組み換え・ゲノム編集への忌避、化学・燃料分野では低コストの要求が強く、当面の間は、バイオ製品のニーズは高まらないと考えられる。

反対に、医薬品・コンシューマー・食品分野では、バイオ製品のニーズが高まっている／高まりつつあると言える。バイオファウンドリには、このような市場分野によって異なるニーズを明確に捉えていくことが求められるであろう。

表 5　バイオ製品への転換が期待される市場分野とその物質・製品例

市場分野	物質・製品例
医薬品	低分子医薬品、バイオ医薬品
アグリ	農薬、肥料、種子、作物
コンシューマー	化粧品原料（保湿成分、美白成分など）、日用品原料（芳香成分、洗剤など）
食品	栄養成分、調味料、香料
化学	化学品原料、バイオプラスチック
燃料	バイオ燃料、バイオディーゼル

2.2.2 内部環境分析

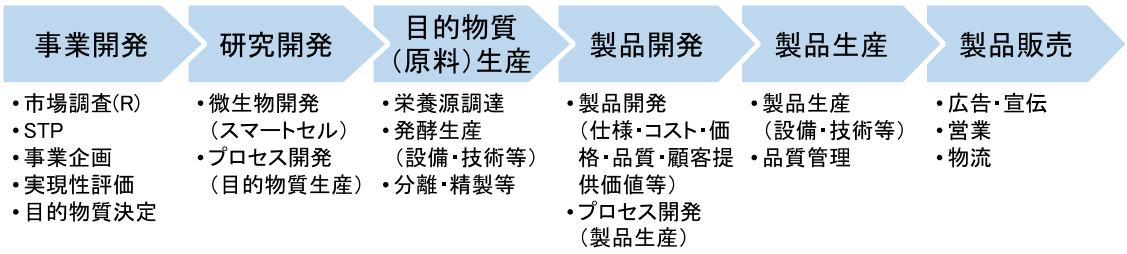
(1) 産業バイオおよびバイオファウンドリのバリューチェーン

バイオファウンドリのビジネスモデルを理解するために、バリューチェーン分析を行う。バリューチェーンとは、研究開発、原料調達、製造、販売、アフターサービスなど、企業が製品やサービスを生み出し、顧客に提供するために行う一連の事業活動の総体のことを言う。ハーバード・ビジネススクールのマイケル・ポーター教授が提唱したフレームワークとして知られており、ポーターやコンサルティング・ファームのマッキンゼーなどから、いくつかの一般的なモデルが提案されている。

企業が、バリューチェーン上のある特定の事業活動を実施するには、その活動に必要な資金、設備、技術、人材などの経営資源を持たなければならない。そして、持続的競争優位を実現するには、経済的価値、希少性、模倣困難性のある経営資源を獲得し、適切な組織を構築して最大限に活用することが求められる。バリューチェーン分析を行うことで、その企業が持つ経営資源や、事業活動を通じて生まれる競争優位性の源泉を特定することができるのである。

本項では、まずバイオファウンドリが属する産業バイオ業界のバリューチェーンについて説明する。従来の産業バイオ業界においては、**図 4** に示す 6 つの事業活動の連鎖により製品の価値が生み出される。このバリューチェーンは、米国の先行 3 社を比較分析するためのフレームワークとして、マッキンゼーのモデルをベースに独自に作成したものである。

図 4　産業バイオのバリューチェーン

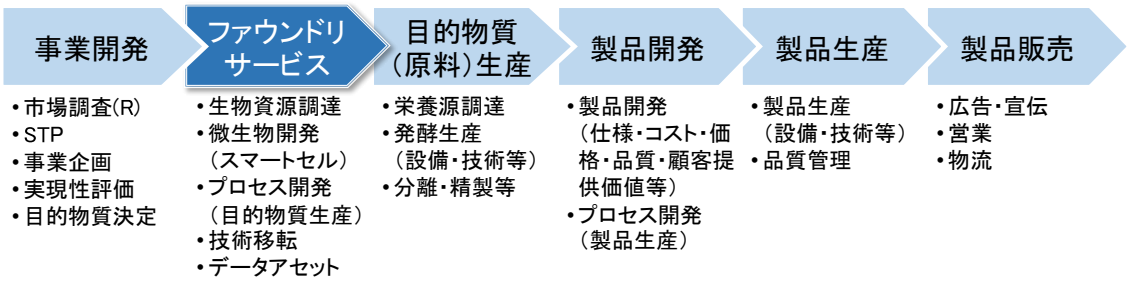


バイオ製品の価値創出は、まず「事業開発」活動から始まる。市場調査（R）およびセグメンテーション・ターゲティング・ポジショニング（STP）分析を行い、クライアントや市場のニーズに合わせたバイオ事業を企画する。そして、その事業の実現可能性を多面的に評価し、スマートセルによる生産を目指す目的物質を決定する。つぎに、スマートセルを開発するため、「研究開発」活動を行う。個々の研究グループの知恵と経験をもとに仮説・検証を繰り返し、目的物質を十分に生産するスマートセルを開発し、そのあとにスケールアップを行い、目的物質の大量生産プロセスを開発する。そして、開発した生産プロセスを利用して「目的物質（原料）生産」活動を行う。スマートセルの発酵に必要な栄養源を調達し、商用プラントにおいて目的物質の発酵生産を行い、発酵液から目的物質を分離・精製する。最後に、目的物質（原料）を製品としてクライアントに提供するため、「製品開発」・「製品生産」・「製品販売」活動を行う。「製品開発」活動では、目的物質を使用した製品、およびその製品の大量生産プロセスを開発する。「製品生産」活動では、開発したプロセスを利用して製品の大量生産とその品質管理を行う。「製品販売」活動では、製品の広告・宣伝、営業、物流を行う。産業バイオの製品は、このような垂直的に連鎖する 6 つの事業活動から構成されたバリューチェーンにより、その価値が創出される。

従来の産業バイオ業界では、このようなバリューチェーンに従い、製品の価値が生み出されている。バイオ製品は天然物質の低コスト化や環境負荷の低減を実現できる非常に魅力的な製品であるが、スマートセルや生産プロセスの研究開発活動は人の知恵と経験に依存した部分が大きい。そのため、研究開発が成功するかは未知数であり、事業としてのリスクが大きい。

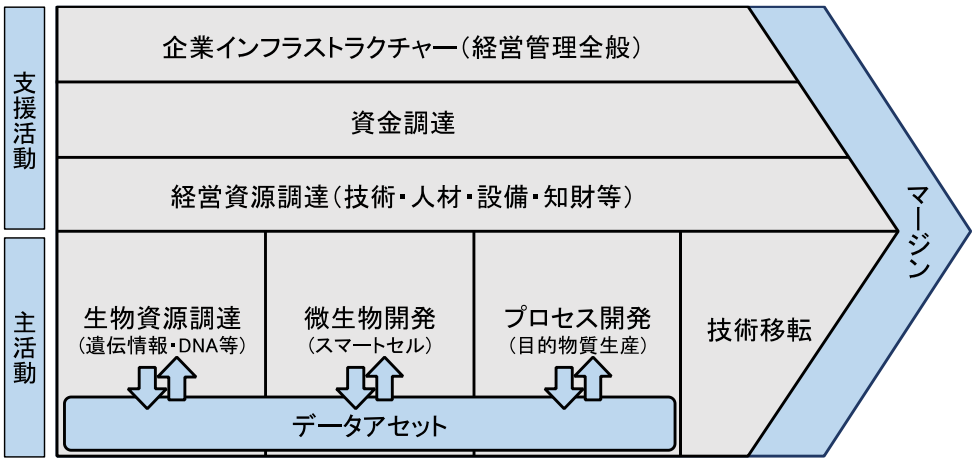
そのような背景において、デジタルテクノロジーとバイオテクノロジーの発展と融合により DBTL サイクルの高速化が進み、スマートセルの開発効率は飛躍的な上昇を続けている。そして、この DBTL サイクルをもとにスマートセルの開発を行うバイオファウンドリが誕生した。近い将来、バイオファウンドリがプラットフォーマーとして隆盛すると、これまで各社で行われていた「研究開発」活動が、バイオファウンドリによる「ファウンドリサービス」活動へと置き換わり、産業バイオ業界のバリューチェーンは新たに再編成されるであろう（**図 5**）。

図 5　産業バイオの新しいバリューチェーン



「ファウンドリサービス」活動では、DBTL サイクルを高速で回し、スマートセルと生産プロセスを開発する。バイオファウンドリにおける価値創出の流れを明確にするため、マイケル・ポーターのモデルをベースにバリューチェーンを作成した（**図 6**）。ファウンドリサービスの価値は、4 つの主活動と「データアセット」、そして 3 つの支援活動の連鎖により生み出される。

図 6　バイオファウンドリのバリューチェーン



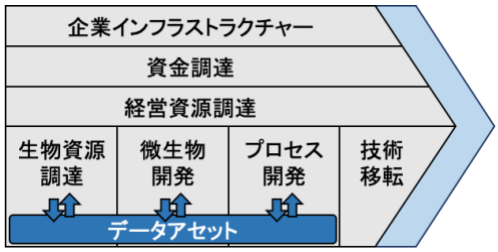
バイオファウンドリの価値創出は、まず「生物資源調達」活動から始まり、スマートセルの材料となる遺伝情報や DNA などの生物資源を調達する。つぎに、調達した生物資源を使用して「微生物開発」活動を行う。DBTL サイクルを高速で回し、目的物質を生産するスマートセルを効率的に開発する。そして、開発したスマートセルを利用して「プロセス開発」活動を行い、スケールアップを経て目的物質の大量生産プロセスを開発する。これら 3 つの活動を通して、微生物の遺伝情報・発酵環境とその代謝機能との関係性について蓄積した実験データ、「データアセット」を構築する。最後に「技術移転」活動を行い、開発したスマートセルと生産プロセスを自社、クライアント、CMO (Contract Manufacturing Organization)などが保有する商業生産プラントへ移転する。

また、主活動を支援する全社的な活動として、「企業インフラストラクチャー」構築および「資金調達」・「その他の経営資源調達」活動を行う。「企業インフラストラクチャー」構築では、バイオファウンドリが事業を行うための基盤となる仕組みを構築し、経理、財務、知財、労務などの経営管理を行う。「資金調達」活動では、バイオファウンドリ事業を行うための必要な資金を調達し、「その他の経営資源調達」活動では、調達した資金で技術・人材・設備・知財などバイオファウンドリに必要な経営資源を獲得する。

ファウンドリサービスは、このような 4 つの主活動と「データアセット」、そして 3 つの支援活動から構成されたバリューチェーンにより、その価値が創出される。

つづいて、バイオファウンドリサービスの価値創出プロセスをより詳細に理解するため、「データアセット」、「生物資源調達」活動、「微生物開発」活動、「プロセス開発」活動、「技術移転」活動、「資金調達」活動に焦点をあてて、より具体的に説明する。

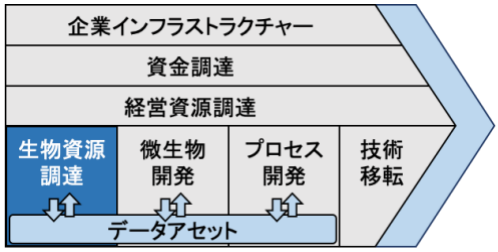
◆ データアセット



まず「データアセット」について説明する。微生物の代謝機能は、微生物が持つ遺伝情報とその発酵環境で決まる。しかし、遺伝情報と発酵環境から、微生物の代謝機能を具体的に理解することは容易ではない。そのためバイオファウンドリでは、まず特定の遺伝情報を持つ微生物を設計・構築し、特定の発酵環境下でその代謝機能の評価・解析試験を実施する。この一連の流れをハイスループットに行い、微生物の遺伝情報・発酵環境とその代謝機能に関する試験データを大量に蓄積する。そして統計解析や人工知能などを活用して、特定の遺伝情報・発酵環境により実際にどのような代謝機能が生み出されるかを学習する。

このようにしてバイオファウンドリは、特定の遺伝情報・発酵環境とその代謝機能との関係性について極めて高速に学習する。得られた実験データは、つぎのスマートセルの開発に活用し、データが増えるに従いその効率化が進む。つまり、これら実験データはバイオファウンドリのスマートセル開発効率を決定する極めて重要な情報資産（データアセット）である。本論文では、バイオファウンドリにおけるデータアセットを「微生物の遺伝情報・発酵環境とその代謝機能との関係性についてのデータから構成された情報資産」と定義する。

◆ 生物資源（遺伝情報・DNA 等）調達

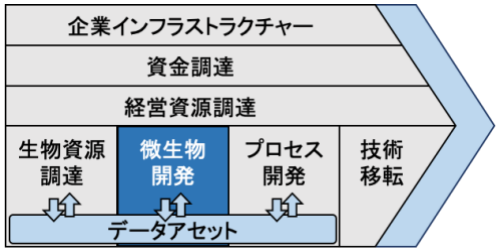


「生物資源調達」活動では、スマートセルの開発に必要な材料を調達する。DBTL サイクルにおいては Design 工程で代謝経路と遺伝子配列を設計し、Build 工程で DNA を微生物へ組み込む、あるいは微生物が持つゲノムを改変することで、スマートセルの候補となる膨大な種類の微生物を構築する。そのため、Design 工程では遺伝情報、Build 工程では DNA などの生物資源の調達が必要である。

遺伝情報は、文献などの公開情報や外部の企業・団体が持つ情報から調達できる。基本的には文献などの公開情報から遺伝情報を調達し、データアセットの一部として保存する。そして DBTL サイクルを回し、遺伝情報・発酵環境とその代謝機能との関係性、さらには生産効率の上昇や代謝経路の拡張を実現する新たな遺伝情報などを学習し、データアセットとして蓄積する。しかし、このデータアセットの蓄積には多大な時間とコストを要する。その中で、外部の企業・団体が持つ遺伝情報の調達は、短期間でのデータアセットの蓄積に効果的である。すでに外部で開発された生産効率の高いスマートセルとその遺伝情報や、外部で集積された新たな機能を持つ遺伝子の配列情報などの新たな遺伝情報を DBTL サイクルなしに獲得できるのである。ただし、これら価値ある遺伝情報の調達にはそれ相応の資金を要する。

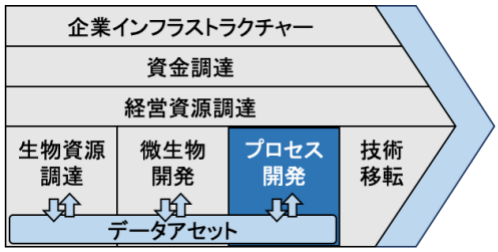
また、DNA は外部の企業から比較的安価に調達できる。合成 DNA を受託開発する複数の企業が誕生しており、またテクノロジーの革新により DNA 合成の低コスト化が飛躍的に進んでいる。しかしながら、DBTL サイクルにおける Learn 工程での学習には、膨大な数の微生物を構築することが求められる。そのため、膨大な種類の合成 DNA の調達が必要であり、結果的に多額の資金を要する。例えば、１塩基あたりの合成 DNA の価格がわずか 10 円であっても、1000 塩基からなる遺伝子ブロックの合成価格は１万円、それを 100 ブロック、1000 ブロックと注文すると 100 万円、1000 万円と多額の資金が必要となる。

◆ 微生物開発



「微生物開発」活動では、ファウンドリの設備・人材・設備・知財を活用して DBTL サイクルを高速で回し、スマートセルを効率的に開発することを目指す。DBTL サイクルの具体的な工程は既に述べたとおりである。DBTL サイクルを回すことでデータアセットを蓄積し、それをつぎの DBTL サイクルで活用する。これを繰り返し、スマートセル開発の効率化を進める。DBTL サイクルを通して、巨大なデータアセットを蓄積できれば、従来アプローチと比べて極めて短期間でスマートセルを開発できる。

◆ プロセス開発



「プロセス開発」活動では、目的物質の大量生産プロセスを開発する。ラボスケールと商用スケールでは発酵環境が大きく異なることから、「微生物開発」活動で開発したスマートセルは多くの場合、商用プラントでの発酵環境には適応できずその生産能力は低下する。スケールアップはスマートセルの商業化における障壁の１つであるが、スマートセルの開発効率の向上とともに、スケールアップにおいてもその効率化が進みつつある。

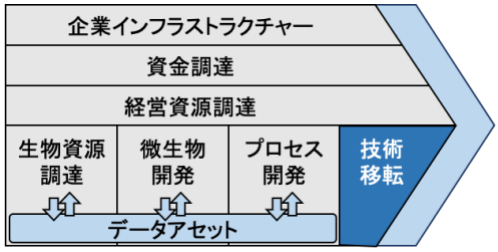
テクノロジーの発展により、実際にスケールアップを実施して検証を行わずとも、商用プラントにおけるスマートセルの生産能力をある程度予測することが可能となっている [78] [79]。商用プラントにおける発酵環境をラボスケールで模倣する技術が発展しており、実験機器やシミュレーションモデルを活用して、商用プラント特有の不均一な発酵環境などをラボスケールで再現できるようになりつつある。

高精度で再現できるようになれば、商用プラントにおけるスマートセルの物質生産能

力の予測が可能となる。まず、模倣環境において生産能力の評価試験やオミックスなどの解析試験を実施する。つぎに、様々な発酵環境でハイスループットに試験を実施し、模倣環境におけるスマートセルの代謝機能の試験データを蓄積する。そして、開発したスマートセルが模倣環境でどのような代謝機能を持つかを学習することで、実際の商用プラントにおけるスマートセルの代謝機能の予測が可能となるのである。

将来的には、こうして得られた模倣環境における実験データをデータアセットとして蓄積し、商用プラントにおけるスマートセルの生産能力の予測に活用できるようになるであろう。まず、模倣環境においてスマートセルの発酵環境を調整し、実際の商用プラントでスマートセルが目的物質を十分に生産できる発酵環境を予測する。そして、その予測に従いそのままスケールアップを行う。データアセットの蓄積によりその予測精度は向上し、個々の研究グループの知恵と経験に大きく依存しない効率的な生産プロセスの開発が可能となることが期待される。

◆ 技術移転

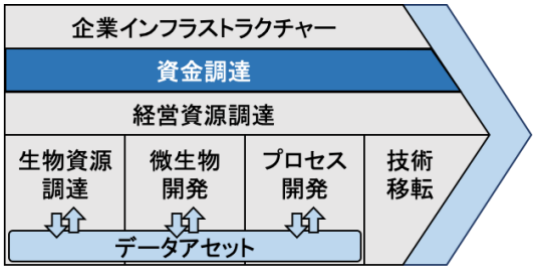


「技術移転」活動では、実際の商業生産プラントへ、開発したスマートセルと生産プロセスを移転する。商用プラントは標準化されておらず、技術移転先によって保有するプラントは異なる。そのうえ微生物は発酵環境に影響を受けやすいため、技術移転先となる商用プラントにおいて、ファウンドリで開発した生産プロセスを再現することは難しい。円滑な技術移転を実現するには、移転先と綿密な連携を取り合い、移転先の商用プラントに対応したプロセスの開発が求められる。

また、開発したスマートセルと生産プロセスを、目的物質生産を行うクライアントへ提供・販売する場合、収益を獲得する方法を確立する必要がある。クライアントからの収益の獲得方法は大きく分けて 2 種類の方法があると考えられる。1 つめは、ファウンドリでのスマートセル開発の着手金として得られる直接的な収入である。この資金を元手に DBTL サイクルを回し、スマートセルの開発を目指す。2 つめは、研究成果に応じ

たマイルストン収入や、クライアントの利益に応じたロイヤリティ収入などのバリューシェアによるものである。スマートセル開発の進捗に応じてクライアントから収入を獲得したり、クライアントによる目的物質（原料）や製品の生産・販売に応じて収入を獲得したりすることで利益の獲得を目指す。

◆ 資金調達



「資金調達」活動ではファウンドリ事業に必要な資金を投資家から調達する。ファウンドリ事業を行うには、経営資源の調達、生物資源の調達、利益が見込めない期間の運転資金などのために莫大な資金を調達することが求められる。バイオファウンドリの構築には、技術・人材・設備・知財などの経営資源が必要となる。そして事業を開始するには、これら経営資源に加えて DBTL サイクルを回すための大規模な生物資源の調達が必要となる。また、ファウンドリでの効率的なスマートセル開発には、最低限のデータアセットの蓄積が必要である。データアセットの蓄積には多大な時間とコストを要するため、この期間は十分な収益を見込めない。このような背景から、バイオファウンドリには大規模な資金調達が求められる。

(2) バイオファウンドリのビジネスモデル

前項では、産業バイオ業界とバイオファウンドリのバリューチェーンについて説明した。個々の企業による「研究開発」活動は、バイオファウンドリによる「ファウンドリサービス」活動へと置き換わりつつある。しかし、米国で先行するバイオファウンドリ企業は、バリューチェーン上の「ファウンドリサービス」活動だけを実施しているわけではない。「ファウンドリサービス」活動に加えて、「事業開発」、「目的物質生産」、「製品開発・生産・販売」などの活動の中からいくつかの活動を組み合わせて実施し、複数のビジネスモデルを構築している。そこで、産業バイオのバリューチェーン上のどの活

動を選択し、組み合わせるかでバイオファウンドリのビジネスモデルを、「完全受託型」、「提案受託型」、「原料供給型」、「自社製品型」の 4 つに大きく分類する。まず、4 つのビジネスモデルとそのバリューチェーン・モデルについて説明する。

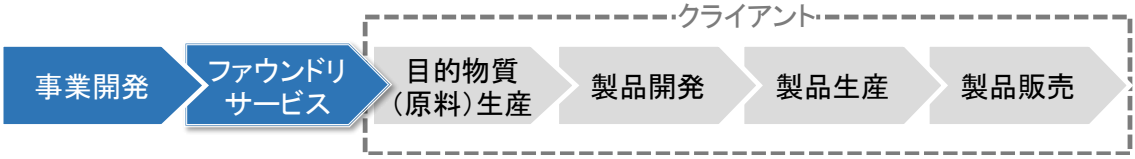
◆ 完全受託型ビジネスモデル

図 7　完全受託型ビジネスモデルのバリューチェーン

完全受託型ビジネスモデルでは、**図 7** に示したとおり、バイオファウンドリは「ファウンドリサービス」活動のみを行う。まずクライアントが事業開発を行い、スマートセルによる生産を目指す目的物質を決定し、そのスマートセルと生産プロセスの開発をバイオファウンドリに依頼する。つぎにファウンドリは、データアセットを活用して目的物質を生産するための代謝経路が設計できるかを検証する。データアセットには代謝機能に関するデータが蓄積されているため、その活用により目的の代謝経路を設計できるかを即座に判断できると考えられる。設計が可能である場合、スマートセルと生産プロセスの開発をクライアントから受託する。ファウンドリサービスを通して開発に成功すれば、開発した技術をクライアントの生産プラントへ移転する。そしてクライアントは、ファウンドリで開発されたスマートセルと生産プロセスを利用して目的物質の生産を行う。最後に目的物質を利用して製品開発・生産・販売を行う。なおバイオファウンドリは、開発を受託した際の着手金や、研究進捗に応じたマイルストンおよび製品販売に応じたロイヤルティなどから収益を獲得する。

◆ 提案受託型ビジネスモデル

図 8　提案受託型ビジネスモデルのバリューチェーン



提案受託型ビジネスモデルでは、**図 8** に示したとおり、バイオファウンドリは「事業開発」、「ファウンドリサービス」活動の 2 つの活動を行う。まずファウンドリが事業開発を行い、データアセットを活用して事業の技術的な実現可能性、すなわち代謝経路を設計できるかなどを評価しながら、スマートセルによる生産を目指す目的物質を決定する。同時に、企画した事業について戦略的パートナーとしてスマートセルを利用するクライアントを探す。クライアントが見つかれば、つぎにスマートセルと生産プロセスの開発を開始し、ファウンドリサービスを通して開発に成功すれば、その技術をクライアントの生産プラントへ移転する。そのあとのクライアントの活動とファウンドリの収益の獲得方法は完全受託型と同様である。

◆ 原料供給型ビジネスモデル

図 9　原料供給型ビジネスモデルのバリューチェーン

原料供給型ビジネスモデルでは、**図 9** に示したとおり、バイオファウンドリは事業開発」、「ファウンドリサービス」、「目的物質（原料）生産」活動の 3 つの活動を行う。まずファウンドリが事業開発を行い、データアセットを活用して代謝経路を設計できる

かなどを評価しながら目的物質を決定する。つぎにスマートセルと生産プロセスの開発を開始し、ファウンドリサービスを通して開発に成功すれば、その技術を生産プラントへ移転する。そして目的物質の生産を行い、原料としてクライアントへ提供する。最後にクライアントはこの目的物質を利用して製品開発・生産・販売を行う。なお、バイオファウンドリは原料の販売や、クライアントによる製品販売に応じたロイヤルティなどから収益を獲得する。

◆　自社製品型ビジネスモデル

図 10　自社製品型ビジネスモデルのバリューチェーン

自社製品型ビジネスモデルでは、**図 10** に示したとおり、バイオファウンドリは 6 つのすべての活動を行う。まずファウンドリが事業開発を行い、データアセットを活用して代謝経路の設計が可能か、生産された目的物質を利用して製品化できるかなどを評価し、目的物質を決定する。つぎにスマートセルと生産プロセスの開発を開始し、ファウンドリサービスを通して開発に成功すれば、その技術を生産プラントへ移転する。そして目的物質の発酵生産を実施し、この目的物質を利用して製品開発・生産・販売を行い、収益を獲得する。

2.3 バイオファウンドリ企業のベンチマーク分析

2.3.1 主要 3 社のビジネスモデルとバリューチェーン

前章で述べたとおり、バイオファウンドリのビジネスモデルは完全受託型、提案受託型、原料供給型、自社製品型の 4 つのビジネスモデルに大きく分類される。本節では、Amyris、Ginkgo Bioworks、Zymergen がそれぞれどのビジネスモデルを主に構築し、そのビジネスモデルをどのように実施しているか、具体例を交えて説明する。なお、各社の公開情報からは、事業開発活動をバイオファウンドリとクライアントのどちらが実施しているかを明確に分けることはできないため、完全受託型と提案受託型はまとめて記述している。

(1) Amyris

Amyris は 2003 年に設立したバイオファウンドリ企業である。詳細な会社情報は**補足 1** に記述している。Amyris は原料供給型、自社製品（原料生産）型、自社製品（コラボレーション）型の 3 つのビジネスモデルを構築している。まずそれぞれのビジネスモデルについて、そのバリューチェーンと具体例を説明する。

◆ 原料供給型ビジネスモデル

図 11　原料供給型のバリューチェーン

Amyris の原料供給型ビジネスモデルでは、**図 11** に示したとおり、まず Amyris が事業開発を行い、データアセットを活用して代謝経路の設計が可能か評価しながら目的物

質を決定する。つぎに、スマートセルと生産プロセスを開発し、成功すればその技術を自社プラントあるいは CMO へ移転する。Amyris はファルネセンの発酵生産をブラジルの自社プラントで実施していたが、2017 年に DSM へ売却している。現在、複数の新たな自社プラントをブラジルに建設中であり、2022 年中頃から稼働予定である [80]。そのため、現在はすべての目的物質の生産を CMO へ委託している。そして CMO あるいは Amyris が、開発したスマートセルと生産プロセスを利用して目的物質の生産を行い、原料としてクライアントに提供する。最後に、クライアントはこの目的物質を利用して製品開発・生産・販売を行う。Amyris は原料の直接的な販売やクライアントの製品販売によるロイヤルティなどから収益を獲得する。

Amyris は提供できる原料のラインナップをウェブサイトに公開しており [81]、少なくとも 12 種類の目的物質をクライアントへ提供できる（**表 6**）。さらに原料の提供だけでなく、クライアントとの共同研究開発により、複数の新規素材を化学プロセスにより開発している（**表 7**）。例えば、Amyris の主要原料であるファルネセンは、バイオ燃料や化学品の原料として利用でき、また化学変換プロセスにより栄養成分ビタミン E や保湿成分スクアランなど様々な有用物質へと変換できる。ファルネセン販売のクライアントの 1 つが日系化学メーカーのクラレであり、クラレとの共同研究開発によりファルネセンを利用した高機能なタイヤゴム素材を開発している [80] [82]。このようにして Amyris は原料販売による収益に加えて、クライアントとの研究開発契約による収益や原料・製品販売に伴う収益を獲得している。

表 6　生産・提供する目的物質

目的物質	特徴
スクラレオール	マッコウクジラから得られる香気成分の代替物質
ヘミスクアラン	化粧品で使用されるシリコーンの代替物質
サンタロール	絶滅危惧種の白檀の木から得られる香気物質
マノオール	絶滅危惧種のマノアオの木から得られる香気物質
ビサボロール	希少なカンデイアの木から得られる抗炎症物質
(トランス-β-)ファルネセン	様々な高機能物質へと変換できるハブとなる物質
アルテミシニン	クソニンジンから得られる抗マラリア薬の主要物質
スクアラン	サメの肝油から得られる保湿物質
スクアレン	サメの肝油から得られるワクチンアジュバント物質
レバウジオシドM(RebM)	ノンカロリーの甘味物質
パチョリ(パチョロール)	ハーブの1種パチョリから得られる香気物質
カンナビゲロール(CBG)	大麻成分の1つである抗炎症物質

出所:Amyris ウェブサイトより作成

表 7　共同研究先とその目的

クライアント	目的（原料）
ビル&メリンダゲイツ財団	抗マラリア薬の開発(アルテミシニン)
Soliance	化粧品素材の開発(スクアラン)
米国エネルギー省	バイオ燃料の大規模生産への投資(ファルネセン)
DARPA	複数の発酵分子の生産への投資(N・A)
IFF	複数の香料分子の開発(N・A)
GIvaudan	化粧品素材(ビサボロール)、フレグランス素材(N・A)の開発
DSM	複数の栄養素材の開発(複数のビタミン)
Firmenich	複数の香料の開発(パチョロール、スクラレオールなど)
Yifan	複数の栄養素材の開発(複数のビタミン)
LAVVAN	カンナビノイドの開発(CBGなど)
クラレ	新規タイヤゴム素材の開発(ファルネセン)
高砂香料	香料の開発(N・A)

出所:Amyris ウェブサイト、アニュアルレポートなどの公開情報より作成

◆ 自社製品（原料生産）型ビジネスモデル

図 12　自社製品（原料生産）型のバリューチェーン

Amyris の自社製品（原料生産）型では、**図 12** に示したとおり、目的物質を利用して最終製品の開発を行い、製品生産を CMO へ委託する。最後に、生産した最終製品を自社のウェブサイトや、大手ネット通販サイト、専門店、スーパーマーケットなどで販売し、収益を獲得する。2021 年の自社製品ブランドの売上は 9200 万 USD であり、Amyris のコア事業の売上の 48.9%を占めている [80]。

Amyris は 9 つの製品ブランドを持っているが [81]、そのほとんどがスクアランを利用した化粧品ブランドであり（**表 8**）、Biossance と Pippete が高い売上を記録している。なお、スクアランは日系グループの NIKKOL グループとの J.V.である Aprinnova 社でファルネセンの化学変換により大量生産されている [80]。

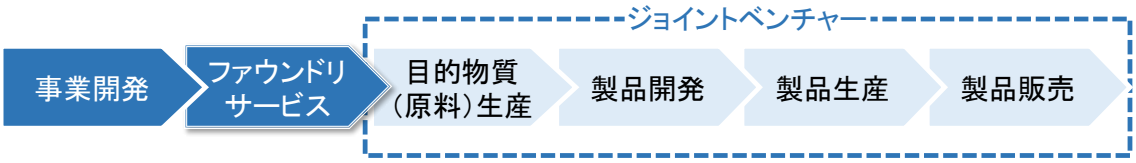
表 8　製品ブランド

製品ブランド	用途（目的物質）
Biossance	スキンケア製品（スクアラン）
Pippete	ベビー用スキンケア製品（スクアラン）
Costa Brazil	マッサージオイル（N・A）
EcoFabulous	化粧品（N・A）
Purecane	甘味料製品（RebM）
Rose Inc	メイクアップ製品など（スクアラン、スクアレンなど）
Terasana	スキンケア製品（スクアラン、カンナビゲロール）
JVN	ヘアケア製品（ヘミスクアラン、ビサボロールなど）
OLIKA	フレグランス製品（N・A）

出所：Amyris ウェブサイトより作成

◆ 自社製品（コラボレーション）型ビジネスモデル

図 13　自社製品（コラボレーション）型のバリューチェーン



Amyris の自社製品（コラボレーション）型では、**図 13** に示したとおり、まず事業開発を行い、全く新しい事業の実現に向けてジョイントベンチャー（J.V.）を設立する。そして J.V.で目的物質生産および製品開発・生産・販売活動を行い、自社製品の上市を目指している。

Amyris は複数の J.V.を設立している（**表 9**）が、最近では ImmunityBio 社と次世代 RNA ワクチンの上市に向けた J.V.を設立している。Amyris がスマートセルにより生産できる目的物質の 1 つにスクアレンという物質がある。このスクアレンはワクチンの効果を高めるアジュバントとしての機能を持ち、スクアレンを利用することで低用量のワクチンの開発が可能となる。Amyris はコロナワクチンをはじめとした複数の RNA ワクチン開発とその上市を目指し、感染症研究所（IDRI）とワクチンの共同研究開発を実施した。そして、臨床試験や大量生産などの専門知識を持つ ImmunityBio と J.V.（AccessBio 社）を設立し、次世代 RNA ワクチンの上市を目指している [80]。

表 9　設立した J.V.とその事業内容

J.V.名 (提携先)	目的
Novvi (Chevron、H&R Groupなど)	ファルネセンの生産、ベースオイルの開発
Total-Amyris BioSolutions (Total)	ファルネセンの生産、バイオ燃料の開発
AccessBio (ImmunityBio)	次世代のRNAコロナワクチン開発
AMF Low Carbon (Minerva Foods)	食肉を代替する動物性タンパク質の開発

出所：Amyris ウェブサイト、アニュアルレポートなどの公開情報より作成

(2) Ginkgo Bioworks

Ginkgo Bioworks は 2008 年に設立したバイオファウンドリ企業である。詳細な会社情報は**補足 1** に記述している。Ginkgo は完全・提案受託型、自社製品（コラボレーション）型の３つのビジネスモデルを構築している。まず、それぞれのビジネスモデルについて、バリューチェーンと具体例を説明する。

◆ 完全・提案受託型ビジネスモデル

図 14　完全・提案受託型のバリューチェーン

Ginkgo の受託型ビジネスモデルは、**図 14** に示したとおりであり、完全受託型では、クライアントが事業開発を行い、Ginkgo へ目的物質を生産するスマートセルの開発を依頼する。提案受託型では Ginkgo が事業開発を行い、クライアントへスマートセルの活用を依頼する。Ginkgo は大規模なデータアセットの蓄積により、様々なクライアントの要求に応えることができると考えられる。つぎにファウンドリサービス活動として、スマートセルと生産プロセスを開発する。なお、Ginkgo は Gen9 社の買収により DNA 合成技術を獲得しており、迅速な Build 工程を実現できる。スマートセルと生産プロセスの開発に成功すれば、その技術をクライアントが持つ生産プラントに移転する。そしてクライアントは、Ginkgo が開発したスマートセルと生産プロセスを利用して目的物質を生産し、それを原料として製品開発・生産・販売を行う。Ginkgo はファウンドリでのスマートセル開発の着手金や、販売された製品に応じたロイヤルティ収入などにより収益を獲得する [83]。

Ginkgo は多数のクライアントから様々なスマートセルと生産プロセスの開発を受託し、それら開発をファウンドリで並行して行っている（**表 10**） [84]。2021 年 12 月 31

日時点で累計 105 件のプロジェクトを完了しており、現在も 71 件のプロジェクトが稼働中である [85]。Ginkgo の主要クライアントの 1 つがカンナビノイド企業 Cronos Group 社である。カンナビノイドとは大麻成分に含まれる 104 種類の生理活性物質の総称であり、一般的に大麻からの抽出・精製により得られる。Ginkgo はその中から 8 種類のカンナビノイドを生産するスマートセルの開発を行っている。既に少なくとも 2 種類のカンナビノイド（カンナビゲロール、カンナビゲロバリン）については、スマートセルと生産プロセスの開発に成功し、Cronos への技術移転を完了している [86]。今後、Cronos から、Ginkgo のスマートセル由来の複数のカンナビノイド製品が上市されるであろう。

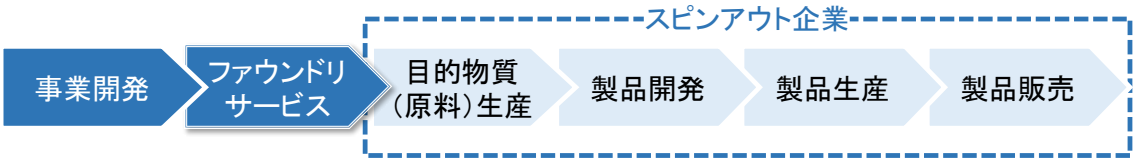
表 10　クライアントとその研究目的

クライアント	目的
味の素	アミノ酸発酵生産菌の育種改良
Robertet	新規フレグランス原料の生産
Genomatica	バイオ化学品の開発
Cargill	バイオ生産プロセスの効率化
ADM	食品成分生産微生物の開発
Swissaustral	産業用酵素の開発と生産プロセスの効率化
Kerry	食品製造用酵素の生産効率化
Glycosyn	母乳成分生産微生物の最適化
Cronos Group	複数のカンナビノイドの生産
Roche	新規抗生物質の開発
Synlogic	遺伝子組換えプロバイオティクス薬の開発
Totient	コロナウイルス抗体治療薬の開発支援
Moderna	ワクチン開発プロセスの最適化
Aldevron	ワクチン開発に必要な酵素VCEの生産効率化
住友化学	生物農薬の開発
Bolt Threads	タンパク質生産プロセスの効率化
Cambium	次世代バイオマテリアル原料生産微生物の開発
Saponiqx	ワクチンのアジュバント、サポニン製品の開発
Givaudan	香料を中心とした原料ポートフォリオの拡大
Tantu Therapeutics	抗炎症治療タンパク質の開発の支援
Antheia	天然由来の医薬品原料のパイプライン拡大
Corteva	農作物を保護する天然物質の生産
Selecta Biosciences	希少疾患の治療に向けた新規酵素の設計開発
Biogen	AAV作製プラットフォームの開発
Optimvia	医薬品原料ヘパリンの生産効率化

出所：Ginkgo Bioworks ウェブサイトより作成

◆ 自社製品（コラボレーション）型ビジネスモデル

図 15　自社製品（コラボレーション）型のバリューチェーン



Ginkgo の自社製品（コラボレーション）型では、**図 15** に示したとおり、まず事業開発を行い、全く新しい事業の実現に向けてスピンアウト企業を設立する。そして、そのスピンアウト企業が目的物質生産および製品開発・生産・販売を行うことで、製品の上市を実現している。Ginkgo のスピンアウト企業の設立は 2017 年の Joyn Bio 社から始まったが、2022 年 3 月時点ですでに 6 社ものスピンアウト企業を設立している（**表 11**）。この効率的なスピンアウト企業の設立は、Ginkgo が形成する独自のコンソーシアム（Ginkgo Ferment Consortium）によるところが大きい。Ginkgo はこのコンソーシアムに、スピンアウト企業へ多額（数十万から数億 USD レベル）の出資をする投資ファンド（金融投資家）と、金融的な出資に加えて事業支援を行う企業・団体（戦略的投資家）を集めている。そして、このコンソーシアムを活用してスピンアウト企業を設立し、スピンアウト企業は金融投資家と戦略的投資家からの資金調達、戦略的投資家が持つ技術やサプライチェーンなどの経営資源による事業支援を活用し、Ginkgo が開発したスマートセルと生産プロセスを利用して目的物質を生産して、製品として上市する [83]。

Ginkgo は、2019 年に植物由来の食肉や乳製品の開発に必要な製品やサービスを提供する Motif Foodworks 社をスピンアウトさせた。Motif は、ニュージーランドの乳業会社 Fonterra 社やフランスの商社 Louis Dreyfus Company 社が戦略的投資家として出資し、設立された。そして General Atlantic 社や BlackRock 社などの投資ファンドが金融投資家として多額の資金を出資し、事業の継続・拡大を行っている（**表 12**）。Motif はすでにミオグロビンというタンパク質の生産に成功し、動物性の食肉特有の味を生み出すソリューションを開発・提供している [87]。

表 11　スピンアウト企業とその事業内容

スピンアウト企業（出資者）	事業内容
Joyn Bio (Bayer)	農地土壌のマイクロバイオーム
Motif Foodworks (Fonterra、L.D.C)	植物由来の食肉や乳製品の素材
Allonia (Batelle)	排水や土壌の汚染物質を除去する微生物
Arcaea (Olaplex、Givaudan、CHANEL)	バイオ由来の美容製品
Verb Biotics (N･A)	プロバイオティクス
Ayana Bio (N･A)	健康食品

出所：Ginkgo Bioworks ウェブサイト、アニュアルレポートなどの公開情報より作成

表 12　Motif Foodworks の資金調達

年月	投資ラウンド	調達額（M USD）	投資家
2019年2月	シリーズA	90	Fonterra、Louis Dreyfus Company
2019年8月	シリーズA	27.5	General Atlantic
2019年10月	シリーズA	0.8	Alumni Ventures Group
2021年6月	シリーズB	226	BlackRock、Ontario Teachers' Pension Plan

※赤字は戦略的投資家　　出所：Crunch Baseより作成

(3) Zymergen

Zymergen は 2013 年に設立したバイオファウンドリ企業である。詳細な会社情報は**補足 1** に記述している。Zymergen は完全・提案受託型、自社製品（ファブレス）型の 3 つのビジネスモデルを構築している。まずそれぞれのビジネスモデルについて、バリューチェーンと具体例を説明する。

◆ 完全・提案受託型ビジネスモデル

図 16　Zymergen の完全・提案受託型のバリューチェーン

Zymergen の完全受託型では、**図 16** に示したとおり、クライアントが事業開発を行い、Zymergen へスマートセルの開発を依頼する。提案受託型では Zymergen が事業開発を行い、クライアントへスマートセルの活用を依頼する。大規模なデータアセットにより、クライアントの様々な要求に応えられると考えられる。つぎにファウンドリサービス活動として、スマートセルと生産プロセスを開発する。そのあとの活動は Ginkgo の完全・提案受託型と同様である。

Zymergen は複数のクライアントを公開している [88]が、その具体的な内容は公開されていない（**表 13**）。上場時の目論見書 [89]には、ある食品加工メーカーをクライアントとしてファウンドリサービス活動を実施し、そのメーカーが持つ 3 つのスマートセルの改良に成功したことが記載されている。それ以上の詳細な情報は得られていない。

表 13　Zymergen の主なクライアント

市場分野	クライアント
化学	住友化学、三菱ケミカル、東レ、Solvay
食品	味の素、CJ CheilJedang
アグリ	ADM、Cargill、FMC、Syngenta

出所：Zymergen ウェブサイトより作成

◆　自社製品（ファブレス）型ビジネスモデル

図 17　Zymergen の自社製品（ファブレス）型のバリューチェーン

Zymergen の自社製品（ファブレス）型では、**図 17** に示したとおり、まず事業開発を行い、最終的に上市する製品を見据えて事業を企画し、その製品を実現する機能を持つ目的物質を決定する。つぎにファウンドリサービス活動を行い、その目的物質を生産するスマートセルと生産プロセスを開発する。開発に成功すれば CMO へその技術を移転し、CMO が発酵生産を行う。そして生産された目的物質を使用して Zymergen が製品開発を行い、CMO がその製品を生産する。最後に Zymergen が顧客企業や最終消費者へ製品を販売する。Zymergen は以上のようなビジネスモデルで自社製品の上市を目指している。しかし、これまでに上市した製品は 1 種類のみで、またその製品に使用されている原料は発酵由来のものでない。そのため、実際にこのようなプロセスで上市された製品はない。Zymergen は上場時には、エレクトロニクス、コンシューマーケア、アグリの 3 つの市場で自社製品を展開する計画であった [89]。しかし、エレクトロニクス市場では企画した複数の電子フィルム製品のニーズの過大評価、またコンシューマーケア市場では高い顧客獲得コストなどによる高コスト化により、それぞれの市場における事業を縮小している。現在は、アグリ、撥水材料、先端ポリマー、ヘルスケアへとターゲット

市場を移し、また大規模なデータアセットを活用した創薬事業を開始している [90]。

Zymergen が上市した唯一の製品が、Hyaline という折りたたみできる電子フィルムである（**表 14**）。この Hyaline に使用されている原料は、外部から調達した非発酵物質である。エレクトロニクス市場においては、スマートセルによる原料生産および複数の電子フィルムの上市を目指していたが、ニーズが想定を下回ったため頓挫してしまった。現在は ZYM0101 という 1 つの電子フィルムの開発に注力しており、住友化学と共同で開発を行っている [88]。

表 14　Zymergen の製品概要

製品	概要
Hyaline	折りたたみ可能な電子フィルム（※非発酵物質由来）

出所：Zymergen ウェブサイトより作成

2.3.2 バリューチェーンのベンチマーク分析

Amyris、Ginkgo Bioworks、Zymergen のバリューチェーンについて、重要な要素ごとに 3 社の内容をまとめて詳細にベンチマーク分析を行う。本論文では「資金調達と構築した経営資源」、「生物資源調達活動とその垂直統合」、「微生物宿主とプロセス開発・目的物質生産」、「データアセットとビジネスモデル」、「自社製品型ビジネスモデルにおける製品化の流れ」の 5 つに焦点を当てて分析を行う。

(1) 資金調達と構築した経営資源

「資金調達」活動ではファウンドリ事業に必要な資金を投資家から調達する。ファウンドリ事業を行うには、経営資源の調達、生物資源の調達、利益が見込めない期間の運転資金のために、それ相応の資金を調達することが求められる。まずバイオファウンドリの構築には、技術・人材・設備・知財などの経営資源が必要となる。そして事業を開始するには、これら経営資源に加えて DBTL サイクルを回すための大規模な生物資源の調達が必要となる。また、ファウンドリでの効率的なスマートセル開発には、最低限のデータアセットの蓄積が必要である。データアセットの蓄積には相当な時間とコストを要し、特に様々な宿主を扱うとその時間とコストは膨大である。さらに「目的物質生産」活動や「製品開発・生産・販売」活動を行うには、これらファウンドリに必要な経営資源に加えて新たな経営資源が必要となる。そしてファウンドリ事業を開始してもすぐに利益を出せるとは限らない。そのため、バイオファウンドリには大規模な資金調達が求められる。

3 社の「資金調達と構築した経営資源」について**表 15** にまとめると、Amyris は 20 年にわたって 14 億 USD を調達し、出芽酵母のデータアセットとそれに資するファウンドリに加えて、「目的物質生産」、「製品開発・販売」活動に必要な経営資源を構築している。また、Ginkgo は 14 年にわたって 24 億 USD を調達し、様々な宿主のデータアセットとファウンドリを構築し、Zymergen は 10 年にわたって 14 億 USD を調達し、様々な宿主のデータアセットとファウンドリに加えて、「製品開発・販売」活動に必要な経営

資源を構築している。そして、いずれの企業も年間を通して黒字となった年は確認できない。

表 15　「資金調達と構築した経営資源」の 3 社比較まとめ

	Amyris	**Ginkgo Bioworks**	**Zymergen**
資金調達額	18億USD	24億USD	14億USD
期間	20年	14年	10年
ファウンドリ経営資源	• 出芽酵母のデータアセット • データアセット蓄積に資するファウンドリ	• 様々な宿主のデータアセット • データアセット蓄積に資するファウンドリ	• 様々な宿主のデータアセット • データアセット蓄積に資するファウンドリ
実施できる事業活動	• 目的物質生産 • 製品開発 • 製品販売	なし	• 製品開発 • 製品販売
財務業績	赤字	赤字	赤字

(2) 生物資源調達活動とその垂直統合

生物資源とは遺伝情報や合成 DNA などのスマートセル開発に必要な材料のことを言う。遺伝情報は文献などの公開情報から調達できるが、公開情報だけでは他社のファウンドリとの Design 工程の短期間での差別化が難しい。また、合成 DNA は外部の企業から比較的安価に調達できるが、微生物開発のたびに調達していては効率的に Build 工程を実施することは難しい。これら生物資源はスマートセル開発に必要不可欠な材料であり、ファウンドリのスマートセル開発能力を決定づける 1 つの重要な要素である。そこで、ベンチマーク企業 3 社のその調達方法に焦点を当てて分析を行う。

3 社の「生物資源調達活動とその垂直統合」について**表 16** にまとめる。遺伝情報の調達活動においては、Ginkgo と Zymergen は企業買収によって調達活動を垂直統合することで Design 工程を短期間で強化している。具体的には、Ginkgo は Dutch DNA 社の買収により同社が持つタンパク質や有機酸の生産能が高い糸状菌とその遺伝情報、Novogy 社の買収により同社が持つ脂質生産能が高い酵母とその遺伝情報を獲得してお

り [85]、Zymergen は Radiant Genomics 社の買収により同社が持つメタゲノムライブラリを獲得している [89]。また、合成 DNA の調達活動においては、Ginkgo は企業買収によって調達活動を垂直統合することで Build 工程を強化している。具体的には、Ginkgo は Gen9 社の買収により同社が持つ DNA 合成技術を獲得している [83]。なお、Amyris は IDT 社、Gen9 社（買収前）から合成 DNA を大規模に調達し、20 万種類以上の DNA ライブラリを予め構築しておくことで、Build 工程を強化している [80]。

表 16　「生物資源調達活動とその垂直統合」の 3 社比較まとめ

	Amyris	**Ginkgo Bioworks**	**Zymergen**
遺伝情報	• 公開情報から獲得	• 主に公開情報から獲得 • 一部を企業買収により獲得し、Design工程を短期間で強化（垂直統合の実現）	• 主に公開情報から獲得 • 一部を企業買収により獲得し、Design工程を短期間で強化（垂直統合の実現）
合成DNA	• 大規模な調達によるBuild工程の強化	• DNA合成技術の獲得によるBuild工程の強化（垂直統合の実現）	詳細は不明

(3) 微生物宿主とプロセス開発・目的物質生産

微生物は発酵環境に極めてセンシティブである。開発したスマートセルの代謝機能は、温度変化や不純物などの発酵環境により大きく変動し得る。そして外的要因が及ぼす代謝機能への悪影響は、プロセス開発活動や目的物質生産活動における障壁を生み出している。「プロセス開発」活動においては、大量生産プロセスへのスケールアップに伴い発酵環境は大きく変動する [91]。そのため、効率的に大量生産プロセスを開発するには、高度なスケールアップ技術・ノウハウが求められる。また「目的物質生産」活動においては、生産設備において発酵環境を制御し続けなければならない。そのため効率的で安定したスマートセルによる発酵生産を行うには、発酵環境を厳密にコントロールできる生産設備や技術・ノウハウが求められる。「プロセス開発」および「目的物質生産」活動には、ファウンドリでのスマートセル開発に必要な経営資源とは全く異なる新たな経

営資源が必要なのである。

完全・提案受託型のビジネスモデルでは、クライアントが「目的物質生産」活動を行う。そのため、バイオファウンドリは「目的物質生産」活動に必要な経営資源を持たなくても良い。また「プロセス開発」活動では、クライアントの発酵生産設備に合った生産プロセスを開発する必要があり、バイオファウンドリとクライアントの共同研究開発によりスケールアップを行うと考えられる。そのため、プロセス開発に必要な経営資源の全てを持たなくとも良いと考えられる。なお、CMO へ「目的物質生産」活動を委託する場合も同様である。しかし、クライアントや CMO の発酵生産設備は様々であり、バイオファウンドリがスマートセルを開発したあと、効率的に生産プロセスを開発し迅速に目的物質を大量生産することは難しい。このように、「目的物質生産」活動をクライアントや CMO が行うことには課題も多い。一方でバイオファウンドリが「プロセス開発」と「目的物質生産」活動を行う場合、スケールアップや生産の技術・ノウハウを蓄積することで、効率的に生産プロセスを開発し迅速に目的物質を大量生産することができる。しかし、これら活動に必要な経営資源を新たに構築しなければならない。

プロセス開発・目的物質生産活動をどのように行うか（自社で行うか／他社が行うか）は非常に重要な戦略である。そこで、ベンチマーク企業 3 社のこれら活動に焦点を当てて分析を行う。

3 社の「微生物宿主とプロセス開発・目的物質生産」について**表 17** にまとめる。「目的物質生産」活動を自社で行うかそれとも他社が行うかの選択において、扱う微生物宿主の対象の範囲は非常に重要な要素であると考えられる。Amyris は、出芽酵母 *S. cerevisiae* の 1 種類しか宿主として扱っていないが、自社で「目的物質生産」活動を実施できる。対照的に、Ginkgo は細菌、酵母、糸状菌（カビ）などの少なくとも 10 種類以上の多数の微生物 [85]を、Zymergen は 15 種のグラム陽性細菌、6 種のグラム陰性細菌、4 種の酵母、4 種の糸状菌といった様々な微生物 [89]を宿主として扱っているが、「目的物質生産」活動を実施しておらず、クライアント、スピンアウト企業、CMO などの外部企業が生産活動を実施している。既に述べたとおり、「プロセス開発」活動にはスケールアップ技術・ノウハウ、「目的物質生産」活動には生産設備、生産技術・ノ

ウハウを中心とした経営資源が必要不可欠である。そして、発酵環境が代謝機能に与える影響は宿主によって様々であるため、生産設備は宿主ごとに最適な生産プラントが存在し、また技術・ノウハウは宿主ごとに固有な部分も多い。扱う宿主ごとに生産プラントを建設し、また宿主ごとに技術・ノウハウを構築する多大な時間とコストが必要である。したがって、「目的物質生産」活動を行うには、微生物宿主の限定が必要であると考えられる。

Amyris は微生物宿主を出芽酵母に限定することで、生産設備と技術・ノウハウや、スケールアップ技術・ノウハウなどの経営資源を構築し、スマートセルを開発してから実際に目的物質が生産されるまでの事業活動を迅速かつ効率的に行っていると考えられる。一方で、Ginkgo や Zymergen は様々な宿主を扱うために、生産設備と技術・ノウハウや、スケールアップ技術・ノウハウなどの経営資源を構築することは難しい。クライアント、スピンアウト企業、CMO などの外部企業と共同で研究開発を行って「プロセス開発」活動を実施し、外部企業が「目的物質生産」活動を行うことで、実際の目的物質生産に繋げていると考えられる。なお、外部企業が持つ生産設備に応じてプロセス開発や目的物質生産活動を行う必要があるため、スマートセルを開発してから実際に目的物質が生産されるまでは非効率で長期化し得ると考えられる（**表 17**）。

表 17　「微生物宿主とプロセス開発・目的物質生産」の 3 社比較まとめ

	Amyris	**Ginkgo Bioworks**	**Zymergen**
目的物質生産	• 自社、CMO、J.V.が実施 • 生産設備、技術・ノウハウを持つ	• クライアント、スピンアウト企業が実施 • 生産設備、技術・ノウハウなし	• クライアント、CMOが実施 • 生産設備、技術・ノウハウなし
プロセス開発	• 基本的に自社単独での研究開発により実施 • 完全なスケールアップ技術・ノウハウ	• クライアントやスピンアウト企業との共同研究開発により実施 • 部分的なスケールアップ技術・ノウハウ	• クライアントやCMOとの共同研究開発により実施 • 部分的なスケールアップ技術・ノウハウ
プロセス開発から物質生産の流れ	迅速かつ効率的	非効率で長期化し得る	非効率で長期化し得る
微生物宿主	出芽酵母	様々	様々

(4) データアセットとビジネスモデル

バイオファウンドリは DBTL サイクルを高速で回し、微生物の遺伝情報・発酵環境とその代謝機能との関係性についての学習データを蓄積する。この学習データはつぎの DBTL サイクルで活用し、データが蓄積されるに従い微生物開発の効率も向上する。つまり、これら学習データはバイオファウンドリでの効率的な微生物開発を実現するために極めて重要な情報資産であり、本論文では「データアセット」と定義している。

データアセットの蓄積には長期間の研究と多額の研究費が必要である。また、宿主によって細胞内で構築できる代謝経路は異なるため、あらゆる目的物質の生産を実現するには様々な宿主を扱わなければならない。つまり、扱う宿主を少数に絞ることで早期にデータアセットを蓄積し、早期に効率的な微生物開発を実施できるが、生産できる目的物質の種類は限定されてしまう。一方で、様々な宿主を扱うことであらゆる目的物質の生産の実現に近づくことができるが、データアセットの蓄積に膨大な期間とコストを要するため、効率的な微生物開発を実施することが困難となってしまう。

データアセットの構築をどのように行うかは非常に重要な戦略である。そこで、ベンチマーク企業 3 社のデータアセットに焦点を当てて分析を行う。

3 社の「データアセットとビジネスモデル」について**表 18** にまとめる。データアセットを構成する宿主の数・種類によって、構築できるビジネスモデルが凡そ決まると考えられる。Amyris は出芽酵母に特化して、効率的にデータアセットを蓄積してきたと考えられるが、開発できるスマートセルの種類は限定的である。そのため、クライアントのニーズに柔軟に対応することができず、受託型のビジネスモデルを幅広く構築することは難しいと考えられる。対照的に、Ginkgo や Zymergen は様々な宿主を扱いながら、時間とコストをかけてデータアセットを蓄積してきたと考えられる。そして、開発できるスマートセルの種類を拡大し、受託型のビジネスモデルを幅広く構築していると考えられる。

表 18　「データアセットとビジネスモデル」の 3 社比較まとめ

	Amyris	Ginkgo Bioworks	Zymergen
宿主とデータアセット	出芽酵母に限定されたデータアセット	様々な宿主の豊富なデータアセット	様々な宿主の豊富なデータアセット
データアセット蓄積効率	高い	低い	低い
開発できるスマートセル生産できる目的物質	少ない	多い	多い
ビジネスモデル	• 原料供給型 • 自社製品型	• 完全･提案受託型 • 自社製品型	• 完全･提案受託型 • 自社製品型

(5) 自社製品型ビジネスモデルにおける製品化の流れ

バイオファウンドリが自社製品を上市する目的は、より大きな利益を生み出すためである。バリューチェーン上の「目的物質生産」活動、そして「製品開発・生産・販売」活動により、生産した目的物質にさらなる価値を加えることでよりより大きな利益を生み出し得る。例えば、「製品開発」活動で差別化された新たな製品を開発する、「製品生産」活動でより低コストに製品を生産する、「製品販売」活動で製品ブランドを確立して高価格で販売するなどである。しかし、自社製品を上市するには、「ファウンドリサービス」活動によりスマートセルと生産プロセスを開発したあと、「目的物質生産」および「製品開発・生産・販売」活動の 4 つの事業活動を行わなければならない。それぞれに様々な経営資源が必要であり、全ての経営資源を新たに構築することは多くの時間とコストを要し、またリスクも大きく、極めて難しい。

自社製品型ビジネスモデルを構築する場合、自社製品を上市するまでのプロセスをどのように行うかは非常に重要な戦略である。そこで、ベンチマーク企業 3 社の自社製品型ビジネスモデルの流れに焦点を当てて分析を行う。

3 社の「自社製品型ビジネスモデルにおける製品化の流れ」について**表 19** にまとめる。Amyris の自社製品型ビジネスモデルは自社製品（原料生産）型と自社製品（コラボレーション）型の 2 つのビジネスモデルに分類でき、原料生産型では、Amyris は少量

高単価な化粧品や甘味料製品をターゲットとし、「目的物質生産」と「製品開発・販売」活動の経営資源を構築して、それら活動を実施し高い利益率を記録している。コラボレーション型では、近年は次世代ワクチンや代替肉などの新たな市場をターゲットとしている。Amyris はこれらの製品化に必要な経営資源に乏しいが、経営資源を持つ企業と J.V.を設立することでそれら活動を実施している [80]。J.V.での実施により Amyris は自社のファウンドリ活動に集中できると考えられる。Ginkgo の自社製品型ビジネスモデルは自社製品（コラボレーション）型に分類できる。植物マイクロバイオームや代替肉などの新たな市場をターゲットとしている。製品化に必要な経営資源を持つ大手企業（戦略的投資家）と共同でスピンアウト企業を設立し、スピンアウト企業が製品の上市に必要な活動を実施している [85]。そうすることで、Ginkgo は自社のファウンドリ活動に集中できると考えられる。Zymergen の自社製品型ビジネスモデルは自社製品（ファブレス）型に分類できる。アグリ、撥水材料、先端ポリマー、ヘルスケア（酵素）などの様々な新しい市場で「製品開発・販売」活動の経営資源を構築している、あるいは構築する予定である [90]。製品化に近づいている電子フィルムについては、住友化学と共同で製品の研究開発を行っており、また、自社の営業チームが「製品販売」活動を実施している。ただし、販売実績はほとんどない。

表 19　「自社製品型ビジネスモデルにおける製品化の流れ」の 3 社比較まとめ

	Amyris		**Ginkgo Bioworks**	**Zymergen**
ビジネスモデル	原料生産型	コラボレーション型	コラボレーション型	ファブレス型
ターゲット	化粧品、甘味料製品などの少量高単価製品	現在は次世代ワクチン、代替肉など	土壌マイクロバイオーム、代替肉ソリューションなど	アグリ、撥水材料、先端ポリマー、ヘルスケアなど
目的物質生産	自社、CMO	自社、CMO、J.V.	スピンアウト企業 • 経営資源を持つ戦略的投資家とスピンアウト企業を設立し、その経営資源を活用 • ファウンドリ活動に集中	CMO
製品開発	自社 • ターゲット領域における経営資源を持つ	J.V. • 経営資源を持つ企業とJ.V.を設立し、その経営資源を活用 • ファウンドリ活動に集中		自社 • 先端ポリマーでは住友化学と共同研究
製品生産	CMO			CMO
製品販売	自社 • インターネット販売に投資 • 大きな利益獲得			自社 • 営業チームを持つが販売実績はほとんどない

2.3.3 バリューチェーンからみるバイオファウンドリの戦略分析

前節では、ベンチマーク企業 3 社のバリューチェーンの比較分析を行った。3 社とも同じバイオファウンドリ企業であるが、保有する経営資源、注力する事業活動やその事業活動への取り組み方は様々であった。そして、注力する事業活動やその事業活動への取り組み方によって獲得すべき経営資源や事業活動の効率などがおおよそ決まることが示唆された。そこで、本節ではバッカス社への戦略提言を見据え、資金調達額が限られ、米国バイオファウンドリから大きく出遅れていることを前提とした、創業期のバイオファウンドリにおける戦略のオプションについて分析を行う。

(1) 資金調達活動と構築した経営資源

創業期のバイオファウンドリは、宿主を拡大しても様々な事業活動を実施しても、経営資源の構築にはそれ相応の資金調達が求められ、かつ創業から当面の間は赤字を計上し続けることになるであろう。Amyris は宿主を限定して様々な事業活動を実施し、Ginkgo は宿主を拡大してファウンドリ活動に集中し、Zymergen は宿主を拡大して様々な事業活動を実施している。いずれの企業も多額の資金調達を達成しているものの、上場後の財務業績を確認する限り、年間で黒字を達成したことはない。一方で、宿主を限定してファウンドリ活動に集中すれば、少なくとも資金調達額を抑えることはできると考えられる。

分析内容を**表 20** にまとめると、創業期のバイオファウンドリには、宿主を限定するか拡大するか、ファウンドリ活動に集中するかしないかの 4 種類の戦略オプションから、自社に相応しい戦略を選択することが求められる。

表 20　「資金調達活動と構築した経営資源」における戦略オプション

	ファウンドリ活動に集中	様々な事業活動を実施
宿主の限定	資金調達額は抑えられ得る	Amyris • 多額の資金調達（20年で18億USD） • 黒字の実績なし
宿主の拡大	Ginkgo Bioworks • 多額の資金調達（14年で24億USD） • 黒字の実績なし	Zymergen • 多額の資金調達（10年で14億USD） • 黒字の実績なし

(2) 生物資源調達活動とその垂直統合

生物資源の調達を垂直統合する場合、Build 工程や Design 工程を強化できる。非公開の遺伝情報を持つ企業の買収により、遺伝情報の調達を垂直統合することで、短期間で差別化された Design 工程を実現できる。また、DNA の大規模調達や DNA 合成技術の獲得により、合成 DNA 調達を垂直統合することで迅速かつ効率的な Build 工程を実現できる。ただし、このような垂直統合を実現するには、相応のコストが求められるため、創業期のバイオファウンドリにはそれに必要な資金を調達しておく必要がある。

一方で、生物資源の調達を垂直統合しない場合、必要な資金を抑制できる。ただし、Design 工程の差別化や Build 工程の効率化は実現しづらい。

分析内容を**表 21** にまとめると、創業期のバイオファウンドリには、生物資源の垂直統合をするかしないかの戦略オプションから、自社に相応しい戦略を選択することが求められる。

表 21　「生物資源調達活動とその垂直統合」における戦略オプション

	垂直統合する	垂直統合しない
遺伝情報	• 外部の企業で蓄積された遺伝情報の獲得によるDesign工程の強化	• 公開情報からの調達による調達資金の抑制 • Design工程の差別化まで時間を要する
合成DNA	• DNAの大規模調達またはDNA合成技術の獲得によるBuild工程の強化	• 必要に応じた合成DNA調達による調達資金の抑制 • 非効率なBuild工程

(3) 微生物宿主とプロセス開発・目的物質生産

創業期のバイオファウンドリが「目的物質生産」活動を実施する場合、当面の間は微生物宿主を限定して経営資源を構築することが求められる。生産設備、技術・ノウハウや、スケールアップ技術・ノウハウなどの「プロセス開発」や「目的物質生産」活動に必要な経営資源は多くの場合、微生物宿主ごとに固有であり、様々な宿主についてこれら経営資源を構築するには相応の時間とコストが必要で、資金と時間が限られた創業期のバイオファウンドリには全ての構築が困難なためである。微生物宿主を限定して「プロセス開発」や「目的物質生産」活動に必要な経営資源をファウンドリ内に構築することで、スマートセルを開発したあと、目的物質の生産を迅速かつ効率的に実現し得る。

一方で、「目的物質生産」活動を実施しない場合、微生物宿主は限定しても拡大しても良い。この場合、「目的物質生産」活動はクライアントや CMO が実施するため、生産設備、技術・ノウハウなどの経営資源の構築は求められない。また、プロセス開発もクライアントや CMO との共同研究開発によって行うため、スケールアップ技術・ノウハウも完全には必要ないと考えられる。ただし、クライアントや CMO によって宿主や生産設備は様々であるため、スマートセルを開発したあと目的物質の生産を実現するには時間を要する。

分析内容を**表 22** にまとめると、創業期のバイオファウンドリには、「目的物質生産」活動をするかしないかの戦略オプションから、自社に相応しい戦略を選択することが求められる。

表 22　「微生物宿主とプロセス開発・目的物質生産」における戦略オプション

	物質生産を実施する	物質生産を実施しない
微生物宿主の対象	限定	問わない
生産活動の経営資源 （生産設備、技術・ノウハウ）	自社で構築	クライアントやCMOなどの外部企業の経営資源を活用
プロセス開発の経営資源 （スケールアップ技術・ノウハウ）	自社で構築	クライアントやCMOなどの外部企業との共同研究開発が可能
スマートセル開発後から 物質生産までの流れ	迅速かつ効率的	時間を要する

(4) データアセットとビジネスモデル

創業期のバイオファウンドリが、社会のニーズに応えて、様々な宿主から構成されるデータアセットを構築・蓄積する場合、開発できるスマートセルの種類は多く、それによって生産できる目的物質の種類も多くなる。そのため、クライアントから多様な要求に応えることが求められる完全・提案受託型のビジネスモデルを構築できる。ただし、そのデータアセットの蓄積は様々な宿主において行う必要があるため、蓄積の効率は低く、多大な時間とコストを要する。

一方で、限定された宿主から構成されるデータアセットを構築・蓄積する場合、相対的にデータアセットを効率的に蓄積できる。しかし、開発できるスマートセルやそれによって生産できる目的物質は限られてしまい、完全・提案受託型のビジネスモデルを構築することも難しくなってしまう。

分析内容を**表 23** にまとめると、創業期のバイオファウンドリには、様々な宿主から構成されるデータアセットを構築・蓄積するか、限定された宿主から構成されたデータアセットを構築・蓄積するかの戦略オプションから、自社に相応しい戦略を選択することが求められる。

表 23　「データアセットとビジネスモデル」における戦略オプション

	様々な宿主のデータアセット	限定された宿主のデータアセット
開発できるスマートセル 生産できる目的物質	多い	少ない
データアセット蓄積効率	低い	高い
構築可能な ビジネスモデル	• 完全・提案受託型 • 原料供給型 • 自社製品型	• 原料供給型 • 自社製品型

(5) 自社製品型ビジネスモデルにおける製品化の流れ

創業期のバイオファウンドリが、自社で製品化に必要な経営資源を構築する場合、その構築には時間とコストが必要で、また失敗した際のリスクも大きい。しかし、製品の上市に必要な活動を自社単独で行うため、付加価値を作り出せればより大きな利益を獲得し得ると考えられる。

一方で、経営資源を持つ企業と外部で構築する場合、時間、コスト、リスクを抑えてその構築が可能となり、さらにはその抑えた分だけファウンドリ活動に注力できる。しかし、生み出された利益の一部または多くは外部企業にわたってしまう。

分析内容を**表 24** にまとめると、創業期のバイオファウンドリには、自社製品型ビジネスモデルを構築する場合、経営資源を構築して自社で最終製品を上市するか、経営資源を持つ企業と連携して外部で最終製品を上市するかの戦略オプションから、自社に相応しい戦略を選択することが求められる。

表 24　「自社製品型ビジネスモデルにおける製品化の流れ」における戦略オプション

	経営資源を構築して製品を上市	経営資源を持つ企業と製品を上市
時間・コスト・リスク	• 時間とコストを要し、リスクも大きい	• 外部企業の経営資源を活用することで時間・コスト・リスクを抑えられる
効果	• 活動内で付加価値を作りさせれば大きな利益を獲得し得る	• 経営資源を構築しないためファウンドリ活動に注力できる • 利益の一部あるいは多くは外部企業にわたる

2.4 半導体ファウンドリ（TSMC）との比較分析

背景でも述べたとおり、バイオファウンドリは産業バイオ業界の覇権を握るプラットフォーマーとなり得る存在である。前章では先行 3 社のバリューチェーンのベンチマーク分析から、バイオファウンドリに求められる戦略の分析を行った。しかしながら、ベンチマークの対象としたバイオファウンドリの先行 3 社 Amyris、Ginkgo Bioworks、Zymergen の財務業績は大幅な赤字（**補足 1 表 41**、**表 44**、**表 47**）が続いており、また時価総額はここ半年で急落している[3]。そのため、バイオファウンドリの成功に向けた戦略分析を行うには、バイオファウンドリ企業のベンチマーク分析だけでは不十分であると考えられる。

本章では、新たな視点として半導体ファウンドリの成功事例である TSMC をベンチマークの対象として、そのバリューチェーンを分析する。そしてバイオファウンドリとの比較分析を通して、バイオファウンドリに求められる戦略を分析する。

2.4.1 TSMC のベンチマーク分析

TSMC は 1987 年に台湾で設立した半導体ファウンドリである。2021 年度の売上高は 15,874 億 NTD（日本円でおよそ 73 兆円[4]）、時価総額は世界第 11 位の 4240 億 USD[5]であり、半導体製造市場において 50%以上のシェアを占める台湾最大の企業である [92]。TSMC の詳細な会社概要は**補足 2** に記述している。

[3] 2022 年 6 月 30 日時点, Macrotrends [101]を参照.
[4] 1NTD = 4.6JPY とした場合
[5] 2022 年 6 月 30 日時点, Macrotrends [101]を参照.

(1) TSMC のバリューチェーンとビジネスモデル

◆ バリューチェーン

半導体業界においては、**図 18** に示す 6 つの事業活動の連鎖により最終製品である電子製品の価値が生み出される。電子製品の価値創出は、まず「事業開発」活動から始まる。クライアントや市場のニーズに合わせた電子製品を企画し、その製品開発に必要な半導体の性能を決定する。つぎに「回路設計」活動を行い、コンピュータによるシミュレーションを繰り返し、その性能を実現する回路を設計する。そして、設計した回路をもとに半導体チップの「製造」活動を行う。ここでは、半導体チップの生産ラインを開発してチップの生産を行う。生産したチップは「後工程」活動において組立と試験を行い、半導体を完成させる。最後に、半導体を電子製品として最終消費者に提供するため「製品生産」・「製品販売」活動を行う。「製品生産」活動では半導体を利用した電子製品を大量生産し、「製品販売」活動ではその電子製品を最終消費者へ販売する。

半導体業界における電子製品は、このような垂直的に連鎖する 6 つの事業活動から構成されたバリューチェーンにより、その価値が創出される。

図 18　半導体業界のバリューチェーン

半導体チップの「製造」活動を実施するには大きなリスクを取らなければならない。半導体市場は不安定でありながら、製造工場へ巨額の設備投資が必要であるためである。そのような背景から、半導体チップの受託製造に特化した半導体ファウンドリが誕生し、半導体業界においては「回路設計」活動と「製造」活動の水平分業が大きく進んだ。「製造」活動を行う半導体ファウンドリの中でも TSMC は著しい成長を遂げ、そのシェアは半導体製造市場の 50%以上を占めている。同時に「回路設計」活動を行う多数のファブレスが誕生・成長し、また「後工程」活動を行う OSAT（Outsourced Semiconductor Assembly & Test）も誕生した。TSMC の誕生・成長により、半導体業界のビジネスモデ

ルは大きく再編されたのである（図 **19**）。

図 **19**　半導体業界の現在のバリューチェーン

◆　TSMC のビジネスモデル

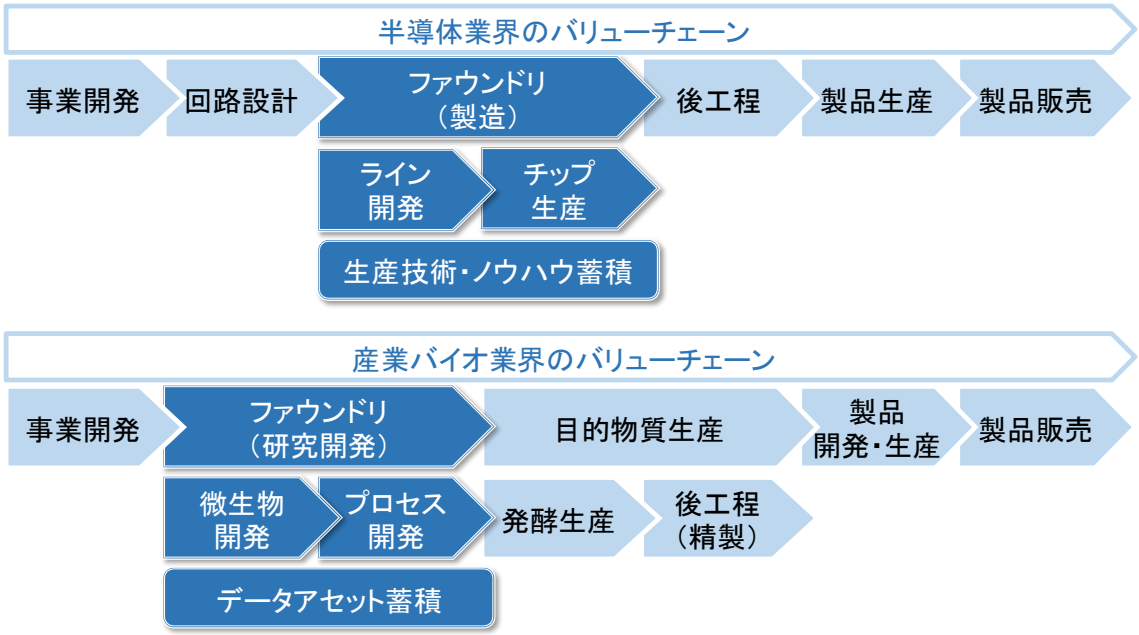
図 **20**　TSMC のバリューチェーン

TSMC は図 **20** に示す「製造」活動に特化する 1 つのビジネスモデルを構築している。このビジネスモデルでは、まず半導体を使用した電子製品を販売するメーカーや、半導体を設計するファブレスが「事業開発」活動を行い、電子製品に必要な半導体の性能を決定する。つぎにファブレスが「回路設計」活動を行い、コンピュータ上で回路の設計・検証を繰り返し、その性能を実現する回路をコンピュータ上で設計する。そして TSMC へ半導体の製造を依頼し、TSMC は蓄積された生産技術・ノウハウを活用して、半導体の「製造」活動を行い、設計された回路の生産ラインの開発と半導体チップの生産を極めて迅速に行う。製造された半導体チップは OSAT により、「後工程」活動と呼ばれる組立と試験が行われ、半導体が完成する。最後に半導体をメーカーへ提供し、メーカーはその半導体を利用して電子製品を生産・販売する。

2.4.2 TSMC とバイオファウンドリの比較分析

ファウンドリによって再編成された半導体業界と産業バイオ業界のバリューチェーンを比較分析する（**図 21**）。なお、それぞれの事業活動が対になるよう、バリューチェーンには一部変更を加えている。

図 21　半導体業界と産業バイオ業界のバリューチェーン比較



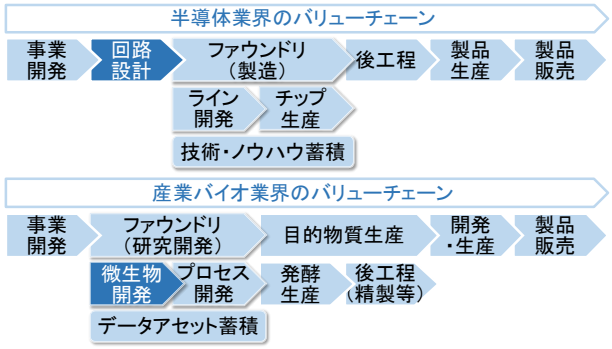
そもそも、TSMC とバイオファウンドリでは軸足を置く事業活動が異なることが分かる。TSMC は「製造」活動に特化し、「ライン開発」、「チップ生産」活動を行う企業であるのに対し、バイオファウンドリは「研究開発」活動を中心に、「微生物開発」、「プロセス開発」活動を行う企業であり、企業によってはその他の事業活動も組み合わせて実施している。一方で、それぞれのファウンドリが属する半導体業界のバリューチェーンと産業バイオ業界のバリューチェーンは類似する部分も多い。**表 25** にそれぞれの事業活動の対比を示した。

表 25　各事業活動の対比

半導体業界	産業バイオ業界
【回路設計】 半導体チップの回路の設計	【微生物開発】 宿主の代謝経路の設計
【ライン開発】 チップの生産ラインの開発	【プロセス開発】 目的物質の生産プロセスの開発
【チップ生産】 半導体チップの量産	【発酵生産】 目的物質の大量生産
【生産技術・ノウハウの蓄積】 半導体ファウンドリの競争優位	【データアセットの蓄積】 バイオファウンドリの競争優位

そこで、半導体業界に属する TSMC と産業バイオ業界に属するバイオファウンドリについて、対となる事業活動とビジネスモデルの比較分析を行う。

(1) 回路設計と微生物開発



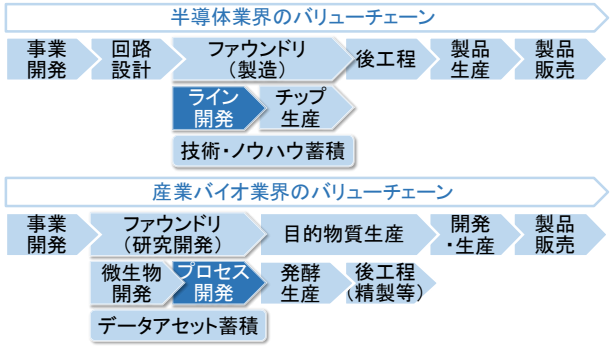
半導体における回路設計とは、文字通り半導体チップ上の回路を設計することを言う。一般的に EDA (Electric Design Automation)という回路設計の自動化と設計した回路の性能検証を支援するツールが使用される。この EDA により設計の一部を自動化することで、手作業では難しい複雑な回路の迅速な設計が可能となる。また EDA により、設計した回路の性能検証の高精度なシミュレーションが可能となる。つまり、実際に半導体を試作せずとも、EDA により設計と検証をコンピュータ上で繰り返すことで、最適な回路を設計できるのである [93]（**表 26**）。

産業バイオにおける微生物開発においても、半導体の回路設計と同じように代謝経路の設計をコンピュータ上で行う。代謝経路設計の自動化は進みつつあるが、代謝経路の機能検証をコンピュータ上のシミュレーションで高精度に行うことは技術的にほぼ不可能である。そのため、バイオにおいては代謝経路を設計したあと、実際に微生物を構築し、微生物の代謝機能を試験し、最後にその試験結果を学習する DBTL サイクルを繰り返して初めて、最適な代謝経路の設計ができるのである（**表 26**）。

表 26　回路設計と微生物開発の比較まとめ

	半導体	産業バイオ
設計方法	• EDAを利用してコンピュータ上で回路設計	• ソフトウェアを利用してコンピュータ上で代謝経路設計
検証方法	• EDAのシミュレーションにより、設計した回路の性能を検証 • 半導体の試作なしに迅速な検証が可能	• 設計した代謝経路を微生物宿主に導入し、その代謝機能を検証 • 実際に微生物を構築し、試験・学習しなければ検証できない

(2) ライン開発とプロセス開発



半導体におけるライン開発とは、半導体チップを量産するための工程を開発することを言う。TSMC は標準化された半導体製造装置を外部の装置メーカーから調達し、半導体の微細化レベルごと（例えば 10 nm、5 nm、3 nm ごと）に生産ラインを工場内に構築している。そしてクライアントが要求する仕様（設計内容）に応じて、工場内の標準化された生産ラインを調整し、最適な生産ラインを開発する。また、設計された回路を効率的にライン開発へ落とし込むために、TSMC は複数の EDA ベンダーや IP (Intellectual Property)プロバイダとアライアンスを結んでいる。TSMC は Synopsys 社、Cadence 社、Mentor 社などを含む多数の EDA ベンダーとアライアンスを組み、それら EDA ベンダーは TSMC の生産ラインに最適化された EDA ツールを開発している [72]。そして、クライアントに対して使用する EDA ツールを指定し、クライアントはその EDA のルールに従って設計とシミュレーションによる検証を行う。TSMC の標準化された生産ラインに最適化された EDA を使用して設計が行われるため、設計された複雑な回路を効率的にライン開発へと落とし込むことができるのである。さらに、TSMC は多数の IP プロバイダとアライアンスを結んでおり、IP ライブラリをクライアントに公開している。IP とは回路を構成する機能ブロックのことをいい、公開さ

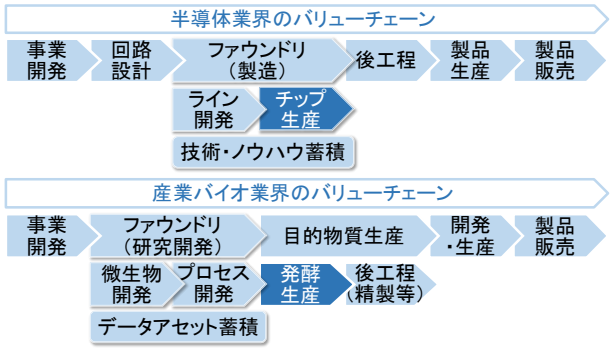
れている IP は既に TSMC で製造実績があり、動作が実証済みのものである。TSMC での実績がある IP ライブラリを使用して設計が行われるため、設計された回路を効率的にライン開発へ移行することができるのである。このように半導体におけるライン開発は、標準化された生産ラインをクライアントの要求に応じて調整するだけで良い。また、その生産ラインに最適化された EDA や IP を活用することで、回路設計から生産ラインの開発を極めて効率的に進めることができる [70] [71]（**表 27**）。

産業バイオにおけるプロセス開発は、モノの量産の仕方を開発するという点では半導体におけるライン開発と一致するが、その開発方法は大きく異なる。まず、TSMC とは異なり、その生産設備は標準化とは程遠い。宿主によって生産設備は様々であり、かつ同じ宿主であってもクライアントによってその生産設備が異なる場合も多い。そのため、宿主や生産設備ごとに固有の生産プロセスを開発することが求められる。また、効率的なプロセス開発の実現に向けても課題が多い。ラボスケールでの発酵環境と商用スケールでの発酵環境は大きく異なるため、効率的なプロセス開発には高度なスケールアップ技術・ノウハウが求められる。しかし、様々な宿主や生産設備が存在するために、そのスケールアップ技術・ノウハウを効率的に蓄積することが難しい（**表 27**）。

表 27　ライン開発とプロセス開発の比較まとめ

	半導体	産業バイオ
開発方法	• 標準化された生産ラインをクライアントの要求に応じて調整	• 様々な宿主や生産設備に合わせて生産プロセスを開発
開発効率	• TSMCでのライン開発に最適化されたEDAツールやIPライブラリの活用 • 高い開発効率	• 様々な宿主・生産設備によるスケールアップ技術・ノウハウの低い蓄積効率 • 開発効率は相対的に低い

(3) チップ生産と発酵生産



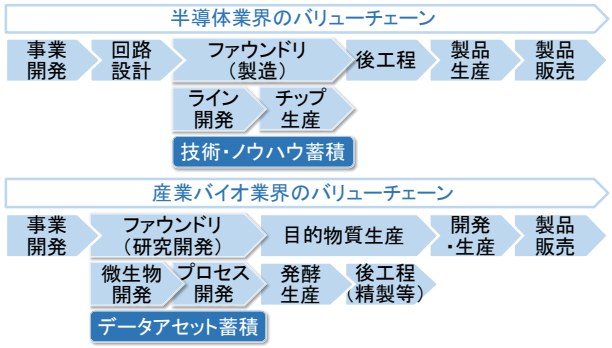
半導体のチップ生産においては原料のシリコンウェハから半導体チップを生産する。すでに述べたとおり、生産ラインは標準化が進んでおり、様々な半導体チップを同じ原料（シリコンウェハ）から同じ生産設備で製造できるため、半導体チップの多品種少量生産が可能である。つまり、同じ原料・同じ生産設備でスマホ、パソコン、家電、自動車などの様々な市場に対応でき、効率的に利益を生み出せる（**表 28**）。

産業バイオにおける発酵生産においては、糖類などの栄養源からスマートセルを利用して目的物質を生産する。目的物質によって最適な宿主は異なり、また宿主によって最適な生産設備も様々であることから、標準化は進んでいない。そのため、同じ宿主・同じ生産設備で対応できる市場は限られる（**表 28**）。

表 28　チップ生産と発酵生産の比較まとめ

	半導体	産業バイオ
原料/宿主	• シリコンウェハが主流	• 目的物質によって最適な宿主は異なる
生産設備	• 標準化が進んでいる • 同じ生産設備での多品種少量生産が可能	• 宿主によって設備が様々なため標準化が難しい • 宿主と目的物質によって生産設備は異なる
市場展開	• 同じ原料（シリコン）・同じ生産設備で様々な市場に対応できる	• 同じ宿主・同じ生産設備で対応できる市場は限られる

(4) 生産技術・ノウハウとデータアセットの蓄積



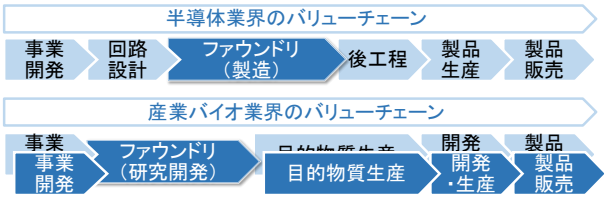
TSMC にとって、蓄積された生産技術・ノウハウは、最先端のチップの効率的な製造を実現する競争優位の源泉である。本節で何度も述べているとおり、TSMC は原料をシリコンウェハに統一して事業活動を製造活動に特化しているため、この生産技術・ノウハウを効率的に蓄積している。半導体の原料はシリコンウェハ以外に様々な化合物半導体ウェハが存在するが、シリコンは加工が容易で低コストである点で原料として極めて優れている [94]。そのため、TSMC においても必然的に原料がシリコンウェハに統一されたと考えられる（**表 29**）。

バイオファウンドリにとって、蓄積されたデータアセットは、スマートセルの効率的な開発を実現する競争優位の源泉である。しかし、スマートセル開発に利用される宿主の候補は多数存在し、また、ビジネスモデルによっては事業活動の選択・組合せも様々である。そのため、データアセットを効率的に蓄積することは困難である。半導体におけるシリコンのように明らかに優れた宿主は存在せず、目的物質によって最適な宿主は異なるため宿主の統一は進んでいない（**表 29**）。

表 29　生産技術・ノウハウとデータアセット蓄積の比較まとめ

	半導体	産業バイオ
競争優位	• 生産技術・ノウハウの蓄積により、最先端のチップの迅速な製造が可能	• データアセットの蓄積により、効率的なスマートセル開発が可能
蓄積の効率	• シリコンおよび製造活動に特化することで、技術・ノウハウを効率的に蓄積	• 宿主も事業活動も選択肢が様々で、データアセットの効率的な蓄積が困難

(5) TSMC とバイオファウンドリのビジネスモデル



TSMC は製造（ファウンドリ）活動に特化するビジネスモデルを構築している。後工程活動を除く、事業開発、回路設計、製品生産・販売活動などの他の事業活動には一切手を出しておらず、TSMC には確立されたひとつのビジネスモデルしか存在しない。製造の下請けとして設立された TSMC は、シリコンを原料とした半導体チップの製造という画一的に近いクライアントからの要求に応えて、チップを受託製造することで早期に利益を生み出すことができた（**補足 2 表 50** 参照）。そしてクライアントの要求に応え続けて生産技術・ノウハウを蓄積してきたことで、最先端の半導体チップの迅速な製造を実現し、大きな利益を生み出している（**表 30**）。

バイオファウンドリは研究開発（ファウンドリ）活動に加え、事業開発、目的物質生産、製品開発・生産・製造活動を組み合わせて、様々なビジネスモデルを構築している。研究開発（ファウンドリ）活動へ特化するビジネスモデルは利益を生み出しにくいためだと考えられる。このビジネスモデルでは、クライアントそれぞれが異なる目的物質を生産するために、様々な微生物を宿主とした多様なスマートセルの開発をバイオファウンドリへ委託する。バイオファウンドリは、クライアントの多様な要求に応じてスマートセルを開発するため、研究開発の低効率化・長期化が起こり得る。また、クライアントが持つ生産設備は様々であり、スマートセルを開発したあとのプロセス開発と目的物質生産を効率的に進めることも容易ではない。さらには、クライアントによる目的物質や製品の販売から得られるロイヤルティ収入についても、その目的物質や製品がどの程度売れるか、その製品の開発に成功して上市できるかなど利益を創出する確度が低いと推察される。そのため、バイオファウンドリは様々なビジネスモデルを構築し、十分な利益を獲得する方法を模索せざるを得ないのが現状であると考えられる（**表 30**）。

表 30　ビジネスモデルの比較まとめ

	半導体	産業バイオ
ファウンドリ活動の特性	• クライアントの要求が画一的で標準化が進んでいる • 受託から収益の獲得までが効率的・短期間で、利益を生み出しやすい	• クライアントの要求が多様で標準化は進んでいない • 受託から収益の獲得までが非効率・長期・不透明で、利益を生み出しにくい
ビジネスモデル	• 製造活動に特化する確立されたビジネスモデル	• 研究開発活動と様々な事業活動を組み合わせた複数のビジネスモデル

2.4.3 TSMC の成功事例からみるバイオファウンドリの戦略分析

前節では、TSMC とバイオファウンドリのバリューチェーンとビジネスモデルの比較分析を行った。そして、TSMC の事業活動は標準化が進み、極めて効率的であるのに対し、バイオファウンドリの事業活動は多様で非効率であることが明らかとなった。その結果として、同じファウンドリでも TSMC は莫大な利益を出し続けるのに対し、バイオファウンドリは大幅な赤字を出し続けてしまうのであろう。

そこで、バッカス社への戦略提言を見据え、資金調達額が限られ、米国バイオファウンドリから大きく出遅れていることを前提とした、創業期のバイオファウンドリに求められる戦略を TSMC の成功事例から分析し、**表 31** にまとめた。

表 31　TSMC の成功事例からみるバイオファウンドリの戦略分析まとめ

	TSMCが採る戦略	バイオファウンドリの課題	バイオファウンドリに求められる戦略
微生物開発 vs. 回路設計	• コンピュータを利用した自動化や検証による回路設計の迅速化	• 設計した代謝経路は実際に微生物への導入が必要で非効率	• データアセットの蓄積による微生物開発の効率化・迅速化
プロセス開発 vs. ライン開発	• 生産設備の標準化とTSMCに最適化された設計ツール（EDA・IP）による効率的なライン開発	• 宿主と生産設備が様々でスケールアップ技術・ノウハウの蓄積が非効率 • それによるプロセス開発の非効率化	• 宿主を限定して生産設備を統一し、スケールアップ技術・ノウハウを効率的に蓄積 • それによるプロセス開発の効率化の実現
発酵生産 vs. チップ生産	• 同じ原料（シリコン）・同じ生産設備で多品種少量生産を実現し、様々な市場に対応	• 目的物質によって宿主と生産設備が異なり、同じ宿主・生産設備で対応できる市場は限定的	• 市場を絞り、宿主を限定し、特定の市場で有用な目的物質の生産に特化
データアセット vs. 生産技術・ノウハウ	• シリコンへの特化および製造活動への特化による効率的な蓄積	• 宿主と事業活動に様々な選択肢があり、データアセットの蓄積が非効率	• 宿主を限定してファウンドリ活動に集中し、データアセット蓄積を効率化
ビジネスモデル	• 標準化が進み、製造の受託から収益の獲得までが効率的で短期間のため、製造への特化は利益を生み出しやすい	• 研究開発への特化は、微生物開発の受託から収益獲得までが非効率・長期間・不透明で、利益を生み出しにくい	• 宿主を限定して微生物開発から物質生産までを行うことで、収益の獲得までを効率的で短期間に確実に行う

TSMC の成功事例と比較したとき、バイオファウンドリの課題の多くは宿主が様々であることに起因する。TSMC では、シリコンウェハを原料とした半導体が様々な市場に

対応できるため、シリコンウェハへの一本化が進み、生産設備の標準化、効率的なライン開発、効率的な生産技術・ノウハウの蓄積が可能となった。そして、迅速かつ効率的な半導体チップの製造が実現したことで、効率的に利益を生み出せるようになった。一方で、バイオファウンドリでは目的物質によって最適な宿主は異なり、同じ宿主で様々な市場に対応することは難しい。そのため、創業期のバイオファウンドリには、市場の絞りこみと宿主の限定が必要であると考えた。まず、市場を絞りこんで宿主を限定することで、効率的なデータアセットの蓄積が可能となり、迅速かつ効率的な微生物開発を実現できると考えられる。また、宿主を限定することで、TSMC における製造活動のように、生産設備の標準化、効率的なプロセス開発、効率的な生産技術・ノウハウの蓄積が可能となり、迅速かつ効率的な目的物質生産を実現できると考えられる。このようにして迅速かつ効率的な微生物開発と目的物質生産を実現できれば、効率的に利益を生み出すことも可能になると考えられる。

TSMC の成功事例を踏まえて、創業期のバイオファウンドリに求められる戦略において重要な要素をまとめる。

- 宿主の限定
  - 競争優位の源泉であるデータアセットを効率的に蓄積。
- 市場の絞り込み
  - 目的物質によって最適な宿主は異なる。
  - 市場を絞り込むことで、宿主の限定を可能にする。
- 生産設備の統一
  - 宿主の限定により、生産設備を統一。
  - スケールアップ技術・ノウハウや生産技術・ノウハウを効率的に蓄積し、目的物質の生産を短期間で実現する。
- 3 点を踏まえて
  - スマートセルの研究開発から目的物質生産までの事業活動を迅速かつ効率的に行い、早期に利益を生み出す。

2.5 バッカス社への戦略提言

株式会社バッカス・バイオイノベーションは、2020 年に設立した神戸大学発バイオベンチャーであり、日本初の統合型バイオファウンドリ[6]である。10 年以上の歳月をかけて蓄積された神戸大学等の研究成果（実証済みのバイオファウンドリや、バイオテクノロジー関連の先端技術、ノウハウ、人材など）をパッケージで技術移転しており、また、すでに十億円規模の資金調達を実施している [95]。

2.5.1 注力すべき市場分野と製品・物質

前章の TSMC との比較分析において、創業期のバイオファウンドリには市場を絞り込むことが必要であると述べた。しかし、**2.2.1 外部環境分析**でも触れたとおり、各市場分野でバイオ製品のニーズは大きく異なり、ターゲットとする市場分野の選択は重要な戦略である。創業期のバイオファウンドリであるバッカス社が早期に利益を生み出すには、ニーズの大きい市場分野に注力することが求められる。

バイオ製品およびその製品原料は、「機能価値」、「コスト価値」、「イメージ・環境価値」のうち少なくともひとつを生み出している。「機能価値」とは、化学合成や動植物からの抽出といった既存の方法では得られない物質の機能が、バイオプロセスによって実現することで生み出される価値である。「コスト価値」とは、既存の方法で得られる物質の機能が、バイオプロセスによって低コストで実現することで生み出される価値である。「イメージ・環境価値」とは既存の方法で得られる物質の機能が、バイオプロセスによる環境負荷の低い持続可能な方法で実現することで生み出される価値である。これら 3 つの価値をどの程度生み出せているかが、バイオ製品のニーズを捉える上で重要になる。まず、各市場分野における 3 つの価値の創出度合を示した（**表 32**）。

[6] 微生物によるものづくりに必要な技術と知識、装置群を集積・統合し、徹底的にオートメーション化されたバイオファウンドリ

表 32　各市場分野における価値の創出度合い

市場分野 物質・製品例	機能	コスト	イメージ 環境	概要
医薬品 ・低分子医薬品	○	○	○	• バイオプロセスでなければ生み出し得ない機能を持つ医薬品は多い • 既存の天然物からの抽出・化学合成と比較しても低コストで持続可能性が高い
コンシューマー ・化粧品原料 ・日用品原料	×	○	○	• 化粧品・日用品原料のほとんどは既存物質の代替 • 既存の天然物からの抽出と比較すると低コストで持続可能性が高い
食品 ・栄養成分 ・調味料 ・香料	×	○	○	• 栄養成分・調味料・香料のほぼ全てが既存物質の代替 • 既存の天然物からの抽出と比較すると低コストで持続可能性が高い
アグリ ・農薬 ・肥料	△	×	○	• バイオプロセスでなければ生み出し得ない機能を持つ農薬・肥料は多い • 既存の化学合成と比較すると高コストだが持続可能性が高い
化学 ・化学品原料 ・バイオプラスチック	△	×	○	• バイオプロセスでなければ生み出し得ない機能を持つ化学品原料やバイオプラスチックもある • 既存の化学合成と比較すると高コストだが持続可能性が高い
燃料 ・バイオ燃料 ・バイオディーゼル	×	×	○	• 化石燃料の代替 • 既存の掘削と比較すると高コストだが持続可能性が高い

表 32 の価値の創出度合いから、バイオ製品のニーズの高まりは、まずは医薬品分野から始まり、つぎにコンシューマー・食品分野、そしてアグリ・化学分野、最後に燃料分野へと続いていくだろうと考えられる。例えば、医薬品分野では、バイオプロセスでなければ生み出し得ない機能を持つ、抗生物質などの医薬品原料が数多く存在する。さらには、既存方法の天然物からの抽出や、多段階プロセスを要する化学合成と比較しても低コストで持続可能性が高い。上述の 3 つの価値を全て生み出しており、バイオ製品のニーズは非常に高い。対照的に、燃料分野では、バイオ燃料はカーボンニュートラルの観点から、その持続可能性は高いが、化石燃料の代替であり既に実現している機能である。また、既存方法である掘削により得られる石油と比較すると高コストである。つまり、燃料分野は「イメージ・環境価値」しか生み出せておらず、バイオ製品のニーズは当面は低いままであると考えられる。

医薬品分野に加えて、コンシューマー分野や食品分野は、そのニーズが高まりつつある。これらの原料は、動植物からの抽出により得られるものがほとんどであり、既に機能は実在しているが、バイオプロセスによって低コストと持続可能性を実現できる。「コスト価値」と「イメージ・環境価値」の 2 つを生み出せており、バイオ製品のニーズは比較的高いと言える。

以上より、創業期のバッカス社には、まず医薬品・コンシューマー・食品分野に注力し、その高いニーズに応えていくことが、利益を生み出す上で重要になると考えられる。加えて、利益を生み出す上で重要となるのが「価格受容性」である。創業期のバッカス社において、データアセットや生産技術・ノウハウが蓄積されていないうちは、生産の高コスト化が危惧される。医薬品・コンシューマー・食品分野のなかでも、高コスト化を吸収できる価格受容性の高い製品・物質への注力が重要になると考えられる。

その中で、医薬品原料（医薬品分野）、化粧品原料（コンシューマー分野）、栄養成分（食品分野）は、多少の高価格であっても最終消費者に受け入れられやすい、価格受容性の高い物質である。最終消費者にとって、医薬品原料は、疾病の治癒のためには高価格を受け入れざるを得ず、また社会保障による金銭的なサポートも大きい。また、化粧品原料（特にベースメイク用）は、高くても価値があると感じれば高価格を受け入れる傾向が強く、栄養成分も同様に、健康意識の高まりから高価格を容認する傾向が強い。創業期のバッカス社にとっては、医薬品原料、化粧品原料、栄養成分に注力していくことが、早期に利益を生み出す上で重要であると考える。

2.5.2 バッカス社の戦略分析

第三章では米国バイオファウンドリのベンチマーク企業のバリューチェーンから、第四章では半導体ファウンドリ TSMC の成功事例から、バイオファウンドリに求められる戦略を分析した。本節では、これら分析結果をもとにバッカス社の経営資源と外部環境から、バッカス社が採るべき戦略を分析する。

(1) 資金調達と構築した経営資源

バッカス社は十億円規模の資金調達を行っており、今なお資金調達を継続中である。この資金を元手にデータアセットの蓄積やファウンドリの構築、様々な事業活動に必要な経営資源の構築などを行っていくことになる。バッカス社は神戸大学と理化学研究所から技術移転を受けて、実証済みのバイオファウンドリ基盤技術を利用しており、すでにバイオファウンドリの構築を実現しつつある。また、神戸大学の近藤研究室を中心とした研究成果の技術移転により、様々な微生物宿主を扱うことができる。なお、「目的物質生産」と「製品開発・生産・販売」活動に必要な経営資源はほとんどないと言える。

2.3.3 (1) 資金調達活動と構築した経営資源で分析したとおり、様々な宿主から構成されたデータアセットの蓄積とそれに資するファウンドリの構築や、様々な事業活動に必要な経営資源の構築には十億 USD（千億円）規模の多額の資金調達が必要である。ただし、宿主と事業活動を限定することでその資金調達額は抑えることができる。そのため、バッカス社には宿主の限定と事業活動の絞り込みが求められる。

また **2.4.3 TSMC の成功事例からみるバイオファウンドリの戦略分析**で分析したとおり、TSMC が生産技術・ノウハウを効率的に蓄積して競争優位を獲得できたのは、シリコンウェハへの特化と製造活動への特化によるところが大きい。そのため、バッカス社には微生物宿主と事業活動の限定によるデータアセットの効率的な蓄積が求められる。

以上の分析結果をまとめると、まず、バッカス社の資金調達は十億円規模に留まっているため、宿主と事業活動を絞らなければならない。宿主を 1 から 3 種類程度に絞り、ファウンドリ活動を集中して実施することで必要な資金を抑えていく必要がある。そして、宿主と事業活動の限定により、バイオファウンドリの競争優位を生み出すデータア

セットを効率的に蓄積していく。このような戦略がバッカス社には求められる（**表 33**）。

表 33　「資金調達と構築した経営資源」のバッカスの戦略分析

	内容	
経営資源	• 十億円規模の資金調達 • 実証済みのバイオファウンドリ • 様々な微生物宿主 • 目的物質生産、製品開発・生産・販売に必要な経営資源に乏しい	
求められる戦略	【先行3社のバリューチェーンから】 • 宿主および事業活動を限定し、必要な資金を抑制	【TSMCの成功事例から】 • 宿主および事業活動を限定し、効率的にデータアセットを蓄積
採るべき戦略	• 宿主を1から3種程度に絞り、ファウンドリ活動に集中し、必要な資金を抑制 • そして、宿主と事業活動の限定により、データアセットを効率的に蓄積	

(2) 生物資源調達活動とその垂直統合

バッカス社は調達資金が限られており、企業買収等による生物資源調達の垂直統合を行うことは難しい。一方で、バッカス社はバイオ分野における研究成果が蓄積されている神戸大学や、複数のバイオテクノロジー企業と緊密な関係にある（**表 34**）。

表 34　バッカス社と関係のある大学・企業

大学・企業	関係
国立大学法人　神戸大学	• 産業バイオにおいて日本トップレベルの研究業績を持つ • 神戸大学からの技術移転により、スマートセルとその遺伝情報を活用可能
株式会社バイオパレット	• DNAを切断せずに書き換える、細胞毒性の低い塩基編集技術を持つ • バッカス社と同一拠点のため、非常に連携をとりやすい
株式会社シンプロジェン	• これまで合成が困難であった最大100 kbの長鎖DNA、高GC/AT含量のDNA、反復配列のDNAの合成技術を持つ • バッカス社と同一拠点のため、非常に連携をとりやすい

2.3.3 (2) 生物資源調達活動とその垂直統合で分析したとおり、非公開の遺伝情報や合成 DNA などの生物資源の調達の垂直統合により、ファウンドリの Design 工程や Build

工程を強化できる。外部の企業・団体で蓄積された研究成果やライブラリの獲得による非公開の遺伝情報の垂直統合は Design 工程の短期間での強化に大きく貢献し、DNA の大規模調達または DNA 合成技術の獲得による合成 DNA 調達の垂直統合は Build 工程の強化に大きく貢献する。バッカス社にもファウンドリを強化するために、このような垂直統合が求められる。

以上の分析結果をまとめると、まず、バッカス社は生物資源調達活動の垂直統合を少ない資金で実現できるポテンシャルを持っている。神戸大学からの技術移転により、目的物質の生産効率を向上させるような遺伝情報や生産できる目的物質を拡大するような遺伝情報を調達することで、垂直統合を実現し、Design 工程を強化できる。また、シンプロジェン社との連携により長鎖 DNA を比較的迅速に調達し、バイオパレット社との連携により塩基編集を比較的簡便に利用することで、垂直統合を実現し、Build 工程を強化でき得る。このようにバッカス社は、垂直統合によるファウンドリの強化を実現できるポテンシャルを既に持っている。今後、連携を深めてより一層ファウンドリの Design 工程と Build 工程を強化していくことが求められる（**表 35**）。

表 35　「生物資源調達活動とその垂直統合」のバッカスの戦略分析

	内容	
経営資源	• 十億円規模の資金調達 • 様々な微生物宿主	
求められる戦略	【先行3社のバリューチェーンから】 • 遺伝情報調達の垂直統合によるDesign工程の強化 • 合成DNA調達の垂直統合によるBuild工程の強化	【TSMCの成功事例から】 なし
採るべき戦略	• 神戸大学からの技術移転により、垂直統合を実現し、Design工程を強化 • シンプロジェン・バイオパレットと連携して、垂直統合を実現し、Build工程を強化	

(3) 微生物宿主とプロセス開発・目的物質生産

バッカス社は神戸大学の研究成果の技術移転により、様々な微生物宿主を扱うことができる。ただし、いずれの宿主についても「プロセス開発」や「目的物質生産」活動に

必要な経営資源に乏しく、調達資金も限られている。

2.3.3 (3) 微生物宿主とプロセス開発・目的物質生産で述べたとおり、「目的物質生産」活動を実施する場合、宿主を限定して生産設備と技術・ノウハウやスケールアップ技術・ノウハウなどの経営資源を構築することが求められる。この場合、スマートセルを開発したあと迅速かつ効率的に目的物質を生産できる。また、生産活動を実施しない場合、宿主の対象は問われず、経営資源の構築もほとんど必要ない。この場合、クライアントや CMO などの外部企業が「目的物質生産」活動を行う。なお、クライアントや CMO の宿主や生産設備に応じたプロセス開発が求められるため、スマートセルを開発したあと目的物質を生産するまでの効率は低い。バッカス社には、宿主を限定して経営資源を構築し「目的物質生産」活動を行うか、経営資源を構築せず外部企業が「目的物質生産」活動を行うかの戦略の選択が求められる。

また **2.4.3 TSMC の成功事例からみるバイオファウンドリの戦略分析**で述べたとおり、TSMC ではチップの原料がシリコンで統一されていることを背景に生産設備の標準化が進み、効率的なライン開発が行われている。そして、生産技術・ノウハウを効率的に進め、同じ原料（シリコンウェハ）、同じ生産設備で、最先端のチップの多品種少量生産を行い、多様な市場に対応している。さらには、設計された回路からライン開発とチップ生産を迅速かつ効率的に行うことで、大きな利益を生み出している。このような TSMC の成功事例を踏まえるとバッカス社が効果的に利益を生み出すには、スマートセルを開発したあと「プロセス開発」と「目的物質生産」活動を迅速かつ効率的に行うことが求められる。そのために、バッカス社には宿主の限定と生産設備の統一、それによるスケールアップ技術・ノウハウや生産技術・ノウハウの効率的な蓄積が求められる。なお、目的物質によって最適な宿主は異なることから、宿主を限定するには市場を絞り込み、その市場内で有用な目的物質の生産に特化することが求められる。

以上の分析結果をまとめると、まず、バッカス社は宿主の限定と生産設備の統一を目指していかなければならない。そしてバッカス社が「目的物質生産」活動を行う場合、限られた資金で生産設備や技術・ノウハウの経営資源を構築しなければならない。グラムあたりの価格が高い有用物質の生産であれば、少量生産でも需要に応え利益も生み出し得ると考えられる。**2.5.1 注力すべき市場分野と製品・物質**の分析では、化粧品原料、

医薬品原料、栄養成分を注力すべき物質として絞り込む戦略が必要であると述べた。そこで、これら物質の中でもさらに高単価な物質をターゲットとして、宿主を限定しつつ、必要な経営資源を抑えていく。そして、このような宿主の限定と生産設備の統一により技術・ノウハウを効率的に蓄積することで、スマートセルを開発したあと迅速かつ効率的に目的物質を生産することが可能になる。また、クライアントや CMO などの外部の企業が「目的物質生産」活動を行う場合、「プロセス開発」と「目的物質生産」活動を効率的に実施するために特定の宿主を扱う企業（例えば、枯草菌は花王株式会社、コリネ菌は味の素株式会社、放線菌は長瀬産業株式会社などが有名）との強力な業務提携を実施する。そして、生産設備の統一や業務提携内での技術・ノウハウの蓄積により、バッカス社でスマートセルを開発したあと「プロセス開発」と「目的物質生産」活動を効率的に進めるためのシステムを構築していく。ファウンドリ（研究開発）に特化するビジネスモデルでは利益を生み出すことが難しかったが、迅速かつ効率的に目的物質を生産することで、短期間で利益を生み出し得ると考えられる。このような戦略がバッカス社には求められる（**表 36**）。

表 36　「微生物宿主とプロセス開発・目的物質生産」のバッカスの戦略分析

	内容	
経営資源	• 十億円規模の資金調達 • 様々な微生物宿主 • プロセス開発や目的物質生産活動に必要な経営資源に乏しい	
求められる戦略	【先行3社のバリューチェーンから】 • 宿主を限定して経営資源を構築し、プロセス開発と目的物質生産活動を実施 • あるいは、目的物質生産活動をせず外部の企業が実施	【TSMCの成功事例から】 • 宿主を限定して生産設備の統一を進め、スケールアップや生産技術・ノウハウを効率的に蓄積 • そして、短期間で効率的に目的物質を生産・販売し、利益を獲得 • なお、宿主の限定には市場の絞り込みが必要
採るべき戦略	• ニーズが大きい市場分野において、価格受容性の高い物質に絞り込み、それら物質の生産に最適な宿主に限定 • 生産活動を行う場合、少量の生産設備を構築し、それら物質の中でも特に高単価原料に限定して少量生産し、効率的に技術・ノウハウを蓄積 • 生産活動を行わない場合、外部企業との強力な業務提携により、効率的なプロセス開発と目的物質生産を実現するシステムを構築 • いずれの場合も、スマートセルを開発したあと、迅速かつ効率的に目的物質を生産することで短期間で利益を獲得	

(4) データアセットとビジネスモデル

バッカス社は神戸大学の研究成果の技術移転により、様々な微生物宿主を扱うことができる。一方で、それぞれの宿主のデータアセットの蓄積については、米国バイオファウンドリのベンチマーク企業 3 社には大幅な遅れをとっており、蓄積に必要な調達資金も限られている。

2.3.3 (4) データアセットとビジネスモデルで述べたとおり、宿主の限定によって、時間とコストを抑えて効率的にデータアセットを蓄積できる。開発できるスマートセルとそれにより生産できる目的物質は限られるため、クライアントの多様な要求に応えることが求められる受託型のビジネスモデルを幅広く構築していくことは難しい。バッカス社は宿主を限定して効率的にデータアセットを蓄積し、原料供給型、あるいは自社製品型ビジネスモデルを構築していくことが求められる。

また **2.4.3 TSMC の成功事例からみるバイオファウンドリの戦略分析**で述べたとおり、TSMC が競争優位の源泉である生産技術・ノウハウを効率的に蓄積できているのは、シリコンへの特化とファウンドリ（製造）活動への特化によるものである。バッカス社にはデータアセットを効率的に蓄積するため、宿主を限定して、かつファウンドリ活動に集中することが求められる。

以上の分析結果をまとめると、まず、バッカス社には様々な宿主のデータアセットを蓄積できるほど、時間と資金に余裕はない。そこで、宿主を限定して効率的にデータアセットを蓄積する必要がある。そのため、受託型のビジネスモデルを幅広く構築していくことは難しい。データアセットの蓄積効率を上げるため、よりファウンドリ活動に集中していく必要があることを考慮すると、当面は自社製品型ビジネスモデルの構築をせずに、原料供給型ビジネスモデルを構築していくことが適切であると考えられる。このような戦略がバッカス社には求められる（**表 37**）。

表 37　「データアセットとビジネスモデル」のバッカスの戦略分析

	内容	
経営資源	• 十億円規模の資金調達 • 様々な微生物宿主 • 米国からの大幅な出遅れ	
求められる戦略	【先行3社のバリューチェーンから】 • 宿主を限定し、時間とコストを抑えてデータアセットを効率的に蓄積 • 受託型ビジネスモデルの構築は不可	【TSMCの成功事例から】 • 宿主を限定してファウンドリ活動に集中し、データアセットを効率的に蓄積
採るべき戦略	• 宿主を限定し、時間とコストを抑えて、データアセットを効率的に蓄積 • 宿主を限定するため、受託型ビジネスモデルの構築は困難 • ファウンドリ活動へ集中するため、当面は自社製品型ビジネスモデルを構築せず、原料生産型ビジネスモデルのみを構築	

(5) 自社製品型ビジネスモデルにおける製品化の流れ

バッカス社は製品を上市するために必要な事業活動である「目的物質生産」、「製品開発・生産・販売」活動を実施するための経営資源に乏しく、また、それら経営資源を構築するための資金も十分にない。

2.3.3

(5) 自社製品型ビジネスモデルにおける製品化の流れで述べたとおり、経営資源を持つ企業と外部で「目的物質生産」、「製品開発・生産・販売」活動を実施することで、経営資源の構築にかかる時間、コスト、リスクを大きく抑えられる。バイオファウンドリが獲得できる利益は減るが、ファウンドリ活動に注力できる。バッカス社が将来的に自社製品型ビジネスモデルを構築する際には、経営資源を持つ企業と外部で製品の上市に必要な活動を行うことが求められる。

また **2.4.3 TSMC の成功事例からみるバイオファウンドリの戦略分析**で述べたとおり、TSMC は製造活動に特化することで競争優位となる生産技術・ノウハウを効率的に蓄積し、大きな利益を生み出している。TSMC の成功事例を踏まえると、バッカス社にはファウンドリ活動に注力し、競争優位となるデータアセットの蓄積を効率的に行うことが求められる。

以上の分析結果をまとめると、まず、バッカス社が自社製品型ビジネスモデルを構築していく場合、経営資源を持つ企業を探し出し、その企業と共同でバッカス社の外部で「目的物質生産」と「製品開発・生産・販売」活動を実施していくのが望ましいと考えられる。重要なことは、ファウンドリ活動に注力してデータアセットを効率的に蓄積するために、可能な限り外部での活動に関与しないことである。このような戦略がバッカス社には求められる（**表 38**）。

表 38　「自社製品型ビジネスモデルにおける製品化の流れ」のバッカスの戦略分析

	内容	
経営資源	• 十億円規模の資金調達 • 目的物質生産、製品開発・生産・販売活動に必要な経営資源に乏しい	
求められる戦略	【先行3社のバリューチェーンから】 • 資金も経営資源もない場合、経営資源を持つ企業と外部で製品上市に必要な活動を実施	【TSMCの成功事例から】 • ファウンドリ活動に集中し、データアセットを効率的に蓄積 • 目的物質生産までを行い、短期間で収益を獲得
採るべき戦略	• 経営資源を持つ企業を探し出し、バッカス社の外部で製品上市に必要な活動を実施 • そして、外部での活動に可能な限り関与せず、ファウンドリ活動に注力して効率的なデータアセットの蓄積を優先	

2.5.3 戦略提言

ここまでの戦略分析をバッカス社への戦略提言としてまとめる。バッカス社は日本初の統合型バイオファウンドリとして、様々な微生物宿主を利用して多種多様なスマートセルを開発し、あらゆる目的物質の生産やバイオ製品の上市を実現することが期待されており、おそらくそれを目指して設立されたと推察する。

実際に、バッカス社は神戸大学や理化学研究所から技術移転を受け、実証済みのバイオファウンドリをすでに構築している。さらに、神戸大学からの技術移転により様々な微生物宿主を扱うことができ、その遺伝情報を中心とした知見も豊富に存在する。加えて、シンプロジェンやバイオパレットとの連携によって、迅速な長鎖 DNA の調達や塩基編集技術の活用を実現し得るポテンシャルを持っている。今後、様々な宿主のデータアセットを構築・蓄積し、生物資源調達の垂直統合を進め、強力なバイオファウンドリを構築できれば、多種多様なスマートセルを開発できるようになる可能性は十分にある。

それでは、創業期のバッカス社には完全・提案受託型ビジネスモデルを構築し、多様なクライアントからの要求に応えて、様々な微生物を宿主としてスマートセルの受託開発を行い、利益をあげることができるであろうか。筆者の分析では、完全・提案受託型ビジネスモデルには、多様なクライアントからの要求に応えるため、様々な宿主のデータアセットの蓄積が必要である。しかし、様々な宿主のデータアセットの蓄積には、相当な研究期間とコストが必要である。限られた資金調達額や米国の先行バイオファウンドリからの出遅れを考慮すると、バッカス社には市場を絞り込み、宿主の対象を限定し、時間とコストを抑えてデータアセットを効率的に蓄積することが求められる。そのため、バッカス社には完全・提案受託型ビジネスモデルを構築していくことは難しいと考えられる。また、そもそもスマートセルの受託開発という研究開発に特化したファウンドリビジネスは利益を安定して生み出すことが難しいと推察される。TSMC に代表される半導体ファウンドリとは異なり、バイオファウンドリの受託型ビジネスは、クライアントからの要求が多様なためにデータアセットの蓄積の効率が低く、ファウンドリでの微生物開発も長期的で低効率となり得る。また、クライアントが扱う宿主や生産設備も様々

であるため、スマートセルを開発したあと、プロセス開発を行い、実際に目的物質を生産するまでも効率的でない。さらに、そのあとのクライアントによる目的物質や製品の販売から得られるロイヤルティ収入も不透明である。以上のように、完全・提案受託型ビジネスモデルは、相当な経営資源を必要とする上に短期間で利益を生み出しにくい構造であり（**表 39**）、創業期のバッカス社にとってこのビジネスモデルを構築していくのは不適切であると言える。

自社製品型ビジネスモデルも同様に、相当な経営資源を必要とする上に短期間で利益を生み出しにくい構造である。このビジネスモデルでは、データアセットについては限定的な宿主から構成されるもので十分であるが、「目的物質生産」活動と「製品開発・生産・販売」活動を実施することが求められ、相当な経営資源の構築が必要である。また、スマートセルを開発したあと、製品として販売するまでに相応の時間を要するため、こちらも短期間で利益を生み出しにくい構造である（**表 39**）。そのため、創業期のバッカス社にとっては、自社製品型ビジネスモデルを構築していくことも同様に不適切であり、事業活動の限定が重要であると考えられる。なお、事業活動の限定という点においては、製品化に必要な経営資源を持つ企業と、あくまでバッカス社の外部で「目的物質生産」と「製品開発・生産・販売」活動を行う、自社製品（コラボレーション）型ビジネスモデルの構築は有効である。このビジネスモデルでは、既に経営資源を持つ企業と共同で事業を行うことから、自社で構築が必要な経営資源を抑えることができ、相対的に短期間で利益を生み出すことができると考えられる。

以上を踏まえると、創業期のバッカス社が、必要な経営資源を抑えつつ、短期間で利益を生み出すには、原料供給型ビジネスモデルの構築が適切であると考える。筆者の分析では、このビジネスモデルでは、データアセットについては限定的な宿主から構成されるもので十分であり、必要な事業活動も「事業開発」、「ファウンドリサービス」、「目的物質生産」活動の 3 つに限定される。そして、目的物質生産活動においては、高単価原料の少量生産であれば必要な経営資源を抑えることができ、また、目的物質生産活動の CMO への委託も可能である（**表 39**）。このビジネスモデルにおいて、目的物質の生産・販売を短期間で実現できれば、TSMC のように短期間で利益を生み出すことも期待できると考える。そのためには、スマートセルを迅速に開発し、プロセス開発と目的物

質生産活動を迅速に進めることが求められる。迅速なスマートセル開発には、やはりデータアセットの蓄積が重要であり、宿主を限定することで効率的な蓄積が可能となる。プロセス開発と目的物質生産活動を迅速に進めるには、スケールアップ技術・ノウハウや生産技術・ノウハウの蓄積が重要であり、それら技術・ノウハウの効率的な蓄積を行うには宿主の限定とそれに伴う生産設備の統一が効果的である。このような考察から、創業期のバッカス社には、宿主の限定を前提とした原料供給型ビジネスモデルの構築が適切であると考える。

表 39　各ビジネスモデルにおける必要な経営資源・資金調達と収益獲得の効率

	完全・提案受託型	原料供給型	自社製品型
データアセット	• 様々な宿主のデータアセットの蓄積が必要 • 相応の時間・コストが必要	• 限定的な宿主のデータアセットで十分 • 時間とコストを抑えて効率的に蓄積できる	• 限定的な宿主のデータアセットで十分 • 時間とコストを抑えて効率的に蓄積できる
目的物質生産活動	• 経営資源は必要ない	• プロセス開発・目的物質生産の経営資源が必要 • 少量生産であれば必要な経営資源は抑えられる • 外部企業に委託すれば経営資源は必要ない	• プロセス開発・目的物質生産の経営資源が必要 • 少量生産であれば必要な経営資源は抑えられる • 外部企業に委託すれば経営資源は必要ない
製品開発・生産・販売活動	• 経営資源は必要ない	• 経営資源は必要ない	• 経営資源が必要 • 外部企業と連携すれば経営資源は抑えられる
資金調達活動	• 多種多様な宿主のデータアセットを蓄積するための資金調達が必要	• プロセス開発・目的物質生産活動を実施するための資金調達が必要 • 少量生産や外部企業への委託によって資金調達は抑えられる	• プロセス開発・目的物質生産・製品開発・生産・販売活動を実施するための資金調達が必要 • 目的物質の少量生産や外部企業との連携によって資金調達は抑えられる
収益獲得までの効率	• 多種多様な宿主の研究やクライアントに応じた生産プロセス開発は低効率・長期化・不透明 • クライアントの製品販売に応じたロイヤルティ収入は不透明	• 宿主を限定し、研究開発・目的物質生産活動を効率化すれば、短期間で収益を獲得できる	• 目的物質を生産したあと、製品開発・生産・販売活動を経て、収益を獲得するまでに時間を要する • 経営資源を持つ企業との共同事業であれば、相対的に短期間で利益を生み出せる

生産設備の統一を進めて迅速なプロセス開発と目的物質生産を実現するため、バッカス社は自社で必要な経営資源を構築して目的物質生産活動を行うか、あるいは CMO と

強力な業務提携を行い、迅速なプロセス開発と目的物質生産を実現できるシステムを構築してCMOへ生産を委託するかが求められる。まずバッカス社が生産活動を行う場合、バッカス社が構築できる経営資源には限りがあるため大規模な生産は難しい。そこで、注力すべき目的物質である化粧品原料、医薬品原料、栄養成分の中でも、より高単価な原料をターゲットとして、宿主を限定し、迅速な目的物質生産と販売を実現し、早期に利益を生み出すことが求められる。

またCMOへ生産を委託する場合、バッカス社で開発したスマートセルから迅速な目的物質生産を実現するシステムの構築が必要となる。そのためには強力な業務提携が必要であり、提携先としては例えば、放線菌であれば長瀬産業株式会社、枯草菌であれば花王株式会社、コリネ型細菌であれば味の素株式会社などが挙げられる。重要なことは1つの宿主に対して1つの提携先に絞り、技術・ノウハウを効率的に蓄積しなければならないことである。バッカス社が早期に利益を生み出すには、このようにスマートセルを開発したあとプロセス開発と目的物質生産・販売を迅速に行うことが求められる。

最後に、バッカス社の当面の戦略において重要な要素を 4 点にまとめる。

- 宿主と事業活動の限定
  - 競争優位の源泉であるデータアセットを効率的に蓄積。
  - 完全・提案受託型、自社製品型（コラボレーション型は除く）ビジネスモデルの構築は不適。
- 市場の絞り込み
  - ニーズが大きい市場で価格受容性の高い製品・物質に絞り込み。
  - それらの生産に最適な宿主を選択。
- 迅速な物質生産
  - 宿主ごとに生産設備を統一。
  - 自社で経営資源を構築し、高単価物質を少量生産。
  - CMO と強力な業務提携を行い、目的物質を生産。
- 3 点を踏まえて
  - 原料供給型ビジネスモデルを構築。
  - スマートセルの研究開発から目的物質生産までの事業活動を迅速かつ効率的に行い、早期に利益を生み出す。

以上が、筆者がバッカス社へ提言する戦略である。

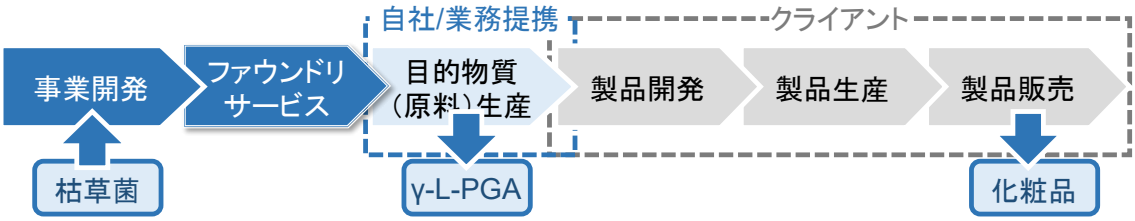
2.6.2 バッカス社における戦略に沿った事業化提案

これまでの分析を踏まえて、バッカス社における神戸大学の研究成果の事業化のひとつとして、筆者の研究成果を提案する。本研究成果では、γ-L-PGA を高生産する枯草菌株を開発し、従来の γ-L-PGA 生産と比較して圧倒的に低コストで γ-L-PGA を生産することを可能にした。一方で、バイオプラスチック原料としての利用を考えた場合、より一層の低コスト化が求められたことから、さらなる γ-L-PGA の高生産化に向けた研究開発をバッカス社で実施したいと考えている。

この研究開発の間、バッカス社は本研究成果を利用して γ-L-PGA を化粧品原料として販売することで、高い利益率での利益の獲得が期待できる。本研究成果により得られる γ-L-PGA の製造原価（概算）は 6,632 円/kg であるが、従来の γ-L-PGA の化粧品原料としての販売価格が 50 万円/kg であることを考慮すると、極めて高い利益率での γ-L-PGA の販売と利益の獲得が可能となる。また、**2.5.1 注力すべき市場分野と製品・物質**でも述べたとおり、そもそも、バイオプラスチックのニーズは高まっておらず（**表 32**）、価格受容性も低いことから、現在のバッカス社にとってバイオプラスチックの事業化を目指すことは適切でない。当面の戦略としては、ニーズが大きく価格受容性の高い化粧品原料としての事業化を目指すのが適切である。そして、獲得した利益を元手に高生産化に向けた研究開発を行い、枯草菌のデータアセットを蓄積し、将来的にはニーズが高まるであろう、バイオプラスチック原料としての事業化を目指していくことが本研究成果の基本的な事業戦略となる。

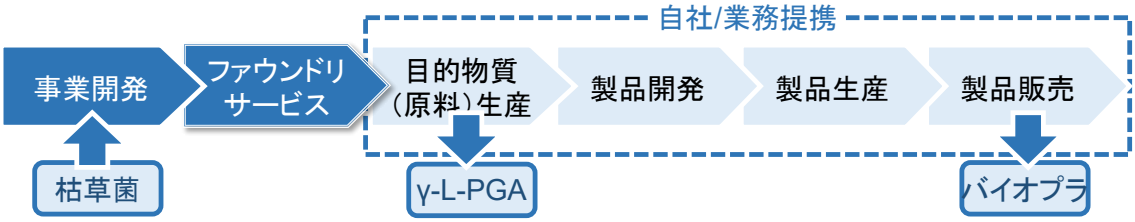
まず、γ-L-PGA を早期に化粧品原料として生産・販売する場合、バッカス社で小規模の生産設備を構築して γ-L-PGA を少量生産する、あるいは、花王株式会社などの枯草菌の発酵生産技術を持つ企業と強力な業務提携を組み、γ-L-PGA を大量生産することを目指す。そして、生産した γ-L-PGA を化粧品原料として、化粧品メーカーを中心としたクライアントへ販売し、早期に利益の獲得を目指す（**図 22**）。

図 22　γ-L-PGA を化粧品原料として販売する原料供給型ビジネスモデル



そして、将来的に γ-L-PGA をバイオプラスチック原料として生産・販売する場合、まずは研究開発を行い、γ-L-PGA をさらに高生産する枯草菌株の開発を目指す。それと同時に、γ-L-PGA を利用したバイオプラスチックの実用例が無いことから、バッカス社が主体となって実用化に向けた研究開発を行う必要がある。東洋紡株式会社や高知大学では、γ-L-PGA が持つ規則的な COOH 基への化学修飾による新規バイオプラスチック素材の研究開発が行われているが [96] [97] [98]、その実用性は定かでない。このような企業や大学を巻き込んで共同研究を実施し、加工が容易で一定の強度を持つ、実用的な γ-L-PGA バイオプラスチック素材の開発を目指す。なお、競争優位の源泉であるデータアセットの蓄積を何よりも優先させるため、「目的物質生産」および「製品開発・生産・販売」活動の経営資源を持つ外部企業と業務提携を行い、可能な限りバッカス社の外部で事業活動を実施することが重要である。そして、開発・生産した γ-L-PGA バイオプラスチック素材をクライアントへ販売し、外部企業との共同での利益の獲得を目指す（**図 23**）。

図 23　γ-L-PGA バイオプラスチック素材を販売する自社製品型ビジネスモデル



γ-L-PGA をさらに高生産する枯草菌株の研究開発を通して、枯草菌のデータアセットが蓄積されていく。このデータアセットには、γ-L-PGA の生産経路である中枢代謝経路

の活性を大幅に引き上げる遺伝情報が蓄積されるであろう。枯草菌を宿主とした他の有用物質の生産例としては、例えば、ビタミン、アミノ酸、抗生物質などの代謝産物、プロテアーゼ、アミラーゼ、セルラーゼなどの工業用酵素、サーファクチン、フェンギシン、バチリバクチンなどのペプチドなどが挙げられる [99] [100]。これら有用物質の生産にも中枢代謝経路は利用されるため、このデータアセットは枯草菌における他の有用物質の高生産化にも繋がるであろう。さらに将来的には、より多くの目的物質の生産の実現を目指して、扱う宿主の対象を他の微生物へと拡げていく。生み出した利益をもとに、枯草菌のデータアセットの蓄積で培った技術・ノウハウを活用して研究開発を続け、より効率的に様々な宿主のデータアセットを蓄積できれば、あらゆる目的物質の迅速な生産も実現できるであろう。以上の事業戦略をバッカス社に提案する。

2.7 事業化検討の総括

筆者は、第一部の理系研究成果として、γ-L-PGA を低コスト・高効率に生産する枯草菌株の開発を可能とした。従来の γ-L-PGA 生産と比較して圧倒的な低コスト化を実現できるが、それでもなおバイオプラスチック原料として利用できるレベルの低コスト化には至らなかった。低コスト要求に応えるには、バイオファウンドリを活用して、さらなる γ-L-PGA の高生産化を実現する必要があるため、神戸大学発のバイオファウンドリであるバッカス・バイオイノベーション社における研究開発と事業化を検討した。

しかし、日本でのバイオファウンドリビジネスは前例がなく、バッカス社そのものにも成功に向けた戦略分析が必要である。そのため、本論文ではバッカス社へ戦略提言を行った上で、研究成果の事業化を検討した。戦略提言にあたっては、先行する米国バイオファウンドリ Amyris、Ginkgo Bioworks、Zymergen の 3 社をベンチマークの対象として、そのバリューチェーンを中心に詳細に分析を行い、バイオファウンドリの戦略のオプションを分析した。そして、ファウンドリビジネスの成功事例である半導体ファウンドリ TSMC のバリューチェーンを比較分析し、バイオファウンドリに求められる当面の戦略を分析した。

バッカス社には様々な微生物宿主を利用して多種多様なスマートセルを開発し、あらゆる目的物質の生産を実現することが期待されている。しかし、分析の結果として現在のバッカス社にはそれに資する経営資源を構築する力はないと考えられた。創業期のバッカス社には、原料供給型ビジネスモデルを構築し、市場を絞りこんで宿主を限定することで、データアセットを中心とした必要な経営資源を効率的に構築し、「微生物開発」、「プロセス開発」、「目的物質生産」活動の迅速化を実現し、短期間での利益獲得を目指す戦略が必要であると提言した。

そして最後に、バッカス社に γ-L-PGA に関する理系研究成果の事業化提案を行った。当面は γ-L-PGA を化粧品原料として生産・販売して利益を獲得し、その間に、利益を元手に高生産化の研究開発を行い、枯草菌のデータアセットを蓄積していく。そして将来的には、データアセットを活用して、バイオプラスチック原料としての事業化や他の様々な有用物質の高生産・事業化を目指していく戦略をバッカス社に提案した。

補足

補足 1 米国バイオファウンドリのベンチマーク企業３社の情報

◆ Amyris

表 40　Amyris の会社概要

社名	Amyris, Inc.
本社所在地	米国、カリフォルニア州、エメリービル
創業	2003年 カリフォルニア大学教授Jay Keaslingを中心とする科学者グループにより創業
時価総額	約5.8億USD（2022年6月30日時点）
直近業績 （2021年）	売上高: 342百万USD （製品販売:150百万USD（うち消費者向け製品:92百万USD）、ライセンス&ロイヤルティ収入:174百万USD、共同研究契約:18百万USD） 消費者向け製品:92） 営業損失: ▲178百万USD 当期損失: ▲272百万USD
主要製品	Biofene（ファルネセン分子）、Biossance（スキンケア製品）、Purecane（甘味料）など
従業員数	約980人（2021年12月31日時点）
拠点	研究開発:カリフォルニア州（米国）, リスボン（ポルトガル） 発酵生産:サンパウロ州（ブラジル）, ノースカロライナ州（米国） マーケティング:ニューヨーク州（米国）

出所:Amyris アニュアルレポートなどの公開情報より作成

表 41　Amyris の財務業績

（百万USD）	2010	2011	2012	2013	2014	2015
売上高	80	146	73	41	43	34
うち製品販売収入	68	129	49	15	23	14
研究開発費	(55)	(87)	(74)	(56)	(50)	(45)
営業損失	▲83	▲179	▲201	▲119	▲99	▲148
当期損益	▲82	▲179	▲206	▲234	2	▲218
フリーキャッシュフロー	▲143	▲86	▲200	▲116	▲94	▲90

（百万USD）	2016	2017	2018	2019	2020	2021
売上高	67	128	64	153	173	342
うち販売収入	26	42	34	60	104	150
研究開発費	(51)	(58)	(69)	(71)	(72)	(94)
営業損失	▲95	▲56	▲137	▲122	▲123	▲178
当期損益	▲97	▲156	▲230	▲243	▲327	▲272
フリーキャッシュフロー	▲77	▲49	▲122	▲170	▲189	▲245

出所：Amyris アニュアルレポートより作成

表 42　Amyris の資金調達

年月	投資ラウンド	調達額（M USD）	投資家
2006年10月	シリーズA	20	Khosla Ventures
2007年9月-2008年8月	シリーズB	93.4	DAG Ventures
2009年1月	シリーズC	41.8	Khosla Ventures
2009年12月	Grant	24.3	-
2010年6月	シリーズD	133	Temasek Holdings
2010年9月	IPO	85	-
2010年10月	Post IPO	13.8	-
2011年10月	Post IPO	7	-
2012年2月	Post IPO	83.7	-
2015年7月	Post IPO	141	Temasek Holdings, Total
2016年10月	Debt	25	-
2016年10月	Post IPO	5	-
2017年8月	Post IPO	50	DSM, Vivo Capital
2018年1月	Grant	25	National Institute of Health
2018年8月	Post IPO	46	-
2019年4月	Post IPO	34	Foris Ventures
2020年6月	Post IPO	200	-
2021年4月	Post IPO	300	-
2021年11月	Debt	400	-

出所：Crunch Baseより作成

26 回の投資ラウンドにわたって計 14 億 USD の資金調達を達成

◆ Ginkgo Bioworks

表 43　Ginkgo Bioworks の会社概要

社名	Ginkgo Bioworks, Inc.
本社所在地	米国、マサチューセッツ州、ボストン
創業	2009年 マサチューセッツ工科大学（MIT）教授Tom Knight率いる科学者グループにより創業
時価総額	約38.3億USD（2022年6月30日時点）
直近業績 （2021年）	売上高：314百万USD （ファウンドリサービス：113百万USD、コロナウィルス検査サービス：201百万USD） 営業損失：▲1828百万USD（うち株式報酬費用▲1492百万USD） 当期損失：▲1837百万USD（うち株式報酬費用▲1492百万USD）
主要サービス	微生物受託開発サービス
従業員数	約641人（2021年12月31日時点）
拠点	研究開発：マサチューセッツ州（米国）

出所：Ginkgo Bioworks アニュアルレポートなどの公開情報より作成

表 44　Ginkgo Bioworks の財務業績

（百万USD）	2019	2020	2021
売上高	54	77	314
うちファウンドリ収入	54	59	113
研究開発費	(96)	(160)	(1150)
営業損失	▲72	▲137	▲1828
当期損益	▲120	▲127	▲1837
フリーキャッシュフロー	▲203	▲119	▲327

出所：Ginkgo Bioworks アニュアルレポートより作成

表 45　Ginkgo Bioworks の資金調達

年月	投資ラウンド	調達額（M USD）	投資家
2010年11月	Grant	-	MassChallenge
2014年1月	Grant	0.4	MassVentures
2014年7月	シードラウンド	1	Y Combinator
2015年5月	シリーズA	9	Vast Ventures
2015年7月	シリーズB	53	Viking Global Investors
2016年6月	シリーズC	100	Y Combinator, Viking Global Investors
2017年12月	シリーズD	275	Y Combinator, Viking Global Investors
2019年9月	シリーズE	290	Viking Global Investors
2020年5月	シリーズF	70	Viking Global Investors, Illumina
2021年9月	IPO	1630	-

出所：Crunch Baseより作成

10 回の投資ラウンドにわたって計 24 億 USD の資金調達を実施

◆ Zymergen

表 46　Zymergen の会社概要

社名	Zymergen, Inc.
本社所在地	米国、カリフォルニア州、エメリービル
創業	2013年 元マッキンゼーJosh Hoffman、元Amyris研究者Jed Dean、Zach Serberらにより創業
時価総額	約1.3億USD（2022年6月30日時点）
直近業績 （2021年）	売上高：17百万USD 営業損失：▲348百万USD 当期損失：▲362百万USD
主要製品 主要サービス	主要製品：Hyaline（販売中止） 主要サービス：微生物受託開発サービス
従業員数	約507人（2021年12月31日時点）
拠点	研究開発：カリフォルニア州（米国） 販売：東京（日本），台北（台湾） 支社：アイダホ州，マサチューセッツ州，ニューヨーク州，ワシントン州（米国）

出所：Zymergen アニュアルレポートなどの公開情報より作成

表 47　Zymergen の財務業績

（百万USD）	2019	2020	2021
売上高	15.4	13.3	16.7
研究開発費	(51)	(91)	(159)
営業損失	▲237	▲241	▲348
当期損益	▲237	▲262	▲362
フリーキャッシュフロー	▲218	▲240	▲335

出所：Zymergen アニュアルレポートより作成

表 48　Zymergen の資金調達

年月	投資ラウンド	調達額（百万ドル）	投資家
2014年1月	シードラウンド	2	Genoa Ventures, Janny Rooke
2015年6月	シリーズA	42	DCVC
2016年10月	シリーズB	130	SoftBank
2018年12月	シリーズC	400	SoftBank Vision Fund
2020年9月	シリーズD	300	Baillie Gifford
2021年4月	IPO	500	-

出所：Crunch Baseより作成

6 回の投資ラウンドにわたって 14 億 USD の資金調達を実施

補足 2 TSMC の情報

表 49　TSMC の会社概要

社名	Taiwan Semiconductor Manufacturing Company, Ltd.
本社所在地	台湾、新竹市
創業	1987年 Morris Changによって工業技術研究院（ITRI）からスピンアウトし創業
時価総額	約4240億USD（2022年6月30日時点）
直近業績 （2021年）	売上高: 1587億NTD 営業利益: 650億NTD 当期利益:597億NTD
主要サービス	半導体受託製造
従業員数	約54,193人（2021年12月31日時点）
拠点	研究開発:新竹市（台湾） 製造:新竹市、台中市、台南市（台湾）、上海、南京（中国）など 子会社:カリフォルニア（米国）、神奈川（日本）、アムステルダム（蘭）、上海（中国）など

出所: TSMC ウェブサイト、アニュアルレポートなどの公開情報より作成

表 50　TSMC の財務業績

（億NTD）	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997
売上高	22	45	65	123	193	288	394	439
研究開発費	-	-	-	(3)	(6)	(7)	(15)	(25)
営業（損失）利益	▲0.1	7	12	44	86	139	182	155
当期（損益）利益	▲1.5	5	12	42	85	151	194	180
フリーキャッシュフロー	-	-	-	20	9	7	▲51	▲181

（億NTD）	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
売上高	502	763	1,662	1,259	1,623	2,030	2,572	2,665
研究開発費	(20)	(31)	(51)	(106)	(117)	(127)	(125)	(140)
営業（損失）利益	162	223	613	128	316	513	885	910
当期（損益）利益	153	235	651	145	216	473	923	936
フリーキャッシュフロー	47	▲206	▲262	▲14	363	623	51	796

（億NTD）	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
売上高	3,174	3,226	3,332	2,957	4,195	4,271	5,067	5,970
研究開発費	(161)	(179)	(215)	(216)	(297)	(338)	(404)	(481)
営業（損失）利益	1,273	1,117	1,044	920	1,592	1,416	1,812	2,094
当期（損益）利益	1,272	1,099	1,005	895	1,623	1,345	1,661	1,880
フリーキャッシュフロー	853	1131	2135	635	274	651	156	663

（億NTD）	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
売上高	7,628	8,435	9,479	9,774	10,315	10,700	13,148	15,874
研究開発費	(568)	(655)	(712)	(807)	(859)	(914)	(1,086)	(1,234)
営業（損失）利益	2,959	3,200	3,780	3,856	3,836	3,727	5,435	6,500
当期（損益）利益	2,638	3,066	3,343	3,431	3,511	3,453	5,179	5,970
フリーキャッシュフロー	1,391	3,126	1,444	2,492	2,597	1,563	3,169	2,758

出所：TSMC アニュアルレポートより作成

1998 年まで TSMC 単体の財務業績、1999 年以降は TSMC グループ全体の財務業績

参考文献

[62] 一般社団法人 バイオインダストリー協会. バイオものづくりに対する産業界からの期待. https://www.jba.or.jp/jba/seminar/se_01/post_230.php (2022-07-21).

[63] Energy Shift. アンモニアの国際価格が上昇 日本への影響は. https://energy-shift.com/news/3b9d1ce6-be2a-45de-9d14-6189934a2cf0 (2022-07-21).

[64] 山本一彦. バイオ企業成長の条件（上）. *日本経済新聞,* 2019-07-14.

[65] Nielsen, J., Keasling, D. J. Engineering Cellular Metabolism. *Cell* **164**, 1185-1197 (2016).

[66] 一般財団法人 バイオインダストリー協会. NEDO スマートセルプロジェクト. https://www.jba.or.jp/nedo_smartcell/ (2022-07-21).

[67] Petzold, J. C., Chan, L. J., Nhan, M. *et al*. Analytics for metabolic engineering. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **3**, 135 (2015).

[68] Lawson, E. C., Harcombe, R. W., Hatzenpichler, R. *et al*. Common principles and best practices for engineering microbiomes. *Nat. Rev. Microbiol.* **17**, 725-741 (2019).

[69] 岸本千佳司. 台湾半導体ファウンドリの技術能力. *赤門マネジメント・レビュー* **14**, 527-600 (2015).

[70] 岸本千佳司. 半導体産業における台湾ファウンドリの発展. *東アジアへの視点* **27**, 52-70 (2016).

[71] 岸本千佳司. 半導体ファウンドリ・ビジネスにおける業績格差と成功要因. *国際ビジネス研究* **8**, 27-43 (2016).

[72] Taiwan Semiconductor Manufacturing Company, Ltd. TSMC ウェブサイト. https://www.tsmc.com/english (2022-07-21).

[73] 津田建二. 業界構造の変遷に注目。日本企業が半導体ビジネスで没落した理由とは～半導体入門講座（15）. https://minsaku.com/articles/post664/ (2022-07-21).

[74] EE Times Japan. Intel、TSMC を活用しつつ「リーダーシップを取り戻す」. https://eetimes.itmedia.co.jp/ee/articles/2202/22/news084.html (2022-07-21).

[75] みずほ銀行 産業調査部. バイオテクノロジーの更なる産業実装可能性と日本企業の勝ち筋. (2020).

[76] 経済協力開発機構（OECD）. The Bioeconomy to 2030. (2009).

[77] Built With Biology. 4Q 2021 Synthetic Biology Venture Investment Report. (2022).

[78] Lawson, E. C., Martí, M. J., Radivojevic, T. *et al*. Machine learning for metabolic engineering: A review. *Metab. Eng.* **63**, 34-60 (2020).

[79] Xia, J., Wang, G., Fan, M. *et al.* Understanding the scale-up of fermentation processes from the viewpoint of the flow field in bioreactors and the physiological response of strains. *Chin. J. Chem. Eng.* **30**, 178-184 (2021).

[80] Amyris, Inc. Amyris Annual Report 2010-2021.

[81] Amyris, Inc. Amyris ウェブサイト. https://amyris.com (2022-07-21).

[82] 株式会社クラレ. クラレ ウェブサイト. https://www.kuraray.co.jp (2022-07-21).

[83] Soaring Eagle Acquisition Corp. IPO Investment prospectus.

[84] Ginkgo Bioworks, Inc. Ginkgo Bioworks ウェブサイト. https://www.ginkgobioworks.com (2022-07-21).

[85] Ginkgo Bioworks, Inc. Ginkgo Bioworks Annual Report 2021.

[86] Cronos Group, Inc. Cronos Group ウェブサイト. https://thecronosgroup.com (2022-07-21).

[87] Motif FoodWorks, Inc. Motif FoodWorks ウェブサイト. https://madewithmotif.com (2022-07-21).

[88] Zymergen, Inc. Zymergen ウェブサイト. https://www.zymergen.com (2022-07-21).

[89] Zymergen, Inc. IPO Investment Prospectus.

[90] Zymergen, Inc. Zymergen Annual Report 2021.

[91] Crater, S. J., Lievense, C. J. Scale-up of industrial microbial processes. *FEMS Microbiol. Lett.*, **365**, 138 (2018).

[92] ビジネス+IT. TSMC とはいかなる企業か？「インテル・サムスン超え」半導体企業の正体. https://www.sbbit.jp/article/cont1/60281 (2022-07-21).

[93] MONOist. そもそも EDA って何なの？. https://monoist.itmedia.co.jp/mn/articles/1003/24/news094.html (2022-07-21).

[94] 日本ポリマー株式会社. 「半導体は何で出来ている？」主な半導体材料や次世代の材料を紹介. https://nihon-polymer.co.jp/2021/03/08/2100/ (2022-07-21).

[95] 株式会社バッカス・バイオイノベーション. バッカス・バイオイノベーションウェブサイト. https://www.b2i.co.jp (2022-07-21).

[96] Ashiuchi, M. Microbial production and chemical transformation of poly-γ-glutamate. *Microb. Biotechnol.* **6**, 664-74 (2013).

[97] Ashiuchi, M., Fukushima, K., Oya, H. *et al*. Development of antimicrobial thermoplastic material from archaeal poly-γ-L-glutamate and its nanofabrication. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **5**, 1619-24 (2013).

[98] 東洋紡株式会社. 繊維とその製造方法. 特開 2012-82534. 2012-04-26.

[99] Harwood, R. C. *Bacillus subtilis* and its relatives: molecular biological and industrial workhorses. *Trends Biotechnol.* **10**, 247‑56 (1992).

[100] Harwood, R. C., Mouillon, J.M., Pohl, S. *et al*. Secondary metabolite production and the safety of industrially important members of the *Bacillus subtilis* group. *FEMS Microbiol. Rev.* **42**, 721‑738 (2018).

[101] Macrotrends, LLC. Macrotrends ウェブサイト. https://www.macrotrends.net (2022-07-21).

謝辞

第一部におきまして、多大なるご指導・ご鞭撻賜りました、神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科の石川周准教授ならびに吉田健一教授に、厚く感謝の意を申し上げますとともに、学術論文執筆にあたりお力添え頂きました、大阪大学大学院の戸谷吉博准教授、奈良先端科学技術大学院大学の Onuma Chumsakul さま、花王株式会社の影山泰さま、富山県立大学の大島拓准教授に深く感謝申し上げます。

第二部の事業化検討におきまして、多大なるご指導・ご鞭撻賜りました神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科の山本一彦教授、福家信洋准教授に深く感謝の意を申し上げますとともに、本学位論文執筆にあたりお力添え頂きました、神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科の三宅秀昭特命准教授、株式会社シンプロジェンの山口直哉様に深く感謝申し上げます。また、本学位論文の審査に携わって頂きました蓮沼誠久教授に心より感謝申し上げます。

神戸大学博士論文「ホモ γ-ポリグルタミン酸の低コスト・高効率な微生物生産プロセスの開発に向けた研究とバイオファウンドリにおける事業化検討」全１６５頁
提出日　２０２２年７月２７日
本博士論文が神戸大学機関リポジトリ Kernel にて掲載される場合、掲載登録日(公開日)はリポジトリの該当ページ上に掲載されます。

© 山本 純也

本論文の内容の一部あるいは全部を無断で複製・転載・翻訳することを禁じます。

本論文に基づく学位審査にあたっては、以下の参考論文とともに審査された。

Junya Yamamoto, Onuma Chumsakul, Yoshihiro Toya, Takuya Morimoto, Shenghao Liu, Kenta Masuda, Yasushi Kageyama, Takashi Hirasawa, Fumio Matsuda, Naotake Ogasawara, Hiroshi Shimizu, Ken-ichi Yoshida, Taku Oshima, Shu Ishikawa: Constitutive expression of the global regulator AbrB restores the growth defect of a genome-reduced *Bacillus subtilis* strain and improves its metabolite production. DNA Research, 29(3), 1-13, 2022
https://doi.org/10.1093/dnares/dsac015