

区分	導入遺伝子	作物	生産物・機能及び特徴等	研究・開発国	文献
ワクチン 抗原	大腸菌易熱性腸管毒素 B サブユニット(LT-B)-HN- 中 和 エ ピ ト ー プ (LTB-HNE)	タバコ(葉 緑体)	合成大腸菌易熱性腸管毒素 B サブユニット(LT-B)-HN-中和エピソード融合タンパク質(LTB-HNE)を大腸菌及びタバコ葉緑体で発現させた。細菌及び葉緑体が生産した組換えLTB-HNEは、SDS-PAGEにより、5量体であることが示され、GM1 ガングリオシドに対して強い親和性を示した。細菌及び葉緑体が生産した組換え LTB-HNEは、HN-中和エピソードポリクローナル抗体を用いたウエスタンブロットにより検出された。LTB-HNE 遺伝子のスペクチノマイシン耐性植物葉緑体ゲノム DNA への挿入は、PCRにより確認された。形質転換植物葉の全 RNA 中の LTB-HNE 特異的転写産物の存在は、RT-PCRにより確認された。葉緑体形質転換葉中の組換え LTB-HNE 融合タンパク質の最高値は全可溶性タンパク質の 0.5%であった。植物体の生育、開花、結実には影響がなく、形質転換葉緑体をもつ T1 植物の相同遺伝子カセットの相互作用と遺伝子発現は、引き続き受け継がれた。	韓 国 National Academy of Agricultural Science	116
ワクチン 抗原	ジフテリア菌、百日咳菌お よび破傷風菌外毒素エ ピソード(DPT)	タバコ(葉 緑体)	ジフテリア菌、百日咳菌および破傷風菌外毒素エピソード;三種混合ワクチン・DPTエピソードをタバコ葉緑体に導入したところ、4 系統で発現を確認した。ELISA の結果、DPT タンパク質は抗 DPT 毒素抗体により認識された。ウエスタン解析の結果、葉緑体形質転換でのタバコ葉での DPT エピソードの生産量は、以前にトマト核形質転換で得られた生産量の100倍高く、新世代の DPT サブユニットワクチン生産が期待できる。	米・ University of Illinois	117
ワクチン 抗原	腸毒素産生性大腸菌 (EPEC)耐熱性毒素(ST)- 大腸菌易熱性腸管毒素 B サブユニット(LT-B)	タバコ(葉 緑体)	腸毒素産生性大腸菌(EPEC)ワクチン:葉緑体 16S リボソーム RNA 遺伝子プロモーターと T7 ファージの遺伝子 10 の 5'非翻訳領域に連結した LTB-ST 融合タンパク質遺伝子をタバコ葉緑体形質転換により導入したところ、全可溶性タンパク質の 2.36%の生産量であった。	米・ University of Illinois	118
ワクチン 抗原	トリインフルエンザヘマ グルチニン(HA)	タバコ培 養細胞 NT-1	HAI polypeptides: マウスへ投与し感染阻止効果を調べた結果、粗エキスクワクチンは、精製ワクチンよりも抗体価が高く、感染阻止効果および他の種類のウイルス阻止効果も高かった	米 国 Dow Agrosciences LLC	119

表 10. 2009 年に公表・出版された薬用及び環境浄化用 GM 植物に関する論文等 (抗体医薬: 17 件)

区分	導入遺伝子	作物	生産物・機能及び特徴等	研究・開発国	文献
抗体医薬	単クローン抗体	ウキクサ	単クローン抗体: 組換え植物で生産されたいくつかの医療用タンパク質は、後期臨床試験中である。宿主植物には、動物細胞のような他の生産ホストとは異なった種類の不純物が存在するため、生産タンパク質は精製が必要である。本報告では、ウキクサで生産した単クローン抗体 (mAb) 抽出物中に存在するフェノール性化合物を調べた。2 種の抽出 pH が抽出物中の mAb 濃度とフェノール性濃度に及ぼす影響を調べた。pH4.5 で抽出すると、pH7.5 の場合と比べ、最終的な mAb 量は同様であるが、本来のタンパク質に対する mAb 量が増加した。MabSelect column からの pH3 の溶出液での回収率は、pH7.5 の抽出物より pH4.5 の抽出物の方がわずかに高かった。抽出物中のフェノール性化合物レベルは、分光光度計、Folin-Ciocalteu assay、RP-HPLC プロファイルにより調べた。Folin-Ciocalteu assay の結果は、他の 2 つの方法での結果とは一致しなかった。そこでフェノール性化合物レベルは RP-HPLC 法で既に報告されているフェノール性化合物の全面積で定量した。pH7.5 抽出物は、pH4.5 抽出物より 22% 少ないフェノール性化合物含量であった。pH7.5 抽出物の酸性での沈殿は、もともと pH7.5 抽出物に含まれていたフェノール性化合物のさらなる還元を生じさせた。抽出物中に存在する全フェノール性化合物は、抽出物を購入可能な陰イオン交換樹脂、Amberlite IRA-402 とともにインキュベートすることで効果的に除去された。抽出の早い段階でのフェノール性化合物の除去は、医療用タンパク質の精製に用いられるより高価なアフィニティカラムの寿命を延ばし、従って、組換え植物ホストからのタンパク質精製の上で考慮すべき過程であると考えられる。	米・Texas A&M University	120
抗体医薬	ヒト化抗 CD20 単抗体	ウキクサ	ヒト化抗 CD20 単抗体: 非ホジキン性リンパ腫治療、糖鎖を最適化することで、標準薬のリツキシマブに比べて細胞毒性を向上し、副作用を軽減 (前臨床)	米・Biotech Therapeutics	121
抗体医薬	抗ヒト CD20 ヒト・マウスキメラモノクローナル抗体、 α 1.3-フコース転移酵素 (FucT)RNAi、 β 1.3-キシロース転移酵素 (XylT)RNAi	ウキクサ (Lemna)	フコース、キシロース付加のないリツキシマブ (rituximab): Lemna で生産したリツキシマブは、ほ乳動物細胞で生産したリツキシマブと同様の CD20 結合能とより高い抗体由来の細胞毒性および B 細胞減少作用を血液全体に對示した。より高い活性と、少ない副作用が期待できる。	米・Biotech Therapeutics	122
抗体医薬	B 型肝炎抗体	植物	B 型肝炎ワクチン: B 型肝炎ワクチンのための植物で生産した抗体 HB-01 の精製法を検討した。10~600 kg のバイオマスで精製効率を検討した。抗体の純度は、SDS-PAGE と LC-GF 法で調べた結果、90% 以上で、1 kg のバイオマスあたり 9.9 \pm 6.2~18.6 \pm 0.9 mg の抗体が生産され、39.9 \pm 7.9~48.7 \pm 2.1% の回収率であった。異なったバイオマススケールでもこれらのパラメーターの違いは認められなかった。抗体 1mg 中の植物 DNA 量は、3.3 ng より小さく、plantibody HB-01 の B 型肝炎ワクチンとしての生産への影響は非常に小さいと考えられた。	キューバ・Center for Genetic Engineering and Biotechnology	123
抗体医薬	単クローン抗体 (MabP) CO17-1A	植物	結腸直腸癌治療: 植物内での単クローン抗体 (MabP) CO17-1A の発現と生物活性、癌の免疫療法に対する有効性の確認を行った。PCR 及び免疫ブロット解析により、植物内で MabP CO17-1A H 鎖、L 鎖それぞれの発現が示された。共焦点顕微鏡観察結果は、抗体は外膜周辺を細胞質全体に蓄積されており、それらが外膜を介して分泌されていることを示唆していた。細胞 ELISA 分析は、植物葉からの抗体 H 鎖及び L 鎖は SW948 ヒト結腸直腸癌細胞に特異的に結合するよう再構成されていることを証明した。フローサイトメトリー分析は、植物から精製した MabP 及びほ乳動物由来の MabM の両方の Fc γ RI 受容体 (CD64) へ同様の結合能を有していることを証明した。植物由来の MabP は、ほ乳動物由来の MabM と異なった糖鎖様式であったが、生物活性は酷似していた。これらの結果は、植物由来の MabP CO17-1A が結腸直腸癌の免疫療法に有効であることを示している。	韓・Wonkwang University	124
抗体医薬	Single chain Fv gene of monoclonal antibody 3G1 against Hantaan virus	シロイヌナズナ	抗ハンタウイルスモノクローナル抗体 3G1 単鎖 Fv: 本研究の目的は、ハンタウイルスに対するモノクローナル抗体 3G1 の単鎖 Fv 遺伝子を含むトランスジェニック Arabidopsis thaliana を構築することであった。組換え 3G1 scFv-pBI121 から 3G1 scFv 遺伝子フラグメントを含む発現フレームを消化し、pCambia2301 へサブクローニングして植物発現ベクター 3G1scFv-pCambia2301 を作った。Agrobacterium tumefaciens 媒介の浸潤により Arabidopsis thaliana をトランスフォーメーションした。PCR、サザンブロットおよび Gus 染色により、得られたトランスジェニック植物を解析した。組換え 3G1scFv-pCambia2301 が成功裏に構築されたことを、制限酵素解析により証明した。トランスジェニック Arabidopsis thaliana ゲノムへの 3G1 scFv 遺伝子の統合を PCR およびサザンブロット解析が示した。トランスフォーメーションされた Arabidopsis thaliana において遺伝子マーカーが発現されたことを Gus 染色結果が示した。外来遺伝子が成功裏に Arabidopsis thaliana にトランスフォーメーションされ、これは植物におけるある種の抗体の発現に関するさらなる研究に対する基礎を作っているとの結論を得た。	中・Xian University of Arts and Science	125
抗体医薬	IgG 抗体	タバコ	IgG 抗体: IgG 抗体をアポプラスト、細胞膜あるいは小胞体に蓄積する GM タバコを用い、種々の葉からの抗体抽出法を検討した結果、蓄積部位の違いにより、最適な抽出条件が異なることが判明し、抽出バッファーへの界面活性剤の添加は抽出効率を改善したが、蓄積部位の違いによりその効果は異なっていた。	英・University College London	126
抗体医薬	単クローン抗体 (Guy's 13, 4E10)	タバコ	単クローン抗体 (Guy's 13, 4E10): 根からの分泌は、組換え植物での組換えタンパク質生産にとって魅力ある技術であるが、今までの手法による植物由来の医療用組換えタンパク質の収量は商業化の上では非常に低かった。そこで、3 種の GM タバコ、2 種の単クローン抗体 (Guy's 13 及び 4E10) と抗ウイルス作用を示す低分子ペプチド、シアノビルリン N を生産するタバコを水耕栽培し、根からの分泌を調べた。植物成長調節物質 ナタレン酢酸 (NAA) の添加により、根からの分泌量が増加した。それぞれの 24 時間の根の乾燥重量あたりの最大分泌量は、58 μ g/g (Guy's 13)、10.43 μ g/g (4E10)、766 μ g/g (cyanovirin-N) であり、これらは今まで報告された中で最も高い値であった。植物成長調節物質インドール酪酸 (IBA)、6-ベンジルアミノプリン (BA)、カイネチン (Kin) も、Guy's 13 の分泌量を増加させた。植物成長調節物質の作用は異なっており、NAA と IBA は水耕栽培した植物の根の乾燥重量を増加させ、BA と Kin は、根のバイオマスに影響を与えずに、根からの分泌量を増加させた。水耕液あるいは植物の葉から精製した Mab Guy's 13 の糖鎖付加様式を比較した結果、同様の高マンノース型糖鎖であった。収穫時の水耕液を分析した結果、葉のエキスと比較して低濃度で少ない量のタンパク質分解酵素、他の IgG と同様に精製前の Guy's 13 IgG に高い割合で含まれる、が含まれていた。水耕液は、直接アフィニティクマトグラフィー精製にかけることが出来、簡便で迅速な高純度 Guy's 13 IgG 生産が可能であった。さらに、閉鎖系施設における制御された組換え植物による医療用タンパク質生産及び組換えタンパク質の品質と精製の有利な点を示した。	英・St. George's Hospital Medical School, University of London	127
抗体医薬	単クローン抗体 (mAb)、 α 1.3-フコース転移酵素 (FucT)RNAi、 β 1.2-キシロース転移酵素 (XylT)RNAi	タバコ	ヒト型糖鎖の単クローン抗体: 個別に RNAi を導入した組換え植物ではわずかながらフコースあるいはキシロースが付加された単クローン抗体が得られたが、両方を発現させた植物では、フコースおよびキシロースが付加しない単クローン抗体が得られ、何世代も安定であった。	ベルギー・Bayer BioScience	128
抗体医薬	ヒト N-アセチルグルコサミン転移酵素 (GnT)-III、抗体	タバコ	GnT-III 導入植物で生産した抗体の N-グリカンのほとんどは 2 岐型であり、抗体の品質向上が示唆された。	蘭・ワーニンゲン大学	129

区分	導入遺伝子	作物	生産物・機能及び特徴等	研究・開発国	文献
抗体医薬	血液型タイピング IgGC5-1	タバコ (Nicotiana benthamiana; ササゲモザイクウイルス)	血液型タイピング IgGC5-1: IgG 遺伝子を RNA-2 全長または RNA-2 遺伝子を短くした断片に挿入したササゲウイルスベクターを複製し、アグロバクテリウムを介し、RNA-1 存在下でタバコ葉にウイルス感染を行い、IgG を生産させた。どちらのベクターでも IgG 生産が認められたが、RNA-2 を短くして遺伝子導入を行ったウイルスの方が、生産量が高かった。また、抗体重鎖の C 末端に小胞体維持シグナルを付加すると生産量が増加した。	英・John Innes Centre & 加・Medicago Inc	130
抗体医薬	抗 HIV-1 単クローン抗体 2G12、RNAi による 糖鎖修飾変化	タバコ (Nicotiana benthamiana)	種々の N 型糖鎖を有する抗 HIV-1 単クローン抗体: 野生型タバコおよび RNAi により糖鎖修飾を変化させたタバコで単クローン抗体を生産させ、抗体原性およびアレルギー性を調査。植物型糖鎖修飾(野生型植物で生産)を受けた単クローン抗体をウサギに免疫すると、様々な糖タンパク質に反応する IgG 抗体が産生され、また、アレルギー患者血清の IgE に強い反応性を示した。一方、植物型糖鎖修飾を受けない植物で生産した IgG は、アレルギー患者血清由来の IgE と結合しなかった。	オーストリア・University of Natural Resources and Applied Life Sciences & 独・アーヘン工科大学	131
抗体医薬	抗ダイオキシン単鎖抗体 (scFv)	タバコ(ウイルスベクターも含む)	大量生産を検討するため、形質転換タバコとキュウリモザイクウイルス(CMV)ベクターによる発現の比較を行った結果、CMV ベクター摂取上葉の発現量が、最も発現量が高い形質転換タバコの約 7 倍であることが判明した。さらにこのとき、ポテトウイルスを重複感染させることにより、さらに生産量を増加させることが判明した。	日・産総研	132
抗体医薬	抗 HIV-1 単クローン抗体 2G13+KDEL+蛍光マーカータンパク質(DsRed)	トウモロコシ	抗 HIV-1 単クローン抗体 2G13: 単クローンと蛍光マーカータンパク質(DsRed)とともにトウモロコシ胚乳で生産。生産された抗体の重鎖は、ゴルジ特異的な糖鎖修飾(フコース、キシロース)を欠いており、ほとんどの糖鎖が除かれていた。これは胚乳内在のグリカナーゼによるものと思われる。生産された単クローン抗体は、CHO で生産されたものと同等かそれ以上の HIV 中和活性が認められた。	独・アーヘン工科大学 & オーストリア・University of Natural Resources and Applied Life Sciences	133
抗体医薬	抗 HIV モノクローナル抗体	トウモロコシ	抗 HIV モノクローナル抗体: HIV 感染予防、トウモロコシ由来の抗体と CHO 由来の抗体のウイルス中和活性を調べた結果、トウモロコシ由来の抗体の方が約 3 倍活性が高かった	西・Universitat de Lleida	134
抗体医薬	キュウリモザイクウイルス組換え抗体、トマススポットウイルス組換え抗体	トマト、タバコ	それぞれの抗体分子: 植物体内での外来抗体の発現は、ウイルス感染防止や医薬上興味ある分子を生産する能力を与える効果的戦略である。しかしながら、自己防御植物を得るそれらの遺伝子組換え工学の受け入れは、それらが安全な使用の歴史をもつ非組換え植物と実質的に同等であることの評価にかかっている。事実、植物への導入遺伝子の挿入が、内在遺伝子の発現や、通常の代謝物を変化させてしまう可能性が存在する。本研究では、植物でのウイルスに対する組換え抗体の発現が宿主植物葉のプロテオーム(全発現タンパク質)に影響するかどうかを調べた。アグロバクテリウム・ツメファシエンス形質転換により、二つのモデル植物、キュウリモザイクウイルス及びトマススポットウイルスそれぞれに対する組換え抗体を発現するマイクロマトマト及びタバコを作成し、解析した。有為な植物プロテオームを得るため、それぞれの植物の抽出法を工夫した。抗体を発現する植物及び非組換え植物のプロテオームレパートリーを二次元ディフュージョン電気泳動解析で比較した。ゲル中の 2000 のスポットのうち 10 スポットはそれぞれの形質転換植物モデルで非組換え植物と発現に差があり、MALDI-TOF PMF 及び μ LC-ESI-IT-MS/MS で同定した。タンパク質の変動は、平均比率 2.4 以下の決定した数に限られていた。発現差異が見られたタンパク質のほとんどは、光合成か防御機構に関わっていた。全体的な結果として、両方のシステムでの組換え抗体の発現は、葉のプロテオームプロファイルに重大な変化を生じさせず、抗ウイルス抗体を発現する耐性植物の生物学的安全性の評価が行えた。	伊・ENEA	135
抗体医薬	抗ルイス Y 抗原抗体、フォース転移酵素ノックアウト	ヒメツリガネゴケ	抗ルイス Y 抗原抗体: コケは半数体でクローン増殖が可能で短期間で大量に増産でき、相同組換えによる遺伝子ノックアウトが可能。遺伝子導入も容易で全ゲノム解読終了。抗ルイス Y 抗原抗体活性の上昇、副作用軽減。	独・Greenovation	136

表 11. 2007-2009 年に公表・出版された薬用及び環境浄化用 GM 植物に関する論文等 (治療薬: 33 件)

区分	導入遺伝子	作物	生産物・機能及び特徴等	研究・開発国	文献
治療薬	アポリポロタン A-I	イネ	アポリポロタン A-I dimer or multimer (apo A-I, HDL の主要な構成成分、HDL の代謝に関与): コレステロール代謝異常の改善、種子特異的プロモーターの利用により、種子中に apo A-I を蓄積、この種子から作製したライスマルク中の apo A-I は 4°C で 63 日間安定であることを確認	伊・Plantechno S.r.l.	137
治療薬	ヒトプラスミン(フィブリン分解酵素)	ウキウサ	プラスミン: 血栓溶解剤(2008 年前半に第 1 層臨床試験開始予定、2008 年後半に深部静脈血栓症、エコノミクス症候群を対象に第 2 相試験予定)	米・バイオレックス	138
治療薬	ヒト I 型コラーゲン α1(CIa1)鎖	オオムギ	Clai: ドラッグデリバリー担体	フィンランド・VTT Technical Research Centre of Finland	139
治療薬	UDP-グルコシルトランスフェラーゼ、モルヒネ脱水素酵素、モルヒネ還元酵素	ケシ	モルフィナルカロイド類: コドン最適化した UDP-グルコシルトランスフェラーゼ、モルヒネ脱水素酵素、モルヒネ還元酵素の導入により、アルカロイド量が増加	米・Ceres, Inc.	140
治療薬	ヒトインスリン	植物	本発明は、ヒトインスリン遺伝子を発現する植物ベクターの構築と、その遺伝子の組換え植物のオイルボディでの発現に関する。特定するのは、植物型コドンに改変したヒトインスリン遺伝子の合成、人インスリン遺伝子のオレオシシ遺伝子への融合、融合遺伝子を含む発現ベクターの構築、宿主植物の形質転換、植物種子でヒトインスリンを得るための遺伝子の発現より構成される方法である。本法は、ヒトインスリンを生産する植物バイオリアクターに利用でき、このように動物病原体や、大腸菌内毒素のリスクを回避できる。本法は、簡便な精製過程、安価な生産コストの利点があり、インスリンの大量生産に適している。	中・Jilin Agricultural University	141
治療薬	β-アミリン合成酵素	植物	トリテルペンサポニン類の含量増加	米・不明	142
治療薬	グルコセレブロシターゼ	植物	グルコセレブロシターゼ(ゴーシェ病治療): 本発明は、突然変異あるいは形質転換した植物、それらの植物の一部、またはそれらの植物細胞中で、低アレルギー性の糖タンパク質を生じさせる方法に関し、ゴルジα-マンノシダーゼ II 活性が除去あるいは低下し、低アレルギー性の異種糖タンパク質を生産する突然変異または形質転換植物、植物の一部及び植物細胞に関する。引き続きの発明は、核フコシルトランスフェラーゼ活性が消失あるいは減少した突然変異あるいは形質転換植物、植物の一部、植物細胞で低アレルギー性の糖タンパク質を生産する方法に関する。特に、本発明は、ゴルジ体酵素α-マンノシダーゼ II 活性が消失あるいは低下した突然変異または形質転換植物、植物の一部及び植物細胞で、低アレルギー性の糖タンパク質を生産する方法に関する。本発明は、リソソーム病治療のための低アレルギー性のヒトグルコセレブロシターゼ生産への利用が期待出来る。さらに本発明は、上記のように改変された植物、植物の一部、植物細胞に関する。	独・Westfaelische Wilhelms-Universität Muenster	143
治療薬	結腸直腸癌細胞表面抗原(GA733-2)-抗体フラグメント+マンノース糖鎖複合体	植物	結腸直腸癌予防・治療: 標的複合体は、結腸直腸癌細胞表面抗原(GA733-2)-とマンノース糖鎖を有する抗体フラグメント(Ig fragment crystal reagon)から構成される。抗体は結腸直腸癌細胞に特異的に結合でき、この抗体は高収率で組換え植物で生産される。抗体を利用したワクチンは免疫系の中で効率的に反応し、抗原認識免疫細胞を迅速に活性化し、結腸直腸癌細胞が生じるとすぐに癌細胞を除去する。	韓・Wonkwang University	144
治療薬	組織プラスミノゲン活性化物質	植物	tissue-type plasminogen activator: 血栓溶解薬	韓	145
治療薬	ヒトブチリコリンエステラーゼ	植物	ブチリコリンエステラーゼ(殺虫剤、毒物、薬物、非伝統的戦闘用薬物への封止策、およびコリンエステラーゼレベルの低下に伴う病状の緩和)	米・アリゾナ州立大学	146
治療薬	パラオキシナーゼ I (PON-1)	植物(ウィルスベクターも含む)	パラオキシナーゼ I (PON-1): 有機リン系神経毒、化学兵器中毒の治療薬: PON-1 を植物で生産するため、アグロバクテリウムによる形質転換、植物ウイルス感染による一時的タンパク質発現システムを比較した。	米・Arizona State University	147
治療薬	ゲラニオール 10-ヒドロキシラーゼ (SmG10H)	Swertia mussoitii (センブリの仲間)	スウェルチアマリン: 本発明は、Swertia mussoitii (センブリの仲間)からのゲラニオール 10-ヒドロキシラーゼ (SmG10H) 遺伝子のクローニングと SmG10H 遺伝子発現用ベクターの構築と酵母及び Swertia mussoitii でのゲラニオールから 10-ヒドロキシゲラニールの交換への応用に関する。本発明は、酵母及び Swertia mussoitii での 10-ヒドロキシゲラニール含量増加法を提供し、本遺伝子による形質転換植物は、非形質転換植物に比べ飛躍的に増大したスウェルチアマリン蓄積能を有する	中・Shandong University	148
治療薬	シクロオキシゲナーゼ(COX-2)	ゼニゴケ	プロスタグランジン H ₂ (PGH ₂): COX-2 酵素をコードする cDNA の過剰発現用コンストラクトをアグロバクテリウム法でゼニゴケに導入。植物体における導入遺伝子の構成的発現を RT-PCR により検出。	日・石川県大、小太郎漢方製薬	149
治療薬	動物由来 5-リポキシゲナーゼ(5-LOX)	ゼニゴケ	ロイコトリエン: CaMV 由来 35S プロモーター制御下で動物由来 LOX をアグロバクテリウム法によりゼニゴケに導入。ゲノム PCR により 5-LOX 遺伝子が導入されたことを確認し、RT-PCR により同遺伝子の発現も確認。	日・石川県大	150
治療薬	動物由来ホスホリパーゼ A ₂ (PLA ₂)	ゼニゴケ	アラキドン酸(プロスタグランジン、ロイコトリエン原料): プロスタグランジン、ロイコトリエンの製造原料であるアラキドン酸遊離活性を増強するため、動物由来 PLA ₂ 遺伝子を CaMV 35S プロモーター制御下でゼニゴケに導入した。逆転写 PCR 法により、PLA ₂ 遺伝子が転写されていることを確認。	日・石川県大、小太郎漢方製薬	151
治療薬	ヒト成長ホルモン(hGH)	タバコ(植物ウイルスベクター)	ヒト成長ホルモン(hGH): 植物は種々の生物由来の広範囲の組換えタンパク質を効率的に発現するシステムであることが示されてきた。今回、植物ウイルスベクターを利用した発現システムでタバコ(Nicotiana benthamiana)植物体で生産させたヒト成長ホルモン(hGH)が、下垂体切除ラットモデルにおいて、生物活性があることが初めて示された。植物が生産した hGH (pphGH) 60µg/投与量を皮下注射で 10 日間、10 頭の動物に投与したグループは約 17g の体重増加が認められた。増加する hGH の需要とより無理のないコストでより多くの人がこの組換えタンパク質を利用可能になるようにするためにも、植物は現在の生産体系に代わり得る実用的な生産体系を提供する。	米・Fraunhofer USA	152
治療薬	α-1,4 ガラクトース転移酵素	タバコ	医療用タンパク質: 一部多孔性の親水性フィルムの使用により組換え植物を完全分離型システムで栽培した。培養液は分離システムやクリンルームの下側より接触により供給した。フィルターを介し、通気した。本方法は、抗体等の組換えタンパク質の製造に有効である。ヒト酵素遺伝子を有する組換えタバコによる α-1,4 ガラクトース転移酵素生産を示した。	日・メビオール	153
治療薬	クロレラウイルス由来ヒアルロン酸合成酵素(cvHAS)、UDP-グルコースデヒドロゲナーゼ(Ugd)、グルタミン:フルクトース-6-リン酸アミドトランスフェラーゼ(GFAT)	タバコ	ヒアルロン酸: cvHAS、Ugd および GFAT を連結した三重遺伝子を導入した形質転換タバコでは、ヒアルロン酸生産量が著しく向上した。	日・東洋紡	154

区分	導入遺伝子	作物	生産物・機能及び特徴等	研究・開発園	文献
治療薬	シアノピリンN(抗ウイルス薬)	タバコ	シアノピリンN(抗ウイルス薬)：根からの分泌は、組換え植物での組換えタンパク質生産にとって魅力ある技術である。しかしながら、今までの手法による植物由来の医療用組換えタンパク質の収量は、商業化の上では非常に低かった。そこで、3種のGMタバコ、2種の単クローン抗体(Guy's 13及び4E10)と抗ウイルス作用を示す低分子ペプチド、シアノピリンNを生産するタバコを水耕栽培し、根からの分泌を調べた。植物成長調節物質ナフタレン酢酸の添加により、根からの分泌量が増加した。それぞれの24時間の根の乾燥重量あたりの最大分泌量は、58 µg/g (Guy's 13)、10.43 µg/g(4E10)、766 µg/g (cyanovirin-N)であり、これらは今まで報告された中で最も高い値であった。植物成長調節物質インドール酢酸、6-ベンジルアミノプリン、カイネチンも Guy's 13 の分泌量を増加させた。植物成長調節物質の作用は異なっており、ナフタレン酢酸とインドール酢酸は水耕栽培した植物の根の乾燥重量を増加させ、6-ベンジルアミノプリンとカイネチンは、根のバイオマスに影響を与えずに、根からの分泌量を増加させた。水耕液あるいは植物の葉から精製した MAb Guy's 13 の糖鎖付加様式を比較した結果、同様の高マンノース型糖鎖であった。収穫時の水耕液を分析した結果、葉のエキースと比較して低濃度で少ない量のタンパク質分解酵素、他の IgG と同様に精製前の Guy's 13 IgG に高い割合で含まれる、が含まれていた。水耕液は、直接アフィニティクロマトグラフィー精製にかけることが出来、簡便で迅速な高純度 Guy's 13 IgG 生産が可能であった。さらに、閉鎖系施設における制御された組換え植物による医療用タンパク質生産及び組換えタンパク質の品質と精製の遊離な点を示した。	英・ St. George's Hospital Medical School, University of London	155
治療薬	ヒト α-L-イズロニダーゼ、Abscisic Acid Insensitive3 (CnABI3、アラスカヒノキ由来)、アルセリン 5-2 遺伝子 5'フランキンギン、シグナルペプチド、3'フランキンギン(サイヤインゲン由来)	タバコ	ムコ多糖症治療薬、イズロニダーゼ遺伝子のみでの導入では生産量が低いが、CnABI3 の共発現により、特に ABA 存在下において生産量が増加し、さらに、ER 移行シグナルペプチドの不可により、生産量が増加した。	加・ Simon Fraser University	156
治療薬	ヒトアセチルコリンエステラーゼ(AChE)	タバコ	ヒトアセチルコリンエステラーゼ(AChE)：有機リン系神経毒、化学兵器中毒の治療薬。発現カセットおよび精製法を最適化してタバコで生産させた AChE は、ほ乳動物由来の AChE と同様の酵素活性を示し、さらに、甚だしくひどい有機リン系神経毒中毒の臨床症状を完全に緩和することが出来、長時間有効であった。	米・ Arizona State University	157
治療薬	GDP-D-マンノース-4,6-脱水酵素(GMD)	タバコ(ウイルスベクター)	植物型糖鎖付加の抑制：キュウリモザイクウイルス(CMV)ベクターを用いたウイルス誘導ジーンサイレンシング(VIGS)法により GMD 遺伝子ノックダウンを試みた。GMD 遺伝子の一部を CMV ベクターに導入して GMD 遺伝子抑制用のウイルスベクターを構築し、タバコへ感染し糖鎖へのフコース修飾の抑制を試みた結果、フコース修飾が削除された糖鎖の増加およびフコース修飾糖鎖の減少が観察された。	日・産総研	158
治療薬	酸性線維芽細胞成長因子	タバコ、ダイズ、シロイヌナズナ(CMV)	aFGF：細胞分裂誘起、血管新生	日・産総研	159
治療薬	ヒトブチルコリンエステラーゼ(BChE)	タバコ(TMVも含む)	ヒトブチルコリンエステラーゼ(BChE)：有機リン系神経毒、化学兵器中毒の治療薬。タバコで BChE を生産するため、アグロバクテリウムによる形質転換、2種の組換え植物ウイルス(TMV/MagniCON およびインゲン黄萎ウイルス：EPEPE)感染による一時的タンパク質発現システムを比較した。	米・ Arizona State University	160
治療薬	クロレラウイルス由来ヒアルロン酸合成酵素(cvHAS)、UDP-グルコースデヒドロゲナーゼ(Ugd)、グルタミン：フルクトース-6-リン酸アミドトランスフェラーゼ(GFAT)	タバコ(培養細胞)、ジャガイモ、ニンジン	ヒアルロン酸：タバコ BY-2 細胞におけるヒアルロン酸大量生産のため、cvHAS、Ugd、GFAT を連結した三重遺伝子を導入し、ヒアルロン酸生産能の顕著な向上を確認。さらに高生産ラインの生産するヒアルロン酸は、cvHAS 導入系統に比べて高い分子量を有することを確認。ジャガイモ、ニンジンの形質転換体を作出した結果、CaMV35S プロモーターで駆動される cvHAS の導入系統にヒアルロン酸生産能が認められた。	日・東洋紡、奈良先端大、かずさDNA研究所	161
治療薬	ヒアルロン酸合成酵素(クロレラウイルス由来)、グルタミン：フルクトース-6-リン酸アミドトランスフェラーゼ(GFAT)、UDP-グルコースデヒドロゲナーゼ(クロレラウイルスおよびシロイヌナズナ由来)	タバコ(培養細胞)	ヒアルロン酸：化粧品素材、医療用途、健康食品としての利用	日・東洋紡	162
治療薬	マウスインターロイキン12(mIL-12)	タバコ(毛根培養)	(mIL-12)：タバコ毛根培養による mIL-12 生産スケールアップのため、フラスコでの振とう培養、ミストリアクター、エアリフトリアクターでの培養を検討した結果、フラスコでの振とう培養が最も新鮮重量、mIL-12 生産量が高く、毛根中の含量 76.2 µg/g 新鮮重、培地中の濃度 167.6 µg/L であった。	米・ Arkansas State University	163
治療薬	ヒトインスリン様成長因子1(human Insulin like Growth Factor-1)+黄色ブドウ球菌 Z-タグ	タバコ(葉緑体)	ヒトインスリン様成長因子1(human Insulin like Growth Factor-1)：形質転換葉緑体は組換えタンパク質生産、特に高レベルのタンパク質発現と適切な高次構造形成の実施に有効なバイオリアクターである。葉での治療用タンパク質生産は、生体構造の排除により導入遺伝子の汚染に備えている。本研究では、ヒトインスリン様成長因子1(IGF-1s)を形質転換葉緑体で発現させ、同一性と機能調べた。合成 IGF-1s 遺伝子は、大腸菌で発現したが、ウエスタンブロット解析では本来の IGF-1s 産物が確認できなかった。PCR によりタバコ葉緑体への導入遺伝子の部位特異的挿入を確認した。サザンブロット解析により形質転換系統は同質細胞質であることを確認した。形質転換系統は、総可溶性タンパク質(TSP)の 11.3%の IGF-1s を発現した。IGF-1n 植物体は 9.5%TSP の IGF-1n を生産し、葉緑体の翻訳機構は、大腸菌のコード優先や使用よりも順応性があることを示唆した。IGF-1 の発現は、葉緑体の光制御因子により、連続光かで最高 32%TSP まで増加した。IgG-Sepharose アフィニティカラムクロマトグラムにより葉緑体由来の IGF-1 タンパク質を含む Z-ドメインを分離し、一次元、二次元電気泳動及び質量分析の結果、ヒト IGF-1 との同一性が確認された。アクリルアミドゲル電気泳動で分析した二つのスポットは、ヒト IGF-1 及び黄色ブドウ球菌 Z-タグと同じ正しいアミノ酸配列を示した。ヒト HU-3 細胞を用いた細胞増殖試験において、葉緑体由来の IGF-1 は黄色ブドウ球菌由来 Z-タグを有するにも関わらず細胞増殖活性を示した。以上より、葉緑体で発現させた IGF-1 は本来の IGF-1 と同一性を持ち、完全に機能することが示された。	米・ University of Central Florida	164
治療薬	アプロチニン	タバコ(葉緑体)	aprotinin：セリンプロテアーゼ阻害薬、心臓血管外科等での手術における血液、体液等の漏出防止	仏・ Bayer BioScience	165

区分	導入遺伝子	作物	生産物・機能及び特徴等	研究・開発国	文献
治療薬	ヒトカルシトニン	タバコ培養細胞 BY-2	ヒトカルシトニン: 変形性関節症において軟骨保護作用を示し、骨痛に対し鎮痛作用を持つ。植物用発現ベクター-pCambiaにクローン化したカルシトニン遺伝子を組み込み、細菌の選抜マーカーはカナマイシン耐性、植物での選抜はハイグロマイシンとし、アグロバクテリウム・ツメファシエンス C58C1 を形質転換し、植物の形質転換に用いた。	ヨルダン・University of Jordan	166
治療薬	ヒトインターフェロン α	トマト	ヒトインターフェロン α : メロン由来セリンプロテアーゼ「クミン」の異変特異的発現機構を転写レベルで解析した。また、クミン遺伝子プロモーターを利用して、ヒトインターフェロン α を発現する形質転換トマトを作製し、導入遺伝子の存在を確認	日・神戸大	167
治療薬	ヒトグルコセレブロンダーゼ、 α -ガラクトシダーゼ	ニンジン(細胞培養)	high-mannose lysosomal enzymes: リソソーム蓄積症治療薬、ニンジン培養細胞で生産された酵素が、Man/GlcNAc レセプターを介し、標的マクロファージに取り込まれ、機能していることを確認、マウスへの投与では、最高濃度においても副作用は認められなかった	イスラエル・Protalix Ltd.	168
治療薬	アグロバクテリウム・リゾジェネシス T-DNA, GUS, NPTII	ラッカセイ	レスベラトロール: レスベラトロールの効率的生産のため、Ar15834 を感染させ、ラッカセイ毛状根を誘導した。	韓・Seoul National University	169

表 12. 2007-2009 年に公表・出版された薬用及び環境浄化用 GM 植物に関する論文等 (診断薬・試薬: 7 件)

区分	導入遺伝子	作物	生産物・機能及び特徴等	研究・開発国	文献
診断薬・試薬	詳細不明	イネ	細胞培養成分: 細胞培養に必須の成分をイネで生産	米・Ventria Bioscience	170
診断薬・試薬	セルラーゼ E1(放線菌由来)、exocellobiohydrolase cbh1(糸状菌由来)、dextranase(連鎖球菌由来)、 β -glucosidase(嫌気性陽性桿菌由来、反芻胃内細菌由来)、ligninase(担子菌由来)、xylanase(糸状菌由来)、Flowering Locus C (FLC)	イネ、タバコ、トウモロコシ	タンパク質は、葉緑体またはアポプラストに蓄積させるため、ルビスコモルサブユニットのシグナルペプチドやタバコの感染特異的蛋白質 1a を利用、粉砕した GM 植物は、植物材料のリグノセルロースを発酵可能な糖に分解できる、バイオマス増加のため、花成を遅延させる Flowering Locus C (FLC) 遺伝子も導入している	米・ミシガン州立大学	171
試薬・診断薬	ウシアプロチニン、トウモロコシシスタチン II	ジャガイモ	ウシアプロチニン、トウモロコシシスタチン II: SELDI-TOF MS による植物中で発現する低分子量の組換えタンパク質の迅速な検出、定量法を記載する。アグロバクテリウム法により、臨床上有用なタンパク質、ウシアプロチニンやシステインプロテアーゼ阻害剤トウモロコシシスタチン II を発現する形質転換ジャガイモ系統を作り出し、分析サンプルとした。はじめに、それらのタンパク質を異なる細胞画分に蓄積する形質転換ジャガイモ系統を、RT-PCR 法及び免疫ブロットング法により解析した。両方のタンパク質とも、それらの細胞内での最終的な行く先と、導入遺伝子の発現率により、異なったレベルで葉に蓄積された。標準の免疫検出によるこれらの結果は、弱い隣イオン交換活性をもつタンパク質バイオチップ上に固定した非組換え及び組換え系統の葉のタンパク質プロファイルで SELDI-TOF MS で比較解析することにより、容易に確かめられた。本手法は、2 時間以内で実施でき、形質転換植物体系中の組換えタンパク質レベルを迅速に比較できる。固定化されたタンパク質の分子量は、マスペクトルから直接決定可能であり、本手法は、植物中のタンパク質の完全性や同質性を簡単に調べ、これらの異種タンパク質の生産のために適した細胞画分の同定を行うことが出来る。	加・Universite Laval	172
試薬・診断薬	α -アミラーゼ	植物	α -アミラーゼ: 今回、公開する内容は、デンプン加水分解パターンが異なっている少なくとも 2 クラスの α -アミラーゼ酵素を利用してデンプンを液状化する過程を提供する。少なくとも 1 クラスの酵素は、少なくとも 1 クラスの α -アミラーゼを発現する形質転換植物の形態で、あるいはそれから精製されたまたは一部精製された形態で、液状化過程に供される。第 2 のあるいは続くクラスの α -アミラーゼは、それらの酵素を発現する別の形質転換植物の形態で、あるいはそれから精製または一部精製された形態で供される。	米・Syngenta	173
試薬・診断薬	プロテアーゼ阻害タンパク質	植物	組換え異種タンパク質の安定化: 形質転換植物組織から抽出した臨床上有用なタンパク質の安定化剤として組換えプロテアーゼ阻害剤を使用する一般的な方法について記載する。方法の最初は、形質転換植物からの粗抽出物中の異種タンパク質全体の安定性/不安定性を調べる方法を記載する。そして、抽出中の宿主植物のプロテアーゼを防ぐ同伴プロテアーゼ阻害剤の選択と使用を段階的な手法で示す。この戦略では、しばしばタンパク質抽出溶媒に添加される低分子量のタンパク質安定剤の効果を再現でき、高価でしばしば毒性をもつそのような阻害剤の外からの添加を必要としない。また、バイオマス工程による生産量の本質的なスケールアップについても優位である。	加・Universite Laval	174
診断薬・試薬	ヒトメタロチオネイン	植物	ヒトメタロチオネイン: オイルポティンタンパク質との融合タンパク質として生産	中・Jilin Agricultural University	175
診断薬・試薬	プレプロキモシン	植物(種子)	プレプロキモシン: キモシン商業生産のための植物種子での発現方法について記載。この手法では、少なくとも全種子タンパク質の 0.5% をキモシンが占める。また、種子からのキモシン単離の改良法、プレプロキモシンキメラ遺伝子を搭載した植物用形質転換ベクターについても記載。	加・Sembiosys Genetics Inc.	176

表 13. 2007-2009 年に公表・出版された薬用及び環境浄化用 GM 植物に関する論文等（環境浄化：26 件）

区分	導入遺伝子	作物	生産物・機能及び特徴等	研究・開発国	文献
環境浄化	変異型シロイヌナズナ亜ヒ酸トランスポーター [NIP (Nodulin intrinsic protein) 1: 1]	イネ	亜ヒ酸耐性: シロイヌナズナの亜ヒ酸トランスポーターとして MIP (Major intrinsic protein) ファミリーに属する NIP (Nodulin intrinsic protein) 1: 1 を同定した。シロイヌナズナ内在性 NIP 1: 1 遺伝子の全部又は一部が、欠損・置換・付加などにより変異し、該タンパクの発現又は機能が失われている亜ヒ酸耐性トランスジェニック植物を作出する。NIP 1: 1 タンパク質は、そのアミノ酸配列とそれらのアミノ酸配列をコードするゲノム及び cDNA 配列により具体的に示される。NIP 1: 1 遺伝子あるいはそのホモログは、亜ヒ酸吸収性又は蓄積性が減少した亜ヒ酸耐性の形質転換植物作製のために突然変異を誘起される。亜ヒ酸耐性獲得のために形質転換される植物としてイネを請求する。	日・科学技術振興機構	177
環境浄化	高親和性イネリン酸トランスポーター (OsPT1)	イネ	土壌、水中のリン酸含量を低下: 本発明は、高親和性イネリン酸トランスポーター-OsPT1 の過剰発現過程を提供する。イネ OsPT1 の cDNA 配列が開示された。OsPT1 を過剰発現するイネは、分げつ、穂長、増加した穂数等の形態的特徴を示した。OsPT1 の過剰発現は、形質転換植物においてリン酸の吸収を改善した。本発明の方法により、土壌、水中のリン酸含量を低下させる生物による環境浄化に利用し得る。	韓・Dong-A University & Research Foundation for Industry-Academy Cooperation	178
環境浄化	イネリン酸輸送体 2 (OsPT2)	イネ	リン酸吸収の向上: 本発明はイネリン酸輸送体 2 (OsPT2) 遺伝子の PCR 法による全長クローニング及びリン酸吸収・輸送のための本遺伝子によるイネ形質転換に関する。本形質転換植物は、非形質転換植物よりもはるかに早いリン酸吸収速度を示す。	中・Huazhong Agricultural University	179
環境浄化	不明	カラシナ	不明: 鉢植え植物を用いた試験で、組換えにより重金属を蓄積するようになった植物は、重金属耐性をもち、土壌中のクロムを茎葉部に蓄積した。	印・Jawaharlal Nehru Technological University	180
環境浄化	ヘビノコザとの交差または細胞融合	シダ植物	土壌中の重金属除去	日・電力中央研	181
環境浄化	LEA (late embryogenesis abundant protein)、aquaporins、Cation-efflux transport proteins	シバ	乾燥耐性、重金属耐性	中・China University of Mining and Technology	182
環境浄化	亜硝酸還元酵素 (シロイヌナズナ由来)	シャリンバイ	二酸化窒素同化、大気中窒素酸化物の減少	日・科学技術振興機構	183
環境浄化	1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) 脱アミノ酵素	植物	植物のストレスに関連の深いエチレンレベルを導入遺伝子で下げることにより、ストレス耐性植物を作出	加・University of Waterloo	184
環境浄化	CDR1、CDR2 (タバコ由来)	植物	活性酸素除去、重金属耐性、耐塩性向上	日・日本製紙	185
環境浄化	LinA (γ-HCH デヒドロクロリナーゼ、Sphingomonas paucimobilis リグニン由来芳香族化合物の分解菌由来)	植物	土壌中の γ-ヘキサクロロシクロヘキサン (γ-HCH、リンダン、昔殺虫剤として使用された) 分解	西・Instituto Nacional de Tecnica Aeroespacial "Esteban Terradas"	186
環境浄化	液胞ピロホスファターゼ	植物	Vacuolar pyrophosphatase (AVP1): 耐塩性、土壌中リン取り込み量増加	米	187
環境浄化	多剤排出型輸送体 (MATE: Multidrug And Toxin Extrusion) タンパク質 (オオムギ由来)	植物	MATE タンパク質: オオムギ由来 MATE 導入により、アルミニウム誘導性のクエン酸輸送が活性化。	日・岡山大学	188
環境浄化	鉄輸送タンパク質 (ヘビノコザ由来)	植物	土壌中のカドミウム除去	日・電力中央研	189
環境浄化	ヒ酸還元酵素 (ACR2、植物由来)、フィトケラチン生合成酵素	植物	ヒ酸還元酵素 (ACR2、植物由来) 導入により、重金属耐性あるいは重金属を蓄積しない GM 植物の作出について記載。また、ヒ酸還元酵素 (ACR2、植物由来) - 植物発現調節配列 - 微生物由来フィトケラチン生合成酵素による GM 植物の作出についても記載。	米・マサチューセッツ大学	190
環境浄化	亜硫酸酸化酵素	植物	亜硫酸酸化酵素の改変による二酸化硫黄耐性植物または感受性植物の作出: 亜硫酸塩生合成化合物の除去、殺菌剤としての利用または二酸化硫黄生成物質のモニタリング	イスラエル・Yeda Research and Development Co. Ltd.	191
環境浄化	エンハンサー Ac/Ds トランスポゾン	シロイヌナズナ	土壌中のポリ塩化ビフェニル (PCBs) 除去 (アクチベーションタグにより、特定の遺伝子の機能を強化した組換え体を作成し、PCBs 分解能が向上した植物体を得る)	日・麻布大学	192
環境浄化	リグニン分解酵素 (白色腐朽菌由来)	シロイヌナズナ	白色腐朽菌由来リグニン分解酵素遺伝子の導入により、土壌中のポリ塩化ビフェニル (PCBs) を除去する植物を作出	日・麻布大学	193
環境浄化	細菌由来ヒ酸還元酵素、グルタミルシステイン合成酵素	シロイヌナズナ	土壌及び水中のヒ素の除去: ヒ素は甚大な健康被害を引き起こす環境汚染物質である。植物による環境浄化は土壌あるいは水中のヒ素汚染を和らげる解決法であろう。ヒ素は環境中で主に亜ヒ酸塩 [As(III)] またはヒ酸塩 [As(V)] として存在する。植物体内で、電子供与体であるチオレドキシニンあるいはグルタレドキシニンの補助により、ヒ酸還元酵素はヒ酸塩を亜ヒ酸塩に還元する。引き続き、亜ヒ酸塩は植物液胞中に貯蔵される。例えば細菌由来ヒ酸還元酵素とグルタミルシステイン合成酵素を有するシロイヌナズナ形質転換体は非形質転換体と比べ新鮮重量当たり 2 倍から 3 倍のヒ素を貯蔵する能力を持つ。より高いヒ素蓄積能力をもつ形質転換体作出のための基盤整備のため、植物におけるヒ素取り込み機構の機構解明が必要である。	米・Baylor University	194
環境浄化	多剤耐性関連タンパク質 (MRP) (FeMPR3、ソバ由来)	シロイヌナズナ	FeMPR3: FeMPR3 導入植物は、選択的に鉛を蓄積したが、カドミウムや酸化クロムは蓄積しなかった。この植物は土壌中の重金属除去に有効である。	日・中部電力 & 三重大学	195
環境浄化	Bowman-Birk プロテアーゼインヒビター (GJB1、オウレン由来)	シロイヌナズナ、タバコ	土壌中のカドミウム及び有害有機化合物除去	日・京都大学	196

区分	導入遺伝子	作物	生産物・機能及び特徴等	研究・開発国	文献
環境浄化	クエン酸合成酵素(タバコ由来)	タバコ	クエン酸・クエン酸合成酵素産物のクエン酸は、細胞内、根から土壌中に放出されて土壌中のアルミニウムイオンとキレートを生成し、高レベルのアルミニウムの毒性を軽減する。光誘導性プロモーター(ルビスコスモールサブユニット)による酵素タンパク質の発現は、非組換え植物の1~1.5倍で、GM植物はより多くの有機酸を放出し、根の生育も良く、100~300μMのアルミニウムストレス下でも耐性を示した。	中・昆明理工大学	197
環境浄化	白色腐朽菌由来ラッカーゼ	タバコ	白色腐朽菌由来ラッカーゼ(scL): scLのcDNAのCpG-ジメチル化サイトを12%に低下させたscK12遺伝子をタバコに導入したところ、scL導入植物および野生型植物に比べて高いラッカーゼ活性が認められ、トリクロロフェノールを除去することが出来た	日・静岡大	198
環境浄化	細菌由来無機水銀還元酵素(merA and merB)	タバコ(葉緑体)	水銀除去、組換え体は、非組換え体と比べて100倍の水銀耐性を示し、無機水銀、有機水銀どちらに対しても耐性を示した	米・University of California	199
環境浄化	リン酸飢餓応答転写因子 PHR1(シロイヌナズナ由来)	トレニア	水中のリン酸イオン除去	日・サントリー	200
環境浄化	アグロバクテリウムトリプトファンモノオキシゲナーゼ(iaaM)、1-アミノシクロロパンテアミナーゼ(ACC)	ベチュニア、タバコ	重金属耐性: 木部特異的高グリシンタンパク質プロモーター制御下で iaaM 遺伝子を単独導入あるいは CaMV35S プロモーター制御下の ACC 遺伝子共に導入した植物を作出した。両方の遺伝子を発現させたベチュニアは 7.5mg/l の CoCl ₂ 存在下でも発根した。形質転換タバコ TI 植物は、Cu ²⁺ および Co ²⁺ を含む砂で生育し、部位特異的プロモーターで両方の遺伝子を発現させたタバコの方が生育が早く、バイオマスも増大し、より多くの重金属を蓄積した。また、この植物は、無機環境汚染物質だけでなく、有機環境汚染物質存在下でも生育が可能であった。	中・The Chinese Academy of Sciences	201
環境浄化	細菌由来ニトロレダクターゼ(pnrA)、フラボプロテインゼノバイオティックレダクターゼ(xenB)、N-メチルマレイミドレダクターゼ(nemA)	ポプラ、カバノキ	2,4,6-トリニトロトルエン(TNT)除去: 本発明は、芳香族ニトロ化合物、望ましくは 2,4,6-トリニトロトルエン(TNT)を土壌及び地下水から除去する経済的及び環境的に敬意を示される代替方法に貢献する。形質転換植物がこれらの化合物の除去に使用される。本法は、Pseudomonas putida 由来の pnrA、xenB 又は nemA、あるいは大腸菌の nemA 遺伝子が恒常的に発現する CaMV プロモーター制御下発現した形質転換ポプラ及びカバノキを使用することを含む。これらの遺伝子の発現は改善した TNT 耐性を木に付与し、これらの木が土壌あるいは地下水から TNT を除去する能力を増大させる。植物は TNT を抽出し、無毒化する。汚染された地域の浄化は、汚染した土壌またはその近傍での、これらの形質転換植物の栽培で達成され得る。これらの形質転換植物は酷く汚染された地域を回復させ得、このように、組換え植物は、汚染試薬の除去することで生育が阻害されることなく生育出来、浄化された土地は地域の植物相で再構成され得る。	西・Consejo Superior Investigaciones Cientificas	202

表 14. 2007-2009 年に公表・出版された薬用及び環境浄化用 GM 植物に関する論文等 (国別集計)

国名	機能性食品・嗜好品	経口ワクチン	食用医薬	ワクチン抗原	抗体医薬	治療薬	診断薬・試薬	環境浄化	合計
米国	12	9		13	3	10	3	4	54
カナダ		1		1	1	1	3	1	8
キューバ					1				1
英国	1				3	1			5
フランス		1				1			2
ドイツ	6				3	1			10
オーストリア					2				2
オランダ					1				1
ベルギー					1				1
イタリア		1			1	1			3
スペイン	1	1		1	1			2	6
フィンランド						1			1
スウェーデン		1							1
ヨルダン						1			1
イスラエル						1		1	2
南アフリカ				1					1
インド								1	1
オーストラリア	1								1
韓国	2	4		1	1	3		1	12
台湾	1								1
中国	12	4	1	1	1	2	1	4	26
日本	19	10	13	2	1	10		12	67
合計	55	32	14	20	20	33	7	26	207
実数	54	31	14	20	17	33	7	26	202

2カ国以上での共同開発は、別々に集計(件数より、国数の方が多い)

2カ国以上での共同研究は別々に集計したため、研究・開発件数より国数の方が多い

表 15. 2007-2009 年に公表・出版された薬用及び環境浄化用 GM 植物に関する論文等 (作物別集計)

種別	作物	機能性食品・嗜好品	経口ワクチン	食用医薬	ワクチン抗原	抗体医薬	治療薬	診断薬・試薬	環境浄化	合計
食用	アマ	1								1
	アルファルファ		1							1
	イチゴ			4						4
	イネ	6	6	6	1		1	2	3	25
	オオアラセイトウ	1								1
	オオムギ						1			1
	カラシナ								1	1
	クレソン	1								1
	コムギ	2								2
	サツマイモ	1	1							2
	サトウキビ	1								1
	ジャガイモ	1	5				1	1		8
	ダイズ	4		1			1			6
	トウモロコシ	2	1			2		1		6
	トマト	5	4			1	1			11
	ナタネ	4								4
	ニンジン(細胞含む)	1	3				2			6
	ハツカダイコン		1							1
	穀類	2								2
	油種作物	2								2
	ラッカセイ	1					1			2
	レタス	5	5	2						12
	非食用	ウキクサ					3	1		
カバノキ									1	1
ケシ							1			1
シダ									1	1
シバ									1	1
シャリンバイ									1	1
シロイヌナズナ		6	3			1	1		5	16
スウェルチア・ムソティ							1			1
ゼニゴケ							3			3
タバコ(ウイルスベクター含む)		3	3		14	8	15	1	5	49
トレニア									1	1
植物(細胞、ウイルスベクター含む)		9	3	1	5	2	7	4	8	39
ハルザキヤマガラシ		1								1
ヒメツリガネゴケ						1				1
ベチュニア		1							1	2
ポブラ									1	1
ミヤコグサ		1	1							2
レンギョウ		2								2
合計		63	37	14	20	18	37	9	29	227

複数作物を用いての研究開発は、別々に集計(件数より、作物数の方が多い)

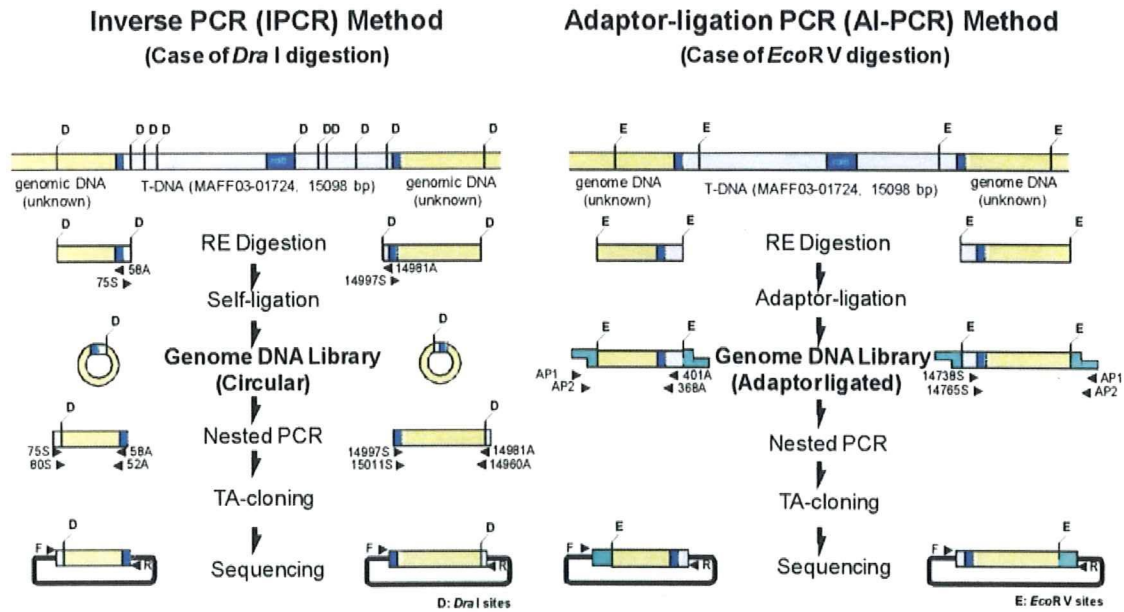


図2. ケシ形質変異体に適用した Inverse-PCR 及び Adaptor ligation PCR 法の概念図

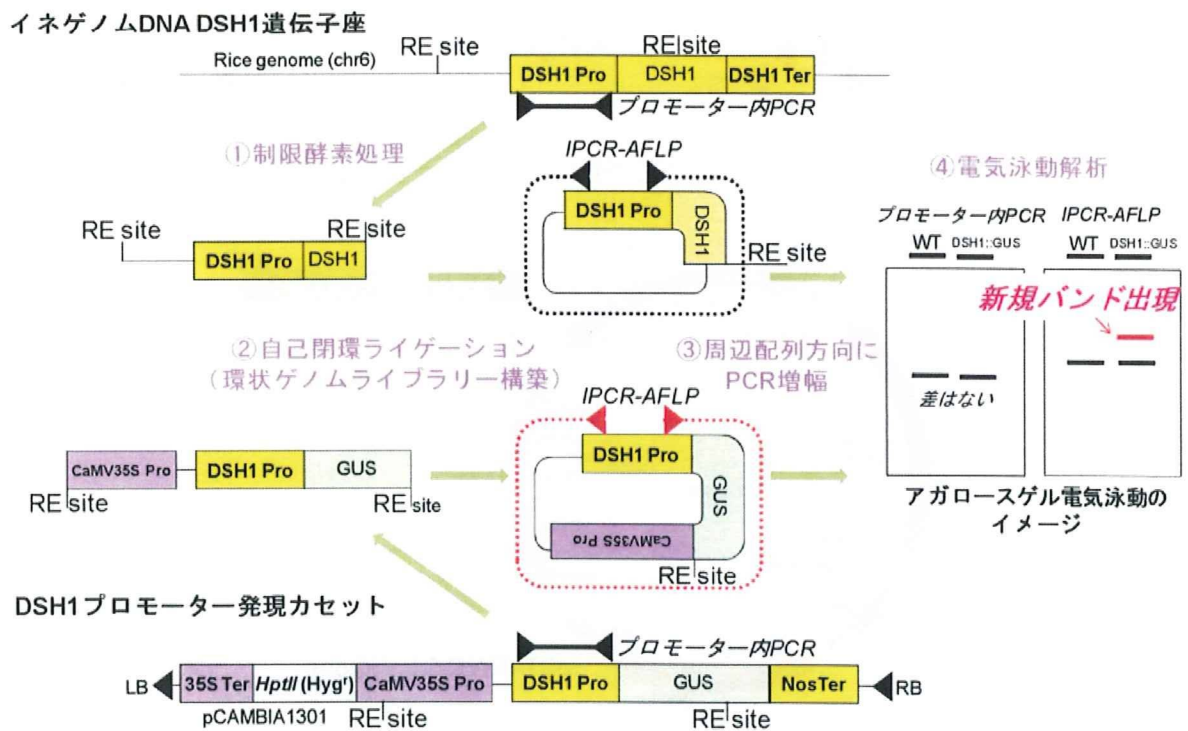


図3. IPCCR法による自家プロモーター発現系GM植物の検出

イネゲノムDNA DSH1遺伝子座



DSH1プロモーター発現カセット

レポーター(GUS)発現部位解析用

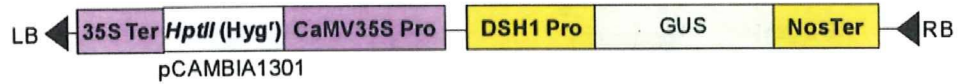


図4. DSH1::GUS riceに導入されたコンストラクト

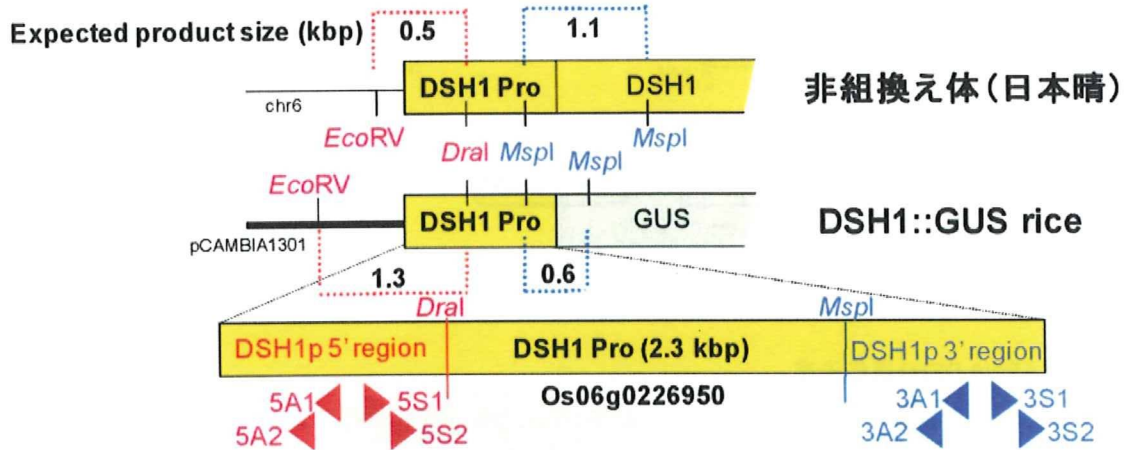
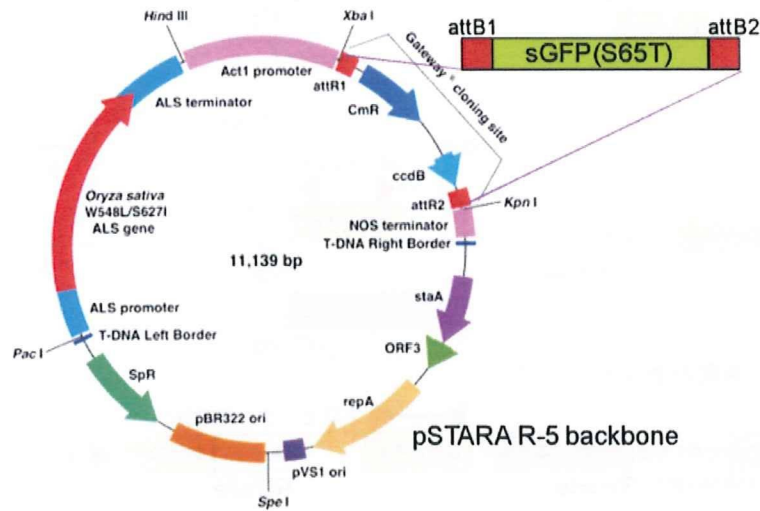


図5. DSH1プロモーター特異的プライマーの位置の概略

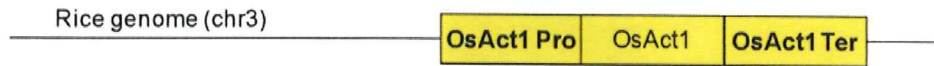


Gene map of pSTARA R-5-sGFP vector

http://www.kumiai-chem.co.jp/palselect/image/pstara_gazo08_l.gif

図6. R-5-sGFP riceの作出に使用されたR-5-sGFPベクターの構造

イネゲノムDNA OsAct1(Os03g0718100, AP008209)遺伝子座



ALS, OsAct1プロモーター発現カセット

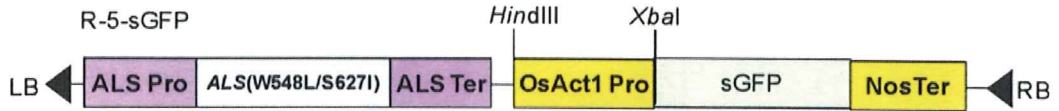


図7. R-5-sGFP riceに導入されたコンストラクト

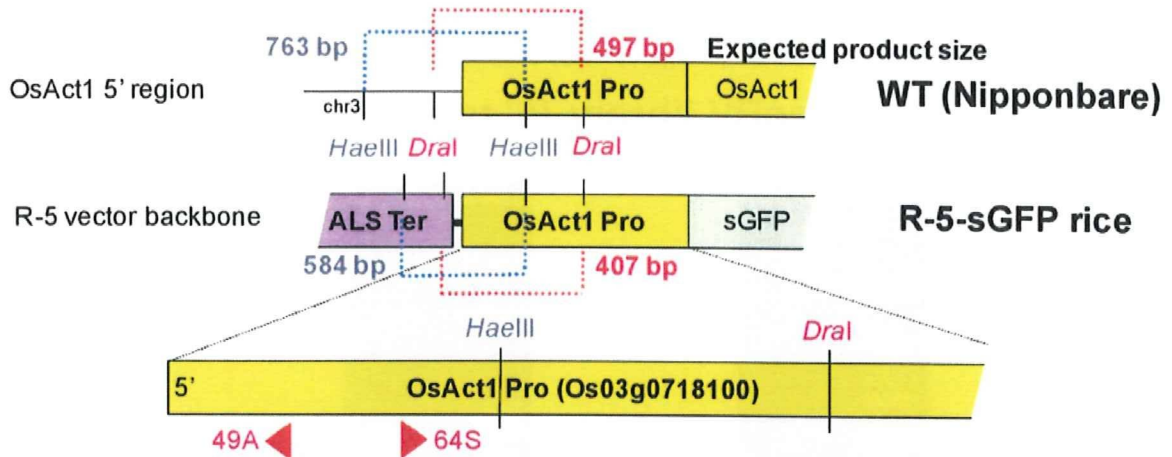
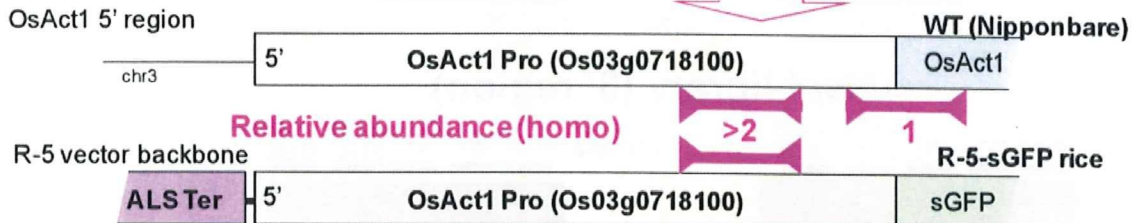


図8. OsAct1プロモーター特異的プライマー、制限酵素サイトの概略

非組換え体のOsAct1プロモーター-OsAct1遺伝子の境界部の存在比を1として、OsAct1プロモーターの存在比を求める



自家プロモーター発現系GMO: OsAct1プロモーターの存在比>2 (homo)

	OsAct1 promoter	OsAct1 border	OsAct1 coding
WT (non GM)	1	1	1
R-5-sGFP (GM)	>2	1	1

図9. Real-time PCR法を用いた自家プロモーター発現系GMO検知法の概念図

非組換え体(日本晴)

DSH1::GUS



図10. グロースチャンパーでのイネの成育 (左: 非組換え体、右: DSH1::GUS rice)

***IDraI-EcoRV* library (5' region)**



図11. DSH1プロモーター5' 領域から周辺部に対するIPCRの結果

***IMspI* library (3' region)**

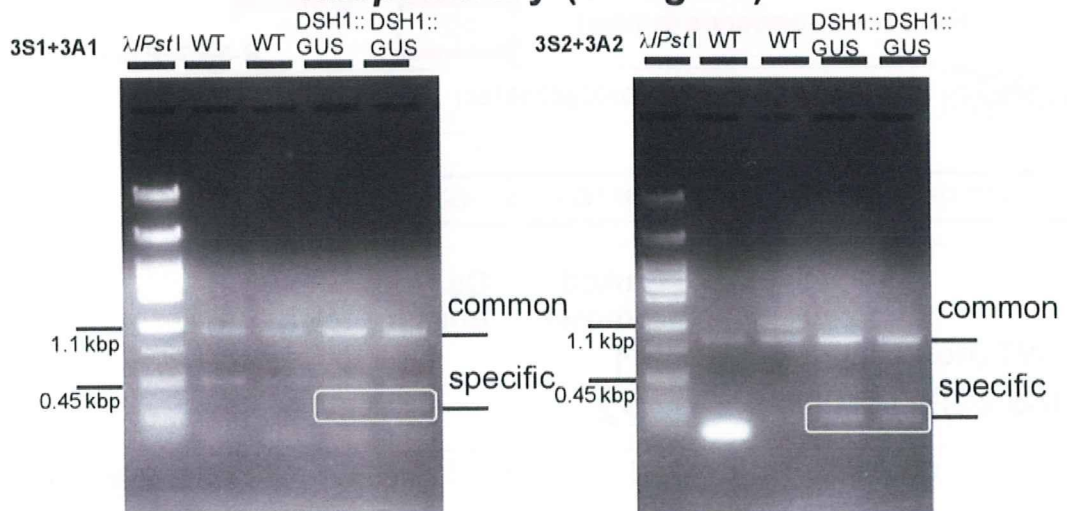


図12. DSH1プロモーター3' 領域から周辺部に対するIPCRの結果

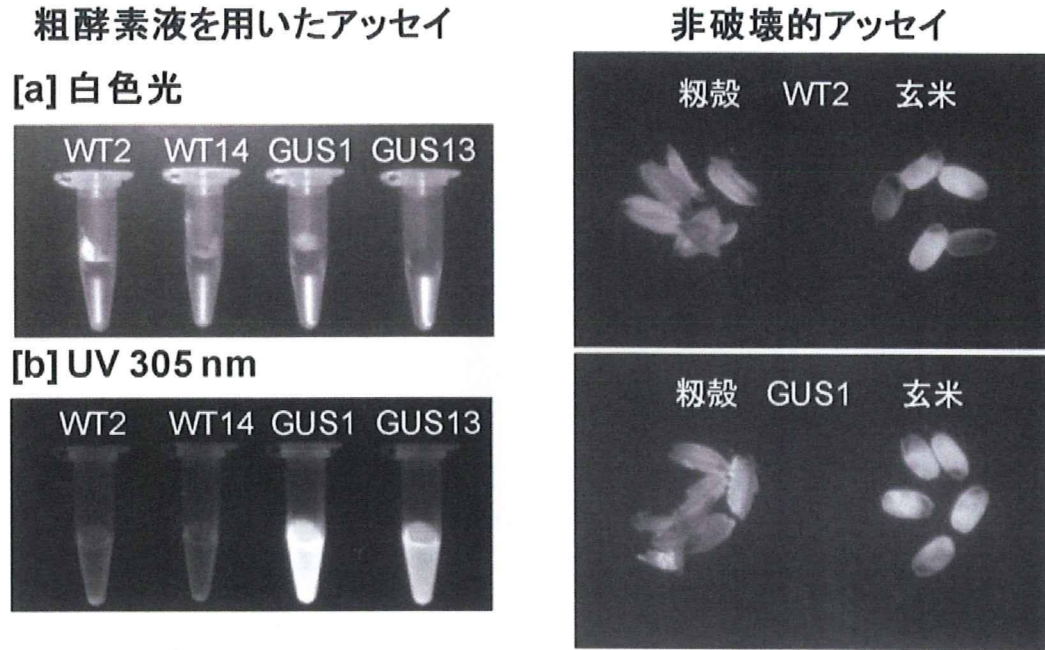


図13. 蛍光法によるGUSアッセイ

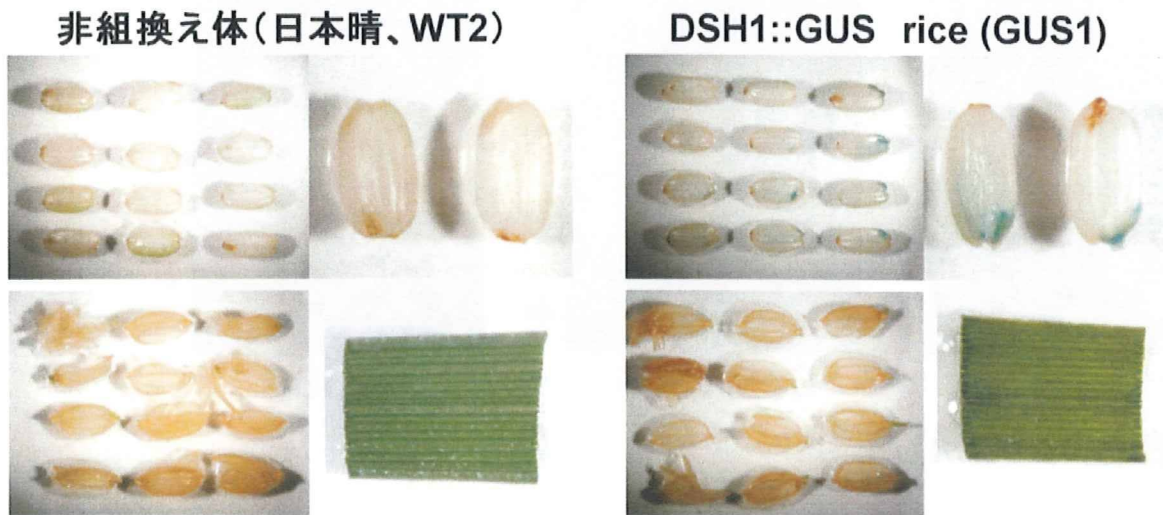


図14. 組織化学的染色法によるGUSアッセイ
 それぞれ、左上：玄米、右上：玄米(拡大)、左下：籾殻、右下：葉(切片)

DSH1プロモーター発現カセット(陽性対照として使用)

レポーター(GUS)発現部位解析用

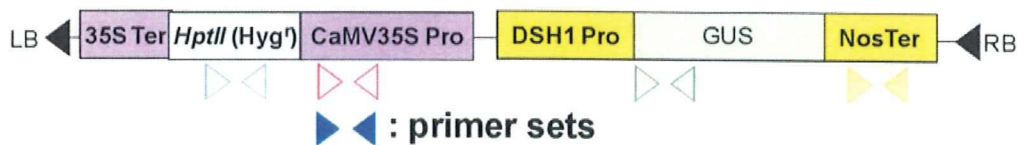


図15. 「組換えマーカー」と特異的プライマー位置の概要

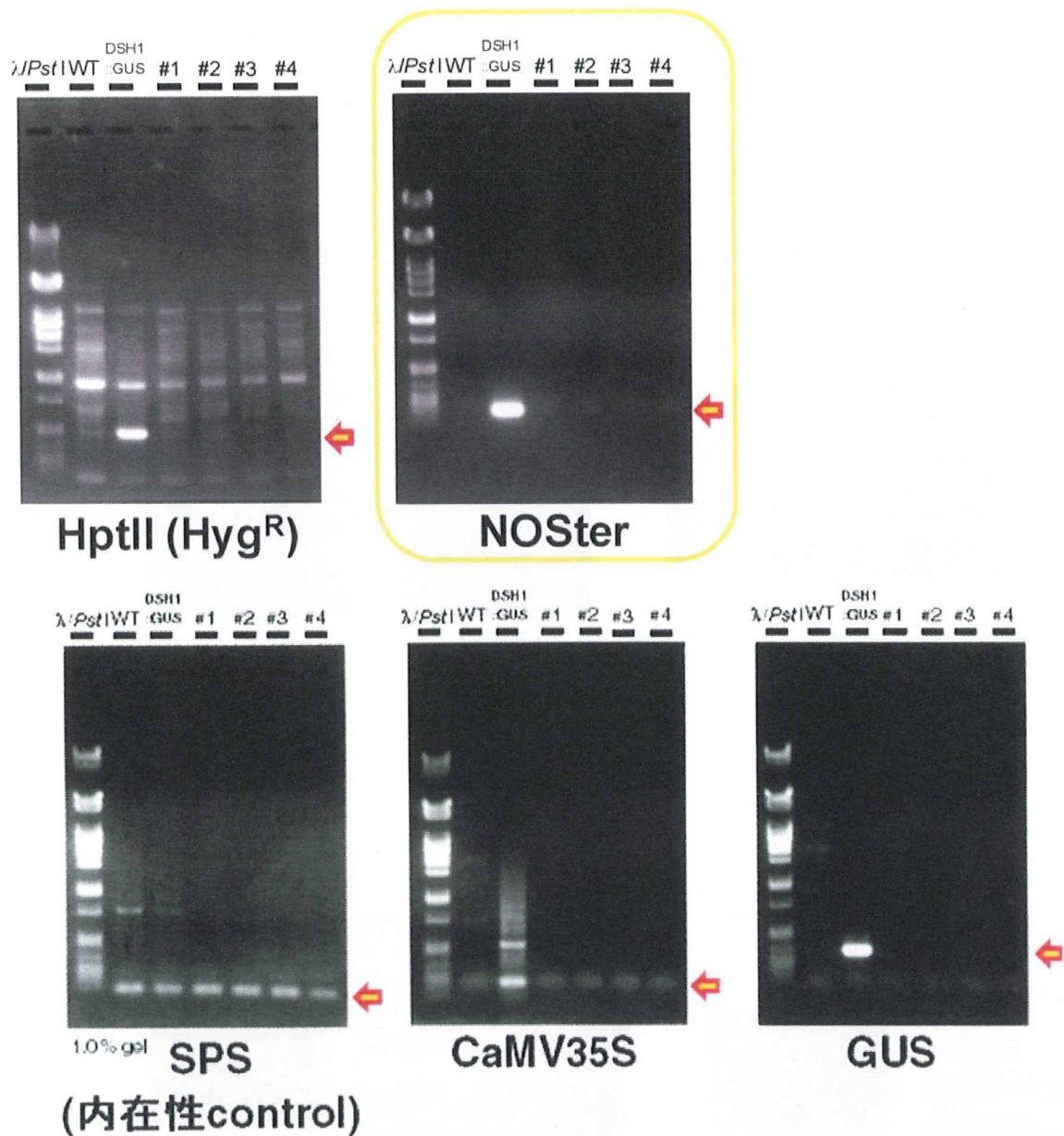


図16. 米国市場流通米をモデル試料とした「組換えマーカ」の検知結果
 左から $\lambda PstI$: マーカー、WT: 非組換え体 (日本晴)、DSH1::GUS: DSH1::GUSイネ
 (陽性対照)、#1~#4: 米国市場流通米A~D、矢印は特異的増幅産物の位置を示す

非組換え体 (日本晴)

R-5-sGFP (T1)

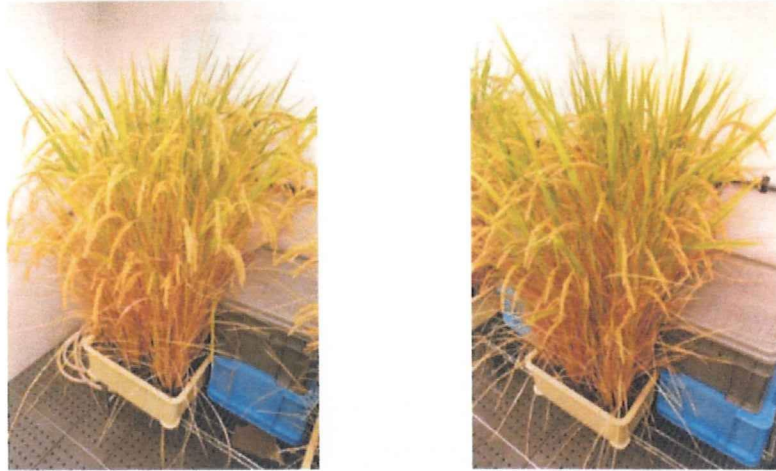


図17. グロースチャンバーでのイネの育成 (左: 非組換え体、右: R-5-sGFP rice)

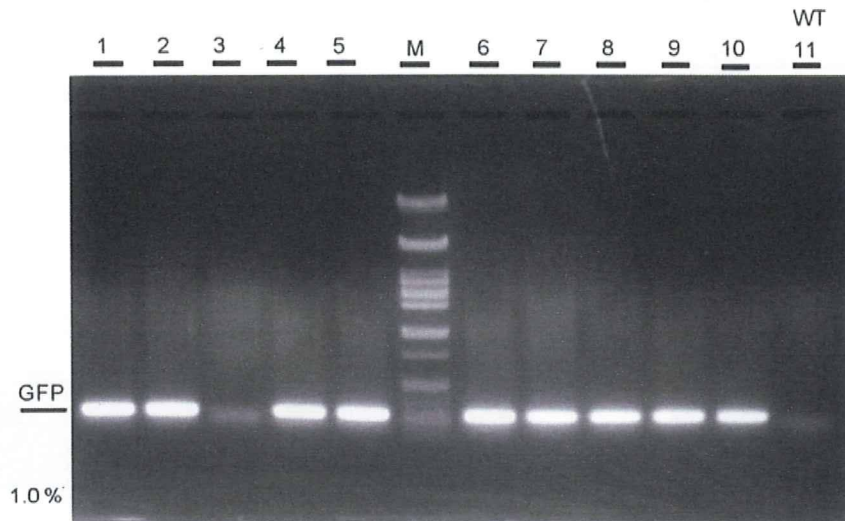


図18. R-5-sGFP rice (T₁)に対するsGFP遺伝子の検出結果
R-5-sGFP #3を除く9個体からsGFP遺伝子が検出された

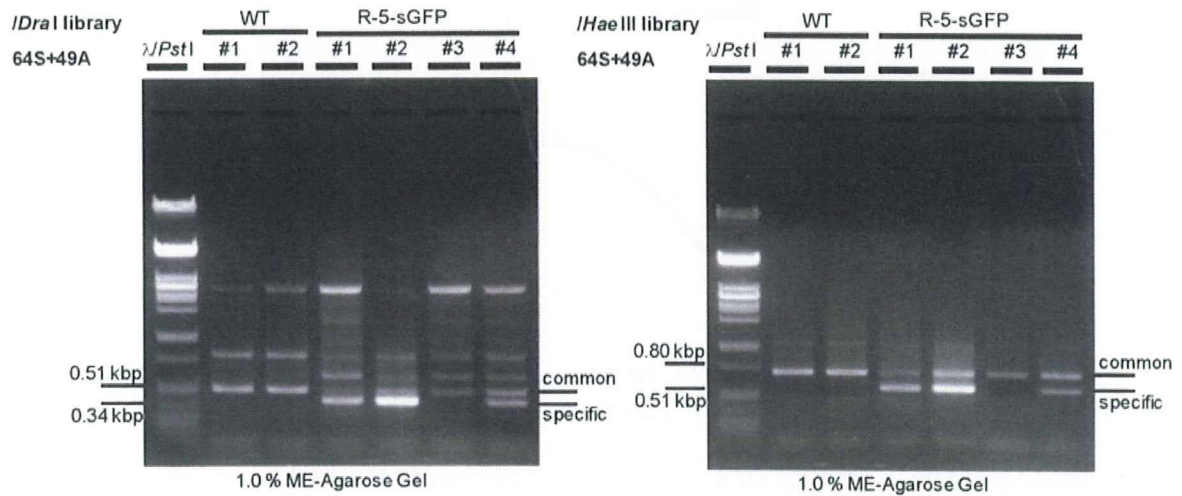


図19. OsAct1プロモーター5'領域から周辺部に対するIP-PCRの結果
左: *DraI*消化ライブラリー、右: *HaeIII*消化ライブラリー

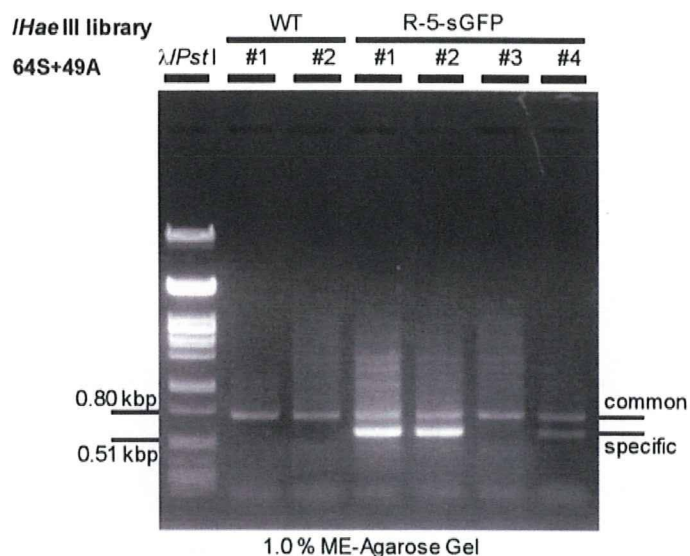


図20. コメ粉(0.5 g)を検体としたIPCR法によるGMO検知の結果

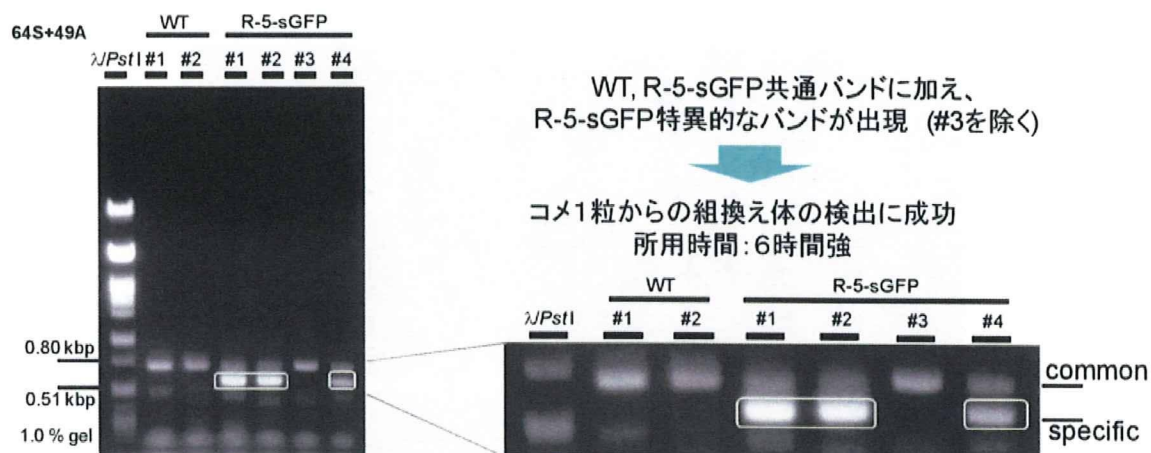


図21. コメ1粒を検体としたIPCR法によるGMO検知の結果

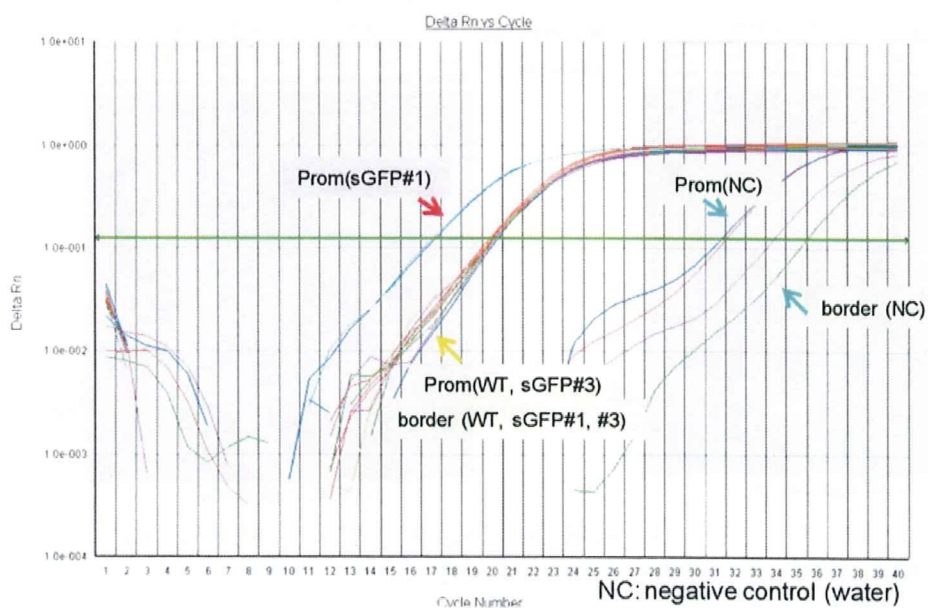


図22. Real-time PCR法による各試料の増幅曲線

表16. 非組換え体 (WT) OsAct1プロモーター領域を1として計算した
組換え体の同領域の存在比

Sample	sGFP (PCR)	Target Ct(prom)	Reference Ct(border)	Δ Ct value Ct(prom) - Ct(border)	$\Delta\Delta$ Ct value Δ Ct(GM) - Δ Ct(WT)	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	Relative Abundance (WT=1)
WT	-	19.91	20.13	-0.22	0	1	1
R-5-sGFP #1	+	17.13	20.05	-2.92	-2.70	6.49	6
R-5-sGFP #3	-	20.14	20.17	-0.03	0.19	0.88	1

R-5-sGFP #1にはWT株比6倍のOsAct1プロモーターが存在

(研究成果の刊行に関する一覧表)

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Akiyama H, Sasaki N, Sakata K, Ohmori K, Toyota A, Kikuchi Y, Watanabe T, Furui S, Kitta K, Maitani T.	Indicated detection of two unapproved transgenic rice lines contaminating vermicelli products.	J. Agric. Food Chem.	55	5942-5947	2007
Akiyama H, Nakamura F, Yamada C, Nakamura K, Nakajima O, Kawakami H, Harikai N, Furui S, Kitta K, Teshima R.	A screening method for the detection of the 35S promoter and the nopaline synthase terminator in genetically modified organisms in a real-time multiplex polymerase chain reaction using high-resolution melting-curve analysis.	Biol. Pharm. Bull.	32	1824-1829	2009
穂山浩, 佐々木伸大, 大木果林, 中村文美, 坂田こずえ, 中村公亮, 大森清美, 中島安基江, 古井聡, 橘田和美, 小関良宏, 手島玲子	PCR法を用いた米加工品の安全性未審査遺伝子組換え米の検知法.	日本食品化学会誌	16	147-151	2009
穂山浩	遺伝子組換え食品の検知法	ぶんせき	3	140-143	2009
Kim TW, Igimi S, Kajikawa A, Kim HY.	Display of heterologous proteins on the surface of <i>Lactococcus lactis</i> using the H and W domain of PrtB from <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> as an anchoring matrix.	J. Appl. Microbiol.	104	1636-1643	2008
Kajikawa A, Igimi S.	Reduction of TNF- α inducing capacity of recombinant <i>Lactobacillus casei</i> caused by the expression of <i>Salmonella</i> OmpC.	Appl. Environ. Microbiol.	75 (9)	2727-2734	2009
Kajikawa A, Masuda K, Katoh M, Igimi S.	Adjuvant effects for oral immunization provided by recombinant <i>Lactobacillus casei</i> secreting biologically active murine interleukin-1 beta.	Clin. Vaccine Immunol.	17 (1)	43-48	2010
Kajikawa A, Ichikawa E, Igimi S.	Development of a Highly Efficient Protein-secreting System in Recombinant <i>Lactobacillus casei</i> .	J. Microbiol. Biotechnol.	20 (2)	375-382	2010