

A, Hiroi T, Morita S, Tanaka K, Takaiwa F, Kiyono H.

Rice-based mucosal vaccine as a global strategy for cold-chain- and needle-free vaccination. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104, 10986-10991 (2007)

5. Wu CY, Suzuki A, Washida H, Takaiwa F. The GCN4 motif in a rice glutelin gene is essential for endosperm-specific gene expression and is activated by Opaque-2 in transgenic rice plants.

Plant J. 14, 673-683 (1998)

6. Imamura T, Kusano H, Kajigaya Y, Ichikawa M, Shimada H.

A rice dihydrosphingosine C4 hydroxylase (DSH1) gene, which is abundantly expressed in the stigmas, vascular cells and apical meristem, may be involved in fertility.

Plant Cell Physiol. 48, 1108-1120 (2007)

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Yoshimatsu, K., Kawano, N., Kawahara, N., Akiyama, H., Teshima, R., Nishijima, M.: Current status of application and commercialization of genetically modified plants for human and livestock health and phytoremediation, *YAKUGAKU ZASSHI*, 132 (5), 629-674 (2012).

2. 学会発表

1) 吉松嘉代, 河野徳昭, 川原信夫, 穉山浩, 手島玲子, 西島正弘: 非食用遺伝子組換え植物の開発・生産に関する最近の動向

日本食品化学学会第 17 回総会・学術大会 (2011. 5. 19-20, 東京)

2) 吉松嘉代, 河野徳昭, 川原信夫, 穉山浩, 手島玲子, 西島正弘: 薬用及び環境浄化用遺伝子組換え植物の開発・生産に関する最近の動向

第 29 回日本植物細胞分子生物学会 (福岡) 大会・シンポジウム (2011. 9. 6-8)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

経口ワクチン用遺伝子組換え動物の検知法開発に関する研究

研究分担者 中島治 国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部 主任研究官

研究要旨

近年、非食用モダンバイオテクノロジー応用動物が多数報告されている。これらの非食用モダンバイオテクノロジー応用動物に由来する材料の食品への混入危害防止を考える必要がある。2008-2012年に発表された非食用モダンバイオテクノロジー応用魚、ニワトリ、ブタの文献調査などを行ってそれらの開発状況を調べた。それぞれ 20 報、10 報、71 報の論文や特許が見出され、ブタについて盛んに研究が行われていることが明らかになった。非食用モダンバイオテクノロジー応用魚、ニワトリ、ブタをまとめて開発国ごとに分類すると、米国（33 報）、中国（15 報）、台湾（11 報）、韓国（11 報）、ドイツ（10 報）において報告が多かった。

また、近年では非食用モダンバイオテクノロジー動物を作成するときに Cre/LoxP システムを利用して抗生物質耐性遺伝子を除去するケースが多くなっている。そこで、LoxP 配列のみを手掛かりとして非食用モダンバイオテクノロジー動物に由来する材料を検知する方法を作成することを試みた。研究材料には LoxP 配列をゲノムに組み込んだニワトリの ES 細胞を使った。LoxP 配列からプライマーを設計してアダプターライゲーション法の条件検討を行った。

鶏卵中で医療目的に応用できる組換えタンパクを生産させる研究が行われている。このような目的で作成された GM ニワトリに由来する鶏肉が市場の鶏肉に混入してしまう懸念が考えられる。非食用モダンバイオテクノロジー応用動物についての検知法の開発として、ヒトエリスロポエチン (hEpo) を生産する GM ニワトリに由来する鶏肉の検知法を作成した。プラスミド中の hEpo cDNA をスタンダードとして利用して、リアルタイム PCR によって鶏肉中から hEpo 遺伝子を検知する方法を作成した。市場調査として生の鶏肉 6 品、加工食品中の鶏肉 6 品をこの検知法で調べた結果、いずれのサンプルからも hEpo 遺伝子は検出されなかった。

研究協力者

手島玲子（代謝生化学部 部長）

よりも大きな健康被害をもたらす可能性がある。そのため、非食用に開発された GM 動物の開発状況を調査して将来起きるであろう問題を予想することや市場への混入を検知するための方法を作成することが求められている。

A. 研究目的

近年、遺伝子組換え（以下、「GM」と記す）動物の開発が活発に行われている。非食用に開発された GM 動物はフードチェーンに混入したときに食用に開発されたもの

そこで、本研究においては非食用 GM 動物の中から報告の多い魚、ニワトリ、ブタ

を選んでそれらの開発と実用化への動向を調査する。

また、近年開発される GM 動物では Cre/LoxP システムを利用してそれらを作成するときに利用される抗生物質耐性遺伝子を除去することが多いようである。したがって、抗生物質耐性遺伝子を標的としてそれらの検知法を作ることはできなくなる場合が多くなると予想される。Cre/LoxP システムを利用するケースでは、Cre 遺伝子は GM 動物のゲノムに残らない場合が考えられる。一方で、LoxP 配列 (図 1) は GM 動物のゲノムに必ず残る。そこで、本研究では LoxP 配列のみを手掛かりとして GM 動物に由来する材料を検知するためのモデル実験を行う。手法としてはアダプターライゲーション法を試す。

さらに、医療目的で利用される有用タンパクを鶏卵において生産させる研究が行われている。鶏卵をバイオリクターとして利用することが可能であれば、培養細胞を利用するよりも安価に医療目的の有用タンパクを生産させられる可能性があり、期待される研究分野である。近年、ヒトエリスロポエチン (hEpo) を鶏卵中で発現させた報告が3報あり、いずれも *in vitro* で生理活性が確認されている (Kodama D., et. al. Production of human erythropoietin by chimeric chickens. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **367** (4) 834-839 (2008); Penno C.A., et. al. Production of recombinant human erythropoietin / Fc fusion protein by genetically manipulated chickens. *Transgenic Research* **19** (2) 187-195 (2010); Koo B. C., et. al. Tetracycline-dependent expression of the

human erythropoietin gene in transgenic chickens. *Transgenic Research* **19** (3) 437-447 (2009))。このようにhEpoをGMニワトリを利用して生産させる研究報告が多く、本研究の課題の1つとしてhEpoを生産させることを目的に作成されたGMニワトリに由来する鶏肉の検知法を作成する。なお、hEpoのオープンリーディングフレームは582 bp、193アミノ酸残基から成り、hEpoは医療においては貧血の治療に利用される糖タンパクである。本研究では、hEpoを鶏卵中で発現させることを目的に作成された非食用GMニワトリに由来する鶏肉が市場に混入してしまったことが疑われるときに利用できる、鶏肉中からhEpo遺伝子を検知する方法をリアルタイムPCRを使って作成した。

B. 研究方法

(1) 文献調査

論文、インターネット、新聞を使って非食用 GM 魚、ニワトリ、ブタの開発状況についての情報収集を行った。インターネットを使った調査では 2008-2011 年に発表された論文については PubMed を利用して検索した。2012 年に発表された論文と特許については SciFinder を利用して検索した。キーワードには transgenic fish、transgenic chicken、transgenic pig を使用した。ヒットした文献や特許の中からタイトルと要旨を読んで将来フードチェーンへの混入につながる懸念のある報告を選んだ。なお、プロモーターの性質の解析、構造遺伝子の機能の解析、病態モデルの作成などの目的で作成された非食用 GM 動物は研究室の閉鎖系の中で飼育されるに留まり、フードチェーンへの混入の懸念はないと判断

して本研究の調査対象には含めなかった。
また、最近になって注目されている技術や
報告なども調査した。

(2) LoxP 配列の検知

LoxP 配列をゲノムに組み込んだ GM ニ
ワトリの ES 細胞を広島大学・堀内浩幸氏
より提供を受けて、研究材料とした。この
細胞のゲノム中には2つの LoxP 配列が組
み込まれている。ネガティブコントロール
には非 GM ニワトリの ES 細胞を使用した。

ニワトリ ES 細胞からゲノミック DNA
を抽出するために DNeasy Blood & Tissue
Kit (Qiagen)を使用した。

その後、LoxP 配列を検知するためのア
ダプターライゲーション法を試した。試薬
は TaKaRa LA PCR in vitro Cloning Kit
を用いた。LoxP 配列に基づく特異的プライ
マーの組み合わせは以下の 3 組を設計した。

一組目のプライマー

LoxP1 (1 段階目の PCR 用)

5'-ATAACTTCGTATAATGTA-3'

LoxP2 (2 段階目の PCR 用)

5'-ACTTCGTATAATGTATGC-3'

二組目のプライマー

LoxP3 (1 段階目の PCR 用)

5'-GGCACCTGGACCGTATAATGTA-3'

LoxP4 (2 段階目の PCR 用)

5'-GGCACCTGGACCGTATAATGTAT
GC-3'

LoxP5 (2 段階目の PCR 用)

5'-GGCACCTGGACCGTATAATGTAT
G-3'

LoxP6 (2 段階目の PCR 用)

5'-GGCACCTGGACCGTATAATGTATG

CT-3'

下線部は GC リッチな任意の配列である。

三組目のプライマー

LoxP7 (1 段階目の PCR 用)

5'-ATAACTTCGTATAGCATA-3'

LoxP8 (2 段階目の PCR 用)

5'-AACTTCGTATAGCATACA-3'

LoxP9 (2 段階目の PCR 用)

5'-ACTTCGTATAGCATACAT-3'

一、二組目のプライマーは LoxP の 3'側
の近接領域を、三組目のプライマーは LoxP
の 5'側の近接領域を増幅させることを意図
した。

ゲノミック DNA を 8 通りの制限酵素
(*Sau3A* I, *EcoR* I, *Hind* III, *Pst* I, *Sal* I,
Xba I, *BamH* I, *Bgl* II) で消化して、対応
するカセットをライゲーションさせた。
nested PCR ではアニーリング温度を
40-55°Cで変えてみた。耐熱酵素は TaKaRa
LA Taq と PrimeSTAR GXL DNA
Polymerase (タカラバイオ) を試した。増
幅産物をアガロースゲル電気泳動によって
分析し、GM のゲノミック DNA からのみ
増幅される DNA 断片を探した。

(3) 鶏肉中からの hEpo 遺伝子の検知

市場調査用の鶏肉サンプル

生の鶏肉 6 品 (ムネ、ササミ、レバー、モ
モ、手羽元、ひき肉) と鶏肉を含む加工食
品 6 品 (唐揚げ、親子丼、焼き鳥レバー、
チキンカツ、照り焼き、チキンカレー) を
東京の小売店で購入した。

リアルタイム PCR のキャリブレーション用のスタンダード

hEpo cDNA を組み込んだ市販のプラスミドを購入して使用した (Thermo Fisher Scientific, Cat. No. MHS1010-98053191)。

鶏肉からのゲノミック DNA の抽出

Blood & Cell Culture DNA Mini Kit (Qiagen) を利用して鶏肉からゲノミック DNA を抽出した。抽出したゲノミック DNA の性質は紫外吸収と 0.8%アガロースゲル電気泳動によって調べた。

リアルタイム PCR による hEpo 遺伝子のスタンダードプロットのキャリブレーション

リアルタイム PCR の反応液は 25 μ L で以下の物を含む: 12.5 μ L ユニバーサル PCR マスターミックス (Life Technologies), 0.4 μ L プライマー対 (各 25 μ M), 0.5 μ L TaqMan プローブ(10 μ M), 2.5 μ L コントロールプラスミド DNA テンプレート。コントロールプラスミド DNA テンプレートは、リアルタイム PCR のキャリブレーション用のスタンダードの項目に記載したプラスミドを *Nco* I で切断してリニアにした物を 20, 200, 2.0 k, 20 k, 200 k コピー使用した。

プライマーの配列は hEpo F, 5'-AGCCCAGAAGGAAGCCATCT-3' および hEpo R, 5'-GGAAAGTGTCAGCAGTGATTGTTC-3' である。プローブの構造は hEpo Pro, 6-carboxy-fluorescein (FAM)-CCTCCAGATGCGGCCTCAGC-te tramethylrhodamine (TAMRA) である。

Δ Rn threshold は 0.20 として、5 回測定を行った。

鶏肉サンプルから抽出したゲノミック DNA の存在下でのスタンダードプロットのキャリブレーション

生の鶏肉サンプルの 1 つから抽出したゲノミック DNA を最終濃度 5.2 ng/ μ L となるように PCR 反応液に加えた (1 反応あたり 130 ng)。リアルタイム PCR の測定条件は、hEpo 遺伝子のスタンダードプロットのキャリブレーションに関するリアルタイム PCR の項目に記載したものと同一であり、5 回測定を行った。

鶏肉の実態調査

上述の生の鶏肉 6 品と鶏肉を含む加工食品 6 品から抽出したゲノミック DNA を最終濃度 5.2 ng/ μ L となるように PCR 反応液に加えた。コントロールプラスミドは添加しなかった。それ以外の条件については、hEpo 遺伝子のスタンダードプロットのキャリブレーションに関するリアルタイム PCR の項目に記載の条件と同じである。リアルタイム PCR の測定を行なって鶏肉中の hEpo 遺伝子の存在を調べた。Ct 値が 38 以上は陰性とした。Ct 値が 38 以下で指数関数的増幅が確認できる反応を陽性とした。

次に、上述の生の鶏肉 6 品と鶏肉を含む加工食品 6 品から抽出したゲノミック DNA を最終濃度 5.2 ng/ μ L となるように PCR 反応液に加えて、さらにコントロールプラスミドを添加した。リアルタイム PCR の測定条件は、hEpo 遺伝子のスタンダードプロットのキャリブレーションに関するリアルタイム PCR の項目に記載したものと

同じであり、hEpo 遺伝子が検出されるかを調べた。2回測定を行った。

リアルタイム PCR の内在性コントロールとしてのニワトリ cytochrome b 遺伝子の検出

鶏肉の実態調査を行うときに、抽出されたゲノミックDNAの品質を評価するために、ニワトリ cytochrome b 遺伝子の検出をリアルタイムPCRによって同時に行った。プライマーは既報の通りとした (Tanabe S., et. al. A real-time quantitative PCR detection method for pork, chicken, beef, mutton, and horseflesh in foods. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71, 3131-3135 (2007))。プローブは既報の構造のクエンチャーについて FAMに変えた。測定はシングルプレックス PCRとして、 ΔRn thresholdを0.10とした。

C. 研究結果

(1) 文献調査

PubMed と SciFinder を利用した 2008-2012 年に発表された論文と特許の検索では非食用モダンバイオテクノロジー応用魚、ニワトリ、ブタについてそれぞれ20報、10報、70報が該当した。

非食用 GM 魚の検索結果

該当した 20 報はバイオリクター(4報)、病原菌への耐性付与 (6報)、環境ストレスへの耐性付与 (1報)、環境モニタリング (7報)、観賞用 (2報) の5つのカテゴリーに分類できる (表 1)。バイオリクターのカテゴリーでは 4 報中の 3 報がカナダから報告されており、インシュリンを生産させていた。病原菌への耐性付与のカテゴリーで

は様々な導入遺伝子が使われていた。環境モニタリングのカテゴリーにおいては GFP が導入遺伝子として頻繁に利用されていた。非食用 GM 魚の全体で報告を開発国別に分類すると、報告の多い国は台湾 (6報)、米国 (3報)、カナダ (3報) となった (表 5)。魚の種類に注目すると、ゼブラフィッシュとメダカを利用した報告が多かった。食用に供する魚としてはティラピアを利用した報告が 3 報あった。

非食用 GM ニワトリの検索結果

該当した 10 報はバイオリクター (8 報) と病原菌への耐性付与 (2 報) の 2 つのカテゴリーに分類されて、バイオリクターの報告が多かった。バイオリクターのカテゴリー中では様々な有用な組換えタンパクを生産させることを目的としているが、ヒトエリスロポエチンを生産させた論文が 3 報あった。(表 2)。非食用 GM ニワトリの開発国は日本 (5 報)、韓国 (2 報) で報告が多かった (表 5)。

非食用 GM ブタの検索結果

該当した 70 報は臓器移植用 (51 報)、バイオリクター (10 報)、環境浄化 (1 報)、病原菌耐性付与 (7 報)、その他 (2 報) の 4 つのカテゴリーに分類され、臓器移植用の報告がかなり多かった (表 3, 4)。臓器移植用のカテゴリーにおいては改変あるいは導入遺伝子としては $\alpha 1,3$ -galactosyltransferase gene-knockout (GTKO)、CD46 が頻繁に登場した。前者はブタに存在する主要な異種抗原の生合成を抑制する作用があり、後者はヒトの補体の攻撃からブタの臓器を防御する作用があ

り、いずれもこれらの GM ブタの臓器をヒトに移植したときに急性拒絶反応が抑制される。

非食用 GM ブタの全体の報告について開発国別に分類すると、報告数の多い上位4国は、米国 (29 報)、中国 (12 報)、ドイツ (10 報)、韓国 (8 報) となった (表 5)。臓器移植用のカテゴリーについて開発国ごとに分類すると、51 報中の 26 報を米国、10 報をドイツが占めた。臓器移植用以外のカテゴリーについて開発国ごとに分類すると、20 報中の 12 報を中国が占めた。2012 年に発表された非食用 GM ブタについて注目すると、2012 年は利用したデータベースがそれ以前と異なるので、単純な比較はできないが、中国 (11 報)、米国 (10 報) において報告数が増えている。

最近注目を集めている技術や報告

ゲノムのヌクレオチド配列を編集する技術としてジンクフィンガーヌクレアーゼや transcription activator-like effector nuclease (TALEN) があり、これらの人工ヌクレアーゼを利用した論文が増えている (Prez-Pinera P., Ousterout D.G., Gersbach C.A. *Advances in targeted genome editing. Curr. Opin. Chem. Biol.* 16: 268-277(2012))。この技術によって GM 生物の作成の効率が大きく向上した。これら人工エンドヌクレアーゼを利用して作成された GM 動物にはカエル、ハエ、マウス、ラット、ゼブラフィッシュ、ブタなどがある。また、最近になってブタの全ゲノムが解読されており、今後 GM ブタの作成が進展するであろうと予想されている (Groenen M.A.M. et. al. *Analyses of pig*

genomes provide insight into porcine demography and evolution. *Nature* 491, 393-398 (2012))。一方で、動物にヒトの iPSC 細胞を移植させてヒトの臓器を作成させる研究が行われている (2012 年 10 月 12 日、「再生医療危うい倫理」東京新聞)。

(2) LoxP 配列の検知

LoxP 配列を検知するためのアダプターライゲーション法について種々の条件を変えて試した。GM と非 GM のゲノミック DNA を材料としたときの増幅産物をアガロースゲル電気泳動によって分析すると、スメアが検出されて 2 つのサンプルで同様のパターンになってしまった。非特異的な増幅が多いようであった。GM のゲノミック DNA を使ったときだけに増幅される DNA 断片は得られなかった。

(3) 鶏肉中からの hEpo 遺伝子の検知

鶏肉サンプルからのゲノミック DNA の抽出

鶏肉サンプルから抽出されたゲノミック DNA の収量と紫外吸収を表 6 に、0.8%アガロースゲル電気泳動で分析した結果を図 2 に示した。ゲノミック DNA の収量はサンプルごとに大きく変動した。280 nm の紫外吸収に対する 260 nm の紫外吸収の比、230 nm の紫外吸収に対する 260 nm の紫外吸収の比に基づいて、抽出されたゲノミック DNA はリアルタイム PCR の測定に適していると考えた。

生の鶏肉については、280 nm の紫外吸収と 0.8%アガロースゲル電気泳動に基づき、レバーを用いたときに短くて多くの量のゲノミック DNA が抽出されたことが明らかに

なった。0.8%アガロースゲル電気泳動に基づき、加工食品中の鶏肉からは生の鶏肉からよりも短いゲノミック DNA が抽出された。チキンカレー中の鶏肉から抽出されたゲノミック DNA は特に短かった。食品加工の過程でゲノミック DNA が分解したことが示された。

リアルタイム PCR のためのプライマーとプローブの設計

GM ニワトリのゲノムに挿入された hEpo cDNA についての詳細な情報は入手できなかった。まず、hEpo cDNA をデータベースを検索すると2つの型が見出された。コドン143位に Lys を含む cDNA と含まない cDNA である。2つの cDNA とともにシグナルペプチドと成熟タンパクをコードする部分から構成されている。hEpo cDNA のヌクレオチド配列に基づいて特異的なプライマーとプローブを設計しようと試みたところ、成熟タンパクをコードする部分から2つの組み合わせが得られた。1つのプライマーは2つの型の cDNA の異なる配列を含んでいた。2つの型の cDNA を同時に検出できるように、このプライマーを含まないプライマーとプローブの組み合わせを本研究では利用した。これらのプライマーとプローブの構造は研究方法の項目に示した。

キャリブレーションプロットの確立

hEpo cDNA を含む市販のプラスミドを購入してスタンダードとして使用した。このとき増幅曲線が得られて、リアルタイム PCR によってプラスミド中の hEpo 遺伝子が検出できることを確認した。増幅曲線とスタンダードプロットを図3に示した。図

の脚注に記載したスタンダードプロットの5つの数式から結果は再現性があると考えられた。

次に、生の鶏肉のサンプルの1つから抽出されたゲノミック DNA にコントロールプラスミドをスパイクした。このとき増幅曲線が得られて、生の鶏肉から抽出されたゲノミック DNA の存在下でプラスミド中の hEpo 遺伝子が検出されることを確認した。このときの増幅曲線とスタンダードプロットを図4に示した。図の脚注に記載したスタンダードプロットの5つの数式から結果は再現性があると考えられた。

6つの加工食品のサンプル中の鶏肉から抽出したゲノミック DNA にコントロールプラスミドをスパイクしたときに、hEpo 遺伝子は検出されてスタンダードプロットが得られた。

鶏肉の市場調査

本研究で開発した hEpo 遺伝子の検出法の応用性を評価するために、12品の鶏肉サンプル（生の鶏肉6品、加工食品中の鶏肉6品）を測定した。hEpo 遺伝子が検出されるかを決定するためにスタンダードプロットを使用した。今回測定したサンプルのいずれからでも hEpo 遺伝子は検出されなかった。

内在性ニワトリ cytochrome b 遺伝子の分析では、すべてのサンプルにおいて同様な増幅曲線と Ct 値が得られた。すべてのサンプルについてのニワトリ cytochrome b 遺伝子と hEpo 遺伝子の Ct 値を表6に示した。また、抽出されたゲノミック DNA はブタ、ウシ、ヒツジ、ウマからではなくてニワトリから得られたことが確認された。

D. 考察

(1) 文献調査

PubMed と SciFinder を利用して 2008-2012 年に発表された文献や特許を検索した結果、本研究の対象となった報告は非食用 GM 魚、ニワトリ、ブタについてそれぞれ 20 報、10 報、70 報であった。非食用 GM 魚、ニワトリの報告は少なく、ブタの報告が多いことが明らかになった。

非食用 GM ブタについて開発国を調査すると、臓器移植用のカテゴリーに分類される物 51 報中 26 報を米国が占めた。また、非食用 GM ブタの臓器移植以外のカテゴリーに分類される物 20 報中の 12 報を中国が占めた。このように非食用 GM ブタについてはカテゴリーによって開発国の偏りが明瞭である。つまり中国は非食用 GM ブタを開発しているが臓器移植用の物は開発していない。非食用 GM ブタについてカテゴリーに分類すると、臓器移植用に開発されるものが多い。しかし、臓器移植は現在研究中であり、それを目的とした非食用 GM ブタが大量に飼育される段階には達していないようである。したがって、非食用 GM ブタがフードチェーンへ混入する懸念は少ないと思われる。

非食用 GM 魚については、魚の種類はゼブラフィッシュとメダカが主に使われており、これらは通常は食用としない種類である。食用に供する魚としてはティラピアを利用した報告が 3 報あったが、報告数は少ない。以上から、これらの非食用 GM 魚がフードチェーンに混入する懸念は少ないと思われる。

非食用 GM ニワトリについては報告数が 10 報と少なかった。したがって、フードチ

ェーンへの混入の懸念は少ないと思われる。

次に、非食用 GM 魚、ニワトリ、ブタの全体の報告 101 報を開発国ごとに分類すると、米国 (33 報)、中国 (15 報)、台湾 (11 報)、韓国 (11 報)、ドイツ (10 報) の上位 5 国で 78% を占めており、非食用 GM 動物の開発の盛んな国が明確に示された。特に、米国からの報告が多いことが明らかになった (表 5)。

最近注目される技術や報告を以下に 3 つ述べる。その 1 つ目は、人工エンドヌクレアーゼがある。ジンクフィンガーヌクレアーゼや transcription activator-like effector nuclease (TALEN) を利用したゲノム編集の報告が近年急上昇している。この技術を使うと遺伝子の継ぎ目がなくなり、抗生物質による選抜が不要になるなど、古い方法を利用していたときよりもはるかに洗練されたゲノムの操作が可能になる。今後、これらの技術を利用して作成された GM 動物に由来する材料がフードチェーンに混入したことが疑われるときに、それらを検知することがきわめて困難になってしまうことが予想される。

最近注目される技術や報告の 2 つ目は、ブタの全ゲノムが解読されたことが挙げられる。これによってブタを利用した研究やバイオテクノロジー技術の全般が大きく進展することが予想される。その中の 1 つとして、非食用 GM ブタの作成が容易になり促進されることが考えられる。

最近注目される技術や報告の 3 つ目は、動物にヒトの iPS 細胞を移植して動物中でヒトの臓器を作らせる研究が始まっている。この研究自体は非食用 GM 動物の開発の研究の範疇には入らない。しかし、この新し

い研究は臓器移植用の非食用 GM 動物の開発の研究と目的が類似しており、臓器移植用の非食用 GM ブタの開発に置き換わる研究になる可能性がある。臓器移植用の非食用 GM ブタの開発が影響を受けて、その開発が鈍る可能性が考えられる。

E. 結論

非食用 GM 動物の産業的利用は現在のところ国から承認が出ていない。しかし、近年、非食用 GM 動物を開発するための技術は大きく進歩している。非食用 GM 動物についての今後の研究の進展を予測することは難しいが、注意深く調査し状況を把握しておく必要がある。また、非食用 GM 動物を開発するための新しい技術にも対応できる検知法を作成することが望まれる。

非食用 GM 動物の検知法として、Cre/LoxP を応用した非食用 GM 動物の検知法を作成することを目指して LoxP 配列の検知法を検討した。

さらに、GM ニワトリのゲノム中に挿入された hEpo 遺伝子を迅速に検知する方法をリアルタイム PCR を利用して開発した。この方法によって hEpo 遺伝子を含む GM ニワトリに由来する鶏肉の市場への混入を監視できる。本研究は食品の安心や安全に寄与できるものと考えられる。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Nakajima O., Koyano S.,

Akiyama H., Sawada J., and Teshima R. Confirmation of a predicted lack of IgE binding to Cry3Bb1 from genetically modified (GM) crops. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **56** (3) 306-311 (2010)

2. 中島治、穠山浩、手島玲子 非食用遺伝子組換え動物の最近の開発状況についての調査 国立医薬品食品衛生研究所報告 第 130 号 50-57 (2012)

3. Nakajima O., Nakamura K., Kondo K., Akiyama H., and Teshima R. Method of detecting genetically modified chicken containing human erythropoietin gene. *Biol. Pharm. Bull.* (2013) 投稿中

学会発表

中島治、中村公亮、近藤一成、穠山浩、手島玲子 ヒトエリスロポエチン遺伝子を導入された組換えニワトリに由来する肉の検知法について 日本薬学会第 133 年会 2013 年 3 月 横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 参考文献

非食用モダンバイオテクノロジー応用魚の研究報告

- 1) Wright, J. R. Jr., Snowdon, J., Hrytsenko, O., Morrison, C. M. and Pohajdak, B.: *Transgenic Res.*, **17**, 991-2 (2008)

- 2) Hrytsenko, O., Pohajdak, B. and Wright, J. R. Jr.: *Transgenic Res.*, **19**, 305-6 (2010)
- 3) Hrytsenko, O., Rayat, G. R., Xu, B. Y., Krause, R., Pohajdak, B., Rajotte, R. V. and Wright, J. R. Jr.: *Transgenic Res.*, **20**, 1397-8 (2011)
- 4) Hu, S. Y., Liao, C. H., Lin, Y. P., Li, Y. H., Gong, H. Y., Lin, G. H., Kawakami, K., Yang, T. H. and Wu, J. L.: *Transgenic Res.*, **20**, 73-83 (2011)
- 5) Hsieh, J. C., Pan, C. Y. and Chen, J. Y.: *Fish Shellfish Immunol.*, **29**, 430-9 (2010)
- 6) Peng, K. C., Pan, C. Y., Chou, H. N. and Chen, J. Y.: *Fish Shellfish Immunol.*, **28**, 905-17 (2010)
- 7) Lin, C. Y., Yang, P. H., Kao, C. L., Huang, H. I., Tsai, H. J.: *Fish Shellfish Immunol.*, **28**, 419-27 (2010)
- 8) Pan, C. Y., Peng, K. C., Lin, C. H. and Chen, J. Y.: *Fish Shellfish Immunol.*, **31**, 275-85 (2011)
- 9) Su, J., Yang, C., Zhu, Z., Wang, Y., Jang, S. and Liao, L.: *Fish Shellfish Immunol.*, **26**, 828-35 (2009)
- 10) Li, S. S. and Tsai, H. J.: *Fish Shellfish Immunol.*, **26**, 316-25 (2009)
- 11) Guan, B., Ma, H., Wang, Y., Hu, Y., Lin, Z., Zhu, Z. and Hu, W.: *Mar. Biotechnol (NY)*, **13**, 336-44 (2011)
- 12) Kurauchi, K., Hirata, T. and Kinoshita, M.: *Mar. Pollut. Bull.*, **57**, 441-4 (2008)
- 13) Salam, M. A., Sawada, T., Ohya, T., Ninomiya, K. and Hayashi, S.: *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.*, **43**, 272-7 (2008)
- 14) Kusik, B. W., Carvan, M. J. 3rd and Udvadia, A. J.: *Mar. Biotechnol (NY)*, **10**, 750-7 (2008)
- 15) Chen, H., Hu, J., Yang, J., Wang, Y., Xu, H., Jiang, Q., Gong, Y., Gu, Y. and Song, H.: *Aquat. Toxicol.*, **96**, 53-61 (2010)
- 16) Abdelkader, Tamer Said; Chang, Seo-Na; Kim, Tae-Hyun; Song, Juha; Kim, Dongso; Park, Jae-Hak. *African Journal of Biotechnology*, **11**(48), 10816-10823 (2012)
- 17) Hung, Karen W. Y.; Suen, Miranda F. K.; Chen, Y. F.; Cai, H. B.; Mo, Z. X.; Yung, Ken K. L. . *Biosensors & Bioelectronics*, **31**(1), 548-553 (2012)
- 18) Hano, Takeshi. *Suisan Sogo Kenkyu Senta Kenkyu Hokoku*, **36**, 1-56 (2012)
- 19) Blake, Alan; Crockett, Richard; Nasevicius, Aidas. US 8232451 B1 20120731. (米国特許)(2012)
- 20) Blake, Alan; Crockett, Richard; Nasevicius, Aidas. US 8232450 B1 20120731. (米国特許)(2012)
- 非食用モダンバイオテクノロジー応用ニワトリの研究報告
- 21) Kwon, M. S., Koo, B. C., Choi, B. R., Park, Y. Y., Lee, Y. M., Suh, H. S., Park, Y. S., Lee, H. T., Kim, J. H., Roh, J. Y., Kim, N. H. and Kim, T.: *Mol. Reprod. Dev.*, **75**, 1120-6 (2008)
- 22) Kodama, D., Nishimiya, D., Iwata, K., Yamaguchi, K., Yoshida, K., Kawabe, Y., Motono, M., Watanabe, H., Yamashita, T., Nishijima, K., Kamihira, M. and Iijima, S.:

- Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **367**, 834-9 (2008)
- 23) Harel-Markowitz, E., Gurevich, M., Shore, L. S., Katz, A., Stram, Y. and Shemesh, M.: *Biol. Reprod.*, **80**, 1046-52 (2009)
- 24) Penno, C. A., Kawabe, Y., Ito, A. and Kamihira, M.: *Transgenic Res.*, **19**, 187-95 (2010)
- 25) Koo, B. C., Kwon, M. S., Lee, H., Kim, M., Kim, D., Roh, J. Y., Park, Y. Y., Cui, X. S., Kim, N. H., Byun, S. J. and Kim, T.: *Transgenic Res.*, **19**, 437-47 (2010)
- 26) Kawabe, Yoshinori; Hayashida, Yuuki; Numata, Kensaku; Harada, Shota; Hayashida, Yoshifumi; Ito, Akira; Kamihira, Masamichi. *PLoS One*, **7**(10), e48512 (2012)
- 27) Kodama, Daisuke; Nishimiya, Daisuke; Nishijima, Ken-ichi; Okino, Yuuki; Inayoshi, Yujin; Kojima, Yasuhiro; Ono, Ken-ichiro; Motono, Makoto; Miyake, Katsuhide; Kawabe, Yoshinori; et. al. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **113**(2), 146-153 (2012)
- 28) Mizutani, Akifumi; Tsunashima, Hiroyuki; Nishijima, Ken-ichi; Sasamoto, Takako; Yamada, Yuki; Kojima, Yasuhiro; Motono, Makoto; Kojima, Jun; Inayoshi, Yujin; Miyake, Katsuhide; et. al. *Transgenic Research*, **21**(1), 63-75 (2012)
- 29) Perozo, F., Villegas, P., Estevez, C., Alvarado, I. R., Purvis, L. B. and Saume, E.: *Avian Dis.*, **52**, 253-9 (2008)
- 30) Lyall, J., Irvine, R. M., Sherman, A., McKinley, T. J., Núñez, A., Purdie, A., Outtrim, L., Brown, I. H., Rolleston-Smith, G., Sang, H. and Tiley, L.: *Science*, **331**, 223-6 (2011)
- 非食用モダンバイオテクノロジー応用ブタの研究報告
- 31) Byrne, G. W., Stalboerger, P. G., Davila, E., Heppelmann, C. J., Gazi, M. H., McGregor, H. C., LaBreche, P. T., Davies, W. R., Rao, V. P., Oi, K., Tazelaar, H. D., Logan, J. S. and McGregor, C.G.: *Xenotransplantation*, **15**, 268-76 (2008)
- 32) Issa, N. C., Wilkinson, R. A., Griesemer, A., Cooper, D. K., Yamada, K., Sachs, D. H. and Fishman, J. A.: *J. Virol.*, **82**, 12441-8 (2008)
- 33) Hara, H., Long, C., Lin, Y. J., Tai, H. C., Ezzelarab, M., Ayares, D. and Cooper, D. K.: *Transpl. Int.*, **21**, 1163-74 (2008)
- 34) Tu, C. F., Tai, H. C., Chen, C. M., Huang, T. T., Lee, J. M., Yang, T. S., Chen, C. H., Tseng, Y. L., Chou, N. K. and Lee, P. H.: *Transplant. Proc.*, **40**, 578-80 (2008)
- 35) Tai, H. C., Tu, C. F., Lee, J. M., Ho, L. L., Tseng, Y. L., Chou, N. K., Yang, T. S., Weng, C.N., Lee, P. H., Chang, K. J. and Tang, Y. B.: *Transplant. Proc.*, **40**, 570-3 (2008)
- 36) Costa, C., Brokaw, J. L. and Fodor, W. L.: *Transplant. Proc.*, **40**, 554-6 (2008)
- 37) Lee, J. M., Tu, C. F., Tai, H. C., Chou, N. K., Weng, C.N., Lee, Y. C. and Lee, P. H.: *Transplant. Proc.*, **40**, 551-3 (2008)

- 38) Dieckhoff, B., Petersen, B., Kues, W. A., Kurth, R., Niemann, H. and Denner, J.: *Xenotransplantation*, **15**, 36-45 (2008)
- 39) Oropeza, M., Petersen, B., Carnwath, J. W., Lucas-Hahn, A., Lemme, E., Hassel, P., Herrmann, D., Barg-Kues, B., Holler, S., Queisser, A. L., Schwinzer, R., Hinkel, R., Kupatt, C. and Niemann, H.: *Xenotransplantation*, **16**, 522-34 (2009)
- 40) Petersen, B., Ramackers, W., Tiede, A., Lucas-Hahn, A., Herrmann, D., Barg-Kues, B., Schuettler, W., Friedrich, L., Schwinzer, R., Winkler, M. and Niemann, H.: *Xenotransplantation*, **16**, 486-95 (2009)
- 41) Phelps, C. J., Ball, S. F., Vaught, T. D., Vance, A. M., Mendicino, M., Monahan, J. A., Walters, A. H., Wells, K. D., Dandro, A. S., Ramsoondar, J. J., Cooper, D. K. and Ayares, D. L.: *Xenotransplantation*, **16**, 477-85 (2009)
- 42) van der Windt, D. J., Bottino, R., Casu, A., Campanile, N., Smetanka, C., He, J., Murase, N., Hara, H., Ball, S., Loveland, B. E., Ayares, D., Lakkis, F. G., Cooper, D. K. and Trucco, M.: *Am. J. Transplant.*, **9**, 2716-26 (2009)
- 43) Ramsoondar, J., Vaught, T., Ball, S., Mendicino, M., Monahan, J., Jobst, P., Vance, A., Duncan, J., Wells, K. and Ayares, D.: *Xenotransplantation*, **16**, 164-80 (2009)
- 44) Knosalla, C., Yazawa, K., Behdad, A., Bodyak, N., Shang, H., Bühler, L., Houser, S., Gollackner, B., Griesemer, A., Schmitt-Knosalla, I., Schuurman, H. J., Awwad, M., Sachs, D. H., Cooper, D. K., Yamada, K., Usheva, A. and Robson, S. C.: *Am. J. Transplant.*, **9**, 1006-16 (2009)
- 45) Dieckhoff, B., Kessler, B., Jobst, D., Kues, W., Petersen, B., Pfeifer, A., Kurth, R., Niemann, H., Wolf, E. and Denner, J.: *Xenotransplantation*, **16**, 64-73 (2009)
- 46) Weiss, E. H., Lilienfeld, B. G., Müller, S., Müller, E., Herbach, N., Kessler, B., Wanke, R., Schwinzer, R., Seebach, J. D., Wolf, E. and Brem, G.: *Transplantation*, **87**, 35-43 (2009)
- 47) Quereda, J. J., Martínez-Alarcón, L., Mendoça, L., Majado, M. J., Herrero-Medrano, J. M., Pallarés, F. J., Ríos, A., Ramírez, P., Muñoz, A. and Ramis, G.: *Transplant. Proc.*, **42**, 3239-43 (2010)
- 48) Hara, H., Campanile, N., Tai, H. C., Long, C., Ekser, B., Yeh, P., Welchons, D., Ezzelarab, M., Ayares, D. and Cooper, D. K.: *Xenotransplantation*, **17**, 370-8 (2010)
- 49) Ahn, K. S., Won, J. Y., Park, J. K., Sorrell, A. M., Heo, S. Y., Kang, J. H., Woo, J. S., Choi, B. H., Chang, W. K. and Shim, H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **400**, 667-72 (2010)
- 50) Vargiolu, A., Manzini, S., de Cecco, M., Bacci, M. L., Forni, M., Galeati, G., Cerrito, M. G., Busnelli, M., Lavitrano, M. and Giovannoni, R.: *Transplant. Proc.*, **42**, 2142-5 (2010)
- 51) Tu, C. F., Tai, H. C., Wu, C. P., Ho, L. L., Lin, Y. J., Hwang, C. S., Yang, T. S., Lee, J. M., Tseng, Y. L., Huang, C. C., Weng, C. N. and Lee, P. H.: *Transplant. Proc.*, **42**, 2138-41 (2010)

- 52) Lin, C. C., Ezzelarab, M., Shapiro, R., Ekser, B., Long, C., Hara, H., Echeverri, G., Torres, C., Watanabe, H., Ayares, D., Dorling, A. and Cooper, D. K.: *Am. J. Transplant.*, **10**, 1556-68 (2010)
- 53) Bauer, A., Postrach, J., Thormann, M., Blanck, S., Faber, C., Wintersperger, B., Michel, S., Abicht, J. M., Christ, F., Schmitz, C., Schmoeckel, M., Reichart, B. and Brenner P.: *Xenotransplantation*, **17**, 243-9 (2010)
- 54) Ekser, B., Echeverri, G. J., Hassett, A. C., Yazer, M. H., Long, C., Meyer, M., Ezzelarab, M., Lin, C. C., Hara, H., van der Windt, D. J., Dons, E. M., Phelps, C., Ayares, D., Cooper, D. K. and Gridelli, B.: *Transplantation*, **90**, 483-93 (2010)
- 55) van Poll, D., Nahmias, Y., Soto-Gutierrez, A., Ghasemi, M., Yagi, H., Kobayashi, N., Yarmush, M. L. and Hertl, M.: *Cell Transplant.*, **19**, 783-9 (2010)
- 56) Lin, C. C., Ezzelarab, M., Hara, H., Long, C., Lin, C. W., Dorling, A. and Cooper, D. K.: *J. Thromb. Haemost.*, **8**, 2001-10 (2010)
- 57) Ekser, B., Long, C., Echeverri, G. J., Hara, H., Ezzelarab, M., Lin, C. C., de Vera, M. E., Wagner, R., Klein, E., Wolf, R. F., Ayares, D., Cooper, D. K. and Gridelli, B.: *Am. J. Transplant.*, **10**, 273-85 (2010)
- 58) Ezzelarab, M., Ekser, B., Gridelli, B., Iwase, H., Ayares, D. and Cooper, D. K.: *Xenotransplantation*, **18**, 320-7 (2011)
- 59) Le, Bas-Bernardet, S., Tillou, X., Poirier, N., Dilek, N., Chatelais, M., Devallière, J., Charreau, B., Minault, D., Hervouet, J., Renaudin, K., Crossan, C., Scobie, L., Cowan, P. J., d'Apice, A. J., Galli, C., Cozzi, E., Soulillou, J. P., Vanhove, B. and Blancho, G.: *Transplant. Proc.*, **43**, 3426-30 (2011)
- 60) Bauer, A., Renz, V., Baschnegger, H., Abicht, J. M., Beiras-Fernandez, A., Brenner, P., Thein, E., Schmoeckel, M., Reichart, B. and Christ F.: *Xenotransplantation*, **18**, 232-8 (2011)
- 61) Ezzelarab, M., Ezzelarab, C., Wilhite, T., Kumar, G., Hara, H., Ayares, D. and Cooper, D. K.: *Xenotransplantation*, **18**, 183-95 (2011)
- 62) Cho, B., Koo, O. J., Hwang, J. I., Kim, H., Lee, E. M., Hurh, S., Park, S. J., Ro, H., Yang, J., Surh, C. D., D'Apice, A. J., Lee, B. C. and Ahn C.: *Transplantation*, **92**, 139-47 (2011)
- 63) Wang, C., Wang, H., Ide, K., Wang, Y., Van Rooijen, N., Ohdan, H. and Yang, Y.G.: *Cell Transplant.*, (2011) in press
- 64) Nguyen, B. N., Azimzadeh, A. M., Schroeder, C., Buddensick, T., Zhang, T., Laaris, A., Cochrane, M., Schuurman, H. J., Sachs, D. H., Allan, J. S. and Pierson, R. N. 3rd.: *Xenotransplantation*, **18**, 94-107 (2011)
- 65) Ramis, G., Martínez-Alarcón, L., Majado, M. J., Quereda, J. J., Mendonça, L., Herrero-Medrano, J. M., Abellaneda, J. M., Gomes-Coelho, K., López-Navas, A., Ríos, A., Ramírez, P. and Muñoz, A.: *Transplant. Proc.*, **43**, 249-53 (2011)

- 66) Lee, H. J., Lee, B. C., Kim, Y. H., Paik, N. W. and Rho, H. M.: *Reprod. Domest. Anim.*, **46**, 325-32 (2011)
- 67) Peng, Qiang; Yeh, Heidi; Wei, Lingling; Enjyoi, Keiichi; Machaidze, Zurab; Csizmad, Eva; Schuetz, Christian; Lee, Kang Mi; Deng, Shaoping; Robson, Simon C.; et. al. *PLoS One*, **7**(10), e47273 (2012)
- 68) Yeom, Hye-Jung; Koo, Ok Jae; Yang, Jaeseok; Cho, Bumrae; Hwang, Jong-Ik; Park, Sol Ji; Hurh, Sunghoon; Kim, Hwajung; Lee, Eun Mi; Ro, Han; et. al. *PLoS One*, **7**(10), e46646 (2012)
- 69) Eksler, Burcin; Lin, Chih C.; Long, Cassandra; Echeverri, Gabriel J.; Hara, Hidetaka; Ezzelarab, Mohamed; Bogdanov, Vladimir Y.; Stolz, Donna B.; Enjyoi, Keiichi; Robson, Simon C.; et. al. *Transplant International*, **25**(8), 882-896 (2012)
- 70) Dufrane, Denis; Veriter, Sophie; Gianello, Pierre. *PCT Int. Appl.*, WO 2012113859 A1 20120830. (国際特許)(2012)
- 71) Ayares, David. *PCT Int. Appl.*, WO 2012112586 A1 20120823. (国際特許)(2012)
- 72) Klymiuk, Nikolai; van Buerck, Lelia; Baehr, Andrea; Offers, Monika; Kessler, Barbara; Wuensch, Annegret; Kurome, Mayuko; Thormann, Michael; Lochner, Katharina; Nagashima, Hiroshi; et. al. *Diabetes*, **61**(6), 1527-1532 (2012),
- 73) Mohiuddin, M. M.; Corcoran, P. C.; Singh, A. K.; Azimzadeh, A.; Hoyt, R. F., Jr.; Thomas, M. L.; Eckhaus, M. A.; Seavey, C.; Ayares, D.; Pierson, R. N.; et. al. *American Journal of Transplantation*, **12**(3), 763-771 (2012)
- 74) Kumar, Goutham; Hara, Hidetaka; Long, Cassandra; Shaikh, Humza; Ayares, David; Cooper, David K. C.; Ezzelarab, Mohamed. *Cytotherapy*, **14**(4), 494-504 (2012)
- 75) Eksler, Burcin; Klein, Edwin; He, Jing; Stolz, Donna B.; Echeverri, Gabriel J.; Long, Cassandra; Lin, Chih Che; Ezzelarab, Mohamed; Hara, Hidetaka; Veroux, Massimiliano; et. al. *PLoS One*, **7**(1), e29720 (2012)
- 76) Eksler Burcin; Bianchi John; Ball Suyapa; Iwase Hayato; Walters Anneke; Ezzelarab Mohamed; Veroux Massimiliano; Gridelli Bruno; Wagner Robert; Ayares David; et. al. *Xenotransplantation*, **19** (6), 342-54 (2012)
- 77) Ezzelarab Corin; Ayares David; Cooper David K C; Ezzelarab Mohamed B. *Xenotransplantation*, **19** (5), 311-6 (2012)
- 78) Yazaki Satoko; Iwamoto Masaki; Onishi Akira; Miwa Yuko; Hashimoto Michiko; Oishi Takatsugu; Suzuki Shunichi; Fuchimoto Dai-ichiro; Sembon Shoichiro; Furusawa Tadashi; et. al. *Xenotransplantation*, **19** (2), 82-91 (2012)

- 79) Semaan Marwan; Kaulitz Danny; Petersen Bjorn; Niemann Heiner; Denner Joachim. *Xenotransplantation*, **19** (2), 112-21 (2012)
- 80) Kemter Elisabeth; Lieke Thorsten; Kessler Barbara; Kurome Mayuko; Wuensch Annegret; Summerfield Artur; Ayares David; Nagashima Hiroshi; Baars Wiebke; Schwinzer Reinhard; et. al. *Xenotransplantation*, **19** (1), 40-51 (2012)
- 81) Hemann Michelle; Shen Hui-Gang; Beach Nathan M; Meng Xiang-Jin; Halbur Patrick G; Opriessnig Tanja. *Veterinary research communications*, **36** (3), 187-93 (2012)
- 82) Chang, C. H., Chou, T. K., Yang, C. Y., Chang, T. J., Wu, Y. H. and Lee, T. W.: *In Vivo*, **22**, 693-7 (2008)
- 83) Park, K. W., Choi, K. M., Hong, S. P., Han, G. S., Yoo, J. Y., Jin, D. I., Seol, J. G. and Park, C. S.: *Theriogenology*, **70**, 1431-8 (2008)
- 84) Gil, G. C., Velander, W. H. and Van, Cott, K. E.: *Glycobiology*, **18**, 526-39 (2008)
- 85) Lee, H. G., Lee, H. C., Kim, S. W., Lee, P., Chung, H. J., Lee, Y. K., Han, J. H., Hwang, I. S., Yoo, J. I., Kim, Y. K., Kim, H. T., Lee, H. T., Chang, W. K. and Park, J. K.: *J. Reprod. Dev.*, **55**, 484-90 (2009)
- 86) Cho, S. K., Hwang, K. C., Choi, Y. J., Bui, H. T., Nguyen, V. T., Park, C., Kim, J. H. and Kim, J. H.: *J. Reprod. Dev.*, **55**, 128-36 (2009)
- 87) Tong, J., Wei, H., Liu, X., Hu, W., Bi, M., Wang, Y., Li, Q. and Li, N.: *Transgenic Res.*, **20**, 417-9 (2011)
- 88) Zhao, Jie; Xu, Jianxiang; Wang, Jianwu; Zhao, Yaofeng; Zhang, Lei; He, Jin; Chu, Mingxing; Li, Ning. *Journal of Biotechnology*, **161** (4), 437-444 (2012)
- 89) Sun, Yu-ling; Chang, Yuo-sheng; Lin, Yin-shen; Yen, Chon-ho. *Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, **898**, 78-89 (2012)
- 90) Watanabe, Masahito; Kurome, Mayuko; Matsunari, Hitomi; Nakano, Kazuaki; Umeyama, Kazuhiro; Shiota, Akira; Nakauchi, Hiromitsu; Nagashima, Hiroshi. *Transgenic Research*, **21**(3), 605-618 (2012)
- 91) Choi Myoung-Seob; Shim Mi-Ran; Oh Mi-Yun; Kim Kyung-Woon; Lee Hwi-Cheul; Yang Byoung-Chul; Chung Hee Kyoung; Kim Jin-Hoi; Lee Hoon-Taek; Hwang In-Sul; et al. *Theriogenology*, **78**(5), 1020-9 (2012)
- 92) Mao, J., Ajakaiye, A., Lan, Y., Olk, D. C., Ceballos, M., Zhang, T., Fan, M.Z. and Forsberg, C. W.: *J. Agric. Food. Chem.*, **56**, 2131-8 (2008)
- 93) Prather, Randall S. *PCT Int. Appl.*, WO 2012158828 A1 20121122 (國際特許) (2012)
- 94) Chen, Chuangfu; Ouyang, Hongsheng; Qiao, Jun; Saiwu, Jiafu; Ma, Shiwei; Wang, Pengyan. *Faming Zhuanli Shengqing*, CN 102703392 A 20121003 (中國特許) (2012)
- 95) By Liu, Xiangtao; Chen, Yan; Tian, Hong; Wu, Jinyan; Shang, Youjun; Yin, Shuanghui; Wang, Guangxiang; Jin,

- Ye; Zhang, Keshan; Yang, Shunli; et al. *Faming Zhuanli Shenqing*, CN 102660544 A 20120912 (中国特許) (2012)
- 96) Zhou, Rui; Yang, Xi. *Faming Zhuanli Shenqing*, CN 102517329 A 20120627 (中国特許) (2012)
- 97) He, Hongbin; Wang, Hongmei; Wu, Jianming; Liu, Lan; Lv, Yang; Yang, Hongjun; Song, Lingling; Sun, Tao; Gao, Yundong; Hou, Minghai; et. al. *Faming Zhuanli Shenqing*, CN 102492685 A 20120613 (中国特許) (2012)
- 98) Bao, Yonghua; Guo, Yongchen; Li, Qiuyan; Tang, Bo; Li, Ning. *PCT Int. Appl.*, WO 2012071762 A1 20120607 (国際特許) (2012)
- 99) Qian, Ping; Li, Xiangmin; Chen, Huanchun. *Faming Zhuanli Shenqing*, CN 102391990 A 20120328 (中国特許) (2012)
- 100) Zhang, Peng; Zhang, Yidi; Dou, Hongwei; Yin, Jingdong; Chen, Yu; Pang, Xinzhi; Vajta, Gabor; Bolund, Lars; Du, Yutao; Ma, Runlin Z. *Cellular Reprogramming*, **14** (3), 258-266 (2012)
- 101) Hua, Wen-jun; Liu, Xi-mei; Cheng, Ni; Qiao, Xian-feng; Zheng, Xin-min. *Jiangxi Nongye Xuebao*, **24** (5), 127-129 (2012)

カテゴリー	魚の種類	発現させた組換えタンパク (機能)	開発国	文献
バイオリクター	ティラピア	ヒト化したインシュリン	カナダ	1
	ティラピア	ヒト化したインシュリン	カナダ	2
	ティラピア	ヒト化したティラピアインシュリン	カナダ	3
	ゼブラフィッシュ	ティラピアインシュリン様生長因子-1, 2	台湾	4
病原菌への耐性付与	ゼブラフィッシュ	ティラピアヘプシジン2-3	台湾	5
	ゼブラフィッシュ	epinecidin-1	台湾	6
	ゼブラフィッシュ	ウシlactoferricin	台湾	7
	ゼブラフィッシュ	ティラピアヘプシジン1-5、エビchelonianin	台湾	8
	rare minnow	rare minnow Mx様タンパク	中国	9
	微細藻類	ウシlactoferricin-DsRed融合タンパク	台湾	10
環境ストレスへの耐性付与	ゼブラフィッシュ	Vitreoscillaヘモグロビン (低濃度酸素に耐性)	中国	11
環境モニタリング	メダカ	GFP (エストロジェンの検出)	日本	12
	メダカ	choriogenin-GFP融合タンパク (エストロジェンの検出)	バングラディッシュ	13
	ゼブラフィッシュ	ルシフェラーゼ-GFP (水銀の検出)	米国	14
	ゼブラフィッシュ	GFP (エストロジェンの検出)	中国	15
	ゼブラフィッシュ	GFP (エストロジェン様物質の検出)	韓国	16
	ゼブラフィッシュ	GFP (PCBの検出)	香港	17
	メダカ	GFP (内分泌攪乱物質の評価)	日本	18
	観賞用	ゼブラフィッシュ	青色蛍光タンパク	米国
ゼブラフィッシュ		FP635蛍光タンパク (紫色の蛍光を発する)	米国	20

表1 非食用モダンバイオテクノロジー応用魚の研究報告 (2008-2012年)

略語: Discosoma sp. red fluorescent protein (DsRed), green fluorescent protein (GFP), poly chlorinated biphenyl (PCB)

カテゴリー	生産物(特徴)	開発国	文献
バイオリクター	ヒト顆粒状コロニー刺激因子	韓国	21
	ヒトエリスロポエチン	日本	22
	ヒト卵巣刺激ホルモン	イスラエル	23
	ヒトエリスロポエチン/Fc融合タンパク	日本	24
	ヒトエリスロポエチン	韓国	25
	ニワトリ卵白リゾチーム/杉花粉アレルギーの7つの主要ヒトT細胞エピトープに由来するペプチド	日本	26
	ヒト成長ホルモン	日本	27
	ヒトエリスロポエチン, 腫瘍壊死因子受容体, 一本鎖Fv /Fc断片	日本	28
病原菌への耐性付与	ニューカッスル病ウイルスのヘマグルチニン-ノイラミニダーゼタンパク (ウイルスに対して耐性)	米国	29
	鳥インフルエンザウイルスのポリメラーゼを阻害するshRNA (インフルエンザの伝達を抑制する)	イギリス	30

表2 非食用モダンバイオテクノロジー応用ニワトリの研究報告 (2008-2012年)

略語: small hairpin RNA (shRNA), fragment crystallizable (Fc)

GMブタの種類 (調査)	開発国	文献
GT-KO, hCD46 (心臓を霊長類へ移植した)	米国	31
GT-KO, hDAF (組織をヒビへ移植した)	米国	32
GT-KO, GT-KO/HT, hCD46, GT-KO/hCD46 (PBMCとPAECをヒトまたはヒトの血清に曝した)	米国	33
HLA-DR15+ (皮膚をマウスへ移植した)	台湾	34
HLA-DR15+ (皮膚をマウスへ移植した)	台湾	35
HT (軟骨の性質を調べた)	米国	36
hDAF (PAECをヒト血清へ曝した)	台湾	37
PERVに特異的なshRNA (PERVの発現をノックダウンした)	ドイツ	38
hA20 (PAECと心臓を調べた)	ドイツ	39
hCD59/hDAF/ヒトトロンボモジュリン	ドイツ	40
ブタ CTLA4-Ig GT-KO/ブタ CTLA4-Ig	米国	41
GT-KO, GT-KO/hCD46 (脾臓をサルへ移植した)	米国	42
PERVのgagとpol遺伝子に対するsiRNA	米国	43
hDAF, GT-KO (腎臓と心臓を移植した)	米国	44
複数の遺伝子を導入(PERVの発現を調べた)	ドイツ	45
HLA-E/ヒトβ2-ミクログロブリン (リンパ芽球と内皮細胞を調べた)	ドイツ	46
hCD55, hCD59, hCD46 (皮膚をヒトの血清に曝した)	スペイン	47
GT-KO, hCD46 (PBMCを調べた)	米国	48
hCD59	韓国	49
hHO1/hCD39/hCD73	イタリア	50
hDAF(+), hDAF(+)/hHO-1(+), hDAF(+)/hHO-1(-) (PAECをサルの血清へ曝した)	台湾	51
GT-KO, GT-KO/hCD46 (腎臓をヒビへ移植した)	米国	52
GT-KO/hCD46 (心臓をヒビへ移植した)	ドイツ	53
GT-KO, GT-KO/hCD46 (肝臓をヒビへ移植した)	米国	54
GT-KO (肝細胞をヒトまたはヒトの血清に曝した)	米国	55
GT-KO, hCD46, hTFPI (PAECをヒトの血清へ曝した)	米国	56
GT-KO, GT-KO/hCD46(肝臓をヒビへ移植した)	米国	57
GT-KO/hCD46 (肝臓をヒビへ移植した)	米国	58
GT-KO, hCD55, hCD59, hCD39, hHT (腎臓をヒビへ移植した)	フランス	59
hCD46 (心臓をヒビへ移植した)	ドイツ	60
GT-KO, GT-KO/hCD46 (間葉性間質細胞を調べた)	米国	61
水溶性ヒト腫瘍壊死因子α受容体1-Fc融合タンパク	韓国	62
hCD47 (Bリンパ細胞をマウスへ移植した)	不明	63
GT-KO (肺をヒトの血液でかん流した)	米国	64
不明(線維芽細胞をヒトまたはヒトの血清または血漿へ曝した)	スペイン	65
hDAF, hTFPI-hCD4融合タンパク	韓国	66
GTKO (肝細胞の性質を調べた)	米国	67
hHO-1(酸化的ストレスから線維芽細胞を守る)	韓国	68
GTKO, GTKO/CD46 (肝をヒビへ移植)	米国	69
グルカゴン様ペプチド1 (高グルカゴン濃度を達成)	ベルギー	70

表3 非食用モダンバイオテクノロジー応用ブタを作成した研究報告(2008-2012年、臓器移植用)

GMブタの種類(調査)	開発国	文献
GTKO/TFPI, CD39, ヒルジン, トロンボモジュリン, 内皮細胞プロテインC受容体, CTLA4, A20, FAT-1, 水溶性腫瘍壊死因子 α 受容体	米国	71
CTLA-4Igの高親和型(LEA29Y)(島細胞塊をマウスに移植して拒絶反応を抑制)	ドイツ	72
GTKO/CD46(心臓をヒヒへ移植)	米国	73
GTKO/CD46(脂肪の間葉性間質細胞の性質を調べた)	米国	74
GTKO, GTKO/CD46(肝臓をヒヒへ移植)	米国	75
GTKO, GTKO/CD46, GTKO/CD46/CD55, GTKO/CD46/トロンボモジュリン(ブタと霊長類における血液学的、生化学的、凝固のパラメーターを調べた)	米国	76
GTKO(大動脈内皮細胞の性質を調べた)	米国	77
ヒトロンボモジュリン(内皮細胞で発現)	日本	78
PERV特異的pol2 shRNA(発現を長期間観察)	ドイツ	79
huTRAIL, huTRAIL/GGTA1KO/CD46(Jurkatリンパ腫細胞へのアポトーシス誘導効果あり)	ドイツ	80
CD46(ブタウイルスの感染に影響なし)	米国	81

表3 非食用モダンバイオテクノロジー応用ブタを作成した研究報告(2008-2012年、臓器移植用) 続き

略語: α 1, 3-galactosyltransferase knockout (GTKO), human (h), complement regulatory (CD), decay acceleration factor (DAF), peripheral blood mononuclear cell (PBMC), porcine aortic endothelial cell (PAEC), human leukocyte antigen (HLA), H-transferase (HT), porcine endogenous retrovirus (PERV), cytotoxic T lymphocyte-associated antigen (CTLA), heme-oxygenase (HO), tissue factor pathway inhibitor (TFPI), fusion proteins of CTLA4 and antibodies (CTLA4-Ig), human tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (huTRAIL), glycoprotein galactosyltransferase alpha 1, 3 knockout (GGTA1KO)