

201234037A

厚生労働科学研究費補助金

食品の安全確保推進研究事業

新開発バイオテクノロジー応用食品の  
安全性確保並びに国民受容に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

(H24-食品-一般-005)

研究代表者 手島 玲子

平成25年3月

# 目次

## I. 総括研究報告書

- 新開発バイオテクノロジー応用食品の安全性確保並びに  
国民受容に関する研究  
手島 玲子

..... 1

## II. 分担研究報告書

### 1. 遺伝子組換え生物の動向調査

手島 玲子

- (i) 薬用 GM 植物の開発状況・生産実態の調査研究 ..... 9

- (ii) ゲノム編集動物由来食品の安全性評価に関する研究 ..... 25

### 2. 組換え魚の安全性に関する研究

名古屋 博之

..... 33

### 3. 組換え微生物の安全性に関する研究

五十君 静信

..... 37

### 4. 遺伝子組換え食品の国民受容に関する研究

今村 知明

..... 43

### 5. 遺伝子組換え体の安全性に関するポストゲノム手法導入のための 調査研究(1)~(2)

小関 良宏

..... 101

### 6. バイオテクノロジー応用食品のメタボローム解析

太田 大策

..... 111

### 7. 遺伝子組換え植物のアレルギー性評価並びにプロテオーム解析

手島 玲子

..... 121

### 8. 組換え生物の検知技術の開発

近藤 一成

..... 137

## III. 研究成果の刊行に関する一覧表

..... 157

## 新開発バイオテクノロジー応用食品の安全性確保並びに国民受容に関する研究

研究代表者 手島 玲子 国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部 部長

### 研究要旨:

生産性の向上や栄養付加を目的として開発されている新開発バイオテクノロジー応用食品の安全性確保並びに国民受容に関する研究を遂行するため、1主任研究者、6分担研究者を中心として、16機関にわたる研究グループを組織した。(1)多様化、複雑化する新機能遺伝子組換え食品の安全性評価に対応するためのオミックス手法の整備、定量解析手法の開発並びに規格への反映化をめざすための科学的知見の蓄積、(2)消費者に受容されにくい状況が続いている組換え食品の本質的原因の究明並びに社会的受容の促進を大きな柱とし、(3)組換え食品の違法な流通を監視するための未承認組換え食品の検出技術の開発及び合法的な流通を検証するためのスタック品種の検査法についての検討を行った。なお、(1)の対象となる新機能遺伝子組換え食品には、代謝改変や環境抵抗性に関わる機能性タンパク質が新機能として付与された遺伝子組換え植物およびそれらの後代交配品種スタックに加えて、植物以外のニワトリやサケ等の遺伝子組換え生物も含めることとした。

### 研究分担者

今村 知明	奈良県立医科大学 健康政策医学講座 教授
小関 良宏	東京農工大学工学部 教授
太田 大策	大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科 教授
五十君 静信	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 室長
名古屋 博之	水産総合研究センター 増養殖研究所 グループ長
近藤 一成	国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部 室長

### A. 研究目的

本研究は、多様化、複雑化する新機能遺伝子組換え食品の安全性確保のための科学的知見の蓄積、当該食品並びに未承認組換え食品の検知に関する試験法の確立、安全性審査基準への反映並びに社会的受容の促進を図るためのリスクコミュニケーションを行うことを目的とする。

### B. 研究方法

生産性の向上や栄養付加を目的として開発されている新開発バイオテクノロジー応用植物由来食品の安全性評価のためのポストゲノム(網羅的オミックス)手法を用いる意図的並びに非意図的生成物の解析のための研究を小関班員、太田班員、手島班員、組換え微生物または遺伝子組換え魚由来食品の安全性評価のための研究を五十君班員、名古屋班員が担当した。安全性確保に有用な試験方法の確立のための遺伝子組換え体の検知に関する研究を近藤班員、が担当し、研究代表者は、研究班全体の総括を行った。また、遺伝子組換え食品に関する開発・実用化の動向や安全性に関する調査研究の一環として、リスクコミュニケーション(遺伝子組換え食品の社会的受容に関する研究)に関する調査が奈良県立医科大学で、遺伝子組換え薬用植物に関する文献調査が医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター筑波研究部で、遺伝子組換え動物の開発並びに調査研究が広島大学生物圏科学研究科で行われ、研究代表者がとりまとめを行った。

## C. 結果およびD. 考察

### 遺伝子組換え食品の国民受容に関する研究：

遺伝子組換え作物・食品に関するリスクコミュニケーションについて、今後我が国で取り組むべき方策に対する示唆を得るため、遺伝子組換え作物・食品の社会的受容の調査研究として、①社会的受容の推移の調査、②社会的受容の水準の調査、③社会的受容の海外との比較調査、④消費者と専門家の認識のギャップの調査を実施した。また、リスクコミュニケーション方策の調査研究として、⑤遺伝子組換え動物に係るリスクコミュニケーションの先進的取り組みの調査を実施した。

①社会的受容の推移の調査：GM食品に対する社会的受容の動向を把握するため、新聞報道に関する調査を実施した。その結果、新聞の報道量については、1999年の沖縄サミット関連の記事と、2000年の遺伝子組み換え表示の義務化が報道量のピークであった。2000年代は報道量が少ない状況が続いているが、報道がゼロになる年はなく、1990年代より報道量が多い状態が続いていた。GM食品に関する新聞記事の見出しに使われる単語は、記事検索に使用した単語（遺伝子、組み換え、GM、食品）を除くと、「表示」、「安全」、「米（米国）」、「サミット」、「作物」、「消費」などの出現頻度が高く、食品としての安全性についての報道が多いことがうかがえた。GM食品に関する記事における単語の組合せ数は、「表示」と「義務」の組合せが最も多く、ついで「沖縄」と「サミット」の組合せ、その次に「農水省」と「表示」の組合せが多く、記事数のピークにおけるトピックスが類推できる結果となった。また、4番目に多いのは「食」と「安全」の組合せで、GM食品が食品の安全性と合わせて報道されることが多いことがうかがえた。

②社会的受容の水準の調査：GM食品と他のリスクに関する問題を抱える食品との比較調査を行った。具体的には、福島第一原発事故に関する食品との比較と、添加物との比較を消費者アンケート調査により行った。福島第一原発事故に関する食品や、添加物など、一般的に消費者の抵抗感

が根強い食品と比較してもGM食品の受容性は低いことが、WTP(支払意思額)の調査から明らかとなった。また、リスクに対する認知状況は約50%と、「ふぐ」、「生レバー」、「放射性物質」などと比較すると低く、「生卵」と同程度、「添加物」と比較すると高い認知状況であった。一方で、摂食意向になると37.5%と、「生卵」の84.8%、「ふぐ」の63.9%と実害が存在するにも関わらず食品として流通している品目よりも低かった。厚生労働省の指導により規制されたことが記憶に新しい「生レバー」の25.8%に近くなり、安全な食品として認知されているとは言い難い状況が続いていた。一方で、「添加物」については、リスクの認知状況は30~40%程度、家族に食べさせる場合の摂食意向は50%程度と低いにも関わらず、自分が食べる場合の摂食意向は80%を超えていた。これは、一部の消費者の根強い抵抗にもかかわらず、長年食品に添加され食べられてきた経験によって、「添加物」が食べても問題ないものとして受け入れられていることを示していると考えられた。

③社会的受容の海外との比較調査：GM作物・食品に対するこれまでの社会的論争の経緯や規制、流通状況は調査対象とする各国で異なっており、これらのGM作物・食品を取り巻く社会的環境を踏まえた上で消費者意識の分析を行うことで、消費者に発信すべき情報など、リスクコミュニケーションに対する示唆が得られるものと考えられる。そのため、日本と海外先進諸国の消費者を対象に、GM作物・食品に対する意識調査をwebアンケートにて実施し、GM作物・食品に対する各国の社会的受容を比較分析することとした。平成24年度は、過年度の研究で実施した成果も踏まえて調査仕様を設計した。調査対象国は日本、アメリカ、イギリス、フランスの4か国とし、調査項目として、個人属性、食品安全に関する意識、GM生物・食品に対する意識、GM食品に対する支払意思額、GM食品のリスクやリスクコミュニケーションに対する意識の項目を設けた。

④消費者と専門家の認識のギャップの調査：専門家の食品リスクに対する意識や食品安全に係



るコミュニケーションに対する意識をアンケートで把握するとともに、筆者らが過年度に消費者を対象に実施したwebアンケートの結果との比較分析を行った。専門家へのアンケートは、日本植物細胞分子生物学会が主催した公開シンポジウム「遺伝子組換え食品の最前線」(2012年11月3日 東京)にて、シンポジウムに参加した専門家に紙面によるアンケート調査票を配布し、同日会場にて調査票を回収した。調査項目は、食品安全に関する意識、GM生物・食品に対する意識、GM食品のリスクコミュニケーションに対する意識、個人属性とした。専門家と消費者両者へのアンケート調査の結果、(i)消費者のGM食品リスクに対する認識として、消費者自身も、「たいていの人はGM食品のリスクを理解できていない」に対して90%程が肯定しており、この点については、専門家も共通の認識を持っていることから、「GM食品」のように、馴染みがなく実態のよくわからない食品については、リスクが正しく認知されていないものと思われた。(ii)「科学的なデータ」、「分かりやすい説明」があれば、GM食品を受け入れられるという考えについては、専門家より消費者の方が肯定的であり、その割合は50%強であった。一方、「遺伝子組換え技術についてはどれだけ説明しても理解できない」について肯定する割合は、消費者では62%、専門家では42%であった。このことから、わかりやすくかつ客観的な評価であると共感されれば、専門家が思っている以上に消費者のGM食品の受容性は高まるものと考えられた。一方、専門家が思っている以上に、消費者は遺伝子組換え技術の理解に対して高いハードルを感じており、消費者とコミュニケーションを図る際には、難しいと感じさせない工夫が必要であると思われた。(iii)「どの食品にも安全上のリスクがある」ことが理解されれば、GM食品を受け入れられるという考えについては、消費者の方が否定的であった。他の食品と比較して云々ではなく、いかにGM食品自体の安全性、安心感に共感が得られるかが重要であることがうかがえた。

⑤遺伝子組換え動物に係るリスクコミュニケーションの先進的取り組みの調査：、日本におけ

るGM動物に関するリスクコミュニケーションへの示唆を得るために、欧米におけるGM動物に係る行政の最新動向を整理した。GM動物のリスクアセスメントについては、CODEXのガイドラインを基に、米国、EUにおいても関連組織で議論され、ガイドライン策定等の対応がとられており、リスクマネジメントやリスクコミュニケーションについては、従来のGMOの枠組みでの対応を基本とし、今後、知識や経験の蓄積を踏まえた改定が予定されていることが判明した。

なお、米国では、GMサーモンが環境に与える重要な影響はないとされ、FDAがGMサーモンを承認した場合、世界で食品として初めて承認された遺伝子組み換え動物となる見込みであり、こうした動向を踏まえ、我が国においても早急に対応を図る必要があるものと考えられた。

#### 薬用遺伝子組換え植物の開発状況・生産実態の調査に関する研究：

2008-2012年の米国における薬用及び環境浄化用GM植物の野外圃場栽培認可・作付け状況を調査した。2008年から2010年にかけては認可面積、作付け面積ともに減少し、2012年は作付けが行われていないことが判明した。また、植物で抗体医薬やワクチンの製造を行っているカナダの企業を調査した結果、調査した2社はいずれもタバコ属植物をホストに、組換え植物ウイルスや、組換えアグロバクテリウムを感染させる、一過的な遺伝子発現によるタンパク質生産システムを利用し、閉鎖型栽培施設(温室)で医薬品類の生産を行っている現状が判明した。遺伝子組換え(GM)植物のうち、人や家畜などの動物の健康に影響を与える成分を生産する植物を「薬用GM植物」と定め、その開発及び生産に関する情報を環境浄化目的の植物に関する情報とともに収集した。また、新規植物育種法(NBT: New Breeding Techniques)の開発状況を調査した。分類するカテゴリーとして、機能性食品、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、環境浄化及びNBTの9種類を設定した。2012年の国内学会では、25件の情報が得られ、その内訳は、

機能性食品：7 件、経口ワクチン：1 件、食用医薬：2 件、ワクチン抗原：0 件、抗体医薬：1 件、治療薬：6 件、診断薬・試薬：1 件、環境浄化：2 件、NBT：5 件であった。また、SciFinder®により、キーワード「transgenic plant」で 2012 年に公表・出版された論文等を調査した結果、66 件が得られ、その内訳は、機能性食品：21 件、経口ワクチン：4 件、食用医薬：1 件、ワクチン抗原：4 件、抗体医薬：3 件、治療薬：13 件、診断薬・試薬：3 件、環境浄化：13 件、NBT：5 件（重複 1 件）であり、特に機能性食品、治療薬及び環境浄化の件数が多かった。また、2012 年の国別の件数は、中国：32 件と中国が全件の半数近くを占め、そのほとんどは中国国内の特許であった。

#### 遺伝子組換え動物の安全性評価に関する調査研究：

人工ヌクレアーゼを用いたゲノム編集技術は、新しい農畜産物の育種技術として注目されている。そこで本研究では、本技術を用いて今後開発される食品を想定し、食品としての安全性を担保する上で必要な科学的な要件を整理することを目的とした。平成 24 年度は、ゲノム編集技術を用いたアレルゲンの遺伝子ノックアウトを想定し、鶏卵をモデルケースにアレルゲン破壊人工ヌクレアーゼエフェクターの設計並びに構築、ニワトリ多能性幹細胞へのエフェクターの導入条件を検討した。その結果、対照として利用する緑色蛍光タンパク質遺伝子（GFP）とアレルゲン破壊人工ヌクレアーゼエフェクターの設計と構築を終了させた。また対照である GFP 破壊人工ヌクレアーゼエフェクターを用いて導入条件を決定し、GFP 発現胚性幹（ES）細胞において、GFP 遺伝子に変異が導入され GFP のノックアウトが観察された。さらにアレルゲン破壊人工ヌクレアーゼエフェクターの設計と構築を行なった。

#### 遺伝子組換え魚の安全性に関する研究：

米国において成長ホルモン（GH）遺伝子を導入した遺伝子組換え大西洋サケは FDA の審査が終了し、パブリックコメントを求めている状況になっ

た。また、その他の国でもコイ、ティラピア、ギンザケ等で遺伝子組換え魚を作出し、一部では食用として利用することを想定している。遺伝子組換え魚の安全性に関する資料は AquaBounty Technologies 社が FDA の審査を受ける際に提出した資料が公開されているだけで、その他の魚類で安全性に係わる資料が公開された例はない。そこで、日本で開発されている GH 遺伝子を導入した遺伝子組換えアマゴを実験動物として、安全性に関する研究を行う。本年度は現在用いている遺伝子組換えアマゴに導入した配列にベクター領域が含まれていることから、遺伝子組換え大西洋サケと同様にベクター領域を除去したプロモーターと GH 遺伝子のみの配列をアマゴにマイクロインジェクションして新しい系統の作出を試みるとともに、未だ明確な報告がなされていない GH 遺伝子組換え魚の高成長とエネルギー生産系に関するシステムを脂質代謝の視点から解析することを目的とした。さらに、GH 遺伝子組換え魚でみられる臓器の形態形成異常に関連する遺伝子発現のプロファイルを明らかにすることも目的とした。その結果、本研究で行った網羅的イリミナ解析によって、GH transgenic アマゴは肝臓での脂肪酸の異化作用を活発にさせることで、高成長の維持に必要なエネルギーを生産していることが明らかとなった。また、GH transgenic アマゴ肝臓の形態変化には微小管繊維の減少や安定性の低下が関与していることが示唆された。また、現在アメリカで行われている遺伝子組換え大西洋サケの審査における状況は FDA によって求められた環境アセスメントを行った結果を提出し、その審査も終了し、最終的なパブリックコメントを求めている、当初 60 日間としていた期間が、更に延長されている状況である。

#### 組換え微生物の安全性に関する研究

組換え微生物を実用化するにあたって障害となっており、検討が必要とされている安全性に関する項目としては、組換え微生物の免疫系への影響評価や腸内フローラを介した健康影響が重要であるとされている。本年度は遺伝子組換え技術

を用いてモデル組換え乳酸菌を作出し、それらの組換え体を用いて細胞や実験動物を用いた実験により、上述の組換え微生物の安全性に関する知見を集積すると共に、安全性評価手法の開発を行った。具体的には、大腸菌と乳酸菌を宿主として、M細胞への取り込みに重要な働きをすることが知られているエルシニアの Invasin を発現する遺伝子組換え体を作成し、ヒト腸管モデル細胞 C2BBe1 単層膜を用いて、評価を行った。大腸菌では、Invasin を発現する組換え体で取り込みが増強されたのに対し、乳酸菌組換え体ではそのような取り込みの増強は確認できなかった。大腸菌組換え体の取り込みの増強は、クラスリンを介した取り込み機構が主であることが確認された。今回の細胞を用いた評価系が示した結果は、動物やヒトの M 細胞でも実際に同様に起こっているかは大変興味深く、今後更なる検討が必要と思われた。

#### 遺伝子組換え体のトランスクリプトーム解析並びに成分分析

アスタキサンチン合成レタスと低アレルギーコメについてトランスクリプトーム解析を行った。なお、レタスに関しては、植物種が異なるが、遺伝子情報が最も多く蓄積されているシロイヌナズナ用の DNA マイクロアレイを用いて解析を行った。信頼性の高いデータはマイクロアレイ上の遺伝子の約 10%程度であったが、植物種間でよく保存されている遺伝子についての解析の可能性が示されたものと考えられた。低アレルギーコメのトランスクリプトーム解析では、コメ用のアレイを用い、約 7 割のスポットにおいて信頼性の高いデータが得られた。解析の結果、アスタキサンチン合成レタスでは非組換え体と比較して大きな変化は認められなかったが、低アレルギーコメについてはアレルギータンパク質をコードする遺伝子の発現が顕著に低下していることが認められた。

遺伝子組換えモデル植物の作出については環境抵抗性向上効果が期待される遺伝子 2 種についてそれぞれ遺伝子組換えしたシロイヌナズナを用いて、それらの交配後代を獲得し、それぞれにおいて組換えた遺伝子が発現していることを確

認した。平成 25 年度これらの系統についてオミクス手法を用いた網羅的な解析を行う予定である。

食品成分分析としては、平成 24 年度は遺伝子組換えアマゴを用いて行った。その結果、遺伝子組換え体では脂質含量が低下しそのエネルギー量が大きく減少した。コレステロール等には差異がなく、アシルグリセロール類が大きく減少していることが想定された。また、組換え体では不飽和脂肪酸の含量も低いことがわかった。当該試験から、組換えアマゴでは「脂ののり」が悪い、水っぽい特性を有する事が明らかとなった。しかし、非組換え体の採取時期が冬場であることを勘案し、こうした性質が遺伝子導入によって引き起こされたのか、季節要因も取り入れた慎重な評価が必要であると考えられた。

#### 遺伝子組換え体のメタボローム解析

質量分析を基盤としたメタボローム分析によってバイオテクノロジー食品の成分を網羅的に解析し、その安全性検証のための情報を取得することを目的として研究を行った。平成 24 年度は、バイオテクノロジー食品試料として、海洋微生物由来の *idi* (isopentenyl pyrophosphate-isomerase)、*crtW* ( $\beta$ -carotene ketolase) および *crtZ* ( $\beta$ -carotene hydroxylase) を導入し、アスタキサンチン産生能力を高めた遺伝子組換えレタスを分析サンプルとして供試した。供試サンプルから 80%メタノール抽出物を調製し LC-LIT-TOF/MS によるメタボローム解析を実施した(112 種類の代謝物分析プラットフォームにおいて、29 種類の代謝物を同定・定量)。その結果、アスタキサンチンを高産生する組換えレタスでは、*idi* 遺伝子の導入によって、解糖系中間体を經由したイソプレノイド生合成とカロテノイド生合成の促進を実証する広範な代謝変動を認めた。これらの代謝変動は代謝生化学的に理解することが可能であった。

本研究で供試したアスタキサンチン高産生レタスに代表されるように、意図的に機能性成分や有用成分を高産生させるための代謝機能改変を施した作物では、非組換え体と比較して代謝成分に

差異が認められることは自明である。このようなバイオテクノロジー食品と従来型食品の間で認められる質的変化を科学的実証データに基いて正しく評価し、特性を判定する基準作成が必要と思われた。

#### 遺伝子組換え体のアレルギー性評価並びにプロテオーム解析:

平成 24 年度は、新開発バイオテクノロジー応用食品の安全性確保に関するアレルギー性評価並びにプロテオーム解析に関する調査研究として、(1)アスタキサンチン産生レタスを用いたアレルギーを含むタンパク質の網羅的解析、(2)動物を用いる組換えレタスのアレルギー性の検討、(3)低アレルギーコメを用いたタンパク質の網羅的解析、(4)アレルギーデータベース (ADFS) のアレルギー及びエピトープ情報の更新を行った。具体的には、(1) 2D-DIGE 法を用いた発現差異解析の結果、アスタキサンチン発現レタス中のタンパク質はすべて、非組換え対照との発現差が 2 倍以内であった。レタスアレルギー LTP の定量には可溶性タンパク質を抽出後、さらに CM による精製が必要であると考えられた。(2) 非組換えレタスあるいはアスタキサンチン遺伝子導入レタスの抽出蛋白質で感作されたマウスが示したアナフィラキシー症状のスコアに差は認められず、抗原特異的 IgG1 抗体価は両群ともほとんど検出されなかったことから、アスタキサンチン遺伝子導入レタスの食物アレルギー性は非組換えレタスと同様に低いと考えられた。(3) 2D-DIGE 法を用いた発現差異解析の結果、ターゲットタンパク質である RAG2 ファミリータンパク質の発現減少および、非ターゲットの Glutenin の発現増加が明らかとなった。(4)ADFS のアレルギー及びエピトープ情報の更新を行い、新たに 33 種のアレルギーについて、総エピトープ数 191 の情報を追加し、本年度のアレルギーおよびエピトープ情報更新作業により、アレルギーおよびイソアレルギーのアミノ酸配列情報は 1407 となり、また、エピトープ既知のアレルギー数は 132 種となった。

#### 組換え生物の検知技術の開発に関する研究:

(1) ヒヨコマメ内在性遺伝子検知法の開発: 近年、インドやバングラディッシュで害虫抵抗性を獲得させた商業栽培用の遺伝子組換え (GM) ヒヨコマメが開発されている。我が国では、GM ヒヨコマメは安全性未承認であるため、今後、GM ヒヨコマメの食品への混入に関し監視が必要となる。そこで、ヒヨコマメの陽性対照試験としてヒヨコマメに特異的な内在性遺伝子の検知法が必要であるため、本研究では、ヒヨコマメに特異的で染色体上に 1 コピーのみ存在する遺伝子のクローニングを試みた。(2) コメ陽性対照用プライマー及びプローブの比較検討: 定性リアルタイム PCR を用いた GM コメの食品への混入に関する検査は、様々な原材料から構成された加工度の高いコメ加工食品を対象としている。そのため、検査系が正しく機能していることを評価するための陽性対照コントロールには、高い検出感度が得られかつ特異性に優れたコメの内在性遺伝子配列を見出す必要がある。そこで、本研究では、4 種のコメ内在性遺伝子配列を標的に構築した定性リアルタイム PCR 用プライマー・プローブセットを用い、コメ内在性遺伝子の検出感度、特異性及び増幅効率について比較検討した。(3) リアルタイム PCR を用いた GM 作物スクリーニング検査法の開発: 現在、作物の形質転換時に導入されたベクターの構造配列またはゲノムとの境界領域配列を検出する規定の PCR 法を用いて GM 作物の食品への混入に関する検査が実施されている。しかし、世界では様々な GM 作物の開発が進められており、未承認 GM 作物の食品への意図しない混入を網羅的に検出可能な方法が必要とされている。未知の GM 作物の混入を効率的に検知するためには、試験対象とする GM 作物を特定せず一度に幅広く検知するスクリーニング技術が必要となる。本研究では、食品に混入した GM 作物のスクリーニング法の開発を行った。(4) バスマティ米への GM コメ混入に関する実態調査: 欧州食品・飼料緊急警告システム (RASFF) は、2012 年にパキスタンやインドから欧州連合 (EU) へ輸出されたバスマティ米にカリフラワーモザイクウ



ィルス 35S プロモーター (P35S) 及びノパリンシ  
ンターゼターミネーター (tNos) を有する形質転  
換用ベクターの構造配列が導入された害虫抵抗  
性 GM コメの混入を確認し報告した。そこで、リ  
アルタイム PCR を使用し我が国に輸入されたパ  
キスタン及びインド産バスマティ米の GM コメ混  
入スクリーニング検査を行った。

## E. 結論

生産性の向上や栄養付加を目的として開発さ  
れている新開発バイオテクノロジー応用食品の  
より一層の安全性確保のため、安全性評価に資す  
るための研究として、アスタキサンチン産生レタ  
ス及び低アレルギー化コメをモデル植物として  
用い、意図的並びに非意図的影響を知るためのポ  
ストゲノム手法による解析を行い、非組換え体と  
の発現の違いの解析、遺伝子組換えにより発現の  
違いのみられる mRNA、代謝産物、タンパク質の  
同定を行い、規格への反映化をめざすための科学  
的知見の蓄積を行った。また、2 種以上の形質を  
掛け合わせたいわゆるスタック品種の安全性試  
験に資するためのモデル植物として、環境抵抗性  
向上効果が期待される遺伝子 2 種をそれぞれ遺伝  
子組換えしたシロイヌナズナの交配後代を獲得し、  
次年度の研究に供することとした。また、遺伝  
子組換え食品の検知については、安全性未審査  
の遺伝子組換え作物(東南アジア産ヒヨコマメ、  
中国産 BT 米、東南アジア産バスマチィ米)の定性  
試験法を開発し、また、未承認の GM 作物を幅広  
く検知するためのスクリーニング法の開発も行  
った。社会的受容に関する調査研究では遺伝子組  
換え作物・食品の社会的受容の調査研究として、  
社会的受容の推移の調査、社会的受容の水準の調  
査、社会的受容の海外との比較調査、消費者と専  
門家の認識のギャップの調査を実施し、また、リ  
スクコミュニケーション方策の調査研究として、  
遺伝子組換え動物に係るリスクコミュニケーション  
の先進的取り組みの調査を実施した。さらに、  
組換え微生物を用いた食品や遺伝子組換え魚、遺  
伝子組換え動物、遺伝子組換え薬用植物の諸外国  
での開発動向、各国の規制状況等についても調査

が行われ、今後の組換え動物のガイドライン作成  
に向けた各国の準備状況の調査も行われた。

バイオテクノロジー応用食品については、多様  
化、複雑化する新機能遺伝子組換え食品が開発さ  
れている現状に鑑みて、新開発食品の安全性に関  
する研究、当該食品の検知に関する試験法の確立  
は、安全性審査への反映、監視体制に直接つなが  
る社会的に要請の高い研究である。これら研究を  
さらに進めると共に、社会的受容に関する研究等  
も持続することにより、透明性を確保しつつ、よ  
り一層の安全確保、消費者の不安解消に努める必  
要があると考えられる。

## F. 研究発表

個別の研究報告書に記載済み。

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)  
「新開発バイオテクノロジー応用食品の安全性確保並びに国民受容に関する研究」  
分担研究報告書(平成24年度)

薬用 GM 植物の開発状況・生産実態の調査研究

研究分担者 手島 玲子 国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部 部長

研究要旨：

2008-2012年の米国における薬用及び環境浄化用 GM 植物の野外圃場栽培認可・作付け状況を調査した。2008年から2010年にかけては認可面積、作付け面積ともに減少し、2012年は作付けが行われていないことが判明した。また、植物で抗体医薬やワクチンの製造を行っているカナダの企業を調査した結果、調査した2社はいずれもタバコ属植物をホストに、組換え植物ウイルスや、組換えアグロバクテリウムを感染させる、一過的な遺伝子発現によるタンパク質生産システムを利用し、閉鎖型栽培施設(温室)で医薬品類の生産を行っている現状が判明した。遺伝子組換え(GM)植物のうち、人や家畜などの動物の健康に影響を与える成分を生産する植物を「薬用 GM 植物」と定め、その開発及び生産に関する情報を環境浄化目的の植物に関する情報とともに収集した。また、新規植物育種法(NBT: New Breeding Techniques)の開発状況を調査した。分類するカテゴリーとして、機能性食品、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、環境浄化及びNBTの9種類を設定した。2012年の国内学会では、25件の情報が得られ、その内訳は、機能性食品:7件、経口ワクチン:1件、食用医薬:2件、ワクチン抗原:0件、抗体医薬:1件、治療薬:6件、診断薬・試薬:1件、環境浄化:2件、NBT:5件であった。また、SciFinder®により、キーワード「transgenic plant」で2012年に公表・出版された論文等を調査した結果、66件が得られ、その内訳は、機能性食品:21件、経口ワクチン:4件、食用医薬:1件、ワクチン抗原:4件、抗体医薬:3件、治療薬:13件、診断薬・試薬:3件、環境浄化:13件、NBT:5件(重複1件)であり、特に機能性食品、治療薬及び環境浄化の件数が多かった。また、2012年の国別の件数は、中国:32件と中国が全件の半数近くを占め、そのほとんどは中国国内の特許であった。

協力研究者

吉松 嘉代 独立行政法人医薬基盤研究所  
薬用植物資源研究センター 室長

A. 研究目的

活発に研究開発が進んでいる高栄養、高機能または医薬品類を生産する遺伝子組換え植物や環境浄化を目的とする遺伝子組換え植物は、外見上は通常の作物と変わらないため見分けがつかず、外国では一般圃場栽培も行われている。このような作物の開発状況及び実態を調査し、把握しておくことは、食品の安全性確保の見地から非常に重要である。そこで本研究では、薬用 GM 植物及び環境浄化 GM 植物の開発状況・生産実態に関する情報を収集して整理し、食品の安全性評価基準作成の一助とする。また、遺伝

子組換え技術は、近年多様化・複雑化し、検知が困難な組換え体の作出が進んでいる。そこで、新規植物育種法(NBT: New Breeding Techniques)の開発状況の調査を行い、食品の安全性確保のための基盤情報を整備する。

B. 研究方法

遺伝子組換え植物のうち、人あるいは牛、豚、鶏等の家畜や動物の健康に影響を与える成分を生産する植物を薬用 GM 植物の範囲と位置づけ、薬用及び環境浄化用 GM 植物に関する情報を文献データベース(Scifinder®)、インターネット検索(Google)、関連学会講演要旨集、雑誌等を用いて調査した。得られた情報は、カテゴリー別に整理し、それぞれの一覧表を作成した。また、同様に NBT に関する情報を収集した。

分類するカテゴリーとして、機能的食品、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、環境浄化及びNBTの9種類を設定した。

### C. 研究結果

1) 2008-2012年の米国における薬用及び環境浄化用GM植物野外圃場栽培申請・認可及び作付け状況

U.S. Department of Agriculture (USDA) Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) の情報公開サイト Release Permits for Pharmaceuticals, Industrials, Value Added Proteins for Human Consumption, or for Phytoremediation Granted or Pending by APHIS

([http://www.aphis.usda.gov/brs/ph\\_permits.html](http://www.aphis.usda.gov/brs/ph_permits.html)) で、2008-2012年の薬用及び環境浄化用GM植物米国野外圃場作付け申請・認可状況を調べた(図1、表1、表2、2013年1月18日公表)。

2008年から2010年にかけては認可面積、作付け面積ともに減少し(図1)、2012年は承認された作物があるにも関わらず、実際の作付けが行われていないことが判明した(表1、表2)。

2) カナダ植物バイオ企業の調査

2012年9月に植物で抗体医薬やワクチンの製造を行っているカナダの企業2社(Plant Form社及びMedicago社)に直接赴き、生産システム、生産物、開発の段階等を調査した(図2-図6)。調査した2社は、いずれも医薬品類の生産ホストとしてタバコ属植物(*Nicotiana benthamiana*)を用い、植物ウイルスを感染、または、アグロバクテリウムを用いて組換えウイルス遺伝子を一過的にタバコの葉で発現させて生産するシステムを利用していた。その概要は以下である。

#### Plant Form社

組換え植物ウイルスを利用したタバコ葉での一過的遺伝子発現システムによる抗体医薬生産(抗がん剤:ハーセプチン、アバスチン、セツキシマブ等)

University of Guelph の Tobacco plant expression technology を応用。

RNAiにより植物型糖であるフコース、キシロースの付加を抑制したタバコを使用。

#### Medicago社(図2-6)

カナダ・ケベック市に本社、USA・ノースカロライナ州に生産施設(図2、図6)。

アグロインフィルトレーション法により、ワクチンとして利用可能なワクチン様粒子(virus like particle: VLP)を構成するウイルス遺伝子(インフルエンザなど)を非組換えタバコの葉で発現させ、ワクチン類を生産(図2、3、5)。

ウイルス遺伝子のシーケンズから、インフルエンザVLPの生産までわずか19日間で可能であるため、パンデミックインフルエンザの第一波の間にワクチンの製造が可能な唯一の方法と紹介されている(図3、4、H5パンデミックインフルエンザVLPはフェーズII段階)。

また、本システムで生産されたインフルエンザワクチンは特別なアジュバンドがなくてもワクチン効果が高い(より少量で従来のワクチンと同様の効果が得られる)ことが紹介された。

3) 2012年に国内学会で公表・出版された薬用、環境浄化用GM植物及びNBTに関する論文等

2012年8月開催の第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウムで公表された薬用、環境浄化用GM植物及びNBTに関する報告を表3に示した。関連報告25件の内訳は、機能的食品:7件、経口ワクチン:1件、食用医薬:2件、ワクチン抗原:0件、抗体医薬:1件、治療薬:6件、診断薬・試薬:1件、環境浄化:2件、NBT:5件で機能的食品及び治療薬に関するものが最も多かった。また、図7に同学会で紹介されたNBTに関する情報をまとめた。

4) 2012年に国内外で公表・出版された薬用、環境浄化用GM植物及びNBTに関する論文等(SciFinder®)

SciFinder®(キーワード:transgenic plant)で調査した2012年に公表・出版された薬用、環境浄化用GM植物及びNBTに関する論文等を表4-8に示した。合計66件の情報が得られ、その内訳は、機能的食品:21件、経口ワクチン:4件、食用医薬:1件、ワクチン抗原:4件、抗体医薬:3件、治療薬:13件、診断薬・試薬:3件、環境浄化:13件、NBT:5件(重複1件)であり、特に機能的食品、治療薬及び環境浄化の件数が多かった(表4-7)。

また、2012年の国別の件数は、中国:32件と

中国が全件の半数近くを占め、そのほとんどは中国国内の特許であった。

#### D. 考察

今回の調査から、薬用・環境浄化用 GM 植物の開発及び野外圃場栽培が活発であった米国、カナダにおいては、急速に野外圃場栽培面積が減少し、医薬品類の生産は、一過的遺伝子発現システムを用いた閉鎖系栽培施設での生産に移行していることが判明した。その一方で、野外圃場栽培状況は不明であるが、本分野において中国での開発例が、ますます活発化していることが判明した。

#### E. 結論

これまで薬用・環境浄化用 GM 植物の開発及び野外圃場栽培が活発であった米国、カナダにおいては、急速に野外圃場栽培面積が減少し、医薬品類の生産は、一過的遺伝子発現システムを用いた閉鎖系栽培施設での生産に移行していることが判明した。国内では、機能性食品及び治療薬に関する件数が多く、国内外では機能性食品、治療薬及び環境浄化の件数が多いことが判明した。また、国内外での件数の半数近くは中国のものであった。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし。

##### 2. 学会発表

なし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし。

##### 2. 実用新案登録

なし。

##### 3. その他

なし。

#### I. 参考文献

1) 小松晃, 大武美樹, 長谷川久和, 牛田かおり, 高岩文雄, 大島正弘, 寺川輝彦: イネ由来改変型

DHDPS の導入と RSIS 法による LKR/SDH 発現抑制を利用した種子におけるリジン高含有イネの作出, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集3Ca-11, p.162, 2012年8月.

2) 大江翔太郎, 齊藤雄飛, 萬代悠太, 尾崎真治, 森田重人, 佐藤茂, 黒田昌治, 川浦香奈子, 荻原保成, 奥西智哉, 増村威宏: コムギ貯蔵タンパク質を発現する形質転換イネ種子を用いた製パン性関連因子の解析, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集3Da-01, p.166, 2012年8月.

3) 松原千枝, 石井祐佳, 吉田薫: フィチン酸の合成および輸送遺伝子の高発現によるフィチン酸合成とリン集積の活性化, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集3Da-10, p.175, 2012年8月.

4) Shin Youngsup, 高橋竜一, 中西啓仁, 山川隆: イネの亜鉛輸送体遺伝子 OsZIP4 を導入したサツマイモの金属含量, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集3Da-11, p.176, 2012年8月.

5) 三浦謙治, 芝勇人, 佐藤文香, 太田賢, Kang Seung Won, 浅高志, 井上眞理, 鎌田博, 江面浩: トマト ICE1 による低温耐性増強及び抗酸化物質の蓄積, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集3Ea-09, p.189, 2012年8月.

6) 黒川奈津子, 平井正良, 高山真理子, 棚瀬(日和佐)京子, 江面浩: ミラクリンタンパク質を例としたトマト成熟果実特異的に目的遺伝子を高発現する技術, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集3Dp-03, p.226, 2012年8月.

7) 梅基直行, 佐々木勝徳, 大山清, 山下まり, 水谷正治, 關光, 齊藤和季, 村中俊哉: グリコアルカロイドを非常に低下させたジャガイモ, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集2Bp-06, p.64, 2012年8月.

8) 佐生愛, 重光隆成, 齋藤雄飛, 田中愛実, 森田重人, 佐藤茂, 増村威宏: イネ種子 PB-I を経口ワクチン用カプセルとして利用するための外来タンパク質局在化に関する研究, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集3Da-03, p.168, 2012年8月.

9) 高木英典, 楊麗軍, 廣井隆親, 高岩文雄: インターロイキン 10 発現米の開発と疾患モデルマウスを

- 用いた有効性の調査, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Da-14, p.179, 2012年8月.
- 10) 高岩文雄, 王スーイー, 高橋英之, 楊麗軍, 川勝泰二: シラカバ改変 Bet v 1 花粉アレルゲンを蓄積させた組換え米の開発, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Da-15, p.180, 2012年8月.
- 11) 小沢憲二郎, 小郷祐子, 松尾幸毅, 高岩文雄: アグロバクテリウム法による高頻度相同組換え系を用いた  $\beta$  1,2-xylosyltransferase、 $\alpha$  1,3-fucosyltransferase 遺伝子破壊イネの作出と解析, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Dp-14, p.237, 2012年8月.
- 12) 肥塚崇男, 鈴木史朗, 飯島陽子, 杉本貢一, 鈴木秀幸, 渡辺文太, 平竹潤: オイゲノール生合成能を付与した形質転換植物の解析, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 2Bp-02, p. 60, 2012年8月.
- 13) 山崎真巳, 川原田美季, Udomsom Nirin, 斉藤和季: カンプトテシン生産特異的に発現する転写調節因子について, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Ba-07, p. 143, 2012年8月.
- 14) 松島康高, 南博道, 竹村知也, 佐藤文彦: オウレン THBO 遺伝子を導入したハナビシソウ形質転換細胞における代謝改変, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Ba-10, p. 143, 2012年8月.
- 15) 竹村美保, 金本浩介, 長屋進吾, 大山莞爾: プロスタグランジンの生物生産-形質転換ゼニゴケを用いて, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Cp-10, p.219, 2012年8月.
- 16) 廣瀬文昭, 中村英光, 村松昌幸, 高岩文雄, 市川裕章: 光独立栄養性を有するイネ緑化培養細胞による有用タンパク質生産系, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Cp-11, p.220, 2012年8月.
- 17) 乾貴幸, 河野徳昭, 萩尾高志, 吉松嘉代, 柴田敏郎, 川原信夫, 飯田修: ナイモウオウギへの遺伝子導入法の開発(2), 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Dp-06, p.229, 2012年8月.
- 18) 松井健史, 松浦秀幸, 澤田和敏, 瀧田英司, 出村拓, 加藤晃: シロイヌナズナ AGP21 遺伝子の 5'-UTR を利用した双子葉植物における遺伝子高発現, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Cp-13, p.222, 2012年8月.
- 19) 多田雄一: *Pseudomonas putida* 由来の formaldehyde dehydrogenase を発現するシロイヌナズナのホルムアルデヒド浄化能力, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Ea-14, p.194, 2012年8月.
- 20) 七里吉彦, 並木小百合, 森内良太, 清家伸康, 大谷卓, 永田裕二, 津田雅孝, 田部井豊: 細菌由来の  $\beta$ -ヘキサクロロシクロヘキサン ( $\beta$ -HCH) 分解酵素 linB\_MI を導入したカボチャ毛状根の  $\beta$ -HCH 分解能の解析, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Ea-15, p.195, 2012年8月.
- 21) 吉川信幸, 山岸紀子, 李春江, 今辰哉: 種子非伝達性かつ非病原性ウイルスベクターの開発と利用, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 S4-02, p. 56, 2012年8月.
- 22) 刑部敬史, 横井彩子, 権容益, 大槻並枝, 遠藤真咲, 雑賀啓明, 土岐精一: 配列特異的な人為的改変を可能にする遺伝子操作技術の開発と利用, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 S4-03, p. 57, 2012年8月.
- 23) 浅田圭祐, 永利麻衣, 寺坂和祥, 水上元, Atumi Masada Sayaka, Salim Vonn, De Luca Vincenzo: セコロガニン生合成に関与する配糖化酵素の機能解析, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Ba-13, p.149, 2012年8月.
- 24) 小谷知代, 安井百合愛, 北野涼一, 小倉里江子, 平塚和之: アグロインフィルトレーション法を用いた遺伝子発現高効率化因子の探索, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Cp-14, p.223, 2012年8月.
- 25) 板谷恭兵, 大里修一, 佐久間美子, 近藤聡, 村本伸彦, 杉本広樹, 桑田茂, 光川典宏, 大音徳, 太田邦史: 好熱性制限酵素遺伝子を用いたゲノム再編誘発技術「Taq Isystem」のイネへの適用, 第30回日本植物細胞分子生物学会(生駒)大会・シンポジウム講演要旨集 3Dp-07, p.230, 2012年8月.
- 26) Xu, Xiao-hui; Lin, Hai-fang; Zou, Ke-qin, "Analysis on the Fe<sup>2+</sup> tolerance of ferritin transgenic rice", Anhui

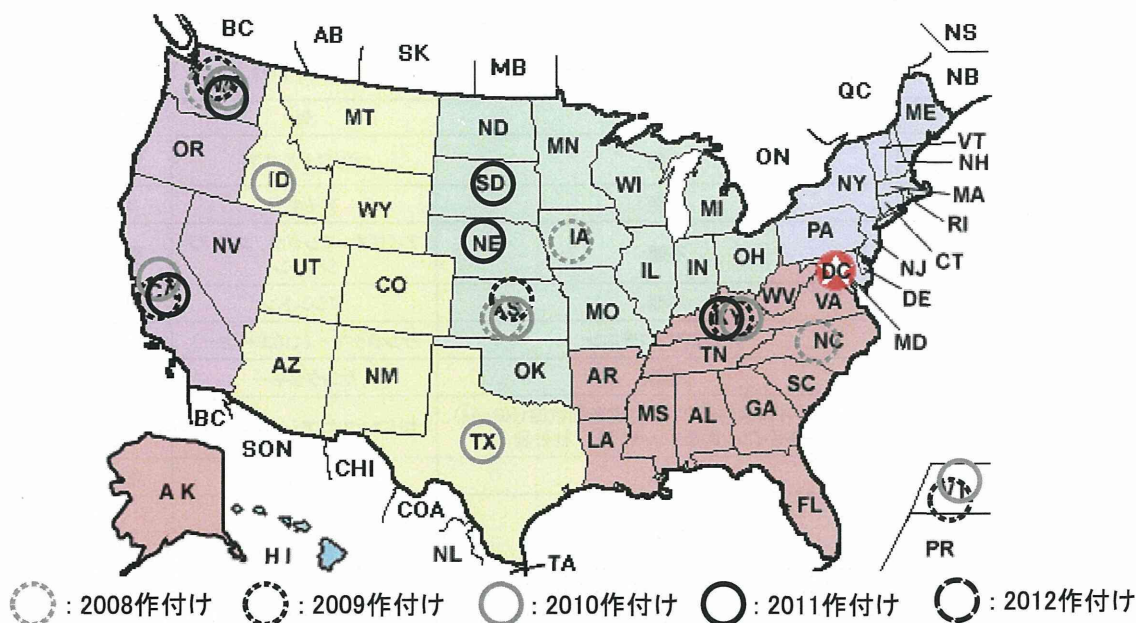


- Nongye Kexue (2012), 40(15), 8408-8410.
- 27) Zuo, Jianru; Mou, Jinye, "Application of NF-YA5 gene in cultivating plant with improved content of fatty acids", Faming Zhuanli Shenqing (2012), CN 102586322 A 20120718
- 28) Kwak, Sang Su; Lee, Haeng Sun; Ahn, Yeong Ok; Jung, Jae Cheol; Kim, Seon Ha, "Application of Or-Ins gene mutant from Ipomoea batatas", Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2012), KR 2012054712 A 20120531.
- 29) Deng, Xiaodong; Fei, Xiaowen; Gu, Bo; Luo, Qiulan, "Chlamydomonas reinhardtii oil metabolism-related diacylglycerol acyltransferase (CrDGAT2-5) gene for improving plant oil production", Faming Zhuanli Shenqing (2012), CN 102321642 A 20120118.
- 30) Xu, Suxia; Lin, Chunsong; Hua", Faming Zhuanli Shenqing (2012), CN 102827852 A 20121219.
- 31) Huang, Junchao; Zhong, Yujuan; Sandmann, Gerhard; Liu, Jin; Chen, Feng, "Cloning and selection of carotenoid ketolase genes for the engineering of high-yield astaxanthin in plants", Planta (2012), 236(2), 691-699.
- 32) Zuo, Jianru; Mou, Jinye, "Cloning of Arabidopsis thaliana transcription factor NF-YA9 gene and application in cultivating transgenic plants with improved fatty acid content", Faming Zhuanli Shenqing (2012), CN 102558324 A 20120711.
- 33) Zhang, Jinsong; Chen, Shouyi; Song, Qingxin; Man, Weiqun; Luan, Xiaoyan; Du, Weiguang; Zhang, Wanke; Ma, Biao; Lin, Qing; He, Sijie; et al, "Cloning of gene for transcription factor GmbZIP123 of soybeans and its use for regulating fatty acid metabolism in transgenic plants", Faming Zhuanli Shenqing (2012), CN 102399269 A 20120404.
- 34) Kim, Sun Ha; Ahn, Young Ock; Ahn, Mi-Jeong; Lee, Haeng-Soon; Kwak, Sang-Soo, "Down-regulation of  $\beta$ -carotene hydroxylase increases  $\beta$ -carotene and total carotenoids enhancing salt stress tolerance in transgenic cultured cells of sweet potato", Phytochemistry (Elsevier) (2012), 74, 69-78.
- 35) Zuk, Magdalena; Prescha, Anna; Stryczewska, Monika; Szopa, Jan, "Engineering Flax Plants To Increase Their Antioxidant Capacity and Improve Oil Composition and Stability", Journal of Agricultural and Food Chemistry (2012), 60(19), 5003-5012.
- 36) Turano, Frank; Turano, Kathleen, "Enhanced stress resistance in transgenic plants expressing bacterial  $\gamma$ -aminobutyrate biosynthesis genes", U.S. Pat. Appl. Publ. (2012), US 20120030842 A1 20120202.
- 37) Kielkiewicz, Malgorzata; Gajc-Wolska, Janina; Slusarz, Sylwia; Szwacka, Maria, "Growth, development and yield of transgenic 35S-thaumatin II-expressing cucumber plants - open field evaluation", Scientia Horticulturae (Amsterdam, Netherlands) (2012), 143, 82-91.
- 38) Bae, Jeong Myeong; Ahn, Mi Jeong; Ha, Seon Hwa; Baek, Gyeong Hwan; Lee, Sin U., "Haematococcus pluvialis-originated  $\beta$ -carotene ketolase gene and transgenic plants capable of producing keto-carotenoids and higher levels of  $\beta$ -carotene", Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2012), KR 2012045631 A 20120509.
- 39) Verdier, Jerome A.; Zhao, Jian; Dixon, Richard A.; Udvardi, Michael K., "Methods for regulating production of proanthocyanidins in transgenic plants using MtPAR (Medicago truncatula ProAnthocyanidin Regulator)", U.S. Pat. Appl. Publ. (2012), US 20120278914 A1 20121101.
- 40) Song, Shikui; Hou, Wensheng; Gaoduo, Yitama; Wu, Cunxiang; Yu, Yang; Matiyahu, Yifate; Emier, Rachel; Han, Tianfu "Preparation of transgenic plant with high yield of methionine", Faming Zhuanli Shenqing (2012), CN 102776230 A 20121114.
- 41) Chen, Wei; Fan, Xingming; Liu, Li; Wang, Kun, "Preparation of vectors pUC19-RNAi-22kd and pUC19-RNAi-19kd expressing RNAi targeting corn protein for enhancing lysine production", Faming Zhuanli Shenqing (2012), CN 102517314 A 20120627.
- 42) Hua, Jinping; Liu, Zhengjie; Zhang, Yuan; Zhao, Peng; Zhao, Qingcui; Li, Yuhua; Wang, Yumei, "Protein and nucleotide sequences of cotton transcription factor WRI1 for increasing fatty acid content in plant seed", Faming Zhuanli Shenqing (2012), CN 102786587 A 20121121.
- 43) Hua, Jinping; Liu, Zhengjie; Zhang, Yuan; Zhao, Peng; Zhao, Qingcui; Li, Yuhua; Wang, Yumei, "Sequence of cotton transcription factor Dof1 for improving the content of seed fatty acid", Faming Zhuanli Shenqing (2012), CN 102757488 A 20121031.
- 44) Xing, Han; Xue, Chenchen; Wang, Can; Zhao, Jinming; Guo, Na; Xu, Jinyan, "Sequence of soybean GDP-D-mannose pyrophosphorylase gene GMP1", Faming Zhuanli Shenqing (2012), CN 102321593 A 20120118.
- 45) Han, Jigang; Lakshman, Dilip K.; Galvez, Leny C.;

- Mitra, Sharmila; Baenziger, Peter Stephen; Mitra, Amitava, "Transgenic expression of lactoferrin imparts enhanced resistance to head blight of wheat caused by *Fusarium graminearum*", *BMC Plant Biology* (2012), 12, 33.
- 46) Aoki, Toshio; Akashi, Tomoyoshi, "2-Hydroxyisoflavanone synthetase of Iridaceae, polynucleotide encoding it, vectors having the polynucleotide, recombinant DNA or RNA, host cell transformed with the vector, transgenic plant having the polynucleotide, and production of isoflavonoids by the transgenic plant", *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* (2012), JP 2012095644 A 20120524
- 47) Hu, Jianzhong; Ni, Yanyan; Dryman, Barbara A.; Meng, X. J.; Zhang, Chenming, "Immunogenicity study of plant-made oral subunit vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)", *Vaccine* (2012), 30(12), 2068-2074.
- 48) Wang, Guixue; Zang, Guangchao; Huang, Junli; Zhang, Xiaojuan; Wenwen, Yihao, "Method for preparing oral vaccine of Shiga-like toxin Stx1b", *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102580118 A 20120718.
- 49) Guan, Zheng-jun; Guo, Bin; Huo, Yan-lin; Guan, Zheng-ping; Dai, Jia-kun; Wei, Ya-hui, "Organogenesis and somatic embryogenesis in callus derived from HBsAg-transgenic tomato mutant", *Canadian Journal of Plant Science* (2012), 92(4), 747-756.
- 50) Liu, Cheng-Wei; Chen, Jeremy J. W.; Kang, Chia-Chen; Wu, Chia-Hui; Yiu, Jinn-Chin "Transgenic lettuce (*Lactuca sativa* L.) expressing H1N1 influenza surface antigen (neuraminidase)", *Scientia Horticulturae* (Amsterdam, Netherlands) (2012), 139, 8-13.
- 51) Lam, Eric, "Edible transgenic plants as oral delivery vehicles for RNA-based therapeutics", *PCT Int. Appl.* (2012), WO 2012135820 A2 20121004.
- 52) D'Aoust, Marc-Andre; Lavoie, Pierre-Olivier; Vezina, Louis-Philippe; Couture, Manon, " Rabies virus like particle production in plants and vaccine uses" , *PCT Int. Appl.* (2012), WO 2012171104 A1 20121220.
- 53) Yang, Mun Sik; Kim, Tae Geum, "Recombinant gene containing subunit of cholera toxin B and neutralizing epitope of porcine epidemic diarrhea virus, transgenic plant expressing sCTB-sCOE fusion gene, and application", *Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo* (2012), KR 2012079258 A 20120712.
- 54) Guzman, Giorgio; Walmsley, Amanda M.; Webster, Diane E.; Hamill, John D., "Use of the wound-inducible NtQPT2 promoter from *Nicotiana tabacum* for production of a plant-made vaccine", *Biotechnology Letters* (2012), 34(6), 1143-1150.
- 55) Beuchat, Julien; Campanoni, Prisca; Dai, Shunhong; Facchinetti, Claudio; Lugon-Moulin, Nicolas; Mundell, Richard; Oishi, Karen; Ramirez, Gustavo; Roesti, Sandrine; Laparra, Helene; et al, " Methods for production of influenza hemagglutinin H5, rituximab and other proteins in tobacco plants", *PCT Int. Appl.* (2012), WO 2012098119 A2 20120726.
- 56) Jamal, Arshad; Lee, Jeong-Hwan; Lee, Kyung-Jin; Oh, Doo-Byoung; Kim, Deuk-Su; Lee, Kyoung-Ki; Choo, Young-Kug; Hwang, Kyung-A.; Ko, Kisung, "Chimerism of multiple monoclonal antibodies expressed in a single plant", *Horticulture, Environment and Biotechnology* (2012), 53(6), 544-551.
- 57) Cui, Lijie; Peng, Huizhen; Zhang, Ran; Chen, Yuhui; Zhao, Lingxia; Tang, Kexuan, " Recombinant hHscFv-RC-RNase protein derived from transgenic tobacco acts as a bifunctional molecular complex against hepatocellular carcinoma", *Biotechnology and Applied Biochemistry* (2012), 59(5), 323-329.
- 58) Kwon, Jun-Young; Lee, Kyoung-Hoon; Cheon, Su-Hwan; Ryu, Hyun-Nam; Kim, Sun Jin; Kim, Dong-Il, "Adsorptive loss of secreted recombinant proteins in transgenic rice cell suspension cultures", *Plant Cell Reports* (2012), 31(3), 551-560.
- 59) Yan Chunyan; Wang Jue; Duan Guoyan; Yu Rongmin, "Biotransformation of furannoligularenone by transgenic crown galls of *Panax quinquefolium*", *Pharmacognosy magazine* (2012), 8(30), 124-128.
- 60) Fujiwara, Yoshihiro; Sekikawa, Kenji; Aiki, Yasuhiko; Takaiwa, Fumio; Yang, Lijun, "Buffer and solvent compositions for extraction and purification of foreign proteins from transgenic plants", *U.S. Pat. Appl. Publ.* (2012), US 20120142033 A1 20120607.
- 61) Fan, Yanping; Zheng, Shaoyuan; Li, Xinyue; Yu, Rangcai; Yu, Yunyi, "Cloning and application of terpenes flower fragrance gene Hctps1 promoter from *Hedychium coronarium*", *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102586250 A 20120718.
- 62) Jung, In Sik; Kang, Hyeong Sik; Ko, Gi Seong; Jung, Yeong Hui; Yoo, Gi Hyeon; Jang, Yun Ji, "Colorectal cancer immunotherapy agent containing dendritic cell", *Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo* (2012), KR 2012124963 A 20121114.

- 63) Jha, Shweta; Agarwal, Saurabh; Sanyal, Indraneel; Jain, G. K.; Amla, D. V., "Differential subcellular targeting of recombinant human  $\alpha$ 1-proteinase inhibitor influences yield, biological activity and in planta stability of the protein in transgenic tomato plants", *Plant Science* (Shannon, Ireland) (2012), 196, 53-66.
- 64) Nausch, Henrik; Mischofsky, Heike; Koslowski, Roswitha; Meyer, Udo; Broer, Inge; Huckauf, Jana, "Expression and subcellular targeting of human complement factor C5a in *Nicotiana* species", *PLoS One* (2012), 7(12), e53023.
- 65) Lu, Zhe; Lee, Kyung-Jin; Shao, Yingxue; Lee, Jeong-Hwan; So, Yangkang; Choo, Young-Kug; Oh, Doo-Byoung; Hwang, Kyung-A.; Oh, Seung Han; Han, Yeon Soo; et al, "Expression of GA733-Fc fusion protein as a vaccine candidate for colorectal cancer in transgenic plants", *Journal of Biomedicine and Biotechnology* (2012), 364240, 11 pp.
- 66) Inui, Takayuki; Kawano, Noriaki; Shitan, Nobukazu; Yazaki, Kazufumi; Kiuchi, Fumiyuki; Kawahara, Nobuo; Sato, Fumihiko; Yoshimatsu, Kayo, "Improvement of benzyloquinoline alkaloid productivity by overexpression of 3'-hydroxy-N-methylcoclaurine 4'-O-methyltransferase in transgenic *Coptis japonica* plants", *Biological & Pharmaceutical Bulletin* (2012), 35(5), 650-659.
- 67) Wang, Yingjuan; Li, Liwen; Bu, Huaiyu; Zhao, Yuwei, "Method for expression of mussel adhesive protein mepf-5 in plant", *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102433357 A 20120502.
- 68) Vainstein, Alexander; Marhevka, Elena; Farhi, Moran, "Methods of producing artemisinin in non-host plants and vectors for use in same", *PCT Int. Appl.* (2012), WO 2012156976 A1 20121122.
- 69) Gong, Yifu; Wang, Heyu; Lu, Peng; Yuan, Quan; Wang, Guilin; Liu, Jianjun, "Obtainment of regeneration plantlet of *Catharanthus roseus* hairy roots and production of anticancer alkaloids", *Zhongcaoyao* (2012), 43(4), 788-794.
- 70) Zhang, Lai Jun; Jia, Jing Fen; Xu, Yao; Wang, Yingli; Hao, Jian Guo; Li, Tian Ke, "Production of transgenic *Nicotiana glauca* plants expressing melatonin synthetase genes and their effect on UV-B-induced DNA damage", *In Vitro Cellular & Developmental Biology: Plant* (2012), 48(3), 275-282.
- 71) Hauptmann, Valeska; Gils, Mario; Conrad, Udo; Phan, Hoang Trong, "Producing polymeric proteins in transgenic plants using intein-trans-splicing and ELP (elastin-like polypeptide)-mediated purification thereof", *Eur. Pat. Appl.* (2012), EP 2518081 A1 20121031.
- 72) Wasai, Masafumi; Kasahara, Saori, "The transgenic plants with abilities to accumulate the purpose proteins at higher levels", *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* (2012), JP 2012024052 A 20120209.
- 73) Zhao, Tiehan; Zeng, Ying; Kermode, Allison R., "A plant cell-based system that predicts  $\alpha$ 42 misfolding: Potential as a drug discovery tool for Alzheimer's disease", *Molecular Genetics and Metabolism* (2012), 107(3), 571-579.
- 74) Fu, Yongfu; Fan, Chengming; Zhang, Xiaomei, "Cloning and application of phosphate transporter protein gene from soybean", *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102372768 A 20120314.
- 75) Jiang, Li; Ci, Lingkun; Cao, Shuqing; Lu, Yunfeng, "Cloning and application of plant selenium-tolerant and selenium absorption-improving protein gene", *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102603877 A 20120725.
- 76) Ma, Mi; Chen, Yanshan; He, Zhenyan; Xu, Wenzhong, "Cloning of cDNA for arsenic resistance-associated protein PvArrp1 from *Pteris vittata* and its use for plant breeding", *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102746391 A 20121024.
- 77) Maruyama, Hayato; Yamamura, Takuya; Kaneko, Yohei; Matsui, Hirokazu; Watanabe, Toshihiro; Shinano, Takuro; Osaki, Mitsuru; Wasaki, Jun, "Effect of exogenous phosphatase and phytase activities on organic phosphate mobilization in soils with different phosphate adsorption capacities", *Soil Science and Plant Nutrition* (Abingdon, United Kingdom) (2012), 58(1), 41-51.
- 78) Nair, Smitha; Joshi-Saha, Archana; Singh, Sudhir; Ramachandran, V.; Singh, Surya; Thorat, Vidya; Kaushik, C. P.; Eapen, Susan; D'Souza, S. F., "Evaluation of transgenic tobacco plants expressing a bacterial Co-Ni transporter for acquisition of cobalt", *Journal of Biotechnology* (2012), 161(4), 422-428.
- 79) Wan Shen; Johnson Amanda M; Altosaar Illimar, "Expression of nitrous oxide reductase from *Pseudomonas stutzeri* in transgenic tobacco roots using the root-specific rolD promoter from *Agrobacterium rhizogenes*", *Ecology and evolution* (2012), 2(2), 286-97.
- 80) Wan, Shen; Mottiar, Yaseen; Johnson, Amanda M.; Goto, Kagami; Altosaar, Illimar, "Expression of the nos

- operon proteins from *Pseudomonas stutzeri* in transgenic plants to assemble nitrous oxide reductase", *Transgenic Research* (2012), 21(3), 593-603.
- 81) Talano, Melina A.; Busso, Debora C.; Paisio, Cintia E.; Gonzalez, Paola S.; Purro, Silvia A.; Medina, Maria I.; Agostini, Elizabeth 、 ” Phytoremediation of 2,4-dichlorophenol using wild type and transgenic tobacco plants” 、 *Environmental Science and Pollution Research* (2012), 19(6), 2202-2211.
- 82) Chen, Zhen; Zhu, Cheng; Yang, Weijun 、 ” Sequence of *Methanothermobacter thermoautotrophicum* MTH1745 gene in enhancing plant stress resistance”, *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102399815 A 20120404.
- 83) Zhu, Bo; Yao, Quanhong; Peng, Rihe; Xiong, Aisheng; Xue, Yong; Fu, Xiaoyan; Tian, Yongsheng; Zhao, Wei; Jin, Xiaofen、 ” Sequence of *Saccharomyces carlsbergensis*-derived OYE3 gene and its use in degrading TNT in transgenic plants”, *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102533789 A 20120704.
- 84) Nian, Hongjuan; Chen, Limei; Meng, Qingchao; Cheng, Qin, "Sequences of *Brevibacillus brevis* formaldehyde dehydrogenase gene FALDH and its use in breeding transgenic plant with high formaldehyde-absorbing ability", *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102337280 A 20120201.
- 85) Wang, Qifeng; Yi, Qiong; Hu, Qingquan; Zhao, Yue; Nian, Hongjuan; Li, Kunzhi; Yu, Yongxiong; Izui, Katsura; Chen, Limei、 ” Simultaneous Overexpression of Citrate Synthase and Phosphoenolpyruvate Carboxylase in Leaves Augments Citrate Exclusion and Al Resistance in Transgenic Tobacco” 、 *Plant Molecular Biology Reporter* (2012), 30(4), 992-1005.
- 86) Li, Peihan; Xiang, Taihe; Xie, Jun; Feng, Ting; Lu, Wenyi, "Transgenic plant regeneration of tobacco (*Nicotiana tabacum*) harboring mammalian *cyp2e1* gene, "Shengwu Gongcheng Xuebao (2012), 28(10), 1195-1204.
- 87) Petri, Cesar; Lopez-Noguera, Sonia; Wang, Hong; Garcia-Almodovar, Carlos; Albuquerque, Nuria; Burgos, Lorenzo, "A chemical-inducible Cre-LoxP system allows for elimination of selection marker genes in transgenic apricot", *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (2012), 110(3), 337-346.
- 88) Lin, Zhongping; Ma, Hong; Hu, Yuanlei, ” Expression vector containing gene Cre capable of high-effective deletion of selection marker gene of transgenic plant", *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102311971 A 20120111.
- 89) Yao, Lei; Yan, Xiaohong; Wang, Hui; Ma, Rongcai, "Plant binary expression vector containing Loxp-FRT recombinase site", *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102676579 A 20120919.
- 90) Xue, Jing; Zhang, Xiaodong; Yang, Fengping; Chen, Xuqing; Zhang, Liquan; Li, Xianglong、 ” System for deleting antibiotic marker gene of transgenic plants and its application” , *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102337292 A 20120201.
- 91) Jia, Guixia; Li, Shuang; Zhang, Xiuhai; He, Hengbin; Liu, Yan; Zhang, Mingfang; Du, Yunpeng; Yuan, Lin, "Transgenic method for lily by deleting selectable marker genes at low temperature", *Faming Zhuanli Shenqing* (2012), CN 102559741 A 20120711.



	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年
認可面積(エーカー)	2650.50	1554.00	773.00	1558.00	
作付け面積(エーカー)	459.28 (17.3%)	96.90 (6.2%)	64.13 (8.3%)		
作付け州	IA, KS, KY, NC, WA	CA, KS, KY, VI, WA	CA, ID, KS, KY, VI, WA, TX	CA, KY, NE, SD, WA	

図 1. 米国における薬用及び環境浄化用 GM 植物野外圃場栽培認可・作付け状況 (2008-2012)

[http://www.aphis.usda.gov/brs/ph\\_permits.html](http://www.aphis.usda.gov/brs/ph_permits.html)

\* 作付け面積/認可面積×100

表 1. 米国における薬用及び環境浄化用 GM 植物野外圃場作付け状況 (2008-2012)

企業等	作付け作物(生産物:作付け州)				
	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年
Applied Biotechnology Institute		トウモロコシ(B型肝炎ウイルス外殻タンパク質表面抗原:CA)	トウモロコシ(ブラゼイン, B型肝炎ウイルス外殻タンパク質表面抗原:CA)		
Iowa State University	トウモロコシ(大腸菌熱性腸管毒素Bサブユニット:IA)				
Kentucky BioProcessing	タバコ <sup>#1</sup> (ウシ肺アプロチニン: KY)	タバコ <sup>#2</sup> (ウシ肺アプロチニン: KY)	タバコ <sup>#2</sup> (ウシ肺アプロチニン, レクチン様タンパク質, プタ由来セリンプロテアーゼインヒビター不活性化型前駆体:KY)	タバコ <sup>#2</sup> (ウシ肺アプロチニン: KY)	
MacIntosh & Associates, Inc.				ハマナ(脂肪酸組成改変又はワックスエステル改:CA, SD)	
Metabolix, Inc.		タバコ(ポリβヒドロキシブテレート:KY)	アマナズナ(ポリβヒドロキシブテレート:ID)		
Planet Biotechnology				タバコ(抗炭疽菌人工抗体, ポツリヌス毒素抗体, ライノウイルス人工抗体:CA, KY)	
SemBioSys Genetics	ベニバナ(社外秘:WA)	ベニバナ(レンニン:WA)			
Venris Bioscience	イネ(ヒト血清アルブミン, ラクトフェリン, リゾチーム, 社外秘:NC, KS)	イネ(ヒト血清アルブミン, ラクトフェリン, リゾチーム:KS, VI)	イネ(ヒト血清アルブミン, ラクトフェリン, リゾチーム, 社外秘:KS, VI)		
Washington State University		オオムギ(ラクトフェリン, リゾチーム:WA)	オオムギ(ラクトフェリン, リゾチーム:WA)		
University of Nebraska/Lincoln				アマナズナ(ワックスエステル, 高オレイン酸油:NE)	
University of Washington	ハコヤナギ属(テトクロームP450 2E1:WA)		ハコヤナギ属(テトクローム P450 2E1:WA)	ハコヤナギ属(テトクローム P450 2E1:WA)	

作物名あとの()内は、生産物:作付け州をしめす。

\*1:葉緑体形質転換(葉緑体遺伝子への遺伝子導入)

\*2:組換えタバコモザイクウイルス感染を利用した物質生産(タバコは非組換え植物)



表 2. Release Permits for Pharmaceuticals, Industrials, Value Added Proteins for Human Consumption, or for Phytoremediation Granted or Pending by APHIS as of January 18, 2013 Effective for 2012

企業等	作物	生産物	州	審査状況	作付け状況
Planet Biotechnology	タバコ	不明	カリフォルニア	審査中	
Plankton LLC	ジャガイモ	不明	アイオワ	承認	未完了
SemBioSys Genetics	ベニバナ	不明	アイダホ, モンタナ, ユタ, ワシントン	審査中	
		不明	ワシントン	取り下げ	
Kentucky BioProcessing	タバコ(TMV)	ウシ肺アプロチニン	ケンタッキー(＜10エーカー)	承認	未完了
		不明	ケンタッキー	審査中	
Applied Biotechnology Institute	トウモロコシ	B型肝炎ウイルス外殻タンパク質表面抗原(HBsAg), プラゼイン(甘味タンパク質), 社外秘	カリフォルニア(＜1エーカー)	承認	未完了
		不明	カリフォルニア	審査中	
MacIntosh & Associates, Inc.	ハマナ	不明	カリフォルニア	取り下げ	
			サウスダコタ	取り下げ	
Ventria Bioscience	イネ	ラクトフェリン, リゾチーム, ヒト血清アルブミン, トランスフェリン及び9種の医療用タンパク質(社外秘)の中の1-2種	カンザス(＜30エーカー)	承認	未完了
		ラクトフェリン, リゾチーム, ヒト血清アルブミン, トランスフェリンの中の1種	カンザス(＜30エーカー)	承認	未完了
		不明	カンザス	審査中	
Planton LLC	ジャガイモ	不明	バージン諸島	承認	未完了
			アイオワ	取り下げ	完了
University of Washington	ハコヤナギ属	不明	ワシントン	承認	未完了

([http://www.aphis.usda.gov/brs/ph\\_permits.html](http://www.aphis.usda.gov/brs/ph_permits.html)) TMV: タバコモザイクウイルス



## Medicago overview

Focus	Vaccines
Manufacturing Technology	Transient expression in Tobacco
Vaccine technology	Virus-Like Particles
Headquarters, labs & facilities	Quebec City, Canada Research Triangle Park, NC, USA Genopole d'Evry, France
Employees	200 (130 in Quebec / 70 in NC)
Financing	TSX: MDG (raised \$65M in 2011)

図 2. Medicago 社の概要 1



## Technology

- From gene sequence to flu VLP in 19 days

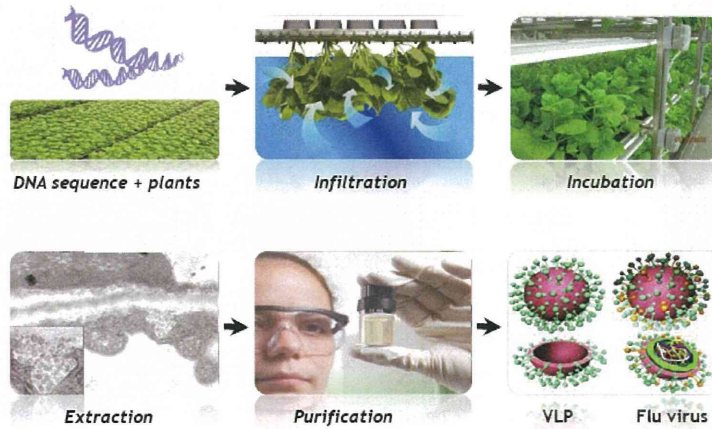


図 3. Medicago 社の概要 2



## First responder solution H1N1 scenario

- 19 days from gene sequence to first batch

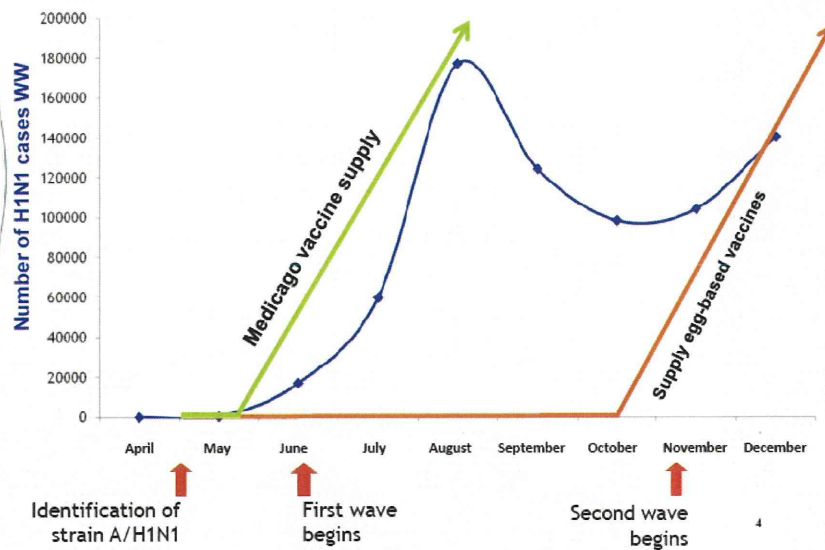


図 4. Medicago 社の概要 3