

201327016A

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25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26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 1
手島 玲子	
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 11
(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 31
名古屋 博之	
3. 組換え微生物の安全性に関する研究 35
五十君 静信	
4. 遺伝子組換え食品の国民受容に関する研究 41
(参考資料) 79
今村 知明	
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) 123
小関 良宏	
6. バイオテクノロジー応用食品のメタボローム解析 135
太田 大策	
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 145
手島 玲子	
8. 組換え生物の検知技術の開発 163
近藤 一成	
9. 承認組換え生物の検知技術の開発 179
野口 秋雄	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 189

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 食品部部長

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、7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 部長
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
野口 秋雄	国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部主任研究官

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未承認遺伝子組換え体の検知に関する研究を近藤班員がまた、承認済遺伝子組換え体の検知に関する研究を野口班員が担当し、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、GM作物・食品の社会的受容の調査研究として、①消費者意識の国内外比較調査（結果分析）、②食品に対する安心感の調査を実施した。また、リスクコミュニケーション方策の調査研究として、③GM動物に関する海外動向の調査、④NBTに関するリスクコミュニケーションの検討を実施した。

①社会的受容の推移の調査：我が国と欧米諸国における遺伝子組換え食品に対する消費者意識を比較するために、日本、欧州（イギリス、フランス）、アメリカにおいて、共通の調査項目によりWebアンケートを実施し、各国の回答の傾向を比較した。調査実施日は、2013年4月20日～5月20日で、有効回答数は各国520人を目標とした。アンケート解析により、以下の結果が得られた。遺伝子組換え食品について、リスク認知の割合は各国とも40～50%が知っているという回答者もいれば、遺伝子組換え食品は人体に悪影響があるという意識で知っているという回答者もいるものと考えられた。いずれにせよ、実際に健康被害は生じていない遺伝子組換え食品に対して、実勢に食中毒や誤飲による窒息などが起きているいくつかの食品と同等、またはそれ以上にリ

スクを感じているのが実態であった。また、遺伝子組換え食品の摂食意向は、どの国も他の食品に比べて低く、その割合はリスク認知率以上であった。リスクはよく分からないが食べたくないという意識があることが伺えた。遺伝子組換えに対する抵抗感は、国別に見ると、日本、フランスが全体的に抵抗を感じる割合が高く、組換え生物の性質別に見ると、いずれの国も組換え動物に対する抵抗感が高く、植物の中では除草剤耐性や害虫抵抗性に対する抵抗感が強かった。遺伝子組換え食品に対する支払意思額と遺伝子組換えでない食品の市場価格の相関関係を見ると、日本は他国に比べて市場価格からの乖離が大きかった（割引率が大きくないと購入したくない）。抵抗を感じる人の割合はフランスと同程度かやや低い割合であったが、抵抗感の強さは他国よりも強い傾向が伺えた。

②食品に対する安心感の調査：医療リスクとGM食品をはじめとした食品に関する事例を対象とし、消費者が意思決定に至るプロセスを比較分析し、主観的な安心に至る要素を特定・抽出した。調査はWebアンケートで、食品は、2014年3月26日～3月31日を調査実施日とし、821人の有効回答数が得られた。また、医療は、2014年3月11日～3月31日を調査実施日とし、898人の有効回答数が得られた。アンケート解析により、以下の結果が得られた。遺伝子組み換え食品のリスクについて、内容を知っている人はふぐや生牡蠣、こんにゃくゼリーと比較すると多くはなかった。ただし、それらと比較して食べたくないと思っている人は多く、情報提供による行動変容が小さく、遺伝子組み換え食品を食べないと最初から決めている人が多いことがうかがえた。また、遺伝子組換え食品だけを食べないようにしている人は、

単独で遺伝子組換え食品のみを食べないようにしている人が、他の食品と比較して多かった。遺伝子組換え食品を避けている人のうち、他の食品も避けている人は、「肉刺身」や「海外産の果物」なども避けており、また、行政の規制対象や、残留農薬など健康被害の点で話題になる食品を避けており、食の安全性に関する情報に敏感である人が多い可能性が高かった。医療と比較した場合、何らかの疾病に対する治療を選択しない人は少ないが、予防接種については、判断が分かれていた。食品は食べないという選択がありうるという点で、予防医療と似ており、リスクコミュニケーションにおいて参考にできる可能性があった。また、食品、医療ともに、リスクについては、知りたいと思っている人が多く、行政や医師だけが考えることではないと考えている人も多かった。健康被害において、当事者である一般消費者は重要なステイクホルダーであり、今後もより一層の配慮が求められる存在であると思われた。

③ GM 動物に関する海外動向の調査:アメリカにおける遺伝子組換えサーモンに係るその後の動向のレビューを行った。具体的には、Aqua Bounty 社による遺伝子組換えサーモン (Aqua Advantage® Salmon) に係る動向をレビューするため、FDA や AquaBounty 社の Web サイトからの情報収集を行った。2013 年 2 月 25 日までの 60 日間で、パブリックコメントの募集が掛けられ、2 月 13 日にはパブリックコメントの期間を 4 月 26 日まで延長することが公表されたが、パブリックコメントの結果を含め、その後の遺伝子組換えサーモンの承認に係る追加情報は公表されていなかった。遺伝子組換えサーモンの承認が世界に与える影響は大きいものと考えられ、我が国も例外ではないため、今後も引き続き関連情報の収集を

行っていく必要があると思われた。

④NBT に関するリスクコミュニケーションの検討:新植物育種技術 (NBT; New Plant Breeding Techniques) と総称される新たな育種技術の開発が進められている。NBT の中には育種のプロセスの中で遺伝子組換え技術を活用しているものの、最終的に生成される作物等の中には組換えに使用した遺伝子が残らず、遺伝子組換え技術の適用の有無を評価することが難しい技術もある。こうした技術については、「消える痕跡」といった表現で報道されるなど社会の関心は高まっている。NBT により生成された作物の取り扱いについて、消費者や食品関連市場の意向を無視した形で議論を進めることは、実用化の段階での大きな障壁となり得る。そのため、NBT について消費者とリスクコミュニケーションを行い、消費者の受容性を把握することを目標とし、本研究では、消費者に提示するリスクコミュニケーション用の資料 (NBT 説明書) を作成することを目的とした。

本年度は、消費者に提示する NBT 説明書作成の第一段階として、NBT の実態の整理・翻訳—(a)既存資料のレビュー、(b)専門家へのインタビュー、(c)NBT 説明書(案)の作成を行った。

(a)既存資料のレビューは、欧州委員会の Joint Research Centre (JRC) によるテクニカルレポート「New plant breeding techniques State-of-the-art and prospects for commercial development (2011)」で取り上げられている以下の 7 つの技術をレビューした。すなわち、(i) Zinc finger nuclease (ZNF; ジンクフィンガーヌクレアーゼ)、(ii) Oligonucleotide Directed Mutagenesis (ODM; オリゴヌクレオチド特異的変異誘発)、(iii) Cisgenesis and Intragenesis (シスジェネシス/イントラジェネシス)、

(iv)Grafting (接ぎ木)、(v)Agro-Infiltration (アグロインフィルトレーション)、(vi)RNA-dependent DNA methylation(RdDM;RNA 依存性 DNA メチル化)、(vii)Reverse breeding (逆育種)である。(b) 専門家へのインタビューでは、2013 年 8 月 20 日に筑波大学大学院生命環境科学研究科鎌田博教授よりご意見を伺った。(c) NBT 説明書として、個々の NBT の技術ごとに解説スライドを作成した。なお、本研究で作成した説明書は、NBT の個々の技術について説明する資料であるため、一般の消費者にはまだ難解なものとなっていることが懸念される。そのため、「育種の過程で加えられる遺伝子組換えの痕跡が残らないこと」のように、従来の植物育種、遺伝子組換え技術、NBT の違いを明確にし、議論のポイントを整理した上で、そのポイントに対する消費者の理解、反応を把握するための資料とすることも重要であると考えられた。

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：

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及び食用作物を用いた産業用 GM 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。2009-2013 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結果、2009 年から 2013 年にかけて作付けが行われた州が著しく減少し、2013 年においてはわずか 1 社の作付けが行われたことが判明した。得られた情報を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、産業用及び NBT の 10 種類を設定した。国内の状況について、関連学会講演要旨集で調査した結果、24 件の情報が得られ、その内訳は、機能性食品 : 7 件 (1 件は治療薬と重複)、経口ワクチン : 1 件、食用医薬 : 3 件、ワクチン抗原 : 0 件、抗体医薬 : 1 件、治療薬 : 4 件 (1 件は機能性食品と重複)、診断薬・試薬 : 0 件、環境浄化 : 1 件、産業用 (バイオ燃料) : 1 件、NBT : 7 件であり、日本において NBT に関連した研究・開発が増えていることが判明した。また、SciFinder®により、キーワード「transgenic plant」で 2013 年に公表・出版された論文等を調査した結果、83 件が得られ、その内訳は、機能性食品 : 27 件 (香料に関する 10 件を含む)、経口ワクチン : 4 件、食用医薬 : 3 件、ワクチン抗原 : 3 件、抗体医薬 : 7 件、治療薬 : 19 件 (5 件は他の項目と重複)、診断薬・試薬 : 3 件 (2 件は他の項目と重複)、環境浄化 : 14 件 (1 件は治療薬と重複)、産業用 : 0 件、NBT : 9 件 (4 件は他の項目と重複) 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、2013 年の国別の件数は、中国 : 30 件が最も多かった。

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 25 年度は、ゲノム編集技術を用いたアレルギー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再設計並びに構築、SSA (single-strand annealing) assay による活性評価、ニワトリ多能性幹細胞へのエフェクターの導入条件の検討、および変異導入効果を評価した。その結果、平成 24 年度に作製したエフェクターよりも強い活性を持つエフェクターの構築に成功し、また多能性幹細胞に対するエレクトロポレーションの至適条件を決定した。さらに Cel-1 assay を用いた変異導入活性評価試験では、ニワトリ多能性幹細胞に対して、構築したエフェクターが十分な変異導入活性を有することが示唆された。

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 の審査が終了したが、許可されていない状況である。許可が遅れている理由は公表されていない。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が、こちらの情報も公表されていない。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。本年度は昨年度に引き続き、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た。遺伝子組換えアマゴを用いた実験では肝臓の形態がコン

トロールと比べ顕著に異なることから、肝臓の代謝について網羅的に調べた。その結果、本研究で行った網羅的イルミナ解析によって、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。

組換え微生物の安全性に関する研究

遺伝子組換え微生物の利用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、組換え微生物のヒトや動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。本分担研究では遺伝子組換え技術を用いてモデル組換え細菌を作出し、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。

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 C2BBel 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。細胞を用いた評価系が示した結果は、ヒトや動物の腸管の M 細胞でも実際に同様に起こっているかは大変重要であり検討を進めた。また、この現象のメカニズムの

解明に向けて、実用性が高いヒト M 細胞モデル系の更なる改良を行った。

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:

成長ホルモン遺伝子 (Growth hormone 1: GH1) 組換えアマゴと低アレルゲンコメについてトランスクリプトーム解析を行った。GH1 導入アマゴは生育段階を生重量 100, 125, 150g に分けたものの筋肉組織をヘテロ GH1 組換えアマゴと非組み換えアマゴの 2 種について名古屋博之班員に分与いただいた。低アレルゲンコメ (14-16kDa knock out 体) は東京理科大島田浩章教授から前年度とは異なるロットのサンプルを分与いただいた。なお、アマゴに関しては、マイクロアレイチップはアマゴと同じサケ科のサーモンの約 43,000 のプローブが固定化されている DNA マイクロアレイチップ (Salmon Gene Expression Microarray 4x44) を用いた。検出された各遺伝子のスポットにおいて、十分信頼できる強度の蛍光が観測されたのは全体の 50% 程度であった。低アレルゲン化コメの DNA マイクロアレイ解析は、約 42,000 のイネの遺伝子が搭載された DNA マイクロアレイチップ (イネオリゴ DNA アレイ 4x44K RAP-DB) を用いて行った。検出されたスポットの約 50% 程度において信頼性の高いシグナルが検出されていることが判明した

GH1 導入アマゴでは、シグナルが観測された遺伝子についてそれらの発現量を同一の生重量間の組換え体と非組換え体で比較したところ (NT-100 vs GM-100、NT-125 vs GM-125、NT-150 vs GM150)、これまでの GH1 導入アマゴでの肝組織で発現比較の報告と同様に、組換え体のアマゴでは脂肪酸関連遺伝子の発現が低下していること

が確認された。これは GH1 組換えアマゴでは脂肪組織の蓄積が少ないとする先の報告とも一致した結果である。またアレルゲン物質である Parvalbumin は非組換え体と比較してどの成長ステージにおいても 3 割程度の発現量であったことから、組換え体では Parvalbumin の蓄積量は低下していることが示唆された。他にも糖代謝やサイトカイン関連遺伝子でも成長ステージに関わりなく組換え体において発現が変動していることが確認された。低アレルゲンコメにおいても前回と同様にアレルゲン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。なお、低アレルゲンイネ玄米を分析対象とし、食品五成分の分析を行い、分析値を従来品種の値と比較した結果では、大きな差異は認められないことを確認した。

さらに、スタック品種の安全性評価に資するための遺伝子組換えモデル植物については、前年度に得られていた環境耐性遺伝子を導入したシロイヌナズナスタック個体を使用し、その個体から RNA を抽出してマイクロアレイ解析を委託した。

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 25 年度は、1) 植物性食品であるイネ科のイネ種子と、2) 動物性食品であるサケ科アマゴを解析対象とした。まず、1) イネ種子中の主要アレルゲンである 14-16 kDa タンパク質群 (α -amylase/trypsin 阻害タンパク質ファミリータンパク質群) の発現を RNAi 法で抑制した RA14-pANDA 系統 (GM イネ)、および非組換え体 (non-GM イネ) の種子から メタノール/クロロホルム/水抽出液を調

製し GC-MS を用いたメタボローム解析に供した。GC-MS 分析によるすべての計測データ（イオン化されて検出された化合物の質量値とイオン強度の情報）を用いて主成分分析したところ、GM イネと non-GM イネは独自のメタボロームを形成することが明らかとなった。標準化合物を用いて同定・定量した 52 化合物に関する主成分分析に於いても、GM イネと non-GM イネが独立したメタボロームを形成した。これらのメタボロームクラスター形成は、GM イネにおける 14 種の化合物（アミノ酸 2 種類、炭化水素 7 種類、補酵素 2 種類、脂質 1 種類、核酸 2 種類）の蓄積量の有意な増加と、2 種類の化合物（アミノ酸 1 種類、補酵素 1 種類）の蓄積量の有意な減少によるものであった。GM イネにおいては、RNAi 法によって α -amylase/trypsin 阻害タンパク質ファミリーのタンパク質群の発現が抑制された結果、種子貯蔵デンプンおよび種子貯蔵タンパク質の分解に関わる代謝活性が亢進したと考えられ、遺伝子組換えによる代謝変動の範疇に入るものと推察された。次に、2) ヒト成長ホルモン GH をアマゴで高発現させた遺伝子組換え体 GH 系統 (GM アマゴ) と非組換え体 (non-GM アマゴ) の 3 段階の生育ステージ (100 g, 125 g, 150 g) にある個体から採取した筋肉組織を供試し、そのメタノール/クロロホルム/水抽出液を GC-MS メタボローム解析に用いた。GC-MS 分析によるすべての計測データを用いて主成分分析したところ、GM アマゴ と non-GM アマゴが形成するメタボロームには明確な差は無かった。GM アマゴでは、同定した 72 化合物のうち大部分の化合物の蓄積量に変化は認められなかったが、4 種類の化合物 (cis-aconitate, GABA, glutamate, phosphate) の蓄積量が有意に減少していた。LC-MS/MS を用いた脂質プロファイリングに供した。その結果、GM アマゴ と non-GM アマゴの極性脂質プロファイルに顕著な

違いは認められなかった。

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 25 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) 成長ホルモン導入組換えアマゴを用いたタンパク質発現の非組換え体との網羅的比較解析、(2) マウスを用いる経口感作、経口惹起による低アレルゲン組換えコメのアレルゲン性の検討、(3) アレルゲンデータベース (ADFS) のアレルゲン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 100g, 125g, 150g 体重の組換え (GM) 並びに非組換え (NT) アマゴの筋肉タンパク質の発現差異解析の結果、100g で 63 spots、125g で 50 spots, 150g で 100 spots のタンパク質で、2 倍以上の発現差異がみられた。全体に、GM アマゴでは NT アマゴと比較して、発現差違のみられたタンパク質では、発現量の低下しているタンパク質の方が多かったが、発現量の増加していたタンパク質に、ピルビン酸キナーゼがあり、解糖系の活性化の起きていることが示唆された。一方、発現の大きく低下していたタンパク質として、Creatine kinase, nucleoside diphosphate kinase 等のエネルギー代謝に関連するタンパク質があった。Parvalbumin 等のアレルゲンについては、GM 並びに NT アマゴの間で差がみられないか、むしろ GM の方で低下傾向が認められた。(2) 非組換えコメあるいは低アレルゲン化 (14-16kDa タンパク質発現抑制) 組換えコメの抽出タンパク質で感作されたマウスにおける経口惹起時にみられるアナフィラキシー症状の比較を行ったが、低アレルゲン米群では、ほとんど

アナフィラキシー症状を示さず、非組換え米群に比べて抗体価レベルが低かったことから、低アレルゲン米の食物アレルゲン性の低下が動物モデルにおいて検出されたと考えられた。(3)ADFSのアレルゲン及びエピトープ情報の更新を行い、新たに10種のアレルゲンについて、総エピトープ数191の情報を追加し、本年度のアレルゲンおよびエピトープ情報更新作業により、アレルゲンおよびイソアレルゲンのアミノ酸配列情報は1698となり、また、エピトープ既知のアレルゲン数は137種となった。

未承認組換え生物の検知技術の開発に関する研究

本研究では、新開発のGM作物も含めた未承認GM作物の流通阻止を監視するための検知技術の開発に関して、以下に列挙する4項目に関する検知技術開発を行った。すなわち、1) コメ加工食品に混入した未承認遺伝子組換えコメ由来の遺伝子コピー数の測定、2) 亜硫酸塩漂白剤処理によるGM作物検査法への影響、3) リアルタイムPCRを使用した新規ヒヨコマメ内在性遺伝子検知法の開発、4) 未承認GM作物(ヒヨコマメ、バスマティ米)の食品への混入に関する実態調査、である。以下、項目ごとに研究結果を記す。1) コメ加工食品に混入した未承認遺伝子組換えコメ由来の遺伝子コピー数の測定：食品衛生法により未承認GMコメの国内への流通・販売は禁止されている。しかし、これまでに海外から輸出されたビーフンやコメ粉などのコメ加工食品から害虫抵抗性の未承認GMコメの混入を認めている。いずれの加工食品についてもGMコメの混入はきわめて微量であったため、次の課題としてより高感度なGMコメ混入に関する検査法の確立が求められた。そこで、コメ加工食品に混入したGMコメ由来のDNA標的配

列のコピー数をデジタルPCRにて測定し、GMコメの混入を正しく判定できるDNA標的配列を評価した。デジタルPCR解析より、GMコメの構造特異的配列は系統特異的配列に比べ試料中に10倍以上混入していることが確認された。以上のことから、コメ加工食品中に微量混入したGMコメをより高感度に検出するためには、系統特異的な配列よりも構造特異的な配列を検出するリアルタイムPCR検知法の方が有効であることが示唆された。2) 亜硫酸塩漂白剤処理によるGM作物検査法への影響：現在、市販されるパパイヤ加工食品は、7種類の製品に細分類され、定性リアルタイムPCRを用いたGMパパイヤの混入に関する検査が行われている。しかし、漂白剤(亜硫酸塩)処理されたドライフルーツの陽性対照試験は不検出となることが報告されている。そこで亜硫酸塩処理されたドライフルーツにおける陽性対照試験での不検出の実態を精査した。亜硫酸塩処理されたドライパパイヤおよびドライトマトにおいて、リアルタイムPCRを用いた内在性遺伝子の検出は、ドライパパイヤ1製品を除き検査不能であった。また、直接抽出法によるPCR反応や大量DNA抽出法によるDNA収量に改善が見られないことから、試料中のDNAは分解し、残存量も極めて低いと考えられ、pH調整によるDNA抽出効率の改善は困難であると考えられた。以上の結果から、亜硫酸塩処理されたドライフルーツの多くは、加工度が非常に高く、DNA検出を指標とした検査では検出不能となることが判明した。3) リアルタイムPCRを使用した新規ヒヨコマメ内在性遺伝子検知法の開発：昨年度、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9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (CaNCED, GenBank no. AB771415) 遺伝子のクローニングに成功した。本研究では、明らか

となったCaNCED配列を基に、リアルタイムPCR法を用いた新規ヒヨコマメ内在性遺伝子検知法を開発した。設計したCaNCED検知用のプライマープロブは特異性および検出限界（250コピー）に優れているものであった。今後、構築したヒヨコマメ内在性遺伝子検知法を使用して、GMヒヨコマメの国内の食品への混入状況を継続的に調査していく予定である。4)未承認GM作物（ヒヨコマメ、バスマティ米）の食品への混入に関する実態調査：国内で購入可能なヒヨコマメとバスマティ米食品のGM作物含有に関する実態調査を行った。トランスジェニックベクターに使用される可能性の高いプロモーター4種類（P35S、PNOS、AINT、Pubi）、ターミネーター2種類（T35S、TNOS）、薬剤選択マーカー遺伝子（NPTII、HPT）を特異的に検出するリアルタイムPCR検知法によりスクリーニングを行った。その結果、いずれの製品においてもGMヒヨコマメ及びGMコメの混入を確認できなかった。なお、土壌細菌やウィルスの混入によって、リアルタイムPCRで増幅が確認されるものがあつたが、いずれの検体においてもCt値として非常に高くDNAの微量混入が疑われた。

承認済組換え生物の検知技術の開発に関する研究：我が国に輸入される安全性承認済みの遺伝子組換え（GM）作物の種類は増加の一途を辿っている。なかでもトウモロコシは品種数が多く、表示の妥当性を検証するために多くの検査法が開発されているが、実験操作に大きな労力を要することが問題となっている。そこで本研究では、これらの問題を解決する新たなGMトウモロコシ検査法を開発を行うことを目的に、本年度は、新開発GM品種を検出でき、かつ実験操作を簡便化した新規スクリーニング検査法を開発を行った。新

開発GM品種を検出するために、GM品種に広く存在している組換え遺伝子P35SおよびtNOSを検出対象とした。また、実験操作の簡便化のために、表示義務の閾値であるGM混入率5%の判定にはmultiplexリアルタイムPCRから得られた内在性遺伝子（SSIIb）と組換え遺伝子（P35SおよびtNOS）のCq値あるいはCt値の差を用いた。プラスミドやgenomic DNAを用いた実験から、本スクリーニング検査法は十分な定量性と検出感度を有していることが示され、ABI PRISM™ 7900HTでは Δ Ct閾値を4.7、LightCycler® 96では Δ Cq閾値を6.0と決定した。本スクリーニング検査法は、新開発GM品種の見逃しを防ぎ、実験操作の労力を減らすことで、スクリーニング検査の精度を向上させることができると期待された。

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、成長ホルモン導入組換えアマゴ及び低アレルゲン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は、前年度に得られていた環境耐性遺伝子を導入したシロイヌナズナスタック個体を使用し、その個体からRNAを抽出してマイクロアレイ解析を委託した。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イ米、タイ産パイア)の定性試験法の開発を行い、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。さらに、安全性承認済の組換え作物の定量検査法の開発においても、GM 品種に広く存在している組換え遺伝子 P35S および tNOS を検出対象として、実験操作を簡便化した新規スクリーニング検査法の開発を行った。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、消費者意識の国内外比較調査、食品に対する安心感の調査を実施し、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関する海外動向の調査を実施し、新たに、新植物育種技術 (NBT; New Plant Breeding Techniques) と総称される新たな育種技術に関するリスクコミュニケーションの検討に関する調査も開始した。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25年度)

(i) 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 食品部 部長

研究要旨：

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及び食用作物を用いた産業用 GM 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。2009-2013 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結果、2009 年から 2013 年にかけて作付けが行われた州が著しく減少し、2013 年においてはわずか 1 社の作付けが行われたことが判明した。得られた情報を分類するカテゴリとして、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、産業用及び NBT の 10 種類を設定した。国内の状況について、関連学会講演要旨集で調査した結果、24 件の情報が得られ、その内訳は、機能性食品 : 7 件 (1 件は治療薬と重複)、経口ワクチン : 1 件、食用医薬 : 3 件、ワクチン抗原 : 0 件、抗体医薬 : 1 件、治療薬 : 4 件 (1 件は機能性食品と重複)、診断薬・試薬 : 0 件、環境浄化 : 1 件、産業用 (バイオ燃料) : 1 件、NBT : 7 件であり、日本において NBT に関連した研究・開発が増えていることが判明した。また、SciFinder® により、キーワード「transgenic plant」で 2013 年に公表・出版された論文等を調査した結果、83 件が得られ、その内訳は、機能性食品 : 27 件 (香料に関する 10 件を含む)、経口ワクチン : 4 件、食用医薬 : 3 件、ワクチン抗原 : 3 件、抗体医薬 : 7 件、治療薬 : 19 件 (5 件は他の項目と重複)、診断薬・試薬 : 3 件 (2 件は他の項目と重複)、環境浄化 : 14 件 (1 件は治療薬と重複)、産業用 : 0 件、NBT : 9 件 (4 件は他の項目と重複) 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、2013 年の国別の件数は、中国 : 30 件が最も多かった。

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 (GM) 植物や環境浄化を目的とする GM 植物、さらに食用作物を使用した工業用の GM 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。

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。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、環境浄化 GM 植物、食用作物を用いた工業用 GM 植物及び新規植物育種法 (NBT : New Breeding Techniques) の開発状況・生産実態に関する情報を収集して整理し、食品の安全性確保のための基盤情報を整備する。

B. 研究方法

GM 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、土壌、水源、大気中の有害物質を高蓄積する GM 植物を環境浄化用 GM 植物の範囲、生分解性プラスチック、バイオ燃料等の工業用途の物質を生産する GM 植物を工業用 GM 植物の範囲（但し、食用作物のみ）とした。これら GM 植物及び NBT（図 1）に関する情報を文献データベース（Scifinder®、検索語「transgenic plant」）、インターネット（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。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、産業用及び NBT の 10 種類を設定した。

C. 研究結果

1) 2009-2013 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) で、2009-2013 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。

2009 年から 2013 年にかけては作付け州が著しく減少し、2013 年においては、わずか 1 社が作付けを行ったことが判明した（図 2、表 1、表 2、2014 年 1 月 3 日公表）。

2) 薬用 GM 植物開発を行っている米国及び国内企業の調査

前述情報公開サイト Release Permits for Pharmaceuticals, Industrials, Value Added Proteins for Human Consumption, or for Phytoremediation Granted or Pending by APHIS に掲載された企業及びフナコシカタログに掲載された国内企業を、各社の HP で調査した結果を図 3-図 8 に示した。

表 1 に掲載した企業等のうち、ベニバナ種子で研究・開発を行っていたカナダの SemBioSys 社は 2012 年 3 月に倒産していることが判明した。

図 3-図 7 の 5 社の米国企業のうち、従来の GM 植物での医薬品類生産であることが確認出来たのは、Applied Biotechnology 社（図 5、GM トウモロコシ）、Ventria Bioscience 社（図 7、GM イネ）の 2 社である。Caliber Biotherapeutics 社での生産ツールは不明であるが、Medicago 社（図 3）は、図 1 の NBT⑦-1（Agro-infiltration）に、Kentucky BioProcessing 社（図 6）は、図 1 の NBT⑦-2（Agro-inoculation）に該当し、NBT として取り上げられる技術の中でもこれらは実用化間近であることが判明した。

国内企業 Bio Verde は、GM イネで生産した医薬品類を製品化している（図 8）。

3) 2013 年に国内学会で公表・出版された GM 植物及び NBT に関する論文等

2013 年 9 月開催の第 31 回日本植物細胞分子生物学学会（札幌）大会・シンポジウムで公表された薬用、環境浄化用、工業用（但し食用作物のみ）GM 植物及び NBT に関する報告を表 3-表 5 に示した。その内訳は、機能性食品：7 件（1 件は治療薬と重複）、経口ワクチン：1 件、食用医薬：3 件、ワクチン抗原：0 件、抗体医薬：1 件、治療薬：4 件（1 件は機能性食品と重複）、診断薬・

試薬：0件、環境浄化：1件、産業用（バイオ燃料）：1件、NBT：7件であり、日本においてNBTに関連した研究・開発が増えており、特にNBT⑦に関するものが多いことが判明した。

4) 2013年に国内外で公表・出版された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2013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6-表13に示した。その結果、83件の情報が得られ、その内訳は、機能性食品：27件（香料に関する10件を含む）、経口ワクチン：4件、食用医薬：3件、ワクチン抗原：3件、抗体医薬：7件、治療薬：19件（5件は他の項目と重複）、診断薬・試薬：3件（2件は他の項目と重複）、環境浄化：14件（1件は治療薬と重複）、産業用：0件、NBT：9件（4件は他の項目と重複）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、2013年の国別の件数は、中国：30件が最も多かった（表13）。

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、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、NBTに分類される手法（Agro-infiltration及びAgro-inoculation）が増えていることが判明した。

国内では、機能性食品及びNBT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) 鎌田博：遺伝子組換え植物・食品を巡る最近の状況～新植物育種技術（New plant Breeding Techniques）への対応～

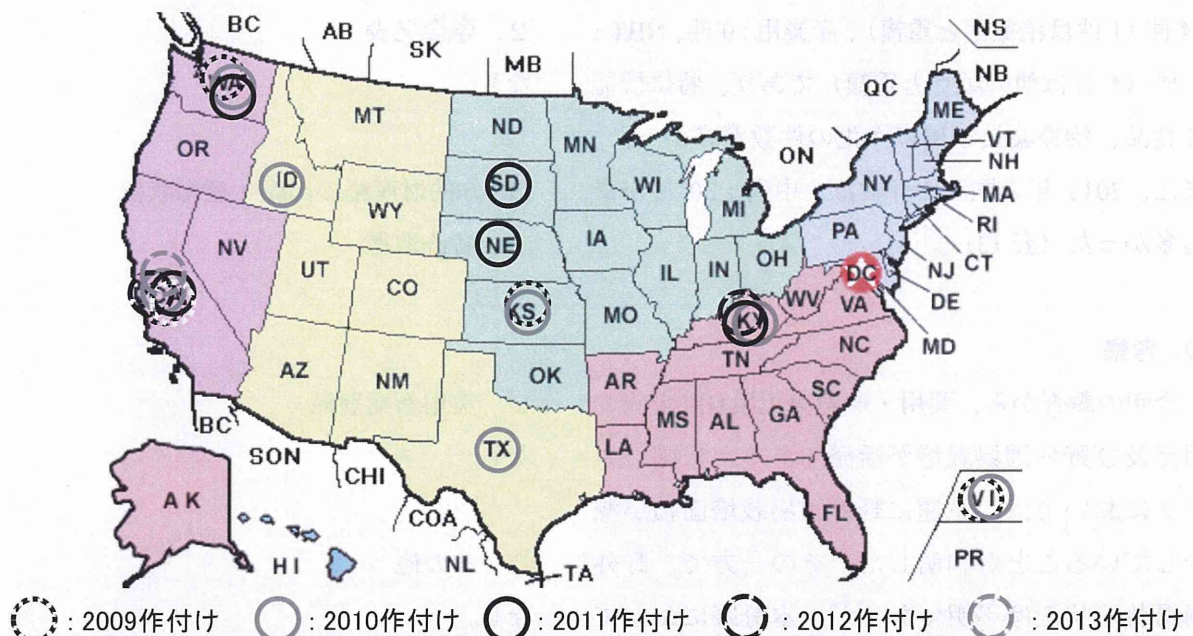
<http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000002tccm-att/2r9852000002tcgt.pdf>

EUがNBTとして取り上げ、その技術開発の現状や今後の動向、規制のための考え方をまとめているもの
 [New plant breeding techniques: State-of-the-art and prospects for commercial development, the European Commission's Joint Research Center (JRC)-Institute for Prospective Technological Studies (IPTS) and JRC-Institute for Health and Consumer Prospection (IHCP), 2011年]

- ① Zinc finger nuclease technology (ZFNs) ゲノム編集(人工ヌクレアーゼによる塩基配列の改変)
- ② Oligonucleotide directed mutagenesis (ODM) ゲノム編集による新塩基配列の挿入
- ③ Cisgenesis & Intragenesis 同種・遺伝子交換可能種由来遺伝子のみの挿入
 Cisgenesis プロモーター・ターミネーター等も同じ
 Intragenesis プロモーター・ターミネーター等を変更
- ④ RNA-dependent DNA methylation (RdDM) エピゲノム編集(DNAのメチル化状態のみの変化)
- ⑤ Grafting on GM rootstock 組換え体を用いた接ぎ木
- ⑥ Reverse Breeding 育種途中で組換え遺伝子を挿入、しかし育成した品種中には組換え遺伝子がない
- ⑦ Agro-infiltration (agro-infiltration "sensu stricto", agro-inoculation, floral dip)
 agro-infiltration "sensu stricto" 体細胞組織で局所的に非増殖性核酸を導入
 agro-inoculation 体細胞組織にウイルス等を導入
 floral dip 花芽組織にAgrobacteriumを接種し、次世代で組換え体を選抜
- ⑧ Synthetic Genomics 人工染色体

米国: NBTを用いて開発された植物品種の一部については、個別事例ごとではあるが、遺伝子組換え生物としての規制を適用しないことを既に決定

図1. New Plant Breeding Techniques (NBT)



	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年
認可面積(エーカー)	1554.00	773.00	1558.00		
作付け面積(エーカー)	96.90 (6.2%)	64.13 (8.3%)			
作付け州	CA, KS, KY, VI, WA	CA, ID, KS, KY, VI, WA, TX	CA, KY, NE, SD, WA	KY, CA	CA

図2. 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 (2009-2013)

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 (2009-2013)

企業等	作付け作物(生産物:作付け州)				
	2009年	2010年	2011年	2012年	2013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)		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, 社外秘: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, 社外秘:CA)
Kentucky BioProcessing	タバコ*(ウシ肺アプロチニン:KY)	タバコ*(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前駆体:KY)	タバコ*(ウシ肺アプロチニン:KY)	タバコ*(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ヒドロキシブチレート:KY)	アマナズナ(ポリβヒドロキシブチレート:ID)			
Planet Biotechnology			タバコ(抗炭疽菌人工抗体, ポツリヌストキシン抗体, ライノウイルス人工抗体:CA, KY)		
SemBioSys Genetics	ペニバナ(レンニン:WA)				
Venria Bioscience	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(チトクロームP450 2E1:WA)	ハコヤナギ属(チトクロームP450 2E1:WA)		

作物名あとの()内は, 生産物:作付け州をしめす。

*: 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)

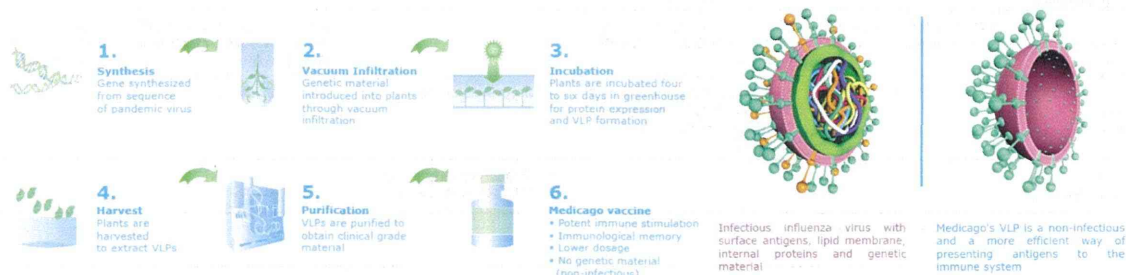
表 2. Release Permits for Pharmaceuticals, Industrials, Value Added Proteins for Human Consumption, or for Phytoremediation Granted or Pending by APHIS as of January 3, 2014 Effective for 2013

企業等	作物	生産物	州(作付け予定面積)	審査状況	作付け状況
Caliber Biotherapeutics	シロイヌナズナ	不明	テキサス	取り下げ	
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), ブラゼイン(甘味タンパク質), 社外秘	カリフォルニア	承認	完了
		不明	カリフォルニア	却下	
Kentucky BioProcessing	タバコ(TMV)	ウシ肺アプロチニン	ケンタッキー	承認	未完了
Planet Biotechnology	タバコ	抗炭疽菌人工抗体	カリフォルニア	承認	未完了
Venria Bioscience	イネ	13種の医療用タンパク質(社外秘)の中の1-2種	カンザス	承認	未完了
		ラクトフェリン, リゾチーム, 血清アルブミン, トランスフェリン, 13種の医療用タンパク質(社外秘)	バージン諸島(<5エーカー)	承認	未完了
		不明	バージン諸島(<5エーカー)	承認	未完了
Plankton LLC	ジャガイモ	不明	アイオワ	承認	未完了
		不明	アイオワ	審査中	未完了
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) TMV: タバコモザイクウイルス

Medicago, Inc.

How does it work?



Product pipeline

	Preclinical	Phase I	Phase II	Phase III
Pandemic influenza			Emergency Use Authorization	
H5	[Progress bar]			
H5 - Intradermal-GLA	[Progress bar]			
Seasonal influenza				
Quadrivalent	[Progress bar]			
Rabies	[Progress bar]			
Undisclosed			Top 10 Pharma	
Rotavirus			Mitsubishi Tanabe Pharma	
Biosimilar				

- カナダのケベックを拠点とするバイテク企業
- 米国ノースカロライナ州にも施設 (Medicago U.S.A.) がある
- タバコ (*Nicotiana benthamiana*) 葉での一過的発現システムにより、様々なワクチン(ウイルス様粒子: VLP: Virus-Like-Particle)を製造
- 発現システムでは、NBT (New Plant Breeding Techniques) の一つである Agro-infiltration が使用されている
- 2013年9月18日三菱田辺製薬株式会社 (MTPC) に買収され、子会社となる [MTPC および Philip Morris Investments B.V. (本社: オランダ ベルヘン・オブ・ゾーム市) の合弁会社 (持株比率 60:40) として運営]

図 3. Medicago 社の概要 1

Caliber Biotherapeutics, LLC



- 米国テキサス州ブライアンを拠点とするバイテク企業
- 癌 (非ホジキンリンパ腫, 多発性骨髄腫, 乳癌など) 治療薬としてモノクローン抗体-インターフェロン融合タンパク質 (mAb-IFN fusion protein) を、タバコ (*Nicotiana benthamiana*) での発現システムにより生産
- 発現システムの詳細 (GMタバコ, 一過的発現システムかなど) は不明
- mAb-IFN fusion protein は、新規の治療薬で、mAb による癌細胞のアポトーシスの誘導と、インターフェロンの癌細胞を死滅させる作用の相乗効果により優れた効果を発揮するとされている

Plant-Made Pharmaceuticals

Caliber is a leader in the Plant-made (*N. benthamiana*) pharmaceuticals (PMP) production platform. This platform offers a number of advantages over traditional systems for the development and production of protein therapeutics such as monoclonal antibodies.

Candidate	Lead Discovery	Pharmacology	Preclinical	Clinical
IGN001 Her2	[Progress bar]	[Progress bar]	[Progress bar]	[Progress bar]
IGN002 CD20	[Progress bar]	[Progress bar]	[Progress bar]	IND filling projected - Q1 2014
IGN003 Multiple Myeloma	[Progress bar]	[Progress bar]	[Progress bar]	
Multiple PMP based biobetter mAb candidates	[Progress bar]	[Progress bar]	[Progress bar]	
Pandemic Flu Vaccine (with DARPA)	[Progress bar]	[Progress bar]	[Progress bar]	
Undisclosed Animal Vaccine (with Texas A&M)	[Progress bar]	[Progress bar]	[Progress bar]	

- IGN001: 抗Her2抗体-INF (乳癌, 悪性腫瘍治療薬) 前臨床試験開始直後
- IGN002: 抗CD20抗体-INF (非ホジキンリンパ種, B細胞性悪性血液疾患治療薬) 前臨床試験終了
- IGN003: 抗体-INF (多発性骨髄腫治療薬) 前臨床試験開始直後

図 4. Caliber Biotherapeutics 社の概要



Applied Biotechnology Institute

- 米国カリフォルニア州サンルイスオビスポのバイテック企業
- ProdiGene社(2002年のGMコーンが非組換えダイズに混入した事件後に倒産)を設立したDr. John A. Howardが設立(代表取締役)
- GMコーンにより経ロワクチン, 酵素等を生産

UNIQUE PLATFORM



INNOVATIVE PLATFORM TECHNOLOGY

There are several protein technologies that have been in place for decades using microbial and animal cell cultures but each of these systems has its limitations. ABI takes advantage of the unique characteristics found in plant systems to overproduce recombinant proteins. In particular, we select proteins that are not well-suited to traditional expression systems. The system of choice is maize grain, for which ABI has issued and pending patents that favor high expression and efficient processing.

ADVANTAGES OF ABI'S PLATFORM TECHNOLOGY

1. Low cost of production
2. Low upfront capital costs
3. Produces animal-free products
4. No purification required for applications utilizing direct delivery of maize grain in food/feed or industrial applications (eg. oral vaccines, industrial enzymes, food or feed enzymes)
5. Protein can be stored in grain for years without loss of activity
6. Proven commercial potential

商品例(いずれもanimal-free)

TrypZean®:組換えウントリプシン (Sigma Chemical Companyより販売)

- 応用例
- Cell culture
 - Insulin manufacture
 - Vaccine manufacture
 - Dermatology applications
 - Digestive aids

Cellobiohydrolase: β-グルカナナーゼ (Sigma Chemical Companyより販売)

Endocellulase: エンドグクカナナーゼ (Infinite Enzymes, LLCより供給)

応用例 Converting cellulosic biomass into biofuels and other biobased products

販売予定品

Brazzein: ショ糖の500~2000倍の甘さの甘味タンパク質

Aprotinin: ウシアプロチニン

Hepatitis B Booster Vaccine: 経ロワクチン

図 5. Applied Biotechnology Institute 社の概要



[Home](#) [About Us](#) [News](#) [Careers](#) [Contact](#)

» [About Us](#) » [What We Do](#)

[Request Information](#)

ABOUT US

[What We Do](#)

[Our Team](#)

[Facilities](#)

What We Do

We seek to be a world leader in the production of plant made pharmaceutical proteins.

What is biotechnology?

At KBP, we specialize in using plants to make proteins that are then used as pharmaceutical products. So what exactly is biotechnology? Biotech scientists use living organisms and processes to develop new technologies and products to improve our lives – vaccines that protect our children, agricultural techniques that generate stronger crops, industrial processes that help sustain the environment.

KBP and Biotechnology

Plant-based protein production is a faster, more efficient and less expensive way to deliver pharmaceutical protein products than traditional methods requiring complex bioreactors. The natural rapid growth properties of the tobacco plant enable us to produce proteins quickly and on a large scale. Because our system is plant-based, our protein products are completely animal-free.



- 米国ケンタッキー州オーエンズボロを拠点とするバイテック企業
- タバコ(*Nicotiana benthamiana*)葉での一過的発現システムにより, 様々なタンパク質, ワクチン, 抗体等を生産
- 発現システムでは, NBT (New Plant Breeding Techniques) の一つであるAgro-infiltration が使用されている
- 圃場栽培での生産を行っているが, 完全閉鎖型植物生産施設でも生産している
- 2013年8月に, 上記システムで生産された3種の抗エボラウイルス単クローン抗体の混合物は, アカゲザルモデルにおいて, エボラウイルスチャレンジ後, 発熱等の症状が始まった後に投与しても, その43%が生存したと報告された。(Pettitt J et al., Science Translational Medicine, 5: 199ra113, 2013)

図 6. Kentucky BioProcessing 社の概要

Ventria Bioscience

- 米国コロラド州フォート・コリンズを拠点とするバイテク企業
- 独自技術Express Tec(イネ種子内でのタンパク質発現)により様々なタンパク質、ワクチン、抗体等を生産
- 生産物は試薬 (animal-free試薬)として子会社であるInVitria社より販売
- HPの紹介ビデオでは、GMイネが閉鎖型施設で栽培されている
- 2014年1月6日、GMイネ種子で生産されたHuman leukemia inhibitory factor (LIF)がマウスES細胞の維持に有効であることが発表された (Youngblood BA et al., J. Biotech. 2014)

InVitria社で販売されているGM米より製造された製品

Products

InVitria Cell Culture Supplements

Cellastim
Defined, animal-free, recombinant albumin (HSA)

Lacromin
Defined, animal-free, recombinant lactoferrin, specifically produced for use as a cell culture media supplement

Leukemia Inhibitory Factor (rhLIF)
A high performance and high quality animal component free stem cell media additive for maintaining pluripotent stem cells.

Zap-CHO
Cell culture media supplement specifically designed for CHO cells

Optiferrin
Defined, animal-free, recombinant human transferrin

ITSE Animal-Free
Cell culture media supplement formulated for improved serum reduction or serum free cell growth

Zap-Hybridoma
Cell culture media supplement specifically designed for hybridoma cells

Diagnostics and Assay Development

Albumin DX-Lipid Reduced
Animal-free blocking reagent for diagnostics

Lysobac
Recombinant Human Lysozyme

Ventria Bioscience社で研究・開発中の医薬品

Novel Therapeutics

Product	Indication	R&D	Phase 1	Phase 2	Phase 3	Marketed
VEN100	Antibiotic-associated diarrhea					
VEN120	Inflammatory bowel disease					
VEN130	Osteoporosis					
VEN140	Hepatic disease					
VEN150	HIV-associated chronic inflammation					
VEN160	Unexplained anemia in the elderly					

VEN100: 組換えヒトラクトフェリン[抗生物質関連下痢症 (AAD) 予防]
Johns Hopkins Universityで実施された臨床試験では、抗生物質長期投与時に同時投与すると、AAD発生頻度が約50%に減少

VEN120: 炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease: IBD) 治療薬
動物モデルでは効果を確認し、臨床試験を実施中

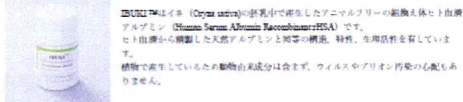
VEN130: 骨粗鬆症予防薬 (骨芽細胞/破骨細胞のバランスの改善)
予備試験で骨芽細胞/破骨細胞のバランスの改善効果を確認
医薬品候補としての開発を実施中

図 7. Ventria Bioscience 社の概要

Bio Verde (株式会社バイオベルデ)

再生医療の研究に最適な動物由来成分フリーの組換え体タンパク質

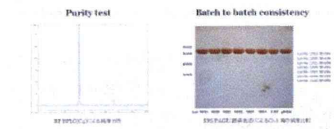
IBUKI™ (Human Serum Albumin Recombinant)



- イネに355A遺伝子を導入し、種子である米に組換え体タンパク質を大量に蓄積させる技術を用いて発生しています。
- 255A全長タンパク質として発現しており、天然型と同様の分子量、等電点(pI)を示します。糖鎖付加もありません。
- ヒト乳清から精製した天然型アルブミンと同様の構造、特性、生体活性を有しています。植物で発生しているため動物由来成分は含まず、ウイルスやアフリカ豚熱の心配もありません。

	pHSA	IBUKI
アミノ酸シーケンス	—	pHSAと同一
N末端シーケンス	DAHRSEV	DAHRSEV
C末端シーケンス	KLVAASQAALGL	KLVAASQAALGL
糖鎖構造	—	—
分子量 (質量分析 MALDI)	66.554 KDa	66.550 KDa
等電点	pI 4.9	pI 4.9
薬物結合	—	pHSAに類似
安定性	融点 85℃	融点 85℃
製剤型	—	pHSAと同一
貯蔵条件	—	pHSAと同一

- 純度 99.0%以上
- a) SP-IPQCによる測定
- b) SDS-PAGEによる測定

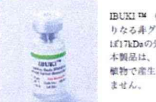


●**用法**
PBS(10ml)にIBUKI(1.0g)を溶かし、100mg/mlのストックソリューションとして準備する。ストックソリューションはフィルター滅菌 (0.22µm) し、-20℃で保存する。ストックソリューションは、短期もしくは長期で目的とする濃度に希釈する。

●本製品は研究用です。臨床用途には使用できません。
●本製品はフナコン株式会社より販売しています。

再生医療の研究に最適な動物由来成分フリーの組換え体タンパク質

IBUKI™ (Human Basic Fibroblast Growth Factor Recombinant)



- 純度 95.0%以上
- 生物学的活性: ED₅₀4ng/ml (比活性1×10⁶units/mgに相当) (Balb/c 3T3細胞のMTTアッセイによる細胞増殖率による)
- 実験例: iPS細胞: 253G1の増殖率

●本製品を入れた培養用培地でiPS細胞: 253G1を培養後、AP染色を行い、未分化状態の維持や細胞の増殖度を検討しました。本製品をコントロールと比較した場合、AP染色のコロニー数はほとんど変わらず、コントロールと同等程度の未分化維持や増殖能力を持っていると考えられます。

●本製品は研究用です。臨床用途には使用できません。
●本製品はフナコン株式会社より販売しています。

- 京都大学発のベンチャー企業
- イネ胚乳中で生産した組換えヒト血清アルブミン及び塩基性繊維芽細胞成長因子を試薬として販売 (フナコン株式会社より)

図 8. Bio Verde 社の概要