

V5-tag

MGKPIPNNLLGLDST

核移行シグナル

GGMAPKKKRKVDGG

TAL N末

VDLRTLGSQQQKEIKPKVRSTVAQHHEALVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTAVKYQDMIAALPEATHEAIVGVGKQWSGARALEALLT
VAGELRGPPLQLDTGQLLKIAKRGGVTAVEAVHAWRNALTGAPLN

TAL-FokI Fw

DNA 結合ドメイン 18.5 repeats ※0 番目の T は N 末ドメインで結合

LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	1st Repeat ; HD → C
LTPEQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	2nd Repeat ; NG → T
LTPEQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	3rd Repeat ; NG → T
LTPEQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	4th Repeat ; NG → T
LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	5th Repeat ; HD → C
LTPEQVVAIASNIGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	6th Repeat ; NI → A
LTPEQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	7th Repeat ; NG → T
LTPEQVVAIASNNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	8th Repeat ; NN → G
LTPEQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	9th Repeat ; NG → T
LTPEQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	10th Repeat ; NG → T
LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	11th Repeat ; HD → C
LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	12th Repeat ; HD → C
LTPEQVVAIASNIGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	13th Repeat ; NI → A
LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	14th Repeat ; HD → C
LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	15th Repeat ; HD → C
LTPEQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	16th Repeat ; NG → T
LTPEQVVAIASNIGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	17th Repeat ; NI → A
LTPQQVVAIASHDGGRPALE	18th Repeat ; HD → C

TAL-FokI Rv

DNA 結合ドメイン 18.5 repeats ※0 番目の T は N 末ドメインで結合

LTPEQVVAIASNIGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	1st Repeat ; NI → A
LTPEQVVAIASNNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	2nd Repeat ; NN → G
LTPEQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	3rd Repeat ; NG → T
LTPEQVVAIASNNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	4th Repeat ; NN → G
LTPEQVVAIASNIGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	5th Repeat ; NI → A
LTPEQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	6th Repeat ; NG → T
LTPEQVVAIASNNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	7th Repeat ; NG → T
LTPEQVVAIASNNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	8th Repeat ; NG → T
LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	9th Repeat ; HD → C
LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	10th Repeat ; HD → C
LTPEQVVAIASNIGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	11th Repeat ; NI → A
LTPEQVVAIASNIGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	12th Repeat ; NI → A
LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	13th Repeat ; NI → A
LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	14th Repeat ; HD → C
LTPEQVVAIASNIGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	15th Repeat ; NI → A
LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	16th Repeat ; HD → C
LTPEQVVAIASNIGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG	17th Repeat ; NI → A
LTPQQVVAIASHDGGRPALE	18th Repeat ; HD → C

TAL C末

SIVAQLSRPDPALAAALNDHIVALACLGGRRPALDAVKKGLPHAPALIKRTNRRIPERTSHRVA

Gly-Serリンカー

GS

FokI

QLVKSELEEKSELRHKLKYPHEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDGAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRY
VEENQTRNKHINPNEWWKVYVSSVTEFKLFLVSGHFKNYKAQLTRLNHNITNCNGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLTLEEVRKFNNGEINF*

Fig.2 TALEN アミノ酸配列

設計した TALEN のアミノ酸配列を機能ドメインに分けて示した。N 末→C 末 : V5-tag、核移行シグナル、TAL N 末、DNA 結合ドメイン(TAL-FokI Fw と TAL-FokI Rv)、TALC 末、Gly-Ser リンカー、FokI

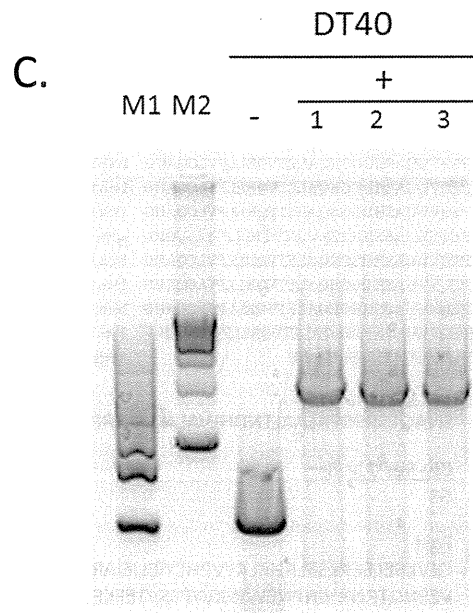
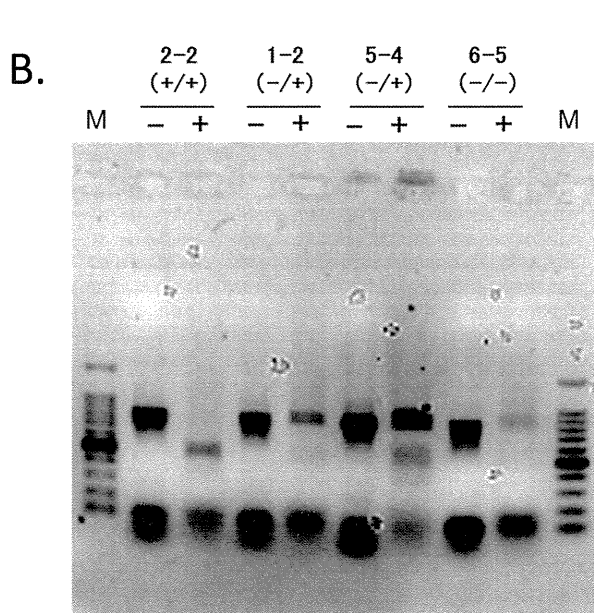
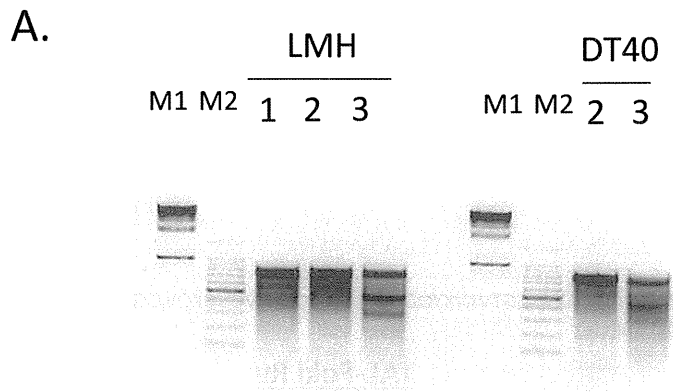


Fig.3 TALEN を使用したゲノム配列ノックアウト、ノックイン細胞株の作成

ニワトリ LMH 細胞及び DT40 細胞を使用し、設計した TALEN の標的配列の切断を Cel1 アッセイより確認した。レーン 1, ブランク細胞 (OptiM 培地のみ、ベクター無); レーン 2, pmaxGFP ベクターを導入した細胞; レーン 3, TALEN/R を導入した細胞; レーン M1, 1 kb DNA ladder marker; レーン M2, 100 b DNA ladder marker

制限酵素 (HpyAV) アッセイ法によるノックアウトクローン株の確認 クローン 2-2 (野生株)、クローン 1-2 (ヘテロ株)、クローン 5-4 (ヘテロ株)、クローン 6-5 (ホモ株) レーン M: 100 b DNA ladder marker +, HpyAV 処理後; -, HpyAV 処理前

C. PCR によるノックインクローン株の確認 レーン 1~3, クローン株 1~3; レーン -, 野生株細胞; レーン M1, 100 b DNA ladder marker; レーン M2, 1 kb DNA ladder marker

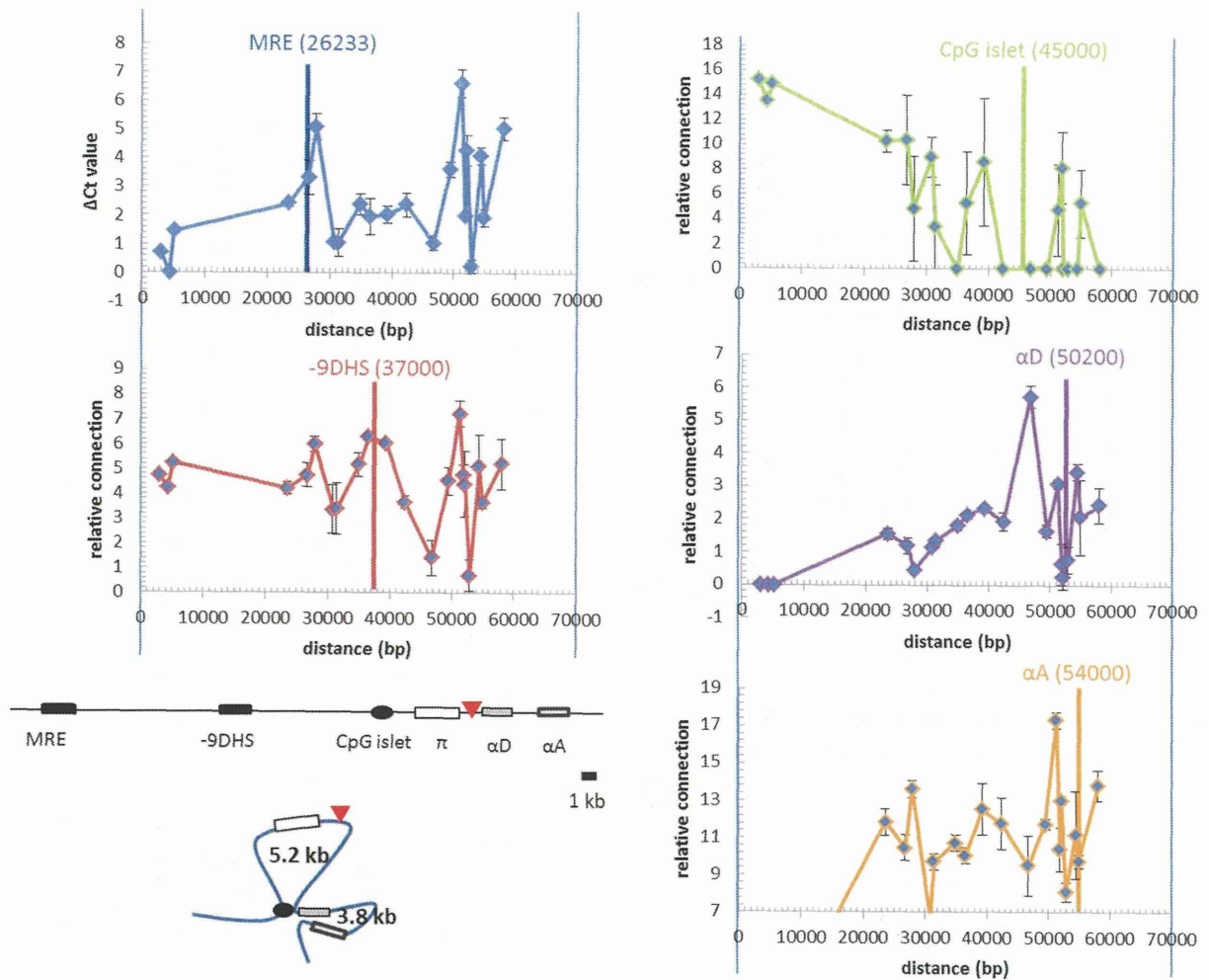


Fig.4 3C analysis (DT40 細胞株)

ゲノムを *Bgl*III, *Bam*HI 処理し、3C 解析に供した。染色体構造パターン解析 (70 kb 範囲) を示す。

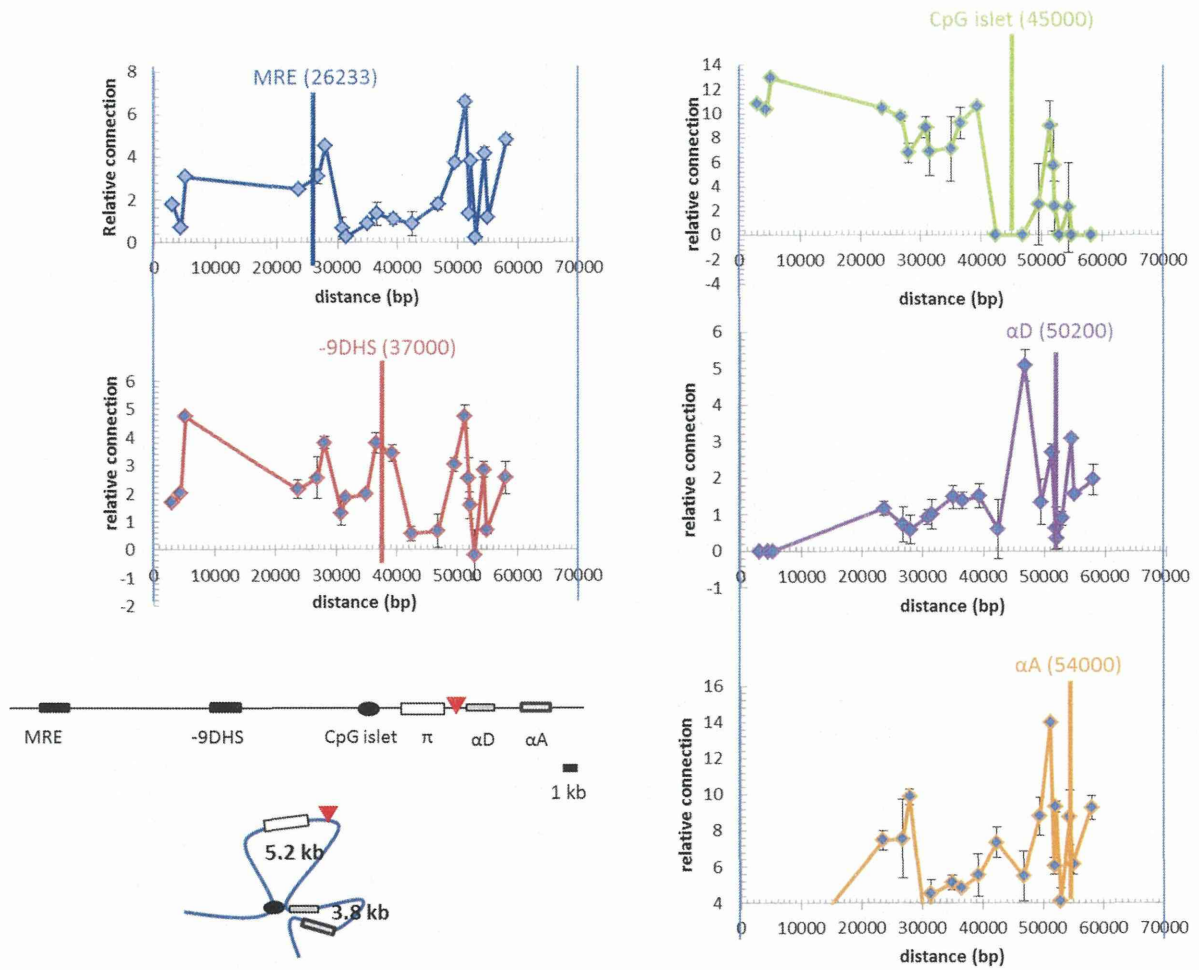


Fig.5 3C analysis (LMH 細胞株)

ゲノムを *Bgl*III, *Bam*HI 処理し、3C 解析に供した。染色体構造パターン解析 (70 kb 範囲) を示す。

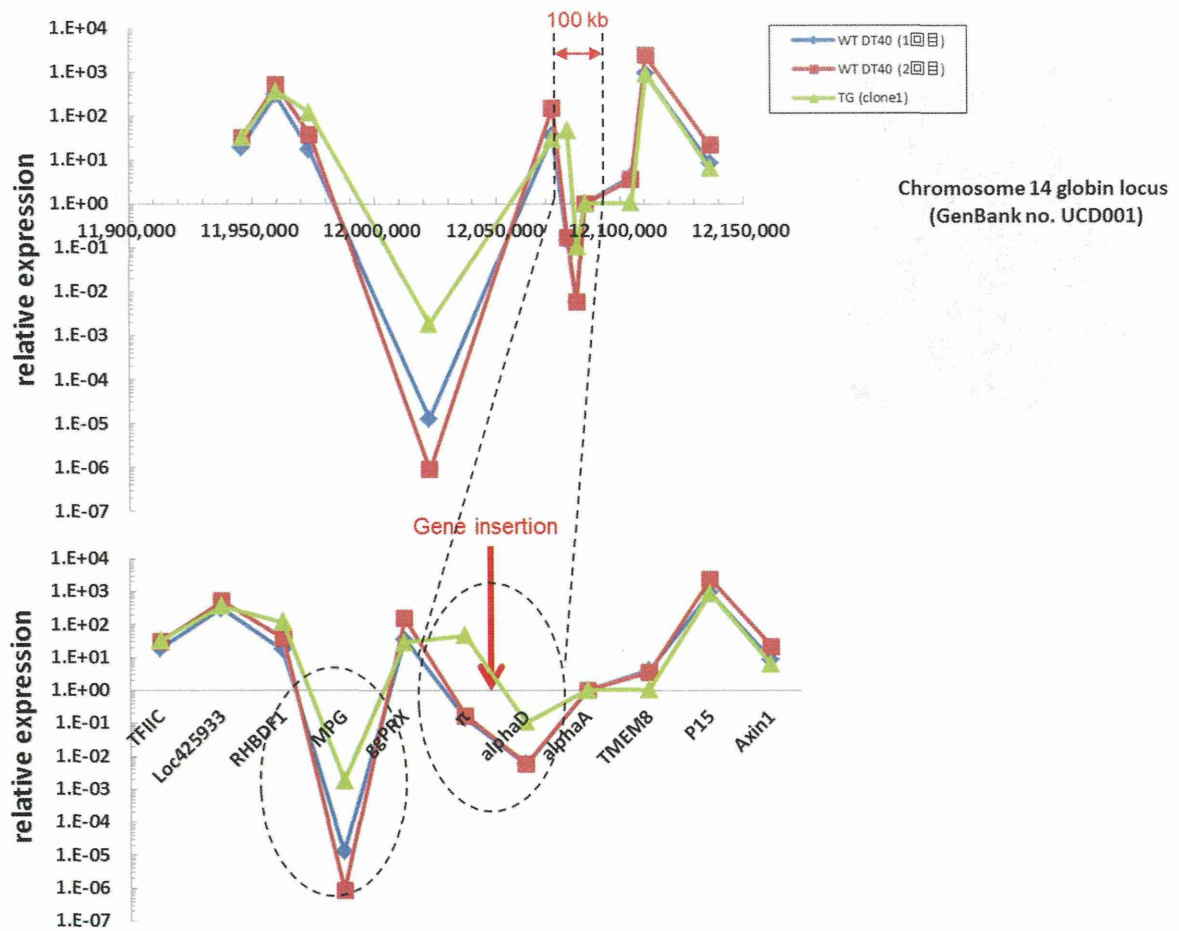


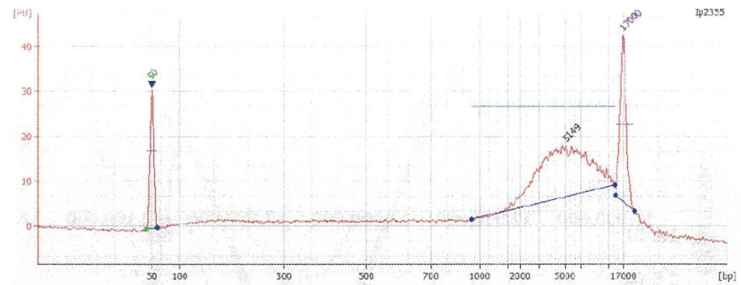
Fig.6 周辺配列の遺伝子発現量の比較

TALENにより作成したTG株の100 kb内に存在する内在性遺伝子の発現パターンをRT-PCR法より解析した。

A.



B.



C.

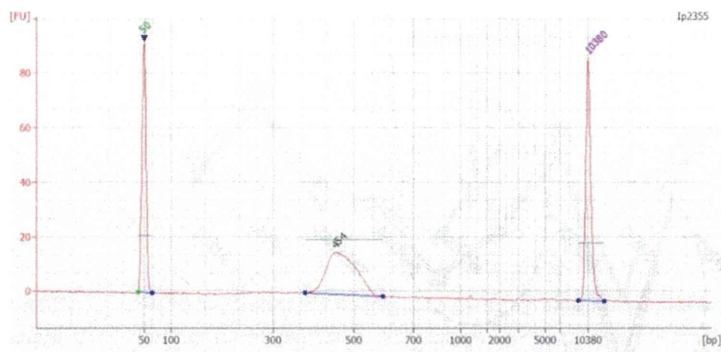


Fig.7 パパイヤ加工食品の次世代シーケンシング解析試料調整

A. パパイヤ加工食品（パパイヤ茶）から精製したゲノム DNA アガロース（1% [w/v]）電気泳動図を示す。

B. バイオアナライザーにより解析したゲノム DNA の分解度（平均 DNA 鎖長 5149 bp）

C. アダプター結合させた IlluminaHiSeq シーケンシングに供したパパイヤゲノム断片（400～500 bp）

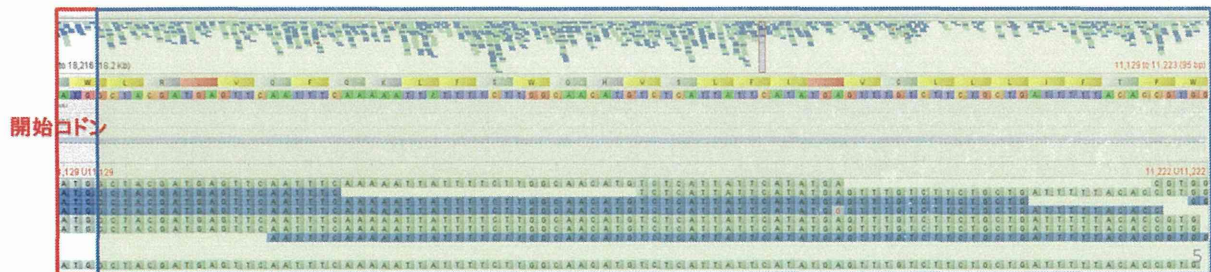


Fig.8 illuminaHiSeq で得られた配列のマッピング解析一例
 Plaza にて提供されているパパイヤゲノム配列 (Rainbow ゲノム配列[Nature, 452, 991-996, 2008]) をリファレンスとして、パパイヤ内在性遺伝子 (GenBank accession no. AY803756) をマッピングした例を示す。

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）
「次世代バイオテクノロジー技術応用食品等の安全性確保に関する研究」
分担研究報告書

統合型遺伝子組換え食品データベース作成・次世代遺伝子組換え技術を用いた作物と
非食用組換え作物の検知技術の開発

研究分担者	吉松嘉代	医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 筑波研究部 育種生理研究室長
研究協力者	河野徳昭	医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 筑波研究部 主任研究員
研究協力者	島田浩章	東京理科大学基礎工学部生物工学科 教授
研究協力者	草野博彰	東京理科大学基礎工学部生物工学科 助教

研究要旨

遺伝子組換え（GM）植物のうち、薬用 GM 植物、環境浄化用 GM 植物及び食用作物を用いた産業用 GM 植物に関する情報を収集し、また、新規植物育種法（NBT：New Breeding Techniques）の開発状況を調査した。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 件であった。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、国別の件数は、中国：30 件が最も多かった。

NBT は急速な発展の途上にある技術である。そこで、本分野の技術潮流を把握するため、NBT の植物への応用例について文献調査を行った。とくに、遺伝子工学的手法による従来の遺伝子組換え法の代替法となると考えられる、ZFN、TALEN、CRISPR の 3 手法を対象を絞った調査では、TALEN 及び、CRISPR が積極的に植物へ利用されている実態が明らかになった。また、今年度は TALEN 応用モデル植物の構築を開始する方針を固め、ホストとする予定であるマーカー遺伝子導入組換えイネを候補のひとつとして準備した。今後、標的コンストラクトのコピー数の解析等を行い、TALEN によりマーカー遺伝子の破壊等を計画している。

A. 研究目的

遺伝子組換え生物 (genetically modified organism, GMO) は、植物分野においては、経口ワクチン等の医薬品生産(薬用 GM 植物) や土壌浄化等 (環境浄化用 GM 植物) の目的への利用が年々増加している。これらの新 GMO は、従来の除草剤耐性の食用植物などの GM 植物とは異なり、基本的に非食用であることから、フードチェーンへの混入は健康被害等の重大な問題を引き起こす可能性が高い。また、近年、植物の分子育種技術は長足の進化を遂げており、いわゆる New Plant Breeding Techniques (NBT) に含まれる育種技術のなかには、標的とする遺伝子領域に正確に目的遺伝子を導入可能なものや、標的とする遺伝子領域のみを正確に破壊するような技術が開発されている。

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。

また、これらの非食用 GM 植物ならびに NBT 応用植物の食品中への混入を防止するための安全性確保に有用な検知技術の確立を行うことを目的とする。

これまでに、厚生労働省による安全性審査の手続きを経た遺伝子組換え食品等のうち、遺伝子組換えトウモロコシ、大豆、じゃがいも等については検査法が公定法として存在するが、中国産の未承認組換えイネの混入事例のように、今後は未承認または NBT 応用生物を含む未知の組換え、または遺伝子編集技術適用作物の市場への混入がより深刻な問題となり得る。薬用植物資源を生産・管理する立場にある医薬基盤研究所薬用植物資源研究センターにおいて、そのような事態に対処可能な検知システムを開発し、未知の危険性に備える意義は危機管理の面からも非常に大きい。

本研究では、NBT を用いた作物と非食用組換え作物の食品中への混入を防止するための安全性確保に有用な検知技術の確立を行う。遺伝子組換え食品の安全性確保に関する研究は既に行われているが、NBT による改変の場合は、ゲノム中に組換えの痕跡が残らない、または残っても非常にわずかなものであるため、それらを在来の PCR 法で検知することは困難と考えられる。本研究においてはそのような検出の困難な組換え体を検知のターゲットとし、次世代型シーケンサー等を活用した新規検知法の開発に取り組む点が独創的である。

B. 研究方法

1. GM 植物及び NBT 開発状況の調査

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。

2. NBT①ゲノム編集技術の概要

研究方法について述べる上で基礎的な情報として、NBT①ゲノム編集技術 (図 1) の概要、特に、ZFN、TALEN 及び CRISPR の概要を以下にまとめた。

ZFN (Zinc Finger Nuclease)

ZFN は、DNA に結合する部位である 3 個から 6 個の zinc(Zn) finger と、制限酵素 *FoKI* の DNA 切断ドメインからなる融合酵素であり、標的 DNA 配列に結合し、*FoKI* が二量体を形成して 2 本鎖 DNA を切断する。ここで切断された二本鎖 DNA が相同組換えまたは非相同末端連結により修復される際に変異が導入される。ZFN は標的部認識の特異性が高いが、zinc finger の部分が(GNN)_n で構成される配列を認識する傾向があるため、標的遺伝子配列の自由度が小さい。

TALEN

Transcription activator-like effector nucleases (TALENs)は、植物病原細菌 *Xanthomonas* が持つ転写因子の DNA 結合ドメインと制限酵素 *FoKI* の DNA 切断ドメインの融合酵素であり、標的塩基配列を認識するタンパク質のモジュールにより標的配列に結合し、二量体を形成して二本鎖 DNA を切断し、切断部位が相同組換えまたは非相同末端連結により修復される際に変異が導入される。

ZFN(Zinc Finger Nuclease)と比較して標的塩基配列の自由度が高く、CRISPR と比較して、オフターゲット(off-target:標的部以外への意図しない変異の導入)が少ないとされるが、塩基を認識するタンパク質ユニットを設計し、コンストラクトを構築する必要がある。

CRISPR/Cas9 (CRISPR)

現在のところ、NBT①とされるものの中では最新の技術である。CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)/Cas (CRISPR Associated)は、細菌や古細菌における獲得免疫の機構を利用したものであり、標的配列と相補的なガイド RNA(gRNA)に誘導され、Cas9ヌクレアーゼが標的配列を特異的に認識し、切断する。

標的塩基配列に対する相補的な塩基配列 (guide RNA)を破壊に用いるのでTALENよりも簡便標的を認識する部位が標的部の一か

所のみであるため、TALEN と比較して、off-target 活性が高いとされる。

3. NBT①応用状況の文献調査

NBT①はいずれも急速な発展途上にある技術であり、検知法の開発と技術の開発、改良が並行して進む状況である。そこで、NBT①の植物への応用例について文献調査を行い、急速に革新が進む本分野の技術潮流を把握するため、文献調査を行った、今回、NBT①と称されるもののなかでも、遺伝子工学的手法を用い従来の遺伝子組換え法の代替法となると考えられる、ZFN、TALEN、CRISPR の 3 手法を対象を絞った。

NCBI PUBMED (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)で ZFN については、ZFN、zinc finger、plant、TALEN については、TALEN(s)、TAL effector、plant、そして CRISPR については CRISPR、cas9、plant、arabidopsis、nicotiana、をキーワードとして検索を行った。

検索結果から、まず、植物を対象として遺伝子編集を行った論文を抽出し、リスト化した。

次に、残る検索結果から、植物以外を対象としたものなどを除き、NBT①各技術に関する基礎科学的な知見を記した論文や、総説等を合わせてリスト化した。また、上記の 2 リストについて、発表年別に集計し、グラフ化した。

4. NBT 応用モデル植物の作製基盤整備

NBT①を植物へ応用し、モデルを作製することにより、今後の NBT①応用植物の検知法等の開発の基盤整備を行うため、下記の 2 つのアプローチ手法を計画した。

ケース 1. NBT①応用植物 (モデル) を作成する

step 1. NBT①を適用する植物を作成・入手する

step 2. マーカー遺伝子を NBT①により破壊する

step 3. 作成した NBT① 応用植物を解析に利用する

ケース 2. NBT① 応用植物を入手し、解析する

step 1. NBT 応用植物を入手する

step 2. 入手した NBT 応用植物を解析に利用する

まず、上記の ケース 1 を実施するため、表現形質で NBT① による遺伝子変異の導入の確認を容易にするため、マーカー遺伝子を従来法の遺伝子導入法で導入した組換え体イネを作出または入手する。同時に、TALEN 技術の習得を進め、同技術を用いて、作出または入手したマーカー遺伝子（たとえば β -glucuronidase : GUS）を発現するイネ組換え体を材料として、マーカー遺伝子を破壊するモデル実験を行う。

ケース 2 の実施については、TALEN の技術を適用したイネ遺伝子変異体のうち、TALEN のコンストラクトが残存し機能するものを入手し、これを用いてカルス培養時に TALEN により生じる遺伝子変異の各種性状について情報の収集を行う。現在、被譲渡可能な TALEN 応用植物について、国内の NBT の関連研究者らと情報交換、調整を進めているところである。

C. 研究結果

1. GM 植物及び NBT 開発状況の調査

国内の状況について、第 31 回日本植物細胞分子生物学会（札幌）大会・シンポジウム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（表 1-3）。

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（表 4-10）。

2. NBT① 応用状況の文献調査

NCBI PUBMED (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) で各 NBT① について検索し、検索結果について、基礎技術に関する論文や総説を除き、植物に NBT① を適用した論文のみを抽出した（表 11-13）。その他の基礎技術に関する論文や総説については、表 14-16 にまとめた。また、年度別の論文数推移について、全体の総数の推移と、植物への実施数のそれぞれをグラフ化した（図 2、図 3）。

これらの NBT① 適用植物リストおよびグラフから、伺える NBT の利用動向は下記のとおりである。（論文数は 2014 年 3 月 5 日現在のもの。）

ZFN の植物への応用について、キーワード：ZFN、zinc finger nuclease、plant で検索したところ、適用植物：シロイヌナズナ、タバコ、トウモロコシ、大豆の 4 種、12 報の報告が認められた。ZFN の適用範囲はモデル植物が中心であり、応用例はマメ科にとどまっている。

TALEN の植物への応用について、キーワード：TALEN(s)、TAL effector、plant で検索したところ、シロイヌナズナ、イネ、タバコ (*N. tabacum*)、トウモロコシ、*Brassica oleracea*（アブラナ科）、*Brachypodium*（イネ科、セルロースバイオマス増産研究のモデル植物として期待される）、大麦の 7 種、11 報の報告が認められた。TALEN は 2010 年からモデル植

物をはじめ、実用作物である穀類へと広く適用されている。

CRISPR/Cas の植物への応用について、キーワード：CRISPR, cas9, plant, arabidopsis, nicotiana、で検索したところ、シロイヌナズナ、イネ、タバコ(*N. tabacum*)、*Nicotiana benthamiana*、小麦、ソルガム、トウモロコシ、ゼニゴケの 8 種、14 報の報告が認められた。CRISPR の植物への応用は 2013 年に Nature Biotechnology に 3 報が同時に報告されたのを皮切りに、論文数が急速に増加しており、短期間に 8 種(ゼニゴケを含む)の植物に適用されていることは注目すべき点である。

研究が実施された国別でみると、NBT①研究に注力しているミネソタ大の Voytas らのグループが活動する米国の報告数が多く、中国、とくに Chinese Academy of Sciences からの報告数が多い。今後、中国の動向については注意して見守る必要があると考えられる。

上記の適用例数は、ZFN は標的部位の設計に塩基配列の制限がある、TALEN は標的部位の配列の自由度は高いがタンパク質で塩基配列を認識するためコンストラクトの設計が煩雑、CRISPR は標的部位の自由度が高く、標的部位に相補的な塩基配列(guide DNA, gRNA)の設計のみが必要とされるといった各 NBT の技術的特徴、とくに、いかに簡便であるかをよく反映していると考えられ、技術的に簡便な CRISPR が急速に適用例を増やしている実態が明らかになった。

ただし、現在のところ、CRISPR は TALEN と比較して特異的認識部位(標的配列)が一か所であるため、off-target 活性が高いとされ、TALEN と CRISPR のどちらが優れているかは、操作の簡便さのみではなく、標的配列特異性などを詳細に検討する必要があると考えられる。

3. (ケース 1) NBT モデル植物作出のための基盤整備

NBT①文献調査の結果等をふまえ、本研究においては、まず TALEN を利用した遺伝子編集を実際に試行することとした。

NBT①を適用したモデル植物を作成する上で、ホストとなる植物は、NBT①による遺伝子破壊・変異の効果が目視等簡便な方法で確認できるように GUS 等のマーカー遺伝子を有していることが望ましい。

そこで、今年度は本研究の研究協力者である、東京理科大学基礎工学部生物工学科 島田浩章教授より、同教授らの作出した、GUS 遺伝子に OsMacI 遺伝子の 5'非翻訳領域を付加した、 β -glucuronidase (GUS)タンパク質を高効率に発現する UTRc::GUS rice (Ref.1)の種子の譲渡を受けた。

UTRc::GUS rice に導入されているマーカー遺伝子(GUS)の発現コンストラクト(図 4)を構成する遺伝子群は下記のとおりである。

- ・イネ (*Oryza sativa*)由来 UTRc (OsMacI 遺伝子 5' 非翻訳領域)
- ・カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)由来 35S プロモーター(35S-Pro)
- ・アグロバクテリウム (*Rhizobium radiobacter*)由来ノパリン合成酵素遺伝子プロモーター(NOS-Pro)
- ・アグロバクテリウム (*Rhizobium radiobacter*)由来ノパリン合成酵素遺伝子ターミネーター(NOS-ter)
- ・大腸菌(*E. coli*)由来ハイグロマイシン耐性遺伝子 (HPT)
- ・大腸菌(*E. coli*)由来カナマイシン耐性遺伝子 (NPT II)
- ・アグロバクテリウム (*Rhizobium radiobacter*)由来 T-DNA 境界配列(LB, RB)

今後、UTRc::GUS rice をホストとして、本コンストラクト中の GUS 遺伝子を標的として TALEN のモジュールを設計し、二本鎖切断による変異導入の形態及び効率等の解析を計画している。

なお、この遺伝子組換え体は導入コンストラクトのコピー数が確定していない。TALEN 導

入のためのホストとしては、標的のコンストラクトは 1 コピーであることが望ましいため、realtime-PCR 法等でコピー数の確認ののち、TALEN 応用モデル植物構築に使用する予定である。

4. (ケース 2) TALEN 応用植物の導入についての検討

上記の UTRc::GUS rice に加え、本研究においては、農業生物資源研究所農業生物先端ゲノム研究センターゲノム機能改変研究ユニット土岐精一ユニット長より、TALEN を適用し、WAXY 遺伝子 (イントロン) に変異を導入したイネ TALEN コンストラクトを有する組換え体について譲渡を受けることも検討している。

本組換え体については TALEN コンストラクトがゲノムに挿入されているため、カルスで培養を行った際の、培養期間、培養条件に応じた二本鎖切断 (Double Strand Break, DSB) の発生形態、頻度の解析に用いることができる見込みである。

5. TALEN コンストラクト構築技術の習得

TALEN の技術習得のため、2014 年 3 月 26 日～28 日に広島大学で開催される「ゲノム編集コンソーシアム」(主宰：広島大学理学研究科数理分子生命理学専攻分子遺伝学研究室山本卓教授)主催の第 7 回人工ヌクレアーゼ作製講習会 (Platinum TALEN の作製) に参加する予定である。

D. 考察

国内の GM 植物及び NBT 研究・開発状況について調査した結果、24 件の情報が得られ、そのうち、機能性食品：7 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」で調査した結果、83 件が得られ、そのうち、機能性食品：27 件、治療薬：19 件、環

境浄化：14 件が多かったが、NBT：9 件であり、本キーワードでは NBT に関する情報の取得が難しいことが伺えた。

そこで今年度は、NBT①ゲノム編集に着目し、その植物分野への応用の状況について論文の調査を行ったところ、同技術が積極的に植物へ利用されはじめている実態が明らかになった。特に TALEN 及び CRISPR の植物への使用が急速に進んでいることが判明し、本研究においては両技術の動向を注視すべきと考えられる。

遺伝子編集技術分野の技術革新は急速に進んでおり、今後、いずれの技術が主流となるのか、現在のところ未知である。また、今後出現するであろう新技術についても注意深く情報収集を続ける必要があると考えられる。

本研究においては、NBT①ゲノム編集技術を利用して作出された組換え体をモデルとして入手または、作出することにより、検知法開発等に関する種々のモデル実験系の構築が可能になり、組換え植物の食品への混入検知法の開発等、厚生労働行政に貢献する研究成果が挙げられると考えられる。

E. 結論

GM 植物及び NBT 研究・開発状況について調査した結果、国内では NBT に関する研究が徐々に増えている実態が明らかになった。今年度は、TALEN や CRISPR/Cas9 といった NBT のうちゲノム編集技術の植物分野への応用の状況について論文の調査を行い、特に TALEN と CRISPR が積極的に植物へ利用されている実態が明らかになった。なかでも、CRISPR の植物への利用の急伸は特筆に値する。

また、今年度は TALEN 応用モデル植物の構築から試行を開始する方針を固め、ホストとする予定であるマーカー遺伝子導入組換え体 UTRc::GUS rice を候補のひとつとして準備した。今後、標的コンストラクトのコピー数の解析等を行い、TALEN によりマーカー遺伝子の破壊等を試み、遺伝子の破壊形態等の解析に用

いる予定である。

F. 文献

Ref. 1) A long 5'UTR of the rice OsMac1 mRNA enabling the sufficient translation of the downstream ORF. Teramura, H., Enomoto, Y., Aoki, H., Sasaki, T., and Shimada, H. Plant Biotechnology 29, 43-49 (2012) DOI: 10.5511/plantbiotechnology.11.1209a

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

なし

【資料】

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)

表 1. 国内での NBT 研究・開発状況

NBTの種類	作物	演題	研究・開発機関
NBT①	シロイヌナズナ	安本周平, 関光, 福島エリオデット, 佐久間哲史, 山本卓, 村中俊哉: 植物テルペノイド代謝工学への人工ヌクレアーゼTALENの利用, 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集1Ap-04, p.96, 2013年9月.	日本・阪大院・工・生命先端, 広大院・理
NBT⑦-2	タバコ	福澤徳穂, 一町田紀子, 増田税, 松村健: Cucumber mosaic virus (CMV) ベクターを基としたアグロインフエクションシステムの開発, 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集2Aa-09, p.199, 2013年9月.	日本・産総研・生物プロセス, 北大院農
NBT⑦-2	タバコ	谷内田藍, 志村華子, 増田税: ロベリアにおけるアントシアニン合成経路のVIGS 制御, 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集P-31, p.273, 2013年9月.	日本・北大院農
NBT⑥	イネ	小沢憲二郎, 川東弘幸, 若佐雄也, 高岩文雄: アグロバクテリウム法を用いたイネ相同組換え系のさらなる効率化, 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集P-57, p.299, 2013年9月.	日本・農生研
NBT⑥	イネ	雑賀啓明, 森明子, 遠藤真咲, 刑部敬史, 土岐精一: イネにおけるジーンターゲティング効率の評価系の開発, 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集P-62, p.304, 2013年9月.	日本・生物研・ゲノム機能改変, 埼玉大・環境科学研究センター, 横浜市大・木原生研
NBT①	イネ	笹岡大輝, 望月真衣, 大里修一, 佐久間美子, 近藤聡, 村本 伸彦, 杉本広樹, 光川典弘, 大音徳, 太田邦史: イネにおけるゲノム再編誘発技術「TAQing システム」の発現制御, 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集P-63, p.305, 2013年9月.	日本・明治大・農, 理研・基幹研, トヨタ自動車・バイオラボ, 豊田中研・バイオ研, 東大・総合文化
NBT⑦-1	タバコ	川口大地, 山内靖雄, 杉本幸裕, 水谷正治: アグロインフィルトレーション法による植物発現系を用いた植物代謝酵素の機能解析, 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集P-67, p.309, 2013年9月.	日本・神戸大院・農・生命機能科学

表 2. 国内での GM 植物（機能性食品）研究・開発状況

区分	作物	演題	研究・開発機関
機能性食品	シロイヌナズナ	平井優美, 李一蒙, 荒木良一, 澤田有司, 西澤治, 斉藤和季, 小川俊也: グルコシノレート合成を制御する MYB 転写因子の機能解析. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集Aa-07, p.85, 2013年9月.	日本・理研 PSC, 理研CSRS・JST・CREST, 東北林業大学, キリン株式会社, 千葉大院・薬
機能性食品	タバコ(培養細胞BY-2)	中塚貴司, 佐々木伸大, 山田恵理, 藤田晃平, 高橋秀行, 今村智弘, 鈴木万里子, 小関良宏, 辻村郁子, 齋藤美沙, 坂本裕一, 西原昌宏: タバコ培養細胞BY-2を用いたベタレイン色素合成系の確立. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集1Aa-12, p.90, 2013年9月.	日本・静岡大院・農・共生バイオ, 岩手生工研セ, 農工大・工・生命
機能性食品	レタス(葉緑体遺伝子の位置特異的組換え)	佐々木貴子, 小川拓水, 岡澤敦司, 三沢典彦, 太田大 策: 遺伝子組換えアスタキサンチン高産生レタスの代謝プロファイリング. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集1Cp-03, p.151, 2013年9月.	日本・大阪府立大学・生環・細胞代謝機能学, 石川県立大学・生物資源工学研究所
機能性食品	クラミドモナス(藻類)	大平 成子, 梶川昌孝, 福澤秀哉: 遺伝子改変によるスクアレン蓄積緑藻の作出. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集2Aa-12, p.202, 2013年9月.	日本・京大院・生命
機能性食品	テンサイ	吉田みどり, 松平洋明, 田村健一: チモシーのフルクタン合成酵素遺伝子を導入した組換えテンサイによるレバンの生産. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集P-92, p.333, 2013年9月.	日本・(独)農研機構・北海道農業研究センター
機能性食品	ジャガイモ	梅基直行, 佐々木勝徳, 大山清, 山下まり, 水谷正治, 関光, 斉藤和季, 村中俊哉: グリコアルカロイド合成遺伝子群の同定について. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集1Ap-01, p.93, 2013年9月.	日本・キリン(株)・基盤研, 理研CSRS, 東大院・理工, 東北大院・農, 神戸大院・農, 阪大院・工・, 千葉大院・薬
機能性食品, 治療薬	ジャガイモ	大山清, 斉藤和季, 村中俊哉, 梅基直行: ステロイドアルカロイド合成の改変による有用サボニンの蓄積. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集1Ap-02, p.94, 2013年9月.	日本・東工大 院・理工, 理研CSRS, 千葉大院・薬, 阪大院・工, キリン(株)・基盤研

表 3. 国内での GM 植物（経口ワクチン、食用医薬、抗体医薬、治療薬、環境浄化、バイオ燃料）研究・開発状況

区分	作物	演題	研究・開発機関
経口ワクチン	イネ	佐生愛, 重光隆成, 齊藤雄飛, 田中愛実, 森田重人, 佐藤茂, 増村威宏: 経口ワクチン用キャリアーを目的としたイネ種子PB-1の特定部位への外来タンパク質局在化と消化酵素耐性に関する研究. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集1Ca-12, p.146, 2013年9月.	日本・京都府大院・生命環境, 京都農技セ・生資セ
食用医薬	イネ	菊田桃香, 佐生愛, 重光隆成, 森田重人, 佐藤茂, 増村威宏: 抗菌タンパク質を発現するイネに関する研究. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集1Ca-13, p.147, 2013年9月.	日本・京都府立大学院・生命環境, 京都府立大学・生命環境学部, 京都農技セ・生資セ
食用医薬	ダイズ(主要な貯蔵タンパク質である7S及び11Sグロブリンを欠失した変異ダイズ系統JQ)	寺川輝彦, 長谷川久和, 瓦林毅, 島田康, 丸山伸之, 石本政男, 東海林幹夫: アルツハイマー病エピソード融合タンパク質のダイズへの高蓄積化と予防効果. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集1Cp-01, p.149, 2013年9月.	日本・北興化学・開発研, 弘前大院・医 京都大院・農・生物研
食用医薬	イネ	赤間 一仁, 後藤春樹, 越智ありさ, 三川健: 応用筋萎縮の予防と治療を目的とした健康機能性米の開発. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集1Cp-02, p.150, 2013年9月.	日本・島根大・生資, 徳島大・生体栄養
抗体医薬	タバコ	永利友佳里, 池田美穂, 高木優: シロイヌナズナ AtbH1 遺伝子を用いた植物工場適性植物の開発. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集P-68, p.310, 2013年9月.	日本・産総研・バイオプロセス, 埼玉大 学・環境科学
治療薬	ハナビシソウ	○山田 泰之, 本村幸也, 島田友恵, 小倉康平, 吉本忠司, 加藤伸彦, 小山知嗣, 佐藤文彦: イソキノリンアルカロイド合成系を制御する転写因子 CjWRKY1 の機能解析. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集1Aa-09, p.87, 2013年9月.	日本・京大院・生命科学, サントリー 生科財団・生有研
治療薬	イネ	高岩文雄, 工藤恭子, 太田賢, 楊麗軍, 若佐雄也: ヒトIL-7のイネ種子胚乳中での産生によって誘導される小胞体ストレス. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集2Aa-10, p.200, 2013年9月.	日本・農業生物資源研・組換えセン ター・機能性作物
治療薬	イネ	藤原義博, 高岩文雄, 楊麗軍, 関川賢二: 組換えイネによるサイトカイン(IL-4, IL-6)の発現と精製. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集P-91, p.332, 2013年9月.	日本・プリベンテック, 農業生物資源 研
環境浄化	タバコ(BY-2培養細胞)	増山文博, 保倉明子, 阿部知子, 平野智也, 寺田靖子, 佐野 俊夫: 放射光蛍光 X 線分析によるタバコ BY-2培養細胞におけるCd蓄積機構の解明. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集P-75, p.317, 2013年9月.	日本・東京電機大学・院・工学研, 理 研・イノベーションセンター, 理研・仁 科センター, JASRI, 法政大学・生命科 学・生命機能学科
バイオ燃料	イネ	古川佳世子, 瀧川陸, 園木和典, 伊藤 幸博: 老化誘導プロモーターとセルラーゼを用いた高糖化性イネの開発. 第31回日本植物細胞分子生物学会(札幌)大会・シンポジウム講演要旨集1Cp-07, p.155, 2013年9月.	日本・東北大・農, 弘前大・農学生命

表 4. 2013 年の薬用、環境浄化用、工業用（食用作物）GM 植物及び NBT 研究・開発状況（NBT、試薬、治療薬）

区分	作物	研究・開発機関	文献等
NBT①-1、治療薬	タバコ	フランス: Angany Genetics, Fr.	Gomord, Veronique; Fitchette, Anne Catherine; Faye, Loic, "Cloning, hydroponic transfection, expression and IMAC affinity purification of recombinant allergens in <i>Nicotiana benthamiana</i> ", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013186495 A1 20131219.
NBT①-1、治療薬	タバコ	フランス: Angany Genetics, Fr.	Gomord, Veronique; Fitchette, Anne Catherine; Faye, Loic, "Cloning, hydroponic transfection, expression and IMAC affinity purification of recombinant allergens in <i>Nicotiana benthamiana</i> ", Fr. Demande (2013), FR 2991996 A1 20131220.
NBT①-2	植物	韓国: Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology	Moon, Jae Sun; Lee, Su Heon; Kim, Sung Uk; Yoo, Ran Hee; Lim, Seung Mo; Lim, Hyoun Sub; Hwang, In Gyu, "SYCMV-derived recombinant viral vector, and use thereof", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013154233 A1 20131017.
NBT②	植物	中国: Southwest University	Pei, Yan; Zou, Xiuping, "Gene-auto-excision binary carrier for controlling biosafety of transgenic plant by sexual reproduction", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013000279 A1 20130103.
NBT④	植物	米国: E. I. Du Pont De Nemours and Company, USA; Pioneer Hi-Bred International	Kurek, Itzhak; McGonigle, Brian; Zhu, Genhai, "Silencing genes using artificial microRNAs and expression constructs with high degree of sequence specificity", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013063487 A1 20130502.
NBT⑤	植物	中国: The Chinese University of Hong Kong	Chui, Ceon Fai; Yu, Wai Chang, "Method for preparation of plant cell minichromosome by transforming first vector containing telomeric repetitive sequence and second vector containing recombination site", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 103289959 A 20130911.
NBT①	シロイヌナズナ	米国: Department of Genetics, Cell Biology, and Development and Center for Genome Engineering, University of Minnesota	Christian Michelle; Qi Yiping; Zhang Yong; Voytas Daniel F, "Targeted mutagenesis of <i>Arabidopsis thaliana</i> using engineered TAL effector nucleases", G3 (Bethesda, Md.) (2013), 3(10), 1697-705.
NBT⑥、試薬	チョコレート	インド: Department of Biotechnology, Faculty of Science Jamia Hamdard	Ohadi R, Mehrnaz S; Alvani, Amene; Samim, M; Abidin, Malik Z., "Plant bio-transformable HMG-CoA reductase gene loaded calcium phosphate nanoparticle: in vitro characterization and stability study", Current Drug Discovery Technologies (2013), 10(1), 25-34.
NBT③-1、治療薬	オタネニンジン	韓国: Inje University, Industry-Academy Cooperation Foundation	Heo, Gyeong Hye; Choi, Yong Ui, "Panax ginseng dammarenediol synthase gene promoter region, its sequence and use in constructing genetic vectors for generating transgenic plants with increased resistances and ginsenoside content", Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2013), KR 2013132082 A 20131204.

表 5. 2013 年の薬用、環境浄化用、工業用（食用作物）GM 植物及び NBT 研究・開発状況（環境浄化、治療薬）

区分	作物	研究・開発機関	文献等
環境浄化	タバコ	韓国: Department of Environment Horticulture The University of Seoul	Jeoung, Yoon-hwa; Kim, Young-Nam; Kim, Kwon-Rae; Kim, Kye-Hoon, "Physiological response and cadmium accumulation of MuS1 transgenic tobacco exposed to high concentration of Cd in soil: implication to phytoremediation of metal contaminated soil", Korean Journal of Soil Science and Fertilizer (2013), 46(1), 58-64.
環境浄化	タバコ (BY-2細胞)	中国: Biotechnology Research Center, Chengong Campus Kunming University of Science and Technology	Chen, Qi; Wu, Kong-Huan; Wang, Ping; Yi, Jia; Li, Kun-Zhi; Yu, Yong-Xiong; Chen, Li-Mei, "Overexpression of MsALMT1, from the Aluminum-Sensitive <i>Medicago sativa</i> , Enhances Malate Exudation and Aluminum Resistance in Tobacco", Plant Molecular Biology Reporter (2013), 31(3), 769-774.
環境浄化	植物	中国: Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Peop. Rep. China	Xu, Wenzhong; Ma, Mi; Chen, Yanshan, "Application of PvARRP1 protein and its encoding gene of <i>Pteris vittata</i> in arsenic transporters detoxification and accumulation", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 102899348 A 20130130.
環境浄化	タバコ	中国: Kunming University of Science and Technology	Chen, Limei; Guo, Chuanlong; Li, Song; Zhou, Lei; Wang, Lin, "Plant expression vector of Glycine max Tamba gene SGF14a for effectively increasing aluminum resistance of plants", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 103045640 A 20130417.
環境浄化	タバコ	中国: Kunming University of Science and Technology	Chen, Limei; Chen, Qi; Wu, Konghuan; Li, Kunzhi; Yu, Yongxiong, "Plant expression vector of soybean Tamba black G2H2-type zinc-finger protein gene STOP1 and its use in enhancing AL toxicity resistance of plant", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 102952822 A 20130306.
環境浄化	植物	中国: Kunming University of Science and Technology	Chen, Limei; Chen, Qi; Wu, Konghuan; Li, Kunzhi; Yu, Yongxiong, "", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 102952821 A 20130306.
環境浄化	タバコ、ヤセイコシラン、アルファルファ、カラシナ	中国: Qingdao University of Science and Technology	Zhang, Yuanyuan; Liu, Junhong; Zhang, Yuyan; Gong, Tingyun; Wang, Jing, "Method for repairing polluted soil with transgenic plant- <i>Clostrachys rosea</i> system", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 103042025 A 20130417.
環境浄化	植物、シロイヌナズナ	中国: Wuxi BIOGoodland Biotechnology Co., Ltd.	Xue, Yong, "Method for repairing polluted environment with transgenic plant transformed with genes RhlA and RhlB", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 103146742 A 20130612.
環境浄化	タバコ	中国: Kunming University of Science and Technology	Li, Kunzhi; Wang, Yuying; Xu, Huini; Chen, Limei, "Plant expression vector containing celery serine acetyltransferase gene SAT", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 103215306 A 20130724.
環境浄化	トウモロコシ	中国: Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Key Laboratory of Plant Nutrition and Fertilizer, The Ministry of Agriculture Chinese Academy of Agricultural Sciences	Hou, Wen-tong; Yang, Li-ping; Chen, Ru-mei; Zhang, Shao-jun, "Effects of <i>Aspergillus niger</i> phyA2 transgenic maize on utilization of organic phosphorus in soil", Zuowu Xuebao (2013), 39(8), 1360-1365.
環境浄化	植物	中国: Shanghai Ruifeng Agricultural Science and Technology Co., Ltd., Peop. Rep. China; Shanghai Academy of Agricultural Sciences	Peng, Rihe; Yao, Quanhong; Wang, Rongtan; Fu, Xiaoyan; Tian, Yongsheng; Zhao, Wei; Yan, Peilan; Zang, Xiaoyun; Wang, Bo; Wang, Lijuan, "A method for enhancing degradation of PAHs by using transgenic plants transformed with P 450 monooxygenase gene and glutathione S-transferase gene", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 103468738 A 20131225.
環境浄化	タバコ	トルコ: Department of Soil Science and Plant Nutrition, Faculty of Agriculture Mustafa Kemal University	Daghan, Hatice; Arslan, Mehmet; Uygur, Veli; Koleli, Nurcan, "Transformation of Tobacco with ScMTII Gene-Enhanced Cadmium and Zinc Accumulation", Clean: Soil, Air, Water (2013), 41(5), 503-509.
環境浄化	シロイヌナズナ	日本: Hiroshima University, Japan	Kuroda, Akio; Hirota, Ryuichi, "Transgenic plants having <i>Ralstonia</i> -derived phosphite dehydrogenase gene and cultivation of the plants", Jpn. Kokai Tokkyo Koho (2013), JP 2013031429 A 20130214.
環境浄化、治療薬	ハッカ	インド: Plant Biology Laboratory, Drug Development/Diagnostics & Biotechnology Division CSIR-Indian Institute of Chemical Biology	Sinha, Rajni; Bhattacharyya, Dipto; Majumdar, Aparupa Bose; Datta, Riddhi; Hazra, Saptarshi; Chattopadhyay, Sharmila, "Leaf proteome profiling of transgenic mint infected with <i>Alternaria alternata</i> ", Journal of Proteomics (2013), 93, 117-132.

表 6. 2013 年の薬用、環境浄化用、工業用（食用作物）GM 植物及び NBT 研究・開発状況（機能性食品その 1）

区分	作物	研究・開発機関	文献等
機能性食品	ナガミ/アマナズナ	英国: Department of Biological Chemistry and Crop Protection, Rothamsted Research	Ruiz-Lopez Noemi; Haslam Richard P; Napier Johnathan A; Sayanova Olga, "Successful high-level accumulation of fish oil omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in a transgenic oilseed crop", The Plant Journal : for cell and molecular biology (2013).
機能性食品	ナタネ、シロイヌナズナ	オーストラリア: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Australia; Grains Research and Development Corporation; Nuseed Pty. Ltd.	Petrie, James Robertson; Singh, Surinder Pal; De Feyter, Robert Charles, "Production of long chain polyunsaturated fatty acids in transgenic plant cells", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013185184 A2 20131219.
機能性食品	植物	カナダ: University of Alberta	Weseloh, Randall; Pan, Xue; Siloto, Rodrigo, "Method for enrichment of oils with polyunsaturated fatty acids using phospholipid acyltransferases and desaturase", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013181761 A1 20131212.
機能性食品	植物	韓国: Chungnam University Industry Collaboration Foundation, S. Korea	Park, Yeon Il; Shin, Dong Ho, "Arabidopsis thaliana PTR2 gene utilized as anthocyanin biosynthesis regulator for controlling accumulation of anthocyanin pigment in plant", Repub. Korea (2013), KR 1337243 B1 20131205.
機能性食品	ダイズ	韓国: Dong-A University, Research Foundation for Industry-Academy Cooperation	Jung, Yeong Su; Lee, Jae Heon; Kim, Mi Jin; Kim, Hye Jaong; Park, Jaeng Hun; Hong, Ha Nui, "Psy-2a-to-ort1 multi-expression gene for increasing carotenoid content of transgenic plant, and method for manufacturing transgenic plant with increased carotenoid content", Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2013), KR 2013022520 A 20130307.
機能性食品	イネ	韓国: National Institute of Crop Science, Rural Development Administration	Baek, So-Hyeon; Shin, Woon-Chul; Ryu, Hak-Seung; Lee, Dae-Woo; Moon, Eunjung; Seo, Chun-Sun; Hwang, Eunson; Lee, Hyun-Seo; Ahn, Mi-Hyun; Jeon, Youngju; Kang, Hyeon-Jung; Lee, Sang-Won; Kim, Sun Yeou; D'Souza, Roshan; Kim, Hyeon-Jin; Hong, Seong-Tshool; Jeon, Jong-Seong, "Creation of resveratrol-enriched rice for the treatment of metabolic syndrome and related diseases", PLoS One (2013), 8(3), e57930.
機能性食品	イネ	韓国: Rural Development Administration	Ha, Seon Hwa; Kim, Jae Gwang; Jung, Ye Sol; Lim, Seon Hyeong; Lee, Yeon Hui; Ku, Bon Seong; Kim, Yeong Mi; Lee, Jong Ryeol, "Polynucleotide for biosynthesis of zeaxanthin and transgenic plant using the same", Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2013), KR 2013055708 A 20130529.
機能性食品	イネ	韓国: Rural Development Administration	Ha, Seon Hwa; Kim, Jae Gwang; Jung, Ye Sol; Lim, Seon Hyeong; Lee, Yeon Hui; Ku, Bon Seong; Kim, Yeong Mi; Lee, Jong Ryeol, "", Repub. Korea (2013), KR 1229887 B1 20130208.
機能性食品	イネ	韓国: Rural Development Administration	Ha, Seon Hwa; Kim, Jae Gwang; Jung, Ye Sol; Lim, Seon Hyeong; Lee, Yeon Hui; Ku, Bon Seong; Kim, Yeong Mi; Lee, Jong Ryeol, "Polynucleotide utilized for biosynthesis of astaxanthin, and method for producing transgenic plants with anti-oxidant property using the same", Repub. Korea (2013), KR 1229885 B1 20130208.
機能性食品	植物	中国: Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences	Li, Mimi; Hang, Yueyu; Sun, Xiaolin; Pang, Hui; Li, Ying; Guo, Jianlin; Yan, Qinqin, "Brassica carinata fatty acid elongase, its encoded gene and application thereof", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 102978172 A 20130320.
機能性食品	ダイズ	中国: Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences	Liu, Baohui; Kong, Fanjiang; Cao, Dong, "Glycine max glucose phosphate transporter gene and its protein", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 103352040 A 20131016.
機能性食品	トウモロコシ	中国: State Key Laboratory of Agrobiotechnology, College of Biological Sciences, China Agricultural University	Wang, Meizhen; Liu, Chen; Li, Shixue; Zhu, Dengyun; Zhao, Qian; Yu, Jingjuan, "Improved nutritive quality and salt resistance in transgenic maize by simultaneously overexpression of a natural lysine-rich protein gene, SBgLR, and an ERF transcription factor gene, TSRF1", International Journal of Molecular Sciences (2013), 14(5), 9459-9474, 16 pp.
機能性食品	イネ	中国: State Key Laboratory of Agrobiotechnology, School of Life Sciences, The Chinese University of Hong Kong	Long, Xiaohang; Liu, Qiaquan; Chan, Manling; Wang, Qing; Sun, Samuel S. M., "Metabolic engineering and profiling of rice with increased lysine", Plant Biotechnology Journal (2013), 11(4), 490-501.
機能性食品	ナタネ	中国: Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing	Nie, X.; Zhao, Z. P.; Chen, G. P.; Zhang, B.; Ye, M.; Hu, Z. L., "Brassica napus possesses enhanced antioxidant capacity via heterologous expression of anthocyanin pathway gene transcription factors", Russian Journal of Plant Physiology (2013), 60(1), 108-115.

表 7. 2013 年の薬用、環境浄化用、工業用（食用作物）GM 植物及び NBT 研究・開発状況（機能性食品その 2）

区分	作物	研究・開発機関	文献等
機能性食品	植物	中国: Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences; Runke Biological Engineering (Fujian) Co., Ltd.	Huang, Junhao; Zhong, Yujuan; Jiang, Yue, "Method for producing astaxanthin with transgenic plant", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 102888425 A 20130123.
機能性食品	トウモロコシ	米国: Department of Agronomy, Iowa State University Ames	Kanobe Milly N; Rodermel Steven R; Bailey Theodore; Scott M Paul, "Changes in endogenous gene transcript and protein levels in maize plants expressing the soybean ferritin transgene", Frontiers in plant science (2013), 4, 196.
機能性食品	植物	中国: Northeast Normal University, Peop. Rep. China	Pang, Jinsong; Yu, Xiaoming; Jiang, Lili; Li, Ning; Yu, Qian; Xia, Qiong; Liu, Bao, "A method for increasing the starch content of transgenic plant using multi-gene transformation and cultivation", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 103173485 A 20130628.
機能性食品(香料)	タバコ	スイス: Philip Morris Products S.A.	Bovet, Lucien; Catnot, Jeremy; Schwaar, Joanne, "Genetic modulation of β -damascenone in tobacco plants", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013064499 A1 20130510.
機能性食品(香料)	タバコ	スイス: Philip Morris Products S.A.	Bovet, Lucien; Catnot, Jeremy; Schwaar, Joanne, "Genetic modulation of β -damascenone in tobacco plants", Eur. Pat. Appl. (2013), EP 2586792 A1 20130501.
機能性食品(香料)	タバコ	スイス: Philip Morris Products S.A.	Bakker, Nicholas; Bindler, Gregor Nicholas; Blanc, Michel Philippe; Goepfert, Simon; Martin, Florian, "Isopropylmalate synthase from Nicotiana tabacum and methods and uses for modulating sucrose esters and producing β -methylvaleric acid in transgenic plants", Eur. Pat. Appl. (2013), EP 2565265 A1 20130306.
機能性食品(香料)	タバコ	スイス: Philip Morris Products S.A.	Bakker, Nicholas; Bindler, Gregor Nicholas; Blanc, Michel Philippe; Goepfert, Simon; Martin, Florian, "Isopropylmalate synthase from Nicotiana tabacum and methods and uses for modulating sucrose esters and producing β -methylvaleric acid in transgenic plants", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013029799 A1 20130307.
機能性食品(香料)	タバコ	スイス: Philip Morris Products S.A.	Bovet, Lucien; Siero, Nicolas, "Threonine synthase from Nicotiana tabacum and methods and uses to modulate methionine in transgenic plant cells", Eur. Pat. Appl. (2013), EP 2565271 A1 20130306.
機能性食品(香料)	タバコ	スイス: Philip Morris Products S.A.	Bovet, Lucien; Siero, Nicolas, "Threonine synthase from Nicotiana tabacum and methods and uses to modulate methionine in transgenic plant cells", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013029800 A1 20130307.
機能性食品(香料)	チャノキ	中国: Zhejiang University	Lu, Jianliang; Fan, Fangyuan; Liu, Yang; Li, Nana; Zheng, Xinqiang; Liang, Yuerong, "", Faming Zhuanli Shenqing (2013), CN 103224946 A 20130731.
機能性食品(香料)	植物	日本: Suntory Holdings Ltd.	Nakamura, Noriko, "Cloning of cDNAs for linalool synthases and application to breeding of plant transformants with altered fragrance", Jpn. Kokai Tokkyo Koho (2013), JP 2013013406 A 20130124.
機能性食品(香料)	植物	日本: Suntory Holdings Ltd.	Nakamura, Noriko, "Cloning of cDNAs for terpineol synthases and application to breeding of plant transformants with altered fragrance", Jpn. Kokai Tokkyo Koho (2013), JP 2013074829 A 20130425.
機能性食品(香料)	植物	米国: Chromatin, Inc., USA; The Ohio State University	Blakeslee, Joshua; Cornish, Katrina; Crasta, Oswald; Folkerts, Otto; Jessen, Dave; Nair, Ramesh, "Enhanced farnesene production in metabolically engineered transgenic plants", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013106868 A1 20130718.

表 8. 2013 年の薬用、環境浄化用、工業用（食用作物）GM 植物及び NBT 研究・開発状況
（経口ワクチン、食用医薬、ワクチン抗原）

区分	作物	研究・開発機関	文献等
経口ワクチン	植物	台湾: National Taiwan University	Chan, Hui Ting; Chia, Min Yuan; Do, Yi Yin; Pang, Victor Fei; Jeng, Chian Ren; Huang, Pung Ling. "Oral vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome produced by plant and use thereof", Taiwan. (2013), TW 391487 B 20130401.
経口ワクチン	タバコ	中国: First Affiliated Hospital of Medical College Xi'an Jiaotong University	Liu, Hongli; Li, Xukui; Li, Wensheng; Si, Lusheng; Zheng, Jin. "Transgenic tobacco expressed HPV16-L1 and LT-B combined immunization induces strong mucosal and systematic immune response in mice", Human Vaccines & Immunotherapeutics (2013), 9(1), 83-89.
経口ワクチン	トマト	中国: Key Laboratory of Resource Biology and Biotechnology in Western China, Northwest University	Guo, Bin; He, Wei; Wu, Daochang; Che, Delu; Fan, Penghui; Xu, Lingling; Wei, Yahui. "Proteomic Analysis of Tomato (Lycopersicon esculentum var. cerasiform) Expressing the HBsAg Gene by 2-dimensional Difference Gel Electrophoresis", Plant Foods for Human Nutrition (New York, NY, United States) (2013), 68(4), 424-429.
経口ワクチン	タバコ	ロシア: All-Russia Research Institute for Agricultural Biotechnology	Tarasenko, I. V.; Taranov, A. I.; Firsov, A. P.; Dolgov, S. V. "Expression of the nucleotide sequence for the M2e peptide of avian influenza virus in transgenic tobacco plants", Applied Biochemistry and Microbiology (2013), 49(8), 695-701.
食用医薬	植物	米国: University of Arkansas-Jonesboro	Cramer, Carole L.; Dolan, Maureen C.; Medrano, Giuliana; Radin, David N. "Plant-based expression of avian interleukin-12 and methods of producing and using same", U.S. (2013), US 8431774 B1 20130430.
食用医薬	トマト	米国: University of California, USA	Fogelman, Alan M.; Reddy, Srinivasa T.; Navab, Mohamad. "Edible transgenic plant expressing active apolipoprotein or mimetic peptide for use in modulating disease by altering plasma levels of LPA, SSA, paraoxonase and HDL index", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013148214 A1 20131003.
食用医薬	トマト	米国: University of California, USA	Fogelman, Alan M.; Reddy, Srinivasa T.; Navab, Mohamad. "Edible transgenic plant expressing active apolipoprotein or mimetic peptide for use in modulating disease by altering plasma levels of LPA, SSA, paraoxonase and HDL index", U.S. Pat. Appl. Publ. (2013), US 20130344173 A1 20131226.
ワクチン抗原	タバコ、イネ、フタ、スラッシュユパイ	中国: College of Horticulture and Gardening Yangtze University	Tang, Wei; Page, Michael. "Inducible expression of Norwalk virus capsid protein gene in plant cell suspension cultures", In Vitro Cellular & Developmental Biology: Plant (2013), 49(2), 129-136.
ワクチン抗原	植物	米国: Pharma Green LLC	Golovkin, Maxim. "Methods and compositions to produce vaccines against smallpox in plants", U.S. Pat. Appl. Publ. (2013), US 20130266608 A1 20131010.
ワクチン抗原	タバコ	チェコスロバキア: Biology Centre AS CR Institute of Plant Molecular Biology Ceske Budejovice	Briza, Jindrich; Vlasak, Josef; Ryba, Stepan; Ludvikova, Viera; Niedermeierova, Hana. "Transformation of tobacco cpDNA with fusion E7GGG/GUS gene and homologous recombination mediated elimination of the marker gene", Biotechnology & Biotechnological Equipment (2013), 27(2), 3644-3648.

表 9. 2013 年の薬用、環境浄化用、工業用（食用作物）GM 植物及び NBT 研究・開発状況
（抗体医薬、試薬、治療薬）

区分	作物	研究・開発機関	文献等
抗体医薬	タバコ	カナダ: Department of Chemical Engineering McMaster University	Mavani, Mukesh; Filipe, Carlos D. M.; McLean, Michael D.; Hall, J. Christopher; Ghosh, Raja. "Purification of transgenic tobacco-derived recombinant human monoclonal antibody", Biochemical Engineering Journal (2013), 72, 33-41.
抗体医薬	ハクサイ	中国: College of Life Science Qingdao Agricultural University	Zhao, Mei-An; An, Song-Ji; Lee, Suk-Chan; Kim, Do-Sun; Kang, Byoung-Cheol. "Overexpression of a Single-Chain Variable Fragment (scFv) Antibody Confers Unstable Resistance to TuMV in Chinese Cabbage", Plant Molecular Biology Reporter (2013), 31(6), 1203-1211.
抗体医薬	タバコ	インド: Department of Biochemistry, C.B.S.H. G. B. Pant University of Agriculture and Technology	Dobhal, S.; Chaudhary, V. K.; Singh, A.; Pandey, D.; Kumar, A.; Agrawal, S. "Expression of recombinant antibody (single chain antibody fragment) in transgenic plant Nicotiana tabacum cv. Xanthi", Molecular Biology Reports (2013), 40(12), 7027-7037.
抗体医薬	イネ	韓国: Department of Biological Engineering Inha University	Kwon, Jun-Young; Jeong, Sun-Hee; Choi, Ji-Won; Pak, Yun-Young; Kim, Dong-Il. "Assessment of long-term cryopreservation for production of hCTLA4lg in transgenic rice cell suspension cultures", Enzyme and Microbial Technology (2013), 53(3), 216-222.
抗体医薬	イネ	韓国: Inha University, Department of Biological Engineering	Kwon, Jun-Young; Yang, Yong-Suk; Cheon, Su-Hwan; Nam, Hyung-Jin; Jin, Gi-Hong; Kim, Dong-Il. "Bioreactor engineering using disposable technology for enhanced production of hCTLA4lg in transgenic rice cell cultures", Biotechnology and Bioengineering (2013), 110(9), 2412-2424.
抗体医薬	タバコ	キューバ: Department of Monoclonal Antibody Production Center for Genetic Engineering and Biotechnology Havana	Gomez, Leonardo; Padilla, Sigifredo; Fuentes, Alejandro; Ruiz, Yoslane; Gonzalez, Tatiana; Somoza, Margarita; Lopez, Lisette; Sanchez, Julio; Gavilan, David; Espinosa, Elio; Avila, Yenisleidy; Mendoza, Otto; Masforrol, Yordanka; Garcia, Cristina; La, O. Maylin; Valdes, Rodolfo. "Assessment of two transgenic tobacco plant varieties for the HBsAg-specific plantibody production", Journal of Agronomy (2013), 12(1), 11-19.
抗体医薬	タバコ	ドイツ: Department Plant Biotechnology, Fraunhofer Institute for Molecular Biology and Applied Ecology (IME)	Vasilev Nikolay; Gromping Ulrike; Lipperts Anja; Raven Nicole; Fischer Rainer; Schillberg Stefan. "Optimization of BY-2 cell suspension culture medium for the production of a human antibody using a combination of fractional factorial designs and the response surface method", Plant biotechnology journal (2013), 11(7), 867-74.
試薬	タバコ	オランダ: Keygene N.V.	Bouwmeester, Hendrik Jan; Henquet, Maurice Gerard Leon; Jongsma, Maarten Anthonie. "Plant genes of drimenol biosynthesis and their use in drimenol manufacture", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013058655 A1 20130425.
治療薬、試薬	イネ	中国: Engineering Research Center for Plant Biotechnology and Germplasm Utilization, Ministry of Education, State Key Laboratory of Hybrid Rice, College of Life Sciences Wuhan University	An, Na; Ou, Jiquan; Jiang, Daiming; Zhang, Liping; Liu, Jingru; Fu, Kai; Dai, Ying; Yang, Daichang. "Expression of a functional recombinant human basic fibroblast growth factor from transgenic rice seeds", International Journal of Molecular Sciences (2013), 14, 3556-3567.
治療薬	タバコ	イラン: Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture Tarbiat Modares University	Goojani, Hojjat Ghasemi; Javaran, Mokhtar Jalali; Nasiri, Jaber; Goojani, Esmaeel Ghasemi; Alizadeh, Houshang. "Expression and Large-Scale Production of Human Tissue Plasminogen Activator (t-PA) in Transgenic Tobacco Plants Using Different Signal Peptides", Applied Biochemistry and Biotechnology (2013), 169(6), 1940-1951.
治療薬	オタネニンジン	韓国: Kangwon National University, University-Industry Cooperation Foundation	Choi, Yong U; Han, Jeong Yeon; Kim, Hyeon Jung. "Composition for promoting biosynthesis of protopanaxadiol containing CYP716A47 protein or its encoding protein, a host cell or transgenic plant transfected with recombinant vector containing the gene or plasmid", Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2013), KR 2013049270 A 20130514.

表 10. 2013 年の薬用、環境浄化用、工業用（食用作物）GM 植物及び NBT 研究・開発状況（治療薬）

区分	作物	研究・開発機関	文献等
治療薬	イネ	韓国: NSM Co., Ltd.	Kwon, Tae Ho, "Transgenic plant <i>Oryza sativa</i> producing light chain protein of human enterokinase and use thereof", Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2013), KR 2013113765 A 20131016.
治療薬	イネ	韓国: NSM Co., Ltd.	Kwon, Tae Ho, "Transgenic plant <i>Oryza sativa</i> producing light chain protein of human enterokinase and use thereof", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013151211 A1 20131010.
治療薬	植物	韓国: Rural Development Administration	Kim, Hyeon Uk; Lee, Gyeong Ryeol; Kim, Jong Beom; Noh, Gyeong Hui; Kim, Sun Hui, "Polypeptide, gene derived from cytochrome b5 of castor, composition and method for promoting hydroxy fatty acid production of plant", Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2013), KR 2013011325 A 20130130.
治療薬	タバコ	中国: College of Animal Science and Technology, China Agriculture University	Sun, Yan; Long, Ruicai; Kang, Junmei; Zhang, Tiejun; Zhang, Ze; Zhou, He; Yang, Qingchuan, "Molecular cloning and characterization of three isoprenyl diphosphate synthase genes from alfalfa", Molecular Biology Reports (2013), 40(2), 2035-2044.
治療薬	タバコ	中国: Henan Agricultural University	Zhao, Mingqin; Wang, Jing; Yun, Fei; Liu, Guoshun; Zhang, Songtao; Yang, Yongfeng; Jia, Hongfang, "Cloning of nicotine biosynthesis-related PMT2 gene promoter and application in regulating biosynthesis of nicotine", Faming Zhuanli Shengqing (2013), CN 102851287 A 20130102.
治療薬	油料作物	中国: Jilin Agricultural University, Peop. Rep. China; Bioreactor Engineering Co., Ltd., Jilin Agricultural University	Jiang, Chao; Li, Xiaokun; Li, Haiyan; Tian, Haishan; Yang, Jing; Wang, Lan; Chen, Yubin; Jin, Libo, "Vegetable oil body gel preparation containing KGF2", Faming Zhuanli Shengqing (2013), CN 103417954 A 20131204.
治療薬	シソ	中国: Laboratory of Food Additives and Nutrition, College of Food Engineering and Biological Technology, Tianjin University of Science and Technology	Lu, Xiaoling; Hao, Lei; Wang, Fang; Huang, Chen; Wu, Shuwei, "Molecular cloning and overexpression of the tyrosine aminotransferase (TAT) gene leads to increased rosmarinic acid yield in <i>Perilla frutescens</i> ", Plant Cell, Tissue and Organ Culture (2013), 115(1), 69-83.
治療薬	タンジン	中国	Liu, Dehu, "Application of human basic fibroblast growth factor fusion gene", Faming Zhuanli Shengqing (2013), CN 103319609 A 20130925.
治療薬	イネ、ダイズ、エンバク、ニホンカボチャ、シロイヌナズナ	日本: Kyushu University, Japan; National Institute of Agrobiological Resources (Niar)	Kumamaru, Toshihiro; Fukuda, Masako; Sato, Mio; Sato, Hikaru; Kawagoe, Yasushi, "Cloning and application of the genes which are involved in accumulation of plant storage proteins", Jpn. Kokai Tokkyo Koho (2013), JP 2013066465 A 20130418.
治療薬	植物	日本: Suntory Holdings Ltd.	Ono, Eiichiro; Tsuruoka, Nobuo, "Cloning of gene for monoterpene glycosyltransferase from <i>Thea sinensis</i> and its application", Jpn. Kokai Tokkyo Koho (2013), JP 2013176361 A 20130909.
治療薬	サトウキビ	米国: Department of Biological and Agricultural Engineering, Texas A&M University	Barros, G. O. F.; Ballen, M. A. T.; Woodard, S. L.; Wilken, L. R.; White, S. G.; Damaj, M. B.; Mirkov, T. E.; Nikolov, Z. L., "Recovery of bovine lysozyme from transgenic sugarcane stalks: extraction, membrane filtration, and purification", Bioprocess and Biosystems Engineering (2013), 36(10), 1407-1416.
治療薬	植物	米国: J.R. Simplot Company, USA	Rommens, Caius M.; Shakya, Roshani; Ye, Jingsong, "Aureusidin-producing transgenic plants", PCT Int. Appl. (2013), WO 2013169369 A1 20131114.