

201426005A

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26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27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 11
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 29
2. 組換え魚の安全性に関する研究 35
名古屋 博之
3. 組換え微生物の安全性に関する研究 41
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 47

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) 77
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 89
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 101
手島 玲子
8. 組換え生物の検知技術の開発 113
近藤 一成
9. 承認組換え生物の検知技術の開発 137
野口 秋雄

- III. 研究成果の刊行に関する一覧表 149

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、植物以外のサケや乳酸菌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 独立行政法人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
生化学部室長

野口 秋雄 国立医薬品食品衛生研究所
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：

本分担研究では、前年度までに、(1) GM 作物・食品の社会的受容の調査研究で、①安全から安心に至る意思決定モデルを構築し、(2) リスクコミュニケーション方策の調査研究では、②GM および NBT (次世代植物育種技術 (New Plant Breeding Technique) に関するリスクコミュニケーション、③GM 動物に関する海外動向については、その後の状況のフォローを実施してきた。

今年度は、上記の①～③の調査の結果を踏まえ、今後我が国で取り組むべき GM 作物・食品など新技術に関するリスクコミュニケーションの方針と、安心の意思決定モデルに即したリスクコミュニケーションプランの策定について検討した。

(i)安全から安心に至る意思決定モデルの構築：今年度は、本調査の分析をさらに発展させ、客観的な安全と主観的な安心の乖離を解消するための意思決定モデルについて、分析を行った。客観的な安全と主

観的な安心の違い、客観的な安全から主観的な安心に至る意識・行動変容のプロセス等について、調査・分析を行つために、具体的には、GM 食品、GM 食品以外で消費者がリスクと考えるであろう食品、医療リスク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。消費者にとって食品のリスクとは、リスク内容をきちんと知りたいと思っており、リスク認知度が高い食品は、情報提供による行動変容は少ない傾向がある。消費者とのリスクコミュニケーションで重要な点は、①リスク情報はすべて提示する、②現時点で未解明のことは「分からない」として提示する、③消費者は、情報に基づき自分で選択を判断する、④自己判断された選択はその後の情報提供による影響を受けにくい、といった特徴を持つと考えられる。一方で、遺伝子組換え食品は、①リスク情報は理解されていないが、情報提供による影響をあまり受けないといった特徴を持つ。通常の食品の意思決定モデルのどこかにボトルネックを持つ、もしくは通常の食品と異なる意思決定プロセスが存在する可能性があり、リスクコミュニケーションに特別の配慮が必要な食品であると考えられた。

(ii) NBT に関するリスクコミュニケーションの検討：消費者との間で、NBT のような新技術についてリスクコミュニケーションを行う上では、リスク情報を分かりやすく伝えた上で、議論を積み重ねていく必要がある。しかし、NBT は従

来の遺伝子組換え技術と比べても非常に難解である。NBT に対する消費者の受容性を把握し、NBT によってできた作物・食品が市場に受け入れられるための課題を把握するには、NBT の概念を一般の消費者にも理解できる形で整理する必要がある。そのため、NBT について消費者の受容性を把握することを目標としてリスクコミュニケーションを実施することが必要である。本年度は、消費者に提示する資料(GM および NBT 説明書)を作成し、それを用いて消費者にアンケートを行い、分かりやすさの検証を行った。その結果、消費者の理解を深めるためには、繰り返しの段階的な説明が効果的である可能性が示唆された。最初から十分な説明材料をそろえて提示しても理解度が高まるとは限らず、説明の方法も工夫する必要がある。また、NBT 技術のうちでも、組換え体を台木に、非組換え体を穂木にした接ぎ木は明らかに他の技術とは異なり、消費者は遺伝子組換えではないと判断し、摂食意向も高いという結果が出た。この接ぎ木や、今回は調査対象とはしなかった逆育種など、最終的な可食部が組換え体ではなくなるような技術は、消費者の受容性が高く、それをきっかけに GM 食品に対する抵抗感を払しょくする糸口となる可能性があると思われた。EU をはじめとした各国で議論が始まっているが、対応は定まっていない。日本の対応を定めるにあたり、一般消費者とのコミュニケーションは喫緊の課題である。

(iii) GM 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：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について、継続的にレビューを行った。FDA は 2010 年 9 月 20 日に、遺伝子組換えサーモンから作られた食品を消費しても害はないという評価を下し、その後 2013 年 2 月 25 日までの 60 日間で、パブリックコメントが募られたが、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い。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。そのため、今後も引き続き関連情報の収集を行ってゆく必要があると思われる。

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。2009-2014 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、2014 年は 4 件の承認がおりているのにも関わらず、野外圃場への作付けは行われておらず、米国での野外圃場栽培は縮小していることが判明した。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、工業用(食用作物)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、19 件の情報が得られ、その内訳は、機能性食品：1 件、経口ワ

クチン：2件、食用医薬：1件、ワクチン抗原：1件（NBTと重複）、抗体医薬：1件（NBTと重複）、治療薬：1件、診断薬・試薬：0件、環境浄化：0件、工業用：0件、NBT：14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2014年に公表・出版された論文等を調査した結果、65件が得られ、その内訳は、機能性食品：11件、経口ワクチン：3件、食用医薬：3件、ワクチン抗原：1件、抗体医薬：3件（2件はNBTと重複）、治療薬：15件、診断薬・試薬：5件、環境浄化：14件、工業用：3件、NBT：9件であり、特に治療薬及び環境浄化の件数が多かった。また、2014年の国別の件数は、中国：28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、この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年度に構築した鶏卵のアレルゲン破壊人工ヌクレアーゼエフェクターは、活性が低くニワトリ多能性幹細胞でのノックアウト変異が誘導できないことが判明したため、平成26年度は、エフェクターベクターの改変、SSA（single-strand annealing）並びにCel-1 assayによる活性評価、ニワトリ多能性幹細胞でのノックアウト変異の誘導ならびにノックアウト変異幹細胞からの個体作製に取組んだ。その結果、エフェクターベクターの改変により、高頻度にノックアウト変異が誘導できるようになり、ノックア

ウト変異多能性幹細胞から5羽のアレルゲンノックアウト変異キメラニワトリの作出に成功した。

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る期間（2013年4月）が終了したにもかかわらず、その後、何の進展もない。進展のない理由は公表されていない。他の国で開発されているコイ、ティラピア、ギンザケ等で遺伝子組換え魚に関しても、コイやティラピアでは食用として利用することを想定しているが、これらの情報も公表されていない。遺伝子組換え魚類で安全性に係わる資料が公開された例は遺伝子組換え大西洋サケのみである。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った。本年度は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た個体から次世代を作出した。すべてを検査していないが、現在までに遺伝子組換えアマゴは検出されていない。すでに作出している遺伝子組換えアマゴを用いた実験では、肝臓から抽出したmRNAを用いてcDNAライブラリーを構築し次世代シーケンサーで解析し、NCBIに登録されている大西洋サケとニジマスの遺伝子配列と比較し、遺伝子組換えアマゴと非組換えアマゴの肝臓における約8000種類の遺伝子に関して発現量の変化を比較した結果、 $\Delta 6FAD$ 、delta 9 desaturase、elongation of long chain fatty acids 5b、thioesterase-B 遺伝子の発現低下を認めた。

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う。

サルモネラ鞭毛抗原を菌体表層に固定化発現した遺伝子組換え乳酸菌と、非組換え乳酸菌（宿主菌）について、網羅的オミクス解析を行い両者の違いについて検討した。オミクス解析は、プロテオーム解析（手島博士）、メタボローム解析（太田博士）、トランスクリプトーム解析（小関博士）を分担しておこなった。プロテオーム解析については、大腸菌で鞭毛抗原—アンカーを大量に作らせ、タンパク質として精製し、非組換え乳酸菌にふりかけアンカーにより菌体表層に結合させた組換え遺伝子を含まない乳酸菌についても解析し、遺伝子組換え乳酸菌、宿主菌との比較を行った。プロテオーム解析により、膜上のプロテアーゼの発現が変化していることが観察された。メタボローム解析では、GM と non-GM を区別するような明確なクラスター分離、および代謝物蓄積の相違は認められなかった。トランスクリプトーム解析では、コントロール株の一群の遺伝子の脱落が確認されたものの、それ以外には、両者の差は、トランスポーズを除き見られなかった。

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:

これまでの遺伝子組換え植物は害虫抵抗性や除草剤抵抗性といった比較的単純なものであったが、最近では、機能性を付与したものや遺伝子組換え植物同士の交配によって、複数の機能を持たせるなど、複雑かつ多様な植物が生み出されている。また、植物にとどまらず、バクテリア、魚、ニワトリなど植物以外の遺伝子組換え生物も実用化されつつある。これらのように多様化、複雑化しつつある遺伝子組換え生物を由来とする食品の安全性について評価する場合、その複雑性や多様性、また安全性評価すべき観点もはつきりとしにくいといった問題点がある。そこで本研究では、これらの安全性を評価するうえでどのような評価が可能であるか検討するために、耐塩性シロイヌナズナのスタック系統、成長ホルモン遺伝子導入アマゴおよびフラジェリン遺伝子導入乳酸菌についてトランスクリプトーム解析を行った。その結果、スタック系統ではストレス応答遺伝子の発現の増強、アマゴではアレルギー遺伝子の発現低下、乳酸菌では特定のゲノム領域の発現増加が確認された。

また、安全性評価に際しての成分分析によって得られるデータの有効性の検証を目的とし、モデル組換え体を材料に、一斉分析も実施した。本年度は、高温ストレス耐性サツマイモの可食部である塊根を対象とし、食品五成分の栄養成分分析を行い、分析値を従来品種の値と比較した結果、大きな差異は認められないことが確認された。

遺伝子組換え体のメタボローム解析:

本研究は、バイオテクノロジーの応用によって新開発される食品中に含まれる低分子有機化合物（生体成分）を質量分析装置によって一斉分析し、安全性評価のための基礎データとするこ

とを目的としている。平成 26 年度は、動物性食品であるサケ科アマゴ、およびサルモネラ鞭毛抗原遺伝子を導入した乳酸菌を対象としてメタボローム解析を実施した。GC-MS による脂質分析の結果、ヒト成長ホルモン高発現アマゴ(G アマゴ)と非組換えアマゴ (non-GM アマゴ) にわずかな脂肪酸蓄積プロファイルの違いを認めた。すなわち、炭素鎖長 18 以下の脂肪酸が減少し、炭素鎖長 20 以上の脂肪酸が GM アマゴで増加する傾向があった。また、飽和脂肪酸および一価不飽和脂肪酸が減少し、多価不飽和脂肪酸 (PUFA) が GM アマゴで増加する傾向が認められた。乳酸菌の遺伝子組換え株 (GM) と非組換え株 (non-GM) を GC-MS 分析に供試し、極性画分と非極性画分のそれぞれから 289 個及び 235 個の代謝産物ピークを特定した。これらの代謝産物ピークから極性画分では 69 個、非極性画分では 52 個を同定し、GM 菌株と non-GM 菌株の代謝物蓄積量を定量的に比較したが、GM と non-GM を区別する有意な差異は認められなかった。以上、メタボローム分析では、遺伝子組換えが原因であると判断すべき代謝プロファイルの差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 26 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) サルモネラ鞭毛抗原 (フラジェリン) を菌体表層に固定化発現した遺伝子組換え乳酸菌と、非組換え乳酸菌 (宿主菌) について、プロテオーム (網羅的) 解析を行い両者の違いについて検討し、(2) マウスの経口感作、経口惹起によるアレルギー発症のメカニズム解析、(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 法を用いて a) 組換え並びに b) 非組換え乳酸菌の抽出物のタンパク質の発現差異解析の結果、a) に対して b) が 1.5 倍以上減少したスポットが 6 スポット、同増加したスポット 7 スポットであった。GM で増加した菌体抽出物から 3 スポット、non-GM で増加した 1 スポットについて、nanoLC-MS/MS 解析を行い、タンパク質の同定を試みた。GM で発現の増加したタンパク質には、挿入遺伝子産物であるサルモネラの鞭毛抗原以外に、細胞壁の分解酵素が確認された。2) 経口感作、経口惹起による食物アレルギーマウスモデルにおいて発症するアレルギー状態を経口以外の感作モデルと比較し、経口感作によるアレルギーの特徴を調べたところ、消化管での反応性が特徴的なアレルギーモデルであると考えられた。また、本モデルによって抗原を経口投与したドナーマウスの腸間膜リンパ節から採取した CD4⁺細胞を移入したレシピエントマウスは抗原特異的な IgG1 抗体を産生した。(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 1777 となり、また、エピトープ既知のアレルゲン数は 141 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:

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: 現在、わが国では、安全性承認済み遺伝子組換え (GM) コメは 1

品種も認められておらず、GMコメの食品への混入は食品衛生法により禁じられている。欧州でも、わが国同様にGMコメは食用として1品種も認められていない状況にあるが、2013年1月から2014年11月末までに欧州食品飼料緊急警告システム(RASFF)は、GMコメ(Bt63系統など)の混入を27件報じた。わが国のGMコメ混入に関する違反事例では、いずれのケースも極めて微量の混入であることが確認されており、そのため、食品中のGMコメをより高感度に検出する方法が求められる。そこで、本研究では、GMコメの混入した加工食品の実サンプル中に存在する標的配列のコピー数を算出し、GMコメの標的配列の特性を明らかにした。

2) 標的DNAのメチル化の頻度およびパターン解析による新規GM検知法確立の試み: 本研究では、多種多様なGM作物の作出に汎用されるカリフラワーモザイクウイルス(CaMV)の35S RNAプロモーター(P35S)に着目し、GM食品の導入されたP35Sか、加工食品中に混入したCaMVに由来するP35Sかを区別することを目的とし、植物に感染させたCaMVのP35S並びにGM作物の目的遺伝子発現のために導入されたP35SのDNAメチル化修飾パターンを解析した。その結果、CaMVのP35Sは高度にメチル化されており、またGM作物のP35Sメチル化修飾パターンとは全く異なることが判明した。リアルタイムPCRより得られたCt値(Threshold値0.2)を基に、メチル化比率を算出した。具体的には、ブロッコリー、キャベツ及びコカブに感染したCaMVのCt値はGMパパイヤ55-1系統と比較し31~225倍であった。本研究では、P35SのDNAメチル化量とDNAメチル化パターンを検出することで、ウイルスまたはGM作物の混入を検知する手法への応用が期待される。

3) CaNCED配列を標的とした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など南アジアの国々では、害虫抵抗性を獲得させたGMヒヨコマメの商業栽培に向けた開発が進められている。したがって今後、GMヒヨコマメの日本での食品への意図せぬ混入に関し注意が必要である。昨年までに、リアルタイムPCRを用いてGMヒヨコマメの混入を検知する際の陽性コントロールに使用するヒヨコマメ内在性遺伝子検知法を開発した。今年度は、世界中で栽培される様々なヒヨコマメ品種より標的ヒヨコマメ遺伝子NCED1の塩基配列をクローニングし、ヒヨコマメ内在性遺伝子検知法の標的配列としての特異性について確認した。

4) 遺伝子組換え混入検査対象の食品に含有する食品添加物のDNA検体精製効率に与える影響: 従来より、加工食品に含有する短いDNA断片をより効率的に回収するDNA抽出精製法が求められていた。現行のGM食品通知試験法では、短いDNA断片を抽出・精製可能な陰イオン交換樹脂を使用したキアゲン社製Genomic-tip法が用いられる。ビーフン等の加工食品に汎用される添加物増粘多糖類のカルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)のコメ由来DNAの収量および精製度に与える影響に関して解析を行ったところ、抽出液中に共存するCMCは、DNAの陰イオン交換カラムへの吸着を競合的に阻害し、DNAの精製効率に負の影響を与えていると推察された。

承認済組換え生物の検知技術の開発に関する研究:

近年、開発・栽培が急速に進んでいるスタック品種トウモロコシは一粒中に特性の異なる複数の遺伝子組換え(GM)系統のDNA配列を含んでいるため、従来のリアルタイムPCRによる系統特異

的定量法を用いた場合、混入率が実際の値より高く見積られる可能性がある。以前に我々が開発した粒検査法はこの問題を解決し、正確な混入率を割出せる検査法であるが、高価な試料粉碎機器を使用するため、実施できる検査機関が限られている。また、DNA 抽出・精製操作に大きな労力を要することも問題となっている。そこで、本年度は高価な試料粉碎機器を使用せず、DNA 抽出操作を簡便化した改良型粒検査法の開発を行った。DNA 試料液の希釈条件を検討したところ、DNA 試料液を蒸留水で希釈する条件ではPCR 増幅の効率が低下することが判明した。そこで本研究ではDNA 試料液の原液を用いてGM 系統の検出試験を行った。本検査法は高い感度を示し、抽出バッファー成分による PCR 阻害の影響は少なかった。DNA 抽出条件を検討した結果、ダルマピンを用いた場合のほうが紙ヤスリを用いた場合に比べ、良好な結果が得られ、さらに紙ヤスリを用いた場合にはコンタミネーションや大きな労力が懸念された。以上のことから、DNA 抽出にはダルマピンを用いた方法を採用することにした。本研究で開発した改良型粒検査法は、昨年度開発したスクリーニング検査法に対する確認試験として位置付けられるが、これら2つの検査法は現行の安全性承認済み GM トウモロコシ検査法に置き換わる検査法として期待される。

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フラジェリン表層発現乳酸菌をモデル生物として用い、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った。具体的には、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、規格への反映並びにバイオマーカー探索を行う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耐塩性を導入したシロイヌナズナスタック系統を使用し、その系統から 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)の定性試験法の開発を行い、標的DNA のメチル化の頻度およびパターン解析による新規 GM 検知法確立の試みを行った。次いで、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は、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い、ダルマピンを用いて DNA 抽出操作を簡便化した改良型粒検査法の開発も行った。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、安全から安心に至る意志決定モデルの構築、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、遺伝子組換え動物に関する海外動向の調査並びに、NBT と総称される新たな育種技術に関して消費者に提示する試料(GM 及び NBT 説明書)に関する調査も開始し、わかりやすさの検証を行った。さらに、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」
協力研究報告書(平成26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

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、環境浄化用及び食用作物を用いた工業用 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 Plant Breeding Techniques)の開発状況を調査した。2009-2014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、2014年は4件の承認がおりているのにも関わらず、野外圃場への作付けは行われておらず、米国での野外圃場栽培は縮小していることが判明した。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、工業用(食用作物)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、19件の情報が得られ、その内訳は、機能性食品:1件、経口ワクチン:2件、食用医薬:1件、ワクチン抗原:1件(NBTと重複)、抗体医薬:1件(NBTと重複)、治療薬:1件、診断薬・試薬:0件、環境浄化:0件、工業用:0件、NBT:14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2014年に公表・出版された論文等を調査した結果、65件が得られ、その内訳は、機能性食品:11件、経口ワクチン:3件、食用医薬:3件、ワクチン抗原:1件、抗体医薬:3件(2件はNBTと重複)、治療薬:15件、診断薬・試薬:5件、環境浄化:14件、工業用:3件、NBT:9件であり、特に治療薬及び環境浄化の件数が多かった。また、2014年の国別の件数は、中国:28件が最も多かった。

協力研究者

吉松嘉代 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

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、環境浄化用、工業用(但し食用作物のみ) GM 植物及び新規植物育種法(NBT: New Plant Breeding Techniques)¹⁾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あるいは分解する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。カテゴリーは、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、工業用及びNBTの10種類を設定した(図2)。

C. 研究結果

1) 2009-2014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、2009-2014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、2014年においては、4件の承認がおりているのにも関わらず、野外圃場への作付けは行われていないことが判明した(図3、表1、表2、2014年1月16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に掲載された企業を、各社のHPで調査した結果を図4-図6に示した。

図4のApplied Biotechnology Institute社は2013年に唯一米国の野外圃場で作付けを行った企業であり、2014年においても薬用GMトウモロコシの作付けの承認を得ている。しかし、2014年の作付けは行っておらず、HPで紹介されている商品例及び販売予定品は2013年の調査から変更されていない。

図5のVentria Bioscience社は、2013年、2014年も薬用GMイネの作付けの承認を得ているが、どちらも作付けされていない。また、HPで紹介されている研究・開発中の医薬品に変更があり、2013年の調査では掲載されていた、抗生物質関連下痢症予防薬としての組換えラクトフェリンと肝炎治療薬は削除されている。

図6のKentucky BioProcessing社は、2014年に西アフリカで猛威をふるったエボラ出血熱の患者に、同社のシステムで生産された治療薬(未承認薬、3種の抗体の混合物)が投与され、回復が認められている。そのため、同社のHPでは、同薬のエボラ出血熱治療薬としての開発と増産が行われていることが詳細に報告されている。同社の生産システムは、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の技術は実用化間近であることが判明した。

3) 2014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

2014年8月開催の第32回日本植物細胞分子生物学会(盛岡)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。19件の情報が得られ、その内訳は、機能的食品:1件、経口ワクチン:2件、食用医薬:1件、ワクチン抗原:1件(NBTと重複)、抗体医薬:1件(NBTと重複)、

治療薬：1件、診断薬・試薬：0件、環境浄化：0件、工業用：0件、NBT：14件であり、NBTに関連した研究・開発が最も多かった（表3、表4）。

作物別集計では、イネ6件が最も多かった（表5）。

4) 2014年の国際学会（IAPB2014）でのNBT研究・開発状況

2014年8月10日-15日にオーストラリア、メルボルンで開催された International Association for Plant Biotechnology Congress 2014 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6-表11に示した。39件の情報が得られ、その内訳は、機能性食品：12件（飼料に関するもの2件を含む）、経口ワクチン：7件

（1件は食用医薬と重複）、食用医薬：1件（経口ワクチンと重複）、ワクチン抗原：0件、抗体医薬：2件、治療薬：3件（1件はNBTと重複）、診断薬・試薬：0件、環境浄化：1件、工業用：3件、NBT：12件（1件は治療薬と重複）であり、機能性食品とNBTがいずれも12件と最も多かった（表6-表9）。国別集計では、オーストラリアでの開催のため、オーストラリアが12件と最も多く、次いで米国10件、ドイツ6件であった（表10）。作物別集計では、食用作物はイネ6件が最も多かった（表11）。

5) 2014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2014年に公表・出版された薬用、環境浄化、工業用（但し食用作物のみ）GM植物及びNBTに関する論文等を表12-表21に示した。65件の情報が得られ、その内訳は、機能性食品：11件、経口ワクチン：3件、食用医薬：3件、ワクチン抗原：1件、抗体医薬：3件（2件はNBTと重複）、治療薬：15件、診断薬・試薬：5件、環境浄化：14件、工業用：3

件、NBT：9件であり、特に治療薬及び環境浄化の件数が多かった（表12-表18）。また、2014年の国別の件数は、中国28件が最も多く（表19）、作物別集計では、食用作物はイネ9件が最も多かった（表20）。

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研究開発が、昨年度と同様に活発であることが判明した。

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。

国内ではNBTに関する件数が多く、国内外では治療薬及び環境浄化の件数が多いことが判明した。また、国内外での研究・開発のうち、件数が最も多い国は、昨年度と同様、中国であった。

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。

G. 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。

F. 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)¹⁾

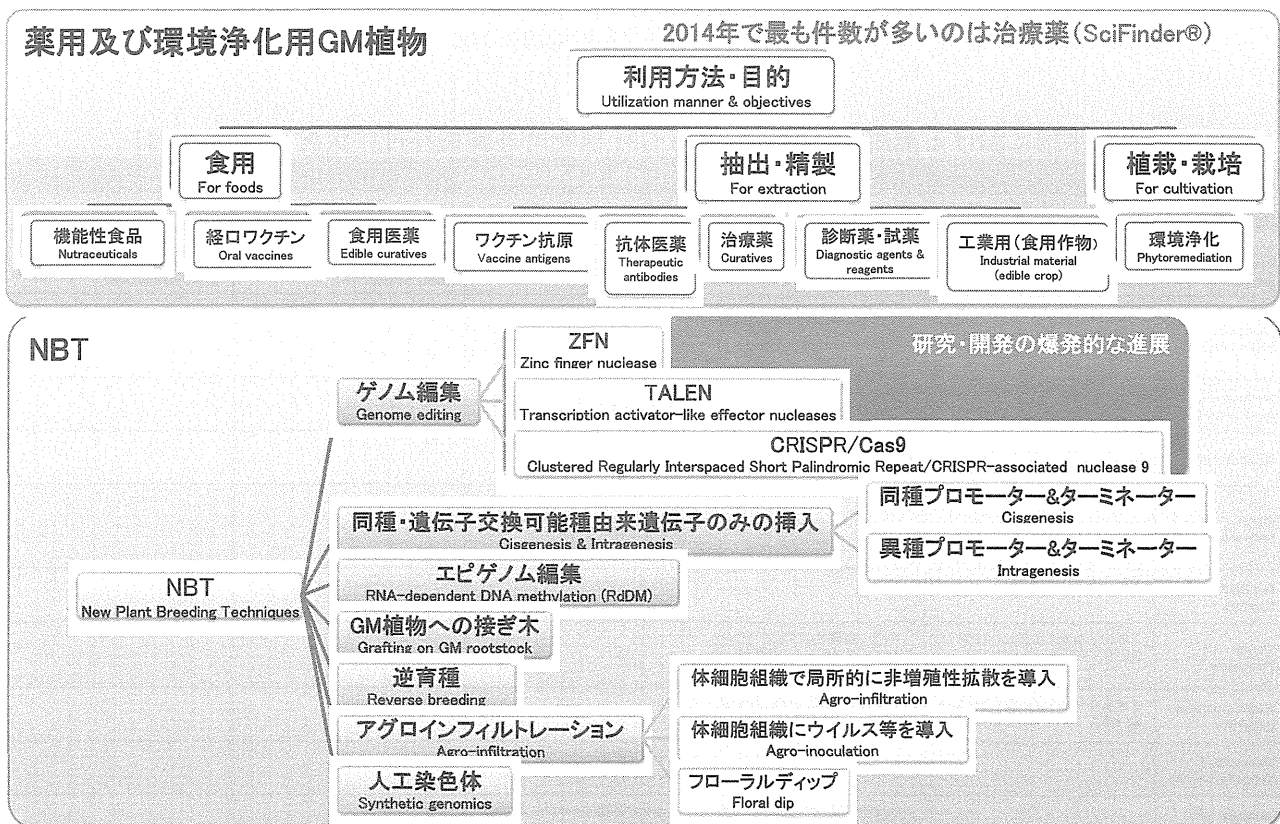
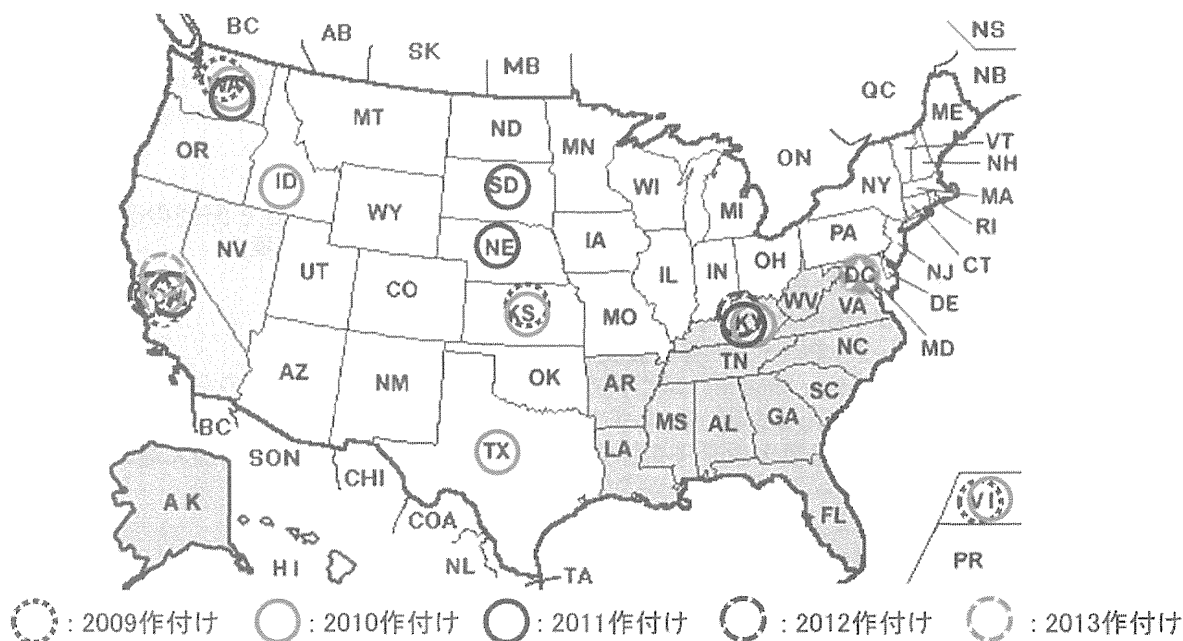


図 2. 薬用、環境浄化用、工業用 GM 植物及び NBT の開発状況・生産実態の調査



	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3. 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 (2009-2014)

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 (2009-2014)

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 16, 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
Ventria Bioscience	イネ	不明	カンザス	審査中	未完了
		ラクtofフェリン, リゾチーム, 血清アルブミン, トランスフェリンを含む18種の医療用タンパク質(社外秘)の中の1-2種	バージン諸島(CBI)	承認	未完了
		ラクtofフェリン, リゾチーム, 血清アルブミン, トランスフェリン, 9種の医療用タンパク質(社外秘)の中の1-2種	カンザス(3000エーカー±)	承認	未完了
		ラクtof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), 2件	カンザス(CBI)	承認	未完了
Plankton LLC	ジャガイモ	不明	アイオワ	審査中	未完了
		医療用タンパク質, 不明1件	アイオワ	承認	未完了
Applied Biotechnology Institute	トウモロコシ	不明	カリフォルニア	審査中	未完了
		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), プロテアーゼ, ヒドロラーゼ, エンド-&エキソ-セルラーゼ, プロテアーゼインヒビター	カリフォルニア(<10エーカー)	承認	未完了
		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	承認	完了
		不明	カリフォルニア	却下	
Planet Biotechnology	タバコ	不明	カリフォルニア	承認	未完了
		抗炭疽菌人工抗体	カリフォルニア	承認	未完了
Caliber Biotherapeutics	シロイヌナズナ	不明	テキサス	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	承認	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

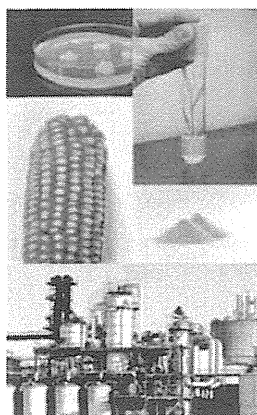
緑背景: 2013年作付け完了

黄背景: 2014年1月以降申請、しかし2013年の表に追加されている

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ク企業
- ・ ProdiGene社(2002年に倒産)を設立したDr. John A. Howardが設立(代表取締役)
- ・ GMコーンにより経口ワクチン、酵素等を生産(商品例、販売予定品は、2013年度の調査から変更なし)
- ・ 2013年に米国で、医薬用・産業用GM作物の野外圃場栽培を実施した唯一の企業

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®: 組換えウシトリプシン
(Sigma Chemical Companyより販売)
応用例 Cell culture

Insulin manufacture
Vaccine manufacture
Dermatology applications
Digestive aids

Cellobiohydrolase: β -グルカンナーゼ
(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: 経口ワクチン

<http://www.appliedbiotech.org>

図 4. Applied Biotechnology Institute 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
- 2013年も米国での医薬用GMイネの野外圃場栽培の承認を得ているが、2010年以降作付けを行っていない

InVitria社で販売又は開発中のGM米より製造された製品

InVitria Products

Product	Indication	R&D	Bench Testing	Validation	Marketed
Cellastim	Defined, animal-free, recombinant albumin (rHSA)				✓
Albumin-DX LR	Animal-free blocking reagent for diagnostics				✓
Lacromin	Defined, animal-free, recombinant lactalbumin, specifically produced for use as a cell culture media supplement				✓
Lysobac	Recombinant human lysozyme				✓
Ogiferin	Defined, animal-free, recombinant human transferrin				✓
ITSE Animal-Free	Cell culture media supplement formulated for improved serum replacement or serum free cell growth				✓
Leukemia Inhibitory Factor (ILIF)	Recombinant human Leukemia Inhibitory Factor (rhILIF)				✓
Zap-Hybridoma	Cell culture media supplement specifically designed for hybridoma cells				✓
Zap-SR	A Supplement for Fedrux, Serum and Maximum Cell Culture Performance				✓
Optimumin	Highly pure, well-characterized, cGMP-compliant recombinant human serum albumin (rHSA) suitable for therapeutic applications			✓	
Neuronal stem cell supplement	Neuronal stem-cell supplement for use in cell therapy clinical programs			✓	

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
VEN120	Inflammatory bowel disease					
VEN130	Osteoporosis					
VEN100	HSV-associated chronic inflammation					
VEN140	Unexplained anemia in the elderly					

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

2014年1月の調査では記載のあった以下は2015年1月現在、削除されている
VEN100: 抗生物質関連下痢症 (AAD) 予防薬としての組換えヒトラクタフェリン
VEN140: 肝炎治療薬

<http://www.ventria.com>

図 5. Ventria Bioscience 社の概要



Kentucky BioProcessing, LLC

Home About Us Careers Contact

ABOUT US

- What We Do
- Facilities

Where We Are

KBP's campus is located on 23 acres in Owensboro, Kentucky. Our state-of-the-art facilities include:

MANUFACTURING FACILITIES (cGMP capable)

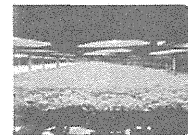
KBP has 32,000 ft² of manufacturing space, including 5,000 ft² of clean room space from class 100,000 down to class 100 for finish and fill. Lab facilities include a research and development lab and a separate Quality Assurance lab. We have specialized facilities for bench and pilot scale work, along with full commercial capabilities.

BIOMASS FACILITIES

Plant growth facilities include a 55,000 ft² fully contained indoor biomass production facility with 1.4 acres of multi-layered plant growth space. A separate 26,000 ft² plant growth complex includes seeding, harvest and transfection space, along with five individual greenhouses at 2,000 ft² each.

WHAT WE DO

KBP's facilities allow us to express and process purified proteins in experimental stages or at full production scale. Our process supports milligram quantities for bench work and continues through kilogram quantities at commercial-scale production under cGMP conditions. An integrated approach allows early-stage product development work to proceed at lower costs while assuring seamless transfer to larger scale processing facilities as the project progresses.



<http://www.kbpillc.com/Home.aspx>

- 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
- 2013年に野外圃場栽培申請を行っているが、上記Webには完全閉鎖型植物生産施設での生産が紹介されている
- ZMapp™ (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: 未承認薬) は、2014年8月4日に2人のエボラ出血熱患者に投与され、2人とも回復が認められた
- ZMapp™ は、エボラ治療薬としての開発及び増産が行われている

図 6. Kentucky Bioprocessing 社の概要

表3. 2014年の国内でのNBT研究・開発状況

第32回日本植物細胞分子生物学会(盛岡)大会・シンポジウム(2014.8、盛岡)では以下の例が報告

NBTの種類	作物	演題	研究・開発機関
NBT①	イネ	CRISPR/Casシステムを利用したイネの多重遺伝子破壊	日本・農業生物資源研、横浜市立大院
NBT①	シロイヌナズナ	人工ヌクレアーゼTALENを用いたシロイヌナズナ多重変異体の作製	日本・大阪大院、JSPS、広島大院
NBT②	イネ	イネに適したCRISPR/Casコンストラクトの選定	日本・横浜市立大院、農業生物資源研
NBT②	イネ	植物におけるピンポイント変異導入技術の開発	日本・農業生物資源研、横浜市立大
NBT②	イネ	形質転換技術を利用したイネゲノムの人為的改変	日本・農業生物資源研
NBT④	シロイヌナズナ、タバコ	dsRNA-ペプチド複合体の導入による一過性RNAi技術の開発	日本・理研、奈良先端大院、慶應大、宇都宮大
NBT④	リンドウ	リンドウの生長・開花を抑制するSVP様遺伝子の発現と機能	日本・岩手大、八幡平市花き開発研セ
NBT⑤	植物	遺伝子置換による形質転換促進技術の開発	日本・信州大
NBT⑦-1	イチゴ	アグロインフィルトレーション法を用いたF3'5'H過剰発現によるイチゴ花托の着色への影響	日本・徳島大、徳島大院
NBT⑦-1	タバコ	多孔プレートを用いたアグロインフィルトレーション法のハイスループット化	日本・横浜国立大
NBT⑦-1、抗体医薬	タバコ(Nicotiana benthamiana)	組換え植物発現タンパク質におけるN-結合型糖鎖修飾の解析	日本・産総研、ホクサン
NBT⑦-2	タバコ(Nicotiana benthamiana)	Cucumber mosaic virusゲノム発現組換え植物体を用いたCMVベクター利用の簡便化	日本・産総研、北海道大院
NBT⑦-2、ワクチン抗原	タバコ(Nicotiana benthamiana)	ウイルスベクターを用いた一過性遺伝子発現による植物利用型ワクチン生産:栽培環境がワクチン生産量に及ぼす影響	日本・東京大院、オーエンズポロ癌研究プロ、ルイビル大
NBT⑦-3	シロイヌナズナ	初期生長量が増大したアラビドプシス形質転換体の作出	日本・千葉大院

2014年の調査ではNBT14件のうち、⑦Agro-infiltrationが6件で最も多い

表4. 2014年の国内でのGM植物(機能性食品、経口ワクチン、食用医薬、抗体医薬、ワクチン抗原、治療薬)研究・開発状況

第32回日本植物細胞分子生物学会(盛岡)大会・シンポジウム(2014.8、盛岡)では以下の例が報告

区分	作物	演題	研究・開発機関
機能性食品	イネ	イネ由来改変AK-HSDH 遺伝子を導入した形質転換カルスにおける遊離スレオニンの蓄積	日本・農研機構・作物研、北興化学
経口ワクチン	レタス(Lectuca sativa var. crispa)	食べるワクチンの開発に向けたレタスにおけるウイルス様粒子の一過性発現	日本・筑波大、医薬基盤研
経口ワクチン	レタス	遺伝子組換えレタスを用いたブタ大腸菌症用コンビネーションワクチンの開発	日本・出光興産、国立国際医療研セ
食用医薬	イネ	抗菌タンパク質を発現するイネカルスの解析	日本・京都府立大、京都農技セ
NBT⑦-1、抗体医薬	タバコ(Nicotiana benthamiana)	組換え植物発現タンパク質におけるN-結合型糖鎖修飾の解析	日本・産総研、ホクサン
NBT⑦-2、ワクチン抗原	タバコ(Nicotiana benthamiana)	ウイルスベクターを用いた一過性遺伝子発現による植物利用型ワクチン生産:栽培環境がワクチン生産量に及ぼす影響	日本・東京大院、オーエンズポロ癌研究プロ、ルイビル大
治療薬	緑藻(Chlamydomonas reinhardtii)	組換え緑藻によるマツ(Picea abies)由来ジテルペンの生産	日本・大阪大院、名古屋大

黄色背景:NBTと重複

2014年の調査では、薬用・環境浄化用・産業用(食用作物)に関する研究例は2013年の調査に比較すると少ない(2013年:17件、2014年:7件、重複含む)