

表 5. GM 植物（機能性食品）研究・開発状況（海外；2014）

International Association for Plant Biotechnology Congress 2014, Melbourne, Victoria, Australia, Aug. 10–15, 2014  
機能性食品12件のうち、トマト:5件が最も多い

区分	作物	演題	研究・開発機関
機能性食品	イネ	Nutritional enhancement of rice bran oil: Metabolic engineering using Brassica juncea microsomal w-3 desaturase gene (BjFad3)	インド: Indian Institute of Technology Kharagpur
機能性食品	カノーラ、油糧作物	Novel plant products: multi-gene engineering comes of age	オーストラリア: CSIRO Food
機能性食品	シロイヌナズナ	Storage triacylglycerol mobilization in germinating transgenic Arabidopsis seeds containing nutritionally important polyunsaturated fatty acids	オーストラリア: CSIRO Food Futures National Research Flagship, CSIRO Plant Industry
機能性食品	トマト、ジャガイモ	“Golden” tomato fruit and potato tubers show elongated shelf-life and hormone production	イタリア&ドイツ&カナダ&米国: ENEA, University of Rome, Max-Planck Institute for Molecular Plant Physiology, University of British Columbia, Boyce Thompson Institute
機能性食品	トマト	Metabolic engineering in crops for comparative nutrition and health-promoting foods	英国&ドイツ&イタリア: the John Innes Centre, Max-Planck Institute for Molecular Plant Physiology, Institute of Sciences of Food Production GNR Unit of Lecce
機能性食品	トマト	Transgenic tomato accumulating miraculin, a possible diet for human health	日本: University of Tsukuba, Inplanta Innovations Inc.
機能性食品	トマト	The enhancement of umami flavour in tomato ( <i>Solanum lycopersicum</i> ) through the overexpression of adenosine monophosphate (AMP) deaminase gene	マレーシア & 英国: Universiti Sains Malaysia, University of Nottingham
機能性食品	トマト	Production of marker-free transgenic tomato plants using inducible site-specific recombinase and a bifunctional selectable gene	ロシア: Branch of Shemyakin Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology
機能性食品	バナナ	Genetically modified bananas with enhanced micronutrients	オーストラリア&ウガンダ: Queensland University, Queensland Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, National Agricultural Research Organization, Uganda
機能性食品	ワタ	Extreme makeover of cotton seed oil through RNAi-mediated gene down-regulation	オーストラリア: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization Plant Industry, ACT
機能性食品(飼料)	ライグラス	Engineered cysteine-oleosin and enhanced DGAT1 for lipid manipulation in ryegrass	ニュージーランド: AgResearch Grassland
機能性食品(飼料)	ライグラス	High energy perennial ryegrass with elevated levels of unsaturated, protected fatty acids	ニュージーランド: AgResearch Ltd.

表 6. GM 植物（経口ワクチン、食用医薬、抗体医薬）研究・開発状況（海外；2014）

International Association for Plant Biotechnology Congress 2014, Melbourne, Victoria, Australia, Aug. 10–15, 2014  
薬用GM植物の中では機能性食品:12件に次いで経口ワクチン:7件が多い

区分	作物	演題	研究・開発機関
経口ワクチン	ニンジン	Expression of TSOL 18 antigen in carrots cell: towards the development of a vaccine against porcine cysticercosis	メキシコ&スペイン: Universidad Autonoma de San Luis Potosi, Ciudad Universitaria, Instituto de Salud Carlos III
経口ワクチン	イネ	Whole genome analysis selection marker-free Muco-Rice-CTB, a rice-based oral cholera vaccine	日本: The University of Tokyo, Asahikogyocha, Co., Ltd., National Agriculture and Food Research Organization
経口ワクチン	イネ	Establishment of selection marker-free rice-based oral cholera toxin B-subunit vaccines and characterization of location and structure of transgene by using whole genome resequencing analysis	日本: The University of Tokyo, Niigata University, NARO Agriculture Research Center
経口ワクチン	ウキクサ	The expression of M2e peptide of avian influenza virus H5N1 in translational fusion with subunit B ricin in transgenic duckweed plants	ロシア: Branch of Shemyakin Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS
経口ワクチン	タバコ	A plant-based recombinant PlpE vaccine for Fowl Cholera	オーストラリア: Monash University
経口ワクチン	ナス科植物	Plant roots as an efficacious vaccine production system using <i>E. coli</i> LTB as a model antigen	オーストラリア: Deakin University, Monash University
経口ワクチン、食用医薬	レタス	Low cost green oral vaccines confer protection against infectious and inherited diseases	米国: University of Pennsylvania
抗体医薬	ジャガイモ	Production of potyvirus-resistant potato ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) plants expressing a recombinant antibody against the viral replicase NIa	ドイツ&エジプト: Leibniz University Hannover, University of Cairo
抗体医薬	トウモロコシ、タバコ	Plant-derived biopharmaceuticals: the path forward towards clinical trials and regulatory approval	ドイツ: RWTH Aachen University & Fraunhofer IME

表 7. GM 植物（治療薬、環境浄化、工業用）研究・開発状況（海外；2014）

International Association for Plant Biotechnology Congress 2014, Melbourne, Victoria, Australia, Aug. 10-15, 2014  
 （黄色背景はNBTと重複）

区分	作物	演題	研究・開発機関
NBT⑦-1、治療薬	タバコ(Nicotiana benthamiana)	Improving the expression and activity of recombinant human epidermal growth factor in Nicotiana benthamiana	オーストラリア: Monash University, Alfred Hospital
治療薬	キク科植物	Production of the anti-malarial drug artemisinin in chrysanthemum	ロシア&イスラエル: Russian Academy of Sciences, The Hebrew University of Jerusalem
治療薬	ニチニチソウ	Metabolic engineering of terpenoid indole alkaloid pathway in Catharanthus roseus	フィンランド: VTT Technical Research Centre of Finland
環境浄化	ポプラ	Analysis of the role of a Kunitz trypsin inhibitor in the response of poplar (Populus deltoides) to copper stress	チリ&フランス: Universidad de Talca, Universite de Lorraine
工業用(バイオ燃料)	サトウキビ	Engineering plants as biofactories for the production of biobased bulk chemicals	米国&オーストラリア: The University of North Texas, The University of Queensland
工業用(バイオ燃料)	イネ	Down-regulation of genes involved in lignin biosynthesis in rice	米国: University of Arkansas
工業用(バイオ燃料)	カノーラ、ナガミノアマズナ	Enhanced DGAT1s for TAG manipulation in seed-oil crops	ニュージーランド&カナダ: AgResearch Grassland, National Research Council: Plant Biotechnology Institute

表 8. NBT を含む GM 植物研究・開発状況：国別集計（海外；2014）

国名\区分	NBT	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	小計
日本	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	4
中国	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
台湾	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
韓国	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
オーストラリア	4	4	2	0	0	0	1	0	0	1	12
ニュージーランド	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	3
マレーシア	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
インド	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
イスラエル	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
トルコ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
カナダ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2
米国	5	1	1	1	0	0	0	0	0	2	10
メキシコ	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
チリ	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
ロシア	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	3
チエコ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
フィンランド	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
スウェーデン	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
英国	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
ドイツ	2	2	0	0	0	2	0	0	0	0	6
フランス	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
オランダ	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
イタリア	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3
スペイン	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
エジプト	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
ウガンダ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
小計	15	19	8	1	0	3	4	0	2	5	57

区分: 重複2件(NBT-治療薬:1件, 経口ワクチン-食用医薬:1件) NBT: 重複3件(オーストラリア-米国:2件, ドイツ-イタリア:1件)  
 機能的食品: 重複6件(オーストラリア-ウガンダ:1件, マレーシア-英国:1件, 英国-ドイツ-イタリア:1件, イタリア-ドイツ-カナダ-米国:1件) 経口ワクチン: 重複1件(メキシコ-スペイン)  
 抗体医薬: 重複1件(ドイツ-エジプト) 治療薬: 重複1件(ロシア-イスラエル) 環境浄化: 重複1件(チリ-フランス) 工業用: 重複2件(米国-オーストラリア:1件, ニュージーランド-カナダ:1件)

表 9. NBT を含む GM 植物研究・開発状況：作物別集計（海外；2014）

作物名\区分	NBT	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	小計
イネ	2	1	2	0	0	0	0	0	0	1	6
オオムギ	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
カノーラ	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	3
コムギ	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
サトウキビ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
ジャガイモ	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	3
トウモロコシ	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
トマト	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	5
ナス科植物	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
ニンジン	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
バナナ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
レタス	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2
ワタ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
油糧作物	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ウキクサ	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
キク科植物	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
シロイヌナズナ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
タバコ	3	0	1	0	0	1	1	0	0	0	6
ナガミノアマナズナ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
ニチニチソウ	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
ポプラ	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
ライグラス	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
植物	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
小計	13	14	7	1	0	3	3	0	1	4	46

NBT: 重複1件(イネ-タバコ) 機能性食品: 重複2件(カノーラ-油糧作物:1件、トマト-ジャガイモ:1件) 抗体医薬: 重複1件(トウモロコシ-タバコ)  
産業用: 重複1件(カノーラ-ナガミノアマナズナ) レタス: 重複1件(経口ワクチン-食用医薬) タバコ: 重複1件(NBT-治療薬: 1件)

表 10. NBT を用いた GM 植物研究・開発状況（海外；2014）

区分	作物	研究・開発機関	文献等
NBT①	イネ	中国: Anhui Academy of Agricultural Sciences, Anhui University	Xu Rongfang; Li Li; Li Hao; Wei Pengcheng; Qin Ruiying; Wang Lu; Yang Jianbo, "Gene targeting using the Agrobacterium tumefaciens-mediated CRISPR-Cas system in rice", Rice (New York, N.Y.) (2014), 7(1), 5.
NBT①	シロイヌナズナ	日本: The University of Tokyo, Japan; Kabushiki Kaisha Toyota	Muramoto, Nobuhiko; Sugimoto, Hiroki; Mitsukawa, Norihiro; Ohta, Kunihiro; Kugou, Kazuto, "Method for increasing prodn. of plant biomass by expressing endonuclease that promotes double-stranded DNA breaks and endoreduplication while not inducing RAD51 transcription", U.S. Pat. Appl. Publ. (2014), US 20140273126 A1 20140918.
NBT①	マテバシイ	日本: 記載なし	Shimizu, Nobuyoshi; Ito, Hayao, "Generation of transgenic plant with fire-resisting leaf for prevention of forest fire", Jpn. Kokai Tokkyo Koho (2014), JP 2014236719 A 20141218.
NBT②	ナタネ	米国: Dow AgroSciences LLC	Cogan, Noel; Forster, John; Hayden, Matthew; Sawbridge, Tim; Spangenberg, German; Webb, Steven R.; Gupta, Manju; Ainley, W. Mike; Henry, Matthew J.; Mason, John; et al, "Methods for targeted integration of transforming DNA into plant genomes using synthetic site-specific nucleases", PCT Int. Appl. (2014), WO 2014039872 A1 20140313.
NBT③-1	イネ	日本: National Institute of Agrobiological Sciences	Nishizawa-Yokoi, Ayako; Endo, Masaki; Osakabe, Keishi; Saika, Hiroaki; Toki, Seichi, "Precise marker excision system using an animal-derived piggyBac transposon in plants", Plant Journal (2014), 77(3), 454-463.
NBT④	トマト、トウゴマ、ポプラ、ブドウ、イネ、ソルガム	米国: University of Arkansas	Khodakovskaya, Mariya, "Method for producing abiotic stress tolerant transgenic plants by silencing gene encoding calcium-dependent lipid-binding proteins with C2 domain", U.S. Pat. Appl. Publ. (2014), US 20140082767 A1 20140320.
NBT④	バラ科の果樹(リンゴ、モモ)	日本: Iwate University	Yoshikawa, Nobuyuki; Yamagishi, Noriko, "Genetic method for shortening breeding cycle of a Rosaceae fruit tree", Jpn. Kokai Tokkyo Koho (2014), JP 2014183754 A 20141002.
NBT⑦-2, 抗体医薬	タバコ (Nicotiana benthamiana)	スペイン: CSIC, Universidad Politecnica de Valencia; Universidad de las Palmas de Gran Canaria	Orzaez Calatayud, Diego Vicente; Julve Parreno, Jose Manuel; Granell Richart, Antonio; Sarrion-Perdigones, Alejandro; Gutierrez, Cabrera Carlos, "Method for the production of complex repertoires of recombinant molecules", PCT Int. Appl. (2014), WO 2014044892 A1 20140327.
NBT⑦-2, 抗体医薬	タバコ (Nicotiana benthamiana)	スペイン: CSIC, Universidad Politecnica de Valencia, Universidad de las Palmas de Gran Canaria	Orzaez Calatayud, Diego Vicente; Julve Parreno, Jose Manuel; Granell Richart, Antonio; Sarrion-Perdigones, Alejandro; Gutierrez, Cabrera Carlos, "Method for the production of complex repertoires of recombinant molecules, such as antibodies, in transgenic plants", Span. (2014), ES 2456823 A1 20140423.

検索語「transgenic plant」では抽出されるNBTはそれほど多くなく、2014年度は9件(2013年と同数) そのうち、①nuclease technology(ZFNs、TALENs、CRISPR/Cas)が最も多い

表 11. 2014 年の GM 植物（機能性食品）研究・開発状況

区分	作物	研究・開発機関	文献等
機能性食品	アムールブドウ	ロシア: Far East Branch of Russian Academy of Sciences	Aleynova-Shumakova, O. A.; Dubrovina, A. S.; Manyakhin, A. Y.; Karetin, Y. A.; Kiselev, K. V., "VaCPK20 gene overexpression significantly increased resveratrol content and expression of stilbene synthase genes in cell cultures of <i>Vitis amurensis</i> Rupr.", <i>Applied Microbiology and Biotechnology</i> (2014), 98(12), 5541-5549.
機能性食品	イネ	中国: South China Agricultural University	Tian, Hua; Tang, Xiangru; Pan, Shenggang; Duan, Meiyang; Xiao, Lizhong; Zhong, Keyou, "Cloning and application of aromatic rice fragrance content related gene OsPRO", <i>Faming Zhuanli Shenqing</i> (2014), CN 104031927 A 20140910.
機能性食品	オオムギ	中国: Gansu Academy of Agricultural Sciences	Li, Jing-wen; Zhang, Zheng-ying; Ling, Li-jun; Li, Shu-jie, "Creating low grain protein content barley by suppressing B-hordein synthesis through RNA interference", <i>Zhongguo Nongye Kexue</i> (Beijing, China) (2014), 47(19), 3746-3756.
機能性食品	植物	カナダ: University of Alberta	Weselake, Randall J.; Mietkiewska, Elzbieta, "Gene combinations for producing punicic acid in transgenic plants", <i>Can. Pat. Appl.</i> (2014), CA 2810336 A1 20140925.
機能性食品	植物	韓国: Rural Development Administration	Lim, Seon Hyeong; Ha, Seon Hwa; Song, Ji Hye; Kim, Jae Gwang; Lee, Jong Ryeol; Kim, Yeong Mi; Ku, Bon Seong, "Anthocyanin biosynthesis gene rsm1b1 of protein and expression vector utilized for producing transgenic plant with accumulated anthocyanin", <i>Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo</i> (2014), KR 2014126528 A 20141031
機能性食品	植物	中国: Sun Yat-Sen University	Li, Yin; Huang, Shangzhi; Liu, Chen; Yan, Ruiqing, "Sequence of peanut lysophosphatidic acid acyl transferase gene LPAAT1 and its use in increasing seed polyunsaturated fatty acids", <i>Faming Zhuanli Shenqing</i> (2014), CN 103725700 A 20140416.
機能性食品	タバコ、イネ	中国&日本: China Agricultural University, China; The University of Tokyo, Japan; Ishikawa Prefectural University, Japan	Xiong Hongchun; Guo Xiaotong; Shen Hongyun; Qiu Wei; Kobayashi Takano; Nishizawa Naoko K; Kakei Yusuke; Nakanishi Hiromi; Nozoye Tomoko; Zhang Lixia; et al, "Expression of peanut Iron Regulated Transporter 1 in tobacco and rice plants confers improved iron nutrition", <i>Plant physiology and biochemistry: PPB / Societe francaise de physiologie vegetale</i> (2014), 80, 83-9.
機能性食品	トマト	中国: Hefei University of Technology	Li, Guangwei; Niu, Xiangli; Zhou, Ang; Chen, Danyang; Liu, Yongsheng, "Actinidia chinensis gene capable of increasing Lycopersicon esculentum fruit nutritional quality and application", <i>Faming Zhuanli Shenqing</i> (2014), CN 104004768 A 20140827.
機能性食品	ナガミノアマナズナ	英国: 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", <i>Plant Journal</i> (2014), 77(2), 198-208.
機能性食品	ナス科作物	イスラエル: Yeda Research and Development Co. Ltd.	Aharoni, Asaph; Itkin, Maxim, "Plant with altered content of steroidal glycoalkaloids resulting from modulated expression of GAME9-transcription factor, GAME11 gene encoding 2-oxoglutarate dependent dioxygenase and BHLH-transcription factor", <i>PCT Int. Appl.</i> (2014), WO 2014195944 A1 20141211.
機能性食品	トウモロコシ	米国: JM Biologicals	Messing, Joachim; Ciclitira, Paul J., "A method for detecting CD-inducing epitopes in wheat glutenin and gliadin proteins for the production of gluten free food products", <i>PCT Int. Appl.</i> (2014), WO 2014182897 A2 20141113.

表 12. 2014 年の GM 植物（経口ワクチン、食用医薬、ワクチン抗原、抗体医薬）研究・開発状況

区分	作物	研究・開発機関	文献等
経口ワクチン	アルファルファ	中国: Inner Mongolia University of Science and Technology	Zhao, Liang; Wang, Jing-yan; Wang, Jian-ying; Guo, Jiang-bo; Xin, Cui-hua, "Construction of <i>Brucella</i> rOmp3148-74-BLS expression vector and its transformation into alfalfa", <i>Zhiwu Yanjiu</i> (2014), 34(4), 505-509.
経口ワクチン	シロイヌナズナ、ニンジン	スウェーデン: Oerebro University	Lindh, Ingrid; Braave, Andreas; Hallengaard, David; Hadad, Ronza; Kalbina, Irina; Strid, Aake; Andersson, Soeren, "Oral delivery of plant-derived HIV-1 p24 antigen in low doses shows a superior priming effect in mice compared to high doses", <i>Vaccine</i> (2014), 32(20), 2288-2293.
経口ワクチン	タバコ	イタリア: Universita di Milano	Rossi, Luciana; Pinotti, Luciano; Agazzi, Alessandro; Dell'Orto, Vittorio; Baldi, Antonella, "Plant bioreactors for the antigenic hook-associated flagK protein expression", <i>Italian Journal of Animal Science</i> (2014), 13(1), 23-29.
食用医薬	タバコ	イスラエル: Protalix Ltd., Israel; Hadasit Medical Research Services and Development Ltd.	Ilan, Yaron; Shaaltiel, Yoseph; Hanania, Uri; Kizhner, Tali; Ariel, Tami; Gingis-Velitski, Svetlana, "Tumor necrosis factor receptor fusion proteins for use as tumor necrosis factor antagonists and their manufacture in plants", <i>PCT Int. Appl.</i> (2014), WO 2014136117 A1 20140912.
食用医薬	タバコ	インド: CSIR-NBRI	Pandey, Ashutosh; Misra, Prashant; Khan, Mohd. P.; Swarnkar, Gaurav; Tewari, Mahesh C.; Bhamhani, Sweta; Trivedi, Ritu; Chattopadhyay, Naibedy; Trivedi, Prabodh K., "Co-expression of Arabidopsis transcription factor, AtMYB12, and soybean isoflavone synthase, GmIFS1, genes in tobacco leads to enhanced biosynthesis of isoflavones and flavonols resulting in osteoprotective activity", <i>Plant Biotechnology Journal</i> (2014), 12(1), 69-80.
食用医薬	ヒマワリ	中国: Tianjin University	Guan, Chunfeng; Ji, Jing; Jin, Chao; Wang, Gang; Li, Xiaozhou; Guan, Wenzhu, "Expression of cholera toxin B subunit-lumbrokinase in edible sunflower seeds—the use of transmembrane carrier to enhance its fusion protein's effect on protection of rats and mice against thrombosis", <i>Biotechnology Progress</i> (2014), 30(5), 1029-1039.
ワクチン抗原	ゲンゲ属植物 (Astragalus)	中国: Jilin Agricultural University	Gao Yugang; Zhao Xueliang; Zang Pu; Liu Qun; Wei Gongqing; Zhang Lianxue, "Generation of the bovine viral diarrhoea virus e0 protein in transgenic astragalus and its immunogenicity in sika deer", <i>Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM</i> (2014), 2014, 372503.
抗体医薬	植物	韓国: Chung-Ang University	Lim, Chae-Yeon; Kim, Deuk-Su; Lee, Kyung Jin; Hwang, Kyung-A.; Choo, Young-Kug; Ko, Kisung, "Optimization of storage temperature for the pollen viability of transgenic plants that express the anti-breast cancer monoclonal antibody mAb BR55", <i>Plant Omics</i> (2014), 7(5), 403-409, 7 pp.
NBT①-2、抗体医薬	タバコ (Nicotiana benthamiana)	スペイン: CSIC, Universidad Politecnica de Valencia; Universidad de las Palmas de Gran Canaria	Orzaez Calatayud, Diego Vicente; Julve Parreno, Jose Manuel; Granell Richart, Antonio; Sarrion-Perdigones, Alejandro; Gutierrez, Cabrera Carlos, "Method for the production of complex repertoires of recombinant molecules", <i>PCT Int. Appl.</i> (2014), WO 2014044892 A1 20140327.
NBT①-2、抗体医薬	タバコ (Nicotiana benthamiana)	スペイン: CSIC, Universidad Politecnica de Valencia; Universidad de las Palmas de Gran Canaria	Orzaez Calatayud, Diego Vicente; Julve Parreno, Jose Manuel; Granell Richart, Antonio; Sarrion-Perdigones, Alejandro; Gutierrez, Cabrera Carlos, "Method for the production of complex repertoires of recombinant molecules, such as antibodies, in transgenic plants", <i>Span.</i> (2014), ES 2456823 A1 20140423.

表 13. 2014 年の GM 植物（治療薬）研究・開発状況

区分	作物	研究・開発機関	文献等
治療薬	植物	韓国: Dong-A University Research Foundation for Industry-Academy Cooperation	Nam, Jae Sung; Kwon, Taek Min; Cho, Yang, "Method for preparing transformed plant with increased syringin production, and plant prepared by same", PCT Int. Appl. (2014), WO 2014058104 A1 20140417.
治療薬	植物	米国: 記載なし	Chen, Feng; Li, Guanglin, "Terpene synthases of <i>Selaginella moellendorffii</i> and the genes encoding them and their uses", U.S. Pat. Appl. Publ. (2014), US 20140030784 A1 20140130.
治療薬	シロイヌナズナ	日本: Tokyo University of Agriculture and Technology	Tamura, Masayuki; Tsuji, Yukiko; Kusunose, Tatsuya; Okazawa, Atsushi; Kamimura, Naofumi; Mori, Tetsuya; Nakabayashi, Ryo; Hishiyama, Shojiro; Fukuhara, Yuki; Hara, Hirofumi; et al., "Successful expression of a novel bacterial gene for pinoreosin reductase and its effect on lignan biosynthesis in transgenic <i>Arabidopsis thaliana</i> ", Applied Microbiology and Biotechnology (2014), 98(19), 8165-8177.
治療薬	タバコ、シロイヌナズナ、イネ	スペイン: University of Girona.	Company Nuri; Nadal Anna; La Paz Jose-Luis; Martinez Silvia; Rasche Stefan; Schillberg Stefan; Montesinos Emilio; Pla Maria, "The production of recombinant cationic $\alpha$ -helical antimicrobial peptides in plant cells induces the formation of protein bodies derived from the endoplasmic reticulum", Plant biotechnology journal (2014), 12(1), 81-92.
治療薬	タバコ、シロイヌナズナ	韓国: Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology	Kim, Cha Yeong; Jung, Yu Jeong; Kim, Uk Jin; Jung, Hyeong Jae; Ahn, Cheol Han, "Method and composition for increasing stilbene synthase and changing flower color in plant using resveratrol o-methyltransferase and stilbene synthase utilized for manufacturing transgenic plants and its seeds", Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2014), KR 2014040372 A 20140403.
治療薬	チクセツニンジン	中国: Huo, Mengrui	Zhang, Shaopeng; Chen, Ping; Zhao, Xiaolong; Wang, Qi; Zhu, Wenjun; Wu, Chong; Wang, Rufeng; Deng, Chen; Zheng, Yonglian, "Panax japonicus squalene epoxidase gene and its application", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 104232597 A 20141224.
治療薬	トマト	インド: Parul Institute of Pharmacy	Jha, Lalit Lata; Shah, Darshika; Rajesh, K. S., "Transgenic <i>Lycopersicon esculentum</i> mill (tomato) plant as bioreactor for the production of human neutrophil peptide-1 (HNP-1): a useful protein based pharmaceutical", International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (2014), 5(8), 3209-3215.
治療薬	油糧作物	中国: Jilin Agricultural University	Li, Xiaokun; Li, Haiyan; Guan, Lili; Yang, Jing; Wang, Fawei; Jiang, Chao; Du, Linna; Wang, Yanfang; Dong, Yuanyuan; Yao, Na; et al., "Vegetable oil body gel containing aFGF", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 103720743 A 20140416.
治療薬	油糧作物	中国: Jilin Agricultural University	Li, Haiyan; Li, Xiaokun; Guan, Lili; Wang, Fawei; Yang, Jing; Jiang, Chao; Dong, Yuanyuan; Du, Linna; Wang, Nan; Liu, Xiuming; et al., "Vegetable oil gel containing human basic fibroblast growth factor (bFGF)", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 103725649 A 20140416.
治療薬	植物	韓国: Dong-A University, Research Foundation for Industry-Academy Cooperation	Nam, Jae Seong; Kwon, Taek Min; Cho, Yang, "Preparation of transgenic plant having increased syringin production", Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2014), KR 2014046740 A 20140421.
治療薬	ザツシヨクノボリフジ	カナダ: National Research Council of Canada-Saskatoon	Polowick, Patricia L.; Loukanina, Natalia N.; Doshi, Ketan M., "Agrobacterium-mediated transformation of tarwi ( <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet), a potential platform for the production of plant-made proteins", In Vitro Cellular & Developmental Biology: Plant (2014), 50(4), 401-411.

表 14. 2014 年の GM 植物（治療薬：続き、診断薬・試薬、工業用）研究・開発状況

区分	作物	研究・開発機関	文献等
治療薬	植物	韓国: Chung-Ang University	Ahn, Junsik; Lee, Kyung Jin; Ko, Kisung, "Optimization of ELISA Conditions to Quantify Colorectal Cancer Antigen-Antibody Complex Protein (GA733-FcK) Expressed in Transgenic Plant", Monoclonal Antibodies in Immunodiagnosis and Immunotherapy (2014), 33(1), 1-7.
治療薬	タバコ	中国: Ministry of Education in China, Anhui Agricultural University	Wang Yun-Sheng; Xu Yu-Jiao; Gao Li-Ping; Yu Oliver; Wang Xin-Zhen; He Xiu-Juan; Jiang Xiao-Lan; Liu Ya-Jun; Xia Tao, "Functional analysis of Flavonoid 3,5-hydroxylase from Tea plant ( <i>Camellia sinensis</i> ): critical role in the accumulation of catechins", BMC plant biology (2014), 14(1), 347.
治療薬	チャノキ	中国: Zhejiang University	Lu, Jianliang; Liu, Yang; Fan, Fangyuan; Gan, Quan; Zheng, Xingqiang; Liang, Yuerong, "Cloning of gene for polygalacturonase inhibiting protein (PGIP) of <i>Camellia sinensis</i> and its application", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 103509806 A 20140115
治療薬	油糧作物	中国: Jilin Agricultural University, Bioreactor Engineering Co., Ltd.	Li, Haiyan; Li, Xiaokun; Guan, Lili; Yang, Jing; Wang, Fawei; Du, Linna; Jin, Libo; Jiang, Chao; Wang, Yanfang; Wang, Nan; et al., "Epidermal growth factor-containing vegetable oil gel", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 103736079 A 20140423.
診断薬・試薬	イネ	韓国: Industrial Cooperation Foundation Chonbuk National University	Yang, Mun Sik; Kim, Yong Sang; Eom, Tae Bung, "Effective purification method for recombinant trypsin produced by transgenic rice cell suspension culture", Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2014), KR 2014078285 A 20140625.
診断薬・試薬	植物	インド: CSIR-National Botanical Research Institute	Jha Shweta; Sanyal Indraneel; Amla D V., "Single amino acid substitutions in recombinant plant-derived human $\alpha$ 1-proteinase inhibitor confer enhanced stability and functional efficacy", Biochimica et biophysica acta (2014), 1840(1), 416-27.
診断薬・試薬	植物	中国: Shenzhen University, Peop. Rep. China	Zheng, Yizhi; Liu, Guobao; Hu, Yueming; Liu, Yun, "Method for establishing plant cell model for high-throughput screening active substances for treating Huntington's disease and its application", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 103525858 A 20140122.
診断薬・試薬	植物	ドイツ: Greenovation Biotech GmbH, Germa	Fode, Benjamin; Schaaf, Andreas, "Expression of phosphorylated glycoproteins in plants", PCT Int. Appl. (2014), WO 2014167094 A1 20141016.
診断薬・試薬	植物	ドイツ: Greenovation Biotech GmbH	Fode, Benjamin; Schaaf, Andreas, "Expression of phosphorylated glycoproteins in plants", Eur. Pat. Appl. (2014), EP 2789686 A1 20141015.
工業用	シロイヌナズナ、ダイズ、油糧作物	中国: Chinese Academy of Sciences	Zhang, Jinsong; Chen, Shouyi; Liu, Yunfeng; Li, Qingtian; Zhang, Wanke; Ma, Biao; Lin, Qing; He, Sijie, "Application of Glycine max transcription factor GmMYB172 in regulating plant grease metabolism", From Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 104059136 A 20140924.
工業用	ダイズ、カンola	米国: Monsanto Technology LLC	Tripodi, Frederico; Honary, Lou A. T., "High pufa oils for industrial applications", PCT Int. Appl. (2014), WO 2014066127 A2 20140501.
工業用	油糧作物	中国: Chinese Academy of Sciences	Qu, Yueqing; Liu, Wenxian, "Expression cassette and application in breeding transgenic plant with increased seed grease content", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 104232654 A 20141224.

表 15. 2014 年の GM 植物（環境浄化）研究・開発状況

区分	作物	研究・開発機関	文献等
環境浄化	イネ	インド: CSIR-NBRI	Shri Manju; Tripathi Rudra Deo; Trivedi Prabodh Kumar; Chakrabarty Debasis; Dave Richa; Diwedi Sanjay; Shukla Devesh; Kesari Ravi, "Heterologous expression of Ceratophyllum demersum phytochelatin synthase, CdPCS1, in rice leads to lower arsenic accumulation in grain", Scientific reports (2014), 4, 5784.
環境浄化	植物	台湾: Academia Sinica	Yeh, Kuo-Chen; Shin, Lung-Jiun, "Copper resistant plant overexpressing ATX1-like protein and use for phytoremediation", U.S. Pat. Appl. Publ. (2014), US 20140298534 A1 20141002.
環境浄化	植物	中国: Chinese Academy of Agricultural Sciences	Sun, Jingwen; Cheng, Mingfang; Wang, Yujun; Li, Shutian; Zhou, Wei, "Application of heavy metal-induced promoter from Arabidopsis thaliana", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 103923923 A 20140716.
環境浄化	植物	中国: Nanjing Boou Biotechnology Co., Ltd.	Xue, Yong; Yin, Hao; Jiang, Xiaohui; Hou, Xiaoguang; Wu, Shunxia; Hou, Shuguang; Zhou, Hui; Wang, Rui; Wu, Guangcai; Zhang, Yang, "Heavy metal binding protein gene from antiradiation microorganism, and application in heavy metal resistance", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 104099346 A 20141015.
環境浄化	植物	中国: Nanjing Boou Biotechnology Co., Ltd., Peop. Rep. China	Xue, Yong; Jiang, Xiaohui; Xu, Xiaoyun; Hou, Xiaoguang; Wu, Shunxia; Hou, Shuguang; Zhou, Hui; Wu, Guangcai; Zhang, Yang, "Application of heavy metal binding protein gene from Methylobacterium extorquens", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 104099347 A 20141015.
環境浄化	シロイヌナズナ	中国: Chinese Academy of Agricultural Sciences	Sun, Jingwen; Cheng, Mingfang; Wang, Yujun; Li, Shutian; Zhou, Wei, "Application of heavy metal induced promoter AtMT1a of Arabidopsis thaliana in breeding transgenic plant for prewarning heavy metal pollution in soil", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 103923922 A 20140716.
環境浄化	シロイヌナズナ	中国: Shanghai Academy of Agricultural Sciences	Xue, Yong; Yao, Quanhong; Peng, Rihe; Zhu, Bo; Han, Hongjuan; Han, Jing; Wang, Bo; Wang, Hongjuan; Zhao, Wei, "Construction of transgenic Arabidopsis thaliana expressing Thermus thermophilus heavy metal-binding protein gene", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 104099348 A 20141015.

表 16. 2014 年の GM 植物（環境浄化：続き）研究・開発状況

区分	作物	研究・開発機関	文献等
環境浄化	セツレンカ	中国: College of Life Science Shihezi University	Wang, Haixia; Zhang, Linhua; Yang, Jing; Zhang, Yamin; Zhang, Wei; Wang, Aiyang; Hu, Yuanlei; Zhu, Jianbo, "Clone and aluminum tolerance analysis of unknown gene from Saussurea involucreta kar. et kir.", Xibei Zhiwu Xuebao (2014), 34(1), 32-39
環境浄化	ダイズ	中国: Nanjing Agricultural University	Zhu, Yuelin; Ge, Junyi; Chen, Guohu; Yang, Lifei, "Cultivation method for OsPT2 transgenic soybean with efficient utilization of phosphorus", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 104004755 A 20140827.
環境浄化	タバコ	チェコ: ICT Praque	Viktorovta Jitka; Novakova Martina; Trbolova Ladislava; Vrchotova Blanka; Lovecka Petra; Mackova Martina; Macek Tomas, "Characterization of transgenic tobacco plants containing bacterial bphC gene and study of their phytoremediation ability", International journal of phytoremediation (2014), 16(7-12), 937-46
環境浄化	インゲンマメ、シロイヌナズナ	中国: South China Agricultural University	Tian, Jiang; Liao, Hong; Sun, Lili, "Sequence of malic enzyme gene ME1 from Stylosanthes Guianensis and its use in increasing aluminum tolerance and acidic soil adaptation of transgenic plants", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 103525838 A 20140122.
環境浄化	シロイヌナズナ、イネ	中国: Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai Ruifeng Agricultural Science and Technology Co., Ltd.	Peng, Rihe; Yao, Quanhong; Wang, Rongtan; Fu, Xiaoyan; Tian, Yongsheng; Zhao, Wei; Yan, Peilan; Ding, Weixing, "A method for improving the tolerance and degradation capability of plant to polycyclic aromatic hydrocarbons", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 103509819 A 20140115.
環境浄化	スチロサントス属植物	中国: South China Agricultural University	Tian, Jiang; Liao, Hong; Chen, Zhijian, "Sequence of malate dehydrogenase gene MDH1 from Stylosanthes and its use in increasing manganese tolerance and acidic soil adaptation of transgenic plants", Faming Zhuanli Shenqing (2014), CN 103525825 A 20140122.
環境浄化	タバコ	トルコ: Mustafa Kemal University	Eren, Abdullah; Daghan, Hatice, "Transgenic tobacco-bearing p-cV-ChMTIIIGFP gene accumulated more lead compared to wild type", Polish Journal of Environmental Studies (2014), 23(2), 569-571.

表 17. 2014 年の GM 植物研究・開発状況：国別集計

国名\区分	NBT	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	小計
日本	4	1	0	0	0	0	1	0	0	0	6
中国	1	5	1	1	1	0	6	1	10	2	28
台湾	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
韓国	0	1	0	0	0	1	4	1	0	0	7
インド	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	4
イスラエル	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2
トルコ	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
米国	2	1	0	0	0	0	1	0	0	1	5
カナダ	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2
ロシア	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
チェコ	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
スウェーデン	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
英国	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ドイツ	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
イタリア	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
スペイン	2	0	0	0	0	2	1	0	0	0	5
小計	9	12	3	3	1	3	15	5	14	3	68

区分：重複2件(NBT-抗体医薬) 機能性食品：重複1件(中国-日本)

68件のうち、28件が中国で最も多い

表 18. 2014 年の GM 植物研究・開発状況：作物別集計（食用作物）

作物名\区分	NBT	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	小計
アルファルファ	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
イネ	3	2	0	0	0	0	1	1	2	0	9
インゲンマメ	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
オオムギ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
カノーラ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
ダイズ	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3
チクセツニンジン	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
チャノキ	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
トウモロコシ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
トマト	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	3
ナス科植物	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ナタネ	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ニンジン	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
ヒマワリ	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
ブドウ	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
モモ	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
リンゴ	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
油糧作物	0	0	0	0	0	0	3	0	0	2	5

NBT：重複2件(トマト-トウモロコシ-ポプラ-ブドウ-イネ-ソルガム：1件、リンゴ-モモ：1件) 機能性食品：重複1件(タバコ-イネ：1件)  
 経口ワクチン：重複1件(シロイヌナズナ-ニンジン：1件)  
 治療薬：重複2件(タバコ-シロイヌナズナ-イネ：1件、タバコ-シロイヌナズナ：1件)  
 環境浄化：重複2件(インゲンマメ-シロイヌナズナ：1件、シロイヌナズナ-イネ：1件)  
 産業用：重複2件(シロイヌナズナ-ダイズ-油糧作物：1件、ダイズ-カノーラ：1件) タバコ：重複2件(NBT-抗体医薬：2件)

食用作物の中ではイネ：9件が最も多い

表 19. 2014 年の GM 植物研究・開発状況：作物別集計（非食用作物）

作物名\区分	NBT	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	小計
ゲンゲ属植物	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
ザシヨクノポリフジ	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
シロイヌナズナ	1	0	1	0	0	0	3	0	4	1	10
スチロサントス属植物	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
セツレンカ	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
ソルガム	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
タバコ	2	1	1	2	0	2	3	0	2	0	13
トウゴマ	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ナガミノアマナズナ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ポプラ	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
マテバシイ	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
植物	0	3	0	0	0	1	4	4	4	0	16
小計	15	12	4	3	1	3	18	5	16	6	83

NBT：重複2件(トマト-トウゴマ-ポプラ-ブドウ-イネ-ソルガム：1件、リンゴ-モモ：1件) 機能性食品：重複1件(タバコ-イネ：1件)  
 経口ワクチン：重複1件(シロイヌナズナ-ニンジン：1件)  
 治療薬：重複2件(タバコ-シロイヌナズナ-イネ：1件、タバコ-シロイヌナズナ：1件)  
 環境浄化：重複2件(インゲンマメ-シロイヌナズナ：1件、シロイヌナズナ-イネ：1件)  
 工業用：重複2件(シロイヌナズナ-ダイズ-油糧作物：1件、ダイズ-カノーラ：1件) タバコ：重複2件(NBT-抗体医薬：2件)

小計は食用作物+非食用作物

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

－NBT を用いた作物と非食用遺伝子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  
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  
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  
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

研究要旨

New Plant Breeding Techniques (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、昨年度に引き続きTALENやCRISPRといったNBT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。その結果、NBTのうち、特にTALENとCRISPRがモデル植物だけではなく、穀類等の実用作物へも盛んに応用されている実態が鮮明になった。世界的には、米国と中国が植物に対する二大NBT実施国となっているが、中国におけるTALEN及びCRISPRの、とくにイネへの使用実態については今後注視する必要があるといえる。また、TALENを適用したモデル植物の作出のため、イネの*FLO2*遺伝子を標的としたTALEN遺伝子の構築を行い、これを用いた形質転換の操作に着手した。これによって得られた植物はTALENを用いたNBT応用植物の各種解析に供することができると考えられる。

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や土壌浄化等の目的に利用されている。これらの新 GMO は、従来の除草剤耐性の食用作物などの 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。

本研究においては、これらの非食用組換え体ならびに 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。そのために、代表的な NBT である TALEN を用いたゲノム編集を行ったイネの作出を試みる。

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

### NBT 応用状況の文献調査

NBT 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、NBT 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。昨年度と同様に、NBT 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 (Zinc Finger Nuclease)、TALEN(s) (Transcription activator-like effector nucleases)、CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)/Cas (CRISPR Associated) 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 (最終検索結果更新日: 2015 年 2 月 24 日)。

検索結果から、植物を対象として遺伝子編集を実施した論文のみを抽出し、リスト化した。また、作成したリストについて発表年別、国別、技術カテゴリー別等に集計し、開発動向の解析を行った。

### NBT 応用モデル植物の作製基盤整備

NBT を植物へ応用し、モデルを作製することにより、今後の NBT 応用植物の検知法等の開発の基盤整備を行うため、下記の実験を行った。

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同末端連結により修復される際に変異が導入される。

標的とする遺伝子は、すでに変異体が存在し、その表現型が詳しく調べられているイネの *FLO2* 遺伝子 (文献 1) とした。この遺伝子に関する変異体 (*flo2* 変異体) の 1 つである EM37 変異体において、*FLO2* 遺伝子の変異部位が同定されているため、この部位のゲノム編集を試みた。また、この遺伝子の開始コドン付近などの部位についてのゲノム編集を試みるため、Platinum TALEN キットを用いて、対応する塩基配列を認識する TALEN (人工ヌクレアーゼ) 遺伝子の構築を行った。さらに、得られた人工ヌクレアーゼが正常に機能するかどうかを検定するための評価系を構築した。

これによって作製された人工ヌクレアーゼ遺伝子はイネの形質転換に供することができる。

## C. 研究結果

### 文献調査結果

NCBI PUBMED (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)で各 NBT 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 NBT を適用した論文のみを抽出した (表 1-3)。また、年度別の実施報告 (論文) 数、植物種別の実施数、技術カテゴリー及び国別の実施数及び割合、そして、特に、中国が実施した NBT (TALEN, CRISPR) の対象植物種の割合についてグラフ化した。これらの NBT 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。

### 1) NBT カテゴリー別開発動向の解析結果

#### 1-1) ZFN

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、2005 年から 2014 年の 10 年間に、27 報の植物に対する実施報告が見出された (表 1、図 1)。適用された植物は図 2 に示すシロイヌナズナ、タバコ、トウモロコシ、大豆等の 9 種であり、モデル植物が中心であるが、2014 年にりんごやイチジクへの適用例が報告されている。

年次別の実施数を見ると、ZFN は 2012 年に一時、実施報告数が 1 件と減少したが、その後、2013 年は 7 件、2014 年は 4 件と回復している (図 1)。これは 2011 年ごろより ZFN の代替手法として TALEN が注目されはじめ、一時的に ZFN から TALEN にシフトしたものの、その後、ZFN に回帰する動きがあったものと考えられる。

ZFN については、報告数は図 3 及び 4 に示すように米国が全体の 70% と圧倒的に多

いが、その内訳は、古くから ZFN をはじめとする NBT 研究に注力しているミネソタ大の Voytas らのグループと、Dow AgroSciences LLC のグループからの報告が大半を占めている。これら米国の 2 グループの報告を除くと、ZFN の報告数は、2013 年は 3 報、2014 年は 2 報であり、他の NBT と比較すると、実施数が低調となっている傾向が認められた。

#### 1-2) TALEN

次に、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、2011 年から 2015 年にかけて 21 報の植物に対する実施報告が見出された (表 2、図 1)。適用された植物は、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)、イネ、タバコ (*Nicotiana tabacum*)、*N. benthamiana*、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、大豆、小麦の 10 種であった (図 2)。TALEN は 2011 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おり、その報告数は、2011 年の 2 件から、2012 年の 3 件、2013 年は 7 件、そして 2014 年は 6 件と推移している (図 1)。また、2014 年以降は CRISPR との比較研究も行われるようになってきている。

2014 年の Haun らの報告 (表 2, ID5) は、大豆の脂肪酸の生合成に関わる 2 種の相同な酵素遺伝子 FAD2-1A 及び FAD2-1B に TALEN を適用することにより、両遺伝子に同時に変異を導入し、大豆油中の一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸の含有比率を 20% から 80% に増加させるとともに、多価不飽和脂肪酸であるリノール酸を 50% から 4% 未満に低下させるという品質向上を達成したもので、相同遺伝子に対し同時に変異を導入することができる TALEN の特徴を生かし、

かつ、食用作物を対象として実用的機能改変を達成した好例といえる。なお、Haunらが属するCollectis Plant Sciences社はVoytasらが属するミネソタ大との共同研究を行っており、これまでも大豆だけではなく、ジャガイモ、小麦、キャノーラの遺伝子組換え作物作出の実績がある。

また、2015年のChinese Academy of SciencesのShanらの報告(表2、ID2)によると、Shanらはイネのbetaine aldehyde dehydrogenaseにTALENを用い変異を導入し、香り米(fragrant rice)の主要香気成分である2-acetyl-1-pyrrolineのT1世代コメでの含有量を、遺伝子改変前の0から0.35-0.75 mg/kgに増加させることに成功した。このように中国においては主食作物にNBTを適用し、機能改変を達成している。

### 1-3) CRISPR

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、2013年から2015年までのわずか2年あまりで31報の実施例が確認された(表3、図1)。適用された植物種は、昨年度に報告した、シロイヌナズナ、イネ、タバコ(*N. tabacum*)、*N. benthamiana*、小麦、ソルガム、トウモロコシ、ゼニゴケに加え、2014年以降、オレンジ、グループフルーツ、トマトと実施された植物種が増え、計11種となった(図2)。

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11種(ゼニゴケを含む)もの植物に適用されていることは注目すべき点である。報告数も、2013年に9報だったものが、2014年に18報と倍増しており、2013年の7報から2014年の6報に微減したTALENと比較すると、その普及の勢いは驚異的である。

また、これまで、CRISPRの実施報告は対象とする植物への適用可能性の検討といったトライアル的なもので占められていたが、2015年のNingらの報告(表3、ID1)は、CRISPRを用いシロイヌナズナの開花に関わる新規NAC転写因子を見出したもので、遺伝子の分子機能解析の手法として利用され始めている実態が明らかになった。

上記の技術カテゴリー別の適用例数は、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 RNA, 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、特に、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。

### 2) 国別開発動向の解析結果

研究が実施された国別でみると、図4に示すように、TALEN及びCRISPRについては、TALENでは米国と中国が全体の71%、CRISPRでは米国と中国で全体の74%と、米国と中国が2大開発国となっていることが示された。中国では、Chinese Academy of Sciencesからの報告数が多い。

中国の開発動向についてさらに詳しくみると、図5のようにTALEN、CRISPR両技術の適用対象植物としてイネがそれぞれ4割を占めており、主食作物であるイネに対する遺伝子改変の取り組みが盛んであることが明らかになった。

### NBTモデル植物作出のための基盤技術整備

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

実際に試行した。

#### 1) 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 25 日～26 日に広島大学で開催された「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) に参加した (河野、草野)。これにより TALEN を用いたゲノム編集技術を習得した。

#### 2) TALEN を利用した人工ヌクレアーゼの構築

イネの *FLO2* 遺伝子を標的とした TALEN 遺伝子を構築した。標的部位はこれまでに知られている *flo2* 変異体の変異部位とした。これに加えて、この遺伝子の開始コドン領域などにも標的部位を設定し、それぞれの部位でのゲノム編集が可能な遺伝子構築を終えた (図 6)。TALEN 遺伝子 (人工ヌクレアーゼ遺伝子) は Platinum TALEN キットを利用し、標的配列の 2 つの鎖を認識するための TALEN 遺伝子を構築した後、それぞれを 1 つのバイナリーベクターに組み込み、植物で機能するプラスミドを構築した。

#### 3) Platinum TALEN の検証

公表されている Platinum TALEN キットで使用されている *FokI* 遺伝子領域の塩基配列を解析したところ、ここで用いられている *FokI* はホモダイマー型酵素遺伝子であることがわかった。このため、ホモダイマー型 *FokI* によるこのシステムではオフターゲットを引き起こす可能性が高いものと推測された。

#### 4) 形質転換イネの作出

構築した *FLO2* を標的とする TALEN 遺伝子を用いて、イネの形質転換を開始した。

また、これと平行して作製した TALEN 遺伝子の人工ヌクレアーゼ活性の検定を行うためのシステム構築を行った。

#### D. 考察

今年度は、昨年度に引き続き、NBT の植物分野への応用の状況について論文の調査を行い、同技術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。急速に植物への利用が進んでいる TALEN 及び CRISPR であるが、2014 年の報告数を勘案すると、CRISPR は 2013 年から 2014 年にかけて報告数が倍増したのに対し、TALEN は微減しており、実験手法が簡便な CRISPR が台頭しはじめている感がある。また、実施国については、米国と中国が二大 NBT 大国となっている状況が伺える。中国においては、TALEN や CRISPR の実施対象植物として、イネに対する実施報告数が全体の 4 割を占めることも明らかになった。これらの状況より、「中国」の「CRISPR」によって遺伝子改変された「イネ」のフードチェーンへの混入に、今後一層注視する必要があると考えられる。

TALEN を利用した植物の遺伝子編集の試みについては、今年度は、*FLO2* 遺伝子を標的とした TALEN 遺伝子の構築を終えた。これを用いてイネの形質転換をする予定である。形質転換した後、植物個体が再分化するまで数ヶ月を要するが、今後はこれらの再分化植物の中で、ゲノム編集が起こっている個体を選抜することになる。さらに個々の植物におけるゲノム編集パターンを詳しく調べる予定である。

本研究においては、NBT を利用した組換え体をモデルとして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

今年度は、昨年度に引き続き、TALEN や CRISPR といった NBT の植物分野への応用の状況について論文の調査を行い、NBT、特に TALEN と CRISPR がモデル植物だけでなく、穀類等の実用植物へも盛んに応用されている実態が鮮明になった。世界的には、米国と中国が二大 NBT 実施国となっているが、中国における TALEN 及び CRISPR の、特にイネへの使用実態については今後注視する必要があるといえる。

また、イネの *FLO2* 遺伝子を標的とした TALEN 遺伝子の構築を行い、これを用いた形質転換の操作に着手した。これによって得られた植物は、TALEN を用いた NBT の解析に供することができると考えられる。

#### F. 文献

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. 学会発表

1) 紀平望帆、小野寺瞳、青木裕美、草野博彰、島田浩章（東京理科大・生物工）「植物ゲノム編集 活性評価ベクター pDual35S-R-Luc+ の開発」第56回植物生理学会年会 2015年3月16日(月)-18日(水) 東京農業大学世田谷キャンパス

##### 2. 論文発表

無し

#### H. 知的財産権の出願，登録状況

無し

表1. NBT応用植物に関する文献調査結果(ZFN) (その1)

query: ZFN, zinc finger nuclease, plant

Year	Applied plant species
ID	Affiliation, country
Identifiers	Title
Category	Description
	Details
2014 1	apple, fig Agricultural Research Organization, Bet-Dagan, Israel
PMID:25528147 ZFN	Targeted mutagenesis using zinc-finger nucleases in perennial fruit trees. Peer R, Rivlin G, Golobovitch S, Lapidot M, Gal-On A, Vainstein A, Tzfira T, Flaishman MA. <i>Planta</i> . 2014 Dec 21. [Epub ahead of print]
2014 2	rice International Rice Research Institute Metro Manila, Philippines
PMID:25018764 ZFN	Identification of safe harbor" loci in indica rice genome by harnessing the property of zinc-finger nucleases to induce DNA damage and repair." Cantos C, Francisco P, Trijatmiko KR, Slamet-Loedin I, Chadha-Mohanty PK. <i>Front Plant Sci</i> . 2014;5:302. doi: 10.3389/fpls.2014.00302.
2014 3	tobacco University of Minnesota, MN, USA.
PMID:24443519 ZFN	DNA replicons for plant genome engineering. Baltes NJ, Gil-Humanes J, Cermak T, Atkins PA, Voytas DF. <i>Plant Cell</i> . 2014 Jan;26(1):151-63. doi: 10.1105/tpc.113.119792. Epub 2014 Jan 17.
2014 4	Arabidopsis University of Minnesota, MN, USA.
PMID:24057367 ZFN	Tailor-made mutations in Arabidopsis using zinc finger nucleases. Qi Y, Starker CG, Zhang F, Baltes NJ, Voytas DF. <i>Methods Mol Biol</i> . 2014;1062:193-209. doi: 10.1007/978-1-62703-580-4_10.
2013 5	soybean University of Minnesota, MN, USA.
PMID:23996306 ZFN	Targeted mutagenesis for functional analysis of gene duplication in legumes. Curtin SJ, Anderson JE, Starker CG, Baltes NJ, Mani D, Voytas DF, Stupar RM. <i>Methods Mol Biol</i> . 2013;1069:25-42. doi: 10.1007/978-1-62703-613-9_3.
2013 6	Arabidopsis University of Minnesota, MN, USA.
PMID:23979943 ZFN	Targeted deletion and inversion of tandemly arrayed genes in Arabidopsis thaliana using zinc finger nucleases. Qi Y, Li X, Zhang Y, Starker CG, Baltes NJ, Zhang F, Sander JD, Reyon D, Joung JK, Voytas DF. <i>G3 (Bethesda)</i> . 2013 Oct 3;3(10):1707-15. doi: 10.1534/g3.113.006270.
2013 7	corn Dow AgroSciences LLC, IN, USA
PMID:23953646 ZFN	Trait stacking via targeted genome editing. Ainley WM, Sastry-Dent L, Welter ME, Murray MG, Zeitler B, Amora R, Corbin DR, Miles RR, Arnold NL, Strange TL, Simpson MA, Cao Z, Carroll C, Pawelczak KS, Blue R, West K, Rowland LM, Perkins D, Samuel P, Dewes CM, Shen L, Sriram S, et al. <i>Plant Biotechnol J</i> . 2013 Dec;11(9):1126-34. doi: 10.1111/pbi.12107. Epub 2013 Aug 19.
2013 8	Nicotiana benthamiana, Arabidopsis the Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel
PMID:23625357 ZFN/TALEN	A rapid assay to quantify the cleavage efficiency of custom-designed nucleases in planta. Johnson RA, Gurevich V, Levy AA. <i>Plant Mol Biol</i> . 2013 Jun;82(3):207-21. doi: 10.1007/s11103-013-0052-1. Epub 2013 Apr 28.

表1. NBT応用植物に関する文献調査結果(ZFN) (その2)

Year	Applied plant species
ID	Affiliation, country
Identifiers	Title
Category	Description
	Details
2013 9	tobacco, Arabidopsis University of Michigan, Michigan, USA
PMID:23509176	Nonhomologous end joining-mediated gene replacement in plant cells.
ZFN	Weinthal DM, Taylor RA, Tzfira T. Plant Physiol. 2013 May;162(1):390-400. doi: 10.1104/pp.112.212910. Epub 2013 Mar 18.
2013 10	Arabidopsis University of Minnesota, MN, USA.
PMID:23282329	Increasing frequencies of site-specific mutagenesis and gene targeting in Arabidopsis by manipulating DNA repair pathways.
ZFN	Qi Y, Zhang Y, Zhang F, Baller JA, Cleland SC, Ryu Y, Starker CG, Voytas DF. Genome Res. 2013 Mar;23(3):547-54. doi: 10.1101/gr.145557.112. Epub 2013 Jan 2.
2013 11	Arabidopsis Leiden University, Leiden, The Netherlands
PMID:23279135	ZFN-mediated gene targeting of the Arabidopsis protoporphyrinogen oxidase gene through Agrobacterium-mediated floral dip transformation.
ZFN	de Pater S, Pinas JE, Hooykaas PJ, van der Zaal BJ. Plant Biotechnol J. 2013 May;11(4):510-5. doi: 10.1111/pbi.12040. Epub 2012 Dec 28.
2012 12	Arabidopsis University of Michigan, Michigan, USA
PMID:22082504	Zinc finger nuclease and homing endonuclease-mediated assembly of multigene plant transformation vectors.
ZFN	Zeevi V, Liang Z, Arieli U, Tzfira T. Plant Physiol. 2012 Jan;158(1):132-44. doi: 10.1104/pp.111.184374. Epub 2011 Nov 14.
2011 13	Arabidopsis the Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel
PMID:21848915	Localized egg-cell expression of effector proteins for targeted modification of the Arabidopsis genome.
ZFN	Even-Faitelson L, Samach A, Melamed-Bessudo C, Avivi-Ragolsky N, Lewy AA. Plant J. 2011 Dec;68(5):929-37. doi: 10.1111/j.1365-3113.2011.04741.x. Epub 2011 Oct 4.
2011 14	soybean University of Minnesota, MN, USA.
PMID:21464476	Targeted mutagenesis of duplicated genes in soybean with zinc-finger nucleases.
ZFN	Curtin SJ, Zhang F, Sander JD, Haun WJ, Starker C, Baltes NJ, Reyon D, Dahlborg EJ, Goodwin MJ, Coffman AP, Dobbs D, Joung JK, Voytas DF, Stupar RM. Plant Physiol. 2011 Jun;156(2):466-73. doi: 10.1104/pp.111.172981. Epub 2011 Apr 4.
2011 15	Arabidopsis University of Minnesota, MN, USA.
PMID:21181530	Targeted mutagenesis in Arabidopsis using zinc-finger nucleases.
ZFN	Zhang F, Voytas DF. Methods Mol Biol. 2011;701:167-77. doi: 10.1007/978-1-61737-957-4_9.
2011 16	Arabidopsis, soybean Massachusetts General Hospital, Massachusetts, USA
PMID:21151135	Selection-free zinc-finger-nuclease engineering by context-dependent assembly (CoDA).
ZFN	Sander JD, Dahlborg EJ, Goodwin MJ, Cade L, Zhang F, Cifuentes D, Curtin SJ, Blackburn JS, Thibodeau-Beganny S, Qi Y, Pierick CJ, Hoffman E, Maeder ML, Khayter C, Reyon D, Dobbs D, Langenau DM, Stupar RM, Giraldez AJ, Voytas DF, Peterson RT, Yeh JR, et al. Nat Methods. 2011 Jan;8(1):67-9. doi: 10.1038/nmeth.1542. Epub 2010 Dec 12.

表1. NBT応用植物に関する文献調査結果(ZFN) (その3)

Year	Applied plant species
ID	Affiliation, country
Identifiers	Title
Category	Description
	Details
2010 17 PMID:20876340 ZFN	tobacco, petunia Danziger Innovations Ltd., Beit Dagan, Israel Nontransgenic genome modification in plant cells. Marton I, Zuker A, Shklarman E, Zeevi V, Tovkach A, Roffe S, Ovadis M, Tzfira T, Vainstein A. Plant Physiol. 2010 Nov;154(3):1079-87. doi: 10.1104/pp.110.164806. Epub 2010 Sep 27.
2010 18 PMID:20508152 ZFN	Arabidopsis University of Minnesota, MN, USA. High frequency targeted mutagenesis in Arabidopsis thaliana using zinc finger nucleases. Zhang F, Maeder ML, Unger-Wallace E, Hoshaw JP, Reyon D, Christian M, Li X, Pierick CJ, Dobbs D, Peterson T, Joung JK, Voytas DF. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Jun 29;107(26):12028-33. doi: 10.1073/pnas.0914991107. Epub 2010 May 27.
2010 19 PMID:20508151 ZFN	Arabidopsis NIAS, Tsukuba, Japan Site-directed mutagenesis in Arabidopsis using custom-designed zinc finger nucleases. Osakabe K, Osakabe Y, Toki S. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Jun 29;107(26):12034-9. doi: 10.1073/pnas.1000234107. Epub 2010 May 27. Erratum in: Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Jan 4;108(1):433.
2010 20 PMID:20454835 ZFN	tobacco Dow AgroSciences LLC, IN, USA Zinc finger nuclease-mediated transgene deletion. Petolino JF, Worden A, Curlee K, Connell J, Strange Moynahan TL, Larsen C, Russell S. Plant Mol Biol. 2010 Aug;73(6):617-28. doi: 10.1007/s11103-010-9641-4. Epub 2010 May 8.
2009 21 PMID:19754840 ZFN	Arabidopsis Leiden University, Leiden, The Netherlands ZFN-induced mutagenesis and gene-targeting in Arabidopsis through Agrobacterium-mediated floral dip transformation. de Pater S, Neuteboom LW, Pinas JE, Hooykaas PJ, van der Zaal BJ. Plant Biotechnol J. 2009 Oct;7(8):821-35. doi: 10.1111/j.1467-7652.2009.00446.x.
2009 22 PMID:19404259 ZFN	corn Dow AgroSciences LLC, IN, USA Precise genome modification in the crop species Zea mays using zinc-finger nucleases. Shukla VK, Doyon Y, Miller JC, DeKolver RC, Moehle EA, Worden SE, Mitchell JC, Arnold NL, Gopalan S, Meng X, Choi VM, Rock JM, Wu YY, Katibah GE, Zhifang G, McCaskill D, Simpson MA, Blakeslee B, Greenwalt SA, Butler HJ, Hinkley SJ, Zhang L, et al. Nature. 2009 May 21;459(7245):437-41. doi: 10.1038/nature07992. Epub 2009 Apr 29.
2009 23 PMID:19404258 ZFN	tobacco University of Minnesota, MN, USA. High-frequency modification of plant genes using engineered zinc-finger nucleases. Townsend JA, Wright DA, Winfrey RJ, Fu F, Maeder ML, Joung JK, Voytas DF. Nature. 2009 May 21;459(7245):442-5. doi: 10.1038/nature07845. Epub 2009 Apr 29.
2009 24 PMID:19112554 ZFN	tobacco Dow AgroSciences LLC, IN, USA Targeted transgene integration in plant cells using designed zinc finger nucleases. Cai CQ, Doyon Y, Ainley WM, Miller JC, DeKolver RC, Moehle EA, Rock JM, Lee YL, Garrison R, Schulenberg L, Blue R, Worden A, Baker L, Faraji F, Zhang L, Holmes MC, Rebar EJ, Collingwood TN, Rubin-Wilson B, Gregory PD, Urnov FD, Petolino JF. Plant Mol Biol. 2009 Apr;69(6):699-709. doi: 10.1007/s11103-008-9449-7. Epub 2008 Dec 27.

表1. NBT応用植物に関する文献調査結果(ZFN) (その4)

Year	Applied plant species
ID	Affiliation, country
Identifiers	Title
Category	Description
	Details
2008 25 PMID:18657511 ZFN	tobacco Massachusetts General Hospital, Massachusetts, USA Rapid open-source" engineering of customized zinc-finger nucleases for highly efficient gene modification." Maeder ML, Thibodeau-Beganny S, Osiak A, Wright DA, Anthony RM, Eichinger M, Jiang T, Foley JE, Winfrey RJ, Townsend JA, Unger-Wallace E, Sander JD, M <sub>u</sub> ller-Lerch F, Fu F, Pearlberg J, Gabel C, Dassie JP, Pruett-Miller SM, Porteus MH, Sgroi DC, Iafrate AJ, Dobbs D, et al. Mol Cell. 2008 Jul 25;31(2):294-301. doi: 10.1016/j.molcel.2008.06.016.
2005 26 PMID:16262717 ZFN	tobacco University of Minnesota, MN, USA. High-frequency homologous recombination in plants mediated by zinc-finger nucleases. Wright DA, Townsend JA, Winfrey RJ Jr, Irwin PA, Rajagopal J, Lonosky PM, Hall BD, Jondle MD, Voytas DF. Plant J. 2005 Nov;44(4):693-705.
2005 27 PMID:15677315 ZFN	Arabidopsis University of Utah, UT, USA Targeted mutagenesis using zinc-finger nucleases in Arabidopsis. Lloyd A, Plaisier CL, Carroll D, Drews GN. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Feb 8;102(6):2232-7. Epub 2005 Jan 26.

表2. NBT応用植物に関する文献調査結果(TALEN) (その1)

query: TALEN(s), TAL effector, plant

Year	Applied plant species
ID	Affiliation, country
Identifiers	Title
Category	Description
	Details
2015 1	corn Iowa State University, Ames, USA
PMID:25644697	Heritable site-specific mutagenesis using TALENs in maize.
TALEN	Char SN, Unger-Wallace E, Frame B, Briggs SA, Main M, Spalding MH, Vollbrecht E, Wang K, Yang B. Plant Biotechnol J. 2015 Feb 3. doi: 10.1111/pbi.12344. [Epub ahead of print]
2015 2	rice Chinese Academy of Sciences (CAS), Beijing, China
PMID:25599829	Creation of fragrant rice by targeted knockout of the OsBADH2 gene using TALEN
TALEN	Shan Q, Zhang Y, Chen K, Zhang K, Gao C. Plant Biotechnol J. 2015 Jan 20. doi: 10.1111/pbi.12312. [Epub ahead of print]
2015 3	Nicotiana benthamiana Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel
PMID:25403732	Comparative assessments of CRISPR-Cas nucleases' cleavage efficiency in planta.
TALEN/CRISPR	Johnson RA, Gurevich V, Filler S, Samach A, Lewy AA. Plant Mol Biol. 2015 Jan;87(1-2):143-56. doi: 10.1007/s11103-014-0266-x. Epub 2014 Nov
2014 4	bread wheat Chinese Academy of Sciences (CAS), Beijing, China
PMID:25038773	Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew.
TALEN/CRISPR	Wang Y, Cheng X, Shan Q, Zhang Y, Liu J, Gao C, Qiu JL. Nat Biotechnol. 2014 Sep;32(9):947-51. doi: 10.1038/nbt.2969. Epub 2014 Jul 20.
2014 5	soybean Cellestis plant sciences Inc., MN, USA
PMID:24851712	Improved soybean oil quality by targeted mutagenesis of the fatty acid desaturase 2 gene
TALEN	Haun W, Coffman A, Clasen BM, Demorest ZL, Lowy A, Ray E, Retterath A, Stoddard T, Juillerat A, Cedrone F, Mathis L, Voytas DF, Zhang F. Plant Biotechnol J. 2014 Sep;12(7):934-40. doi: 10.1111/pbi.12201. Epub 2014 May 23.
2014 6	barley Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany
PMID:24643227	True-breeding targeted gene knock-out in barley using designer TALE-nuclease in haploid
TALEN	Gurushidze M, Hensel G, Hiekel S, Schedel S, Valkov V, Kumléhn J. PLoS One. 2014;9(3):e92046. doi: 10.1371/journal.pone.0092046.
2014 7	corn Chinese Academy of Sciences (CAS), Beijing, China
PMID:24576457	Targeted mutagenesis in Zea mays using TALENs and the CRISPR/Cas system.
TALEN/CRISPR	Liang Z, Zhang K, Chen K, Gao C. J Genet Genomics. 2014 Feb 20;41(2):63-8. doi: 10.1016/j.jgg.2013.12.001. Epub 2013 Dec
2014 8	rice Chinese Academy of Sciences (CAS), Beijing, China
PMID:24556552	An efficient TALEN mutagenesis system in rice.
TALEN	Chen K, Shan Q, Gao C. Methods. 2014 Aug 15;69(1):2-8. doi: 10.1016/j.ymeth.2014.02.013. Epub 2014 Feb 17.

2015: data of 2015/1/1~2/24

表2. NBT応用植物に関する文献調査結果(TALEN) (その2)

Year	Applied plant species
ID	Affiliation, country
Identifiers	Title
Category	Description
	Details
2014 9	Nicotiana benthamiana, rice Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Beijing, China
PMID:24521457	The last half-repeat of transcription activator-like effector (TALE) is dispensable and thereby TALE-based technology can be simplified.
TALEN	Zheng CK, Wang CL, Zhang XP, Wang FJ, Qin TF, Zhao KJ. Mol Plant Pathol. 2014 Sep;15(7):690-7. doi: 10.1111/mpp.12125. Epub 2014 Apr 10.
2013 10	Arabidopsis University of Minnesota, MN, USA
PMID:23979944	Targeted mutagenesis of Arabidopsis thaliana using engineered TAL effector nucleases.
TALEN	Christian M, Qi Y, Zhang Y, Voytas DF. G3 (Bethesda). 2013 Oct 3;3(10):1697-705. doi: 10.1534/g3.113.007104.
2013 11	Brassica oleracea Southwest University, Chongqing, China
PMID:23870552	Site-specific gene targeting using transcription activator-like effector (TALE)-based nuclease in Brassica oleracea.
TALEN	Sun Z, Li N, Huang G, Xu J, Pan Y, Wang Z, Tang Q, Song M, Wang X. J Integr Plant Biol. 2013 Nov;55(11):1092-103. doi: 10.1111/jipb.12091. Epub 2013 Sep 18.
2013 12	barley Aarhus University, Slagelse, Denmark
PMID:23689819	TAL effector nucleases induce mutations at a pre-selected location in the genome of primary barley transformants.
TALEN	Wendt T, Holm PB, Starker CG, Christian M, Voytas DF, Brinch-Pedersen H, Holme IB. Plant Mol Biol. 2013 Oct;83(3):279-85. doi: 10.1007/s11103-013-0078-4. Epub 2013 May
2013 13	Nicotiana benthamiana, Arabidopsis Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel
PMID:23625357	A rapid assay to quantify the cleavage efficiency of custom-designed nucleases in planta.
TALEN/ZFN	Johnson RA, Gurevich V, Levy AA. Plant Mol Biol. 2013 Jun;82(3):207-21. doi: 10.1007/s11103-013-0052-1. Epub 2013 Apr 28.
2013 14	rice Iowa State University, Ames, USA
PMID:23430045	Designer TAL effectors induce disease susceptibility and resistance to Xanthomonas oryzae pv. oryzae in rice.
TALEN	Li T, Huang S, Zhou J, Yang B. Mol Plant. 2013 May;6(3):781-9. doi: 10.1093/mp/sst034. Epub 2013 Feb 21.
2013 15	rice, Brachypodium Chinese Academy of Sciences (CAS), Beijing, China
PMID:23288864	Rapid and efficient gene modification in rice and Brachypodium using TALENs.
TALEN	Shan Q, Wang Y, Chen K, Liang Z, Li J, Zhang Y, Zhang K, Liu J, Voytas DF, Zheng X, Zhang Y, Gao C. Mol Plant. 2013 Jul;6(4):1365-8. doi: 10.1093/mp/sss162. Epub 2013 Jan 2. No abstract available.
2013 16	tobacco University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu, China
PMID:23124327	Transcription activator-like effector nucleases enable efficient plant genome engineering.
TALEN	Zhang Y, Zhang F, Li X, Baller JA, Qi Y, Starker CG, Bogdanove AJ, Voytas DF. Plant Physiol. 2013 Jan;161(1):20-7. doi: 10.1104/pp.112.205179. Epub 2012 Nov 2.