

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

－統合型遺伝子組換え食品データベース作成に関する研究－

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」、環境（土壌、水源、大気など）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」、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 植物のうち、食用作物が使用されたものを「工業用 GM 植物（食用作物）」と定め、その開発及び生産に関する情報を収集した。また、新規植物育種法（NBT：New Plant Breeding Techniques）の開発状況を調査した。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、21 件（区分重複含め 24 件）の情報が得られ、その内訳は、機能性食品：2 件（NBT と重複 1 件）、経口ワクチン：1 件、食用医薬：0 件、ワクチン抗原：1 件（NBT と重複）、抗体医薬：0 件、治療薬：1 件（NBT と重複）、診断薬・試薬：0 件、環境浄化：3 件、工業用：1 件、NBT：15 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 2015 年に公表・出版された論文等を調査した結果、102 件（区分重複含め 106 件）が得られ、その内訳は、機能性食品：17 件（NBT と重複 1 件、環境浄化と重複 1 件）、経口ワクチン：4 件、食用医薬：1 件、ワクチン抗原：3 件（NBT と重複 1 件）、抗体医薬：9 件、治療薬：23 件（NBT と重複 1 件）、診断薬・試薬：8 件、環境浄化：29 件、工業用：0 件、NBT：12 件であり、特に環境浄化及び治療薬の件数が多かった。また、2015 年の国別の件数は、中国：38 件が最も多かった。

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（食用作物）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、大気等の環境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 植物のうち、食用作物が使用されたものを工業用（食用作物）GM 植物の範囲とした。これら GM 植物及び NBT（図 1、2）に関する情報を文献データベース（Scifinder®、検索語「transgenic plant」）、関連学会講演要旨集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、薬用 GM 植物に関するものとして、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・試薬の 7 種を、その他、環境浄化、工業用（食用作物）及び NBT の 3 種を設定し、計 10 種を設定した（図 2）。

C. 研究結果

1) 2015 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

2015 年 8 月開催の第 33 回日本植物細胞分子生物学会（東京）大会・シンポジウムで公表された薬用、環境浄化用、工業用（食用作物）GM 植物及び NBT に関する報告を図 3 及び表 1-表 3 に示した。21 件（区分の重複を含め 24 件）の情報が得られ、その内

訳は、機能性食品：2 件（NBT と重複 1 件）、経口ワクチン：1 件、食用医薬：0 件、ワクチン抗原：1 件（NBT と重複）、抗体医薬：0 件、治療薬：1 件（NBT と重複）、診断薬・試薬：0 件、環境浄化：3 件、工業用：1 件、NBT：15 件であり、日本において NBT、特に NBT①ゲノム編集に関連した研究・開発が増えていることが判明した。（表 1、表 2）。

作物別集計では、イネ 5 件が最も多く、その中でも NBT への使用例が多かった（表 3）。

2) 2015 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 2015 年に公表・出版された薬用、環境浄化、工業用（食用作物）GM 植物及び NBT に関する論文等を図 3 及び表 4-表 15 に示した。102 件（区分重複含め 106 件）が得られ、その内訳は、機能性食品：17 件（NBT と重複 1 件、環境浄化と重複 1 件）、経口ワクチン：4 件、食用医薬：1 件、ワクチン抗原：3 件（NBT と重複 1 件）、抗体医薬：9 件、治療薬：23 件（NBT と重複 1 件）、診断薬・試薬：8 件、環境浄化：29 件、工業用：0 件、NBT：12 件であり、特に環境浄化及び治療薬の件数が多かった。（表 4-表 12）。

また、2015 年の国別の件数は、中国 38 件が最も多く、次いで韓国 21 件、米国 19 件が続いた（表 13）。

作物別集計では、食用作物はイネ 14 件が最も多かった（表 14）。

非食用作物では、タバコ 21 件が最も多く、

シロイヌナズナ 10 件が続いた (表 15)。

薬用植物 (ウラルカンゾウ、カワラニンジン、クソニンジン、ケショウヨモギ、タングジン、チクセツニンジン、テトラスティグマ属植物、トウゴマ、ヒガンバナ科植物) も治療薬開発のための GM 植物開発が行われている現状が判明した (表 15)。

D. 考察

今回の調査から、特に国内で NBT に関する研究・開発が増加している状況が明らかになった。また、2015 年度調査においては、中国、韓国での GM 植物開発が活発である現状が明らかとなった。

E. 結論

薬用、環境浄化用及び工業用 (食用作物) GM 植物及び NBT の研究・開発状況の調査の結果、国内では NBT に関する件数が多く、国内外では環境浄化、治療薬及び機能性食品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. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

なし

G. 知的所有権の出願・登録状況

該当なし

H. 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/2r9852000002tct.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⁾

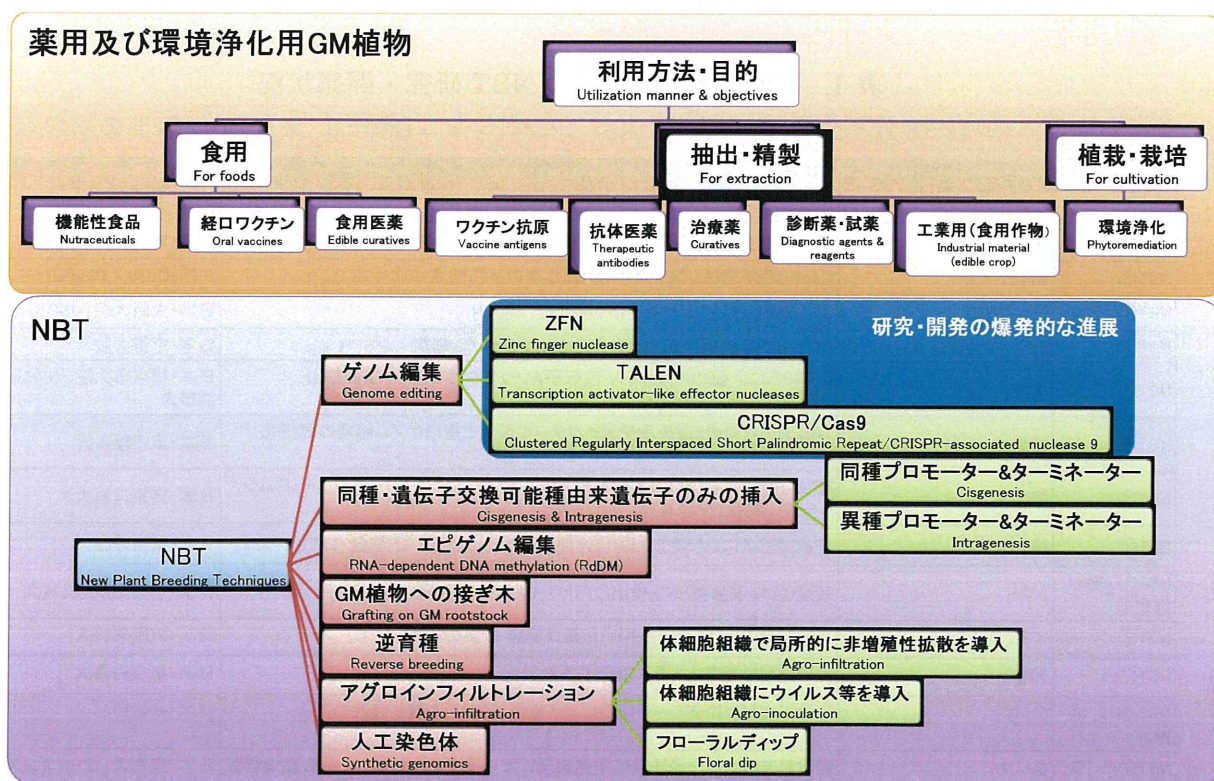


図 2. 薬用、環境浄化用、工業用 GM 植物及び NBT の開発状況・生産実態の調査カテゴリーの内訳

国内学会：第33回日本植物細胞分子生物学会（東京）大会・シンポジウム（2015.8、東京）

情報数21件（区分重複含め24件）

内訳 NBT15件（NBT①：10件、NBT⑦-1：4件、NBT⑦-2：1件）、機能性食品2件、経口ワクチン1件、食用医薬0件、
ワクチン抗原1件、抗体医薬0件、治療薬1件、診断薬・試薬0件、環境浄化3件、工業用（食用作物）1件

NBT15件が最も多く特にNBT①10件が多い

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の2015年の調査結果

情報数102件（区分重複含め106件）

内訳 NBT12件（NBT①：3件、NBT④：1件、NBT⑥：4件、NBT⑦-1：1件、NBT⑦-2：2件、NBT⑦-3：1件）、機能性食品17件、
経口ワクチン4件、食用医薬1件、ワクチン抗原3件、抗体医薬9件、治療薬23件、診断薬・試薬8件、環境浄化29件、
工業用（食用作物）0件

環境浄化29件が最も多く、治療薬23件、機能性食品17件が続く

NBTの区分

- ①Zinc 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）：TALEN, CRISPR/Cas9等も含む
- ②Oligonucleotide directed mutagenesis (ODM) ゲノム編集による新塩基配列の挿入：TALEN, CRISPR/Cas9等も含む
- ③Cisgenesis & Intragenesis 同種・遺伝子交換可能種由来遺伝子からのみの挿入
 - ③-1 Cisgenesis プロモーター・ターミネーター等も同じ
 - ③-2 Intragenesis プロモーター・ターミネーター等を変更
- ④RNA-dependent DNA methylation (RdDM) エピゲノム編集（DNAのメチル化状態のみの変化）
- ⑤Grafting on GM rootstock 組換え体を用いた接ぎ木
- ⑥Reverse 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：マーカー遺伝子除去も含む
- ⑦Agro-infiltration (agro-infiltration “sensu stricto”, agro-inoculation, floral dip)
 - ⑦-1 agro-infiltration “sensu stricto” 体細胞組織で局所的に非増殖性核酸を導入
 - ⑦-2 agro-inoculation 体細胞組織にウイルス等を導入
 - ⑦-3 floral dip 花芽組織にAgrobacteriumを接種し、次世代で組換え体を選抜
- ⑧Synthetic Genomics 人工染色体

4

図 3. 2015 年の調査結果の概要

表 1. 2015 年の国内での NBT 研究・開発状況

第33回日本植物細胞分子生物学会（東京）大会・シンポジウム（2015.8、東京）では以下の例が報告

区分	作物	演題・ゲノム編集技術の種類（NBT①のとき）	研究・開発機関
NBT①	ジャガイモ	NPBTを使って毒のないジャガイモをつくる：TALEN	日本・大阪大院、理研
NBT①	リンドウ、トレニア、タバコ	リンドウにおけるゲノム編集技術の利用に向けて：CRISPR/Cas9	日本・岩手生工研
NBT①	植物（作物）	Cas9-ガイドRNAシステムを用いた作物の品種改良：CRISPR/Cas9	米国・Dupont Pioneer
NBT①	ジャガイモ	ゲノム編集されたジャガイモの再分化：TALEN	日本・大阪大院、JSPS、理研
NBT①	セリバオウレン	CRISPR/Cas9 systemを用いたオウレンのゲノム編集：CRISPR/Cas9	日本・京都大院
NBT①	イネ	CRISPRiによるDNA ligase IV 遺伝子をノックダウンしたイネの作出： CRISPR/Cas9	日本・横浜市大院、生物研、横浜市大
NBT①	植物	TALENのための2遺伝子発現ベクターの開発と植物ゲノム編集の簡便化： TALEN	日本・東京理科大
NBT①	植物	植物で発現するTALEN遺伝子を構築するためのエンターベクター-pPlatシリーズの開発：TALEN	日本・東京理科大
NBT①	植物	植物細胞内におけるTALEN活性評価のためのプラスミド開発：TALEN	日本・東京理科大
NBT①、機能性食品	トマト	新規GABA高蓄積トマト作出に向けたGABA 代謝酵素工学：不明	日本・筑波大院、筑波大
NBT⑦-1	イネ、タバコ	新規翻訳エンハンサーを用いた高効率翻訳系の構築	日本・東京理科大
NBT⑦-1	植物	翻訳過程を考慮した導入遺伝子高発現系	日本・奈良先端大
NBT⑦-1、治療薬	タバコ	植物内在性プロテアーゼ阻害による組換えタンパク質生産性の向上	日本・産総研
NBT⑦-1、ワクチン抗原	タバコ	切離葉を用いた一過性遺伝子発現法によるワクチン生産のための環境調節	日本・東京大、オー エンズボロ 癌研究プログラム、ルイビル大
NBT⑦-2	リンドウ	リンドウにおける新規ウイルスベクターの開発	日本・岩手生工研、産総研

2015年の調査ではNBT15件のうち、①ゲノム編集が10件（TALEN：5、CRISPR/Cas9：4）で最も多い

表 2. 2015 年の国内での GM 植物（機能性食品、経口ワクチン、ワクチン抗原、治療薬、環境浄化、工業用）研究・開発状況

第33回日本植物細胞分子生物学会（東京）大会・シンポジウム（2015.8、東京）では以下の例が報告

区分	作物	演題	研究・開発機関
NBT①、機能性食品	トマト	新規GABA高蓄積トマト作出に向けたGABA代謝酵素工学	日本・筑波大院、筑波大
機能性食品	サツマイモ	サツマイモの改良型鉄還元酵素遺伝子 <i>refre1/372</i> の過剰発現による鉄含量の向上	日本・東京大
経口ワクチン	イネ	イネ種子I型プロテインボディ(PB-I)の特定部位へのワクチン抗原局在化に関する研究	日本・京都府立大、京都府農技セ
NBT⑦-1、ワクチン抗原	タバコ	切離葉を用いた一過性遺伝子発現法によるワクチン生産のための環境調節	日本・東京大、オーエンズボロ癌研究プログラム、ルイビル大
NBT⑦-1、治療薬	タバコ	植物内在性プロテアーゼ阻害による組換えタンパク質生産性の向上	日本・産総研
環境浄化	イネ	スフィンゴ脂質不飽和化酵素SLDを過剰発現するイネの解析	日本・埼玉大院
環境浄化	シロイヌナズナ、トマト	低温耐性強化によるアルミニウムストレス抵抗性の促進	日本・筑波大
環境浄化	シロイヌナズナ	モニタリング遺伝子を持つシロイヌナズナカルスによる低線量放射線影響の検出	日本・筑波大、国環研、生物研
工業用（食用作物）	イネ	O _s F5H1 発現制御によるイネリグニンの芳香核組成改変	日本・京都大、京都大院、アースノート、徳島大院

黄色背景：NBTと重複

2015年の薬用・環境浄化用・工業用（食用作物）に関する研究例は2013年より大幅に減少し、2014年より微増（2013年：17件、2014年：7件、2015年：9件重複含む）

NBTのうち、NBT①ゲノム編集の増加が顕著（2013年：2件、2014年：2件、2015年：10件）

表 3. 2015 年の国内での GM 植物：作物別集計

第33回日本植物細胞分子生物学会（東京）大会・シンポジウム（2015.8、東京）での調査結果

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	0	1	0	0	0	0	0	1	1	5
サツマイモ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ジャガイモ	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
トマト	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	3
シロイヌナズナ	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
セリバオウレン	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
タバコ	4	0	0	0	1	0	1	0	0	0	6
トレニア	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
リンドウ	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
植物	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
小計	18	2	1	0	1	0	1	0	4	1	28

植物：重複4件（リンドウ・トレニア・タバコ、イネ・タバコ、シロイヌナズナ・トマト）

区分：重複3件（NBT-機能性食品、NBT-治療薬、NBT-ワクチン抗原）

食用作物ではイネ5件が最も多く、その中でもNBTへの使用例が多い

表 4. 2015 年の GM 植物 (NBT) 研究・開発状況

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の調査結果

区分	作物	研究・開発機関	文献等
NBT①	植物	米国: Collectis Plant Sciences	Luo, Song; Li, Jin; Stoddard, Thomas J.; Baltes, Nicholas J.; Demorest, Zachary L.; Clasen, Benjamin M.; Coffman, Andrew; Retterath, Adam; Mathis, Luc; Voytas, Daniel F.; Zhang, Feng: Non-transgenic Plant Genome Editing Using Purified Sequence-Specific Nucleases, <i>Molecular Plant</i> (2015), 8(9), 1425-1427.
NBT①	植物	米国: Collectis Plant Sciences	Luo Song; Li Jin; Stoddard Thomas J; Baltes Nicholas J; Demorest Zachary L; Clasen Benjamin M; Coffman Andrew; Retterath Adam; Mathis Luc; Voytas Daniel F; Zhang Feng: Non-transgenic Plant Genome Editing Using Purified Sequence-Specific Nucleases, <i>Molecular plant</i> (2015), 8(9), 1425-7.
NBT④	シロイヌナズナ	韓国: Gyeongsang National University	Kim, Jae Yeon; Mohammed, Najimuddin: Gene silencing after virus-induced transcription using TSL mutation, <i>Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo</i> (2015), KR 2015128083 A 20151118.
NBT⑥	イネ	中国: State Key Laboratory Breeding Base for Zhejiang Sustainable Pest and Disease Control and Institute of Virology and Biotechnology Zhejiang Academy of Agricultural Sciences	Gao, Xiaoping; Zhou, Jie; Li, Jun; Zou, Xiaowei; Zhao, Jianhua; Li, Qingliang; Xia, Ran; Yang, Ruifang; Wang, Dekai; Zuo, Zhaoxue; Tu, Jumin; Tao, Yuezhi; Chen, Xiaoyun; Xie, Qi; Zhu, Zengrong; Gu, Shaohong: Efficient generation of marker-free transgenic rice plants using an improved transposon-mediated transgene reintegration strategy, <i>Plant Physiology</i> (2015), 167(1), 11-24.
NBT⑥	植物	米国: The Board of Governors of Higher Education, State of Rhode Island and Providence Plantations	Kausch, Albert P.; Deresienski, Adam; Nelson, Kimberly; Hague, Joel; Dellaporta, Stephen; Moreno, Maria; Heffelfinger, Christopher: The use of transgenic plant for recovery of non-transgenic hybrids, <i>PCT Int. Appl.</i> (2015), WO 2015103386 A1 20150709.
NBT⑥	タバコ	日本: Faculty of Textile Science and Technology Shinshu University	Ebinuma, Hiroyasu; Nakahama, Katsuhiko; Nanto, Kazuya: Enrichments of gene replacement events by Agrobacterium-mediated recombinase-mediated cassette exchange, <i>Molecular Breeding</i> (2015), 35(2), 1-10.
NBT⑥	マンダリンオレンジ	中国: Southwest University	Xu, Lanzhen; Zou, Xiuping; Peng, Aihong; Chen, Shanchun; He, Yongrui; Lei, Tianguang; Yao, Lixiao; Jiang, Guojin: Plant expression vector capable of deleting screening marker gene, and application, <i>Faming Zhuanli Shenqing</i> (2015), CN 104762314 A 20150708.
NBT⑦-2	シロイヌナズナ	台湾: National Taiwan University, Agricultural Biotechnology Research Center, Academia Sinica	Hu Sin-Fen; Chen Wei-Yao; Huang Yu-Hsin; Lin Chan-Pin; Yang Chiao-Yin; Liu Li-Fu Daisy; Hong Syuan-Fei; Lo Hsiao-Feng; Tseng Ting-Yu; Lin Shih-Shun: Development of a Mild Viral Expression System for Gain-Of-Function Study of Phytoplasma Effector In PlantaPloS one (2015), 10(6), e0130139.
NBT⑦-3	キュウリ	中国: Jilin Vegetable and Bloom Research Institute	Tan, Ke; Zhao, Fu-shun; Wu, Hui-jie; Song, Shu-yao: Transformation of cold-induced transcription activator CBF1 into cucumber (<i>Cucumis sativus</i> L.), <i>Biefang Yuanyi</i> (2015), (9), 79-82.
NBT①, 機能性食品	ナタネ	米国: Sangamo BioSciences, Inc., Dow AgroSciences LLC	Gogan, Noel; Forster, John; Hayden, Matthew; Sawbridge, Tim; Spangenberg, German; Webb, Steven R.; Gupta, Manju; Ainley, William Michael; Henry, Matthew J.; Miller, Jeffrey C.; Guschin, Dmitry Y.: Targeted nuclease-mediated modulation of FAD3 allele gene expression and targeted integration of transforming DNA, <i>U.S. Pat. Appl. Publ.</i> (2015), US 20150067921 A1 20150305.
NBT⑦-2, ワクチン抗原	タバコ	台湾: National Chung Hsing University, Academia Sinica	Muthamilselvan Thangarasu; Lee Chin-Wei; Cho Yu-Hsin; Wu Feng-Chao; Hu Chung-Chi; Lin Na-Sheng; Hsu Yau-Heu; Liang Yu-Chuan; Lin Na-Sheng: A transgenic plant cell-suspension system for expression of epitopes on chimeric Bamboo mosaic virus particles, <i>Plant biotechnology journal</i> (2016), 14(1), 231-9.
NBT⑦-1, 治療薬	タバコ	米国	Pogue, Greg; Hiatt, Ernie; Kandzia, Romy; Werner, Stefan; Thieme, Frank; Mor, Tsafir: Manufacture of sialylated butyrylcholinesterase using a transgenic plant expression host, <i>PCT Int. Appl.</i> (2015), WO 2015050627 A1 20150409.

黄色背景: 他の区分と重複

検索語「transgenic plant」では抽出されるNBTはそれほど多くなく、2015年度は12件(2013年、2014年は9件で2015年は微増)そのうち、⑥Reverse Breedingが最も多い(2014年は①nuclease technologyが最多)

表 5. 2015 年の GM 植物 (機能性食品) 研究・開発状況

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の調査結果

区分	作物	研究・開発機関	文献等
NBT①, 機能性食品	ナタネ	米国: Sangamo BioSciences, Inc., Dow AgroSciences LLC	Gogan, Noel; Forster, John; Hayden, Matthew; Sawbridge, Tim; Spangenberg, German; Webb, Steven R.; Gupta, Manju; Ainley, William Michael; Henry, Matthew J.; Miller, Jeffrey C.; Guschin, Dmitry Y.: Targeted nuclease-mediated modulation of FAD3 allele gene expression and targeted integration of transforming DNA, <i>U.S. Pat. Appl. Publ.</i> (2015), US 20150067921 A1 20150305.
機能性食品	アルファルファ	韓国: Plant Systems Engineering Research Center Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB)	Wang, Zhi; Ke, Qingbo; Kim, Myoung Duck; Kim, Sun Ha; Ji, Chang Yoon; Jeong, Jae Cheol; Lee, Haeng-Soon; Park, Woo Sung; Ahn, Mi-Jeong; Li, Hongbing; Xu, Bingcheng; Deng, Xiping; Lee, Sang-Hoon; Lim, Yong Pyo; Kwak, Sang-Soo: Transgenic alfalfa plants expressing the sweetpotato Orange gene exhibit enhanced abiotic stress tolerance, <i>PLoS One</i> (2015), 10(5), e0126050/1-17.
機能性食品	イネ	韓国: Chungbuk National University, Industry-Academy Cooperation Foundation	Kang, Gwon Gyu; Jung, Yu Jit; Lee, Hye Jeong; Cho, Yong Gu: Transgenic rice having increased amino acid content using anthranilate synthase variant, <i>Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo</i> (2015), KR 2015048299 A 20150507.
機能性食品	植物	台湾: Academia Sinica	Schmidt, Wolfgang; Lan, Ping; Grillet, Louis: Transgenic plants with increased trace element contents and methods for producing the same, <i>U.S. Pat. Appl. Publ.</i> (2015), US 20150315250 A1 20151105.
機能性食品	植物	韓国: Rural Development Administration	Kim, Jong Beom; Kang, Han Cheol; Noh, Gyeong Hui; Kim, Hyeon Uk; Lee, Gyeong Ryeol; Kim, Jeong Bong; Kim, Gwang Su; Park, Jong Seok; Kim, Sun Hui; Lee, Eun Yeong; Kim, So Yeon: Recombinant vector for polyunsaturated fatty acid biosynthesis and transgenic plants produced using thereof, <i>Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo</i> (2015), KR 2015058593 A 20150529.
機能性食品	植物	中国: Beijing University of Agriculture	Guo, Huili; Ma, Lanqing; Zhang, Hong; Xue, Feiyan; Ma, Yadi; Yang, Yadong; Luo, Zaiqi; Liu, Wenbin; Feng, Jing; Liu, Huan; Jiang, Yingying: Recombinant expression of Nt4CL5aPcSTS fusion protein for resveratrol production, <i>Faming Zhuanli Shenqing</i> (2015), CN 104611354 A 20150513.
機能性食品	植物	ドイツ: BASF Plant Science Company GmbH & 中国: BASF (China) Company Limited	Senger, Toralf; Bauer, Joerg: Promoter and enhancer elements and their use in transgene expression in plants, <i>PCT Int. Appl.</i> (2015), WO 2015001505 A2 20150108.
機能性食品	シロイヌナズナ	米国: Brookhaven Science Associates LLC	Shanklin, John; Yu, Xiao-Hong; Prakash, Richa Rawat: Engineering cyclopropane fatty acid accumulation in plants transformed with modified fatty acid synthase and acyltransferase, <i>PCT Int. Appl.</i> (2015), WO 2015031335 A1 20150305.
機能性食品	タバコ, イネ	中国: College of Life Science Capital Normal University	Tan, Song; Han, Rui; Li, Peng; Yang, Guang; Li, Shuang; Zhang, Peng; Wang, Wei-Bing; Zhao, Wei-Zhong; Yin, Li-Ping: Over-expression of the MxIRT1 gene increases iron and zinc content in rice seeds, <i>Transgenic Research</i> (2015), 24(1), 109-122.
機能性食品	ナツメ	中国: College of Forestry Beijing Forestry University	Luo, Zaiqi; Guo, Huili; Yang, Yadong; Yang, Mingfen; Ma, Lanqing; Wang, Younian: Heterologous overexpression of resveratrol synthase (PcPKS5) gene enhances antifungal and mite aversion by resveratrol accumulation, <i>European Journal of Plant Pathology</i> (2015), 142(3), 547-556.

黄色背景: 他の区分と重複

表 6. 2015 年の GM 植物（機能性食品、経口ワクチン、食用医薬）研究・開発状況

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の調査結果

区分	作物	研究・開発機関	文献等
機能性食品	トウモロコシ、ラッカセイ、オリーブゴマ、ナタネ、ヒマワリ、ダイズ、トウモロコシ、ホホバ	韓国: Rural Development Administration	Kim, Hyeon Uk; Lee, Gyeong Ryeol; Kim, Eun Ha; Kim, Jong Beom; Noh, Gyeong Hui: Transgenic plant comprising RcLPAT376 gene and method for improving hydroxy fatty acids content in oil seed plant using the same, Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2015), KR 2015005749 A 20150115.
機能性食品	アマ	ポーランド: University of Wroclaw	Hasiewicz-Derkacz Karolina; Kulma Anna; Czuj Tadeusz; Zuk Magdalena; Szopa Jan; Kulma Anna; Zuk Magdalena; Szopa Jan; Czuj Tadeusz; Szopa Jan; Prescha Anna; Grajer Magdalena; Lukaszewicz Marcin: Natural phenolics greatly increase flax (Linum usitatissimum) oil stability, BMC biotechnology (2015), 15, 62.
機能性食品	植物: plant	韓国: Rural Development Administration	Noh, Gyeong Hui; Kang, Han Cheol; Kim, Jong Beom; Kim, Hyeon Uk; Lee, Gyeong Ryeol: Gene for increasing content of saturated fatty acids and their uses, Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2015), KR 2015126136 A 20151111.
機能性食品	トウモロコシ	中国: Chinese Academy of Agricultural Sciences	Yang Wenxia; Xu Xiaolu; Yang Peilong; Yao Bin; Zhang Yuhong; Zhou Xiaojin; Zhang Wei; Chen Rumei; Meng Qingchang; Yuan Jianhua: Production of a Highly Protease-Resistant Fungal α -Galactosidase in Transgenic Maize Seeds for Simplified Feed Processing, PloS one (2015), 10(6), e0129294.
機能性食品	イネ	韓国: Kyungpook National University	Lee, Hyun Suk; Yi, Gihwan; Kim, Kyung Min: Stability of PAC (Psy-2A-CrtI) gene and agronomic traits in the F2:3 of IR36/PAC transgenic plants, Journal of Integrative Agriculture (2015), 14(6), 1163-1170.
機能性食品	植物	中国: China Agricultural University	Wang, Tao; Gou, Lanming; Dong, Jiangli: Method for breeding transgenic plant with increased content of isoflavones and condensed tannin, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104911207 A 20150916.
環境浄化、機能性食品	植物	日本: Tokyo Institute of Technology	Ohta, Hiroyuki; Shimojima, Mie; Madoka, Yuka: Fused gene, vector, transgenic plant, method for manufacturing vegetable fat or oil, method for constructing transgenic plant, and kit for constructing transgenic plant, PCT Int. Appl. (2015), WO 2015029997 A1 20150305.
経口ワクチン	イネ	米国: Ventria Bioscience, Inc.	Huang, Ning; Zhang, Deshui; Macmanus, Chris; Johnson, Barbara J. B.: A monocot plant-expressed CTB / OspA fusion protein for vaccination against Lyme disease, PCT Int. Appl. (2015), WO 2015041710 A1 20150326.
経口ワクチン	イネ	韓国: National Academy of Agricultural Science, Kyung Hee University	Soh Ho Seob; Lee Gee Young; Lee Hyun Ju; Han Young Hee; Lim Jae Wook; Chung Ha Young; Ajappala Hemavathi; Sim Joon-Soo; Choi Inchan; Hahn Bum-Soo; Lee Hyun Ho; Jang Kyoungok; Park Jong-Hwa; Chung In Sik: Expression and functional validation of heat-labile enterotoxin B (LTB) and cholera toxin B (CTB) subunits in transgenic rice (<i>Oryza sativa</i>), SpringerPlus (2015), 4, 148.
経口ワクチン	植物	中国: Qingdao Agricultural University	Yang, Guofeng; Su, Kunlong; Song, Zhibin; Wang, Wei; Wang, Hui; Sun, Juan; Wu, Haijie; Tan, Zhiheng; Li, Yongzhen; Wang, Fang: Method for constructing transgenic plant vaccine high-performance expression vectors for peste-des-petitis-ruminants, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104498527 A 20150408.
経口ワクチン	タバコ	米国: The Pennsylvania State University	O'Neill, Kristin M.; Schilthuis, Anne M.; Leiter, Calvin A.; Nelhaus, Kurt M.; Judge, Nicole A.; Twiddy, Edda; O'Brien, Alison D.; Curtis, Wayne R.: Scale-up of transgenic tobacco cells that express intimin of enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> O157:H7 for use as a transitional platform for an oral cattle vaccine, In Vitro Cellular & Developmental Biology: Plant (2015), 51(3), 315-323.
食用医薬	植物	米国: University of Pennsylvania, University of Florida Research Foundation, Inc.	Daniell, Henry; Li, Qihong; Raizada, Mohan K.: Oral delivery of angiotensin converting enzyme 2 or angiotensin-(1-7) encapsulated in transgenic plant cells, PCT Int. Appl. (2015), WO 2015058214 A1 20150423.

黄色背景: 他の区分と重複

表 7. 2015 年の GM 植物（ワクチン抗原、抗体医薬）研究・開発状況

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の調査結果

区分	作物	研究・開発機関	文献等
NBT-2, ワクチン抗原	タバコ	台湾: National Chung Hsing University, Academia Sinica	Muthamilselvan Thangarasu; Lee Chin-Wei; Cho Yu-Hsin; Wu Feng-Chao; Hu Chung-Chi; Lin Na-Sheng; Hsu Yau-Heiu; Liang Yu-Chuan; Lin Na-Sheng: A transgenic plant cell-suspension system for expression of epitopes on chimeric Bamboo mosaic virus particles, Plant biotechnology journal (2016), 14(1), 231-9.
ワクチン抗原	キク科植物	ノルウェー: Norwegian Institute for Agricultural & Environmental Research	Clarke, Jihong Liu; Gottschamel, Johanna Anneliese Maria: Transgenic plants expressing a tetravalent chimeric dengue virus antigen to produce effective vaccines derived therefrom, PCT Int. Appl. (2015), WO 2015199551 A1 20151230.
ワクチン抗原	植物	韓国: Chung-Ang University Industry-Academic Cooperation Foundation	Ko, Kisung; Kim, Deuk-Su; Ko, Kinarim: Method for manufacturing transgenic plant producing immunogenic complex proteins and immunogenic complex proteins obtained therefrom, PCT Int. Appl. (2015), WO 2015190885 A1 20151217.
抗体医薬	タバコ	米国: Virginia Tech, Arizona State University	Fulton Andrew; Lai Huafang; Chen Qiang; Zhang Chenming: Purification of monoclonal antibody against Ebola GP1 protein expressed in <i>Nicotiana benthamiana</i> , Journal of chromatography, A (2015), 1389, 128-32.
抗体医薬	ヒメウキクサ	インド: VIT University	Balaji, Parthasarathy; Satheshkumar P K; Venkataraman Krishnan; Vijayalakshmi M A: Expression of anti-tumor necrosis factor alpha (TNF α) single-chain variable fragment (scFv) in <i>Spirodela punctata</i> plants transformed with <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , Biotechnology and applied biochemistry (2015).
抗体医薬	植物	米国: Arizona State University	Chen, Qiang; Lai, Huafang; Hurtado, Jonathan: Plant-derived monoclonal antibodies and derivatives that reduce risk of antibody-dependent enhancement of viral infections, PCT Int. Appl. (2015), WO 2015113055 A2 20150730.
抗体医薬	タバコ	英国: St. George's University of London, University of Surrey, John Innes Centre, TRM Ltd & ドイツ: Fraunhofer IME, RWTH Aachen University & オーストラリア: Universität für Bodenkultur (BOKU), Polymun Scientific Immunobiologische Forschung GmbH & スペイン: University of Lleida-Agrotecnio Center, Institutio Catalana de Recerca i Estudis Avancats	Ma Julian K-C; Lewis David; Cole Tom; van Dolleweerd Craig J; Isitt Valerie; Paul Mathew J; Drossard Jurgen; Lobedan Martin; Mertens Hubert; Rademacher Thomas; Sack Markus; Stoger Eva; Fischer Rainer; Drossard Jurgen; Lobedan Martin; Mertens Hubert; Rademacher Thomas; Sack Markus; Stoger Eva; Fischer Rainer; Altmann Friedrich; Vcelar Julia; Christou Paul; Christou Paul; Dale Philip; Hundley Penelope A C; Katinger Dietmar; Stiegler Gabriela; Vcelar Brigitta; Twyman Richard M: Regulatory approval and a first-in-human phase I clinical trial of a monoclonal antibody produced in transgenic tobacco plants, Plant biotechnology journal (2015), 13(8), 1106-20.
抗体医薬	ヒメウキクサ	インド: VIT University	Balaji, Parthasarathy; Satheshkumar, P. K.; Venkataraman, Krishnan; Vijayalakshmi, M. A.: Expression of anti-tumor necrosis factor alpha (TNF α) single-chain variable fragment (scFv) in <i>Spirodela punctata</i> plants transformed with <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , Biotechnology and Applied Biochemistry (2015), Ahead of Print.
抗体医薬	植物	韓国: Chungang University, Industry-Academy Cooperation Foundation, Rural Development Administration	Ko, Gi Seong; Lee, Jeong Hwan; Hwang, Gyeong A.: Method of producing plants producing bispecific antibodies, Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2015), KR 2015055676 A 20150522.
抗体医薬	タバコ	英国: St. George's University of London, Oxford Brookes University, Brunel University & オランダ: Wageningen University and Research Centre & ドイツ: Fraunhofer Institute for Molecular Biology and Applied Ecology (IME)	Madeira Luisa M; Szeto Tim H; Drake Pascal M W; Ma Julian K-C; Henquet Maurice; Raven Nicole; Runions John; Huddleston Jon; Garrard Ian: High-yield production of a human monoclonal IgG by rhizosecretion in hydroponic tobacco cultures, Plant biotechnology journal (2016), 14(2), 615-24.
抗体医薬	タバコ	ドイツ: Institute for Molecular Biotechnology RWTH Aachen University	Sack, Markus; Rademacher, Thomas; Spiegel, Holger; Boes, Alexander; Hellwig, Stephan; Drossard, Juergen; Stoger, Eva; Fischer, Rainer: From gene to harvest: insights into upstream process development for the GMP production of a monoclonal antibody in transgenic tobacco plants, Plant Biotechnology Journal (2015), 13(8), 1094-1105.
抗体医薬	タバコ	英国: St. George's University of London	Ma, Julian K-C; Drossard, Juergen; Lewis, David; Altmann, Friedrich; Boyle, Julia; Christou, Paul; Cole, Tom; Dale, Philip; van Dolleweerd, Craig J; Isitt, Valerie; Katinger, Dietmar; Lobedan, Martin; Mertens, Hubert; Paul, Mathew J; Rademacher, Thomas; Sack, Markus; Hundley, Penelope A. C.; Stiegler, Gabriela; Stoger, Eva; Twyman, Richard M.; Vcelar, Brigitta; Fischer, Rainer: Regulatory approval and a first-in-human phase I clinical trial of a monoclonal antibody produced in transgenic tobacco plants, Plant Biotechnology Journal (2015), 13(8), 1106-1120.

黄色背景: 他の区分と重複

表 8. 2015 年の GM 植物 (治療薬) 研究・開発状況

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の調査結果

区分	作物	研究・開発機関	文献等
NBT7-1、治療薬	タバコ	米国	Pogue, Greg; Hiatt, Ernie; Kandzia, Romy; Werner, Stefan; Thieme, Frank; Mor, Tsafir; Manufacture of sialylated butyrylcholinesterase using a transgenic plant expression host, PCT Int. Appl. (2015), WO 2015050627 A1 20150409.
治療薬	クソニンジン	中国: Shanghai Jiao Tong University, Zhejiang Chinese Medical University	Li Meiya; Jiang Fusheng; Yu Xiangli; Miao Zhiqi; Engineering isoprenoid biosynthesis in <i>Artemisia annua</i> L. for the production of taxadiene: a key intermediate of taxol, BioMed research international (2015), 2015, 504932.
治療薬	ケショウヨモギ	パキスタン: Quaid-i-Azam University	Kiani, Bushra Hafeez; Ullah, Nazif; Haq, Ihsan-ul; Mirza, Bushra: Transgenic <i>Artemisia dubia</i> WALL showed altered phytochemistry and pharmacology, Arabian Journal of Chemistry (2015), Ahead of Print.
治療薬	植物: plant	ドイツ: RWTH Aachen University	Buyel, J. F.; Fischer, R: A juice extractor can simplify the downstream processing of plant-derived biopharmaceutical proteins compared to blade-based homogenizers, Process Biochemistry (Oxford, United Kingdom) (2015), 50(5), 859-866.
治療薬	チクセツニンジン	中国	Chen, Ping; Zhang, Shaopeng; Chen, Yan; Yang, Tao; Zhu, Wenjun; Zeng, Wanyong; Huo, Mengrui; Wu, Chong; Wang, Rufeng; Deng, Chen: Panax japonicus β -amyrin synthase gene cloning and expression and its application, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104293758 A 20150121.
治療薬	トウゴマ、ラッカセイ、オリーブ、ゴマ、ナタネ、ヒマワリ、ダイズ、トウモロコシ、ホホバ	韓国: Rural Development Administration	Kim, Hyeon Uk; Lee, Gyeong Ryeol; Kim, Eun Ha; Kim, Jong Beom; Noh, Gyeong Hui: Transgenic plant comprising RcLPAT299 gene and method for producing ricinoleic acid in oilseed plant using the same, Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2015), KR 2015005750 A 20150115.
治療薬	カワラニンジン	中国: The Second Military Medical University, PLA	Zhang, Lei; Tan, Hexin; Xiao, Ling: Application of <i>Artemisia apiacea</i> AaGTD1 gene and encoded protein, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104651373 A 20150527.
治療薬	植物	フランス: Universite Pierre et Marie Curie (Paris 6), Institut de Recherche pour le Developpement	Ladram, Ali; Oury, Bruno; Sereno, Denis; Foulon, Thierry: Analogues of temporin-SHA as antimicrobial agents, Eur. Pat. Appl. (2015), EP 2853538 A1 20150401.
治療薬	植物	韓国: Chung-Ang University Seoul	Park Se-Ra; Lim Chae-Yeon; Kim Deuk-Su; Ko Kisung: Optimization of Ammonium Sulfate Concentration for Purification of Colorectal Cancer Vaccine Candidate Recombinant Protein GA733-FcK Isolated from Plants, Frontiers in plant science (2015), 6, 1040.
治療薬	植物	米国: University of Pennsylvania	Gupta Kshitij; Subramanian Hariharan; Ali Hydar; Kotian Akhil; Daniell Henry: Activation of human mast cells by retrocyclin and protegrin highlight their immunomodulatory and antimicrobial properties, Oncotarget (2015), 6(30), 28573-87.
治療薬	タバコ	米国: Biomufacturing Research Institute & Technology Enterprise, North Carolina Central University	Kittur, Farooqahmed S.; Arthur, Elena; Nguyen, Maikhanh; Hung, Chiu-Yueh; Sane, David C.; Xie, Jiahua: Two-step purification procedure for recombinant human asialoerythropoietin expressed in transgenic plants, International Journal of Biological Macromolecules (2015), 72, 1111-1116.
治療薬	タバコ	韓国: Suncheon National University, Industry-Academy Cooperation Foundation	Park, Gi Yeong; Choi, Yu Jin; Park, Su Hyeon; Kim, Ji Su; Wi, Su Jin: Transgenic plant expressing recombinant proinsulin protein and its manufacturing method, Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2015), KR 2015034094 A 20150402.

黄色背景: 他の区分と重複

表 9. 2015 年の GM 植物 (治療薬続き) 研究・開発状況

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の調査結果

区分	作物	研究・開発機関	文献等
治療薬	タバコ	日本: Osaka University, Nara Institute of Science and Technology (NAIST)	Limkul Juthamard; Misaki Ryo; Kato Ko; Fujiyama Kazuhito: The combination of plant translational enhancers and terminator increase the expression of human glucocerebrosidase in <i>Nicotiana benthamiana</i> plants, Plant science : an international journal of experimental plant biology (2015), 240, 41-9.
治療薬	タバコ	インド: Government of India Bhubaneswa, Manipal University & 米国: University of Kentucky, Iowa State University, Northwestern University	Sarkar Shayan; Rai Vineeta; Dey Nrisingha; Jain Sumeet; Sahoo Dipak K; Raha Sumita; Suklabaidya Sujit; Senapati Shantibhusan; Rangnekar Vivek M; Maiti Indu B: Plant-derived SAC domain of PAR-4 (Prostate Apoptosis Response 4) exhibits growth inhibitory effects in prostate cancer cells From Frontiers in plant science (2015), 6, 822.
治療薬	タンジン	中国: Shanghai Normal University	Kai, Guoyin; Wang, Xiaorong: Method for improving the contents of tanshinone and salvianolic acid in <i>Salvia miltiorrhiza</i> hairy root by AtMYC2 transgene, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104726485 A 20150624.
治療薬	アトラスティグマ属植物 (三叶青; ブドウ科)	中国: College of Life and Environment Sciences Hangzhou Normal University	Du, Surui; Xiang, Taihe; Song, Yaling; Huang, Lianxiang; Sun, Yang; Han, Yixuan: Transgenic hairy roots of <i>Tetrastigma hemsleyanum</i> : induction, propagation, genetic characteristics and medicinal components, Plant Cell, Tissue and Organ Culture (2015), 122(2), 373-382.
治療薬	イネ	中国: Fujian Agriculture and Forestry University	Huang, Zhiwei; Lin, Juncheng; Cheng, Zuxin; Xu, Ming; Huang, Xinying; Yang, Zhijian; Zheng, Jingui: Production of dammarane-type saponin in rice by expressing the dammaranediol-II synthase gene from <i>Panax ginseng</i> C.A. Mey, Plant Science (Shannon, Ireland) (2015), 239, 106-114.
治療薬	ウラルカンゾウ	中国: Beijing University of Chinese Medicine	Gao, Ya; Liu, Ying; Wen, Hao; Wang, Li-qiang; Yuan, Bo-chuan; Liu, Chun-sheng: Induction of glycyrrhiza uralensis regenerated plantlets over-expressing HMGR, SQS1 and β -AS genes, Shengwu Jishu Tongxun (2015), 26(3), 393-398.
治療薬	植物	韓国: Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology	Kim, Cha Yeong; Jung, Yu Jeong; Ahn, Cheol Han; Woo, Su Gyeong; Jung, Hyeong Jae; Jeon, Hyo Gon: Method for manufacturing transgenic plant with increased stilbene production and plant thereof, Repub. Korea (2015), KR 1566692 B1 20151109.
治療薬	植物	デンマーク: University of Copenhagen & Tekniske Universitet	Hamberger, Bjoern; Moeller, Birger Lindberg; Pateraki, Eirini; Andersen-Ranberg, Johan; Jensen, Niels Bjoerg: Genes and enzymes for the biosynthesis of forskolin and related compounds in transgenic plants, PCT Int. Appl. (2015), WO 2015113569 A1 20150806.
治療薬	植物	韓国: Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology	Kim, Cha Young; Jeong, Yu Jeong; An, Chul Han; Woo, Su Gyeong; Jeong, Hyung Jae; Chun, Hyo Kon: Method for preparing transgenic plant having increased stilbene production and plant prepared thereby, PCT Int. Appl. (2015), WO 2015199435 A1 20151230.
治療薬	タバコ	日本: Osaka University	Limkul, Juthamard; Misaki, Ryo; Kato, Ko; Fujiyama, Kazuhito: The combination of plant translational enhancers and terminator increase the expression of human glucocerebrosidase in <i>Nicotiana benthamiana</i> plants, Plant Science (Shannon, Ireland) (2015), 240, 41-49.
治療薬	ヒガンバナ科植物	米国: Donald Danforth Plant Science Center	Kutchan, Toni M.: Constructs and methods for biosynthesis of galanthamine, Kilgore, Matthew: PCT Int. Appl. (2015), WO 2015196100 A1 20151223.

表 10. 2015 年の GM 植物（診断薬・試薬）研究・開発状況

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の調査結果

区分	作物	研究・開発機関	文献等
診断薬・試薬	イネ、シロイヌナズナ、ハクサイ キャベツ、カラシ、ナタネ、ハツ カダイコン、アブラナ科植物	韓国: Rural Development Administration	Kim, Beom Gi; Byun, Myeong Ok; Yoon, In Seon; Kim, Dul I.; Lee, Jeong Suk; Min, Myeong Gi: OsPP2C10 gene and use thereof, Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2015), KR 2015047802 A 20150506.
診断薬・試薬	イネ	中国: Rice Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences	Li, Hao; Yang, Jianbo; Wei, Pengcheng; Li, Li; Li, Juan; Yang, Yachun: Sequence of phosphomannose isomerase gene from Chlamydomonas reinhardtii and its application as selection marker in transgenic plants, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104531657 A 20150422.
診断薬・試薬	イネ	中国: Rice Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences	Li, Hao; Yang, Jianbo; Wei, Pengcheng; Li, Li; Li, Juan; Yang, Yachun; Ma, Hui; Qin, Ruiying: Sequence of rice phosphomannose isomerase gene PMI2 and its application as selection marker in transgenic plants, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104762309 A 20150708.
診断薬・試薬	植物	中国: Anhui Science and Technology University	Ma, Zhongyou; Xing, Suzhi; Wang, Jianfei; Zhao, Jianrong; Wang, Desheng; Luo, Yunfei: Phytase gene multisite mutation strain of <i>Torulasporea delbrueckii</i> and application, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104694406 A 20150610.
診断薬・試薬	シロイヌナズナ	米国: Kentucky Tobacco Research & Development Center, University of Kentucky	Gurjan, Samir Kumar; Rogers, Dennis Trent; Zhang, Jingxian; Yun, Kil-Young; Falcone, Deane L.; Littleton, John: Use of Alpha-Beta-Estrogen Receptor as a "New Tool" for Detection of Specific Small Molecule Activity, Plant Molecular Biology Reporter (2015), 33(6), 1837-1843.
診断薬・試薬	タバコ	ドイツ: Max Planck Institute for Chemical Ecology	Weinhold Arne; Wielsch Natalie; Svatos Ales; Baldwin Ian T: Label-free nanoUPLC-MSE based quantification of antimicrobial peptides from the leaf apoplast of <i>Nicotiana attenuata</i> From BMC plant biology (2015), 15, 18.
診断薬・試薬	トウモロコシ	中国: Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences	Yao, Bin; Yang, Peilong; Zhang, Yuhong; Yang, Wenxia; Meng, Kun; Yuan, Jianhua; Chen, Rumei; Meng, Qingchang; Zhang, Wei; Zhou, Xiaojin: Optimized <i>Gibberella</i> α -galactosidase gene aga-F75 suitable for expression in <i>Zea mays</i> , Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104805101 A 20150729.
診断薬・試薬	植物	韓国: Jeonju Biomaterials Institute, NBM Co., Ltd.	Shin, Yun Ji; Kwon, Tae Ho; Yang, Ji Ae; Lim, Seong Geun: Transgenic plant for mass producing TEV protease, Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo (2015), KR 2015032440 A 20150326.

表 11. 2015 年の GM 植物（環境浄化）研究・開発状況

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の調査結果

区分	作物	研究・開発機関	文献等
環境浄化、機 能性食品	植物	日本: Tokyo Institute of Technology	Ohta, Hiroyuki; Shimojima, Mie; Madoka, Yuka: Fused gene vector, transgenic plant, method for manufacturing vegetable fat or oil, method for constructing transgenic plant, and kit for constructing transgenic plant, PCT Int. Appl. (2015), WO 2015029997 A1 20150305.
環境浄化	植物	中国: Wuxi BIOGoodland Biotechnology Co., Ltd.	Zhou, Hui; Miao, Hui; Jiang, Haiyan; Zhang, Yang; Jiang, Xiaohui; Wu, Guangcai: Heavy metal-binding protein gene derived from <i>Methylobacterium extorquens</i> and its application in transgenic plant with heavy metal resistance function, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104342446 A 20150211.
環境浄化	植物	カナダ: University of Toronto	Chong Lisa P; Wang Yao; Gad Nanette; Anderson Nathaniel; Shah Bhavank; Zhao Rongmin: A highly charged region in the middle domain of plant endoplasmic reticulum (ER)-localized heat-shock protein 90 is required for resistance to tunicamycin or high calcium-induced ER stresses. <i>Journal of experimental botany</i> (2015), 66(1), 113-24.
環境浄化	植物	中国: Wuxi BIOGoodland Biotechnology Co., Ltd.	Zhou, Hui; Miao, Hui; Jiang, Haiyan; Zhang, Yang; Xue, Yong; Jiang, Xiaohui; Wu, Guangcai: Heavy metal binding protein gene from radioreistant bacterium and application, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104342447 A 20150211.
環境浄化	ペチュニア	日本: Suntory Foundation for Life Sciences, Bioorganic Research Institute	Murata Yoshiko; Itoh Yoshiyuki; Iwashita Takashi; Namba Kosuke: Transgenic petunia with the iron(III)-phytosiderophore transporter gene acquires tolerance to iron deficiency in alkaline environments, <i>PLoS one</i> (2015), 10(3), e0120227.
環境浄化	イネ	フィリピン: International Rice Research Institute & 日本: Japan International Research Center for Agricultural Sciences	Heuer, Sigrid; Gamuyao, Rico; Chin, Joong Hyoun; Wissuwa, Matthias: Rice genes affecting root growth, nutrient uptake, and tolerance of phosphorus deficiency and their use in crop improvement, U.S. Pat. Appl. Publ. (2015), US 20150082475 A1 20150319.
環境浄化	イネ	中国: Chinese Academy of Sciences	Ou, Yongxiang; Wang, Changhu: Plant resistant gene OsO3L2 or OsO3L3 from rice and application in breed improvement, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104805062 A 20150729.
環境浄化	イネ	中国: Rice Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences	Wei, Pengcheng; Yang, Jianbo; Li, Hao; Zhang, Yingping; Ma, Hui; Li, Li; Qin, Ruiying; Li, Juan: Application of cadmium-induced promoter CdS2, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104762302 A 20150708.
環境浄化	イネ	中国: Nanjing Agricultural University	Xu, Guohua; Chen, Guang: Method for improving plant potassium absorbing efficiency and resisting potassium deficiency stress, and recombinant expression vector used by the same, Faming Zhuanli Shenqing (2015), CN 104450777 A 20150325.
環境浄化	植物	日本: Biology Group, Discovery, Health & Crop, Sciences Research Laboratory Sumitomo Chemical Co., Ltd.	Saijo, Takanori; Nagasawa, Akitsu: A new detection tool for bioavailable copper utilizing transgenic plants carrying recombinant yeast ACE1 transcription factor and GFP reporter genes, <i>Soil Science and Plant Nutrition (Abingdon, United Kingdom)</i> (2015), 61(2), 281-286.

黄色背景: 他の区分と重複

表 12. 2015 年の GM 植物（環境浄化：続き）研究・開発状況

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の調査結果

区分	作物	研究・開発機関	文献等
環境浄化	植物	中国: China Agricultural University	Zuo, Yuanmei; Qiu, Wei; Ji, Chungqiao; Xiong, Hongchun; Guo, Xiaotong: Application of <i>Arachis hypogaea</i> FRDL1 gene in increasing aluminum toxicity resistance of plant, <i>Faming Zhuanli Shenqing</i> (2015), CN 104561026 A 20150429.
環境浄化	植物	中国: Beijing Research Center for Agricultural Standards and Testing (BRCAST)	Luan, Yunxia; Lu, Anxiang; Wang, Jihua; Li, Cheng; Fu, Hailong: A method for cultivating transgenic plants with low accumulation of heavy metal, <i>Faming Zhuanli Shenqing</i> (2015), CN 104450771 A 20150325.
環境浄化	植物	韓国: Dong-A University, Research Foundation for Industry-Academy Cooperation	Kim, Do Hun; Yang, Won Tae; Bae, Gi Deuk: <i>Oryza sativa</i> phosphate transporter (OgPT) and transgenic plants with increased phosphate absorption efficiency, <i>Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo</i> (2015), KR 2015042984 A 20150422.
環境浄化	植物	韓国: Dong-A University, Research Foundation for Industry-Academy Cooperation	Kim, Do Hun; Yang, Won Tae; Bae, Gi Deuk: OsMYB4P gene for improving phosphate uptake efficiency in plant and use thereof, <i>Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo</i> (2015), KR 2015024574 A 20150309.
環境浄化	植物	中国: China Agricultural University	Tian, Xiuhong; Wang, Kun; Xu, Yuanyuan; Zhao, Haiming; Lai, Jinsheng: Use of phosphorus uptake related protein <i>ZmPht1.5</i> for transgenic plant with enhanced phosphorus and biomass, <i>Faming Zhuanli Shenqing</i> (2015), CN 104974235 A 20151014.
環境浄化	植物	中国: Chinese Academy of Sciences	Chu, Chengcai; Hu, Bin; Wang, Wei; Zhang, Zhihua; Li, Hua; Liang, Chengzhen; Che, Ronghui: Application of rice nitrate transporter protein <i>NRT1.1B</i> in improving nitrogen utilization efficiency in plant, <i>Faming Zhuanli Shenqing</i> (2015), CN 104277101 A 20150114.
環境浄化	植物	中国: Chinese Academy of Agricultural Sciences	Ma, Youzhi; Chen, Ming; Xu, Zhaoshi; Li, Liancheng; Zhou, Yongbin; Li, Weiwei; Wang, Erhui: Plant low nitrogen tolerance associated <i>SILNT2</i> protein, its associated biomaterial and application in plant breeding, <i>Faming Zhuanli Shenqing</i> (2015), CN 105001314 A 20151028.
環境浄化	植物	米国	Krichevsky, Alexander: Transgenic plants expressing <i>Streptomyces thermoautotrophicus</i> nitrogenase genes capable of nitrogen fixation, <i>PCT Int. Appl.</i> (2015), WO 2015171494 A1 20151112.
環境浄化	植物(農作物)	中国: Dalian University of Technology	Su, Qiao; Zhang, Xiaoyan: cloning expression of potassium ion transport protein gene <i>trkH</i> from Marine bacteria and its application for construction stress resistant transgenic plant, <i>Faming Zhuanli Shenqing</i> (2015), CN 104862321 A 20150826.
環境浄化	シロイヌナズナ	中国: Shanghai Academy of Agricultural Sciences	Xu, Jing; Tian, Yongsheng; Yao, Quanhong; Peng, Rihe; Xing, Xiaojuan; Xue, Yong; Gao, Jianjie: Method for increasing phenol stress tolerance of plant with <i>Arabidopsis thaliana</i> <i>GST</i> gene, <i>Faming Zhuanli Shenqing</i> (2015), CN 104845989 A 20150819.

表 13. 2015 年の GM 植物研究・開発状況：国別集計

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の調査結果

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	1	1	0	0	0	0	2	0	5	0	9
韓国	1	6	1	0	1	1	5	2	4	0	21
台湾	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	4
中国	3	6	1	0	0	0	7	4	17	0	38
フィリピン	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
インド	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	3
パキスタン	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
カナダ	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
米国	5	2	2	1	0	2	5	1	1	0	19
英国	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3
ドイツ	0	1	0	0	0	3	1	1	0	0	6
フランス	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
オーストリア	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
オランダ	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
デンマーク	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
スペイン	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
ノルウェー	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
ポーランド	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ロシア	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
小計	12	18	4	1	3	14	24	8	30	0	114

区分：重複4件(機能性食品-環境浄化、NBT-ワクチン抗原、NBT-機能性食品、NBT-治療薬)

国名：重複8件(ドイツ-中国、英国-ドイツ-オーストリア-スペイン、英国-オランダ-ドイツ、インド-米国、フィリピン-日本)

102件(重複含め114件)のうち、中国38件が最も多く、韓国21件、米国19件が続く

区分別では、環境浄化29件が最も多く、治療薬23件、機能性食品17件が続く(左記数値は区分別集計数)

表 14. 2015 年の GM 植物研究・開発状況：作物別集計（食用作物）

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の調査結果

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
アマ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
アルファルファ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
イネ	1	3	2	0	0	0	1	3	4	0	14
オリーブ	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2
カラシ	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
キャベツ	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
キュウリ	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ゴマ	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2
ナタネ	0	2	0	0	0	0	1	1	1	0	5
ダイズ	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2
トウモロコシ	0	2	0	0	0	0	1	1	0	0	4
ナツメ	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ハクサイ	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
ハツカダイコン	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
ヒマワリ	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2
マンダリンオレンジ	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
ラッカセイ	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2
植物(農作物)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1

植物：重複26件（イネ-シロイヌナズナ-ハクサイ-キャベツ-カラシ-ナタネ-ハツカダイコン-アブラナ科植物、タバコ-イネ、トウゴマ-ラッカセイ-オリーブ-ゴマ-ナタネ-ヒマワリ-ダイズ-トウモロコシ-ホホバ、ナタネ-トウゴマ、シロイヌナズナ-タバコ、トウゴマ-ラッカセイ-オリーブ-ゴマ-ナタネ-ヒマワリ-ダイズ-トウモロコシ-ホホバ）
 区分：重複3件（NBT-ワクチン抗原、NBT-治療薬、機能性食品-環境浄化）

食用作物の中ではイネ14件が最も多く、ナタネ5件、トウモロコシ4件が続く

表 15. 2015 年の GM 植物研究・開発状況：作物別集計（非食用作物）

SciFinder®, 検索語「transgenic plant」でヒットした情報の調査結果

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
アブラナ科植物	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
ウラルカンゾウ	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
カワラニンジン	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
キク科植物	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
クソニンジン	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
ケショウヨモギ	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
シロイヌナズナ	2	1	0	0	0	0	0	2	5	0	10
タバコ	3	1	1	0	1	5	6	1	3	0	21
タンジン	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
チクセツニンジン	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
テトラステイグマ属植物	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
トウゴマ	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	3
ヒガンバナ科植物	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
ヒメウキクサ	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
ペチュニア	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
ホホバ	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2
植物	3	7	1	1	1	2	7	2	13	0	37
小計	13	24	4	1	3	9	29	17	28	3	131

重複：29件
 小計は食用作物+非食用作物

非食用作物では、タバコ21件が最も多く、シロイヌナズナ10件が続く

薬用植物（ウラルカンゾウ、カワラニンジン、クソニンジン、ケショウヨモギ、タンジン、チクセツニンジン、テトラステイグマ属植物、トウゴマ、ヒガンバナ科植物）もGM植物開発が行われている

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・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

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。本研究では NBT の中のゲノム編集技術潮流を把握するため、昨年度に引き続き TALEN や CRISPR/Cas9 等の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った。その結果、特に TALEN と CRISPR/Cas9 が広範な植物種で利用され、とくに、CRISPR/Cas9 の報告数は前年の約 2 倍となり、本技術の利用が加速している実態が明らかになった。世界的には、米国と中国が二大実施国となっているが、とくに中国における TALEN 及び CRISPR/Cas9 の植物全般への実施状況について引き続き注視する必要がある。また、TALEN 技術の確立と検知モデルの作成のため、イネの *SPK* 遺伝子および *FLO2* 遺伝子を標的とした TALEN 遺伝子の構築を行った。作製した TALEN の機能検定を SSA アッセイにより行い、これらが標的配列を認識して切断する活性を有することを確認した。これらを用いてイネを形質転換したところ、*SPK* 遺伝子を標的とする TALEN を導入した形質転換体 (SPK-TALEN イネ) は得られたものの、ゲノム編集が確認された個体は得られず、ゲノム編集の効率がそれほど高いものではないことが示唆された。さらに、得られた SPK-TALEN イネを、NBT 適用植物の作成過程において構築されると想定される組換え体検知モデルとして使用し、その検知法を開発、評価した。その結果、一般的と考えられる TALEN 遺伝子を標的とした組換え体の PCR 法による検知が可能であることが示された。

研究協力者 河野徳昭 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター
島田浩章 東京理科大学 基礎工学部生物工学科 教授
草野博彰 東京理科大学 基礎工学部生物工学科 助教

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（ゲノム編集技術：以下 NBT とする）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。

一般に NBT 応用生物は、NBT により改変された標的部位を除くと、ゲノム DNA 等上の遺伝子レベルの“痕跡”がない、またはあったとしても自然変異との区別が困難なレベルであるため、その検知は困難であると考えられる。しかしながら、対象が植物の場合は、NBT 応用植物を作成する際に、TALEN や CRISPR/Cas9 の遺伝子コンストラクトを植物中で機能発現させるために、在来の遺伝子組換え法による遺伝子導入が用いられるケースが多い。そのような NBT 植物の構築過程に派生する遺伝子組換え植物が逸出し、フードチェーンに混入する可能性は否定できない。今回、そのような NBT 応用植物作成中間体として想定される TALEN 遺伝子を導入した遺伝子組換えイネを組換え体検知対象モデルとして使用し、その検知法を開発、評価した。

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、またはゲノム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・健康・栄養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。

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)/Cas9 (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：2016 年 2 月 19 日）。

検索結果から基礎研究に関する論文や総

説を除き、植物を対象として NBT を実施した論文のみを抽出し、各技術カテゴリー別に PMID 順にリスト化した。また、作成したリストについて発表年（オンライン公開された論文はオンライン公開年）、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（表 1-3、図 1-5）。

イネの *SPK* 遺伝子および *FLO2* 遺伝子を標的とした TALEN 遺伝子の構築

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（図 6）（文献 1）。

標的となる遺伝子には、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 *SPK* 遺伝子、*FLO2* 遺伝子を用いた。*SPK* 遺伝子に変異が導入された場合には種子の形態に異常が生じる。また *FLO2* 遺伝子に変異が生じた場合には貯蔵デンプンの生合成に障害が起きて異常な胚乳を形成する。これらの遺伝子について、広島大学で構築された Platinum Gate TALEN キットを植物用に最適化したものである Emerald Gateway TALEN kit 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)遺伝子の構築を行いゲノム編集を試みた（文献 2）。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、これ

を用いて TALEN の機能の検定を行った。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。これらの TALEN 遺伝子を用い、アグロバクテリウム法によりイネの形質転換を行った。

TALEN モデル組換え体の検知法開発

植物の遺伝子を標的として TALEN を作動させ遺伝子改変を行い安定的な遺伝子改変体を得ようとする場合、遺伝子組換え植物の作製に一般的に用いられるアグロバクテリウム法によって TALEN 遺伝子を植物ゲノムに組み込み、TALEN による遺伝子改変体を取得する必要がある。この遺伝子組換え、改変の過程において、在来型の組換え体が逸出し、市場等のフードチェーンに混入する危険性が危惧される。

今回、この中間生成物型の組換え体の検知モデルとして、東京理科大島田研究室において作成された、*SPK*(Sucrose synthase kinase)遺伝子（文献 3）を標的とする TALEN 遺伝子を導入したイネ遺伝子組換え体を、TALEN 遺伝子導入組換え体モデルとして使用し、その PCR 法による検知法の開発を試みた。

本イネ遺伝子組換え体に導入されたコンストラクトを構成する遺伝子のうち、遺伝子組換え植物において遺伝子発現に頻用されるプロモーターであるカリフラワーモザイクウイルス CaMV35S プロモーター、そして、TALEN 遺伝子において必須であり、標的遺伝子配列に関わらず遺伝子配列が固定されている TALE-C-FokI 遺伝子を検知対象領域として設定し、これらに特異的なプライマーを設計した。

イネ組換え体の葉より DNeasy Plant

Mini Kit (QIAGEN)を使用しゲノム DNA を調製し、これを鋳型として CaMV35S プロモーター領域及び TALE-C-FokI 領域を標的とした PCR を行った。なお、イネの組換え体検知法（文献 4）において陽性対照として使用される *SPS* 遺伝子を陽性対照として用いた。

プライマー配列：

CaMV35S プロモーター領域

[sense] CaMV35S-530S (21 mer)

5'-att cca ttg ccc agc tat ctg-3'

[anti-sense] CaMV35S-733A (22 mer)

5'-caa tcc act tgc ttt gaa gac g-3'

TALE-C-FokI 領域

[sense] TALEN-C-S1 (21 mer)

5'-cactaatgatcatctttagc-3'

[anti-sense] FokI-A1 (21 mer)

5'-aggatacactttccaccactc-3'

SPS 遺伝子

[sense] SPSF (18 mer)

5'-ttg cgc ctg aac gga tat-3'

[anti-sense] SPSR (20 mer)

5'-cgg ttg atc ttt tgc gga tg -3'

PCR 条件：GoTaq Green Master Mix (Promega) 3.0 μ L, sense primer (100 mM) 1.0 μ L, anti-sense primer (100 mM) 1.0 μ L, template DNA 1.0 μ L (reaction volume 6.0 μ L)

PCR program: 94 $^{\circ}$ C, 5 min \rightarrow (94 $^{\circ}$ C, 30 sec \cdot 58 $^{\circ}$ C, 30 sec \cdot 72 $^{\circ}$ C, 60 sec) x 30 \rightarrow 72 $^{\circ}$ C, 10 min \rightarrow 4 $^{\circ}$ C, ∞

PCR 機器：iCycler (BioRad)

PCR 産物はアガロースゲル電気泳動に供し、特異的増幅産物の有無およびサイズの解析を行った。

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/Cas9) 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は、キーワード：ZFN、zinc finger nuclease、plant での検索により、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ていたが、2015 年の報告数はシロイヌナズナ、大豆、コメ、タバコ、トウモロコシをそれぞれ対象植物とした 5 報に留まった（表 1、図 1）。そのうちの 2 報は、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 らのグループによる報告であり、1 報は Dow AgroSciences LLC のグループからの報告であった。

ZFN は 2012 年に実施報告数が 1 件と減少したが、その後、2013 年は 7 件、2014

年は4件、2015年に5件と、少ない件数で推移している(図1)。これらの報告数から米国のVoytasらのグループと、Dow AgroSciences LLCのグループからの報告を除いた報告数は、2013年は3報、2014年及び2015年は各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。なお、ZFNについては、中国からの報告が全くないことが特筆される。

1-2) TALEN

次に、TALENの植物への応用については、キーワード:TALEN(s)、TAL effector、plantでの検索の結果、2011年から2014年にかけて20報の植物に対する実施報告が見出されたが、2015年及び2016年(2月19日まで)に新たに13報が加わり、計33報となった。(表2、図1)。

適用された植物としては、2014年までにシロイヌナズナ(*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種への実施例が確認されていたが、2015年には、新たに、ジャガイモへの適用例が認められた(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報から、2012年の3報、2013年は8報、そして2014年は7報そして、2015年に12報と推移している(図1)。また、2014年以降はCRISPR/Cas9との変異導入効率の比較研究も行われるようにな

ってきている。

2015年に報告された12報中、実用作物への実施報告数は10報であり、*N. benthamiana*に対するモノクローナル抗体生産基盤構築のための糖鎖修飾様式の改変を含めると11報であった。このことから、TALENについてはモデル植物に対する実験的ステージは終了し、実用ステージに移行した状況がうかがえる。

1-3) CRISPR

CRISPR/Cas9の植物への応用については、キーワード:CRISPR、cas9、plant、arabidopsis、nicotiana、での検索の結果、2013年、2014年のわずか2年間に31報の実施例が確認され(表3、図1)、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、オレンジ、グループフルーツ、トマトの計11種への適用が確認されていた。

2015年及び調査集計時の2016年2月19日までの報告数は2015年が40報、2016年が7報で、2015年の報告数は2014年の21報からほぼ倍増となっていることが明らかになった。2015年及び2016年に新たに適用が確認された植物は、亜麻、ペチュニア、キュウリ、大麦、*Brassica oleracea*(アブラナ科)、大豆、ポプラ、*Medicago truncatula*(マメ科)、レタス、ジャガイモの10種であり、これまでにモデル植物から実用作物まで、計21種の広範な植物へ適用されている実態が明らかになった(図2)。

上記の技術カテゴリー別の実施数は、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/Cas9 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/Cas9 が劇的に実施数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/Cas9 については、いずれも米国と中国が全体の 70%を占め、両国が 2 大開発国となっていることが示された。

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/Cas9 両技術の実施対象植物としてイネがそれぞれ 50%、35%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傾向が続いていることが判明した。2015 年は、トウモロコシ、大豆、ポプラへの実施例も各 2 報あり、これらの実用作物や樹木への実施研究も進められていることが明らかになった。

イネの *SPK* 遺伝子および *FLO2* 遺伝子を標的とした TALEN 遺伝子の構築

(a) Emerald Gateway TALEN を用いて作製した TALEN の評価

Emerald Gateway TALEN kit を用いてイネの *SPK* 遺伝子および *FLO2* 遺伝子を標的とした TALEN の構築を行った(図 7)。これによりそれぞれの遺伝子に対応する

TALEN 遺伝子の作製に成功した。これらはそれぞれの遺伝子のコード領域に対応する配列を標的とする。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後述する SSA アッセイ系を用いて評価を行った。

(b) SSA アッセイを利用した TALEN の検定

構築した TALEN が標的部位特異的な DNA 切断をするかどうかの検定を行った。検定は佐久間らにより報告されている SSA アッセイ法(文献 5)をもとに、植物ゲノム用に改変を行った。また、大腸菌を利用した簡便なアッセイ法の構築を行った。まず、検定用のプラスミド DNA の構築を行った。SSA アッセイでは特定のレポーター遺伝子を前半部～中央部分までの領域と中央部分～後半部の 2 つの領域に分断し、両者は標的配列を挟む形で結合した検定用プラスミドを構築する必要がある。

そこで、レポーター遺伝子としてホタル・ルシフェラーゼ遺伝子および β グルクロニダーゼ遺伝子を用いた検定用プラスミドを作製した。これらを 2 つに分断し、これらを用いた SSA アッセイ系の構築を試みた。これらの遺伝子はそれぞれ 430 塩基および 700 塩基の重複部分を有し、両者の中央部には Gateway BP クロナーゼによるクローニング部位を配置した。これを pSSAGG-GwBP および pSSARL-GwBP と命名し、汎用的な SSA アッセイ用ベクターとした(図 8 に pSSARL-BP の例を示す)。TALEN の標的配列を合成すれば、これを BP クロナーゼによってこれらのベクターの中央部分に導入することができる。

TALEN が標的配列を認識し、この配列を特異的に切断することができれば、SSA 検定用プラスミド DNA にあるレポーター遺伝子の重複部分を介した相同組み換えを誘発し、これによりレポーター遺伝子が正常な形に復活する。そこで、標的配列を組み込んだSSAアッセイ用プラスミドと検定する TALEN 遺伝子を細胞に導入し、細胞内での反応を促すことで、レポーター活性が現れることが期待される。

植物細胞を用いた SSA アッセイを試みた。イネの培養細胞からプロトプラスト細胞を調製した。これに *FLO2* に対する標的配列を組み込んだ上記の SSA アッセイ用プラスミドと検定用の TALEN 遺伝子を有する 2 種類のプラスミド DNA を導入した。その結果、*FLO2* を標的とする TALEN を組み込んだ実験系では GUS 活性が検出された (図 9)。このことから、この検定に用いた TALEN は標的配列を認識して切断する能力を有することが明らかになった。

これと並行して、大腸菌を利用して同様の検定を行った。その結果、検定に用いた TALEN は標的配列を認識して切断することがわかった。一方、標的とならない配列を有する SSA アッセイプラスミドに対しては反応が起らなかった (図 10)。この結果から TALEN の機能検定は大腸菌を用いたシステムでも行うことが可能であることが判明した。

(c) 形質転換イネの作出と組換え体の検定

構築した *SPK* を標的とする TALEN 遺伝子を用いてイネの形質転換を行い、約 100 の再分化個体を得た。これらの植物体よりゲノム DNA を抽出し、PCR により、これ

らの植物に TALEN 遺伝子が導入されているかどうかの検定を行った。その結果 70 個体中 63 個体で目的とする TALEN 遺伝子が検出された。そこで、これらの形質転換体について、*SPK* 遺伝子のゲノム編集が生じているかどうかの検定を行った。TALEN の標的配列とした部分には *EcoRV* による制限酵素切断部位が含まれている。従って、この領域でゲノム編集が生じた場合には、*EcoRV* での切断が起こらない可能性が高いことが期待される。そこで、PCR により当該領域のゲノム配列を増幅後、この配列が *EcoRV* で切断されるかどうかを調べた。その結果、いずれの形質転換体においても *EcoRV* による切断パターンは野生型と同じであり、この時点では、これらの形質転換体においてゲノム編集は生じていないことが示唆された (図 11)。

これらの実験と並行して *FLO2* を標的とした TALEN をイネに導入した。これらについては再分化個体が得られ次第、ゲノム編集の有無についての検定を行う予定である。

TALEN コンストラクト導入組換え体検知モデル実験

SPK 遺伝子を標的とした TALEN 遺伝子導入組換え体 (*SPK-TALEN* イネ) を検知モデルとし、本組換え体に導入されている TALEN 作動用コンストラクトの各配列 (図 12) を対象として PCR による検知を行った。

その結果、CaMV35S プロモーター、TALEN コンストラクト内部配列 (TALE-C-FokI) 及び、コントロールとしたイネ *SPS* 遺伝子のいずれを標的とした場合においても *SPK-TALEN* モデルイネを材料

とした場合は、明瞭な増幅産物を与えた。なお、非組換えの野生型株日本晴については、*SPS*のみ検知された(図13)。

このように、TALEN を発現・機能させるために必要なコンストラクトの各要素の遺伝子領域を標的とした TALEN 遺伝子の検知が可能であることが示された。

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を明らかにした。急速に植物への利用が進んでいる TALEN 及び CRISPR/Cas9 であるが、CRISPR/Cas9 の報告数が 2013 年から 2014 年、そして 2015 年と毎年、倍増していることと比較すると、TALEN の報告数の伸びは低調であり、手法が簡便な CRISPR/Cas9 が頻用されていることが裏付けられた。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は続いている。中国においては、TALEN や CRISPR/Cas9 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 3 割~5 割を占めることも明らかになったが、大豆やトウモロコシといった実用作物への利用も進んでおり、これら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。

SPK 遺伝子および *FLO2* 遺伝子を標的とした TALEN 遺伝子の構築においては、SSA アッセイによりこれらの TALEN 遺伝子が部位特異的な DNA 切断を行う能力を有することが確認された。この結果から、われわれが開発した Emerald Gateway TALEN システムおよび SSA アッセイシス

テムが期待通りに機能することがわかった。これらの成果は今後のゲノム編集技術の普及及び標準化に寄与するものと考えられる。

作製した TALEN 遺伝子を用いてイネの形質転換を行い TALEN を導入した形質転換体を得た。このうち、*SPK* 遺伝子を標的とする TALEN を導入した形質転換体では、導入した TALEN 遺伝子の検出に成功したが、これらの形質転換個体ではゲノム編集を検出することができなかった。このことはゲノム編集が起こる効率があまり高いことを示唆するものと考えられる。また、形質転換体に導入された TALEN は継続的に働くものと考えられるため、植物体を育成していく過程でゲノム編集が起こる可能性も考えられる。今後はこれらの再分化植物の中でのゲノム編集の事象について継続的に調べていく必要があると思われる。また、TALEN 遺伝子を導入した形質転換体を継続的に作製することでゲノム編集効率が高まるものと考えられる。

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を明らかにした。急速に植物への利用が進んでいる TALEN 及び CRISPR/Cas9 であるが、CRISPR/Cas9 の報告数が 2013 年から 2014 年、そして 2015 年と毎年、倍増していることと比較すると、TALEN の報告数の伸びは低調であり、手法が簡便な CRISPR/Cas9 が頻用されていることが裏付けられた。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は続いている。中国においては、TALEN や CRISPR/Cas9 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