

内閣府食品安全委員会
平成16年度食品安全確保総合調査

遺伝子組換え食品等の安全性評価のための
調査報告書

平成17年3月

株式会社 三菱総合研究所

遺伝子組換え食品等の安全性に関する検討委員会 名簿

(敬称略)

	氏 名	所 属 ・ 役 職
委員	加藤 順子	株式会社三菱化学安全科学研究所 リスク評価研究センター センター長
	鎌田 博	筑波大学生物科学系 植物発生生理学研究室 教授
	田部井 豊	独立行政法人農業生物資源研究所 新生物資源創出グループ 植物細胞工学研究チーム チーム長
	徳永 智之	独立行政法人農業生物資源研究所 発生分化研究グループ 分化機構研究チーム チーム長
	名古屋 博之	独立行政法人水産総合研究センター養殖研究所 生産技術部育種グループ 安全性評価チーム 主任研究官
	矢木 修身	東京大学大学院工学系研究科付属水環境制御研究センター 教授
	吉倉 廣	国立感染症研究所 名誉所員
事務局	内野 尚	(株) 三菱総合研究所 資源・循環研究部 主任研究員
	林 欣吾	(株) 三菱総合研究所 資源・循環研究部 主任研究員
	宮崎 昌	(株) 三菱総合研究所 資源・循環研究部 研究員
	山崎 恵美	(株) 三菱総合研究所 資源・循環研究部 研究員
オブザーバー	内閣府食品安全委員会事務局 評価課	

はじめに

1990年代から始まった遺伝子組換え技術の食品分野への応用は、トウモロコシ、ダイズ、ナタネ等の主要農作物からキモシン等の食品添加物まで多岐に及んでいる。特に、遺伝子組換え農作物については、様々な作物、果実にまで応用が進むとともに、その開発目的も除草剤耐性、病害虫抵抗性の導入といったいわゆる第一世代の組換え農作物に加えて、栄養素の改変、健康面での機能性の付与といった第二世代の組換え農作物が増加してきている。また、食品分野以外での組換え体の開放系利用も進んでおり、医薬品・工業原料等の製造、環境修復（バイオレメディエーション）、愛玩動物など、様々な分野で組換え体の利用が拡大していくと考えられている。

遺伝子組換え食品の安全性については、既に食品安全基本法及び食品衛生法にもとづいて安全性評価が実施されているところであるが、今後新たな組換え食品の開発が進むと予想されることから、組換え食品等の研究開発動向について幅広く情報収集を行っておく必要がある。

本調査は、以上の背景を踏まえて、遺伝子組換え技術を利用して研究・開発されている植物、動物等について、食品としての利用目的以外のものも含めて、国内外の最新の研究開発、実用化及び規制等の状況を把握するとともに、食品としての安全性確保に関するデータの収集、整理、抽出を行い、現時点での最新状況を取りまとめることを目的として実施したものである。

検討に当たっては、有識者からなる検討委員会を設置し、関連情報の提供と助言を受けながら作業を実施した。

平成 17 年 3 月
(株) 三菱総合研究所

目 次

はじめに

1. 遺伝子組換え体の開発と規制の動向1.1
 - 1.1 遺伝子組換え体の研究・開発・実用化の動向1.1
 - 1.2 海外主要国における遺伝子組換え体の規制動向1.23
2. 組換え食品等の安全性に関する考え方の整理2.1
 - 2.1 遺伝子組換え食品の安全性に関する研究事例2.1
 - 2.2 ILSI「バイオテクノロジーで栄養改変された食品、飼料の栄養および安全性評価」の概要2.15
3. まとめ3.1
 - 3.1 今後の組換え体・組換え食品の研究・開発見通し3.1
 - 3.2 組換え食品等の安全性確保・評価に関連する事項3.3

<参考資料>

1. 委員提出資料参考.1
 - (1) 農林水産・環境分野における組換え体の開発動向に関する資料 ...参考.1
 - (2) 参考文献参考.28
2. 組換え体の開発状況に関する参考情報参考.33
 - (1) 最近の組換え食品をめぐる海外報道参考.33
 - (2) キノコの細胞融合に関する研究状況参考.35
3. 組換え食品の安全性および組換え体の開発動向に関する参考文献参考.47
4. 遺伝子組換え体に関する参考情報サイト参考.57

1. 遺伝子組換え体の開発と規制の動向

1. 遺伝子組換え体の開発と規制の動向

本章では、遺伝子組換え体の開発動向、および組換え体の規制に関する動向を整理した。1.1 では、開発動向について、全体の概況と分野別（植物、動物、微生物、菌類）の組換え体の開発動向をまとめた。続いて 1.2 では、海外主要国ごとに、組換え体に関する規制体系と最近の動きを整理した。

1. 1 遺伝子組換え体の研究・開発・実用化の動向

1. 1. 1 概況

遺伝子組換え体の研究開発の動向と主なトピックスは次頁の表 1.1-1 の通りである。

植物（作物）の研究開発が中心となっており、除草剤耐性、害虫抵抗性あるいはその両方の形質を付与された作物に加えて、栄養組成の改変、アレルギーフリーといった機能面の改良を行った作物の開発が進んでいる。（これらの組換え体は研究者によって、それぞれ便宜的に第一世代、第二世代の組換え作物と呼ばれることが多いため、本報告書でも適宜この表現を用いる。）実験室レベルでは、光合成機能を改良した組換え植物や、砂漠緑化等を目指した耐塩性、耐乾燥性などの環境ストレス耐性をもつ組換え体もつくられている。

組換え食品の開発については、作物と食品用微生物が中心であるが、最近では水産業、畜産業の分野でも研究が進んでいる。

表 1.1-1 組換え体の開発動向

用途	微生物	植物			動物		
		作物	草本類	樹木	昆虫	魚類等	家畜等
閉鎖系	基礎研究	◎多数				◎蛍光ゼブラフィッシュ (recombinantタンパク 発現系として有用)	○トランスジェニック鶏
	医薬品等	◎多数(ホルモン産生菌など)			○ヒトコラーゲン産生 トランスジェニックカイコ		○抗体産生ニフトリ・ウシ等々 ○臓器移植用動物
	食品等	◎多数(組換え酵素の産生)					
	その他医療・健康関連						
開放系	医薬品		○ヒトIL-18産生タバコ ○経口ワクチン ○レチクリン蓄積ケシ		○ヒトコラーゲン産生 トランスジェニックカイコ	○clotting factor7 発現ティラピア	
	その他工業原料	○生分解性プラスチック (PHA)産生菌	◎植物工場(医薬品など) ○エネルギー作物	△リグニン遺伝子改変樹木			・クモの糸(ポリマー)を 乳中に分泌するヤギ
	食品		○鉄分含有量増大米 ○低アレルギー米 ◎高オレイン酸大豆 ○低アレルギー大豆 ○カロテノイド・リッチのパナナ △耐塩性トマト ◎防虫トウモロコシ(Maize) ◎防虫ワタ ○耐殺虫剤小麦 △耐塩性トマト			◎成長ホルモン導入サケ ◎低温耐性の養殖魚	△高カゼイン含有乳生産ウシ △ホウレンソウブタ
	その他医療・健康関連			△花粉の飛ばないスギ	△マラリアを媒介できない蚊	○神経毒性試験用 ゼブラフィッシュ	
	その他農林水産	◎微生物農薬 ○細菌由来駆虫活性物質 生産菌	◎除草剤耐性シバ ○砂漠で育つ植物 (葉緑体ゲノム組み込み)		△不妊化昆虫の作出	○病原菌耐性のメダカ (カイコ遺伝子組込み)	
	愛玩・鑑賞		○色変わりの花(カーネーシ オン等) ○青いバラ			◎蛍光ゼブラフィッシュ	○アレルギーフリーのネコ
	環境モニタリング	△TNT検出バクテリア(GFP)	△重金属類検知 シロイヌナズナ			◎汚染物質検出用 ゼブラフィッシュ	
	環境修復	△TNT分解能増強菌 △その他有害物質分解細菌 △植物の環境浄化作用促進 組換え内部寄生細菌	△TNT分解タバコ △フェノール系多環物質 植物体外分解	・セレン吸着 indian mustard		○重金属吸着菌類 (メタロチオネイン発現)	
	その他環境関連		△CO2固定能力の高い植物(増収、地球温暖化対策) △タバコの窒素還元酵素を組み込んだバイオマス生産向上ジャガイモ				△ファイターゼ遺伝子導入ブタ

凡例) ◎:実用化済み、○:実用化研究、△:アイデア・基礎研究段階

1. 1. 2 分野別の動向

(1) 組換え植物の開発状況

1) 作物等

○ 食品、飼料

表 1.1-2 で示した 57 種類の植物で（樹木、鑑賞用の花き等を除く）、重荷商業栽培を想定した組換え体の開発が行われている。

トウモロコシ、ナタネ、ダイズ、ワタなどの作物を親植物として、いわゆる第一世代（除草剤耐性、病害虫抵抗性を導入した組換え体）の組換え体が多数実用化されており、米国等で広範囲に栽培されている。

最近、作物関連で活発に研究が進んでいるのは、栄養改変、低アレルギー、花粉症緩和など、消費者への直接のメリットがある、いわゆる第二世代の組換え体である。この中にはニワトリ用の食べるワクチン（日本）といった飼料目的のものも含まれる。

果物の分野では組換えパパイヤが既にハワイ等で栽培されているが、リンゴ、西洋ナシなどでも野外試験が行われている。

表 1.1-2 商業栽培を想定した組換え体の開発が行われている植物

作物	野菜	果実	その他
ダイズ	ジャガイモ	パパイヤ	タバコ
ワタ	トマト	メロン	チコリ
トウモロコシ	カボチャ	バナナ	カラシ
ナタネ	コショウ	パイナップル	ピーナツ
テンサイ	エンドウ/インゲンマメ	リンゴ	コーヒー
イネ	レタス	ブドウ	ルピナス
アマ	キュウリ	プラム	ケシ
コムギ	キャベツ	イチゴ	オリーブ
サトウキビ	ニンジン	メロン	オイル・パーム
オオムギ	ナス	レモン	ココア
アルファルファ	タマネギ	サクランボ	ガーリック
キャッサバ	カリフラワー	マスクメロン	
ヒマワリ	ブロッコリー	キウイ	
クローバー	ホウレンソウ	ラズベリー	
ベニバナ		マンゴー	
ソルガム		ココナツ	

(出典：The Global Diffusion of Plant Biotechnology: International Adoption and Research in 2004, Ford Runge et al. Univ. of Minnesota)

表 1.1-2 で示した各々の植物について、国別の実用化状況を表 1.1-3 から表 1.1-6 に示した。

表 1.1-3 組換え体の国別開発状況 (作物)

	ダイズ	ワタ	トウモロコシ	ナタネ	テンサイ	イネ	アマ	コムギ	サトウキビ	オオムギ	アルファアルファ	キャッサバ	ヒマワリ	クローバー	ベニバナ	ソルガム
カナダ	P	A	P	P	A	A	A	F		F	F		F	F	F	
米国	P	P	P	P	A	A	A	F	F	F	F				F	
オーストラリア	A	P	A	A	A			F	F	F				F		
西ヨーロッパ(15/15)	A	F	P	A	F	F		F		F	F		F			
アルゼンチン	P	P	P		F			F	L	L	F		F			
メキシコ	A	P	F	F		F	F	F								
中国	F	P	F	L	L	F		L		L						L
日本	A	A	A	A	A	F		L								
南アフリカ	P	P	P	F					F							
ブラジル	P	F	F			F			F	L						
東ヨーロッパ(8/13)	P		A	F	L		L	F		L	F		F			
インドネシア	F	A	F			L			L			L				
ウルグアイ	P		P													
エジプト		A	F	A				F	F	L						
インド		P		F		L										
コロンビア		P														
フィリピン			P			L										
パラグアイ	P															
チリ	P		P													
韓国	A		A													
ホンジュラス			A													
ベリーズ	F	F	F													
キューバ			L			L			F							
タイ		F				F					L					
ベネズエラ						L			L		F					
ジンバブエ		F									F					
ボリビア	F	F														
コスタリカ			L			F										
ニュージーランド				F												
マレーシア						L										
パキスタン		L				L										
モロッコ								L								
バングラデシュ						L										
ケニア			L													

(注) P : commercial Production、A : regulatory Approval
F : Field study、L : Lab/green house

(出典 : The Global Diffusion of Plant Biotechnology: International Adoption and Research in 2004)

表 1.1-4 組換え体の国別開発状況（野菜）

	ジャガイモ	トマト	カボチャ	コシヨウ	エンドウ／インゲンマメ	レタス	キュウリ	キャベツ	ニンジン	ナス	タマネギ	カリフラワー	ブロッコリー	ホウレンソウ
西ヨーロッパ(13/15)	F	F	F		F	F		F	F	F		F	F	F
米国	A	A	P		F	F	F				F			
カナダ	A	A	A											
オーストラリア	A	F			F	F								
日本	A	A			F	L	F					F	F	
中国	F	P		P				F	L					
メキシコ	F	A	F	F										
ブラジル	F	F			F	L			F					
エジプト	F	F	F		L		F							
タイ		F		F	L									
アルゼンチン	F	F												
東ヨーロッパ(10/13)	F	L		F										
キューバ	F	L												
ジンバブエ	F													
ボリビア	F													
ペルー	F													
南アフリカ	F													
ケニヤ	F													
グアテマラ		F												
ニュージーランド											F			
韓国				F										
インドネシア	L	L		L										
マレーシア				L	L					L				
インド	L	L						L		F				
チリ	L	L												
コロンビア	L	L												
バングラデシュ					L									
フィリピン		L												
チュニジア	L													

(注) P : commercial Production、A : regulatory Approval
 F : Field study、L : Lab/green house

(出典 : The Global Diffusion of Plant Biotechnology: International Adoption and Research in 2004)

表 1.1-5 組換え体の国別開発状況（果実）

	パ パイ ヤ	メ ロン	パ ナ ナ	パ イ ナ ツ プ ル	リ ン ゴ	ブ ド ウ	ブ ラ ム	イ チ ゴ	メ ロ ン	レ モ ン	サ ク ラ ン ボ	マ ス ク メ ロ ン	キ ウ イ	ラ ズ ベ リ	マ ン ゴ	コ コ ナ ツ
米国	P	A	F		F		F		F							
西ヨーロッパ(15/15)		F			F	F	F	F	F	F	F	F	F	F		
オーストラリア	F		F	F	F											
カナダ	A				F											
メキシコ	F	F	F	F												
キューバ	F		L	L						L						
フィリピン	L		F												L	L
中国	F	F														
エジプト		F	L									F				
日本	L	F						L								
東ヨーロッパ(3/13)						L	F									
南アフリカ								F								
ブラジル	F															
マレーシア	L	L	L	L												
チリ		L			L	L	L									
ベネズエラ	L		L												L	
コロンビア			L													
コスタリカ			L													
バングラデシュ	L															
タイ	F															

(注) P : commercial Production、A : regulatory Approval
F : Field study、L : Lab/green house

(出典 : The Global Diffusion of Plant Biotechnology: International Adoption and Research in 2004)

表 1.1-6 組換え体の国別開発状況（その他）

	タバコ	チコリ	カラシ	ピーナツ	コーヒー	ルピナス	ケシ	オリーブ	オイル・パーム	ココア	ガーリック
米国	P	A		F	F						
西ヨーロッパ(9/15)	A	A	F					F			
オーストラリア			F			F	F				
中国	F			F							
ブラジル	F									L	
カナダ			F								
東ヨーロッパ(3/13)	F										
韓国	F										
インド	F										
メキシコ	F										
インドネシア	L			L	L				L	L	
チリ	L										L
バングラデシュ	L			L							
マレーシア	L								L		
ベネズエラ					L						
フィリピン	L										
アルゼンチン	L										
キューバ					L						
日本	L										

(注) P : commercial Production、A : regulatory Approval
 F : Field study、L : Lab/green house

(出典 : The Global Diffusion of Plant Biotechnology: International Adoption and Research in 2004)

○医薬品・工業原料等生産用植物

組換え農作物と並んで近年開発が進んでいるのは、植物（食用作物や油脂作物、またはタバコのように形質転換が容易な植物）を利用し、医薬用タンパク質、酵素、抗体、ワクチン抗原を生産する研究などである。これは「植物工場」と呼ばれるアイデアで、多くは、米、カナダ、EUのベンチャー企業が大手製薬会社とタイアップして開発を行っており、そのいくつかはすでにフェーズIIの段階で、試薬用としては既に商業販売の認可を得ているものもある。（表1.1-7）

○その他の非食品分野

医薬品以外では、生分解性プラスチック材料等の工業材料を組換え体で作ることが従来から試みられている。最近ではバイオマスエネルギーの利用に関心が高まっているが、成長が速く、バイオマス固定量の多いエネルギー作物（スイッチグラス等）を遺伝子組換えによって作出する研究もある。

また、実験室レベルでは、光合成機能を改良した組換え植物や、砂漠緑化等を目指した耐塩性、耐乾燥性などの環境ストレス耐性をもつ組換え体もつくられている。これらの組換え体は、砂漠緑化、食糧増産などの地球規模の問題解決に資するだけでなく、地域レベルの農業、園芸でも応用できる可能性がある。

○薬用植物

薬用植物（いわゆる医薬品原料になっている植物や漢方薬原料のように簡単な調整後、医薬品として使う植物）そのもので、薬用成分含量を高めたり、成分を改変するための研究は、大学、研究所等で行われているが、実用化はまだ先と考えられる。日本では国立医薬品食品衛生研究所、千葉大学などで関連の研究が実施されている。

表1.1-7 植物工場による医薬品等の生産研究

No.	企業名、所在国	宿主	製品/対象疾患等
1	Agrenvec, Spain	ナタネ(ウイルスベクターによる発現)	タンパク質の受託生産
2	Arizona State University,	トマト等	経口ワクチン
3	Bayer CropScience, BioScience	植物	抗体
4	Bevo Farms, Canada		タンパク質の受託生産
5	Chlorogen, USA	タバコ	ヒトの治療用タンパク質、抗体、ワクチン、生物製剤、
6	Chromatin Inc., USA	ダイズ、ナタネ、トウモロコシ、トマト等	
7	CIGB - Cuba, Cuba	タバコ	抗体
8	Cobento Biotech, Denmark	シロイヌナズナ	ヒト内因子(IF)、トランスコバラミン
9	ERA Plantech, Spain	多くの植物組織、植物体	タンパク質の生産性の向上
10	Farmacule BioIndustries Australia	タバコ、バナナ、サトウキビ	バイオプラスチック、食べるワクチン、その他高付加価値タンパク質
11	Fraunhofer IME, Germany	タバコ、トウモロコシ、イネ、コムギ、トマト、植物細胞	抗体、ワクチン、抗がんタンパク等
12	Icon Genetics AG, Germany	タバコ、ホウレンソウ、レッドビート	医薬用タンパク質、食品添加物
13	Instituto de Virologia, Argentina	アルファルファ	口蹄疫ワクチン、ブタコロナウイルス用ワクチン、ウシロタウイルスワクチン
14	Kentucky Tobacco Research and Development Center, USA	タバコ	医薬品用タンパク質
15	Large Scale Biology Corporation, USA	タバコ	医療用酵素、酵素インヒビター、ヒト・動物用ワクチン、抗体フラグメント等
16	Linnaeus Plant Sciences Inc., Canada	シロイヌナズナ、 <i>Lesquerella fendleri</i>	植物ベースの燃料油、高リシノール酸作物等
17	Maltagen Forschung GmbH	オオムギ	ラクtofelin、リゾチーム、ヒト血清アルブミン、肝炎ワクチン、食べるワクチン
18	Mapp Biopharmaceutical Inc., USA	タバコ	モノクローナル抗体、ヘルペスウイルス抗体、HIV抗体
19	MEDICAGO INC., Canada	アルファルファ	血清タンパク質、モノクローナル抗体
20	MERISTEM Therapeutics, France	トウモロコシ、タバコ	リバーゼ、アルブミン、ヒトコラーゲン、ヒトラクトフェリン、コナダニアレルゲン、ヒト血清タンパク質等
21	Metabolix, USA	スウィッチグラス	バイオプラスチック
22	NEXGEN Biotechnologies, Inc., Korea	タバコ、メロン、キュウリ	医薬品、抗原(HIV、HPC、デング熱、マラリア)
23	Novoplant GmbH, Germany	ジャガイモ、ナタネ、アマ、豆類	経口ワクチン(動物用)
24	ORF Genetics, Iceland	オオムギ、レタス	成長因子、プロテアーゼ、抗体等
25	Phytomedics, USA	タバコ	糖尿病治療用タンパク質、アスピリン代替物質
26	Planet Biotechnology, Inc., USA	タバコ	抗体(分泌性IgA)、免疫関連タンパク質
27	Planta-Pharma Project European Community	トウモロコシ等	抗体、ワクチン等
28	PlantBio Products, Spain	植物の葉緑体の形質転換	バイオプラスチック
29	Plant techno SRL, Italy	イネ、コムギ、トマト、トウモロコシ、ポプラ、アガリクス、オオムギ	酵素、ファイトレメディエーション
30	Plantigen, Canada	タバコ	GAD, サイトカイン、インターロイキン等
31	Prairie Plant Systems, Inc	マリファナ(医療用)	地下栽培施設を用いた有用物質生産
32	Prodigene, USA	トウモロコシ	酵素等
33	Rubber Institute of Malaysia, Malaysia	ゴムノキ	ヒト血清アルブミン
34	SemBioSys Genetics, Canada	サフラワー	医薬品、インシュリン、アポリポロタン、動物用ワクチン、化粧品関連物質
35	Sunol Molecular Corporation, USA	レタス、シロイヌナズナ	抗体
36	Syngenta, Switzerland	サフラワー等	抗体、医薬品等
37	UniCrop Ltd, Finland	アマナズナ(若芽)	抗体、免疫関連タンパク質等
38	Ventria Bioscience, USA	イネ、オオムギ	ラクtofelin、リゾチーム

出典) www.molecularfarming.comより作成。

2) その他の草本類、樹木

作物以外では、鑑賞用の色変わりの花き（カーネーション等）が実用化されている。最近、日本で青いバラが開発され、マスコミで報告された。

緑化用としては、除草剤耐性のシバが開発されたが、実用化は進んでいないようである。

樹木では、ポプラ、ユーカリ、スギなどで組換え体の開発が進んでいる。この分野でも遺伝子の探索とRNAiなどの新技術の研究が進んでおり、今後バイオテクノロジーを用いて品種改良された樹木の実用化が予想される。

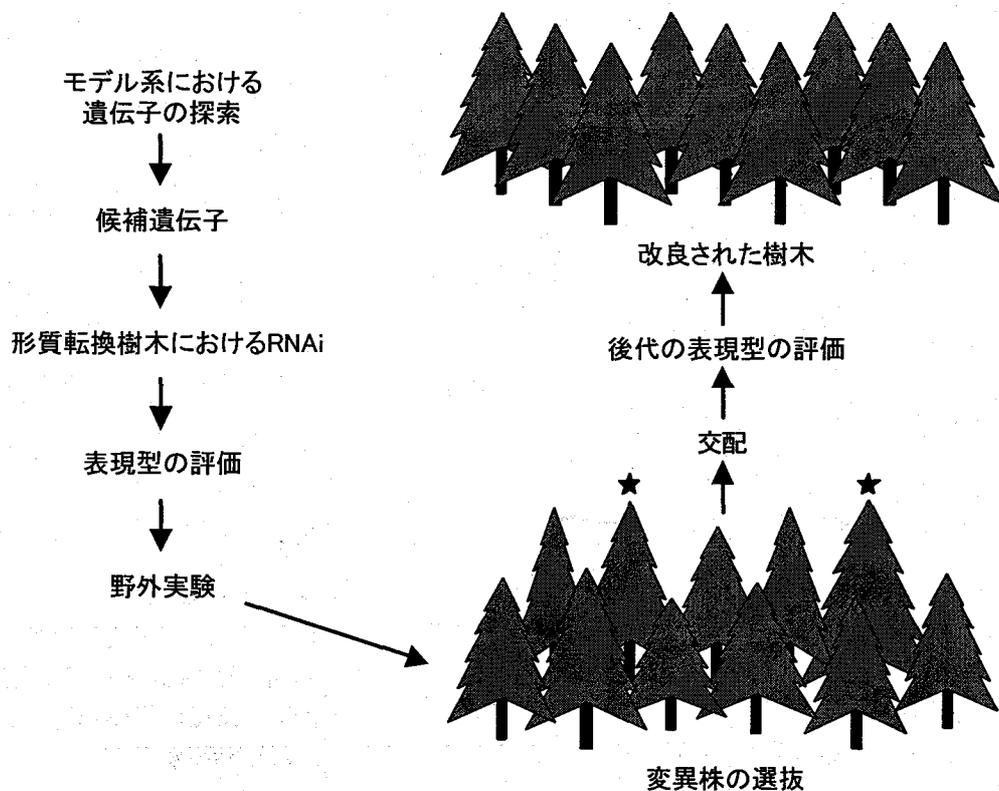


図 1.1-1 樹木の品種改良のストラテジー

(出典: Biotechnology and the domestication of forest trees Wout Boerjan

Curr Opin Biotechnol 2005, Vol.1, 1-8)

3) 藻類

作物に比べると研究はやや遅れているが、海藻、微細藻類などで、工業原料の製造、食品利用を目指して研究が行われている。

いわゆる健康食品の原料として使用されているスピルリナでも栄養適性の向上を目指した研究例がある。

(2) 組換え動物の開発状況

動物分野の組換え体の開発状況は表 1.1-8 の通りである。このほか、哺乳類の場合、ヒトへの移植用臓器の開発を目指した研究も行われている。

表 1.1-8 組換え動物の開発状況

生物名	用途			備考
	モデル動物 (主として実験室内)	産業利用 (閉鎖系又は管理された区域内)	食品利用 (一般環境)	
ヒツジ	○	◎		動物工場等
ブタ	○	◎	○	フィターゼ遺伝子導入ブタ
ニワトリ	○	◎		
ウズラ	○			
マウス	◎			
イヌ	△			品種改良は活発に行われているが、遺伝子組換え技術の応用はこれから
ネコ	△			アレルギーフリーネコのアイデアあり
カエル(アフリカツグアイ他)	◎			環境中の微量汚染物質のモニタリング(広島大)
ゼブラフィッシュ	◎			鑑賞魚として体色を変えたものが開発中。環境中の微量汚染物質のモニタリングに用いるアイデアもある。
メダカ	◎			
サケ、その他養殖魚			○	
ショウジョウバエ	◎			
カイコ		◎		
ハマダラカ				マラリア防除への応用が研究中

発に研究が進められており、完全に汎用技術となっているもの。

実用化段階に達しつつあるもの。

一部で利用が進められている若しくは今後利用が進む可能性があるもの。

(出典: Animal Biotechnology Science-Based Concerns, National Research Council, 2002)

組換え動物の遺伝的改変に利用できる技術が数種類ある中で、各動物への応用状況を表 1.1-9 に示した。

表 1.1-9 各種の動物へのバイオテクノロジーの適用状況

生物	トランスフェクション	ウイルス・ベクター	トランスポゾン	ES 細胞	核移植
マウス	4	2	1	4	2
ウシ	3	1	0	0	2
ヒツジ	3	0	0	0	2
ヤギ	3	0	0	0	2
ブタ	3	0	0	0	2
ウサギ	3	0	0	1	0
ニワトリ	1	2	1	0	0
大西洋サケ	3	0	0	0	0
ナマズ	2	0	0	0	0
ティラピア	3	0	0	0	0
ゼブラフィッシュ					
ユ	1	0	0	1	1
甲殻類	1	1	0	0	0
軟体動物	1	1	0	0	0
ショウジョウバエ	2	2	2	2	0
カ	1	0	2	0	0

凡例) 0 : 顕著な進展なし、1 : 実験的に成功 (アイデアの検証)、2 : 実験手法としてルーチン化、3 : 商業化が検討段階、4 : 実用化済み (ただし基礎研究目的)

(出典 : Animal Biotechnology Science-Based Concerns, National Research Council, 2002)

動物の種類別の開発状況を以降に整理した。

○脊椎動物

家畜、家禽類では、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ニワトリなどで遺伝子導入が行われている。多くの組換え体は、成長促進や耐病性の付与、肉質等の改良、動物工場としての利用 (医薬品原料等の製造) を目的としている。

具体例としては、ホウレンソウブタ (ホウレンソウの遺伝子を組み込んで脂質組成を改良) が開発されているほか、同じブタで、フィターゼ遺伝子を導入することにより、栄養素であるリンの利用効率を上げるとともに畜産排水中のリンの汚濁負荷を低減させる試みがある。

イヌ、ネコ等の愛玩動物については、組換え技術の適用例はほとんど報告されていないが、アレルギー・フリーのネコをつくるアイデアが発表されている。また、死んだペット (ネコ) のクローンが米国で販売され、昨年末に新聞等で話題となった。

臓器移植用動物の研究については、生理学的、解剖学的特徴がヒトに近く、食用とされていて倫理的な問題が比較的少ないブタを中心に研究が進められている。拒絶反応の原因物質 (α GAL) をノックアウトしたブタの研究などがある。

○魚類

実験動物として用いられる小型魚類（ゼブラフィッシュ、メダカ等）と養殖対象となる大型魚類（サケ、ティラピア等）に大別される。

ゼブラフィッシュなどの小型魚類は分子生物学的研究が進んでおり、極めて多くの組換え体が作出されている。基礎研究目的が大部分だが、環境中の化学物質の検出（バイオモニタリング）用や観賞魚として蛍光灯下で蛍光性の鮮やかな体色を示すような組換え魚が海外で販売されている。

サケ等の大型魚類は、成熟するまでの期間が長く、通常の選抜等による育種が困難なことから、組換え DNA 技術による分子育種が活発に行われている。外来の成長ホルモンを組み込んで成長を促進させたり、低水温への耐性、耐病性を付与する試みが多い。また、養殖下での体サイズを大きくするための不妊魚の作出（アンチセンス法による性ホルモン関連遺伝子の発現抑制等）の試みも多い。

Fishpharming（魚類による医薬品等の有用物質生産）の研究もあり、血液凝固因子等の生産が試みられている。このような方向の研究の展開として、将来はビタミン、長鎖不飽和脂肪酸などの栄養成分が改変（追加）された食用魚も開発される可能性がある。

代謝経路の変更（炭水化物の利用効率向上）の研究も行われている。サケ科の養殖魚の餌には海産魚類の肉が使用されるが、これは水産資源の乱獲等の面で問題があるといわれている。そこで、養殖魚が炭水化物をベースにした植物性のエサを利用できるように、炭水化物の代謝効率を高めるアイデアがある。具体的には、グルコース・トランスポーター、グルコースヘキソキナーゼの活性を向上させる試みがある。

○貝類・甲殻類

実用化はされていないが、貝類、エビ等で遺伝子導入が行われている。これらはいずれも食用（養殖）を目的としたものである。

○昆虫

昆虫の組換え体については、ショウジョウバエがもっとも開発が進んでいるが、基礎研究目的である。それ以外は、マラリア防除や不妊の昆虫（害虫）の放飼による害虫の防除への応用が研究されている。

ミツバチについてもゲノム解読が進んでおり、ヨーロッパミツバチの一種 *Apis mellifera* は 2004 年にドラフト配列が公表された。将来的には組換え技術の利用が検討される可能性はあると考えられる。

(3) 組換え微生物の開発状況

1) 食品・医薬品分野

ゲノム解析技術の進歩にともなって、微生物のゲノム解読の速度は飛躍的に向上しており、研究室レベルでは多数の組換え実験が行われている。

これまでのところ食品、医薬品分野で利用されている組換え微生物は、従来から発酵工業で利用されている微生物が中心となっている。

表 1.1-10 米国における遺伝子組換え微生物由来食品添加物の認可状況

GRAS No.	酵素名	導入遺伝子の起源	宿主	認可時期
8	Pectin esterase	<i>Aspergillus aculeatus</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	1998
10	Exopeptidase	<i>Aspergillus sojae</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	1998
20	Pullulanase	<i>Bacillus naganoensis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	1999
22	Alpha-amylase (modified)	<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	1999
24	Alpha-amylase	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	1999
32	Pectin lyase	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichoderma reesei</i>	1999
34	Aspartic proteinase	<i>Rhizomucor miehei</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	1999
43	Lipase	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	2000
54	Xylanase	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	<i>Fusarium venenatum</i>	2000
72	Pullulanase	<i>B. deramificans</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	2001
75	Lipase	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	2001
79	alpha-amylase(modified)	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	2001
90	Carbohydrase	<i>Rhizopus oryzae</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	2001
103	Lipase(modified)	<i>Thermomyces lanuginosus</i> <i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	2002
106	Glucose oxydase	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	2002
120	malolactic enzyme	<i>Oenococcus oeni</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain ML01	2003
	malate permease	<i>S. pombe</i>		
122	laccase	<i>Myceliophthora thermophila</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	2003
126	alpha-amylase(hybrid)	<i>Thermococcales</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2003
142	phospholipase	<i>Fusarium venenatum</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	2003
158	lipase	<i>Candida antarctica</i>	<i>Aspergillus niger</i>	2004

※No.158 は認可待ち

(出典：米国 FDA ホームページをもとに作成)

2) 環境分野

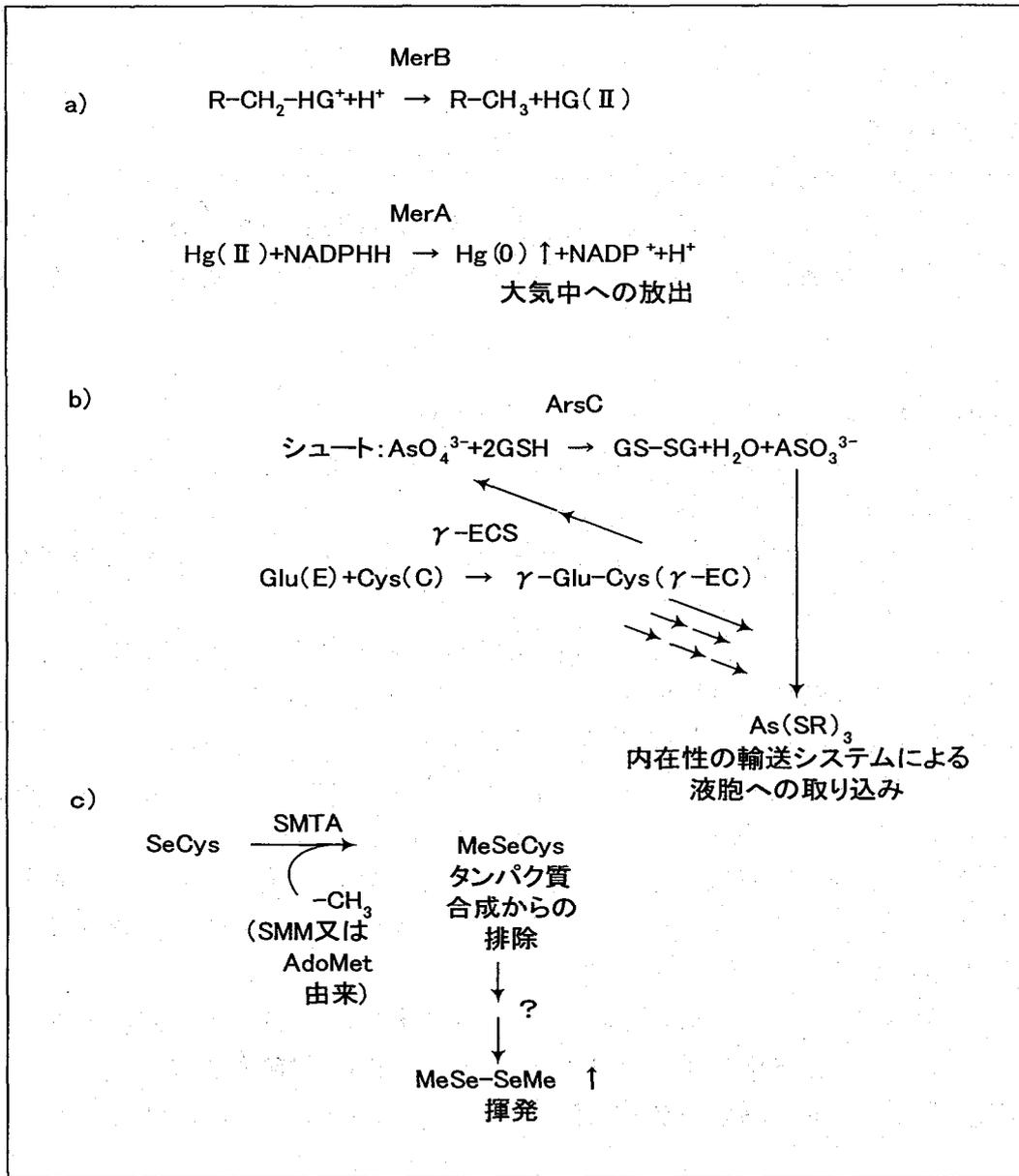
微生物利用のもう一つの有望分野として、微生物による環境修復（バイオレメディエーション）がある。組換え微生物による汚染物質の分解については、国内外で様々な研究があるが、環境影響への懸念があり、実用化は進んでいない。

○組換え植物によるファイトレメディエーション

近年、植物による重金属汚染浄化や、PCB やダイオキシン等の分解、大気汚染浄化を行う技術が注目されている。ファイトレメディエーションは、アメリカや EU で研究開発が行われ、石油関連物質や重金属による汚染の修復に実用化の目処がたちつつある。ファイトレメディエーション全体の 2005 年の市場規模は 258～440 億円と見込まれている（参考資料「植物による重金属汚染土壌の浄化」農林水産技術研究ジャーナル Vol.25 No.4 (2002)）。

植物による浄化は、特に重金属汚染の浄化に適すると言われている。重金属を植物に吸収させ、それを地上部で濃縮・集積させたものを収穫することにより土壌から重金属を取り除くのが基本的なプロセスである。さらに、重金属を高濃度に含有した植物体を灰化し、重金属を回収して再利用することもできる。ファイトレメディエーションに関与する重金属の代謝経路とそれに関与する遺伝子を図 1.1-2 に示す。

近年の研究では、重金属を高濃度に蓄積することができる植物の遺伝子を利用して、重金属浄化能を向上させた遺伝子組換え植物が作出されている。遺伝子組換え重金属耐性植物に関する海外の報告例を表 1.1-11 に示した。



遺伝子名	遺伝子の機能	由来	宿主	発現部位	蓄積効果
<i>arsC</i>	ヒ酸還元酵素	<i>E. coli</i>	タバコ	シュート	Cd 1.4 倍
<i>arsC</i>	ヒ酸還元酵素	<i>E. coli</i>	シロイヌナズナ	シュート	As (AsO_4^{3-}) 3 倍
$\gamma-ECS$	$\gamma-ECS$ シンセターゼ	<i>E. coli</i>	シロイヌナズナ	及び構成的発現	
<i>SMTA</i>	セレノシステインメチルトランスフェラーゼ	<i>A. bisulcatus</i>	シロイヌナズナ	構成的発現	Se (SeO_3^{2-}) 8 倍
<i>SMTA</i>	セレノシステインメチルトランスフェラーゼ	<i>A. bisulcatus</i>	<i>Brassica juncea</i>	構成的発現	SeO_4^{2-} , 5 倍の揮発
<i>YCF1</i>	GSH 複合体の液胞への蓄積	<i>S. cerevisiae</i>	シロイヌナズナ	構成的発現	Pb 1.4 倍, Cd 1.5 倍
<i>HMA4</i>	細胞からの金属の輸送	<i>A. thaliana</i>	シロイヌナズナ	構成的発現	Zn 2 倍, Cd 1.4 倍

図 1.1-2 植物による重金属浄化の原理と浄化効果

(注)蓄積効果は、非組換えの対照に対するシュート乾物中の最大濃度増加を示す。

(出典: Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils Ute Kraemer Curr Opin Biotechnol 2005, Vol.16, 1-9)

表 1.1-11 遺伝子組換え技術によって作出された重金属耐性植物 (国内外)

導入遺伝子	遺伝子 供与体	付与機能	対象 金属	導入植物	研究者	発表年
Metallothionein	ヒト	耐性	Cd	タバコ	S.Misra et al.	1989
Metallothionein	マウス	耐性	Cd	タバコ	I.B.Maiti et al.	1989
Metallothionein	ハムスター	耐性	Cd	タバコ	E.J.Bandle et al.	1993
Metallothionein	ヒト	耐性	Cd	タバコ	A.Pan et al.	1994
Hg(II) reductase <i>merA</i>	細菌	還元	Hg	シロイヌナズナ	C.L.Rugh et al.	1996
Metallothionein <i>CUP1</i>	酵母	耐性	Cd	カリフラワー	I.Hasegawa et al.	1997
Hg(II) reductase <i>merA</i>	細菌	還元	Hg	ポプラ	C.L.Rugh et al.	1998
Hg(II) reductase <i>merB</i>	細菌	還元	Hg	シロイヌナズナ	Meagher et al.	1999
Metallothionein-like protein	タバコ	耐性	Pd	タバコ	M.C.Suh et al.	1999
Glutathione synthetase		耐性	Cd	カラシナ	Y.L.Zhu et al.	1999
ATP sulfurylase		吸収・還元	Se	カラシナ	EAH.Smite et al.	1999
Glutathione synthetase		耐性	Cd	カラシナ	Y.L.Zhu et al.	1999
Zn-transporter	シロイヌナズナ	吸収・還元	Zn	シロイヌナズナ	B.J.Zaal et al.	1999
Sorbitol-6-phosphate dehydrogenase	シロイヌナズナ	吸収・還元	B	タバコ	Brown et al.	1999
Calmodulin-binding transporter	シロイヌナズナ	感受性	Ca	タバコ	K.D.Hirschi et al.	1999
CAX 1	タバコ	耐性・感受性	Ni, Pd		T.Arazi et al.	1999
CAX 2	シロイヌナズナ	集積・耐性	Mn	タバコ	K.D.Hirschi et al.	2000
Carboxypeptidase (Rice Type 1)	イネ	耐性	Cd	タバコ (Callus)	A.Tsuchizaki et al.	2000
NtBP4 channel protein	タバコ	耐性	Pd	シロイヌナズナ	R.Sunker et al.	2000
Metallothionein <i>CUP1</i>	酵母	耐性	Cd	ヒマワリ	M.Watanabe et al.	2001

(出典:「植物による重金属汚染土壌の浄化」農林水産技術研究ジャーナル Vol. 25 No. 4 (2002))

なお、表 1.1-12 のように、国内でも重金属浄化、有機化合物やダイオキシン類の浄化、大気汚染浄化に、遺伝子組換え植物を利用する研究が行われている。汚染物質耐性機能をもつ遺伝子の探索と植物への導入、およびバイオマス量の大きい植物への遺伝子導入という観点から研究が実施されている。

表 1.1-12 組換え植物によるファイトレメディエーションに関する研究例（国内-1）

分野	実用化レベル	内容	出典
重金属 浄化	研究	酵母のメタロチオエネイン合成遺伝子 (CUP1 遺伝子) を導入したカドミウム重金属耐性の組換えタバコ、シロイヌナズナ、カリフラワー、ヒマワリ、カラシナの作出	1) 2)
	研究	大腸菌由来の merA 遺伝子 (有機水銀を金属水銀に還元する遺伝子) を改変し導入した遺伝子組換えユリノキの作出。ユリノキに取り込まれた有機水銀が金属水銀に還元され大気中に気化放出される効果がある。	1)
	研究	アポプラズマ領域にカドミウムを多量に発現させてカドミウム蓄積能力を付加した遺伝子組換えタバコの作出	3)
	研究	アリッサムのニッケル耐性遺伝子を用いたニッケル耐性の組換え植物の作出	1)
	構想	重金属耐性に関与する含硫ペプチド (ファイトキレチン (PC)) の合成酵素 (PCS) を強化することによる遺伝子組換え植物の作出	1)
PCB・ダイオキシン類 等有機化合物 の浄化	研究	ヒトの肝ミクロソームの薬物代謝酵素遺伝子 (チトクロム P450) を導入した残留農薬軽減作物 (ジャガイモ、イネ) の作出	4)
	研究	哺乳動物の薬物代謝酵素遺伝子 (P450) を導入した組換え植物 (ウリ科植物等) の作出に関する研究。ダイオキシン類、PCB、シマジン、ノニフェノールを分解することを目的としている。	5)
	構想	PCB 分解能を強化/付与した遺伝子組換え植物の作出	1)
	構想	ダイオキシン分解能力のある木材腐朽菌、好気性プロテオバクテリア、メタン菌などの遺伝子導入による環境ホルモン分解組換え植物の作出	1)
	構想	脱ハロゲン化酵素遺伝子 (dehaloperoxidase) を利用した組換え植物の作出	1)

表 1.1-12 組換え植物によるファイトレメディエーションに関する研究例（国内-2）

分野	実用化レベル	内容	出典
大気汚染浄化	研究	硝酸還元に関与する亜硝酸還元酵素遺伝子を強化した遺伝子組換えシロイヌナズナの作出。硝酸還元能力が最大 40%に向上（大気中の NOx 吸収）したという結果が出ている。現在、街路樹への遺伝子導入を研究中。	1)
	研究	システイン合成酵素 A 遺伝子を導入した亜硫酸ガス耐性の遺伝子組換えタバコの作出。大気中の SOx 吸収の効果がある。	1)
	研究	活性酸素消去系酵素（グルタチオンレダクターゼ（GR））の遺伝子導入による二酸化硫黄耐性の遺伝子組換えタバコの作出 その他の活性酸素消去系酵素（SOD、APX、CAT）等の遺伝子操作の実施	1)
	構想	二酸化窒素同化能力に関与する遺伝子（NOx-フィリックス遺伝子群）を街路樹や園芸植物に導入して大気汚染を効率的に分解除去する組換え植物の作出。大気中の SOx 吸収の効果がある。	1)
	構想	バクテリアの亜酸化窒素を窒素ガスに変化する酵素遺伝子（NosZ）を組み込んだ遺伝子組換え植物の開発。大気中の SOx 吸収の効果がある。	1)

（出典）

- 1) 植物による環境負荷低減技術（エヌティエス）
- 2) 「植物による重金属汚染土壌の浄化」農林水産技術研究ジャーナル Vol.25 No.4 (2002)
- 3) 「植物による環境修復（2）遺伝子組換えタバコにおけるカドミウム蓄積量の増加」電力中央研究所報告 No.U02001 (2002/07)
- 4) 「環境負荷化学物質の負荷軽減型作物」農林水産技術研究ジャーナル Vol.25 No.4 (2002)
- 5) 「農業生産現場における POPs のリスク低減方法の開発」化学物質リスク総合管理技術研究イニシャティブ第 2 回合同プログラム会合（2005 年 1 月 20 日）

○組換え微生物によるバイオレメディエーション

PCB、TCE、ダイオキシン等の有機化合物の浄化について、微生物を利用したバイオレメディエーション技術が注目を集めている。中でも TCE、PCB 等の有機化合物の生物学的浄化では、植物よりも微生物が利用される例が多い。

また、バイオレメディエーションで使用される微生物は、そのほとんどが非遺伝子組換えの微生物である。近年、汚染物質の分解効率を上げるため、表 1.1-13 に示したような遺伝子組換え微生物によるバイオレメディエーションの研究が行われ始めたところである。

表 1.1-13 国内外における組換え微生物によるバイオレメディエーションに関する研究

分野	実用化レベル	内容	出典
PCB、TCE、芳香族化合物等の有機化合物の浄化	研究	PCB、TCE、芳香族化合物の分解性を向上させた遺伝子組換え微生物に関する研究	2)
	構想	PCB 分解活性を獲得するための遺伝子組換え PCB 分解細菌に関する研究	1)
水銀浄化	研究	遺伝子組換え微生物による水銀浄化活性に関する研究	3)

(出典)

- 1) 「微生物を利用した環境修復とゼロエミッション構想 PCB 処理における微生物の利用」海洋と生物 VOL. 26 NO. 2
- 2) 「バイオテクノロジーとバイオレメディエーション 成功と限界」Appl Microbiol Biotechnol VOL. 59 NO. 2/3
- 3) 「水銀耐性遺伝子を利用した水銀のバイオレメディエーション」ファルマシア VOL. 39 NO. 9

(4) 組換え菌類の開発状況

菌類の組換え体については、環境修復分野で白色腐朽菌などによるダイオキシン分解などの研究があるが、食用キノコの研究についてはほとんど文献がない。

森林総合研究所や(財)日本きのこセンターでは、農林水産省の研究開発プロジェクトの一環として、組換えキノコ的环境中での挙動等について研究を行っている。これは将来、組換えキノコが実用化された時に備えて環境影響、トレーサビリティについての情報を収集することが目的となっているようである。

これ以外にも国内外の食品、林業関係の研究者によって遺伝子導入の実験が行われているが、直ぐに実用化(食用)に結びつく研究というよりは、外来タンパク質を発現させるための基礎的研究が中心となっている。

以上のことから、食品分野におけるキノコの組換え体については、当面実用化するものは少ないと考えられるが、環境修復分野での研究も進められていることから、引き続き動向をウォッチしておくことが必要と考えられる。

キノコへの遺伝子組換え技術の応用に関する研究事例を以降に示した。

タイトル	ネナガノヒトヨタケ由来フルトラニル抵抗性遺伝子のクローニングとキノコの分子生物学への応用
著者	伊藤康博(食品総合研究所)
出典	食品総合研究所研究ニュースNO. 9; PAGE. 6-7; (2004/03)
概要	<ul style="list-style-type: none"> ・ネナガノヒトヨタケで使いやすい遺伝子組換えマーカー遺伝子を開発することを目標に、薬剤フルトラニルに抵抗性を示す突然変異遺伝子単離を行った。その結果、本遺伝子の特徴が明らかとなり、きのこの分子生物学に応用可能な興味深い知見が得られた。 ・フルトラニル抵抗性遺伝子の単離と抵抗性獲得機構の解明、およびプロモーターとミトコンドリア移行シグナルの解析について概説した。最後にきのこの分子生物学への応用に関して触れた。 ・具体的には、フルトラニルによるコハク酸脱水素酵素の阻害作用と変異型SdhCによる抵抗性の機構、SdhC遺伝子のプロモーター解析、SdhCタンパク質のミトコンドリア移行シグナル配列の解析についてデータが示されている。 ・SdhCは恒常的に発現量が多い遺伝子のようであり、さらに炭素源によって発現が強く誘導される可能性があるため、本遺伝子のプロモーターはきのこで外来タンパク質を大量発現させる際に利用可能だと考えられた。

タイトル	キノコ内で有用タンパク質を強力に生産するための発現ベクター
著者	山岸賢治ほか(農業技術研究機構 東北農研セ)
出典	食品研究成果情報NO. 14; PAGE. 60-61; (2002/06/28)
概要	<ul style="list-style-type: none"> ・スエヒロタケを素材として、任意の有用タンパク質をキノコ内で大量に生産可能な遺伝子発現ベクターを提供することを目的にした。 ・キノコで強く発現する遺伝子群のプロモーター、ターミネーターを組み込んだ発現ベクター3種類を新たに構築した。この発現ベクターを用いることにより、キノコの性質を変化させ、有用酵素等を多量に生産することが可能である。キノコ子実体形成を抑える遺伝子の発現、キノコに抗生物質耐性を与える遺伝子の発現を例として示した。

タイトル	Agrobacterium tumefaciensのT-DNAを用いたAgaricus bisporusの形質転換 (原題: Transformation of the cultivated mushroom Agaricus bisporus (Lange) using T-DNA from Agrobacterium tumefaciens)
著者	MIKOSCH T S P, LAVRIJSSSEN B, SONNENBERG A S M, VAN GRIENSVEN L J L D, (Dep. Genetics and Breeding, Horst, NLD)
出典	Curr GenetVOL. 39 NO. 1; PAGE. 35-39; (2001/02)
概要	<ul style="list-style-type: none"> ・ Agrobacterium tumefaciens由来のT-DNAを利用して、標記きのこの発芽担子胞子と菌糸体を形質転換した。 ・ T-DNAは宿主のゲノムのランダムな場所に挿入されており、選抜マーカーは細胞分裂と減数分裂の間も安定であった。 ・ A. bisporus栽培株の栄養生長期にある菌糸体の形質転換で、その作物価値が向上した。

タイトル	きのこの有用遺伝子の単離とその応用に関する研究(委託)
著者	松本哲夫 (群馬県林業試験場)
出典	群馬県林業試験場業務報告VOL. 2000; PAGE. 88-89; (2001/07/01)
概要	<ul style="list-style-type: none"> ・ 木材腐朽能力の優れたきのこから腐朽能力に関与する遺伝子を取り出してシイタケ等の栽培きのこに導入する研究を行なった。 ・ 2種類の形質転換ベクターを用いて、シイタケの同時形質転換実験を行ない、ハイグロマイシンB抵抗性遺伝子とラッカーゼ遺伝子の両方を導入したシイタケが作出できた。 ・ また、導入したヒラタケ由来ラッカーゼ遺伝子の発現を確認するため菌株を液体培養し、酵素基質ABTSを用いた活性染色を行なった結果、導入した遺伝子の発現が確認できた。

1. 2 海外主要国における遺伝子組換え体の規制動向

1. 2. 1 米国

(1) 規制体系

米国では日本のカルタヘナ法のような包括的な法律は存在せず、GMO 規制は各省庁と個別法がそれぞれの分野を分担する形で行われている。その分担は次の通りである。

表 1.2-1 米国における GMO 規制の関連官庁

官庁	所掌	関連法規
USDA	植物病害虫 植物病害虫の可能性のある GM 作物 家畜用の生物学的製剤	Federal Plant Pest Act (FPPA)
EPA	微生物農薬 毒性物質を作る植物 植物に導入された駆除剤 (PIP)	Federal Insecticides, Fungicides, and Rodenticides Act (FIFRA), Toxic Substances Act (TSCA) Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FFDCA)
FDA	食料、飼料、食品添加物、医薬品、 医療用品、化粧品	Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FFDCA)

具体的な品目別の規制の分担は例えば次のようになる。

表 1.2-2 各種の組換え体における監督官庁の役割分担

生物／導入形質	官庁	所管
作物／害虫抵抗性	USDA	栽培と輸送における安全
	EPA	PIP の人と環境への影響
	FDA	食品安全
作物／除草剤耐性	USDA	栽培と輸送における安全
	EPA	同時に使用される除草剤の新規利用
	FDA	消費における安全
作物／油脂組成改変	USDA	栽培と輸送における安全
	FDA	消費における安全
花き／除草剤耐性	USDA	栽培と輸送における安全
	EPA	同時に使用される除草剤の新規利用
花き／色変わり	USDA	栽培と輸送における安全

(出典：APHIS (2003) より改変)

(2) 最近の動向

○規制の見直しに関わる動向

近年米国では、食用の組換え体よりも医薬品等を生産するための組換え植物の開発が活発になっている（参考資料：APHIS 資料参照）。

このような動向を踏まえて、USDA、EPA で規制体系の見直しの必要性についての検討が進められている模様である。

○組換え体の環境影響、食品安全評価に関する動向

2004 年初めに National Research Council から組換え体の生物学的封じ込めに関する報告書「Biological Confinement of Genetically Modified Organisms」が公表される。

2004 年 7 月 NRC の報告書「Safety of Genetically Engineered Foods」が公表される。2004 年 9 月 APHIS のワークショップ「組換え作物の野外試験における封じ込め」が開催される。

以上のように新しい組換え体の利用にともない、より詳細なリスク評価と管理を求める動きが出てきている。

1. 2. 2 EU

(1) 規制体系

EUではGMOの規制に関連する規制が1990年代後半からたびたび改正されている。その経緯は表1.2-3の通りである。

表 1.2-3 EUにおけるGMO規制の経緯

適用分野	関連するEUの法規等		
栽培	2001年9月まで		2001年10月から
加工、保存、取扱	Legislation : Directive 90/220/ECC (Directives 94/15/EC, 97/35/EC, Decision 92/146/EEC, Guidance Notes)		Legislation : Directive 2001/18/EC, Decisions 2002/811/EC, 2002/623/EC
種子	Decision 92/146/EEC, Guidance Notes)		
その他	Guidance: SCP Guidance (1998)		
食品	1997年5月まで Legislation : Directive 90/220/ECC (Directives 94/15/EC, 97/35/EC, Decision 92/146/EEC, Guidance Notes) Guidance: SCP Guidance (1998)	1997年5月から2004年4月まで Regulation 258/97 (Novel Food Regulation) Guidance: Up to 03/2003: Recommendation 97/618/EC 2003年3月 SSC Guidance (2003)	2004年4月から Regulation 1829/2003 2004年4月 EFSA Draft Guidance
飼料	2001年9月まで Directive 90/220/ECC (Directives 94/15/EC, 97/35/EC, Decision 92/146/EEC, Guidance Notes) Guidance: SCP Guidance (1998)	2001年10月から2004年4月まで Directive 2001/18/EC, Decision 2002/811/EC, 2002/623 EC 2003年3月から Guidance: SSC Guidance (2003)	2004年4月から Regulation 1829/2003

SCF: Scientific Committee on Food, SCP: Scientific Committee on Plants,

SSC: Scientific Steering Committee

(出典: Risk Assessment of GMO Products in the European Union, オーストリア環境省、2004)

組換え作物に関する最初の規制は1990年に定められた。これは、食品や飼料としての安全性などを包括的に規制した、いわゆる環境放出指令と呼ばれるものであるが、2001年に改訂された。

食品としての安全性については、97年から「Novel Food Regulation 258/97」(新規食品規則)によって規制され、この中で表示義務付けなども行われてきた。

2003年7月に成立した「GM Food & Feed Regulation 1829/2003」(食品・飼料規則)では食品と飼料を一本化し、共通の認可手続きを定めている。なお、この規則とあわせて「Traceability and Labeling Regulation 1830/2003」(表

示・トレーサビリティ規則)も同時に成立している。両規則とも2004年4月から施行されている。

(2) 最近の動向

最近のEU規制に関する最大の動きは、モラトリアムの解禁と「共存」への取り組みである。主な動きは表1.2-4の通りである。

表1.2-4 EUにおけるGMO規制に関する動向

2003年	7月：組換え作物と慣行および有機農業との共存を確保するための国家戦略と有料実施規範の作成に関する指針 (Coexistence guideline) についての勧告 →これを踏まえて、各国で優良規範 (隔離方法等)、被害が生じた場合の責任、近隣住民への情報提供等を含めた国内制度を構築中 (別紙)
2004年	5月：組換えトウモロコシ (Bt11、Syngenta社) の承認 (食用のみ、栽培は未承認) 9月：害虫抵抗性トウモロコシ (Monsanto社) の承認 (栽培) 11月：害虫抵抗性トウモロコシ (Monsanto社) 未承認 (飼料・加工用) 12月：除草剤耐性ナタネ (Monsanto社) の域内への輸入許可について結論出ず

1. 2. 3 ドイツ

(1) 規制体系

ドイツでは従来からの「遺伝子工学法」に代わって新しい法律が制定され、本年2月から施行されている。この法律は組換え作物と非組換え作物の「共存」のために、GMOを厳格に管理する内容となっている。

○法律名：遺伝子工学法 (Gentechnikgesetz)
(2004年11月26日成立、2005年2月3日告示)

○法律の目的

遺伝的に改変された生物が人・動植物の生命・健康ならびに環境にもたらすリスクからの保護及び予防。

○規制対象

- ・ 遺伝子工学施設、遺伝子工学操作、遺伝的に改変された生物の放出、流通
- ・ 遺伝的に改変された生物の人体への利用は適用除外

○主な改正内容

- ・ 栽培地の登録制
- ・ 栽培者は輸送や保管中に緩衝地帯や分離などの隔離措置を講じる。
- ・ 損害賠償規定：交雑による経済的損失が生じた場合（有機栽培農家または非組換え作物栽培農家が生産物を有機農産物または非組換え農産物として販売できない場合）組換え作物を栽培する農家が賠償責任を負う。
- ・ 汚染を引き起こした農家が特定できない場合には、すべての近隣 GM 農家が連帯責任を負う。
- ・ あわせて自然保護法を改正し、国内での生態系影響を受けやすい地域での GMO 栽培を禁止。

(2) 最近の動向

○新法をめぐる動向

- ・ 最新の情報によれば、ドイツ国内では、トウモロコシ、ナタネについて 101 ヲ所で組換え体の栽培申請が出されている。
- ・ しかし、このような動きと拮抗するように、GM フリー地域をつくろうとする環境団体、農家の動きも活発になっている。ドイツの代表的な環境団体 BUND は、ホームページで GM フリーの地域をつくるために各地の農家等へ呼びかけを行っている。

1. 2. 4 オーストラリア

(1) 規制体系

オーストラリアは日本にとって米国、中国に次ぐ穀物の輸入先であるが、これまでのところ組換え作物の利用には消極的である。オーストラリアの法律の概要は以下の通り。

法律名：遺伝子技術法 (Gene Technology Act)

(2000年12月制定、2001年6月21日施行)

○制定の経緯

GT法は、遺伝子技術がもたらすリスクを確認して、GMOの取り扱いを規制し、それらのリスクを管理することにより、国民の健康・安全と環境を保護することを目的として制定された(表1.2-5)。

GT法の国内法体系上の位置付けについては、1997年に発表された政府方針に沿って、食品安全等既存の法律による製品ごとの規制制度は若干の調整を除きそのまま維持することとなったほか、対応する各州法の存在は認めつつ、州からGTRへの職務や権限の委任を認めること等により、連邦と州が相互補完的に全国一律のスキームを形成するよう意図して制定されている。

表 1.2-5 GT法成立までの経緯

1989年		ビクトリア法改正委員会勧告
92年		下院産業科学技術常任委員会報告
93年		豪州科学技術会議報告
94年		連邦政府による法制化検討開始(既存規制との調整)
97年	10月	連邦政府が新たなGMO規制を導入する方針を発表
99年	8月	遺伝子技術規制暫定事務局(IOGTR)が設置され、遺伝子操作諮問委員会(GMAC)と協力してGMO取り扱いの監視、GT法案及び遺伝子規制局(OGTR)設立の準備開始
	12月	IOGTRがGT法案を公表してパブリックコメントを募集
2000年	2-3月	IOGTRが全国3ヶ所で公聴会開催 IOGTRが各コメントを踏まえた法案の修正作業を実施
	6月	連邦政府が「GT法案・関連法改正法案パッケージ」を議会に提出
	8月	IOGTRが「GT規制法第1次草案」を公表してパブリックコメントを募集
	12月	「GT法案・関連法改正法案パッケージ」一部修正の上議会を通過
	12月	英総督署名により成立
2001年	1月	IOGTRが「GT規制第2次草案」を公表してパブリックコメントを募集
	6月	GT法・規則施行、遺伝子技術規制局(OGTR)発足

(出典：「豪州における遺伝子組換え体諸規制見直しの動向」渡部靖夫 農林水産政策研究、2001年1月号)

○州の独自判断による適用除外条項 (Opt-out Provision)

GT 法では州の独自判断による適用除外を認めている。これは、離島という地理的条件を生かした「清潔な」農産物イメージで商業上の利益を得てきたとするタスマニア州の要望などを反映したものである。この条項を含めて、近年、表 1.2-6 のような動きが出てきている。

表 1.2-6 オーストラリアにおける近年の GMO 規制に関する動向

2003 年	<p>7 月：オーストラリアは Bayer Crop Science 社の In Vigor 種の営業栽培を許可し、New South Wales 州、Victoria 州、South Australia 州の 3 州で柔軟な対応が可能になった。(オーストラリアではカーネーションと綿に続く遺伝子組換え作物の商業栽培の許可であり、食用作物では初めて)。</p> <p>10 月：オーストラリア保健省の遺伝子技術規制局 (OGTR) が、Monsant 社の遺伝子組換えカノーラの商用栽培の支持を発表。</p> <p>11 月：2 種類の遺伝子組換えカノーラの承認。</p>
2004 年	<p>3 月：Victoria 州が遺伝子組換え作物の商用栽培モラトリアムの延長を発表。West Australia 州、South Australia 州、Tasmania 州は禁止、Queensland 州も許可の見込みなし。</p> <p>4 月：New South Wales 州も遺伝子組換えカノーラ大規模栽培の禁止。</p>

1. 2. 5 その他

EU 各国で組換え作物と非組換え作物の共存についての法制度の整備が進められている。その中でデンマークは最も早く 2004 年 6 月 9 日に「遺伝的に改変された作物の改変等に関する法律」を施行し、具体的な共存のための方法を定めている。また、スイスで 2004 年 1 月から遺伝子工学法 (Gentechnikgesetz) の改正法が施行されている。この改正法でも、組換え体の試験栽培について、非組換え体との「共存」のために非常に厳格な規制が設けられている。

(1) デンマーク

○遺伝的に改変された作物の栽培等に関する法律 2004 年 6 月 9 日、法律 436 号

“Act on the Growing etc. of Genetically Modified Crops”

法律の範囲と定義

第 1 条

本法律は遺伝的に改変された作物の商業栽培、取引、販売と最初の購入者までの輸送において、花粉、種子および栄養繁殖体の他のほ場や作物への拡散の可能性を制限することを目的とする。

栽培、取引、販売、輸送等

第 3 条

- ・ 組換え作物の栽培、取引、販売、輸送を行うためには、組換え作物と通常の作物又は有機栽培作物のほ場における共存についての教育に関する要件を満たすことを示す認可 (ライセンス) を受けなければならない。
- ・ 上記の教育は食料農業水産大臣の認可を受けた者が開設する課程によるものでなければならない。

第 4 条

食料農業水産大臣は栽培許可に一定の制限を課し、特定の作物に対して栽培許可を与えないことができる。

第 5 条

- ・ 遺伝子組換え作物の種子又は栄養繁殖体の販売は許可を受けた栽培者のみに対して行うことができる。
- ・ 遺伝子組換え作物の種子又は栄養繁殖体の販売者は登録され、その販売につ

いては当局に報告を行う。

第6条

遺伝子組換え作物の栽培、取引、輸送については以下の事項を定める。

- ① 遺伝的に改変された素材の取引又は輸送を行う者の登録
- ② 近隣のは場の所有者および使用者、購入者、共同耕作者等に対して以下の事項について通知すること。
 - ・ 遺伝子組換え作物の栽培
 - ・ 運搬手段、機械、設備、貯蔵施設等の利用
 - ・ 運搬手段、機械、設備、貯蔵施設等の利用権又は所有権の譲渡
- ③ 遺伝子組換え作物を栽培する田畑についての報告を行うこと
- ④ 他のは場との距離や耕作期間
- ⑤ 貯蔵と輸送
- ⑥ 運搬手段、機械、設備、貯蔵施設の洗浄

補償制度

第9条

- (1) 食料農業水産大臣は、以下の場合において、遺伝的に改変された素材が作物に混入したことにより生じた耕作者の損失に対して補償を行う。
 - ・ 特定地域内の同じ作期において、同種又は近縁の遺伝子組換え品種が栽培されており、これが損害を受けた耕作者の作物と交雑した可能性がある場合
 - ・ 遺伝子組換え作物が損害を受けた耕作者の作物中に同定された場合
- (2) 大臣は上記の場合における地域の範囲を定める。
- (3) 耕作者への補償額は以下の金額を超えない。
 - ・ 遺伝的に改変された素材が混入したことによる作物の販売価格の減少分
 - ・ サンプルング、分析のための費用
 - ・ 有機栽培の区域又は動物を転換するために生じた損害
- (4) 上記の(1)の規定によらず、認可を受けた有機栽培農家が、その播種用の種子に遺伝子組換え種子が混入したことにより損害を受けた場合には、大臣は補償を行う。
- (5) 遺伝的に改変された素材が作物に混入したことによる被害に対する補償は、大臣が定める一定の閾値を超えていない場合には支払われない。

(2) スイス

法律名：遺伝子工学法 (Gentechnikgesetz)

(2003年3月21日改正、施行：2004年1月1日)

○改正の目的

- ・ 遺伝子改変生物の不適切な利用による人と生態系への悪影響を防止する。
- ・ 生命の尊厳の尊重と生物多様性の保全
- ・ 遺伝子組換えによらない製品の保護
- ・ 消費者の選択の自由の保証

○新しく設けられた規制の内容

第6条

第1項

遺伝子改変生物は、その物質交換の産物および廃棄物が以下の条件を満たす場合にのみ取り扱うことができる。

- a. 人や動物、生態系へ悪影響を与えないこと。
- b. 生物多様性とその持続可能な利用を損なわないこと。

第2項

遺伝子改変生物の開放系における試験栽培は以下の場合に実施することができる。

- a. 得ようとする知見が閉鎖系の試験では得られないこと。
- b. 試験が、遺伝子改変生物のバイオセーフティの研究に役立つこと。
- c. 遺伝子工学的に導入された医学、獣医学分野で用いられる抗生物質に対する耐性遺伝子を含まないこと。
- d. 現在の知見からみて、遺伝子改変生物とその導入形質の拡散の可能性がなく、第1項の原則が損なわれないこと。

第37条

医学、獣医学分野で用いられる抗生物質に対する耐性遺伝子は、2008年12月31日までは開放系実験において用いることができる。

1. 2. 6 まとめ

以上のことを総括すると、今後もいわゆる第二世代の組換え植物や医薬品等の有用物質をつくる組換え体の開発は進むと予想されるが、非組換え体との「共存」のために、より厳格な管理が可能な組換え体の開発が必要になると考えられる。

具体的には、①遺伝子流動の制御（防止）が可能な組換え体、②抗生物質耐性遺伝子が含まれない組換え体などの開発ニーズが増すと予想される。

2. 組換え食品等の安全性に関する考え方の整理

2. 組換え食品等の安全性に関する考え方の整理

2. 1 遺伝子組換え食品の安全性に関する研究事例

主要な科学技術文献データベース及び書籍データベースを対象として、遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する最近の文献を検索した。その結果は次表 2.1-1 の通りである。

No.1 の ILSI の報告書は、組換え作物の最新の開発動向を紹介するとともに、今後増加するであろう栄養改変された組換え食品の安全性評価の考え方と必要なデータについて詳しく紹介している。

No.2 の報告書は、人を含めた各種の生物の遺伝子を組換え技術によって食品に導入する場合の倫理的問題について整理している。安全性評価に関する具体的な記述は行われていない。

他の研究事例は、植物、動物などの生物分類毎に安全性評価の問題点と課題を整理したものが多。

1 章で述べた通り、現在、遺伝子組換え食品は農作物の実用化が圧倒的に進んでおり、いわゆる第二世代の機能性をもった食品の開発がますます活発になると考えられる。そこで、文献 1 の ILSI の報告書の概要について次節で詳しく紹介する。

表 2.1-2 遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する研究事例個票 (1/2)

4	研究テーマ	Genetically modified food crops for improving agricultural practice and their effects on human health (農業体系の改良のための遺伝子組換え作物とそのヒトの健康への影響)
実施機関・実施者		Thomson, J. (University of Cape Town, South Africa)
キーワード		遺伝子組換え作物、食品安全
背景・目的		<p>遺伝子組換え作物の導入は 1995 年以來劇的に増加しており、特に途上国において伸びが大きい。遺伝子組換え作物生産農家も増え、その 3/4 以上は害虫抵抗の <i>Bt</i> ワタを生産している。2001 年現在、作付面積にしてダイズ、ワタ、ナタネ、トウモロコシの 4 作物の 19% は遺伝子組換え体である。最も利用されている形質は除草剤耐性、害虫抵抗とその組み合わせである。世界の遺伝子組換え作物の作付面積は、アメリカ合衆国(68%)、アルゼンチン(22%)、カナダ(6%)、中国(3%) (2001 年) となっている。また、遺伝子組換え作物の種子の売り上げも伸びているが、大衆の理解が得られていないため、頭打ちの傾向にある。2025 年までに多くの地域で食糧不足が起こることが予測されている。特にサハラ以南のアフリカでは人口が倍増することが予測されており、この人口に見合う食料生産は不可能である。食糧生産に向かないやせた土地であるため、生産量を増やすには遺伝子組換え作物の利用が有効であると考えられる。</p>
研究内容・結果		<p>○遺伝子組換え作物の有用性</p> <ul style="list-style-type: none"> ・最も商品化が進んでいる遺伝子組換え作物は、除草剤耐性ダイズと害虫耐性ナタネ、ワタである。 ・少なくとも 2025 年までに、生物(害虫などの)への耐性、あるいは、非生物(除草剤など)への耐性を持つ作物を開発することは、途上国の食糧生産の持続に重要である。その際、遺伝子組換えや他の技術が有効となる。 <p>○遺伝子組換え作物の効果と影響</p> <ul style="list-style-type: none"> ・直接的な環境影響としては、目的以外の生物多様性に影響することが考えられ、間接的な影響としては、農業経営のあり方を変えてしまうことが考えられる。 ・遺伝子組換え作物は、先進国においても途上国においても生産コストを抑え、正の効果を経済にもたらす。 ・遺伝子組換え作物の効果や影響を、農業効率、食糧生産、環境影響の点から科学的に監視することが重要である。 <p>○遺伝子組換え作物に対する基準</p> <ul style="list-style-type: none"> ・アメリカでは、USDA、食品医薬品局(FDA)、EPA が遺伝子組換え作物と生物の規制を行っており、環境と健康に対する安全性を考慮している。 <ul style="list-style-type: none"> ・USDA: 野外試験と農業的な環境試験の監視を行っている。野外試験のための公式な認可や、実験室の種子を野外試験に用いる権限を与えている。野外試験の全ての過程を調査し、新たに導入した遺伝子とその導入形質以外の点で変化していないか、多くのパラメータを用いて検査する。非標的種に組換え作物が影響を及ぼしていないか確認する。また、植物が強害雑草に変化したり、強害雑草を作り出すことのないよう責任を持つ。

表 2.1-2 遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する研究事例個票 (2/2)

<ul style="list-style-type: none"> ・ FDA：食品の安全性に関して、初期の段階から監視を行っている。開発者に初期の段階で接触し、食品と飼料の安全性を確実にするための適切な研究の枠組みを提示し、また、安全でないと思われる食品を直ちに市場から撤去する権限を持つ。組換え植物について重要なパラメータを比較し、予期しない影響についてはさらに追究している。農薬関係以外の新たに発現したタンパクについては全て評価を行っている。 ・ EPA：疫病と害虫耐性作物の規制を行う。化学農薬を代替する組換え植物に対し、4ha以上で試験を行う場合の許可を与える。食品中の組換え作物由来の疫病耐性タンパク質の上限を決定する。毒性試験で組換え作物が動物やヒトに害を与えないことを確かめる。また、消化率や他の結果から導入遺伝子がアレルゲンを生産しないかどうか判定する。 ・ EU では、以前にヒトが消費したことのない食物と食品添加物を市場に出すことに EU Regulation No. 258/97 の規制を適用している。また、環境中への放出については Directive 2001/18/EC の下で行われている。 ・ 発展途上国に関しては、国連環境計画 (UNEP) と Global Environmental Fund (GEF) が National Biotechnology Framework の構築を計画している。 <p>○必要な知見</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 従来品に比べた効果、侵略性のリスク、間接的影響 (目的以外の生物への影響)、新しい植物ウイルス病の導入可能性、予期しない影響 (従来品でも起こっているが) などの知見が必要である。これらの知見は現在開発中の新しい技術によって得られるだろう。
<p>組換え体の安全性に関する事項</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 除草剤耐性ダイズ (RoundupReady™) では、その耐性は農業に使用される他の除草剤よりも有害性、持続性が低い。 ・ 組換えにより、その作物が侵略性の種に変化する可能性がある。作物が侵略性を獲得することはほとんどないが、これに反する試験結果もある。 ・ 花粉による遺伝子拡散といった生態学的影響もあるが、これについても矛盾する結果が得られており、更なる研究が必要である。 ・ 組換え作物により、昆虫の群集への間接的影響が考えられる。 ・ ウイルス耐性遺伝子の導入では、外被タンパク質による他のウイルスのトランスエンカプシレーションや、外被タンパク質転写物と新たな RNA ウイルスとの RNA 組換えが潜在的リスクとして考えられる。
<p>出典 ・ Food Science and Technology, Vol.14, 210-228, 2003</p>

表 2.1-3 遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する研究事例個票 (1/2)

5	研究テーマ	Genetically modified fish and their effects on food quality and human health and nutrition (遺伝子組換え魚類とその食品品質、ヒト健康と栄養への影響)
実施機関・実施者		Machlean, N. (University of Southampton, UK)
キーワード		遺伝子組換え魚類、食品安全、環境影響、規制動向
背景・目的		<p>魚はその量と栄養価において食生活にとって重要である。しかし乱獲による魚の減少が見られている。この様な状況で、養殖が捕獲漁業に取って代りつつある。養殖が質、量共に魚の生産に貢献していくのは明らかである。魚への遺伝子組換え技術の応用は可能であり、遺伝子組換え魚の利点、欠点を議論する必要がある。</p>
研究内容・結果		<p>○遺伝子組換え技術の魚への適用</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 様々な種類の遺伝子組換え魚が作られており、その多くはゼブラフィッシュやメダカなどのモデル魚を用いた基礎研究である。その中にはアトランティックサーモン、銀鮭、アルプスイワナ、ティラピア、コイ、カワカマス、ブチナマス、ドジョウといった養殖に応用可能なものもある。 <p>○遺伝子組換え魚の効果と影響</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 遺伝子組換え魚の養殖では、環境への影響を考慮すると、不妊化処理を施すか、効果的な物理的封じ込めが必要となるだろう。 ・ 遺伝子組換え魚の摂食は安全であると考えられるが、リスクを考慮するとまだ十分とは言えない。遺伝子組換えにより好ましくない形質が現れることがある。 <p>○基準と規制</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ アメリカでは、旧農業バイオテクノロジー研究諮問委員会 (ABRAC) が 'Performance Standards for Safety Conducting Research with Genetically Modified Fish and Shellfish' を 1995 年に公布している。 ・ イギリスでは、旧環境省が 'Genetic Modification of Fish. A UK Perspective' を 1994 年に公布している。 ・ これらの規制は、商業的開発と意図的な放出を踏まえた、環境への遺伝子組換え魚の影響に適応したものである。 ・ また、遺伝子組換え魚が食物連鎖に入る可能性がある際に適用し得る、適切な規制も必要である。 <p>○理解の格差</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 魚の需要は増加しているため、先進国でも発展途上国でも遺伝子組換え魚は将来重要になると考えられる。しかし、遺伝子組換え魚の利用は消費者の理解が得られなければ実現しない。

表 2.1-3 遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する研究事例個票 (2/2)

**組換え体の安全性
に関する事項**

○遺伝子組換え魚の摂取とその安全性

- ・ 組換えられた DNA とその遺伝子から作られるタンパク質は通常の方法で消化される。
- ・ 近年の遺伝子組換え魚は同じ種の魚から得られた配列のみを用いて組換えている。
- ・ 現在の養殖魚を改良したものが遺伝子組換え魚とも考えられ、その摂食は安全だろうと言える。
- ・ 遺伝子組換えティラピアの試食についての報告もある。

○遺伝子組換え魚のヒトへの考えられる影響

- ・ 抗生物質耐性が組み込まれた魚類を摂取すると、ヒト腸内細菌にその遺伝子が再組換えされる可能性がある。通常抗生物質耐性としては、ネオマイシン耐性(neo)が利用されている。遺伝子組換え魚の検出に抗生物質耐性は有効であるが、ゼブラフィッシュ、メダカといったモデル魚以外では近年は利用されなくなってきた。
- ・ 臓器に毒素を持つ種があるが、この毒素タンパク質をコードする遺伝子を組換えに使用しないようにすべきである。
- ・ 通常は無害のタンパク質が、新たな組織で発現し、魚の栄養価を下げってしまう可能性がある。
- ・ 組換え遺伝子はランダムに魚のゲノムに入るので、隣接する DNA の不適切な活性化や発現が起こる可能性がある。これは、組換え遺伝子のプロモーターから読み始めてしまうことや、他の部位の影響によるものである。しかし、このような現象の報告はこれまでのところない。

○摂取を考慮した組換え遺伝子の選択とそのリスク

- ・ プロモーターと目的タンパク質をコードする配列はリスクを最小限にするよう選ぶ必要がある。特に同一または近縁種のプロモーターには注意が必要であり、異常発現による起こりうる生理的影響を検討するべきである。
- ・ 遺伝子組換え魚には lacZ、luc、neo、CAT、GFP と呼ばれるレポーター遺伝子が利用されている。これらのタンパク質を摂取することによるリスクは、neo 以外はおそらく無視できるが、遺伝子組換え魚をヒトが摂取することは、避けた方が賢明と思われる。

○食品としての遺伝子組換え魚の影響評価において考慮すべき点

- ・ 組換え遺伝子のプロモーターの由来とその特異性。
- ・ 組換え遺伝子がコードする配列の産物とそれを摂取したときの安全性。
- ・ 組換え遺伝子に含まれる他の配列と、その配列が発現に影響するかどうか。
- ・ ゲノム上の組換え遺伝子の結合部位。
- ・ 組換え遺伝子のコピー数。複数のコピーが存在する場合はその配置。
- ・ 組換え遺伝子を持つ魚に突然変異の形跡があるか。
- ・ 何世代の魚が生産されたか。
- ・ 遺伝子組換え魚と野生種の餌の取り込みの差異とその理由。
- ・ 魚の生理機能や骨格の差異。
- ・ 魚の外見や風味の差異。それを判別するのに適切な方法は何か？
- ・ 遺伝子組換え魚は、その魚の種に既知の病気を起こしやす、または起こしにくい傾向を持つか？

出典

・ Food Science and Technology, Vol.14, 242-252, 2003

表 2.1-4 遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する研究事例個票 (1/2)

6	研究テーマ	Genetically modified livestock and poultry and their potential effects on human health and nutrition (家畜・家禽分野の組換え体の作成状況とヒトの健康・栄養面での影響)
実施機関・実施者	Sang, H. (Roslin Institute, UK)	
キーワード	家畜、家禽、食品用途	
背景・目的	<p>家畜、家禽の遺伝子組換えが様々な技術により可能となり、また更なる進歩が求められている。家畜、家禽の遺伝子組換えでは、農業への応用とヒトの健康に関する応用が主であり、既往の方法で得られない能力の開発が応用の焦点となる。大多数の遺伝子組換えの研究は、哺乳類を利用しており、特にマウスがよく用いられる。</p> <p>ここ数年は、遺伝子組換えの家畜、家禽は市場に出ないと考えられるが、市場に出すことを見越して作り始めている国もある。家畜と家禽のリスクは対動物、対ヒトによって異なり、またその使用方法によっても異なってくる。新しい食品のリスクは、遺伝子組換え植物の評価方法と同様の方法で検討する必要がある。遺伝子組換え家畜、家禽の環境影響は、遺伝子組換え植物や魚よりは低いと考えられる。しかし、他の遺伝子組換えに比べ、組換え家畜を受入れることに対して市民の理解を得るのが難しい。</p>	
研究内容・結果	<p>○遺伝子組換え家畜、家禽の有用性</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 家畜、家禽の遺伝子組換えの応用としては、動物の生産、栄養、ヒトの健康の3つの分野がある。 ・ 生産に関しては、生育の操作、病気への耐性、品質の向上、環境影響の緩和などが遺伝子組換え技術の利用法として挙げられる。 ・ 栄養に関しては、ミルクの改良が主で、乳腺内の遺伝子発現や、ミルクの含有成分を変化させる遺伝子操作によって、ミルクへ新たなタンパクを付加するような遺伝子組換えに焦点があてられている。 ・ ヒトの健康に関しては遺伝子組換え製品が市場に出る程度まで進歩している。具体的には、遺伝子組換え動物による薬剤タンパク質の生産、ヒトへの移植(異種移植)を目的とした組換えブタによる組織の生産、ヒトの病気に対するモデル構築のための利用が挙げられる。 ・ 家畜の遺伝子組換え手法はマウスで試験されたものが主で、卵への生殖核注入を行い、宿主染色体に遺伝子を導入する。新たな遺伝子の追加であるため、特定の遺伝子発現を制御しやすい。 ・ マウスの遺伝子組換えにおいて胚幹細胞(ES細胞)を用いる方法があるが、家畜では利用できなかった。 ・ 遺伝子組換え家畜をドナーにすれば、細胞核移植の技術の家畜の遺伝子組換えに利用することが可能になると考えられている免疫拒絶反応を軽減するようにドナーになる動物(ブタ等)を組み換える技術が、進展すると考えられる。 ・ 家禽については、繁殖の生理機能や卵黄からの胎児の発育における哺乳類との違いから、家畜ほどは遺伝子組換え技術が進展していない。 <p>○遺伝子組換え家畜、家禽の効果と影響</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 遺伝子組換えによる産物は個々にリスク、コスト、利益の面で評価する必要がある。特に、同じ結果を得る他の手法よりコスト面で効果的であるかの検討が重要である。 	

表 2.1-4 遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する研究事例個票 (2/2)

<ul style="list-style-type: none"> ・ 家畜、家禽からの組換え遺伝子の拡散による環境へのリスクは低い。可能性のあるリスクとしては、病気への耐性のある動物によって病原体に新たな選択圧がかかり、その結果遺伝子組換えではない動物が被害を受けやすい病原体に変化することが考えられる。 ・ 遺伝子組換え家畜、家禽の食品としての安全性に関するリスク評価の方法を作成し、実行しなければならない。リスク評価手法としては、植物に用いられているものも利用できるだろう。加えて、レトロウイルス配列の発現に関連したリスク評価なども必要と考えられる。 ・ 遺伝子組換えの手法は非効率的でコストがかかる。このため、研究積立機関や関連する業界からの助成がほとんどない。 ・ 社会的には、家畜の遺伝子組換えに対する倫理の問題や動物愛護の問題がある。 <p>○効率的な遺伝子組換え動物生産に向けて</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 解決すべき技術としては、効率的に組換え遺伝子を導入し発現させること、組換え遺伝子の発現を確実に制御する手法の開発の2点が挙げられる。
<p>組換え体の安全性に関する事項</p> <p>○ヒト健康への影響</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 牛乳中でのリゾスタフィンの過発現は牛を乳腺炎から守ると同時に <i>Staphylococcus aureus</i> のヒトへの感染を防ぐ。 ・ ヒトラクトフェンの発現は、乳児の腸管での細菌の増殖を抑える。 ・ 伝染性海綿状脳症 (TSEs) は感染動物の肉摂取からヒトに感染するが、prp 遺伝子を不活化させたマウスは TSE に感染することがなく、またこの変異による表現型への影響はなかった。家畜のこの遺伝子の不活化は可能である。 ・ 外来 DNA の導入は遺伝子外の効果を起こし得る。ハムスター細胞を用いた試験では導入配列と関係のないメチル化配列に影響があった。このような重要な影響はゲノム安定性、組換え頻度、他の因子などにおいてほとんど分かっていない。 ・ 外来 DNA を摂取することによる潜在的取り込みに対するリスクは低いと考えられるが、DNA と 2 本鎖 RNA が摂取により取り込まれるという例も増えている。 ・ 他の種の細胞や組織を組換えの過程で用いた場合のウイルスなどによる感染が最も主要なリスクと考えられる。
<p>出典 ・ Food Science and Technology, Vol.14, 253-263, 2003</p>

表 2.1-5 遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する研究事例個票

7	研究テーマ	The scientific basis for risk assessment and regulation of genetically modified foods (組換え食品のリスク評価と規制に関する科学的基礎について)
実施機関・実施者		Harry A. Kuiper ら (RIKILT-Institute of Food Safety, The Netherlands)
キーワード		安全性評価、実質的同等性、全食品検査、市場出荷後の監視
背景・目的		<p>遺伝子組換え作物に対する主な懸念は、組換え作物は自然界では非常に特別なもので、新しい安全性評価の戦略が必要とされているのか、それとも伝統的な方法で作られた作物の場合と同じ方法で評価され得るのか、ということである。本章は、組換え食品の性質と、特殊なリスク評価モデルの必要性を検討した。また、全食品（食品まるごと、whole food）の安全検査の難しさにも焦点をあて、現代分子生物学や毒性学、分析方法を駆使した全食品検査の新しいアプローチについても議論した。栄養の面から改良され、健康にも有益な、将来の組換え作物の安全性と栄養評価に特に興味を置いている。</p>
研究内容・結果		<p>○従来食品の安全性評価の原則</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 従来食品の安全性評価は、基本的に以前からの長期の食経験によっていて、全食品の安全性を試験するのではなく、ケースバイケースの分析に基づいている。 <p>○組換え食品の安全性評価の原則</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ whole food としての安全性試験は困難であるため、組換え食品の安全性評価は、「実質的同等性」という概念に基づいている。従来食品との比較において、組換えにおける特殊な形質を考慮し、消費者の安全性や栄養に関する評価を行う。 <p>○安全性に関する特有の事柄</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 特定の in vitro モデルと、DNA マイクロアレイのような新しい技術は、食品中での生物学的に活性な化合物の作用、相互作用のメカニズム解明に貢献するであろう。これは食品のリスク-ベネフィット分析において新しい概念を導く可能性がある。 ・ 組換え食品の組成の変化を検出する現在のアプローチは、一つの化合物の検出に注目したアプローチに基づいている。二次的な変化の影響も検出する非標的アプローチのためには、新しいプロファイリングメソッドがさらに開発、検証される必要がある。 <p>○将来の作物に対する評価</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 品質の向上した組換え食品は現在開発中であり、必須アミノ酸のレベルや不飽和脂肪酸、ビタミン、ミネラルなどを増やしたり、アレルギー性タンパクを減らしたりするように遺伝子組換えを行っており、近い将来市場に出される。これらの“第二世代”組換え食品の安全性評価も、実質的同等性に基づいた、比較評価によってなされなければならない。
組換え体の安全性に関する事項		<ul style="list-style-type: none"> ・ 食品や食品成分の長期的な効果に関する情報を得るために行う、市場出荷後の監視を過大評価してはならない。なぜなら、長期的な健康影響は多因性であり、また人々の遺伝子の傾向は多岐にわたるからである。組換え食品に対して、市場出荷前に行う安全性評価こそ、十分な安全性を保証できなければならない。
出典		Trends in Food Science & Technology, Volume 14 277-293 (2003)

表 2.1-6 遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する研究事例個票 (1/2)

8	研究テーマ	Assuring the safety of genetically modified (GM) foods: the importance of an holistic, integrative approach (組換え食品の安全性の保証について: 統合的アプローチの重要性)
実施機関・実施者		Andrew Cockburn (Monsanto UK Ltd, UK)
キーワード		安全性、実質的同等性、新安全性試験、長期影響、安全性の確証
背景・目的		<p>遺伝子改良という新しい技術により、いわゆる遺伝子組換え体の開発と試験、そして安全な利用のための枠組みを提供する、適切な規制とガイドラインの制定が促される結果となった。それにも関わらず、国民の間からは、様々な分野から懸念の声が聞かれる。本論文は組換え体の安全性の問題に焦点をあてた。</p>
研究内容・結果		<p>○食品と含まれる化学物質の安全性の評価プロセスの進展</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 昔から経験的に食べられてきた食品は安全とされ、体系的な毒性評価はほとんど行われてこなかった。 ・ これに対し、食品中の化学物質に関しては、古典的な毒性評価を行うことが必要である。これら両方のアプローチを組み合わせることで、組換え作物の強力な安全性評価プロセスとなる。 <p>○組換え作物と組換え食品の安全性評価</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 組換え作物や組換え食品の安全性評価の検討法は、基本的には従来の食品のものと同じである。しかし、組換え作物にはより安全性が高く、非常に厳しい包括的な評価手順が設計された。 ・ 実質的同等性に基づく従来食品と組換え食品との比較は全体的なものであり、従来作物などの比較対照物をベンチマークとして考慮しているだけでなく、連続的なプロセスや形質転換の際の変化をも考慮している。 <p>○新たな統合的安全性試験の枠組み設計に関する基本原則</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 遺伝子組換えにおける各構成要素とプロセスの、詳細な安全性プロファイルを確立することによって、また組換え作物と従来の作物の類似性および相違性に注目することによって、非常に包括的な情報基盤が構築される。それにより、新しい組換え作物が、従来の作物と同等に安全であるか否かを結論づけることが可能である。 ・ 国民にとっては、組換え食品の長期影響が懸念されている。しかしその影響は確認されていないばかりか、組換え食品は、厳しい試験を通り、昔から長期にわたって食べられてきた従来の食品と同等に安全であると確認されたものであるから、長期影響の心配はほとんどないと言ってよい。環境中や市場に出た後の監視でも、影響が出るとは予想できない。 ・ 組換え作物が、従来作物と同等に安全であると判断されるためには、4つの項目(表現型、組成、安全性および健全性、そして栄養パフォーマンス)を統合的に評価すべきである。特に組成に関しては、自然界の多様性の観点から、データの品質において国際的な調和を図ることが強く求められている。 ・ 第二世代の組換え体については、適切な安全性試験プログラムを再構築することが求められる。

表 2.1-6 遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する研究事例個票 (2/2)

<p>組換え体の安全性 に関する事項</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・ 組換え食品の安全性評価における‘ハイブリッド’的アプローチは、科学的な方法ではあるが、食品は複雑であり、摂取量、栄養価、食事バランス等が関わるため、古典的な毒性試験が難しいことも認めている。 ・ 統合的な新安全性試験により、安全か否かの結論づけが可能になったが、同系種のコントロールには有効ではなく、安全性評価において考慮されるべき遺伝子の違いが存在する。一方、比較に用いられる従来の植物についても、これらは殺草剤を撒かれるなどの組換え作物と同じような場所で生育する必要があることにも注意しなくてはならない。 ・ 組換え食品の長期影響については、その安全試験の性質上、影響が現れるとは予測できない。 ・ 組換え体と従来のものとの比較において、違いが観察されたとしても、それが自動的に健康への影響を与えるものではない。健康影響は、違いを示す物質に関する質的、量的なものによると考えられるが、その違いの程度が許容可能かそうでないかの優先順位を定めることは実際には難しい。 ・ この統合的な新安全性評価のアプローチを用いて、世界的に認められている 50 以上の組換え作物を評価した結果、組換え作物は従来の作物と同等に安全であるという結論が得られた。過去 5 年間で、3 億エーカーの耕地で育てられた組換え作物の生産と消費を通じて、有害な影響は一つも現れなかったことが、この結論を支持している。 ・ 非常に高レベルの安全性の確証が、組換え作物の開発と試験についての科学的アプローチを通じて得られたということを、消費者に対して知らせるべきである。
<p>出典</p>	<p>Journal of Biotechnology, Volume 98, 79-106, 2002</p>

表 2.1-7 遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する研究事例個票 (1/2)

9	研究テーマ	Transgenic fish: is a new policy framework necessary for a new technology? (組換え魚：新しい技術のために、新たな政策の枠組は必要か?)
実施機関・実施者		Nathaniel Logar ら (University of Colorado, USA ほか)
キーワード		組換え魚、 <i>AquAdvantage</i> salmon、水生生態系、認可プロセス、米国食品医薬品局 (FDA)、市民参加
背景・目的		<p>1999年に、Aqua Bounty社が初の組換え魚、<i>AquAdvantage</i> salmonの人の食用としての認可を米国FDAに申し出た。組換え魚は、世界中で、海産物の需要を効率的に満たす手段と言われている。しかし、その飼育が環境に及ぼす影響は不明であり、いくつかの国では、消費者の間でその商業生産に反対する動きもある。現在、組換え魚の認可をめぐる米国食品医薬品局(FDA)が検討を進めているが、本論文では、FDAの現行の認可プロセスを検証し、そのプロセスが組換え魚に対する効果的な規制の妨げとなり、結果として水生生態系を危険にさらすことになる可能性を見出した。また、現行の認可プロセスは非公開であり、市民参加の機会が失われていることも問題である。</p>
研究内容・結果		<p>○ 米国における現行の認可プロセス</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 現在までのところ、FDAも米国議会も、組換え魚または組換え動物に特化した規制や法律を定めていない。 ・ FDAは、ホルモンを変化させた<i>AquAdvantage</i> salmonとこの魚の遺伝子組換え体について、FFDCAの規制のもとで“新しい動物薬品”として扱うことに決めた。すなわち、“動物の体の組織や機能に影響を与える”物質である“薬品”として定めた。組換え動物がこのような枠組みに取り込まれたことに対して、組換え動物特有のリスクを評価できないとして、各分野から反対や懸念の声が上がっている。 <p>○ 認可プロセスの代替案の提示</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 現在の規制枠組みの問題を改善するために、またより民主主義的なやり方として、政策立案者に対して、組換え魚を、全てのリスクを明示した形での新たな規制枠組みの下に置くことを提案する。新たな枠組みには、FDAが環境影響を評価するための明確な権限、FDAが他の機関との審議を確実にするための手段、FDAが組換え魚の新たな遺伝子特徴に関して分析することの必要性、プロセス内に市民参加と透明性を確保する手段、の4つの項目が含まれるべきである。 ・ 新たな規制枠組みに関して、3つの選択肢を提示した。1) 現在の規制枠組み通り、新しい動物薬品として扱う。2) FDAの既存カテゴリーのなかで、別のものに組み込む。3) FDAの下で、新たな規制枠組みを組換え魚のために作る。これら3つの選択肢を検討した結果、環境リスクを適切に検査するような認可プロセスを制定するには、第三の選択肢で示したように、組換え魚を規制管理するための別のカテゴリーを設けるのが最良の選択であると考えられた。

表 2.1-7 遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する研究事例個票 (2/2)

<p>組換え体の安全性 に関する事項</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・ 組換え魚が、伝統的な方法で、自然の水環境でいけすによって飼育した場合、網から逃れて野生集団と接触する可能性があり、水生生態系などに有害な影響を及ぼす恐れが指摘されている。 ・ 現行の規制アプローチでは、組換え魚による環境影響が十分に検討され得るとはいえない。 ・ また、FDA の非公開主義は民主主義の基準に満たないだけでなく、組換え魚に関しては何が許容可能なリスクとなるのか、ということについての市民の意見が欠如しているために、適切な政策立案における民主主義の有効性が生かされていない。 ・ 組換え魚による環境への有害性の評価の権限が FDA にあることを明確化すれば、評価の際の混乱を解消し、また“安全性”の明確さを発展させることができる。 ・ 組換え魚に対する FDA の認可プロセスで指摘された問題は、今回限りのものではない。新しい技術の検討の際に、市民参加を排除したり、その効果の調査を研究室でのサンプルに限定したりするのは、不適切な政策選択や自然界へ取り返しのつかないダメージを与える危険性がある。研究者は、他の技術の認可プロセスについても検討し、それらが適切に、新しいリスクを考慮することができるのかを判断することが望まれる。
<p>出典</p>	<p>Environmental Science & Policy, Vol.8, 17-27, 2005</p>

表 2.1-8 遺伝子組換え食品の開発動向とその安全性に関する研究事例個票

10	研究テーマ	Safety Evaluation of Transgenic Tilapia with Accelerated Growth (成長促進を伴う遺伝子組換えティラピアの安全性評価)
実施機関・実施者		Guillén, Iら (Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Cuba ほか)
キーワード		遺伝子組換え、成長ホルモン、ティラピア、組換え魚、環境影響、食品 安全
背景・目的		<p>バイオテクノロジーの進歩により、成長ホルモン遺伝子の導入によって経済的に重要な魚の 作出が可能になった。成長ホルモン遺伝子は、宿主ゲノムに安定的に組み込まれることが分か っている。養殖業にこの組換えティラピアを使用するためには環境への安全性および食品安全 性に関して国家的な評価が必要となる。そこで、実質的同等性の原理に則り、組換えティラピ アを食品として摂取する際の安全性の評価に関する研究を行った。</p>
研究内容・結果		<p>○実験材料：遺伝子組換えティラピアおよび非組換えティラピア（野生種）</p> <p>○実験：</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 組換えティラピアと野生種の習性を比較するために、食餌量の測定、混合状態での餌を得 る競争力の比較、海水への適応試験を行った。 ・ 霊長類(ヒト以外)における組換えティラピアの摂食による影響を見るために、オナガザル を用い、組換えティラピア成長ホルモン(tiGH)を与えた系と対照系において、経時的に血 液成分および身体の状態を比較した。また、試験後に安楽死させ、組織病理学的解析を行 った。 ・ 組換えティラピア摂取によるヒトへの影響を調べるために、5日間組換えティラピアを摂 取したグループと対照グループの血液検査を行った。また、魚の香りと質についても調査 した。 <p>○結果：</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 組換えティラピアは野生種に比べ、摂食欲が低く、優占的な状態にあることが分かった。 ・ tiGHは、サルにおいて、生物学的活性はなかった。 ・ ヒトが摂食しても臨床的、生化学的影響はなかった。 <p>○結論：</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 組換えティラピアは組換えされていないものに比べ、良好な生育を見せた。遺伝子組換え ティラピアの利用による環境への影響は考えられず、また摂取によるヒトへの安全性も示 された。 ・ 各国が状況に応じて検討する必要があるが、養殖業において組換え魚が徐々に受入れられ、 最終的には養殖生産に大きな影響力を及ぼすだろう。
組換え体の安全性 に関する事項		<ul style="list-style-type: none"> ・ ヒト以外の霊長類においては、tiGH処理により、血糖、総タンパク量、クレアチン量に変 化はなく、このホルモンの活性がないことが示された。 ・ 哺乳類の成長ホルモンによって引き起こされる作用についても検討したが、tiGH処理した サルにおいてはそのような作用は見られなかった。 ・ 中性においても成長ホルモンはタンパク分解を受けるので、胃酸によって分解されると考 えられる。よって組換えティラピアの摂取は安全であると言える。
出典	・ Marine Biotechnology, Vol.1, 2-14, 1999	

2. 2 ILSI「バイオテクノロジーで栄養改変された食品、飼料の栄養および安全性評価」の概要

(1) 概要

資料名：Nutritional and Safety Assessments of Foods and Feeds Nutritionally Improved through Biotechnology (バイオテクノロジーで栄養改変された食品、飼料の栄養および安全性評価)

国際生命科学協会 (International Life Sciences Institute, ILSI) は、1978年にアメリカで設立された非営利団体で、科学的な視点から、健康・栄養・安全・環境に関わる問題の解決と正しい理解を推進することを目指している。WHO や FAO 等の国際機関とも密接な関係にあり、食品安全に関する様々な国際会議にも参加し、科学的な情報提供を行ってきた実績がある。

本資料は、2004年4月に ILSI のタスクフォースによって作成されたもので、全文は以下の URL で参照することができる。

<http://www.ift.org/pdfs/crfsfs/crfsfsv3n2p0035-0104ms20040106.pdf>

既に述べたとおり、栄養改変が行われた組換え食品の開発は今後さらに増えると予想されるが、本資料は栄養改変された組換え食品の安全性評価に関する最も包括的かつ新しい情報の盛り込まれた資料の1つとなっている。報告書の構成は次の通りである。

序

要約

第1章：農業におけるモダンバイオテクノロジーの紹介

- 1.1 現在までの進歩
- 1.2 GM 作物の安全性
- 1.3 作物と品種改良過程の比較例
- 1.4 GM 作物の規制監視

第2章：モダンバイオテクノロジーによって改善された栄養

- 2.1 はじめに
- 2.2 植物代謝の適応性
- 2.3 挑戦：改善された栄養
- 2.4 手法
- 2.5 経路の実験的な改変から学んだ教訓

- 2.6 機能性食品
- 2.7 改変の例
- 2.8 安全性評価との関わり
- 2.9 将来

第3章：モダンバイオテクノロジーの応用によって開発された栄養改善された食品及び飼料の安全性評価

- 3.1 一般原則
- 3.2 特定の評価問題
- 3.3 結論

第4章：栄養改善された食用作物の栄養学的アセスメントの過程

- 4.1 はじめに
- 4.2 栄養改善された食品
- 4.3 栄養成分における変化の影響を評価する際の問題
- 4.4 仮定事例の研究： α -トコフェロールの含有量を高めた大豆油
- 4.5 結論と勧告

第5章：モダンバイオテクノロジーの応用によって開発された動物飼料の栄養学的アセスメント

- 5.1 範囲
- 5.2 動物生産システムにおいて使用される飼料源
- 5.3 栄養特性の改善されたGM作物の開発
- 5.4 動物飼料の栄養学的アセスメントにおける成分分析の役割
- 5.5 飼料源の栄養学的アセスメントにおける投与試験の役割
- 5.6 結論と勧告

第6章：モダンバイオテクノロジーの応用によって開発された作物における意図されない作用の確認における分析技術の役割

- 6.1 はじめに
- 6.2 一般原則
- 6.3 意図されない作用の検出法
- 6.4 議論
- 6.5 結論と勧告

第7章：モダンバイオテクノロジー由来の食品の上市後モニタリング

- 7.1 一般原則
- 7.2 市場におけるモニタリングの可能性
- 7.3 方法についての考察
- 7.4 結論と勧告

用語集

第1章は、近年の農業バイオテクノロジーの概略を紹介しており、第2章では、研究開発中の栄養改善された作物の例について述べている。

第3章では、栄養的に改善された食品および飼料の安全性評価の過程が示されている。ここでの評価方法は、現在市場に出ている改善された農業特性をもつGM作物に首尾よく使用されている諸原則を基礎としている。

第4章は栄養的に改善された作物に対する栄養アセスメントの過程について、第5章は栄養的に改善された動物飼料に焦点を合わせている。

第6章では、栄養的に改善された作物における予期あるいは意図されない変化を確認するための場所および開発双方における分析方法の概要が第6章に提供されている。

最後に、第7章では栄養的に改善されたGM作物に対し、市場に出された後に可能性のある管理方法について分析されている。

(2) 組換え食品の安全性評価に関する記述内容

以下、報告書の中から、安全性評価に関する主要な記述内容を示す。

○序文

モダンバイオテクノロジーに由来する初期の作物の多くは、遺伝子組換え作物あるいはGM作物としても知られ、害虫あるいは病害耐性、除草剤耐性を有する一種以上の遺伝子の導入あるいはこれらの特性の組み合わせにより組み換えられたトウモロコシ、大豆、ジャガイモ、ワタの各品種からなる。いかなる努力によっても、絶対的な安全性は達成できないことはよく認識されており、このことは特に食品や飼料のような複合物質の摂取にあてはまる。従って、そのような作物に由来する食品および飼料の安全性は、国際的に認識された「実質的同等性」の概念を使用することによって確立された。この包括的な安全性評価の鍵となる要素は、GM作物に由来する食品あるいは飼料が従来栽培されてきた種と同じように安全であることが示されているという点である。実質的同等性の原理の適用とは、ある製品とその製品にもっとも近い伝統的な対象物の類似点及び相違点を確認すること、及び相違点について厳密な安全性評価を行うことである。

今日、GM作物には、人間あるいは動物の栄養および健康を改善することを意図した「品質特性」をもつ植物が含まれている。これらの作物（プロビタミンAを含む米、アミノ酸あるいは脂肪酸含有量を変えたトウモロコシおよび大豆など）は、植物の代謝および構成を変えることによって改善されている。いくつかのケースでは、これらの変更によって製品の品質および組成が複雑に変化している。食料農業機関（FAO）、世界保健機関（WHO）、経済協力開発機構（OECD）によって招集された専門家は、実質的同等性の概念がGM作物に由来する食品および飼料の安全性を評価する上で強力な手段となることに合意した。この結論は、丸ごとの食品および飼料（whole foods and feeds）が、添加物などの化学物質に使用される標準的な安全性評価の原則に適さず、個々の食品のリスクの定量的なアセスメントはなしえないという認識に基づくものである（1996 Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation on biotechnology and food safety : review of existing safety assessment strategies and guidelines , Rome, Italy）。

実質的同等性は、安全性評価から導かれる結論ではない。商業化する前の安全性評価を可能とする比較対照との相違点を確認するプロセスである。したがって、栄養改善された食品に対して実質的同等性の概念を適用する際のポイントは、生物学的または毒性学的に有意な相違点を同定するための適切な手法・技術が利用できるということである。予め各成分の同定をせずに、多くの成分

を同時にスクリーニングすることを可能にするメタボロミクスなどのプロファイリング法は、この目的に役立つ。これらの方法は、伝統的な育種および組換え技術の双方において、代謝経路や生体内の相互作用を解析することができる。プロファイリング法を使用する上での大きな課題は、観察された違いが、品種、生育段階、環境要因等による自然変動と区別できるのかを決定することである。したがって、プロファイリング手法を規制の枠組みの中で用いる前に、手法の検証を行い、自然変動のベースラインの範囲を明確にしなければならない。現在では、これらのプロファイリング法は、主として、栄養改善された組換え食品の事前スクリーニングに利用できるであろう。

○遺伝子組換え技術による栄養改善

これまでに遺伝子組換え技術による栄養改変が試みられた食料、飼料の一覧を表2.2-1に示す。これらの中には既に実用化されたものもあれば、現在研究開発段階のものもある。

植物の栄養成分、機能性成分で今後組換え技術による改変（増量、含有量低下等）が予想されるものは、以下のような成分である。具体的な栄養成分としては、カロテノイド、フラボノイド、フェノールなどが想定される（表2.2-2）。

<遺伝子組換えによる改変が予想される成分>

- ・ タンパク質／アミノ酸
- ・ 炭水化物
- ・ 植物繊維、リグナン
- ・ 油／脂質
- ・ ビタミン、ミネラル
- ・ 抗疾患因子（ニュートラシューティカル）
- ・ 抗栄養素
- ・ アレルゲンおよび食物不耐性に関する物質
- ・ 毒素

最近では植物の代謝経路の研究が進み、いわゆる代謝工学（metabolic engineering）も活発になってきている。代謝系を改変した場合、単一もしくは少数の遺伝子を導入した場合に比べて、予期せぬ影響の程度は大きくなることが考えられるため、これらの予期しない影響を検出できる分析技術が必要である。また、遺伝子改変の結果として生じるかもしれない多面的な影響を予測するために、植物の代謝と細胞間ネットワークについてさらに理解を深めなければならない。

表 2.2-1 遺伝子組換え技術による植物の機能性改変例 (1)

作物・植物種	導入形質	導入遺伝子
アルファルファ	フィターゼ+	フィターゼ遺伝子 (<i>Aspergillus</i>)
	レスベラトール+	レスベラトールグルコシド
	リグニン↑	カフェイン酸3-O-メチルトランスフェラーゼ、CoA 3-O-メチルトランスフェラーゼの発現量低下
シロイヌナズナ/タバコ	カテコール+	サリシレートヒドロキシラーゼ (<i>nahG</i>)
ビート	フラクタン+	1-シュークロース、シュークロース・フラクトシル・トランスフェラーゼ
カノーラ	ビタミンE↑	γトコフェロール・メチルトランスフェラーゼ (シロイヌナズナ)
	ラウリン酸↑	ラウロイルACPチオエステラーゼ (California bay tree)
	γ-リノレン酸↑	δ-6、δ-12 デサチュラーゼ
	ω3-脂肪酸+	フィトエンシンターゼ (スイセン)
	β-カロテン+	フィトエンデサチュラーゼ (<i>Erwinia</i>) リコペンシクラーゼ (スイセン)
	8:0, 10:0 中鎖脂肪酸↑	チオエステラーゼ (<i>Cuphea hookeriana</i>)
キャッサバ	シアノゲングリコシド↑	ヒドロキシニトリル・リアーゼ
ワタ	オレイン酸↑	δ-12 デサチュラーゼ (変異型)
	高オレイン酸、高ステアリン酸含有綿実油	hpRNA-mediated post-transcriptional gene silencing desaturase
コーヒー	カフェイン↑	キサントシン-N-7-メチルトランスフェラーゼのアンチセンス
ルピナス	メチオニン↑	種子アルブミン (ヒマワリ)
トウモロコシ	メチオニン↑	イントロンのスイッチングによるmRNAの安定性向上
	フモニシン↑	脱エステラーゼ、デアミナーゼ (微生物由来)
	昆虫抵抗性	アビジン (ニワトリ)
	アミノ酸組成の改善	α-ラクトアルブミン (ブタ)
	含硫アミノ酸↑	トウモロコシ 15KDa ゼインタンパク質
	ビタミンC↑	コムギデヒドロアスコルビン酸レダクターゼ
ジャガイモ	デンプン↑	ADPグルコース・ピロホスホリラーゼ (大腸菌)
	高アミロース含有デンプン↑	SBE AとBの抑制
	イヌリン↑	<i>Cynara scolymus</i> 由来の1-SST、1-FFT遺伝子
	含有硫タンパク質+	非アレルゲン性種子アルブミン遺伝子 (アマランサス)
	ソラニン↓	ステロールグリコトランスフェラーゼ遺伝子 (<i>Sgt</i>)のアンチセンス
イネ	βカロテン+	フィトエンシンターゼ (スイセン)
		フィトエンデサチュラーゼ (<i>Erwinia</i>)
		リコペンシクラーゼ (スイセン)

表 2.2-1 遺伝子組換え技術による植物の機能性改変例 (2)

作物・植物種	導入形質	導入遺伝子
イネ	鉄分↑	フェリチン(インゲン) メタロチオネイン(イネ) フィターゼ(Aspergillus,変異型)
	アレルゲンタンパク質↓	16kDaアレルゲンタンパク質のアンチセンス
	プロインドリノン化合物+ (米粒の軟化、より粒径の小さい米粉の製造)	コムギ プロインドリノン遺伝子
ソルガム	飼料としての消化性改善	リグニン合成系酵素(変異型カフェイン酸O-メチルトランスフェラーゼ)
ダイズ	アミノ酸組成の改良	合成タンパク質
	含硫アミノ酸の増加	トウモロコシ(15kDa ゼインタンパク質の過剰発現)
	オレイン酸↑	δ-12 デサチュラーゼ(ダイズ、センスサプレッション)
	オレイン酸↑	リボザイムによるRNA転写産物の分解を用いた種子脂肪酸の調節
	アレルゲン↓	システインプロテアーゼP34遺伝子のジーンサイレンシング
ダイズ/シロイヌナズナ	イソフラボン↑ イソフラボン+	イソフラボンシンターゼ
スイートポテト	タンパク質含有量↑	人工貯蔵タンパク質(ASP-1)遺伝子
トマト	プロビタミンA、リコペン↑	リコペンシクラーゼ(シロイヌナズナ)
	プロビタミンA↑	フィトエンデサチュラーゼ(Erwinia)
	フラボノイド↑	カルコンイソメラーゼ(ペチュニア)
	リコペン↑	ポリアミンの蓄積
コムギ	グルテニン↑	高分子量サブユニット遺伝子
	カフェイン酸、フェルラ酸↑	コムギの遺伝子

凡例) 栄養成分、酵素等の名称の後ろにある記号はそれぞれ以下の意味を表す。

↑: 既に含まれている成分の増量、 ↓: 既に含まれている成分の含有量低下、 +: 新たな成分の導入

表 2.2-2 機能性が示唆されている植物成分の例

大分類	化合物	起源	健康機能
カロテノイド	α -カロテン	ニンジン	細胞に障害を与える遊離基を無害化
	β -カロテン	各種の果実・野菜	同上
	ルテイン	緑色野菜	目の機能維持
	リコペン	トマトおよびトマト製品(ケチャップ、ソース)	前立腺がんのリスク低減
	ゼアキサンチン	卵、柑橘類、トウモロコシ	目の機能維持
食物繊維	不溶性繊維	コムギ(ブラン)	乳がんや大腸がんのリスク低減
	β -グルカン	オオムギ	心臓血管系疾患(CVD)のリスク低減
	可溶性繊維	サイリウム	CVDのリスク低減
	穀物全体	穀物	CVDのリスク低減
	コラーゲン加水分解物	ゼラチン	骨関節炎に関連する症状の改善
脂肪酸	ω 3-脂肪酸(DEA/DHA)	サケ、魚油	CVD、精神状態の改善、目の機能維持
	共役リノレン酸	チーズ、肉製品	体調の維持、がんのリスク低減
フラボノイド	アントシアニン:シアニン	ベリー	がんのリスク低減
	ヒドロキシシナメート	コムギ	抗酸化物様の活性、退行性疾患のリスク低減
	フラボノール:カテキン、タンニン	緑茶(カテキン)、紅茶(タンニン)	がんのリスク低減
	フラボノン	柑橘類	がんのリスク低減
	フラボン:ケルセチン	果実/野菜	がんのリスク低減
グルコシレート、インドール、イソチオシアネート	スルフォラファン	アブラナ科の植物(ブロッコリー、ケール)、ホースラディッシュ	遊離基の無害化、がんのリスク低減
フェノール	スチルベン:レスベラトール	ブドウ	退行性疾患、心臓病、がんのリスク低減、
	カフェイン酸、フェルラ酸	果実、野菜、柑橘類	抗酸化物様の活性、退行性疾患のリスク低減、目の機能維持
植物スタノール/ステロール	スタノール/ステロールエステル	トウモロコシ、ダイズ、木質油	血中のコレステロールの低下による心臓疾患のリスク低減
プレバイオティクス・プロバイオティクス	フルクタン、イヌリン、フラクトオリゴ糖	アーティチョーク、シャロット、タマネギ粉末	消化器系の機能改善
	乳酸菌	ヨーグルトなどの酪農品	同上
	サポニン	ダイズ、大豆食品、大豆タンパク含有食品	LDLコレステロールの低下、抗がん酵素含有
大豆タンパク	大豆タンパク	大豆、大豆食品	25g/日の摂取で心臓病のリスク削減
植物エストロゲン	イソフラボン、ダイゼイン、ゲニステイン	大豆、大豆食品	ほてり等の更年期症状の改善、骨粗鬆症・CVDのリスク低減
	リグナン	アマ、ライ麦、野菜	心臓病、がん予防、LDLコレステロール、全コレステロール、トリグリセリドの低下
スルフィド/チオール	ジアリルスルフィド	タマネギ、ガーリック、オリーブ、ニラネギ、シャロット	LDLコレステロールの低下、免疫機能の維持
	アリルメルトリルスルフィド、ジチオールチオン	アブラナ科の野菜	LDLコレステロールの低下、免疫機能の維持
タンニン	プロアントシアニン	クランベリー、ココア、チョコレート、コーヒー	腎泌尿器系の機能維持、CVD、高血圧のリスク低減

○栄養改変された遺伝子組換え食品の安全性評価

遺伝子組換え技術により作られた栄養改変食品・飼料は安全性に関する新しい懸念を何ら提起するものではない。安全性評価のアプローチは、農業上有利な形質を付与された組換え食品・飼料の評価のアプローチと多くの点で類似している。この中には、遺伝的改変の詳しい内容の検討や、挿入 DNA によって作られたタンパク質等の安全性評価がある。また、組成分析によって固有の成分が、意図した栄養成分の変化を除いて適当な比較対象あるいは文献値と変化がないことを確認することも含まれる。

栄養成分の変化をとまなう組換え食品・飼料の安全性評価は、当該製品が人や動物の食物中に含まれる程度と当該栄養素の安全性についての既存の知見に依存する。多くの栄養素について文献から安全な摂取レベルの上限が設定されている。栄養素が植物から分離され、食品・飼料の原料として利用されるケースでは、既存の規制により安全性評価とその利用が管理されるものと期待される。

○栄養改変された作物の栄養評価のプロセス

栄養改善された組換え食品は既に各国で上市されている。通常の育種方法によって開発された新規食品の評価に以前利用されていた枠組みは、バイオテクノロジーによって開発された新規食品にも適用できると考えられる。包括的でデータのしっかりした組成と摂取量についてのデータベースがあれば、栄養改変された食品の評価に大いに役立つ。栄養改変された食品の評価にあたっては、次のように考えられる。

提言 1

すべての栄養改善された新規食品は、その開発した技術の種類によらず、栄養と健康に対する潜在的影響の可能性にもとづいて評価すべきである。

提言 2

摂取量の変化につながる組成変化は、食品又は食品原料が開発された目的にかかわらず評価すべきである。

提言 3

上市前評価では、新規食品の導入によって大規模な消費者集団の栄養素摂取量に対する有意かつ悪影響のある変化がないことを証明すべきである。

提言 4

新規食品のすべての想定利用者とリスクを受ける集団に対して、食品摂取量データと摂取量予測モデルを開発すべきである。

例えば、 α -トコフェロール含有量を高めたダイズに対しては以下のような疑問に答える必要がある。

○仮想のケーススタディ： α -トコフェロール含有量を高めたダイズ

仮想のケース：ビタミンE (α -トコフェロール) の含有量を高めたダイズ
スプーン1杯の油脂 (14g) 当たり 2mg 増加

この組換え体の安全性と栄養価について答えなければならない疑問

◆組成変化の範囲

- ・ 新しい大豆油の組成は？
- ・ 通常の大豆油と比べてどうか？
- ・ 遺伝子組換えによって α -トコフェロール以外の成分が増加/減少したか？
- ・ α -トコフェロール合成経路の中間体など、新しい成分が出現/増加/減少したか？
- ・ 油脂の通常の成分は減少したか？
- ・ 新しい α -トコフェロールのレベルは、栄養素または抗酸化物質としてビタミンEに認められている油脂への添加量と比べてどうか？

◆人の摂取量の推定

- ・ 様々なサブグループにおいて新しい油脂の予想される摂取量は？
- ・ 通常の高 α -トコフェロール含有量の油脂によって代替することによる影響は？
- ・ 遺伝子組換えによって他の栄養素/成分の増減があった場合、その変化が食事での栄養素の含有量に与える影響は？
- ・ 通常での摂取において、この α -トコフェロール含有量の増加は、推奨されているビタミンEの摂取量と比べてどの程度か？

◆人の栄養と健康への影響

- ・ 上記の変化は安全性の問題を生じさせるか？
- ・ 増加した栄養成分は生物学的に利用可能 (bioavailable) で、吸収されるか？
- ・ 他の栄養素の吸収に対する潜在的な拮抗作用はあるか？
- ・ この変化によって何らかの栄養素の食品としての適格性が有意に減少することはないか。例えば、幼児・児童、高齢者、妊娠・授乳中の女性などの特に感受性の高い集団への影響は？
- ・ 新しい食品が生物学的な栄養成分の増強手段 (biofortification) として提案されている場合、当該集団 (リスクのあるサブグループ) に対する食品としての適格性は増加しているか？

○予期しない影響を特定するための分析技術の役割

前述の通り、栄養改変された組換え食品は既に多数の研究開発が行われている。その中には、代謝経路に関する複雑な成分をコードする複数の遺伝子が導入されている例もある。ここで鍵となる問いは、このような食料・飼料が第一世代の組換え作物（昆虫抵抗性、除草剤耐性又はこれらの組み合わせ）に比較して、追加的な安全性試験を必要とするかということである。

予期しない影響は組換え技術に特有のものではなく、従来育種においても予期せぬ影響は生じる（表 2.2-3）。

表 2.2-3 従来育種および遺伝子組換え技術による予期せぬ影響の例

	親植物	形質	予期しない影響
従来育種	オオムギ	病害虫抵抗性	収量の低下
	セロリ	病害虫抵抗性	フラノクマリン含有量の増加
	トウモロコシ	高リジン含量	収量の低下
	ジャガイモ	病害虫抵抗性	収量の低下
	スカッシュ、ズッキーニ	病害虫抵抗性	クルクビタシン含有量の増加
遺伝子組換え	カノーラ	フィトエンシンターゼの過剰発現	多面的な代謝の変化(トコフェノール、クロロフィル、脂肪酸、フィトエン)
	ジャガイモ	酵母インベルターゼの発現	グリコアルカロイド含有量の低下(37~48%減)
	ジャガイモ	ダイズグリシニンの発現	グリコアルカロイド含有量の上昇(16~88%増)
	ジャガイモ	細菌レバンスクラーゼの発現	チューバー組織への悪影響、篩部での炭水化物輸送の阻害
	イネ	ダイズグリシニンの発現	ビタミンB ₆ 含有量の増加(50%増)
	イネ	プロビタミンA生合成経路遺伝子の発現	予期しないカロテノイド誘導体の形成(β カロテン、ルテイン、ゼアキサンチン)
	コムギ	グルコースオキシダーゼの発現	光毒性
	コムギ	フォスファチジルセリンシンターゼの発現	壊死性の障害

これらの予期しない影響を検出するためのアプローチとしては、ゲノムの分析による DNA 挿入位置の解析や組成分析によって比較対象との違いを検出する方法とがある。このうち、組成分析については、栄養学的/毒性学的に重要な特定の化合物に着目し、その変化を調べる方法 (targeted approach) と最近開発が進んでいるプロファイリング技術を用いた非特異的比較方法 (nontargeted approach) とがある。

○新しい安全性評価手法の可能性と課題について

(網羅的プロファイリング法 -nontargeted method- の可能性について)

特定の物質に着目しない網羅的な「プロファイリング」法は、将来、GM 作物の意図しない影響の検知のための特異的（特定の物質を対象とした）分析用法を補完できるかもしれない。プロファイリング法の例には、遺伝子発現（例：mRNA）、タンパク質、および代謝生成物の分析のための機能ゲノミクス、プロテオミクス、およびメタボロミクスがある。これらの方法は、植物成分あるいは代謝経路における変化についての特定の予備知識を必要としない、複雑な代謝回路の広い見解を提供する。これらの技術は、伝統的な栽培法および遺伝子組換え技術の双方について、代謝経路および生体内の相互作用が受けた影響を解析することができる。

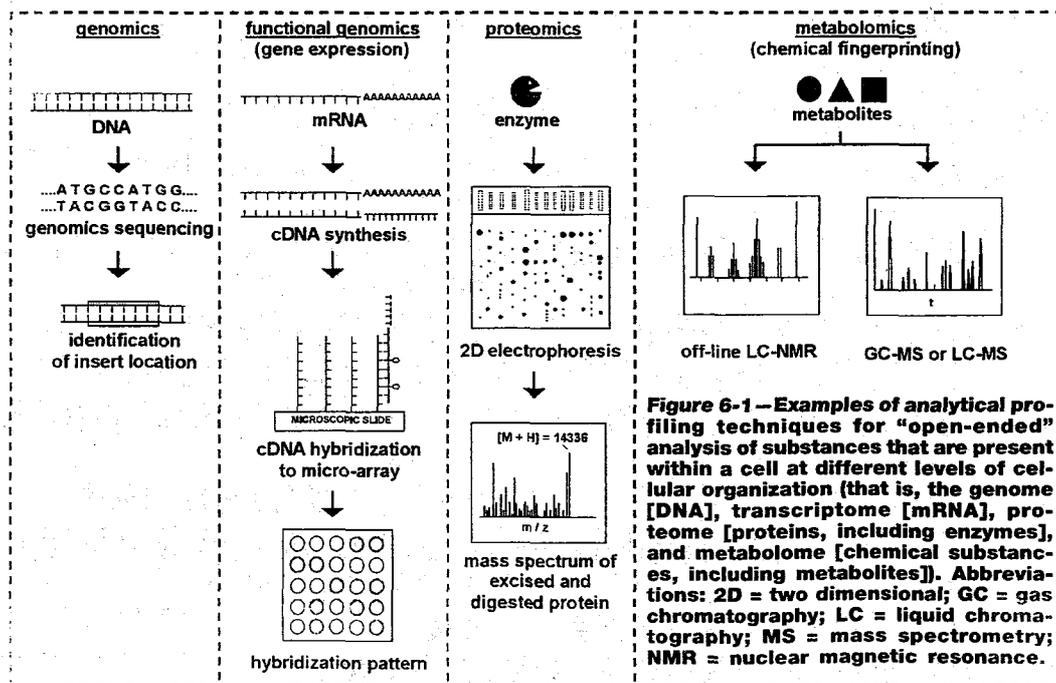


図 2.2-1 プロファイリング法のイメージ

意図しない影響を検知するためのプロファイリング法を使用する上での大きな課題は、観察された相違点が、品種や生育段階、土壌、または環境上の要因による自然の質的・量的変動と区別できるかどうかを決定することである。言い換えると、検出された違いが生物学上意味があるかどうかという点が評価されなくてはならない。したがって、網羅的プロファイリング法により、意図しない影響を同定するための機会が増えるが、それらは目的のために検証される

べきで、また規制の枠組みの中で使用される前に、自然変動のベースラインの範囲を明確にし、かつ実証しなくてはならない。しかし、プロファイリング法により特定の代謝経路を対象を絞って、発現している遺伝子やタンパク質、代謝産物を同定し、それに対して規制に必要な試験のための特異的な定量分析法を用いることもできよう。こうした方法も、関連する代謝経路において変化があるかどうかを評価するために使用できる。それゆえ、これらの方法は、製品の開発段階で有用かもしれない。というのは、栄養改善された特定の製品において測定する必要のある化合物を正確に同定することにより、安全性評価プロセスの焦点を絞ることが可能になるからである。

(3) 結論および提言

以上のことを踏まえると、栄養改善された組換え食品・飼料の安全性評価にあたっては、以下の結論が導ける。

栄養改善された食品・飼料は、世界的な食料安全保障の上でも大いに貢献することが期待される。栄養面のレベル変化から生じる潜在的な人の健康影響を評価するためのいくつかの付加的な研究が必要とされるかもしれないが、既に実用化されている組換え食品・飼料の安全性評価に用いられている現行の包括的な安全性および栄養評価の手順は、栄養改変された作物にも適用できる。

比較にもとづく評価プロセスは、安全な暴露の歴史をもつ通常の作物と新規食品・飼料の類似点および相違点を特定する方法を提供する。このプロセスによって明らかにされる類似点は、新しい作物が安全に消費されてきた歴史を持つ作物と同程度に安全であるという証拠を提供するので、さらなる評価を必要としない。その際に特定される相違点は、付加的な科学研究および評価の対象となる。今後予想される栄養改変のタイプは様々である。したがって、個々の新しい製品の安全性および栄養面の評価は、ケース・バイ・ケースのアプローチで行うことが必要である。多くの栄養改善された作物は、生合成経路または分解経路が改変されており、改変したことが当該代謝経路や関連の代謝経路の代謝産物に与える影響について、詳細かつ慎重に検討しなくてはならない。

意図しない影響を検知するためのプロファイリング技術の使用は、製品特有の変化を品種や生育段階、環境因子による自然変動と区別することが難しいために未だ限られており、それゆえ、自然変動に関する情報を収載したデータベースの構築が最優先事項となる。これらのプロファイリング法は、栄養改変されたそれぞれの製品において評価する必要のある化学成分を特定することによって、安全性評価プロセスの焦点を絞るためのプレスクリーニングとして役立つかもしれない。

栄養改変の種類によっては、動物実験によって栄養素の生物学的利用可能性を評価することが重要になるかもしれない。動物試験は、意図された変化（導入された形質の栄養価など）の栄養面の影響を評価し、安全性評価の他の部分の結果を確認し、それによって安全性に対する確証をさらに深める上で重要な役割を果たす。

上市後のモニタリングは、人間および動物の安全や健康に影響を及ぼす可能性のあるエンドポイントに関連する科学的な仮説に基づかななくてはならない。リスクが特定されていない場合、栄養改変された（あるいはその他の）作物を原料とする食品の不明確な悪影響に対する上市後モニタリングの実施は事実上不可能かつ不必要で、上市前の安全性評価プロセスと首尾一貫せず、その結果を損なうことになるかもしれない。

提言 1. 栄養改変されたすべての食品・飼料は、これらの食品・飼料を開発するために使用された技術に関わらず、人間および動物の栄養面並びに健康上起こりうる影響について評価されるべきである。

提言 2. 栄養改変された食品・飼料の安全性評価は、安全に使用されてきた歴史をもつ適切な比較対象と新しい食品・飼料との比較にもとづく評価から始められるべきである。

提言 3. 栄養改変された作物の安全性および栄養面の評価は、成分分析を含むべきである。適切な比較対象が全く特定できない程度まで栄養成分が変更される場合には、アセスメントは食品あるいは飼料の提案された使用および摂取の状況において栄養素の変化レベルの安全性に焦点を合わせるべきである。

提言 4. 栄養改変された食品および飼料の安全性ならびに栄養面の影響を評価するために、製品の用途における食事およびその結果として生じる食事からの曝露にてらして、ケース・バイ・ケースの原則に基づいたデータを明らかにする必要がある。

提言 5. 特定の物質に着目した (targeted) 成分分析の現行のアプローチは、栄養改変された作物の成分変化を検出するためにも推奨される。新しいプロファイリング技術は、複雑な代謝経路およびその相互関係を明らかにするために利用できるであろう。これらのプロファイリング技術も、特定の栄養素あるいはその他の代謝物に関する情報を取得するために特定物質に着目したやり方 (targeted fashion) で使用することができる。しかし、プロファイリング法を使用する前に、ベースラインのデータを集める必要があり、その方法は検証されかつ世界的に調和したものでなくてはならない。

提言 6. 実験動物による試験は、安全性評価の他の部分の結果を確認する上で有益な役割を果たし、それによって安全性に対する確証を深める。しかし、実験動物や家畜の試験は、適切な感度を欠いているため、特定物質に着目した分析によって検出されなかった意図しない微細な成分変化を明らかにすることはできない。

提言 7. 動物供餌試験は、対象とされる動物種において行われ、改変された作物や作物成分、副産物の使用から想定される栄養面の特性を実証すべきである。

提言 8. 上市前評価によって、製品が販売される前の安全性および栄養面の問題が特定される。健康への悪影響を有することが科学的に確認された新製品が市場に出されることはまずあり得ない。栄養改変された食品の上市後モニタリングは、上市前の暴露評価結果を確認したり、食事摂取量パターンの変化を確認するために役立つかもしれない。上市後のモニタリングは、科学的に有効な検証可能な仮説が存在する場合、あるいは上市前の暴露評価結果を確認する目的のみに行われるべきである。

3. まとめ

3. まとめ

3.1 今後の組換え体・組換え食品の研究・開発見通し

1章、2章を踏まえると遺伝子組換え体の今後の研究・開発見通しは概ね図3.1-1のように整理できる。

食品分野では今後も組換え作物を中心に開発が進み、いわゆる第二世代の組換え作物も徐々に実用化されると予想される。遺伝子が導入される植物も、これまでのトウモロコシ、ナタネ、ダイズといった主要作物から、野菜・果樹などにも拡大・多様化する。また、生薬（薬用植物）といった新しい分野にも応用が進むと考えられる。薬用植物の組換え体は、食薬区分の上での境界分野と位置付けられる。

動物（家畜、魚類）分野での実用化はそれほど急激には進まないと考えられるが、魚類では既に実用化可能な段階に進んでいるものもあり、実用化の技術的な障壁は低くなっている。

このような食品分野の研究と並行して、植物工場・動物工場の実用化も進みつつあり、医薬品・工業原料を合成する植物や医薬品を分泌する動物などの開発が進む。これらの組換え体は基本的に非食用であるが、食用の作物との交雑・混入の面で密接な関わりを持つことから、その開発動向に引き続き留意しておく必要がある。

この他、鑑賞用の花き・ペット、バイオレメディエーション（植物、微生物）の分野でも組換え生物の開放系利用を目指した開発が進んでいる。ペット、バイオレメディエーション分野の見通しは不明であるが、組換え食品を取りまく関連分野として重要である。

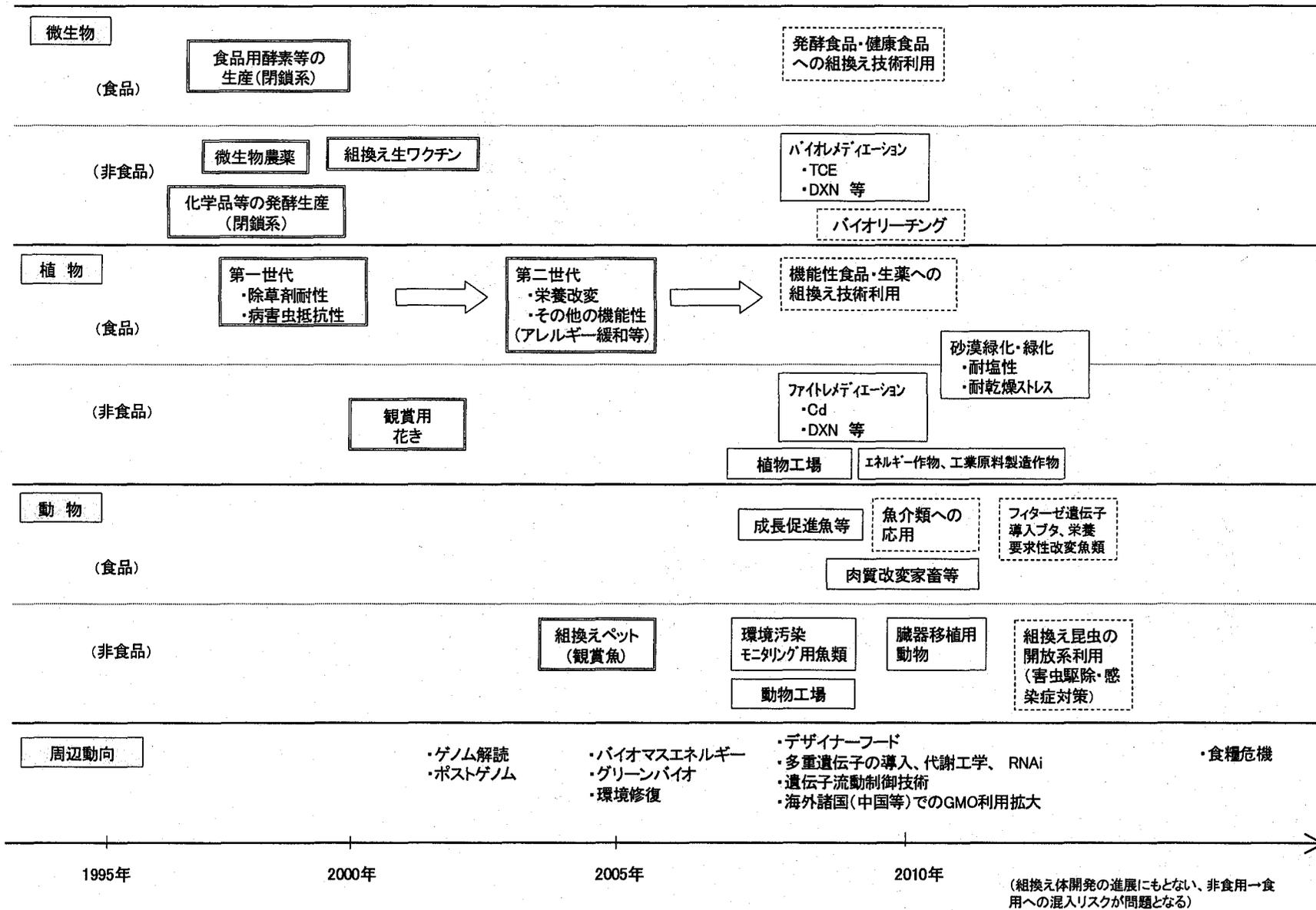


図 3.1-1 遺伝子組換え技術の食品分野への応用見通し

3.2 組換え食品等の安全性確保・評価に関連する事項

前節を踏まえると、今後組換え食品は栄養改変された作物（第二世代の組換え作物）を中心に、その種類と用途がさらに多様化すると考えられる。このようなトレンドは組換え食品の安全性確保と安全性評価に様々な局面で関わってくる可能性がある。以下、これらの関わりについて整理する。

(1) 組換え体の開発の進展と安全性評価との関わり

まず、組換え食品の開発にともなって、これまで安全性評価が行われていなかった新しいタイプの組換え食品が実用化される。その場合、以下のような関連事項があげられる。

○栄養改変等に関わる事項

- ・栄養素を増強した組換え食品、本来宿主生物が持っていなかった栄養素を持った組換え体（DHA、EPAを生産する植物等）の評価。
- ・代謝関連遺伝子を改変した組換え植物（例：耐塩性植物や耐乾燥性植物）については、代謝経路の改変にともない栄養素が変化するなどの影響が出る可能性が考えられる。このような組換え体の評価。

○新たな組換え体の実用化にともなう安全性評価のあり方

- ・動物、魚類の組換え体の安全性評価における、比較対象の考え方（比較対象とする生物とその成育ステージ等）。
- ・薬用植物、健康食品素材（クロレラ等）などの機能性食品に組換え技術が応用された場合の比較対象の考え方
- ・機能性をもち、疾病の予防・緩和目的で摂取される組換え食品は、食薬区分のあり方についての整理がまずは必要であるが、食品とされた場合には、その安全性評価のあり方。

○各論

個別の組換え体については、例えば、以下のような点が安全性評価に関連してくることが予想される。

- ・フィターゼ遺伝子導入ブタ、栄養要求性を改変した魚類などは、飼育・養殖過程での餌の利用効率向上、環境負荷低減を目的としており、従来の組換え体とは性格がやや異なる。このような場合の比較対象の考え方。

- ・栄養素が改変（増強）された組換え食品が普及した場合、適切な摂取量についての考え方にも影響があると予想される。さらに長期的には評価のベースとなる栄養素の摂取量（食品標準栄養成分表）そのものが変わる可能性がある。

（２）組換え食品の多様化にともなう食品への混入、食品・飼料への転用の可能性

前節では安全性評価の考え方に関連する事項を整理したが、組換え食品の多様化と世界的な利用拡大にともなって、交雑・混入など、非組換え食品（作物）との様々な関係が生じうる。それらは次のように整理できる。

（a）組換え体から非組換え体への遺伝子伝達（交雑によるもの）

- ・医薬品製造トウモロコシ→食用・飼料用トウモロコシ
- ・観賞用キク→食用ギク
- ・その他魚介類等（遺伝子導入サケ→非組換えサケ等）

特に導入形質が単一遺伝子により支配されている場合、食用作物との交雑において当該遺伝子の伝達だけで、組成等が変化し、食品安全面の問題が生じる可能性がある。

（b）組換え体の一部（未利用部分）が食品・飼料に転用される可能性

- ・臓器移植用動物の残余肉
- ・動物工場（例：ミルク中に医薬品を分泌する牛、卵中に医薬品を産生する魚類の肉等）

（c）組換え体と非組換え体とが識別不可能なことによる混入

- ・すべての組換え体で起こり得るが、特に隔離栽培（飼育）や個体識別、IPハンドリングが困難なもので問題になり得る。

- ・カドミウム汚染除去用イネ→食用イネ
- ・魚類、海藻、その他海産動物
- ・その他穀物・作物類

- ・その他、海外諸国での組換え体利用の拡大による意図せざる混入

(d) 今後予想される新しい組換え体（非食用も含む）の食品安全との関わり
以下のような新しい組換え体が出てきた場合の食品安全面での影響（誤食等）

- ・根粒菌等の植物共生菌
- ・キノコ
- ・牧草・緑化植物 等

(3) その他の関連事項

上記に関連して、以下のような事項も安全性評価に関連してくる可能性がある。ただし、これらの事項は現在の遺伝子組換え食品の安全性評価の範囲外の事項も含まれるため、あくまで参考として記述するものである。

○組換え DNA 技術、組換え動物等の定義

- ・セルフクローニング、ナチュラルオカレンスの範囲に入るような組換え体（例：ノックアウト動物）の位置付け
- ・組換え体を作成する過程で生まれた非組換え体（遺伝子が入らなかった牛等）の取扱い。組換え体の作出から廃棄までのプロセス毎に何を組換え体として扱うかを明確にする必要がある。
- ・組換え動物をさらに交配に用いた場合の取扱いについてどのように考えるべきか。

○その他

- ・ヒト由来の遺伝子を導入した組換え体の倫理面での問題
- ・栄養や健康食品に関する定義のあり方

(4) まとめ

以上のことを踏まえると、今後の新たな組換え体の開発にともなって、組換え食品の安全性評価においては、次の2つの視点が特に重要になってくると考えられる。

- ①安全性評価を実施する際の実質的同等性の考え方
- ②フードチェーンへの組換え体の混入（非食用→食用への混入）

①については、これまでの組換え農作物に加えて、栄養や機能が改変された作物や動物、魚介類、薬用植物などの新しい組換え食品の開発が進むことから、実質的同等性のアプローチを採用する際に、従来のもものと比較可能だが評価経験がないもの、比較対象の選定が困難なものが開発されてくる可能性がある。したがって、組換え体の開発動向に引き続き着目し、比較対象選定の考え方について、十分に検討しておく必要がある。また、実質的同等性の考え方が当てはまらないものについて検討しておく必要もある。

②の非食用→食用の混入（交雑）については、(2)で整理した通り、様々な混入経路があり得る。また、混入する組換え体の種類も、医薬品・工業原料生産作物といった新しいものが出現してくることも懸念される。

このようなケースを想定して、できるだけ混入しないような管理措置の確保・強化を行いながら、リスク管理のあり方を検討しておく必要がある。

今後は、国内外での遺伝子組換え体の開発動向を引き続きフォローするとともに、上記2点を踏まえつつ、組換え食品の安全性評価のあり方について情報収集を進めて行くことが重要である。

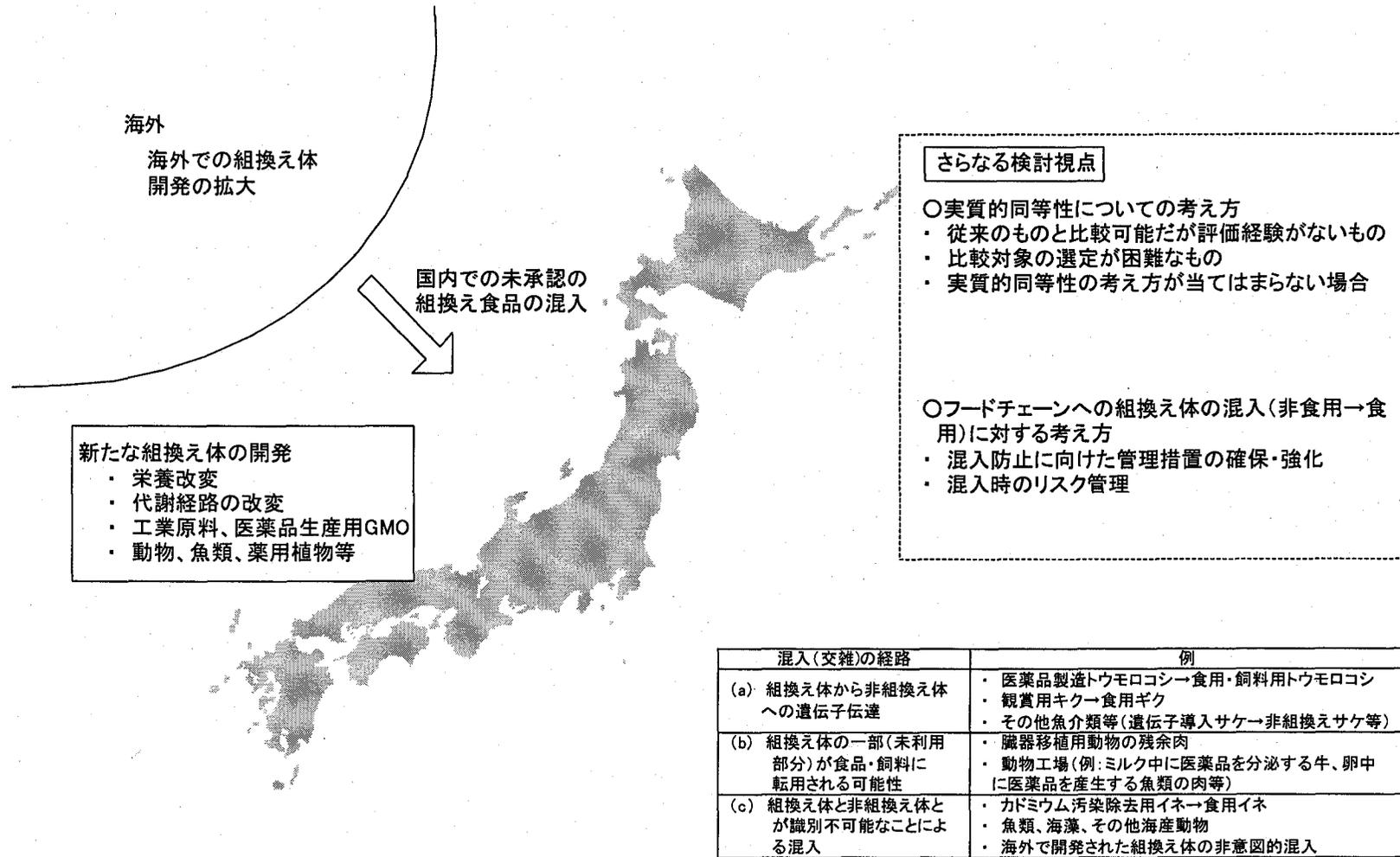


図3.2-1 新たな組換え食品の開発が安全性評価に与えるインパクト

参 考 資 料

1. 委員提出資料

- (1) 農林水産・環境分野における組換え体の開発動向に関する資料
- (2) 参考文献

2. 組換え体の開発状況に関する参考情報

- (1) 最近の組換え食品をめぐる海外報道
- (2) キノコの細胞融合に関する研究状況

3. 組換え食品の安全性および組換え体の開発動向に関する参考文献

4. 遺伝子組換え体に関する参考情報サイト

1. 委員提出資料

(1) 農林水産・環境分野における組換え体の開発動向に関する資料

研究開発中の遺伝子組換え作物 ＜機能性食品・有用物質生産用組換え農作物について＞

平成17年1月8日（土）

独立行政法人 農業生物資源研究所
植物細胞工学研究チーム長 田部井 豊

表1 機能性食品（栄養成分改変）として開発中の組換え作物

効果	導入された酵素遺伝子	植物
1) 脂肪酸組成の改変	高オレイン酸 (GmFad2-1)	ダイズ
2) EHA、DHA	ケトーレダクターゼ C18- Δ 9 伸長化酵素	アラビドプシス
4) ミネラル（高铁含有作物）	フェリチン	イネ・ダイズ
5) ビタミン A	フィトエン合成酵素 リコペン環状化酵素	イネ
6) ビタミン E	γ -トコフェノールメチル転移酵素	トウモロコシ
7) イソフラボン	イソフラボン合成遺伝子	シロイヌナズナ トウモロコシ
8) 必須アミノ酸	アントニル酸合成酵素の フィードバック制御の破壊	イネ・マメ
9) ポリフェノール（フラボノイド）	カルコンイソメラーゼ	トマト

表2 機能性食品として開発中の組換え作物

効果	発現された物質	植物
1) 血清コレステロール値低下作用	ダイズのグリシニン遺伝子	イネ
2) 高血圧予防	卵白アルブミン由来の ‘オボキシニン’	イネ・ムギ
3) 骨粗鬆症予防作物	ダイズのイソフラボン	
4) 肥満・動脈硬化予防作物	共役リノール酸	イネ
5) 感染症予防作物	ヒトラクトフェリン	イネ
6) 花粉症緩和作物	スギ花粉エピトープ	イネ
7) 糖尿病対策作物	GLP-1	イネ

花粉症発症メカニズムと花粉症緩和米により期待される症状の緩和



GLP-1の作用

—血糖値に応じたインスリン分泌を促進する—

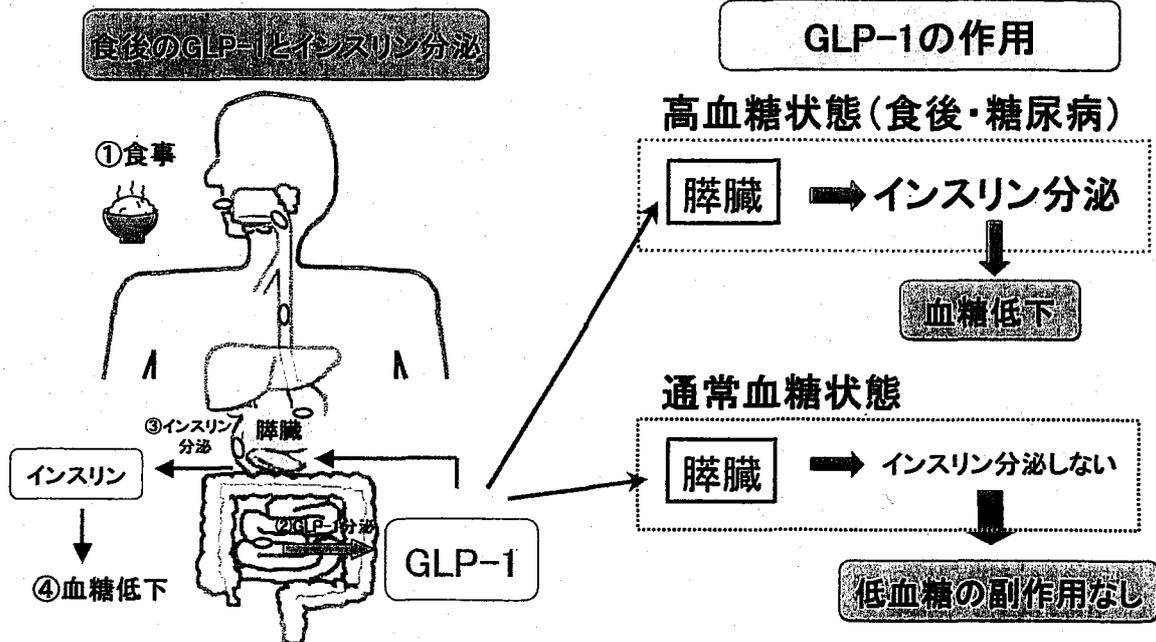


表3 植物による食べるワクチンの産生

効果	発現されたタンパク質 (抗原)	植物
毒素原性大腸菌	易熱性腸管毒素Bサブユニット	タバコ ジャガイモ トウモロコシ
コレラ	コレラ毒素Bサブユニット	ジャガイモ タバコ (葉緑体) トウモロコシ
B型肝炎ウイルス	B型肝炎ウイルス表面抗原	タバコ ジャガイモ ルピン レタス
ノーウォークウイルス	カプシドタンパク質	タバコ
急性胃腸炎予防		ジャガイモ
乳幼児下痢予防	ヒトロタウイルスVP 6	ジャガイモ
サイトメガウイルスによる肺炎、単核症の予防	ヒトサイトメガウイルス 糖タンパク質B	タバコ
ラビーウイルス	糖タンパク質	トマト
虫歯	虫歯菌表面タンパク質 SpaA	タバコ
I型糖尿病予防	グルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD65) CTB-インスリン	タバコ ジャガイモ
伝染性胃腸炎ウイルス (ブタ)	糖タンパク質S	アラビドプシス トマト トウモロコシ
口蹄疫	口蹄疫ウイルスVP 1	アラビドプシス アルファルファ
ウイルス性出血 (ウサギ)	VP 6 0	ジャガイモ

(農業及び園芸 2005 年)

表4 遺伝子組換え植物で発現させたワクチン抗原の例

	発現させた蛋白質	植 物
B型肝炎 虫歯 病原性大腸菌	B型肝炎ウイルス表層抗原 連鎖球菌表面蛋白質 SpaA 大腸菌易熱性毒素 B サブユニット (LT-B)	タバコ、レタス、ジャガイモ タバコ タバコ・ジャガイモ・ トウモロコシ
コレラ菌 ノーウォーク・ ウイルス 狂犬病	コレラ毒素サブユニット CT-A、CT-B ノーウォークウイルスカプシド 蛋白質 (NCVP) 狂犬病ウイルスの糖蛋白質	ジャガイモ・タバコ葉緑体 タバコ・ジャガイモ タバコ・ホウレンソウ・ トマト
HIV ライノウイルス 口蹄疫 マラリア インフルエンザ ガン ウサギウイルス 性出血 破傷風 ウシ肺炎 パスツレラ症 伝染性胃腸炎 ウイルス RS ウィルス ロタウイルス	HIV エピトープ (gp120/gp41) ヒトラインウイルスエピトープ (HR14) 口蹄疫ウイルスエピトープ (VP1) マラリア B 細胞エピトープ ヘマグルニチン c-Myc ウサギ出血病ウイルス VP60 蛋白質 Tet-C 抗原 ロイコトキシシン 50 糖蛋白質 S 外膜蛋白質 F 由来ペプチド エンテロキシシン NSP 蛋白質	タバコ・ササゲ ササゲ ササゲ・アルファルファ タバコ タバコ タバコ ジャガイモ タバコ葉緑体 クローバー シロイヌナズナ・タバコ ・トウモロコシ ササゲ ジャガイモ

(農業及び園芸 2005 年)

細胞工学を利用した育種

遺伝学や細胞学的手法等の発展に伴い、水産生物においても選抜と交雑による育種法以外に新しい手法を用いた育種技術が開発されてきた。従来の育種は交配可能な組み合わせに限定されていたが、細胞融合や遺伝子導入技術は、交配不可能な種間でも交雑や外来遺伝子導入による新しい遺伝的機能の添加などを行い、改良を加えることを可能とした。一方、主に魚類で発達した雌性発生、雄性発生技術は何世代もかけて行ってきた遺伝的固定を、わずか数世代の交配で遺伝的に均一な集団を作出することを可能にした。ここでは、これらの新しい育種法について概要を述べる。

1. 細胞操作

水産育種に応用されている細胞操作技術にはプロトプラスト化や細胞融合技術がある¹⁾。これらの技術は主に植物において用いられ、微細藻類、海藻類において有用な技術である。プロトプラストを用いた融合は交配による雑種と違い、細胞質因子が両種から伝達されることと、複二倍体の作出を可能にした。異種のプロトプラストを融合して培養し、植物体を再生できれば、種間にとらわれず、遠近交雑が可能となる。しかし、細胞融合を行うためにはプロトプラスト化技術、再分化技術、細胞融合技術などが確立していなければならない。また、このような技術によって複二倍体が作出されても、離れた種の融合の場合、遺伝的な不調和による生育の異常や稔性を解決する必要がある。現在までにアマノリ類で実験的成功例がある。

魚類においても、初期胚の細胞を用いてキメラを作成した報告がある。しかし、この技術も育種に応用できる段階ではない。また、ES細胞株が樹立されれば育種に応用できる細胞操作が行えるかもしれないが、残念ながら魚類においてES細胞を樹立したという報告はない。さらに、後述する雄性発生誘起のために精子を融合することも行われている。

2. 染色体操作

1980年代から主に魚介類で盛んに行われるようになった手法で雌性発生、雄性発生、倍数体作出操作を含んでいる。これらの操作は従来の選抜や交雑育種法と組み合わせることにより、品種改良に要する時間の短縮が期待できる。

1) 雌性発生

精子を紫外線や γ 線で照射し、遺伝的に不活性化し、正常な卵と受精させ、受精後第2極体の放出を阻止するか、第1卵割を阻止して染色体を倍数化し、生存性のある二倍体を得る技術である。一般に第1卵割阻止雌性発生二倍体より、極体放出阻止二倍体の方が成功率が高い。多くの魚類で成功例があり、応用範囲の広い技術である。

性決定様式がヘテロ型(XY型)の魚類(代表例:サケ科魚類)では雌性発生

二倍体はすべて雌となる。この原理を利用して雌が有用な種で全雌集団が育成され利用されている。また、雌性発生を繰り返すことで遺伝的に均一な集団（クローン）が育成されている。クローンそのものは実用価値が低いが、育種研究や育種素材として重要である。

2) 雄性発生

卵を紫外線や γ 線で照射し、遺伝的に不活性化し、精子と受精させ、第1卵割を阻止して二倍体とし、生存性のある個体を得る技術である。性決定様式がヘテロ型の個体を用いればYYとXX型の完全ホモ個体を得られ、YY個体を用いて雌と交配すると、子供が全てXYとなり、全雄生産が可能である。第1卵割阻止の成功率は低いので、精子を2つ融合しておき、この精子と不活性化した卵を受精させて二倍体を得ることも行われている。実用化された例は少ない。

3) 倍数体

卵と精子を受精後、極体が放出されるのを阻止することによって、染色体を3セットにした個体を利用する方法である。サケ科魚類等多くの魚種やマガキ等の貝類で実用化されている。一般に三倍体は妊性が低下する。そのことで成熟期の品質の低下などを抑制したり、また、交配して死んでしまうような異種間の組み合わせでも、異質三倍体とすることで生存性を回復する場合がある。多くの種で雄型三倍体（XXY型）は成熟することが認められる。そこで偽雄（XX型雄）と交配させることにより全雌三倍体（XXX型）が利用されている。卵と精子を受精させた後、第1卵割を阻止することによって四倍体作出もニジマスなどで行われているが、成功率は低い。この方法が確立すれば効率的な三倍体作出や種類の違う交配によって妊性のある四倍体（複二倍体）を作出することも可能となり、交配の選択肢が広がる。

3. 遺伝子導入

遺伝子機能の解析やクローニング技術の発達に伴い、種を超えて、目的の形質を導入することが可能となった。魚類においては成長ホルモン遺伝子を中心に研究が行われ、多くの報告がある²⁾。また、耐病性に関する研究も行われるようになった。遺伝子導入法としてはマイクロインジェクション法、エレクトロポレーション法、パーティクルガン法などが報告されている。また、サケ・マス類、ティラピア、アメリカナマス、コイ、ドジョウなど多くの魚種で遺伝子導入個体の作出が報告され、最近では貝類やエビ類でも研究が行われている。しかし、これらの技術を用いた育種を行うためには、消費者の理解や生態系との関係で確実な不妊化方法など、解決すべき課題が多い。

文献

1. 嵯峨直恆, 他 (1991): ラボマニュアル マリンバイオテクノロジー (宮地重遠監修), p.58-85, 掌華房
2. Dunham, R.A. (2004): Aquaculture and Fisheries Biotechnology, p.160-192, CA BI Publishing.

平成16年度第2回 日本水産学会水産増殖懇話会講演会

日時：平成17年1月29日（土）

場所：東京海洋大学 楽水会館 大会議室

「遺伝子組換え魚介類の水産増養殖への応用—その課題と将来—」

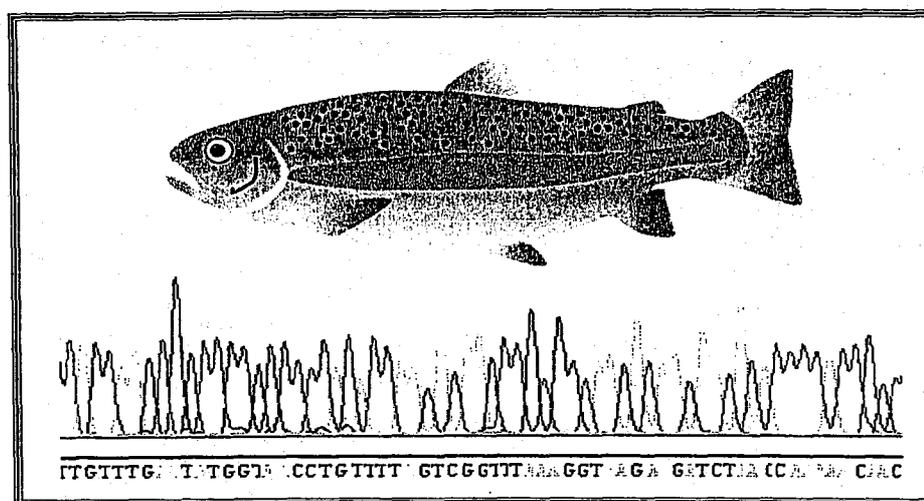
I. 開会挨拶	竹内俊郎委員長（東京海洋大学海洋科学部）	13:00-13:05
II. 講演会		
	(司会)	井上広滋（東京大学 海洋研究所）
1) 遺伝子組換えによる高DHA/EPA生産魚の作出	吉崎悟朗（東京海洋大学 海洋科学部）	13:05-13:35
2) 遺伝子組換えによる魚類の肉質の改善	豊原治彦（京都大学大学院 農学研究科）	13:35-14:05
3) 魚卵で薬をつくる	森田哲朗（東京海洋大学 海洋科学部）	14:05-14:35
-----休憩-----		14:35-15:00
	(司会)	青木 宙（東京海洋大学 海洋科学部）
4) 光るメダカと組換え魚飼育管理の問題	青木康展（国立環境研究所）	15:00-15:30
5) 遺伝子組換え魚の安全性と問題点	名古屋博之（養殖研究所）	15:30-16:00
III 総合討論		16:00-16:50
IV 閉会挨拶	小川和夫副委員長（東京大学大学院 農学生命科学研究科）	16:50-17:00

企画趣旨

近年、日本は大量の遺伝子組換え穀物を食用、飼料用として輸入している。水産分野においても、遺伝子組換え魚類の研究は、この15年間に目覚ましいスピードで進歩した。以前は成長促進を目指した研究がほとんどであったが、最近では栄養要求を改変する試みや、刺身のテクスチャーを操作する研究、さらには魚卵で薬を生産しようといった研究も進んでいる。一方、遺伝子組換え魚の食品としての安全性、さらには環境への影響を危惧する声も多く聞かれる。そこで、本講演会では水産分野における遺伝子組換え魚研究の現状と課題、および将来展望を紹介するとともに、その応用の可能性について討議する。

平成16年度第2回日本水産学会
水産増殖懇話会講演会

「遺伝子組換え魚介類と水産増養殖
—その課題と将来—」



日時：平成17年1月29日（土）
場所：東京海洋大学 品川キャンパス 楽水会館 大会議室

平成16年度第2回 日本水産学会水産増殖懇話会講演会

日時：平成17年1月29日（土）

場所：東京海洋大学 品川キャンパス 楽水会館 大会議室

「遺伝子組換え魚介類と水産増養殖—その課題と将来—」

I. 開会挨拶

竹内俊郎委員長（東京海洋大学海洋科学部） 13：00-13：05

II. 講演会

（司会）井上広滋（東京大学 海洋研究所）

1) 遺伝子組換えによる高DHA/EPA生産魚の作出

吉崎悟朗（東京海洋大学 海洋科学部） 13：05-13：35

2) 遺伝子組換えによる魚類の肉質の改善

豊原治彦（京都大学大学院 農学研究科） 13：35-14：05

3) 魚卵で薬をつくる

森田哲朗（東京海洋大学 海洋科学部） 14：05-14：35

-----休憩-----

14：35-15：00

（司会）青木 宙（東京海洋大学 海洋科学部）

4) 光るメダカと組換え魚飼育管理の問題

青木康展（国立環境研究所） 15：00-15：30

5) 遺伝子組換え魚の安全性と問題点

名古屋博之（養殖研究所） 15：30-16：00

III 総合討論

16：00-16：50

IV 閉会挨拶

小川和夫副委員長（東京大学大学院 農学生命科学研究科）

16：50-17：00

企画趣旨

近年、日本は大量の遺伝子組換え穀物を食用、飼料用として輸入している。水産分野においても、遺伝子組換え魚類の研究は、この15年間に目覚ましいスピードで進歩した。以前は成長促進を目指した研究がほとんどであったが、最近では栄養要求を改変する試みや、刺身のテクスチャーを操作する研究、さらには魚卵で薬を生産しようといった研究も進んでいる。一方、遺伝子組換え魚の食品としての安全性、さらには環境への影響を危惧する声も多く聞かれる。そこで、本講演会では水産分野における遺伝子組換え魚研究の現状と課題、および将来展望を紹介するとともに、その応用の可能性について討議する。

遺伝子組換えによる高 DHA/EPA 生産魚の作出

吉崎悟朗（東京海洋大学）

青魚を食べると頭がよくなる、あるいは健康によいといった話は、最近頻繁に耳にするが、これらの機能の多くは高度不飽和脂肪酸の一種であるエイコサペンタエン酸 (EPA) とドコサヘキサエン酸 (DHA) が司っていると考えられている。実際、EPA は血小板の凝集抑制作用や血中脂質の低下作用があり、動脈硬化の予防に効果があるとされている。一方、DHA は神経系の発達を促し、記憶や学習能を向上させる作用が知られているうえ、最近では抗アレルギー作用を有していることも明らかになっている。しかし、青魚を含む多くの海産魚は、これら EPA・DHA を自身で合成することはできない。すなわち、これらの魚たちは植物プランクトンが合成した EPA や DHA を、食物連鎖を介して魚体内に蓄積するだけなのである。したがって、海産魚の種苗生産や養殖時には、餌料の中に EPA・DHA を添加する必要性が生じてくる。特に仔稚魚用の生物餌料にこれら脂肪酸を強化するためには多くのコストと手間を必要とする。このことは、海産魚はリノレン酸から EPA や DHA を合成する酵素のいずれかを欠損しているか、その活性が極めて微弱であることを示唆している。そこで本研究では、遺伝子組換え技術を用いて、EPA・DHA 合成酵素遺伝子群を魚類に導入することで、リノレン酸からこれら EPA・DHA を合成することが可能な海産魚を作出することを最終目的とした。すなわち栄養強化が不要な海産魚の作出である。そこで、本研究では EPA・DHA 高生産海産魚作出の第 1 段階として、ヤマメから EPA・DHA 合成酵素の一種である $\Delta 6$ 様脂肪酸不飽和化酵素 (des) および $\Delta 5$ 様 des の遺伝子を単離後、これらをゼブラフィッシュに導入し、その脂肪酸代謝に及ぼす影響を調査した。

まず、ヤマメから単離した 2 種類の脂肪酸不飽和化酵素 cDNA をメダカ β -アクチン遺伝子の発現制御領域の下流に接続した発現コンストラクトを構築した。これら発現コンストラクトをゼブラフィッシュ受精卵の細胞質にマイクロインジェクションすることで遺伝子導入を施した。さらに、外来遺伝子を保持している F0 世代から F1、F2 世代を作出し、安定して外来遺伝子を保持している F2 個体を用いて、外来遺伝子の発現を調査するとともに、ガスクロマトグラフィーを用いて各種脂肪酸組成の分析を行った。

脂肪酸分析を行った結果、 $\Delta 6$ 様 des を高レベルで発現している系統においては、全

組織中の EPA 含量が非遺伝子組換え個体の 1.4 ± 0.1 倍、DHA 含量が 2.1 ± 0.2 倍と有意に高い値を示した。さらに、 $\Delta 5$ 様 des 遺伝子を導入した系統においては、DHA 含量が非遺伝子組換え個体の 1.3 ± 0.1 倍と有意に高い値を示した。

以上のように、脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子をゼブラフィッシュ個体に導入することで、EPA・DHA 合成能力を上昇させることが可能であった。このような高 EPA・DHA 生産魚は、先にも述べたように、多くの機能性を保有する食品としても価値があると考えられる。また、今回の研究ではモデルとしてゼブラフィッシュを用いたが、本技法を海産魚に応用することで、栄養強化が不要な海産種苗の生産も可能になると期待される。さらに、これらの外来遺伝子を導入した個体はリノレン酸を材料に EPA・DHA を高レベルで合成することが可能であるため、飼料原料として魚油ではなく、植物油を使用することも可能になると予想され、飼料コストの削減が可能になるのみならず、魚油に由来する汚染物質が養殖魚体内に移行することも防止可能であると考えられる。

遺伝子組換えによる魚類の肉質改善

豊原治彦（京都大学大学院農学研究科）

1960年代にはじまった海産魚の養殖は、高速道路網の充実や活魚輸送技術の発達とあいまって、我が国の魚の消費形態に大きな変革をもたらした。現在では、マダイやブリでは生産量の大半が養殖魚で占められており、そのほとんどが刺身や寿司ネタとして生（なま）で食べられている。例えば、農林水産省の「さかなの消費実態」統計によると、さまざまな魚の食べ方のうち、「寿司」と「刺身・たたき」を合わせた生食が、年齢に関わらず圧倒的に人気の上位を占めている。さらに最近では、寿司や刺身は健康志向ブームの影響から欧米でも受け入れられるようになり、海外で寿司屋を見かけることもそう珍しいことではなくなってきた。

魚の生食において、歯ごたえはその品質を決定する重要な要素である。一般に魚の肉質は牛肉などの畜肉と比較して軟らかく、しかも死後その硬さは急激に低下する。このように魚肉はたとえ低温でも死後、筋肉の軟化が速やかに進行するために鮮度がきわめて重要であり、売り場においてのシェルフライフは他の食品にくらべて短い。本日は、筆者らがこれまで行ってきた魚肉の軟化機構に関する研究結果と、遺伝子組換え技術を用いたその抑制方法について概説したい。

新鮮な魚肉が持つ歯切れのよさは、どのような構造に由来するのだろうか。焼き魚や煮魚を食べるとき、魚肉を箸でつまむと一定の幅のW字型にほぐれてくることがある。これは魚の筋肉がW字型の一定の厚さの構造が集まってできているからである。このW字の境界にあたる白い筋を筋隔膜とよぶ。筋隔膜と筋隔膜の間はたくさんのきわめて細い筋繊維（筋細胞）で連結されており、これらの筋繊維は収縮・弛緩することで泳ぐために重要な働きをしている。各筋繊維は筋内膜で覆われ、これらの筋内膜どうしは互いにしっかりと結合されている。そのため筋内膜は結合組織ともよばれ、その主成分はコラーゲンとよばれるタンパク質であることが知られている。これまでの私たちの研究から、魚肉冷蔵中の軟化はマトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）による筋内膜コラーゲンの分解によること、及びMMP活性はその内因性阻害タンパク質TIMPにより制御されていることが明らかとなっていった。一般に養殖魚は天然魚にくらべ、肉質が軟らかく、冷蔵中に軟化しやすいといわれている。そこで私たちはTIMP遺伝子を導入したトラン

スジェニック魚を作出することにより、養殖魚の肉質改善を試みている。

まず、実験室レベルの研究として、筋肉細胞においてヒラメ TIMP 遺伝子を発現するトランスジェニックメダカの系統を作出し、この系統のメダカにおけるヒラメ TIMP 遺伝子の発現を調べたところ、ヒラメ TIMP の mRNA はすべての筋細胞に発現されていた。さらに免疫組織学的な検討から、同遺伝子はタンパク質レベルにおいてもすべての筋繊維でその発現が確認された。トランスジェニックメダカから切り出した筋肉を 4℃で 24 時間冷蔵し、同様に冷蔵した非導入魚の筋肉と微細構造の変化を比較した結果、非導入魚の筋肉では冷蔵後に筋細胞の分離が観察されたのに対し、トランスジェニック魚の筋肉では冷蔵による影響は認められなかった。以上の結果は、過剰発現させたヒラメ TIMP がメダカの内因性 MMP 活性を阻害したことにより、冷蔵中の筋内膜コラーゲンの分解が抑制された可能性を示唆するものであった。

現在、この技術を重要養殖魚であるマダイに適用するための研究を行っている。この研究においては、遺伝子組換え魚の社会的受容を考慮して、マダイ以外の生物に由来する遺伝子をまったく持ち込まないような工夫をして養殖マダイの肉質を改善することを目指しており、本日はその途中経過についても報告させていただきたい。

魚の卵で薬を作る

森田哲朗（東京海洋大学）

組換えタンパク質生産技術の発展により、生体内に微量しか存在せず、入手が困難であったタンパク質を大量に生産することができるようになった。その結果、薬理活性を有する多くのタンパク質を、医薬品として安定供給することが可能になった。医薬品としての組換えタンパク質は、欧米では150億ドル規模の市場を形成するまでに需要が伸びている。現在、組換えタンパク質生産の宿主として用いられている生物は、大腸菌や酵母、昆虫細胞、哺乳動物細胞、そして大型哺乳動物など多岐にわたっている。現在までに大腸菌や哺乳動物細胞を用いて多数の組換えタンパク質が生産され、医薬品として実用化されているものも多い。しかしながら、それぞれの系が長所・短所を有しており、全ての点において優れた発現系は存在していない。このため、生産するタンパク質の特性や使用目的にあわせて、最適であろうと予想される発現系を選択する必要がある。

本研究では、新たな組換えタンパク質発現系として、魚類、特にニジマス卵の利用を検討した。ニジマス卵は、従来の宿主生物とは異なる多くの特長を有している。まずニジマスは脊椎動物であるため、複雑な構造を持つタンパク質の生産が可能であると予想される。また、ニジマス受精卵へ外来遺伝子を導入した際、受精後4日の卵でみられる外来遺伝子の一過性発現を利用すれば、短期間で大量の組換えタンパク質を生産することが可能になると期待される。さらに、ニジマス卵は培養液等の高価な試薬を必要とせず、水中に入れておくだけで飼育できるため、非常に低コストで組換えタンパク質を生産できると考えられる。そこで本研究では、ニジマス卵を用いた組換えタンパク質生産技法を開発し、医薬品生産への応用の可能性を検討することを目的とした。

まず、ニジマス卵を用いた組換えタンパク質生産が可能か否かを明らかにする必要がある。そこで第1の実験として、キンギョの生殖腺刺激ホルモン（GTH）をモデルタンパク質として選択し、ニジマス卵を用いた生産を試みた。GTHは、 α 鎖と β 鎖からなる2量体の形成や、糖鎖の付加などの修飾を受けなくてはホルモンとしての活性を持たないため、ニジマス卵発現系のタンパク質修飾能力を解析する最適な材料であると考えた。このキンギョGTHをコードする遺伝子をニジマス受精卵へ導入し、4日間飼育水中で培養した後、囊胚期に達したニジマス卵を用いて種々の解析を行った。その結果、ニ

ジマス卵においてキングヨ GTH と予想される組換えタンパク質が生産され、このタンパク質が GTH としての生物活性を有することが明らかになった。

続いて第 2 の実験として、本発現系が薬理活性を有する組換えタンパク質の生産へ応用可能かどうかを調べるため、先天的肺気腫の治療薬として利用されているヒト α 1-アンチトリプシン (AT) の生産を試みた。その結果、ニジマス卵において生産された組換え AT が、肺気腫を進行させる酵素であるエラスターゼの活性を抑制することが明らかになった。

以上のように本研究では、ニジマス卵を用いることで、生物活性を有する組換え GTH および組換え AT の生産に成功した。これらの実験において、本発現系が短期間のうちに低コストで組換えタンパク質を生産できること、複雑な構造を持つタンパク質の生産に利用可能であることが明らかになった。また、実際に薬理活性を有する組換えタンパク質の生産にも応用可能であることを示した。なお、ニジマスにはヒトとの共通感染症が知られていないため、医薬品として安全性の高いタンパク質の生産が可能であろう。さらに、4℃という低温下でのタンパク質生産も可能であったことから、既存の発現系では困難であった熱耐性の低いタンパク質生産にも応用可能であると期待される。以上のことから本研究において、ニジマス卵を用いた組換えタンパク質生産技法の開発に成功し、また本技法が医薬品の生産へも応用可能であることを示した。今後は、ニジマス卵発現系の実用化に向けた、組換えタンパク質大量生産法の開発が必要である。

光るメダカと組換え魚飼育管理の問題

青木康展（国立環境研究所・化学物質環境リスク研究センター）

大腸菌に外来性の遺伝子を導入する技術は 1972 年に発表された。人が遺伝子を操作するという、それまで全く考えられなかった技術は社会に大きな衝撃を与えた。その理由のひとつは、外来性遺伝子が導入された生物（以下遺伝子導入生物と略す、ただし公には遺伝子組換え生物と呼んでいる）が環境や人の健康にどのような影響を与えるか全く予想がつかなかったからである。それに応える形で研究者の会議（開催地にちなんでアシロマ会議と呼ばれる）が 1975 年に開かれ、研究の自主管理が取り決められた。その要点は、遺伝子導入微生物の利用を閉鎖系に限定し、環境や人の健康への影響が及ばないようにしたことである。この考え方は現在の遺伝子導入生物の利用管理の基本になっている。しかし間もなく、遺伝子導入生物の作成は微生物から動物・植物にも拡大された。

遺伝子導入マウスが 1985 年に発表された後、メダカへの遺伝子導入技術は 1986 年に、ゼブラフィッシュについては 1988 年に発表された。その後の状況を見ると、遺伝子導入微生物と異なり、実験用以外の遺伝子導入動植物は開放系（一般環境）での利用を意図して開発される場合が多いように思われる。アシロマ会議からほぼ 30 年たち、多くの研究の結果から、遺伝子導入生物の管理も当初に比べればかなり緩やかとなっている。しかし、一般環境で利用する場合の最大の問題点が、遺伝子導入生物を管理する困難さにあることは今も変わらない。わが国においても、カルタヘナ議定書対応の国内法として「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」が制定され、遺伝子導入生物の開放系利用の影響評価が法律に基づいて行われるようになった。

一般に、遺伝子導入魚を一般環境（河川中などが想定される）で利用する上で明らかにすべき影響として、以下が指摘されている。例えば、

- (1) 遺伝子導入魚が水系生態系におよぼす影響。様々なメカニズムを通じて、野生の動植物の個体数に影響を及ぼすか否か。
- (2) 遺伝子導入魚と野生魚が交配して、野生魚の集団の中に魚に導入された遺伝子が伝播していくか。また、その影響は如何程のものか。

(3) 遺伝子導入魚の排泄物等を通じて、魚に導入された遺伝子が環境中の生物とくに微生物に伝播するか。また、その影響は如何程のものか。などである。

これらの影響を防ぐための飼育管理手法の開発が必要であるが、現実にはこれらの影響を把握するための方法の開発がまず必要な状況である。そのような中、法制化される前の一昨年、観賞魚として開発された‘光るメダカ’が輸入されたのである。

この‘光るメダカ’には、Green Fluorescence Protein (GFP、直訳すると緑色蛍光たんぱく質)という生体エネルギーを利用して蛍光を発するたんぱく質の遺伝子が導入されているため、常時全身が光っている。近年、新しい技術の所産は、そのリスクを定量的に評価し、さらに利便性とのバランスのなかで、社会に導入すべきか否かを定めるべきと云われる。一般論としてそれは当を得ている。しかし、遺伝子導入生物の場合、どのような管理手法が最も適切であるかも含め、リスクを評価するには不確実な要素が多い。その一方、‘光るメダカ’に限らず遺伝子導入生物の利便性は、誰がその利便性を最も享受するかも含めて良く考える必要がある。飼育管理の観点を中心に、解決すべき課題を議論したい。

遺伝子組換え魚の安全性と問題点

名古屋博之（独立行政法人水産総合研究センター養殖研究所）

遺伝子組換え魚に関する報告は1970年代から始まり、1980年中頃までは異なった種からクローニングした遺伝子を導入する実験が行われていた。一方、メダカやゼブラフィッシュのような非食用の実験魚類でも基礎研究を目的に、多くの組換え体に関する研究が報告されている。

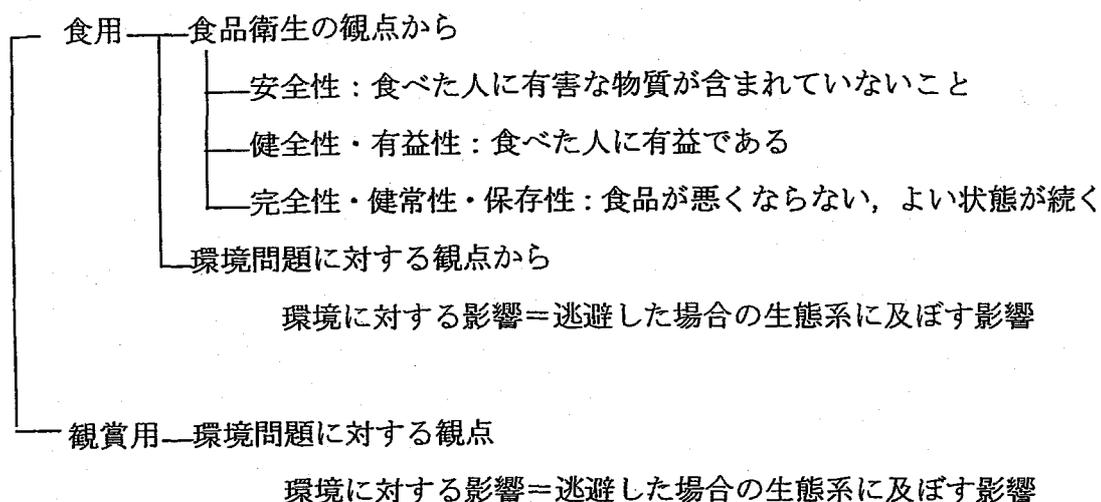
食用を目的とした組換え体魚類の状況は、すでにアメリカとカナダに本拠を置く A/F Protein 社が不凍蛋白プロモーターの下流にマスノスケの成長ホルモン cDNA を組み合わせたプラスミッドを主に大西洋サケを中心に遺伝子導入し、多数の組換え魚を作出している。すでに FDA に食品として出荷できるように許可を申請中である。また、サケ科魚類以外にもティラピア、コイ、ナマズ、ドジョウなどの淡水魚の他に、海産魚のマダイの仲間等、多数の魚種で組換え魚が作出されている。

観賞魚としての利用もすでに台湾の TAIKONG が開発した光るメダカが一部日本に輸入された経緯がある。また、アメリカでは体色を組換え技術によって変化させたゼブラフィッシュ (GloFish, Yorktown technologies 社) が市販されている。このような状況下、安全性に対する取り組みは遅れているが、それでもいくつかの論文が発表されるようになった。

本講演では水産対象魚種における組換え体の安全性とそれに付随する問題点等を整理し、情報を提供したい。

組換え体魚類に対する安全性を考える場合、以下のように整理できる。

組換え体魚類に対して



これらの問題に対する取り組みや我々の研究の一部を紹介する。

食品衛生上の観点から、現在、国内では組換え体食品の安全性について、厚生労働省が「バイオテクノロジー応用食品の安全性確保に関する研究」において、組換え植物に対してアレルギー性、慢性毒性・発がん性等の生物特性や組換え生物の検知技術、組換え微生物の腸内細菌叢での動態等について研究を行っている。また、昨年度から薬用組換え作物についても情報の収集を始めている。また、国際的にはコーデックス委員会（FAO/WHO合同食品規格計画の実施機関）の中の「バイオテクノロジー応用食品特別部会」で、その安全性等の問題に取り組んでいる。しかし、組換え魚類の安全性についての研究は少なく、具体的論議は行われていないのが現状である。

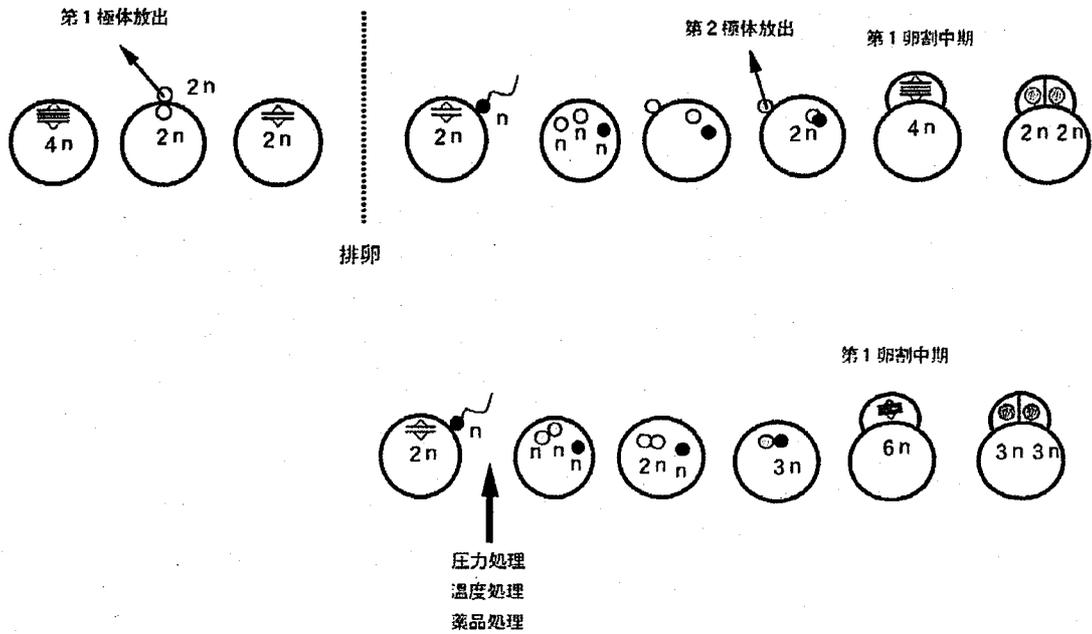
通常、私企業が組換え生物を食品として申請するときに提出したであろう安全性に関するデータを我々は手に入れることが不可能である。また、我々が現在作出している組換えアマゴをモデルにして、食品としての安全性を研究する場合、単独では研究を推進する能力はなく、共同研究などを行って研究を推進するしか方法がない。

文献においては、キューバにおいて遺伝子組換えティラピアをボランティアに食べさせ、それらのボランティアから採血を行い、血液性状について調べたという論文がある。

また、最近、組換え魚類の特性評価を行った論文が報告されるようになり、リスク評価に関する総説なども報告されるようになった。

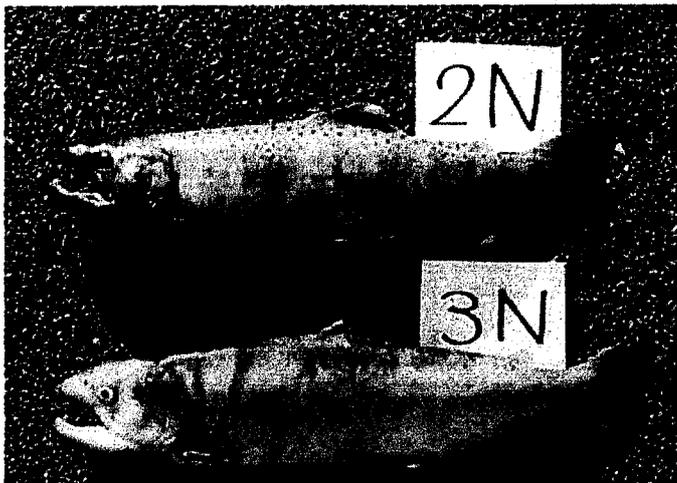
このような中で我々の研究は、主に組換え体の検知技術および閉鎖系、非閉鎖型における組換え体を安全に飼育・評価する項目等について研究を行っている。

魚類 3 倍体資料



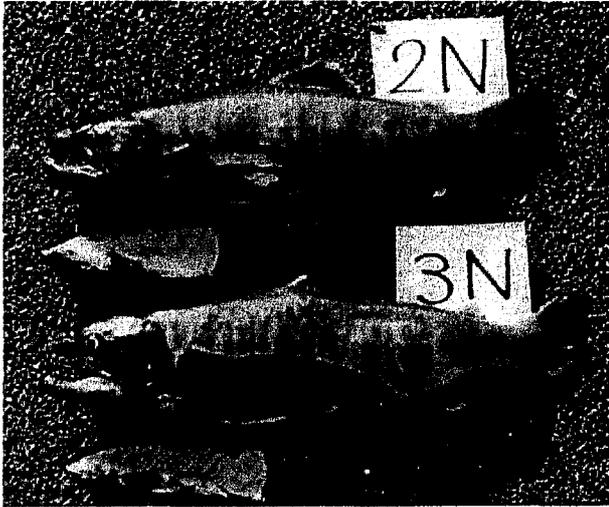
3 倍体の作出

3Nアマゴ (下) の外見



3N アマゴ (下) の開腹

精巣がほとんど発達していない



3N アマゴの精巣 (下)

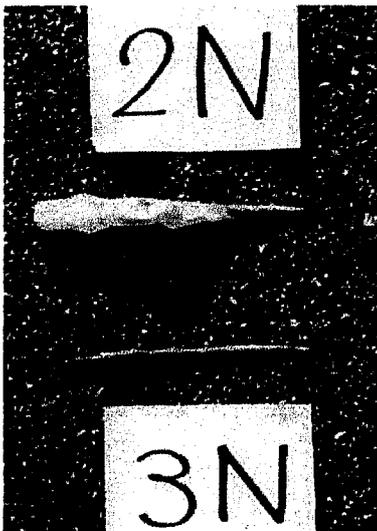


Table 1 Large-scale production of triploid masu salmon by hydrostatic pressure using an electromotive Frenchpress and a 800 ml vessel

	Treatment date	
	12 Sep. 1989	11 and 12 Sep. 1990
Methods of treatment	750 kg/cm ² for 6min 15min after fertilization	750 kg/cm ² for 6min 11min after fertilization
Number of eggs treated	200,000	222,000
Percentage triploid (Number of embryos examined)	99.2% (236)	91.3% (121)
Percentage survival at eyed eggs	76.0%	84.1%

News Clippings

3/10/2005

FDA may clear GM salmon

by: **Matt Volz**, The Associated Press

Ellinghuysen

 E-MAIL |  PRINT

JUNEAU, Alaska - A Massachusetts company expects to get the federal government's OK to sell genetically enhanced salmon within a year, a prospect that scares some Alaskan fishermen.

If Waltham, Mass.-based Aqua Bounty Technologies' application to the Food and Drug Administration is approved, the salmon would be the first genetically enhanced animal sold for consumption in the United States.

Aqua Bounty began its federal application process about nine years ago, said company spokesman Joe McGonigle.

FDA spokeswoman Rae Jones confirmed that Aqua Bounty has an application pending, but declined to comment further.

The earliest the genetically modified salmon could hit U.S. and Canadian markets would be sometime in the next decade after permits for selling and raising the fish in both countries are approved.

The company says its genetically enhanced salmon grow from an egg to maturity in 14 to 16 months, compared with the 22 to 30 months it takes wild salmon. It plans to sell its genetically modified fish eggs to fish farms.

Commercial fishermen in Alaska say they are concerned about what would happen if the modified salmon escape their pens and mingle with wild salmon.

"Already we fear Atlantic salmon as an invasive species in our productive salmon spawning waters," said Mark Vinsel, executive director of United Fishermen of Alaska. "When you add in the genetically modified fish, I think the concerns are multiplied."

Some fishermen and anti-fish farming states such as Alaska have denounced genetically modified, or transgenic, salmon as unhealthy, uneconomical and dangerous to native species.

Producers and industry representatives argue the fish are safe, and genetically modified foods are already widely accepted in the United States.

"Fish would be no different from a soybean plant or cheese," said Lisa Dry, spokeswoman for the Washington-based Biotechnology Industry Organization. "We're in our 10th year of eating these products. ... They're just so prevalent in our diet, I think that speaks to safety."

Gregory Jaffey of the Center for Science in the Public Interest cautioned, however, that no one knows for certain about safety because the federal regulatory process is closed.

"I don't anticipate that there will be health problems ... but I would want to be able to see that data," he said.

State lawmakers are already preparing for the introduction of genetically modified fish. A bill by Sen. Kim Elton, a Democrat from Juneau, and Sen. Gary Stevens, a Republican from Kodiak, would require labeling genetically modified fish.

The bill passed the Senate and is being considered by the House.

1. はじめに

米国では、1987年から組換え微生物の野外試験が開始され、これまでに数種の組換え微生物の野外利用が認められている。しかしながら、利用されている微生物は主に農業利用の分野であり、環境利用を目的とする組換え微生物に関して、これまでに多くの研究開発がなされているが、開放系で利用されるにいたっていない。組換え微生物が実用化していない理由として、作物については品種改良された植物が自然環境下で栽培され、花粉の飛散性などの多くのデータが蓄積されているが、微生物の分野では、コンポストや土壌改良剤とし多くの微生物資材が使われているものの、いずれも混合微生物系であり、環境中における微生物の挙動に関するデータがほとんど無いことと思われる。また、根粒菌のような微生物でも十分挙動が解明されていないため、組換え微生物の安全性評価が難しいこともあるが、有効な組換え微生物が開発されていないことに起因すると考えられる。

2. 世界で最初に行われた組換え微生物の野外試験

米国カルフォルニア大の Lindow ら、および Advanced Genetic Science 社の両グループがイチゴやジャガイモの霜害の原因菌である *Pseudomonas fluorescence*, *Pseudomonas syringae* が作り出す氷核タンパク質遺伝子を欠損させた組換え細菌（アイスマイナス菌）を 1982 年に作成した。これを作物表面に散布し天然の氷核形成細菌と置き換え、霜害を防止する野外試験が 1987 年に実施された。組換え微生物の微生物農薬として、氷核遺伝子を除去した組換え *Pseudomonas fluorescence*, *Pseudomonas syringae* が 1992 年に登録された。いずれも遺伝子を除去した組換えであり、異種微生物からの DNA を導入されたものではない。その後、殺虫毒素遺伝子組換え *Bacillus thuringiensis* が 1995 年に、窒素固定能を増強した組換え根粒菌 *Sinorhizobium meliloti* が 1997 年に使用許可された。わが国でも、1995 年にクボタが組換え BT 死菌剤を商品化している。わが国における組換え微生物の野外利用の第 1 号である。

3. 環境利用を目的とする組換え微生物

1) 芳香属化合物

テネシー大学を中心とする研究チームが、土壌細菌 *Pseudomonas fluorescence* に炭化水素を分解する酵素遺伝子と蛍光を発する *lux* 遺伝子を組み込んだ組換え微生物を用いて、炭化水素で汚染した土壌のバイオレメディエーションの効果と微生物の挙動を調べる目的で野外試験を実施した。バイオレメディエーションの効果の定量的な把握は困難であったが、組換え微生物の外部漏出や大気への拡散はほとんど認められなかったと報告している。

S. Ripp et al Appl. Microbiol. Biotech. 53, 736-741 (2000)

2) リンの回収

大竹らは、大腸菌にリン酸特異的輸送系 Pst 系遺伝子及びポリリン酸合成酵素遺伝子をコードする *ppk* 遺伝子を組み込み、リンを 16% (リン酸 48%) を含有する組換え大腸菌を作成した。

大竹久夫：環境科学会誌, 12, 433-441 (1999)1

3) PCB

PCB分解力の異なる二つの菌株、*P. pseudoalcaligenes* KF707 株と *Burkholderia cepacia* LB400 株の PCB 分解に関与する *bph* 遺伝子群の並び方および塩基配列はきわめて類似していた。この PCB の分解に関与する両株のビフェニルジオキシゲナーゼのサブユニット遺伝子をハイブリッドしたところ分解能の増大することを報告している。

4) トリクロロエチレン

古川らは、トリクロロエチレンや PCB の分解機能を強化した組換え微生物を開発している。すなわちビフェニル酸化菌 *Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707 株は PCB を分解できるが、トリクロロエチレンを分解できない。分解能は、ビフェニルジオキシゲナーゼに由来し、本酵素は鉄・硫黄タンパク (*bphA1, bphA2*) とフェレドキシン (*bphA3*) とフェレドキシン還元酵素 (*bphA4*) の4つのサブユニットから構成されていた。一方、トルエン酸化性菌の *Pseudomonas putida* Fl 株のトルエンジオキシゲナーゼは、*todC1, todC2, todB, todA* から構成されているが、トリクロロエチレンを分解できない。この両酵素のサブユニット遺伝子を相互に置換して種々のハイブリッドを構築し、KF707 株の染色体に導入したところ、分解力を持たない宿主が、10ppm のトリクロロエチレンを6時間で完全に分解する能力を示した。遺伝子をハイブリッドすることにより、両者にはない新たな形質の発現が確認された。

古川謙介他、化学と生物, 38, 390-397(2000).

5) 水銀

腸内細菌由来のプラスミド NR1 にコードされている水銀還元に関連した遺伝子群 *mer* オペロンを広宿主域ベクター pSUP104 に組み込んで組換えプラスミド pSR134 を作成した。これを *Pseudomonas putida* PpY101 に電気パルス法を用いて導入し、水銀除去微生物を作成した。本菌株内での pSR134 のコピー数は約 20 コピーであり、100 mg/L の塩化第二水銀を含む平板培地においても増殖できる高水銀耐性能を示した。河川水および海水からの 40mg/l の水銀除去が可能であり、また土壌中においても、チオールを添加した系において、約 60% の水銀の除去が可能であった。

K. Iwasaki et al., Biosci. Biotech. Biochem., 58, 851-854 (1994)

K. Iwasaki et al., Biosci. Biotech. Biochem., 57, 1264-1269 (1993)

K. Iwasaki et al., Environ. Sci., 13, 483-489 (2000)

S. Okino et al., Bull. Environ. Contam. toxicol., 68, 712-719 (2002)

4. 終わりに

現在までに環境利用を目的とする商品化された組換え微生物は開発されていない。効果のある組換え微生物が開発されていないこと、また野外における組換え微生物の安全性についてデータが不足しているためと考えられる。しかし組換え体による研究は精力的になされている。英国のレメディオス社は、土壌中の重金属や毒性物質、爆薬が存在すると強いブルーの光を発する組換え細菌を開発した。(2000年3月6日日経産業新聞)。

組換え微生物の活用は、環境浄化に活用される前に、まず環境汚染のモニタリングに活用されるものと考えられる。

transbacter: ホーム

transbacter

プロジェクト ホーム

登録し、ログインすると、プロジェクトに参加ができます。

要約 A new method for achieving plant transformation.

カテゴリ [fundamental-research](#)、[innovation-system-reform](#)

オーナー [bweir](#), [hmittchell](#), [rjefferson](#)

説明

TransBacter™ is the project which focuses on the use of bacteria outside the genus *Agrobacterium* for gene transfer to plants.

Agrobacterium is widely considered to be the only bacterial genus capable of transferring genes to plants. When suitably modified, *Agrobacterium* has become the most effective vector for gene transfer in plant biotechnology. However, the complexity of the patent landscape has created both real and perceived obstacles to the effective use of this technology for agricultural improvements by many public and private organizations worldwide.

This project focuses on three species of bacteria outside the *Agrobacterium* genus which have been modified to mediate gene transfer to a number of diverse plants. These plant-associated symbiotic bacteria were made competent for gene transfer by acquisition of both a disarmed (Ti) plasmid and a suitable binary vector. This alternative to *Agrobacterium*-mediated technology for crop improvement, in addition to affording a versatile 'open source' platform for plant biotechnology, may lead to new uses of natural bacteria-plant interactions to achieve plant transformation.

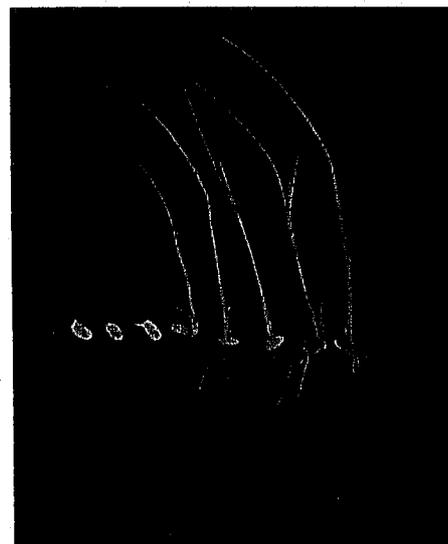
- [Read a general summary of the TransBacter project](#)
- [View a presentation introducing the gene transfer technology](#)
- [What's the problem with Agrobacterium? Read our technology transfer paper](#)
- [Read the recent article in Nature, entitled "Gene transfer to plants by diverse species of bacteria"](#)
- [Read the Supplementary data associated with the Nature article](#)

Want to find out more about participating in BioForge?

If you have not already done so, please register to obtain detailed protocols, strains and to find out how you can



False coloured SEM photo showing *Sinorhizobium meliloti* bacteria (coloured blue) on a tobacco leaf



Segregating rice seedlings from a transformation using *Sinorhizobium meliloti* stained with X-glcA to show GUS expression

(2) 参考文献

1) 動物の遺伝子組換え・クローニングの技術等に関する参考文献

『 Animal Transgenesis and Cloning (動物の遺伝子組換えとクローニング)』

- ・ 著者名 : Houdebine, Louis-Marie.
- ・ 出版社 : John Wiley & Sons, Inc. ; UNITED STATES
- ・ I S B N : 0-470-84828-6
- ・ 発行年 : 2003

目次

序

略語の説明

1. 遺伝子から遺伝子組換え動物まで

- 1.1 ゲノムの構成
- 1.2 遺伝子の構造
- 1.3 ゲノムに含まれる遺伝子の数
- 1.4 遺伝子工学における主な技術
 - 1.4.1 遺伝子のクローニング技術
 - 1.4.2 DNAの配列解読技術
 - 1.4.3 実験室レベルの遺伝子複製技術
 - 1.4.4 遺伝子の作出技術
 - 1.4.5 細胞への遺伝子移入技術
- 1.5 ゲノムの合成
- 1.6 古典的な遺伝子の選択
- 1.7 実験によるゲノムの突然変異
 - 1.7.1 化学的な突然変異
 - 1.7.2 外来DNAの細胞融合による突然変異
 - 1.7.3 遺伝子組換えによる突然変異

2. クローニングおよび遺伝子組換えの技術

- 2.1 クローニング
 - 2.1.1 分化過程の主な段階
 - 2.1.2 核移植によるクローニング

- 2.2 遺伝子治療
 - 2.2.1 遺伝子治療の目的
 - 2.2.2 遺伝子治療の方法
 - 2.2.3 遺伝子治療の応用
- 2.3 動物の遺伝子組換え技術
 - 2.3.1 動物の遺伝子組換えの目的およびコンセプト
 - 2.3.2 配偶子への遺伝子導入
 - 2.3.3 胚への遺伝子導入
 - 2.3.4 生細胞への遺伝子導入
 - 2.3.5 遺伝子付加に用いるベクター
 - 2.3.6 遺伝子置換に用いるベクター
 - 2.3.7 標的遺伝子の配列変換に用いるベクター
 - 2.3.8 外来遺伝子の標的融合
 - 2.3.9 標的遺伝子の組換えに用いる非古典的なベクター
 - 2.3.10 遺伝子トラップに用いるベクター
 - 2.3.11 遺伝子の発現に用いるベクター
- 3. クローニングおよび遺伝子組換え技術の応用
 - 3.1 動物のクローニング技術の応用
 - 3.1.1 基礎研究
 - 3.1.2 遺伝子組換え
 - 3.1.3 クローン動物の作出
 - 3.1.4 クローン人間の作出
 - 3.1.5 クローン治療
 - 3.1.6 移植
 - 3.2 動物の遺伝子組換え技術の応用
 - 3.2.1 基礎研究
 - 3.2.2 ヒトの病気に関する研究
 - 3.2.3 薬品生産
 - 3.2.4 移植
 - 3.2.5 繁殖
- 4. クローニング、遺伝子治療、遺伝子組換えにおける限界とリスク
 - 4.1 クローニングの限界とリスク
 - 4.1.1 ヒトにおけるクローンの作出
 - 4.1.2 動物におけるクローンの作出
 - 4.1.3 クローン治療
 - 4.2 遺伝子治療の限界とリスク

4.3 遺伝子組換えの限界とリスク

4.3.1 技術的限界と理論的限界

4.3.2 閉鎖系利用におけるバイオセーフティの問題

4.3.3 組換え動物の環境への意図的導入

4.3.4 ヒトの消費者のためのリスク

4.3.5 遺伝子組換えおよび動物の幸福

4.3.6 遺伝子組換え動物の特許の取得

4.3.7 ヒトにおける遺伝子組換え

結論と展望

参考文献

索引

2) ヒトの遺伝子を利用する際の倫理問題に関する参考文献

『 Committee on the ethics of genetic modification and food use
(遺伝子改変および食物としての利用に係る倫理問題に関する会議) 』

- ・ 議長： Reverend Dr J C Polkinghorne MA, ScD, FRS
President of Queens' College, Cambridge. A member of the Advisory Committee on Novel Foods and Processes.

目次

1. 序 および 参考文献の用語

背景

用語

本研究の趣旨

活動の方法

2. 遺伝子と遺伝子改変： 手引き

概論

遺伝子

遺伝子改変

ヒトの遺伝子導入における“希釈効果”

遺伝子の構造と発現

目的

遺伝子組換え食物の加工と調理の影響

食物の摂取による遺伝子のトランスの確率

3. 課題

概論

ヒト由来遺伝子コピーの他の生物への導入

動物由来遺伝子コピーの他の動物への導入

動物由来遺伝子コピーの植物への導入

植物由来遺伝子コピーの他の生物への導入

非食物の動物由来の遺伝子コピーの導入

遺伝子組換えが失敗した非組換え動物の食物としての利用

動物飼料に含まれるヒト由来の遺伝子コピー

制御要因

食物および製薬への適用

合成遺伝子について

4. 遺伝子コピーの導入による反応

概論

ヒト由来遺伝子コピーの他の生物への導入

動物由来遺伝子コピーの他の動物や植物への導入

動物のえさに含まれるヒト由来遺伝子コピー

合成遺伝子について

5. 表示 情報 教育

概論

ECにおける情報開示の状況

その他の公共への情報開示の型式

市民の教育

6. 遺伝子改変と食物連鎖： 今後の展開

7. 継続的なモニタリングの必要性

8. 結論および提案

2. 組換え体の開発状況に関する参考情報

(1) 最近の組換え食品をめぐる海外報道

通信社のロイターでは、最近 TAKE A LOOK-Reuters stories on genetically modified food と題した GMO に関する特集を展開しており、各国の記者が現地の GMO をめぐる動向を報道している。3月に入ってから配信された主な記事の一覧は以下の通り。

表 GMO に関する最近の動向

No.	記事見出し	日付
1	世界規模の GMO 条約が EU を貿易相手と対立させている	2005/3/14
2	ブルガリアが EU 規制との調和のために GMO を禁止	2005/3/11
3	英国企業が GMO の研究を中止し、通常の種子を販促へ	2005/3/10
4	中国で「安全な」組換えイネの栽培が近づく	2005/3/10
5	安全性についての懸念が東アジアの消費者を GM 食品から遠ざけている	2005/3/9
6	EU による解禁が GMO 栽培の第一段階となる	2005/3/7
7	環境派がブラジルの GMO 解禁を懸念している	2005/3/7
8	インドが北部州で組換えワタを許可	2005/3/7
9	モンサント・ブラジルが新しい組換えダイズに 2000 万ドルを投資	2005/3/4
10	ハンガリーの生産者が組換えトウモロコシの違法な流入について警戒	2005/3/3
11	ブラジルは 2005 年に組換え作物へ門戸を開く	2005/3/2
12	南アメリカは GMO をリード、他のアフリカ諸国は慎重	2005/3/1
13	EU で唯一の GMO 栽培国スペインはさらなる栽培を希望	2005/3/1

記事 1 では、GMO に慎重な EU と米国を中心とする GMO 推進国との対立について述べている。

記事 2 では、ブルガリアが 2007 年に予定している EU 加盟のために国内で承認していた組換えコムギ、タバコ、ブドウ、ワタ、バラ、すべての果樹と野菜の認可を取り消したことが紹介されている。東欧ではルーマニアでも組換えトウモロ

コシが栽培されているが、これが違法に国内に流入してくる可能性についてハンガリー国内でも懸念が出ている（記事 10）。ハンガリーは EU の主要な穀物生産国の 1 つであるが、今年の初めに組換えトウモロコシ（MON810）の栽培を禁止している。

このほか欧州関連では、英国の Bayer CropScience 社が組換え作物の研究から、通常の種子の販売を促進する方針に転換したこと（記事 3）、EU で唯一組換えトウモロコシの商業栽培（飼料用）が行われているスペインでは、さらに組換えトウモロコシを植えたいという希望があることが紹介されている（記事 13）。

その他の地域では、ブラジルで本年中に GMO を解禁する動きがあり、環境保護派が懸念を強めているという記事（No. 7、11）やモンサント社が組換えダイズのブラジルでの栽培を計画していること（No. 9）が伝えられている。

インドは世界第 3 位の綿花生産国であるが、北部の州で組換えワタが許可されるという記事も報道されている（No. 8）。また、記事 12 ではアフリカでは南アフリカが GMO に積極的であり、その他の綿花生産国である西アフリカ諸国（ブルキナファソ、マリ）でも試験栽培の承認に向けて動き出している。ケニア、ナイジェリア、タンザニアでも、組換え作物の栽培のための法律を検討している。一方、安全性に対する懸念や EU への輸出を考えて GMO の導入に消極的な国も存在する。ザンビアでは組換え作物の輸入が禁止されており、マラウイ、レソト、アンゴラ、ジンバブエも食糧危機に瀕しているにもかかわらず、GMO の利用には消極的で、組換えトウモロコシは製粉された状態でしか輸入できない。

アジア関連の記事では中国で組換えイネが実用化される見通しが出ていることが注目される（No. 4）。これはアフリカの野生イネから、イモチ病に強い遺伝子を導入したイネ（Xa21）で、遺伝子由来であることから、異種の遺伝子を導入したものよりも「安全」とされているようである。

以上のように GMO の栽培に対する慎重論は依然として強いものの、世界各地で GMO の栽培に向けた動きも活発になりつつある。

(2) キノコの細胞融合に関する研究状況

1) カルタヘナ法における「遺伝子組換え生物等」の定義

カルタヘナ法においては、遺伝子組換え技術に加えて、省令により以下の細胞融合についても対象とされている。

異なる分類学上の科に属する生物の細胞を融合する技術であって、交配等従来から用いられているもの以外のもの。

2) キノコの細胞融合に関する研究状況

○プロトプラストの調整

キノコなど真菌類の細胞では、一般に最外層に細胞壁があり、その内側に細胞膜がある。細胞壁を酵素処理等することによって、裸の細胞膜で包まれたプロトプラストを調整することができる。キノコでは一般にプロトプラストを培養して菌糸を再生させることができ、これまでに多くの食用キノコでプロトプラストが作製されている（別紙参照）。

○細胞融合

細胞融合は複数のプロトプラストを1つのプロトプラストにする技術であり、植物で開発され、他の生物にも応用されるようになった。

これまでに行われたキノコ関連の細胞融合の例は次ページ図の通りである。種内融合は広く行われており、新品種として登録されたものもある。細胞融合の目的は、味・香りなどの品質向上、収量向上が中心と考えられる。研究を実施しているのは、林業関係の大学や都道府県の研究所などである。

種間融合は安定な融合株の作出に問題があり、まだ開発途上にある技術であり、2菌株の遺伝的な相異の程度が大きいほど困難と考えられている。科を超える細胞融合の研究例としては、シイタケ（キシメジ科）とヒラタケ（ヒラタケ科）、ヒラタケとヤナギマツタケ（オキナタケ科）などの例がある。

以上のように、本格的実用化はまだ先と見られるが、一部の研究でカルタヘナ法の適用対象となる細胞融合が行われている。

表 キノコの細胞融合の例

	キノコの種類	細胞融合の結果	備考
種内融合	ネナガノヒトヨタケ	子実体形成	
	ヒラタケ	子実体形成	
	フクロタケ	子実体形成	
	シイタケ	子実体形成	
	エノキタケ	子実体形成	
	マツタケ		
種間融合	ヒラタケとトキイロヒラタケ		同属
	ヒラタケと <i>Pleurotus columbinus</i>	子実体形成、交配可	同属
	ヒラタケとヒマラヤヒラタケ		同属
	ヒマラヤヒラタケとウスヒラタケ	子実体形成、交配可	同属
	マンネンタケと <i>Ganoderma applanatum</i>	子実体形成	同属
	キクラゲとアラゲキクラゲ	幼子実体	同属
	シイタケとヒラタケ		キシメジ科とヒラタケ科
	ナメコとヤナギマツタケ		モエギタケ科とオキナタケ科
	ヒラタケとヤナギマツタケ		ヒラタケ科とオキナタケ科
ヒマラヤヒラタケとブナハリタケ		ヒラタケ科とエゾハリタケ科	

※網掛け部分：科間の細胞融合

(出典：「きのこハンドブック」衣川堅二郎、小川眞編集 朝倉書店を改変)

- 36) 小川 真：菌を通して森をみる，p. 279，創文社（1980）。
- 37) アレン，M. F.：菌根の生態学（中坪孝行之，堀越孝雄訳），p. 208，共立出版（1995）。
- 38) Ohta, A.： *Trans. Myco. Soc. Japan*, **31**, 323（1990）。
- 39) Hintikka, V. and Korhonen, K.： *Communications Institute Forestalis Fenniae*, **69** (5), 1-29（1970）。
- 40) 衣川堅二郎，他：日本菌学会会報，**27**，327（1986）。
- 41) Kinugawa, K., et al.： *Mycoscience*, **35**，345（1994）。
- 42) 堀越孝雄，鈴木 彰：きのこの一生ききのこの生物学シリーズ4>，p. 163，築地書館（1990）。
- 43) Sietsma, J. H., et al.： *J. Gen. Microbiol.*, **102**，385（1977）。
- 44) Raudaskoski, M. and Salonen, M.： *The Ecology and Physiology of the Fungal Mycelium* (ed. Jennings, D. H. and Rayner, A. D. M.)，pp. 291-322，Cambridge Univ. Press（1984）。
- 45) 渡邊智子，鈴木 彰：日本食品科学工学会誌，**42**，656（1995）。
- 46) 渡邊智子，他：日本食品科学工学会誌，**43**，110（1996）。
- 47) 渡邊智子，他：千葉県立衛生短期大学紀要，**13**(2)，11（1995）。
- 48) 渡邊智子，他：日本食品科学工学会誌，**41**，705（1994）。
- 49) 渡邊智子，他：日本食品科学工学会誌，**40**，7（1993）。
- 50) 下川敬之：エチレン，p. 129，東京大学出版会（1988）。
- 51) 岩見君和：キノコの化学・生化学（水野 卓，川合正允編），p. 167，学会出版センター（1992）。
- 52) 吉見昭一：バイオスフェア，**5**，9（1993）。
- 53) 鶴田輝之・川合正允：日本菌学会会誌，**20**，211（1979）。
- 54) 衣川堅二郎：微生物，**2**，603-610（1986）。

<参考文献>

- 川合正允：きのこの利用<きのこの生物学シリーズ1>，築地書館（1988）。
- きのこを食物，医薬品，酵素資源などの観点から総合的，平易に解説した入門書。きのこの化学の入門書として最適。
- 衣川堅二郎：きのこの実験法<きのこの生物学シリーズ2>，築地書館（1988）。
- きのこの実験方法を，図をふんだんに使用して丁寧にやさしく解説した入門書。
- 高橋旨象：きのこ木材<きのこの生物学シリーズ6>，築地書館（1989）。
- きのこ木材の関係を木材腐朽菌の生理機能と木材の化学変化という観点から，平易に解説した入門書。
- 堀越孝雄，鈴木 彰：きのこの一生ききのこの生物学シリーズ4>，築地書館（1990）。
- きのこの一生を，その生存戦略という観点から平易に解説した入門書。きのこはどのような生物かを知りたい方に最適。
- 古川久彦編：きのこ学，共立出版（1992）。
- きのこの生理，生態，遺伝，形態，保存，生理活性物質，中毒，および種苗法などを総合的に解説した専門書。

5. きのこのニューハイテクノロジー

5.1 プロトプラストとその利用

バイオテクノロジーなどニューハイテクノロジーが世の注目を浴びて20年近くになるが，本章ではきのこの研究の基礎として定着したプロトプラストとその利用技術，今後の発展が期待される分子生物学，現在最も盛んに研究されている分子系統解析を取り上げる（用語の解説；付録6参照）。本節ではその中でプロトプラストとその利用技術を述べる。

a. プロトプラストの調製・培養

きのこなど真菌類の細胞では，一般に最外層に硬い細胞壁があり，その内側に柔らかい細胞膜がある。さらにその中に原形質および核，ミトコンドリアなどの各種の細胞内小器官がある，最外層の細胞壁はグルカナーゼやキチナーゼなどを含む細胞壁溶解酵素による処理で除くことが可能であるが，このとき等張またはやや高張な溶液中で処理すると細胞膜で包まれた生きた細胞を得ることができる。これをプロトプラスト（図5.1）と呼ぶ。きのこでは一般的にこれを培養して菌糸を再生させることができる。プロトプラストの調製と培養の例を図5.2および5.3に示す。プロトプラストは液体培養も可能であるが，平板培養法が多く用いられている。とくに，平板重層法（濃度の高い寒天を含む培地上にプロトプラストを接種し，その上から溶解した低濃

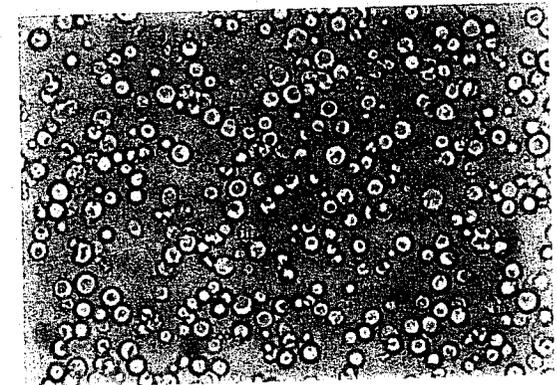


図5.1 ヒラタケのプロトプラスト

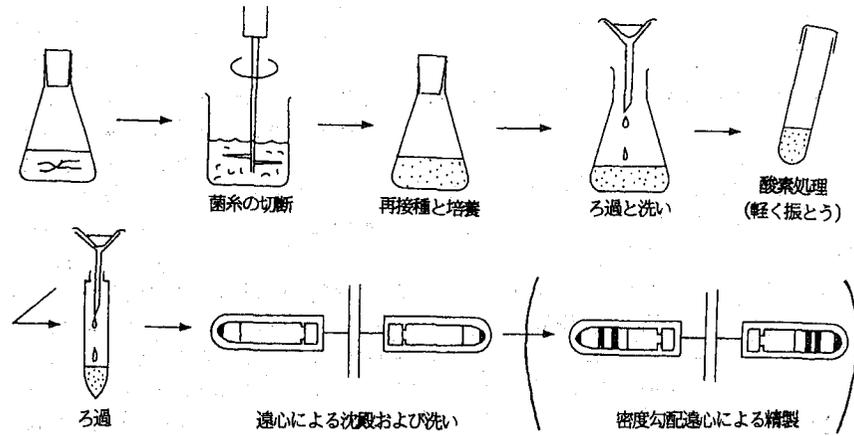


図5.2 プロトプラストの調製法の概念図¹⁾

参考: 38

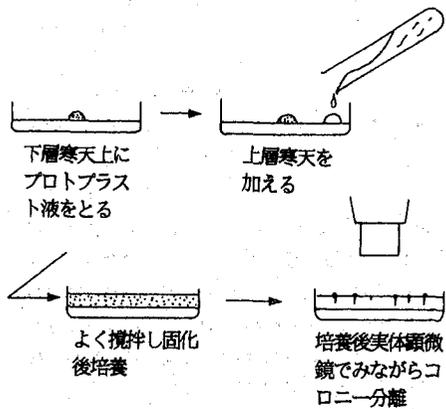


図5.3 プロトプラストの培養法の概念図¹⁾

度寒天を含む培地を流し込んで固化させ培養する方法)がよく利用される。プロトプラストは主に培養菌糸体から調製されるが、きのこや孢子から調製した例もある。菌類のプロトプラストのさらに詳しい調製技術や培養技術の実際については文献を参照されたい¹⁾。

きのこのプロトプラストの調製に利用される酵素は粗酵素であるが、その主なものを表5.1に示す。これらは一般にきのこの細胞壁の主成分であるβ-1,3-グルカンやキチンを分解する酵素を含んでいる。しかし、プロテアーゼなども含んでいるため過度の処理はプロトプラストを傷め破壊する。Trichoderma由来の酵素が多いが、この菌は菌生菌できのこ栽培の重要な病原菌でもある。

プロトプラストはすでに約80種以上のきのこから調製され、その主なものを表5.2に示す。表はほとんどの栽培きのこを含むが、最近では生長速度が遅く困難の多い

表5.1 きのこのプロトプラスト調製に使われる市販の主な酵素¹⁾

酵素名	起源	販売・製造会社
セルラーゼオノズカ R-10	<i>Trichoderma viride</i>	ヤクルト(株)本社
セルラーゼオノズカ RS	<i>Trichoderma viride</i>	ヤクルト(株)本社
キチナーゼ	<i>Streptomyces griseus</i>	Sigma Chemical Co.
ドリセララーゼ	<i>Irpex lacteus</i>	協和発酵工業(株)
ファンセララーゼ	<i>Trichoderma viride</i>	ヤクルト(株)本社
β-グルクロニダーゼ	<i>Helix pomatia</i>	Sigma Chemical Co.
グルスラーゼ	<i>Helix pomatia</i>	Endo Laboratories
ヘリカーゼ	<i>Helix pomatia</i>	I' Industrie Biologique Française
キタラーゼ	<i>Rhizoctonia salani</i>	和光純薬工業(株)
メイセララーゼ P-1	<i>Trichoderma viride</i>	明治製菓(株)
ノボザイム 234	<i>Trichoderma sp.</i>	Novo Industri A/S Enzyme Division (現在 Sigma 社 Lyzing Enzyme from <i>Trichoderma harzianum</i> として販売)
ウスキザイム	<i>Trichoderma sp.</i>	和光純薬工業(株)
ザイモリアーゼ 5000	<i>Oerskovia xanthineolytica</i>	麒麟麦酒(株)
ザイモリアーゼ 60000	<i>Oerskovia xanthineolytica</i>	麒麟麦酒(株)
ザイモリアーゼ 20T	<i>Oerskovia xanthineolytica</i>	麒麟麦酒(株)

菌根菌からも調製されるようになった。プロトプラストを低濃度の細胞壁溶解酵素を含む溶液中で培養すると巨大化したプロトプラストが得られる²⁾。

プロトプラストは一般に長期の保存が困難であるが、クロボキンなどで凍結保存³⁾が試みられている。

プロトプラストははじめ人工的につくられたものであるが、ある種の昆虫病原菌は昆虫体内で自然にもプロトプラストとして存在することが知られている⁴⁾。

b. 細胞選抜技術

きのこなど菌類のプロトプラストは普通1核や2核のものが多くほぼ単細胞とみなすことができる。そのためたとえば紫外線照射したプロトプラストを培養して生じたコロニーから変異細胞の選抜が可能である。事実、きのこのプロトプラストを紫外線処理、γ線処理や化学薬剤処理して容易に変異株が得られている⁵⁾。プロトプラストは培養菌糸体から容易に得られ、多くのきのこでプロトプラストの分離と培養に成功しており、また、菌糸体(とくに単核菌糸体)から調製したプロトプラストはほぼ遺伝的に均一なので変異株の作出や研究に適していると考えられる。

きのこの複核菌糸体からプロトプラストを調製すると2核のプロトプラストと同時に1核のプロトプラストや少ないが3核以上のプロトプラストが得られる。したがって、このプロトプラストを培養すると複核菌糸体のコロニーと同時に単核菌糸体のコロニーも再生してくる。これを分離することにより、単核菌糸体を得ることが可能で

表5.2 プロトプラストの調製されたきのこの例

学名	和名	酵素系の例
<i>Agaricus bisporus</i>	ツクリタケ (マッシュルーム)	トリコデルマ酵素
<i>Agrocybe cylindraceae</i>	ヤナギマツタケ	セルラーゼオノズカ R-10 + マセロザイム + ドリセララーゼ
<i>Amanita muscaria</i>	ベニテングタケ	トリコデルマ酵素
<i>Armillaria mellea</i>	ナラタケ	トリコデルマ酵素
<i>Auricularia polytricha</i>	アラゲキクラゲ	トリコデルマ酵素
<i>Auricularia auricula-judae</i>	キクラゲ	セルラーゼオノズカ RS + ザ イモリアーゼ + ドリセララーゼ
<i>Boletus edulis</i>	ヤマドリタケ	トリコデルマ酵素
<i>Coprinus cinereus</i>	ネナガノヒトヨタケ	セルラーゼオノズカ R-20 + キチナーゼ
<i>Coprinus lagopus</i>	ザラエノヒトヨタケ	トリコデルマ酵素
<i>Favolus arcularius</i>	アミスギタケ	セルラーゼオノズカ R-10 + マセロザイム + ドリセララーゼ
<i>Flammulina velutipes</i>	エノキタケ	セルラーゼオノズカ + ドリセララーゼ
<i>Ganoderma lucidum</i>	マンネンタケ	トリコデルマ酵素
<i>Grifola frondosa</i>	マイタケ	セルラーゼオノズカ RS + ザ イモリアーゼ + ドリセララーゼ
<i>Hypsizygus marmoreus</i>	ブナシメジ	セルラーゼオノズカ R-10 + ドリセララーゼ
<i>Laccaria laccata</i>	キツネタケ	
<i>Lentinus edodes</i>	シイタケ	セルラーゼオノズカ R-10 + ドリセララーゼ
<i>Lentinus lepideus</i>	マツオオジ	セルラーゼオノズカ R-10 + マセロザイム + ドリセララーゼ
<i>Lyophyllum decastes</i>	ハタケシメジ	セルラーゼオノズカ R-10 + ドリセララーゼ
<i>Lyophyllum shimeji</i>	ホンシメジ	セルラーゼオノズカ R-10 + ドリセララーゼ
<i>Morchella esculenta</i>	アミガサタケ	
<i>Mycocleptonoides aitchisonii</i>	ブナハリタケ	セルラーゼオノズカ R-10 + マセロザイム + ドリセララーゼ
<i>Panellus serotinus</i>	ムキタケ	セルラーゼオノズカ R-10 + マセロザイム + ドリセララーゼ ノボザイム + セルラーゼ CP
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	ヌメリスギタケ	ノボザイム + キチナーゼ
<i>Pholiota adiposa</i>	ナメコ	セルラーゼオノズカ RS + ザ イモリアーゼ + ドリセララーゼ
<i>Pholiota nameko</i>		ノボザイム + キチナーゼ
<i>Pleurotus cornucopiae</i>	タモギタケ	ノボザイム + キチナーゼ
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	オオヒラタケ	ノボザイム + キチナーゼ
<i>Pleurotus ostreatus</i>	ヒラタケ	ノボザイム + キチナーゼ
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	ウスヒラタケ	セルラーゼオノズカ R-10 + マセロザイム + ドリセララーゼ ノボザイム + キチナーゼ
<i>Pleurotus salmoneo-stramineus</i>	トキヒロヒラタケ	ノボザイム + キチナーゼ
<i>Scizophyllum commune</i>	スエヒロタケ	トリコデルマ酵素
<i>Suillus grevillei</i>	ハナイグチ	ノボザイム + キチナーゼ RS
<i>Suillus luteus</i>	ヌメリイグチ	ノボザイム + キチナーゼ RS
<i>Suillus granulatus</i>	チチアワタケ	ノボザイム
<i>Tremella fuciformis</i>	シロキクラゲ	セルラーゼ + ドリセララーゼ + マセロ ザイム + β -グルクロニダーゼ
<i>Tricholoma matsutake</i>	マツタケ	セルラーゼオノズカ R-10 + ザイモ リアーゼ + β -グルクロニダーゼ
<i>Volvariella volvacea</i>	フクロタケ	トリコデルマ酵素
<i>Xerocomus badius</i>	ニセイロガワリ	トリコデルマ酵素

参考: 39

ある⁶⁾。事実、簡便に研究用の単核菌糸体を得るために近年この方法はよく用いられている。注意を要することは、もとの2核(共役核)のうち片方の核をもつ単核菌糸体が頻度高く得られる可能性があることである。

植物ではプロトプラストから培養するとカルスを経由して幼植物を生ずるため、変異を多く生ずることが知られている。きのこでもプロトプラストをとり、紫外線照射など特別な変異誘起処理を行わずに培養しても生長速度がほかと大きく異なるコロニーを、率は低いが生ずる。これは変異により生じた可能性が高い。また、プロトプラストの再生により得られた複核菌糸体を栽培するともとの株よりよい収量を示すものがあつたという報告もある⁷⁾。

c. 細胞融合技術とハイブリッドの作出

細胞融合は複数のプロトプラストを一つのプロトプラストにする技術であるが、植物で開発され大きく発展した。はじめに Keller と Melchers により高 pH-高 Ca 法が開発されたが⁸⁾、とくに Kao と Michayluk および Wallin らにより開発されたポリエチレングリコール法は応用範囲が広く微生物や動物にまで利用されるようになった⁹⁾。その後電気パルス法が開発されこれも広く用いられるようになってきている¹⁰⁾。きのこにおいてもポリエチレングリコール法と電気パルス法が広く用いられているが、数は少ないが高 pH-高 Ca 法を用いた研究もある。細胞融合技術は異なる遺伝的背景をもつ

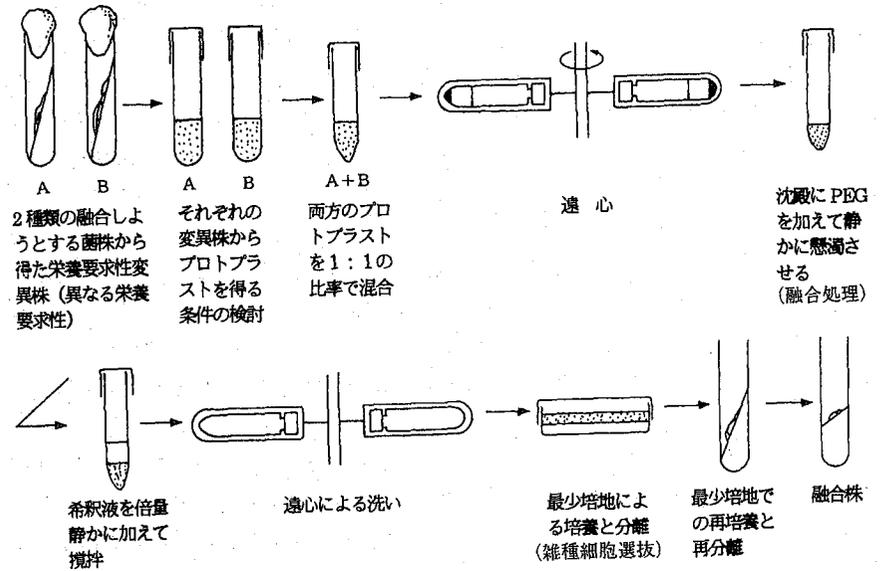


図5.4 細胞融合によるハイブリッドの作出の過程の一例¹⁾

異なる菌株間の雑種，すなわちハイブリッドの作出に有効な技術と考えられ多くの研究がなされてきた。細胞融合によるハイブリッドの作出の過程の例を図5.4に示す。この中で細胞融合後の雑種細胞の選抜も困難の多い過程で，いくつかの方法が開発されている。菌類では栄養要求性などの突然変異株を用いた例¹¹⁾が多いが，各プロトプラストを異なる色素により染色しセルソーターにより雑種細胞を分離した例も報告されている¹²⁾。

これまでに行われたきこの関連の細胞融合の例を表5.3に示す。同じきこの種の異なる系統間の細胞融合を種内融合と呼ぶが，この種内融合では安定した融合株が比較的容易に得られている。異なる種とされる場合でもある程度交配可能な場合があり，この場合には種内融合と同様に安定な株が得られている。これまでに種内融合によりきこの新品種が2株つくられている。種内融合で菌株を作出する場合の問題点は，雑種細胞の選抜技術に関する点で，これまでしばしば用いられてきた栄養要求性の突然変異株を用いる方法では時間がかかる点と他の劣悪突然変異をもち込む可能性がある点が問題点である。

異なる種の間融合を種間融合と呼ぶが，種間融合は安定な融合株の作出に問題があつてまだ開発途上にある技術であり，融合に用いる2菌株の遺伝的な相違の程度が大きいほど困難であると考えられる。種々の組合せで行われており，きこの形成の報告もある¹³⁾。異なる属の間の細胞融合できこの形成したとする報告もあ

表5.3 発表されたきこの細胞融合の例

きこの種類	備考
(種内融合)	
ネナガノヒトヨタケ	子実体形成
ヒラタケ	子実体形成
フクロタケ	子実体形成
シイタケ	子実体形成
エノキタケ	子実体形成
マツタケ	
(種間融合)	
ヒラタケとトキイロヒラタケ	
ヒラタケと <i>Pleurotus columbinus</i>	子実体形成，交配可
ヒラタケと <i>Pleurotus sajor-caju</i>	
<i>Pleurotus sajor-caju</i> と <i>P. pulmonarius</i>	子実体形成，交配可
マンネンタケと <i>Ganoderma applanatum</i>	子実体形成
キクラゲとアラゲキクラゲ	幼子実体
シイタケとヒラタケ	異なる属間
ナメコとヤナギマツタケ	異なる科間
ヒラタケとヤナギマツタケ	子実体形成
ヒマラヤヒラタケとブナハリタケ	

る。このような研究ではアイソザイムパターンと比較やDNAのRFLP分析により，両者の雑種性を調べているが，種々の性質が片方のきこの性質に片寄っていることが多く，実際にどのくらい両者の遺伝子が混ざっているかは不明である。また，安定したよい菌株を得るのにどうすればよいかについても方法は確立されていない。

細胞融合を行う場合，普通は2種のプロトプラストをそのまま融合するが，片方の株の細胞質遺伝子を利用したい場合に非対称融合法が用いられる。これは，たとえば片方のプロトプラストの核を紫外線などで不活化し，もう一方のミトコンドリアを化学薬剤で不活化してから融合する方法に必要な核と細胞質の組合せを得ることができる。

d. その他の利用

プロトプラストに電気パルスを与えると，パルスの電圧などが適当であれば，瞬間的にプロトプラストに穴があき，つぎの瞬間に閉じることが知られている。このときに外部の物質をプロトプラスト内に取り込ませることができる。これをエレクトロポレーションと呼ぶが，細胞外液にDNAを加えておけば形質転換を起こさせることができる¹⁴⁾。きこの形質転換については次節を参照されたい。しかし，細胞内に物質を取り込むこの方法は遺伝以外の分野へも応用がきくと考えられる。また最近，光学的方法では困難の多いきこの核型分析にもプロトプラストが利用されている¹⁵⁾。

これまで述べてきたようにきこのプロトプラストの研究は遺伝育種に関するものが多いが，プロトプラストは生理的研究においても重要な手法になりうると考えられる。実際きこのにおいても細胞壁の合成の研究¹⁶⁾，タンパク質の分泌の研究，栄養素の取込みの研究¹⁷⁾，電場の影響の研究¹⁸⁾などいくつか応用された例があるが，さらに盛んに利用される可能性がある。

菌根菌は菌糸の生長が遅く，そのためプロトプラストの調製や培養に困難が多い。しかし，菌根菌のプロトプラストの調製と培養も徐々に行われてきており¹⁹⁾，菌根菌の育種も必要性が増してきているので今後さらに発展するものと思われる。筆者もこの分野の研究をはじめているが，普通の腐生菌の場合とはまた異なった面があるようである²⁰⁾。

〔大政正武〕

5.2 きこの分子生物学

本節では，主として担子菌きこの遺伝子およびその機能にかかわる事柄について述べる。すなわち，ここでいう分子生物学には分子遺伝学と遺伝子工学の内容を含む。

まず，担子菌きこのゲノムについての概略²¹⁻²³⁾を説明する。担子菌の染色体数は8~14本でGC含量は45~60%である。ゲノムサイズは平均約 3.5×10^7 塩基対

(bp) で、細菌や酵母の数倍～10倍の大きさであり、高等動植物の1/100程度である。したがって、担子菌きのこは高等動植物に比べればはるかに取り扱いやすいはずであるが、多細胞生物であるがゆえに単細胞生物よりは遺伝子解析に困難をとまなう。ミトコンドリアDNAについては担子菌の種によってかなり異なっており、 $4.3 \sim 17.6 \times 10^4$ bpである。ミトコンドリアには線状プラスミドDNAが存在していることも多く²⁴⁾、ヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*)、シイタケ (*Lentinus edodes*)、エノキタケ (*Flammulina velutipes*) などの栽培きのこにおいてもみつまっている。

担子菌の核およびミトコンドリア由来の遺伝子についてはこれまでに多数の報告があるが、ここでは交配およびきのこ形成にかかわるものについて述べ、さらに、担子菌への遺伝子導入法についても概説する。

a. きのこの交配および子実体形成の分子機構

担子菌きのこを育種するためには交配技術が不可欠である。また、担子菌きのこの生活環の中には核相が $n+n$ (重相) のステージがあり、単細胞生物 (細菌や酵母など) や高等動植物にはない独特の生活環となっている。細胞内に核が二つ存在するこのステージは比較的長く、可食部となるきのこの多くの細胞は重相である (Ⅲ編3章参照)。かび状の複核菌糸体からきのこが形成される過程は劇的であり、きのこ形成は形態形成機構の格好の研究対象となっている。和合性のある単核菌糸どうしを交配すると、菌糸の複核化、複核菌糸の凝集が起こり、それに引き続いてきのこが形成される。少なくとも複核化までは明らかに交配型因子が関与しており、その後きのこ形成までには菌糸細胞内でさまざまな遺伝子発現が連続的に起こると想像されている。きのこ形成が起こるためには、温度、光、湿度、栄養、ガスなどのさまざまな環境因子の条件が整う必要があり、これらの外的刺激は細胞内にシグナル伝達して一連の遺伝子発現を引き起こしているはずである (Ⅲ編3章参照)。

担子菌の分子生物学的研究は、初期においては交配および子実体形成に関わる変異株の遺伝子解析、きのこ形成誘導物質の探索とそれらの作用機構解明、ステージ特異的に発現する遺伝子の検索が中心であった。しかしながら、担子菌遺伝子クローニングと形質転換の系が確立してからは分子レベルでの機能解析がよりいっそう進み、和合性/不和合性を支配している交配型因子 (四極性複対立遺伝子座の場合は、 $A\alpha$, $A\beta$, $B\alpha$, $B\beta$) の遺伝子のコード領域をクローン化して、DNA塩基配列から各遺伝子座に存在している遺伝子の機能を推定する実験が行われるようになった。このような実験手法が可能になった背景には、さまざまな生物種のゲノムプロジェクトの推進がある。実験技術の進歩はもとより、さまざまな生物種の遺伝子産物の構造が明らかにされて膨大なデータベースが構築されたことが見逃せない。以下に担子菌きのこの交配およびきのこ形成の分子機構に関するこれまでの研究例を紹介する。

宇野と石川はサイクリック AMP (cAMP) がネナガノヒトヨタケ (*Coprinus macrorrhizus*) のきのこ形成を誘導することを報告した^{25,26)}。同様のことを宍戸らのグループも、シイタケ (*Lentinus edodes*) を用いて示した²¹⁾。出芽酵母においては、rasタンパク質 (低分子量Gタンパク質) がcAMP合成酵素であるアデニル酸シクラーゼ (ACase) を活性化する。このことから、宍戸らはさらにシイタケ *ras* 遺伝子をクローン化してシイタケきのこ形成過程における *ras* 遺伝子発現を解析したが、現在までに *ras* 遺伝子がきのこ形成を調節しているという実験事実は得られていない²¹⁾。

最近、われわれはスエヒロタケ (*Schizophyllum commune*) の交配およびきのこ形成にかかわる2種類のユニークな変異株を単離した^{27,28)}。スエヒロタケにおいてはインドールがきのこ形成を誘導する²⁷⁾。また、きのこ形成にcAMPが重要な役割を担っており、カフェインはcAMP分解酵素ホスホジエステラーゼ (PDE) の阻害剤である。スエヒロタケ単核菌糸のインドール耐性株 (*ind1* 変異をもつ) とカフェイン耐性変異株 (*cfm1* 変異をもつ) は、 B^{con} 変異株に特徴的な菌そう形態 (flat, フラット) を示し、*ind1* および *cfm1* 変異は核移動や隔壁形成に影響を与える。そのため、変異株のヘテロカリオンにおいては、クランプ結合の異常や不規則な核移動が認められ、菌糸が凝集しないためにきのこ形成が起こらない。しかしながら、ヘテロカリオンにおけるこれらの異常は、ある特別なB交配型因子 (クラスⅢB) でしかも Trp^- の細胞でのみ起こる。このことは、トリプトファン合成酵素遺伝子 *TRP1* の産物が *ind1* および *cfm1* 変異を抑制する活性を有することを示すものであるが、細胞外から過剰量のトリプトファンを投与するときのきのこ形成は正常株の複核菌糸 (ヘテロカリオン) でも逆に抑制されるという結果を得ている (図5.5)。インドールはトリプトファンの前駆体であり、インドール骨格を有するこれらの化合物が交配やきのこ形成にどのように関わるのか、その分子機構の解明が待望される。

オランダのWesselsらのグループは、スエヒロタケの単核菌糸および複核菌糸の細胞内で発現している遺伝子の総数は約13,000で、きのこ形成中の複核菌糸に特有のmRNAが約650あると報告した²⁹⁾。彼らは、スエヒロタケの複核菌糸からcDNAをクローン化して、きのこに特異的に発現する遺伝子 *SC1* と *SC4* を選抜した^{21,22,25)}。これらの遺伝子産物はアミノ酸残基数約100の小さな疎水性タンパク質 *SC1* と *SC4* であり、ハイドロフォビン (hydrophobins) と名付けられた。これらとは別に *SC3* 遺伝子もクローン化されており、この遺伝子産物 *SC3* も疎水性でありハイドロフォビンの一員であるが単核菌糸、複核菌糸の両方の気中菌糸に含まれる^{21,30)}。これらのハイドロフォビンは複核菌糸の凝集や菌糸が潜入する宿主の疎水性表面への付着に重要な役割を果たすと推測されている。さらに彼らはこれらのハイドロフォビンと交配型因子や複核菌糸内の核の位置決定との関わりについて解析を進めている³¹⁾。

宍戸らのグループでもステージ特異的に発現するシイタケの遺伝子のクローン化に

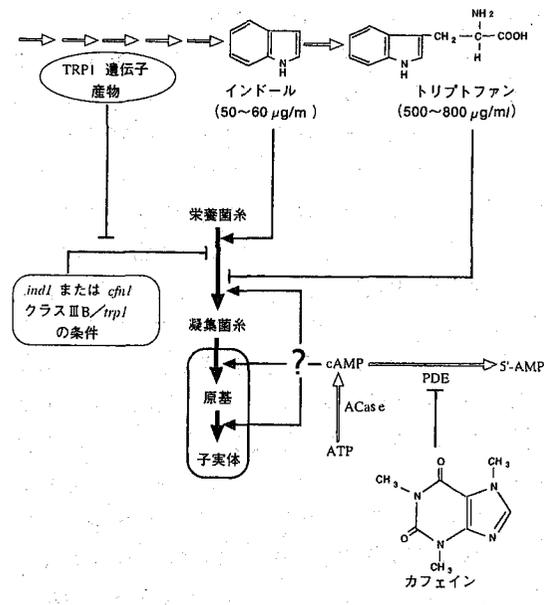


図5.5 担子菌の子実体形成におけるインドールとカフェインの作用モデル
 → 促進 ← 抑制
 ⇨ 代謝経路 ⇨ ステージの進行

成功した²¹⁾。子実体原基 (primordium) に高度に発現する *priA*, *priB* はそれぞれ推定 26.7 kDa, 64 kDa のタンパク質 (PRIA および PRIB) である。PRIA には転写因子にみられる亜鉛フィンガーモチーフやメタロチオネインにある亜鉛クラスター様モチーフが存在している。一方, PRIB については菌類の転写因子に認められる亜鉛クラスターモチーフ, それに続いて bZIP モチーフ (塩基性領域とロイシンジッパーからなる) が存在している。PRIB については DNA 結合性も確かめられている。彼らは, 成熟きのこ (mature fruiting body) で高度に発現する遺伝子 *mfbA* と *mfbB* もクローン化した。*mfbA* の遺伝子産物 MFBA は推定 234 kDa のタンパク質で細胞接着因子にみられる接着・伸展促進配列 RGDS をもっており, MFBA タンパク質の断片を用いて同タンパク質に細胞接着活性があることが実験的に確認されている。上述のハイドロフォビンも菌糸凝集や接着に関与しており, きのこ形成の前段階として重要な菌糸凝集に関わる分子機構が明らかになってきている。

担子菌の交配型に関わる遺伝学の代表的研究材料であるスエヒロタケとネナガノヒトヨタケ (*Coprinus cinereus*) においては, 交配型を決定する因子 $A\alpha$, $A\beta$, $B\alpha$, $B\beta$ は, いずれも複数の対立遺伝子が存在している (たとえばスエヒロタケでは交配型因子 A , B の異なる組合せは 23,328 種類もある)。これらの担子菌の交配型因子の遺伝子の構造解析と機能解明に関する研究は, スエヒロタケは米国の Ullrich, R. C. と Novotny, C. P. らのグループによって, ネナガノヒトヨタケは英国の Casselton, L. A.

らのグループによって近年精力的に進められている。いずれの担子菌きのこにおいても, 既クローン化遺伝子からの染色体歩行 (付録 6 参照) によって A 交配型遺伝子座のクローン化が行われた^{21,22,32,33)}。また, 最近になって B 交配型遺伝子座のクローン化も行われた^{32,34)}。これまでに, $A\alpha$, $A\beta$ はホメオドメインを有する複数の転写因子をコードしており (Ⅲ編 3.6 節参照), $B\alpha$, $B\beta$ は交配に必要な複数のフェロモンおよびフェロモンレセプターをコードしていることが判明した。

b. きのこの形質転換

菌類のうち, 遺伝子導入法が最もよく研究されているのは酵母である。酵母の場合は酢酸リチウム法が一般的である。下等菌類である酵母と高等菌類である担子菌を比較した場合, 決定的な違いは前者が単細胞生物であるのに対して, 後者は多細胞生物であるという点である。遺伝子導入によって得られる形質転換体は均質な遺伝形質をもつものが好まれる。担子菌の形質転換をする場合には, 菌糸体を細胞壁分解酵素によって処理してプロトプラストにし, 単細胞化するか担子孢子由来のプロトプラストを用いて, ポリエチレングリコール (PEG) などによって目的遺伝子を導入してやる方法が用いられる。担子菌細胞のプロトプラスト化についてはⅢ編 4.1 節を参照されたい。一般には, 担子孢子を用いると高い形質転換効率が得られるが, 染色体の遺伝子構成が形質転換体によって異なるため, この方法は必ずしも好まれない。

担子菌の形質転換の最初の報告は, スエヒロタケの *trp1* 栄養要求性変異株 (インドール-3-グリセロールリン酸合成酵素の欠損変異) をスエヒロタケの *TRP1* 遺伝子で形質転換したものである³⁵⁾。同様の実験がネナガノヒトヨタケでも, ほぼ時を同じくして行われ, 以来, スエヒロタケとネナガノヒトヨタケの形質転換法^{36,37)} を参考にしてさまざまな担子菌の形質転換が行われるようになった²³⁾。しかしながら, これらの二つの担子菌は実用栽培品種ではなく, しかも用いられたプラスミドベクターはいずれも染色体組込み型ベクターであるため形質転換効率は必ずしも高くなく, 導入した遺伝子の再回収も繁雑となる。染色体組込み型ベクターを用いての担子菌を宿主とした遺伝子スクリーニングは容易ではない。形質転換効率を改善し導入 DNA の回収を容易にする方法として, 自律複製配列 (ARS: autonomously replicating sequence) を用いた担子菌用自律複製型プラスミドベクター (図 5.6) の利用がある。担子菌由来で, しかも担子菌細胞内での活性が確認された ARS の例としてはリグニン分解性腐朽菌 (*Phanerochaete chrysosporium*) の報告がある³⁸⁾。種々の実験で *P. chrysosporium* の ARS を有するプラスミドは同菌の細胞中の染色体外で環状型に複製することが確かめられているが, そのコピー数は小さく導入 DNA 1 µg 当たりの形質転換体数は数十個である。実用栽培きのこへの形質転換としては, ヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*) に大腸菌由来のハイグロマイシン B 耐性遺伝子 (ハイグロマイ

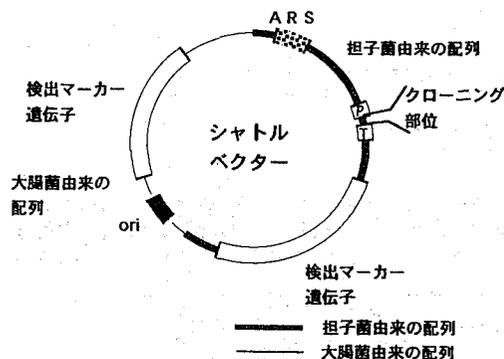


図5.6 担子菌-大腸菌のシャトルベクターの基本構造
P: プロモーター, T: ターミネーター, ori: 複製起点, ARS: 自律複製配列

シンBホストトランスフェラーゼをコード)を導入した例がある³⁹⁾。この実験では、導入したプラスミドベクターが染色体組込み型であるにもかかわらず、自律複製型になったプラスミドが出現し、これを大腸菌にレスキューすることが可能であった。このレスキューされたプラスミドを用いて再度ヒラタケを形質転換することは可能であるが、その効率は低い。同じくヒラタケに *Streptomyces hygroscopicus* 由来のピアラホス耐性遺伝子を導入することもなされている。この実験でも導入遺伝子は染色体に組み込まれたが、別のプラスミドをも同時に導入したヒラタケの共形質転換体 (cotransformant) の選抜が可能であることが示された⁴⁰⁾。

Schuren, F. H. J. と Wessels, J. G. H. はスエヒロタケのグリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素遺伝子 (GPD) のプロモーターおよびターミネーター領域を *Streptoalloteichus hindustanus* のフレオマイシン耐性遺伝子 (フレオマイシン結合タンパク質遺伝子) のコード領域の前後に連結させ、これを選択マーカーにした染色体組込み型プラスミドベクターを作製した⁴¹⁾。GPD は解糖系の酵素遺伝子であり発現量が安定しているためか、彼らは担子胞子由来のプロトプラストを用いて 10^4 形質転換体/ μg DNA (10^7 プロトプラストを使用) を達成している。現在では、他の担子菌の GPD 遺伝子もクローン化され、同遺伝子の転写制御領域を利用したプラスミドベクターを利用して何種類かの食用担子菌の形質転換がなされるに至っている。

最近、REMI (restriction enzyme-mediated DNA integration) 法が菌類の形質転換効率を上げる方法として注目されている⁴²⁾。この方法では、プロトプラストを導入するDNAを含む形質転換混液に少量の制限酵素を共存させてやり、染色体DNAにわずかに制限酵素切断が起こるようにする。その結果、導入DNAの染色体への組込み効率が上昇する。また、この方法は染色体上にランダムに変異を導入する方法としても有効である。染色体上に組み込むDNAに大腸菌ベクターの成分を入れておくことで、変異が生じた部位の周辺を大腸菌にクローン化することも可能になるため、変異部位を迅速に特定する手段としても期待されている。

ところで、染色体の特定の遺伝子を破壊することによって特定遺伝子がどのような機能を担っているかを突き止めることが可能である。この方法は、細菌や酵母の遺伝子解析においてはよく用いられているが、高等動物においては標的遺伝子の破壊が非常にむずかしく数千個の形質転換体の染色体を解析しなければならないことも多い。細胞外からの組換えDNAの導入による担子菌の遺伝子破壊実験については、Wesselsらがスエヒロタケの SC3 遺伝子 (P.339を見よ) を破壊することに成功しているが³⁰⁾、少なくとも100個の形質転換体の染色体をサザンブロット解析する必要がある (私信)。この原因は、導入DNAが染色体上へランダムに組み込まれることにある。このようなことが起こらない、より有用な担子菌宿主-ベクター系をつくるためには、宿主細胞に何らかの細工を施す必要がある。

また、導入遺伝子を狙ったステージで発現させるために、担子菌ベクターには担子菌由来の種々のプロモーターが必要となる。宍戸らやWesselsらがクローン化したステージ特異的発現をする遺伝子のプロモーター²¹⁾は、その有力候補である。さらに図5.6に示す実用に耐えうる自律複製型担子菌-大腸菌シャトルベクターを作製するためには、担子菌で機能するARSのクローン化が不可欠である。

今後、これらさまざまな困難を克服して、より実用的な担子菌の宿主-ベクター系が構築され担子菌きのこの分子生物学研究が飛躍的に進捗することを期待する。

(千 菊夫)

5.3 きこの分子系統学

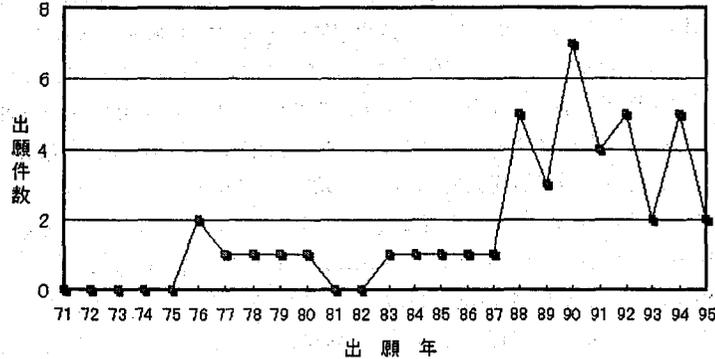
分子系統学的研究は、文字どおり情報高分子 (タンパク質、核酸) の解析データを用いて行う。以前からアイソザイム分析、タンパク質のアミノ酸配列の解析、GC含量の比較、DNA-DNA交雑実験、核DNAやミトコンドリアDNA (mtDNA) の RFLP (restriction fragment length polymorphism) 分析やマッピング、塩基配列解析などが行われてきた。しかし、ポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction: PCR) 法やダイレクトシーケンス法の開発などによって、RAPD (random amplified polymorphic DNA) 分析、PCR-RFLP分析、塩基配列解析などが容易に行えるようになり、近年これらの手法を用いてさまざまな生物種を対象とした分子系統学的な研究が盛んに行われるようになった。

Brunsら⁴³⁾によれば、菌類の同一種の内系統関係の検討には集団内において変異が検出されやすい分析方法、たとえば核DNAやmtDNAのRFLP分析やRAPD分析などが適しているとされ、また種間から属間、さらに幅広い分類レベルでの系統解析にはリボソームRNA遺伝子 (rDNA) のRFLP分析、マッピング、塩基配列解析などが有効とされている。このように、どの分類レベルで系統解析を行うのかによって有効な分析方法はそれぞれ異なるので、研究目的や対象とする材料に適した

1.4.11 菌類

菌類の品種改良技術の特許出願件数推移を図1.4.11-1に示す。1988年以降、出願が増加している。

図1.4.11-1 菌類の特許出願件数推移

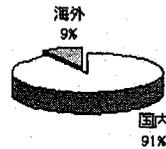


菌類の品種改良技術の特許主要出願人を表1.4.11-1に示す。出願は10社よりなるが、宝酒造が最も多く、6件出願している。図1.4.11-2に示すように、海外出願人の占める割合は9%と少ない。

表1.4.11-1 菌類の特許主要出願人

出願人	開始年	最近年	出願件数
宝酒造	1986	1992	6
雪印乳業	1993	1996	3
カゴメ	1990	1990	2
ツムラ	1988	1994	2
コンベックス	1990	1990	2
ホクテ産業	1994	1995	2
中田二郎	1987	1988	2
中埜酢店	1988	1988	2
帝国製菓	1989	1990	2
日本甜菜製糖	1992	1993	2

図1.4.11-2 海外出願人の占める割合



(1971.7-98.6月迄に公開の特許出願)

菌類の技術/改良特性マトリックスを表1.4.11-2に示す。育種技術では遺伝子操作技術は少なく、選抜技術、細胞融合技術、交配技術とカサが反らない、香り、味、孢子減少などの品質向上との組み合わせおよび選抜技術、細胞・組織培養技術、細胞融合技術と生育速度アップなどによる収量向上との組み合わせが多い。

表1.4.11-2 菌類の技術/改良特性マトリックス

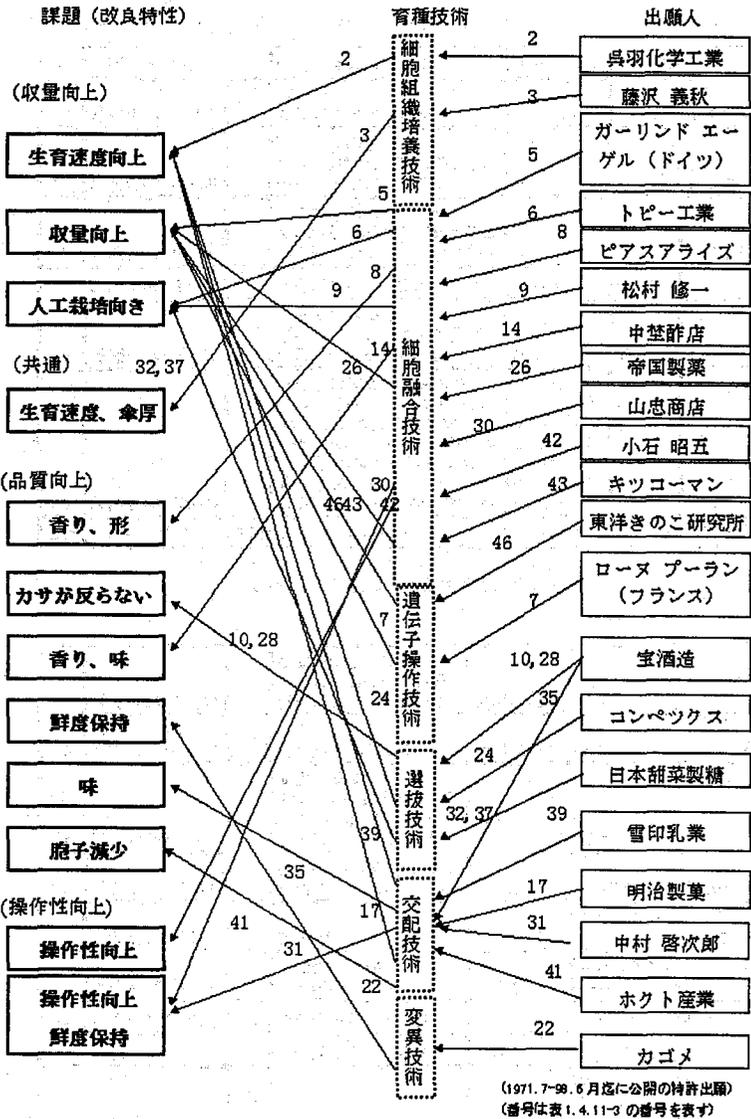
	収量向上	品質向上	ストレス	操作性向上	その他	共通	合計
育種技術							
選抜技術							
細胞・組織培養技術							
細胞融合技術							
交配技術							
変異技術							
倍数体形成技術							
遺伝子操作技術							
合計件数	20	25	0	8	4	7	64

改良特性			耐性				件数
育種技術	5,21,24,2	4,10,28,					
選抜技術	5,32,37,3 9	33,45,35		21,27	12,35	1,3,38	20
細胞・組織培養技術	2,7,9,15, 17	22,11				3	8
細胞融合技術	5,6,26,9, 43,46	8,14,18, 23,42		30	13		13
交配技術	34,17	29,34,35, 36,41, 10,23		20,29,31		38,44	14
変異技術		11,40,42 .22		31,20			6
倍数体形成技術							0
遺伝子操作技術	7	16			19		3
合計件数	20	25	0	8	4	7	64

(1971.7-98.6月迄に公開の特許出願)
(番号は表1.4.8-3の番号を表す)

図1.4.11-3に菌類の品種改良の課題を示す。細胞融合技術を使用して収量を向上したものが多く、

図1.4.11-3 菌類の品種改良の課題



菌類の育種技術別特許出願件数推移を図1.4.11-4に、改良特性別特許出願件数推移を図1.4.11-5に示す。

出願件数が増加している年は育種技術では選抜技術、交配技術、細胞融合技術が増加している。改良特性では操作性向上、品質向上、収量向上が増加している。

図1.4.11-4 菌類の育種技術別特許出願件数推移

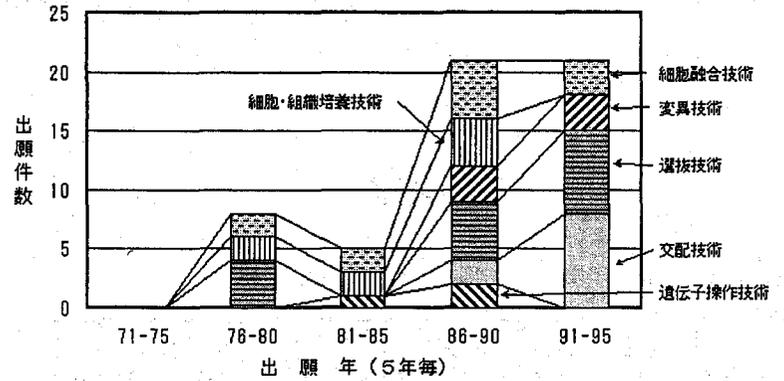
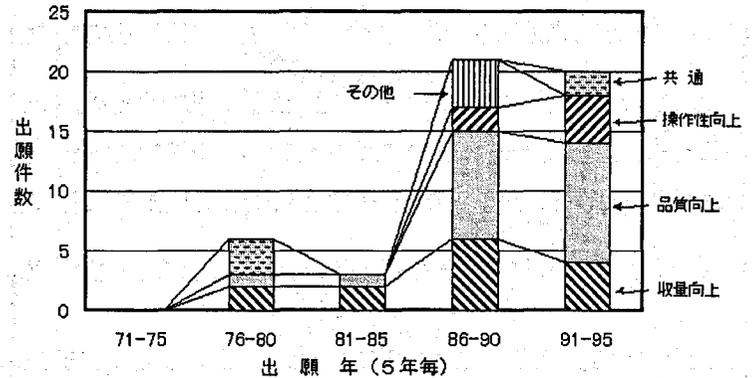


図1.4.11-5 菌類の改良特性別特許出願件数



菌類の品種改良に関する出願特許を表1.4.11-3に示す。出願総件数は46件である。菌類の特許出願はほとんどキノコに関するものであり、種類はシイタケ、マツタケ、ハタケシメジなどである。マツタケ関連は細胞融合技術、ハタケシメジは人工栽培法などの選抜技術に関するものが多い。登録特許には登録欄に○を付けた。

表1.4.11-3 菌類の品種改良出願特許(1/2)

番号	公報番号	登録	発明の名称	出願人	生物種	改良特性
1	特開昭52-136748		しめじ等の人工栽培方法	山越食菌	シメジ等	耐寒耐暑性高収量
2	特開昭53-29977 特公昭57-789	○	カワラタケ種の新規な一核菌糸体	呉羽化学工業	カワラタケ	生育速度
3	特開昭53-117556		シイタケ新品種に属する菌および栽培方法	藤沢 義秋	シイタケ	生育速度、傘厚
4	特開昭55-34082		シイタケ新品種に属する植物	広江 勇	シイタケ	大きさ
5	特開昭54-160639		担子菌ダイカリオン菌株の2細胞核分離によるモノカリオンの生産方法	ガーリンドエーゲル(ドイツ)	マッシュルーム	収量向上
6	特開昭57-29229		松茸菌の育種法(全文訂)	トビー工業	マツタケ	人工栽培

			正57.7.21発行6(3)			向き
7	特開昭59-95883 特公昭62-49037	○	小胞と灌木状分枝を有する内菌根菌類をインビトロで製造する方法	ローヌ ブーラン アグロシミ(フランス)	内菌根菌類	収量向上
8	特開昭61-1379		マツタケとシイタケの細胞融合による新菌種の育種方法	ピアスアライズ	マツタケ、シイタケ	香り、形
9	特開昭62-51978		組織培養による松茸の育成方法	松村 修一	マツタケ	人工栽培向き
10	特開昭63-273467 特公平06-34660	○	新菌種の培養及び栽培方法	宝酒造	リオフィラムウルマリウム(マツタケ科)	カサが反らない
11	特開平01-153081		新品種褐色えのき茸	中田 二郎	エノキタケ	色
12	特開平02-109925		新品種白色えのき茸	中田 二郎	エノキタケ	新種
13	特開平02-113884		ヒラタケとヤナギマツタケの細胞融合株	中笠酢店	ヒラタケ、ヤナギマツタケ	
14	特開平02-113835		新規きのこ	中笠酢店	ヒラタケ、ヤナギマツタケ	香、味
15	特開平02-117332		新規なブクリヨウおよび該ブクリヨウの栽培方法	ツムラ	ブクリヨウ	生育速度
16	特表平02-501439		甲虫類活性微生物、関連する殺虫剤組成物およびそれらの産生および使用方法	エコジエン(米国)	共通	
17	特開平02-245179 特許2622746	○	きのこの育種方法	明治製菓	キノコ	生育速度向上
18	特開平03-98576		新規な白色腐朽菌および該腐朽菌を用いた畜産飼料の製造方法	帝国製菓		

表1.4.11-3 菌類の品種改良出願特許(2/2)

番号	公報番号	登録	発明の名称	出願人	生物種	改良特性
19	特開平02-283275		発現カセットのDNA配列を有する癌腫菌、プロテイナーゼーインヒビター+2-プロモータ、ベクターpM14、植物ゲノム、傷誘発性転写調節法及び構成性転写調節法並びに遺伝子の傷誘発性発現法	インステ、フユア ゲンピオロギツシエ フォルシユング ベルリン(ドイツ)		
20	特開平04-36183		遺伝マーカーを持ち両親株と遺伝的性質の異なる突然変異株の作出方法	鐘紡	共通	
21	特開平04-66033		新規白色きのこの栽培方法	宝酒造	キノコ	
22	特開平04-104744		胞子形成のない又は少ないキノコの育成方法及び該育成方法によつて得られるキノコ	カゴメ	キノコ	鮮度保持
23	特開平04-104782		胞子形成のない又は少ないキノコの育成方法及び該育成方法によつて得られるキノコ	カゴメ	キノコ	鮮度保持
24	特開平04-152826		高速周年栽培用椎茸	コンベツクス	シイタケ	生育速度アップ
25	特開平04-152827		高速周年栽培用舞茸	コンベツクス	シイタケ	

26	特開平04-173034		新品種きのこ	帝国製菓	キノコ	収量向上
27	特開平05-38239		椎茸菌	一宮 健二	シイタケ	
28	特開平05-176649 特許2537714	○	新菌種の培養及び栽培方法	宝酒造	リオフィラム	カサが反らない
29	特開平05-176645		新菌種の育種方法	宝酒造		
30	特開平07-39263		ハタケシメジの新品種とその新品種の人工栽培法	山忠商店	ハタケシメジ	操作性向上
31	特開平05-252842		新規キノコ	中村 啓次郎	タモギタケ、ヒラタケ	操作性向上、鮮度保持
32	特開平05-260872		はたけしめじの人工栽培用菌種及び人工栽培方法	日本甜菜製糖	ハタケシメジ	人工栽培向き
33	特開平05-268942		新菌種の培養及び栽培方法	宝酒造	リオフィラム	味
34	特開平06-78629		食用きのこの栽培方法	東洋製菓	キノコ	
35	特開平05-192055		ハタケシメジの人工栽培方法	宝酒造	シメジ	味
36	特開平06-315328		シイタケに属する新規な菌株およびその菌株を用いた菌床	雪印乳業	シイタケ	形
37	特開平06-311827		はたけしめじ新菌株及び栽培法	日本甜菜製糖	シメジ	人工栽培向き
38	特開平07-227164		菌類の新規交配法	ツムラ	ブクリヨウ	
39	特開平07-264947		レンチナス・エドダスに属する新規な菌株、それを用いた菌床およびそれを栽培して得られる子実体	雪印乳業	シイタケ	生育速度
40	特開平07-274749		エノキタケの突然変異育種法	農林水産省農業生物資源研究所長	エノキタケ	色
41	特開平08-23808		子実層非形成菌株の育種方法	ホクト産業	シイタケ	胞子減少
42	特開平08-149934		シイタケ新品種の育種法およびシイタケ新品種	キツコーマン	シイタケ	胞子形成能
43	特開平08-298888		松茸菌と椎茸菌との融合キノコ及びその原基培養方法とその栽培方法	小石 昭五	マツタケ	収量向上
44	特開平09-140285		新菌株の作出方法及び栽培方法	ホクト産業	エリンギ	
45	特開平09-266732		新規なシイタケ菌株およびそれを用いたシイタケ子実体	雪印乳業	シイタケ	日持ち
46	特開平09-252647		松茸菌と椎茸菌との融合キノコおよびその原基培養方法ならびにその栽培方法	東洋きのこ研究所	キノコ	収量向上

(1971.7-98.6月迄に公開の特許出願)



3. 組換え食品の安全性および組換え体の開発動向に関する参考文献

表 組換え食品の安全性および組換え体の開発動向に関する文献リスト(1/2)

No.	タイトル	著者	出典	対象生物								記述内容						備考		
				植物			動物			微生物		開発動向				安全性・規制				
				作物	樹木	その他	家畜・家禽	魚類	その他水産動物	昆虫	食品微生物	その他	食品用途	非食品用途	新技術等	その他	食品安全		環境影響	規制動向
1	Nutritional and Safety Assessments of Foods and Feeds Nutritionally Improved through Biotechnology (バイオテクノロジーで栄養改変された食品、飼料の栄養及び安全性評価)	ILSI(International Life Sciences Institute)	www.ilsa.org	○																
2	Biological confinement of genetically modified organisms	National Research Council 2004	National Academy Press	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○				○	○		
3	Animal Biotechnology Science-based Concerns	National Research Council 2002	National Academy Press				○	○	○					○	○		○	○		
4	The Global Diffusion of Plant Biotechnology: International Adoption and Research in 2004	C. F. Runge, Barry Ryan (Univ. of Minnesota)	http://www.apec.uvm.edu/faculty/frunge/research.html	○		○								○	○					組換え植物の開発と実用化状況に関する国別の詳細情報
5	The Economic Status and Performance of Plant Biotechnology in 2003: Adoption, Research and Development in the United States	C. F. Runge (Univ. of Minnesota)	http://www.apec.uvm.edu/faculty/frunge/research.html	○		○								○	○					米国における組換え作物の開発状況
6	Genetically modified food crops for improving agricultural practice and their effects on human health	Jennifer Thomson (Univ. of Capetown)	Trends in Food Science and Technology, Vol.14, 210, 2003	○										○			○			
7	From alpha to omega - producing essential fatty acids in plants	Allan G Green	Nature Biotechnology, Vol.22, 680, 2004	○										○						
8	Genetically modified fish and their effects on food quality and human health and nutrition	Norman Maclean (Univ. of Southampton)	Trends in Food Science and Technology, Vol.14, 242, 2003					○						○			○			
9	Applications of insect transgenesis	Ernst A. Wimmer	Nature Reviews Genetics Vol.4, 225, 2003							○				○				○		

表 組換え食品の安全性および組換え体の開発動向に関する文献リスト(2/2)

No.	タイトル	著者	出典	対象生物								記述内容							備考	
				植物			動物			微生物		開発動向				安全性・規制				
				作物	樹木	その他	家畜・家禽	魚類	その他水産動物	昆虫	食品微生物	その他	食品用途	非食品用途	新技術等	その他	食品安全	環境影響		規制動向
10	Genetically modified livestock and poultry and their effects on human health and nutrition	Helen Sang (Roslin Institute)	Trends in Food Science and Technology, Vol.14, 253, 2003				○							○						
11	The scientific basis for risk assessment and regulation of genetically modified foods	Harry A. Kupier, Gijs A. Kleter (Institute of Food Safety,	Trends in Food Science and Technology, Vol.14, 277, 2003	○										○					○	
12	Using RNAi to improve plant nutritional value: from mechanism to application	G. Tang and G. Galili	Trends in Biotechnology Vol.22, 463, 2004	○		○								○		○				RNAiによる作物の栄養組成の改変
13	All-native DNA transformation: a new approach to plant genetic engineering	Caius M. Rommens	Trends in Plant Science Vol.9, 457, 2004	○		○								○		○				
14	Plant biotechnology Molecular farming and metabolic engineering promise a new generation of high-tech crops	Pal Maliga, Ian Graham	Current Opinion in Plant Biology Vol.7, 149, 2004	○		○								○	○	○				
15	Progress in plant metabolic engineering	Tresa Capell, Paul Christou	ibid Vol.15, 148, 2004	○		○								○	○	○				
16	The search for the ideal biocatalyst	Stephanie G Burton et al.	Nature Biotechnology, Vol.20, 37, 2002											○	○	○				
17	Assuring the safety of genetically modified (GM) foods: the importance of an holistic, integrative approach	Andrew Cockburn (Monsanto UK)	Journal of Biotechnology Vol.98, 79, 2002	○															○	
18	Transgenic fish: is a new policy framework necessary for a new technology?	Nathaniel Logar, Leslie K. Pollock	Environmental Science & Policy Vol.8, 17, 2005				○							○					○	○

本文で概要を示さなかった文献のうち、主な文献の概要を以下に示す。

○文献 No. 2

表 遺伝子組換え生物の研究開発動向 (1)

大分類	生物種	導入された形質	応用分野	開発段階
魚 類	ドジョウ	<ul style="list-style-type: none"> 成長速度の増加、エサの転換効率向上と不妊化（不妊化については予想） β-アフィン遺伝子の制御領域下流に成長ホルモン遺伝子を連結して導入 	養殖（食用）	研究段階
	ナマズ	<ul style="list-style-type: none"> バクテリア抵抗性の向上 ガ由来の抗菌性ペプチドであるセクロピンB遺伝子を導入 	養殖（食用）	研究段階
	メダカ	<ul style="list-style-type: none"> 突然変異の検出感度向上（環境中の汚染物質の検出用） バクテリオファージ遺伝子を導入し、変異原物質の暴露後、ベクターDNAを除去し、指標バクテリアに導入することで突然変異を検出 	産業用（環境分野）	研究段階、特許取得済み
	太平洋サケ	<ul style="list-style-type: none"> 成長速度、エサの転換効率の向上 チヌークサケの成長ホルモン遺伝子の導入（周年で発現するため、サケは一年中定常的に成長） 	養殖（食用）	特許取得済み、FDAの認可待ち
	ブリーム (red sea bream)	<ul style="list-style-type: none"> 成長速度の増加 タラ抗凍結タンパク制御領域+チヌークサケ成長ホルモン遺伝子 	養殖（食用）	研究段階
	ニジマス	<ul style="list-style-type: none"> 炭水化物代謝の向上 ヒトグルコース・トランスポーター Type I、ラットヘキソキナーゼ Type II 遺伝子を導入 潜在的には魚に植物性のエサを与えることが可能になる 	養殖（食用） 産業用	研究段階
	スチールヘッド トラウト	<ul style="list-style-type: none"> 成長速度とエサの転換効率の向上 サケ成長ホルモン遺伝子の導入 	養殖（食用）	モデル生物として利用中
	ゼブラフィッシュ	<ul style="list-style-type: none"> オス系統のみの作出 アロマターゼ遺伝子の機能を阻害することにより、生殖ホルモンの合成（アンドロゲン→エストロゲン）をブロック→メスの発達阻害 	コイのような害魚の生物学的コントロール	研究段階、モデル生物として使用中

表 遺伝子組換え生物の研究開発動向（2）

大分類	生物種	導入された形質	応用分野	開発段階
魚類	コイ	<ul style="list-style-type: none"> ・ 病害抵抗性の向上 ・ ヒトインターフェロン遺伝子を導入 	養殖（食用）	研究段階
	キンギョ	<ul style="list-style-type: none"> ・ 低温耐性の向上 ・ タラ抗凍結タンパク遺伝子を導入 	養殖（食用）	研究段階
	ティラピア	<ul style="list-style-type: none"> ・ 成長速度とエサの転換効率の向上 ・ ティラピア成長ホルモン遺伝子を導入 	養殖（食用）	規制当局の承認待ち
	ティラピア	<ul style="list-style-type: none"> ・ 血液凝固因子の生産 ・ ヒト血液凝固因子VII遺伝子の導入 	医薬品生産	研究段階
	ティラピア	<ul style="list-style-type: none"> ・ 成長速度、エサの転換効率、タンパク質の利用効率の向上 ・ チヌークサケの成長ホルモン、タラの抗凍結タンパク遺伝子の導入 	養殖（食用）	研究段階
貝類	貝類	<ul style="list-style-type: none"> ・ 病害抵抗性の向上と成長速度の向上（予想） ・ ウイルスベクターを用いた遺伝子導入 	養殖（食用）	研究段階、特許取得済み
	カキ	<ul style="list-style-type: none"> ・ レトロウイルスベクターを用いた病害抵抗性の向上 ・ 最適な遺伝子導入方法について研究中 	養殖（食用）	研究段階
藻類	海藻	<ul style="list-style-type: none"> ・ カラギーナン、寒天の生産向上（食品、医薬品、化粧品用） 	工業用	研究段階、特許取得済み
	微細藻類（スピルリナ）	<ul style="list-style-type: none"> ・ スピルリナの栄養適性の向上 ・ マーカー遺伝子の導入と発現により、実現可能性が最近確認された 	養殖（食用）	研究段階
	藻類	<ul style="list-style-type: none"> ・ 重金属結合能の向上 ・ メタロチオネインII 遺伝子（ニワトリ） 	医療用	研究段階
海洋微生物	珪藻	<ul style="list-style-type: none"> ・ 光要求性の低下 ・ 糖代謝関連物質遺伝子（ヒト）の導入 	工業用	研究段階

表 遺伝子組換え生物の研究開発動向 (3)

大分類	生物種	導入された形質	応用分野	開発段階
甲 殻 類	ザリガニ	・ レトロウイルスベクターの利用による組換え体の作出	養殖 (食用)	研究段階、モデル生物として利用中
	クルマエビ	・ 成長速度の増加の可能性 ・ マーカー遺伝子を用いて最適な遺伝子導入方法について研究中	養殖 (食用)	研究段階
陸 上 植 物	トウモロコシ	・ アビジン遺伝子の導入	工業用、医療用	APHIS の認可を受けて野外栽培中
	スカッシュ	・ 3種類のウイルスコートタンパク遺伝子の導入によるウイルス抵抗性の付与	食料生産	実用化済み
	アマ	・ 除草剤 (スルホニルウレア) 耐性 ・ シロイヌナズナ遺伝子の導入	油糧生産	実用化済み
	トマト	・ Flavr Savr トマト ・ ポリガラクチュロナーゼ遺伝子の発現抑制 (アンチセンス法) による日持ち性向上	食料生産	実用化済み、現在は商業栽培なし
	イネ	・ β カロテンの含有量向上	食料生産 (栄養価の向上)	研究段階
	ポプラ	・ 除草剤 (グリホサート) 耐性	森林管理	APHIS の認可を受けて試験栽培中
	マツ (Loblolly pine)	・ Bt CRY1Ac 遺伝子の導入によるマツ害虫への抵抗性	森林管理	研究段階
	クルミ	・ フラボノイド含有量の低下と根系の形成促進 ・ chalcone 合成遺伝子の発現抑制 (アンチセンス法)	クルミの生産	研究段階
	プラム	・ プラム POX ウイルスへの抵抗性 ・ ウイルスのキャプシド遺伝子	果実生産	開放系利用許可交付

表 遺伝子組換え生物の研究開発動向 (4)

大分類	生物種	導入された形質	応用分野	開発段階
陸上植物	セイヨウナシ	<ul style="list-style-type: none"> ・ 病害虫抵抗性 ・ 合成抗微生物遺伝子の導入 	果実生産	APHIS の承認を受け野外試験中 (2000-2001)
	リンゴ	<ul style="list-style-type: none"> ・ カビ (<i>Tcichoderma atroviride</i>) 由来のキチナーゼ遺伝子の導入による病害抵抗性の向上 	果実生産	APHIS の承認を受け野外試験中 (1998-2002)
	パパイア	<ul style="list-style-type: none"> ・ パパイア・リングスポット・ウイルスへの抵抗性 ・ ウイルスのコートタンパク遺伝子 	果実生産	実用化済み
	バナナ	<ul style="list-style-type: none"> ・ 病害抵抗性 ・ アフリカツメガエルの抗微生物ペプチド (マガイニン) 遺伝子 	果実生産	研究開発
微生物	<i>Pseudomonas putida</i>	<ul style="list-style-type: none"> ・ 土壌病原微生物への抵抗性の向上 ・ 抗カビ性化合物の合成遺伝子 	土壌病原微生物の防除	小規模の野外試験
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<ul style="list-style-type: none"> ・ 2種類のレポーター遺伝子の染色体への挿入 	ムギ根圏における微生物群集への影響解明	野外試験
	ムギ根圏由来の <i>Fluorescent pseudomonas</i>	<ul style="list-style-type: none"> ・ 2種類のレポーター遺伝子の染色体への挿入 	組換え微生物のモニタリング	野外試験
	アグロバクテリウム K1026	<ul style="list-style-type: none"> ・ 毒素抵抗性をもつプラスミドの伝達能力をもたない系統の作出 	クラウンゴール病の防除	実用化済み
	<i>Metarhizobium anisopliae</i>	<ul style="list-style-type: none"> ・ GFP 遺伝子 and/or プロテアーゼ遺伝子の導入 	植物害虫の防除	野外試験
	<i>Pseudomonas syringae</i>	<ul style="list-style-type: none"> ・ 氷核形成能のない突然変異体 (ice-) の作出 	霜害の防止	研究段階
	黒麹カビ	<ul style="list-style-type: none"> ・ ウシ・キモシンの製造 	チーズ製造	実用化済み
	<i>Colletorichum coccodes</i>	<ul style="list-style-type: none"> ・ 雑草への病害性 	微生物除草剤 (Mycoherbicide)	研究開発中
大腸菌	<ul style="list-style-type: none"> ・ ヒト・インシュリン遺伝子 	糖尿病治療	実用化済み	

表 遺伝子組換え生物の研究開発動向 (5)

大分類	生物種	導入された形質	応用分野	開発段階
昆虫	タマバエ (スクリーワーム)	・ GFP 遺伝子	害虫防除	研究段階
	チカイエカ	・ GFP 遺伝子	伝染病媒介能力の低下	研究段階
	ネッタイシマカ	・ GFP 遺伝子	伝染病媒介能力の低下	研究段階
	コクヌストモドキ	・ 蛍光タンパク質遺伝子	遺伝学的研究	研究段階
	カイコ	・ GFP、ヒトコラーゲン遺伝子	絹の改良、病害虫抵抗性	実験室内での利用
	ハマダラカ (<i>A. gambiae</i>)	・ 蛍光タンパク質遺伝子	伝染病媒介能力の低下	研究段階
	ハマダラカ (<i>A. stephensi</i>)	・ 目の色彩変異のレスキュー遺伝子	伝染病媒介能力の低下	研究段階
	ワタアカミムシ	・ 蛍光タンパク質遺伝子	害虫防除、大量飼育昆虫におけるタンパク質生産	研究段階、野外実験
	カリブミバエ	・ 蛍光タンパク質遺伝子	害虫防除	
	イエバエ	・ 蛍光タンパク質遺伝子	遺伝学的研究	研究段階
	地中海ミバエ	・ 白眼突然変異のレスキュー遺伝子、蛍光タンパク質遺伝子	害虫防除	研究段階

(出典: Biological Confinement of Genetically Engineered Organisms, National Research Council 2004)

○文献 No.7

From alpha to omega - producing essential fatty acids in plants

Nature Biotechnology Vol.22, 680, 2004

(従来、魚類からしか得られなかった長鎖不飽和脂肪酸の植物による合成)

長鎖不飽和脂肪酸 (LCPUFAs) はヒトの健康に重要である。これまで、魚類などの海洋性の油が LCPUFAs の供給源であった。しかし、シロイヌナズナで、アラキドン酸 (C20:4)、エイコサペンタエン酸 (C20:5) が合成できることが報告された。これは植物を PCPUFAs の供給源として利用する第一歩である。

すべての高等植物は C18 の PUFA (リノレン酸等) を生合成するが、さらに鎖を伸張し、不飽和化して、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸 (EPA)、ドコサヘキサエン酸 (DHA) を合成することはできない。

今回、シロイヌナズナに微細藻類由来の脂質代謝酵素 3 種の遺伝子を導入し、CaMV35S プロモーターの調節下で発現させることにより、葉の組織中で 7 % のアラキドン酸、3 % の EPA を生産させることに成功した。しかし、①発現量が少ないこと、②EPA は合成されたが、DHA の合成には成功していないこと、③生産量上げるには種子の貯蔵油脂として合成する必要があることなどから、実用化にはまだ課題がある。

○文献 No.12

Using RNAi to improve plant nutritional value: from mechanism to application

(植物の栄養組成を改良するための RNAi の利用)

RNAi は遺伝子発現抑制の普遍的なメカニズムであるが、その機構と生物学的機能は一部しか解明されていない。ヒトの疾患の治療や植物の品種改良のための RNAi 技術の開発を目指して集中的に研究が進められている。しかし、食品や飼料目的で植物の栄養価を改良するための RNAi 技術の開発は始まったばかりである。植物における RNAi の機能についての知見の現状と、RNAi 技術の開発を通じた植物の栄養価の改良のためのストラテジーについて議論する。

RNAi はアンチセンス法やコサプレッションに比べて、遺伝子抑制の効率が高く、ターゲットとなる植物のスクリーニングに要する時間が短縮されるというメリットがある。通常の植物のライフサイクルへの影響を最小限におさえつつ、組織・器官特異的な RNAi ベクターの開発が必要である。

○文献 No. 13

All-native DNA transformation: a new approach to plant genetic engineering
(外来 DNA を用いず、交配可能な植物由来の DNA を用いることによる品種改良)

作物の遺伝的改変は外来遺伝子を植物のゲノムに導入することが基本である。遺伝子組換えは従来育種を補う方法として有用であるが、組換え植物由来の植物の消費に対する懸念がある。こうした懸念から、native な DNA のみを用いて作物を品種改良できないかという考えが生じる。分子生物学の急速な進歩により植物自体を DNA のソースとして利用することができる。Native な遺伝子と調節要素を選択可能なマーカーを利用せずに植物に再導入することができる。また、交配可能なグループ由来の DNA を用いることにより、外来 DNA が入っていない組換え作物を作出することができる。

○文献 No. 15

Progress in plant metabolic engineering
(植物の代謝工学の進歩)

近年、代謝経路の研究には、単一の経路レベルではなく細胞全体をとらえて研究する必要があること、また、どんな単純な経路の改変であってもシステム全体に影響を与えるという認識が高まっている。したがって、還元主義的な単一の遺伝子の改変戦略ではなく、多重遺伝子の同時発現・抑制を含むより全体的なアプローチが注目されている。複数の酵素の量や活性を調節するための調節因子の利用も進んでいる。代謝経路をモデル化する新技術と組み合わせることにより、天然のプロダクトや新規産物の生産量を、予測可能かつ有益なやり方で向上させることができるだろう。

○一次代謝経路

- ・ 炭水化物、アミノ酸、ポリアミン、脂質の代謝

○二次代謝経路

- ・ アルカロイド、テルペノイド、フラボノイド
- ・ リグニン
- ・ キノン等の benzoic acid 誘導体

○新規の代謝経路

- ・ PHA (polyhydroxyalkanoate, 通常微生物が産生する生分解性プラスチック原料)

4. 遺伝子組換え体に関する情報サイト

○遺伝子組換え全般

1. EU における GMO 規制

http://europa.eu.int/comm/food/food/biotechnology/gmfood/qanda_en.pdf

2. News @ Nature.com <http://www.nature.com/news/index.html>

○植物

1. MolecularFarming.com <http://www.molecularfarming.com/>

2. Conference on Plant-made Pharmaceuticals

<http://www.cpmp2003.org/pages/en/home/home.html>

3. Biotechnology and Society-Part XVIII Biopharmaceuticals

<http://www.chennaionline.com/science/BiotechCorner/18biotech.asp>

4. Biotechnology and Society-Part 19 Economics of biopharmaceuticals

<http://www.chennaionline.com/science/BiotechCorner/19biotech.asp>

5. Transgenic Crop: An Introduction and Resources Guide: Bio-Pharming

<http://www.colostate.edu/programs/lifesciences/TransgenicCrops/hotbiopharm.html>

6. Presentation to the Public Forum on Plant Molecular Farming

http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/mf/mf_pharme.shtml

7. Canadian Food Inspection Agency Plant Products Directorate Plant Biosafety Office

<http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/mf/molecule.shtml>

8. Canadian Food Inspection Service. 2001. Plant molecular farming discussion document

http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/mf/mf_disde.shtml

9. APHIS Field Test Permits for Bio-Pharm Crops

<http://www.colostate.edu/programs/lifesciences/TransgenicCrops/pharmpermits.html>

10. Release Permits for Pharmaceuticals, Industrials, Value Added Proteins for Human Consumption, or for Phytoremediation Granted or Pending by APHIS as of January 3, 2005

http://www.aphis.usda.gov/brs/ph_permits.html

11. FDA の企業向けガイドライン www.fda.gov/cber/gdlns/bioplant.htm

12. EMEA (European Medicines Agency) の指針

www.emea.eu.int/pdfs/human/bwp/076402en.pdf

○動物

1. A/F Protein <http://www.afprotein.com/index1.htm>

○菌類

1. 農林水産省技術安全課HP

<http://www.s.affrc.go.jp/docs/genome/project/4.htm>

2. (独) 森林総合研究所 きのこと・微生物研究領域HP

<http://ss.ffpri.affrc.go.jp/research/ryoiki/12app-micro/12.html#a1>

3. (財) 日本きのこセンターHP

<http://www.kinokonet.com/kenkyu/kenkyu.htm>