植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発
／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発
プロジェクト評価（中間）報告書

平成２１年３月
産業構造審議会産業技術分科会
評　価　小　委　員　会

はじめに

研究開発の評価は、研究開発活動の効率化・活性化、優れた成果の獲得や社会・経済への還元等を図るとともに、国民に対して説明責任を果たすために、極めて重要な活動であり、このため、経済産業省では、「国の研究開発評価に関する大綱的指針」（平成１７年３月２９日、内閣総理大臣決定）等に沿った適切な評価を実施すべく「経済産業省技術評価指針」（平成１７年４月１日改定）を定め、これに基づいて研究開発の評価を実施している。

経済産業省において実施している、「植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発技術研究開発」プロジェクトは、閉鎖型植物生産施設において、高付加価値物質（高機能タンパク質等）を高生産・高効率に生産する遺伝子組換え植物を創出・栽培するのための基盤技術開発を行い、遺伝子組換え植物による有用物質生産を実用化するために平成１８年度より実施しているものである。

今回の評価は、この「植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発技術研究開発」の中間評価であり、実際の評価に際しては、省外の有識者からなる「植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発技術研究開発」プロジェクト中間評価検討会（座長：古在　豊樹　　千葉大学　環境健康フィールド科学センター　教授）を開催した。

今般、当該検討会における検討結果が評価報告書の原案として産業構造審議会産業技術分科会評価小委員会（小委員長：平澤　泠　東京大学名誉教授）に付議され、内容を審議し、了承された。

本書は、これらの評価結果を取りまとめたものである。

平成２１年３月

産業構造審議会産業技術分科会評価小委員会

産業構造審議会産業技術分科会評価小委員会
委　員　名　簿

委員長	平澤　　冷	東京大学　名誉教授
	池村　淑道	長浜バイオ大学バイオサイエンス学部　教授
	伊澤　達夫	東京工業大学　理事・副学長
	大島　まり	東京大学大学院情報学環　教授 東京大学生産技術研究所　教授
	菊池　純一	青山学院大学法学部･大学院法学研究科ビジネス法務専攻　教授
	鈴木　　潤	政策研究大学院大学　教授
	辻　　智子	日本水産株式会社　顧問
	冨田　房男	放送大学北海道学習センター　所長
	中小路　久美代	株式会社ＳＲＡ先端技術研究所　主幹 東京大学先端技術研究センター　特任教授
	山地　憲治	東京大学大学院工学系研究科　教授
	吉本　陽子	三菱ＵＦＪリサーチ＆コンサルティング株式会社 経済・社会政策部　主任研究員

（委員敬称略、五十音順）

事務局：経済産業省産業技術環境局技術評価室

「植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発技術研究開発」プロジェクト評価中間検討会
委員名簿

座　　長	古在　豊樹	千葉大学　環境健康フィールド科学センター　教授
メンバー	池島　政広	亜細亜大学　アジア・国際経営戦略研究科　委員長
〃	北野　雅治	九州大学大学院農学研究院生産環境科学部門　教授
〃	児玉　洋	大阪府立大学大学院　生命環境科学研究科　教授
〃	小鞠　敏彦	日本たばこ産業株式会社　経営企画部　部長
〃	田部井　豊	独立行政法人農業生物資源研究所 遺伝子組換え研究推進室　室長

（敬称略、五十音順）

事務局：経済産業省製造産業局生物化学産業課

「植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発技術研究開発」プロジェクトの評価に係る省内関係者

【中間評価時】

（平成２０年度）
製造産業局　生物化学産業課長　倉田　健児（事業担当課長）

産業技術環境局　研究開発課長　　土井　良治

産業技術環境局　技術評価調査室長　　長濱　裕二

【事前評価時】（事業初年度予算要求時）

製造産業局　生物化学産業課長　徳増　有治（事業担当課長）

「植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発技術研究開発」プロジェクト評価（中間）

審 議 経 過

○第１回中間評価検討会（平成２０年１０月８日）
・評価の在り方及び評価の手順等について
・評価報告書の構成(案)、評価コメント、評点法等について
・プロジェクトの概要説明について
・要素技術の詳細説明について
・質疑応答

○第２回中間評価検討会（平成２０年１２月３日）
・評価報告書(案)について
・質疑応答

○産業構造審議会産業技術分科会評価小委員会（平成２１年３月２４日）
・評価報告書(案)について
　審議の結果、「種苗権」という文言は、「育成者権」ではないかとの意見を踏まえ、修正することで了承となった。

目　　次

中間評価報告書概要

中間評価報告書概要

プロジェクト名	植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発
上位施策名	環境安心イノベーションプログラム／環境調和産業創造バイオ
事業担当課	製造産業局生物化学産業課

プロジェクトの目的・概要

閉鎖型植物生産施設において、高付加価値物質（高機能タンパク質等）を高生産・高効率に生産する遺伝子組換え植物を創出・栽培するための基盤技術開発を行い、遺伝子組換え植物による有用物質生産を実用化する。

予算額等　　（単位：千円）

開始年度	終了年度	中間評価時期	事後評価時期	事業実施主体
平成１８年度	平成２２年度	平成２０年度	平成２３年度	（独）産業技術総合研究所、バイオテクノロジー開発技術研究組合
H18FY 予算額	H19FY 予算額	H20FY 予算額	総予算額（～FY19）	総執行額（～FY19）
1,107,830	1,040,432	1,040,432	2,148,262	2,126,048

目標・指標及び成果・達成度

(1) 全体目標に対する成果・達成度

事業終了までに組換え植物による有用物質生産に対して実用化の目処をつけるため、各個別要素技術の目標を達成することを目指す。全体として、中間評価時点における進捗としては良好であり、設定された目標に対する成果は妥当又は予定以上であると判断された。

個別要素技術	目標・指標（中間評価時）	成果	達成度
３．　【ヒト・動物用医薬品原材料生産植物の研究開発】			
３－１「イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発」	・最適コンストラクトを用いCTB米の作出と量的、質的評価。同ワクチンのコレラ評価モデルでの有効性を証明。mCTワクチン米の作出。	・CTB並びにmCTを導入した組換えイネを作出し、CTB米において目標値として設定した0.1%以上のCTBの発現が可能となった。CTB米及びmCT米がコレラ毒素誘発性下痢を抑制することを実証した。mCT米はコレラ毒素のみならず、年間延べ約２億人が罹患している旅行者下痢症の主要原因毒素であ	達成

		る易熱性エンテロトキシン(LT)が誘発する下痢を交差免疫の機構で抑制することを見出した。	
	・CTB 米の蓄積量調査。インフルエンザワクチン米の作出。基盤イネのプロトタイプの作出。植物工場用の高蓄積プロモーターの探索。	・グルテリンプロモーターを用いて、CTB が 1mg/米ｇ以上に蓄積した米が得られた。 ・インフルエンザワクチン抗原と CTB 遺伝子を導入した組換えイネを作成した。組換えイネ 5 種類（42～190 系統）を作出し、目的物質が 0.1㎎/米ｇ蓄積した米が得られた。 ・基盤イネのプロトタイプとして、組換えイネ７系統を選抜した。 ・植物工場用のプロモーターに関する特許出願の手続きを行った（詳細は、非公開を希望）。	達成
	・イネ群落内環境の成立機構の解析及び花粉飛散状況の評価。試作光源の改良。非組換えイネによる栽培環境条件と成長・収量及び有用物質含有量の関係評価。	・成長、収量及び貯蔵タンパク質量を増加する環境制御方法を確立した。イネの光合成作用曲線に特化した光源を試作した。栽培環境条件の最適化により１作収量は、開放系栽培と比較して最大で 65%増加した。	達成
３－２「組換えジャガイモを利用した家畜用経口ワクチン素材の開発」	・抗原・抗体の定量的測定法の確立。抗原の免疫誘導能、アジュバント物質の活性確認。抗原発現ジャガイモの再分化。植物工場システムでの水耕栽培を開始	・ワクチン候補抗原とアジュバントの有効性を、開発した定量的検出系により確認した。これら抗原成分を発現するジャガイモを作出し、植物工場システムでの水耕栽培によって生産が可能であることを実証した。	達成
３－３「高機能性物質生産ダイズに関する技術開	・改変型貯蔵タンパク質のダイズへの遺伝子導入、形質転換体の作出および栽培採種。貯蔵タンパク質欠損系統の作出。アルツハイマ	・ワクチンペプチドを組換え種子 100g 中に 10㎎以上蓄積する系統を作出し、疾患マウスでの機能性評価試験準備を完了した。貯蔵タンパク質欠損系統を作出し、導入用培養系を確立した。	達成

発」	ー病マウスの大量飼育		
	・マーカー遺伝子導入ダイズの栽培を開始。多収穫栽培条件の実証。閉鎖型栽培施設の構築と環境制御性能の検証。	・マーカー遺伝子導入ダイズの栽培に着手した。非組換えダイズを人工環境下で水耕栽培し、発芽能力を有し貯蔵タンパク質を約 33%含む種子 1.1kg/m2・年を収穫した。閉鎖型栽培施設を施工し稼動させた。	達成
３－４「レタスによるワクチン成分生産技術開発」	・ﾌﾟﾛﾄﾀｲﾌﾟﾚﾀｽ作出・供給。ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ同定・ｺﾄﾞﾝ最適化完了。ﾜｸﾁﾝ有効投与量試算（ﾌﾞﾀ投与実験）。高生産要素技術開発（タンデム連結化）。	・ﾌﾟﾛﾄﾀｲﾌﾟ作出・供給完了。ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ同定・ｺﾄﾞﾝ最適化完了。ﾜｸﾁﾝ有効投与量（経鼻・経口）確認済。ﾀﾝﾃﾞﾑ連結による高生産化に成功。	達成
	・光・気流環境を制御する装置の開発。GUS 遺伝子導入レタスの栽培法検討。再分化苗の効率的水耕栽培法の検討。	・新たな環境制御装置を導入。GUS 遺伝子導入レタス（T0～T2）について栽培法検討を行った。細分化苗の栽培法の検討により定植後の損失が低下した。	達成
３－５「医・農・工融合によるヒトチオレドキシン１産生レタスの生産技術の開発」	・レタス葉緑体形質転換系の確立。hTRX1 遺伝子導入レタスの作製。FBP/SBPase 発現最適化プロモーターの解析。レタス EST 配列決定とレタス遺伝子発現解析系の構築。	・レタス葉緑体形質転換系を確立し、これを用いて hTRX1 遺伝子葉緑体ゲノム導入レタスの作製に成功した。形質転換レタスにおける hTRX1 発現量は、1g 生重量あたり 0.4 ㎎ であった。レタス生育促進を達成するためのプロモーターの決定を行った。また、レタス生育促進光環境最適化のための遺伝子診断法構築に必要な、レタス EST 配列決定と遺伝子発現解析系の構築を行った。	達成

４．【機能性成分生産植物の研究開発】			
４－１「高機能性物質生産イチゴに関する技術開発」	・ウイルス由来プロモーターの発現様式の解析。機能性成分形質転換イチゴの発現解析開始。形質転換イチゴの試験管内機能性評価系の構築。	・ウイルス由来プロモーターは、従来プロモーター（CaMV35S）との発現比較により、イチゴ果実における発現の有効性を確認した。機能性成分形質転換イチゴは、形質転換体における目的物質の発現と発現産物の多量体形成を確認し,マウス経口投与による機能性評価を開始した。さらに、アディポネチクチンの試験管内機能性評価系のひとつである”PEPCK-ルシフェラーゼ系”を構築した。	達成
	・果実収量を高める地上部栽培条件の探索。多段式栽培が行われる栽培室内の環境分布実態把握。イチゴ群落の光合成・蒸散特性解明。水耕栽培排液の実態把握。	・光強度，気温，CO2 濃度等とイチゴの光合成・蒸散との関係を解明し，高い果実収量が得られる環境条件を見出した。多段式栽培棚が設置された栽培室をモデルケースとして，多点環境計測を行い，様々な空調条件下での各環境要素の空間分布を解明した。また，イチゴ水耕栽培排水の水質と水量を調査・分析し，その実態に関する基礎データを得た。	達成
４－２「組換えレンギョウ等による高機能性成分生産及び閉鎖系での栽培システム構築の開発」	・組換えベクターを構築してモデル植物と宿主植物への組換えを始める。 ・レンギョウの水耕栽培を開始して評価に用いる標準の栽培法を決める。	・組換えレンギョウ作製法を確立し、同組換え体による目的物質の生成を確認した。また、レンギョウ類の水耕栽培の基本条件を決定した。	達成
４－３「組換えトマトを利用したミラクリン製造	・組換え体作出によるプロモーターとターミネーターの検討。遺伝子組換えによる植物工場向け小型、収量増加、ライフサ	・新規に単離したターミネーター配列が目的遺伝子の高発現化に有効であることを示し、ミラクリン高発現組換えトマトの作出を開始した。また、植物工場向けトマトの作出を開始し、最適	達成

の基盤技術開発	イクル短縮トマトの作出開始。 ・二段式栽培装置の試作。栽培試験による生長特性と収量調査の実施。閉鎖型人工環境下でのミラクリン発現トマトの特性調査。	な形質を持つ個体を選抜中である。 ・閉鎖型二段式栽培装置を用いた栽培試験により、閉鎖系で安定的にトマトを生産できることを実証した。また、光環境の制御がミラクリンの蓄積量安定化に重要であることを示した。	 達成
４－４「有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発」	・プレニル化酵素遺伝子の発現カセットの構築、ミヤコグサへの導入を行う。遺伝子の変異導入と新規遺伝子の取得を継続する。酵素機能の評価とプレニル化化合物の生理活性評価を行う。輸送体遺伝子の発現カセットを構築する。	・プレニル化酵素および輸送体遺伝子をミヤコグサに導入し、約 200 クローンの組換え植物体を作製し、酵素機能とプレニル化化合物の評価をする一方で、ドゥルパニンを生合成する放線菌酵素と基質特異性の高い植物酵素遺伝子の取得に成功した。	達成
５．【有用物質生産のための基盤植物作出技術の研究開発】			
５－１「閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物の開発研究」	・タバコバイオマス関連因子探索、イネ光周性変異解析、密植検討、薬用植物形質転換体作出。糖鎖修飾関連酵素遺伝子の強化・抑制技術の開発の継続	・CRES-T 法を用いてタバコの雄性不稔節間短縮葉数増加花成遅延、早咲を誘導するキメラリプレッサーを同定。青色光の利用により、イネのコストパフォーマンスをあげられることを示唆するデータ、および、低光量での一穂粒数の減少が少ない系統をいくつか同定した。薬用植物（オウレン）を材料に土耕栽培に比べて 1 株当たりの茎の収量が 3.4 倍、ベルベリン収量が 6 倍になる養液栽培法を確立した。 ・各種糖鎖修飾に関連する遺伝子の単離を完了した。また、ウイルスベクター法及び形質転換法によって植物型糖鎖修飾の抑制に成功した。抗植物型糖鎖修飾モノクローナル抗体を作製中。	達成
５－２「植物型糖鎖修飾	・モデル蛋白質発現タバコからのモデル蛋白質精製。	・タバコの各器官から精製したモデル蛋白質の解析により O-型糖鎖修飾が殆	達成

を抑制した植物作出技術開発」	単独のプロリン残基への糖鎖付加モチーフを持つ有用蛋白質 cDNA のタバコ培養細胞での発現。プロリン水酸化酵素抑制植物の作製開始。連続したプロリン残基への糖鎖付加付加モチーフの同定。植物糖転移酵素候補蛋白質の酵母表面での発現と活性測定。	ど起らない器官を同定した。単独のプロリン残基への糖鎖付加モチーフを持つ有用蛋白質 2 種をタバコ培養細胞で発現させた。プロリン水酸化酵素抑制植物を作製した。連続プロリン残基への糖鎖付加モチーフを同定した。酵母発現系では植物糖転移酵が見出せなかったため、生化学的方法により同定を進めた。	
５－３「ウイルスベクターを用いた高効率発現システムの開発」	・構築ウイルスベクターの感染力、タンパク質発現の確認。選抜 HC-Pro 遺伝子組換タバコの作出。改変 CMV ベクターの解析と CMV3a 遺伝子組換タバコの作出。	・構築ウイルスベクターを用いて 2 種類の目的タンパク質の発現を確認した。選抜 HC-Pro 遺伝子を導入したタバコを作出した。2 種類のウイルスベクター（Δ3a CMV、ClYVV-3a）を用いた非拡散システムを構築した。また、CMV3a タンパク質を植物から供給させるために CMV3a 遺伝子組換えタバコを作出した。	達成
５－４「高効率物質生産に寄与する多重遺伝子発現と転写翻訳系改変に関する研究開発」	・発光レポーター系の特徴づけ。高性能・高発現介在配列の探索と性能評価、宿主因子および発現促進因子の探索と性能評価。実証研究用試験の準備。	・新規発光レポーター系の特性解明と活用、新規高性能介在配列の創製、発現促進因子の同定と評価方法の開発および実証試験用遺伝子カセットの構築について成果があった。	達成

(2) 目標及び計画の変更の有無　：無し

＜共通指標＞

特許（出願済み）	論文数（査読有）	論文の被引用度数	総説・著書等	学会発表（国内）	学会発表（国際）	プレス発表	受賞
２７	１９	９	１２	１１８	２６	５４	１

評価概要

１．事業の目的・政策的位置付けの妥当性

本研究開発は、遺伝子組換え植物を用いた医薬品等の高付加価値物質生産に必要な基盤技術を開発するもので、国民の健康増進の推進ならびに新産業創出につながるものであり、国民・社会のニーズに合致し、事業の目的は非常に重要で、政策的位置付けも極めて明確である。我が国が先行している植物工場の技術を生かした閉鎖型施設での生産を目指した点は、技術的な新規性・先進性があり、海外に対する優位性が期待でき経済戦略的にも意義がある。

また、個別の民間企業・大学のみではその実施は困難であり、国の事業として実施する緊急性が極めて高い。

なお、微生物や動物細胞の系で既に商業化が可能な物質ではなく、植物でなくてはできない利点を有し、かつ、これまでに手がけられていない物質をできるかぎり追求すべきである。その意味で、例えば、抗原を発現させ、抽出精製を行わずそのまま収穫物を経口投与する手法などは、大変好ましいアプローチといえる。

２．研究開発等の目標の妥当性

個別要素技術ごとに具体的かつ明確に年度目標及び目標水準が設定されている。

なお、目標設定の際、現在の目標に加えてチャレンジ度が高い目標や欧米との比較に対する優位性の程度を示す目標を併せて掲げることにより、一層の事業進捗の促進が期待できるのではないか。

３．成果、目標の達成度の妥当性

各課題において、いずれも計画通りまたはそれ以上の成果が得られており妥当である。

なお、今後、欧米との競争を見据えた視点も取り入れて行うべきである。

４．事業化、波及効果についての妥当性

ほとんどのテーマについて戦略的かつ具体的な事業化のシナリオが示されており、大きな波及効果、市場規模が期待できる。事業化を担う企業と研究協力、情報交換を行うなど、研究開発当初から事業化を明確に指向した取組がなされていることは高く評価できる。

なお、一部の課題について、事業化シナリオ、生産するターゲット物質の具体性に欠けるものも見られるため、それらについては最終年度に向けた取組を期待したい。

また、最終物質の安全性を十分に検討すること、国民に対し遺伝子組換え植物利用への国民理解を深めること、関係機関との調整等、本事業の成果をスムーズに普及できるような取組を、国として別途進めてほしい。

５．研究開発マネジメント・体制・資金・費用対効果等の妥当性

ほとんどの課題において、研究開発計画・実施体制・運営・資金配分・費用対効果は妥当である。事業化を担う企業と研究協力、情報交換を行うなど、研究開発当初から事業化を明確に指向した取組がなされている。

本研究開発は多くの研究機関が属する大プロジェクトであるが、プロジェクトリーダー、サブリーダーが、各課題の実施機関に頻繁に赴き議論･アドバイスを行ったり、課題をまたぐ議論･情報交換の機会を積極的に設けたりするなど、研究開発の活性化に努め、目標の達成度を全体として高くしている点は、高く評価できる。

なお、研究開発組織が大きく、また、今後一層各実施課題からの成果の体系化と事業化が重要になると考えられることから、総括リーダーとサブリーダーの機能のさらなる充実が望まれる。
また、関係学会や製薬会社との協力、情報交換等、最終年度に向けさらに成果をあげるための取組を期待する。

６．総合評価

遺伝子組換え植物を用いた医薬品等の高付加価値物質生産に必要な基盤技術の開発を目指した本プロジェクトは、国が関与する事業として政策的位置付けも明確であり、技術的･社会的意義も大きく、妥当である。

研究開発当初から事業化を明確に指向した取組がなされており、目標も的確に立てられ、概ね計画どおりの成果が得られていると評価でき、継続すべき事業である。研究開発のマネジメントも適切に行われていると評価できる。

なお、最終年度に向け、研究開発で得られる成果の普及をより意識し、従来の栽培手法にとらわれない研究開発の推進と、遺伝子組換え植物の導入に対するパブリックアクセプタンスの将来動向及び欧米の研究開発の進展に対する戦略的な対応策の検討を行うことが重要であろう。

７．今後の研究開発の方向等に関する提言

･最終年度に向け研究開発を進めるに当たっては、欧米の研究開発動向等も見つつ、日本として今後競争力が見込まれる分野の開拓を進めてもらいたい。また、知的財産権について注意を払い特許申請を速やかに行うことが重要である。

･閉鎖型人工環境という全く新しい栽培環境に適した植物の開発にあたっても、従来の育種の技術･知見･ノウハウ･遺伝資源などの技術資産を最大限に活用しつつ、遺伝子工学的手法により従来不可能であった改良を加えることにより、相乗効果を実現することが有用であるため、育種者との連携のさらなる強化が望まれる。

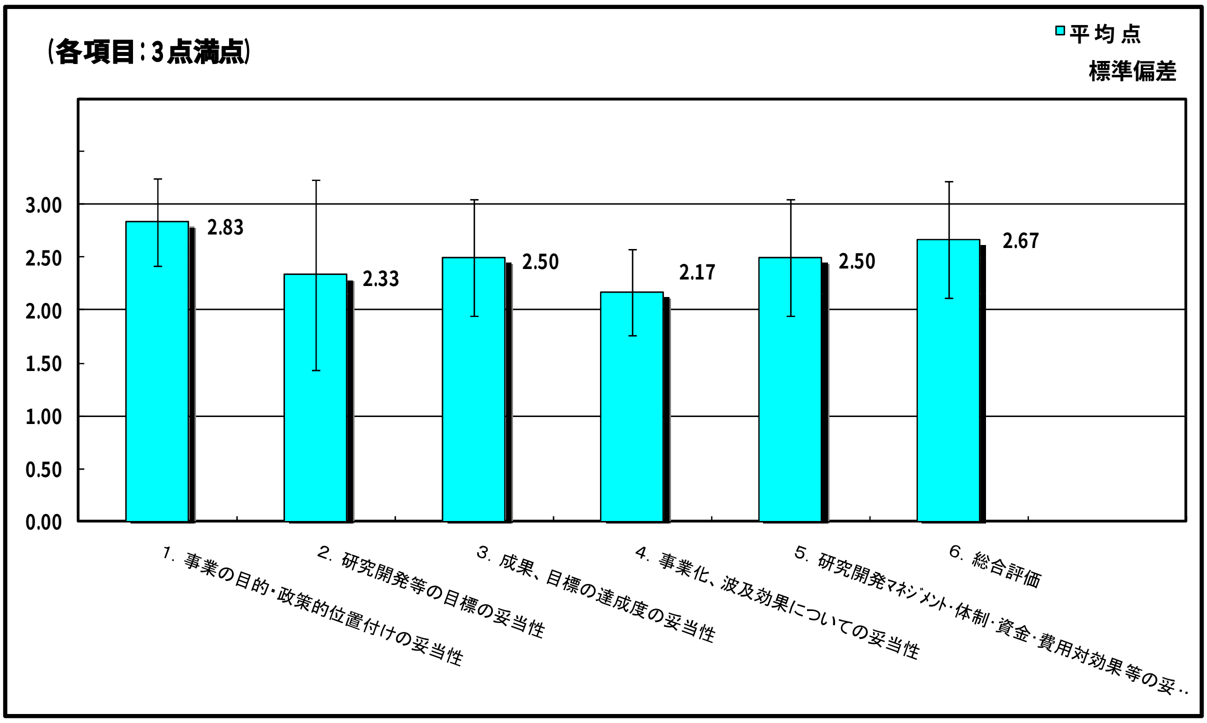
･閉鎖型植物栽培システムにおける物質生産･エネルギー収支、コストの把握に努め、効率性を評価するための課題を入れることで、事業全体の意義が向上すると思われる。

･研究開発成果の事業化を早期に実現するために、基盤的課題であっても、開発段階より商品仮説、事業仮説、シナリオ仮説を立て、下流の事業者や、顧客候補との対話を進めることが重要である。

･我が国では、未だ遺伝子組換え植物を利用することへの国民の十分な理解･受容が得られていないことから、民間だけでなく国が、国民の不安感を拭うような取組を行うと同時に、国際間での論議や協調を経た上で、実用化までに必要な社会制度等の整備を行うことが望まれる。

・従来の「食料としての農作物」の収量を増加させるための技術や考え方にとらわれず、「有用物質生産担体としての植物開発」のために最適な植物体、栽培法の開発を新規技術として確立することを徹底していただきたい。その際には、閉鎖型完全制御植物生産施設の優位性を生かした方法を積極果敢に導入することを検討してほしい。

評点結果



第１章　評価の実施方法

第１章　評価の実施方法

本プロジェクト評価は､｢経済産業省技術評価指針｣(平成 17 年 4 月 1 日改定、以下「評価指針」という。）に基づき、以下のとおり行われた。

１．評価目的

評価指針においては、評価の基本的考え方として、評価実施する目的として
(1)研究開発に対する経済的・社会的ニーズの反映
(2)より効率的・効果的な研究開発の実施
(3)国民への施策・事業等の開示
(4)資源の重点的・効率的配分への反映
(5)研究開発機関の自己改革の促進等
を定めるとともに、評価の実施にあたっては、
(1)透明性の確保
(2)中立性の確保
(3)継続性の確保
(4)実効性の確保
を基本理念としている。

プロジェクト評価とは、評価指針における評価類型の一つとして位置付けられ、プロジェクトそのものについて、同評価指針に基づき、事業の目的・政策的位置付けの妥当性、研究開発等の目標の妥当性、成果、目標の達成度の妥当性、事業化、波及効果についての妥当性、研究開発マネジメント・体制・資金・費用対効果等の妥当性の評価項目について、評価を実施するものである。

その評価結果は､本プロジェクトの実施､運営等の改善や技術開発の効果､効率性の改善､更には予算等の資源配分に反映させることになるものである｡

２．評価者

評価を実施するにあたり、評価指針に定められた「評価を行う場合には、被評価者に直接利害を有しない中立的な者である外部評価者の導入等により、中立性の確保に努めること」との規定に基づき、外部の有識者・専門家で構成する検討会を設置し、評価を行うこととした。

これに基づき、評価検討会を設置し、プロジェクトの目的や研究内容に即した専門家や経済・社会ニーズについて指摘できる有識者等から評価検討会委員名簿にある６名が選任された。

なお、本評価検討会の事務局については、指針に基づき経済産業省生物化学産業課が担当した。

３．評価対象

植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発（実施期間：平成１８年度から平成２２年度）を評価対象として、研究開発実施者（独立行政法人産業技術総合研究所、バイオテクノロジー開発技術研究組合）から提出されたプロジェクトの内容・成果等に関する資料及び説明に基づき評価した。

４．評価方法

第１回評価検討会においては、研究開発実施者からの資料提供、説明及び質疑応答、並びに委員による意見交換が行われた。

第２回評価検討会においては、それらを踏まえて「プロジェクト評価における標準的評価項目・評価基準」、今後の研究開発の方向等に関する提言等及び要素技術について評価を実施し、併せて４段階評点法による評価を行い、評価報告書(案)を審議、確定した。

また、評価の透明性の確保の観点から、知的財産保護、個人情報で支障が生じると認められる場合等を除き、評価検討会を公開として実施した。

５．プロジェクト評価における標準的な評価項目・評価基準

評価検討会においては、経済産業省産業技術環境局技術評価調査課において平成１９年６月１日に策定した「経済産業省技術評価指針に基づく標準的評価項目・評価基準について」の「プロジェクト評価」の「中間・事後評価」に沿った評価項目・評価基準とした。

１．事業の目的・政策的位置付けの妥当性

（１）国の事業として妥当であるか、国の関与が必要とされる事業か。

・国民や社会のニーズに合っているか。

・官民の役割分担は適切か。

（２）事業目的は妥当で、政策的位置付けは明確か。

・事業の政策的意義（上位の施策との関連付け等）

・事業の科学的・技術的意義（新規性・先進性・独創性・革新性・先導性等）

・社会的・経済的意義（実用性等）

２．研究開発等の目標の妥当性

（１）研究開発等の目標は適切かつ妥当か。

・目的達成のために具体的かつ明確な研究開発等の目標及び目標水準を設定しているか。特に、中間評価の場合、中間評価時点で、達成すべき水準（基準値）が設定されているか。

・目標達成度を測定・判断するための適切な指標が設定されているか。

３．成果、目標の達成度の妥当性

（１）成果は妥当か。

・得られた成果は何か。

・設定された目標以外に得られた成果はあるか。

・共通指標である、論文の発表、特許の出願、国際標準の形成、プロトタイプの作製等があったか。

（２）目標の達成度は妥当か。

・設定された目標の達成度（指標により測定し、中間及び事後評価時点の達成すべき水準（基準値）との比較）はどうか。

４．事業化、波及効果についての妥当性

（１）事業化については妥当か。

・事業化の見通し（事業化に向けてのシナリオ、事業化に関する問題点及び解決方策の明確化等）は立っているか。

（２）波及効果は妥当か。

・成果に基づいた波及効果を生じたか、期待できるか。

・当初想定していなかった波及効果を生じたか、期待できるか。

５．研究開発マネジメント・体制・資金・費用対効果等の妥当性

（１）研究開発計画は適切かつ妥当か。

・事業の目標を達成するために本計画は適切であったか（想定された課題への対応の妥当性）。
・採択スケジュール等は妥当であったか。
・選別過程は適切であったか。
・採択された実施者は妥当であったか。

（２）研究開発実施者の実施体制・運営は適切かつ妥当か。
・適切な研究開発チーム構成での実施体制になっているか、いたか。
・全体を統括するプロジェクトリーダー等が選任され、十分に活躍できる環境が整備されているか、いたか。
・目標達成及び効率的実施のために必要な、実施者間の連携／競争が十分に行われる体制となっているか、いたか。
・成果の利用主体に対して、成果を普及し関与を求める取組を積極的に実施しているか、いたか。

（３）資金配分は妥当か。
・資金の過不足はなかったか。
・資金の内部配分は妥当か。

（４）費用対効果等は妥当か。
・投入された資源量に見合った効果が生じたか、期待できるか。
・必要な効果がより少ない資源量で得られるものが他にないか。

（５）変化への対応は妥当か。
・社会経済情勢等周辺の状況変化に柔軟に対応しているか（新たな課題への対応の妥当性）。
・代替手段との比較を適切に行ったか。

６．総合評価

第２章　プロジェクトの概要

第２章　プロジェクトの概要

１.事業の目的・政策的位置付け

１-１　事業の目的

遺伝子組換えタンパク質を利用した医薬品の世界市場は年々拡大しており、現在これらは動物細胞や微生物を利用して生産されているものの、狂牛病病原体に代表されるような哺乳類病原体・毒素等の原材料・製造工程における混入の危険性、製造・保存コスト、無菌培養施設のためのスケールアップ困難等の観点から課題も多い。

一方、植物から生産された医薬品等原料は、一般的に植物が哺乳類病原体に感染するリスク、植物の病原体が哺乳類に感染するリスクは無いので安全であること、コールドチェーンが不要のため輸送・保存等の低コスト化に加え、低コスト生産が可能であること、閉鎖型施設は多段栽培を導入する等によりスケールアップが容易であることから、上述の課題を克服し、現在の微生物等を用いた生産系と比べて生産性等を向上でき、低コスト化による新規市場の開拓が期待されている。

海外では既に多くの企業がこの分野での事業化を目指し、遺伝子組換え植物による有用物質生産の開発に着手している状況にあり、欧米企業では、既に遺伝子組換え植物から抽出したタンパク質を利用した試薬が市販されている例がある。

また､今後の高齢化社会に伴い将来的に医薬品需要量が増加することが予想される中､安価で高品質な医薬品等の安定供給、我が国の国民の健康の維持・増進のために、本技術開発は必要不可欠である。

このため、本事業では、有用物質を高効率・高生産させる組換え植物の開発と閉鎖型人工環境における植物栽培技術の開発を一体的に進めることにより、植物による有用物質生産に必要な基盤技術を開発することを目的とした。

本研究開発によって、バイオテクノロジーのポテンシャルを活用しつつ、環境に配慮した次世代の高効率製造プロセス及び高付加価値物質生産のための基盤技術を構築することができ、遺伝子組換え植物の拡散・交雑を防止した閉鎖系での栽培による高効率な高付加価値物質生産技術、安心に配慮した遺伝子組換え体の活用によるバイオテクノロジーの普及と新産業展開が期待される。

１-２　国の関与の必要性

我が国の植物遺伝子組換え分野に於ける研究水準は、世界のトップレベルにあると言える。しかし、世界で遺伝子組換え作物（GM 作物）の栽培面積が１億４千万ヘクタールを超えた現在においても我が国に於ける遺伝子組換え作物の商業栽培が行われた実績はなく、事業化の事例がない。さらに、組換え体を開放系で栽培する際の環境中の植物との交雑等、生物多様性への影響防止への社会的関心も高まっており、一部消費者の懸念や風評被害を恐れて、企業の開発リスクをさらに高くしており、そのようなパブリックアクセプタンス問題に対しても企業が単独で取り組むのは困難である。

NEDO 調査（H17）「植物機能を活用した次世代製造プロセス基盤技術に関する調査事業」によると､「我が国の閉鎖型完全制御型植物生産施設は世界に類のない優れた制御

技術であり、この技術を遺伝子組換え植物による医療用原材料等に融合させることで、本研究領域で我が国が世界をリードする可能性が高まることも、本調査で示唆された。」と報告されている。そこで、本事業のような遺伝子組換え植物を利用して医薬品原材料や機能性物質など、消費者の健康や質の高い生活に直接的な貢献が期待される高機能・高付加価値な有用物質を発現させ、外界から隔離した完全人工環境下において当該遺伝子組換え植物の栽培・有用物質の生産システムを構築する技術開発は、生産者・事業者のみならず、消費者にも直接的なメリットを感じさせるものであり、植物の遺伝子組換え技術の有用性を示すとともに、新産業展開の一端になりうるものである。しかし、本事業の開発及び事業化には、植物生理学、分子生物学、生物環境工学、医学・獣医学、薬学等の学術分野横断的な技術融合が必要であり、事業化においても農業生産、食品、製薬、建設・建築等の業の融合が必要であり、未開拓な生産システムの開発・利用はリスクも高い研究であるため、一民間企業単独で実施しうるものではない。これらの理由から、国が主導でプロジェクトを推進し、産官学が一体となって基盤整備を行い、事業化例を作っていくことが必要不可欠である。

１-３　政策的位置付け

植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発は、工業プロセスや環境関連分野へのバイオテクノロジーの利用を促進することにより、生物機能を活用した高度ものづくり社会の構築を図りつつ、廃棄物、汚染物質等の生分解・処理技術の高度化を通して、環境に調和した循環型産業システムの創造を図る経済産業省の「生物機能活用型循環産業システム創造プログラム」（現「環境安心イノベーションプログラム」）の中に位置づけられている。本事業は、上記プログラムの中の、環境調和産業創造バイオの一環として行われているものである。また、本事業の各技術要素開発は、経済産業省の技術戦略マップの技術マップ（図 1-1)、ロードマップ（図 1-2）に明確に記載されているものである。

加えて、総合科学学術会議が設定した第３期科学技術基本計画の中で、植物を用いた物質生産技術開発は、戦略重点科学技術「生物機能活用による物質生産・環境改善科学技術」の中に位置づけられている。この様に本事業は、上記の様々な政策と明確に関連づけられているものである。

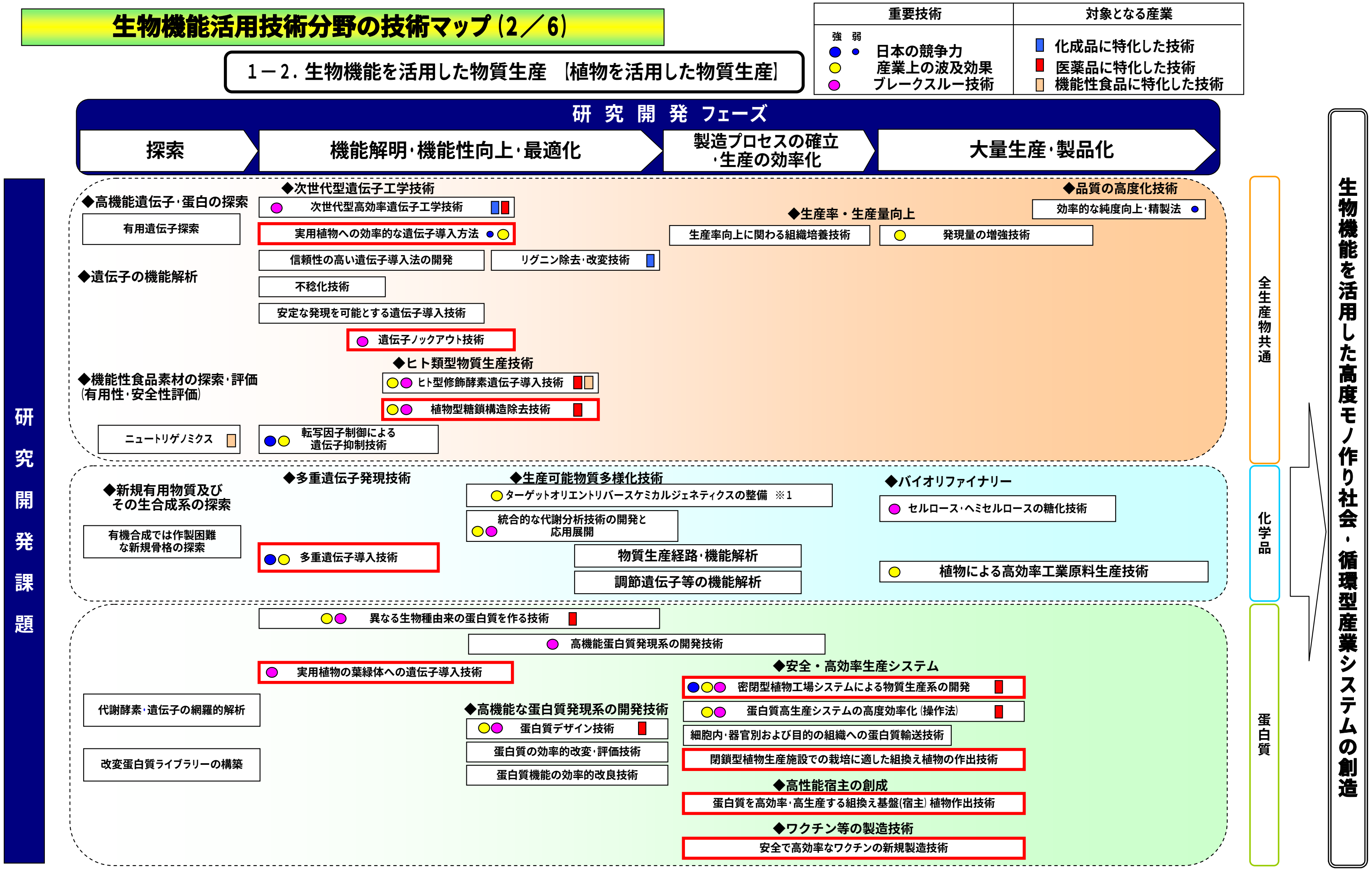


図 1-1　経済産業省の技術マップ（本事業の該当部分）

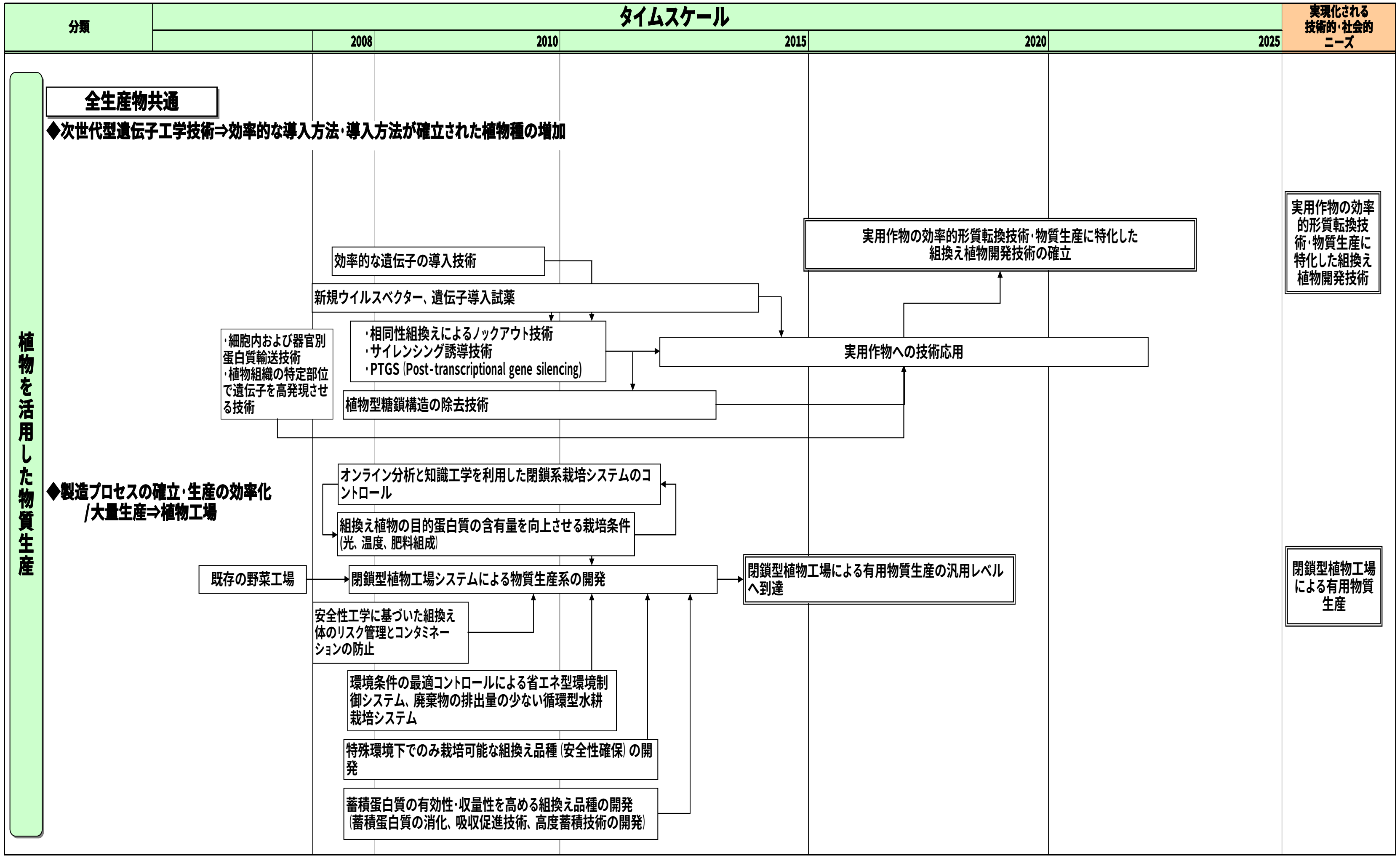


図 1-2　経済産業省のロードマップ（本事業の該当部分）

２．事業全体の研究開発目標および課題構成

２－１　事業全体の目標設定

本事業の実施に当たっては、経済産業省において基本計画を定め、プロジェクトを着実に推進するため、以下のとおり「研究開発全体」と本プロジェクトの柱である「３つの研究開発項目」について、「最終目標」と「中間目標（平成２０年度末時点)」を設定している。

本プロジェクトは、多数の課題で構成されているが、この本プロジェクトの「研究開発全体」及び「３つの研究開発項目」の目標に基に、各課題の各年度の研究開発目標（別添資料１）を設定し、到達すべき点を明確にして研究開発を推進している。

（注）以下の目標は、最終目標又は現在研究開発を実施中の平成２０年度末時点の中間目標であって、終了した直近の平成１９年度末時点の目標は、別添資料１に記載されていることに留意されたい。

（事業全体の中間目標）

実用植物に有用物質を生産する遺伝子を導入して組換え植物を作出し、生成された有用物質の性能を評価する手法を確立する。また、組換え植物により安定した品質で高効率に有用物質を生産するのに必要な要素基盤技術開発の見通しを得る。加えて、植物型糖鎖修飾を抑制可能とする技術開発の見通しを得る。さらに、閉鎖型人工環境下において、有用物質を生産させる実用植物の高効率・高生産な栽培技術を確立し、組換え実用植物において目的有用物質を安定かつ均一に生産・蓄積させる栽培技術開発の見通しを得る。

（事業全体の最終目標）

実用植物の目的部位において、実用化可能なレベルまで有用物質を効率的に高生産・高蓄積させる組換え植物を開発するとともに、組換え植物において生産・蓄積された有用物質の性能を評価する。また、組換え植物により有用物質を安定した品質で高効率に生産できる基盤技術を確立する。加えて、植物特異的糖鎖修飾を生体に安全なレベルに抑制する技術も開発する。さらに、閉鎖型人工環境下において、組換え実用植物を高効率・高生産に収穫できる栽培技術および目的有用物質を安定かつ均一に生産・蓄積させる栽培技術を確立し、作出した組換え実用植物による有用物質生産の実用性を閉鎖型植物生産施設において確認する。

これらの研究開発を通じて、組換え植物による有用物質生産に対して実用化の目処をつける。

上記目標を達成するために、以下の３つの研究開発項目を実施する。

研究開発項目①：有用物質を高効率・高生産する組換え植物作出技術の開発

研究開発項目②：有用物質生産のための基盤植物作出技術の開発

研究開発項目③：閉鎖型人工環境下での組換え植物栽培システムの構築

図 2-1 に、研究開発項目①、②、③と各課題との関係を示した。

２－２　研究開発項目の内容および目標設定

研究開発項目の内容および開発目標を下記に説明する。なお、目標の指標については、必要な技術が多様であることから、課題（後述、３章～６章）ごとに設定した。

研究開発項目①**「有用物質を高効率・高生産する組換え植物作出技術の開発」**

実用植物（有用物質の生産・実用化に適するものとして選定された植物種とする）に対して、有用物質を生産する目的遺伝子の機能を解析し、有用物質を生産する目的遺伝子の導入技術、培養および再分化技術、遺伝子発現技術等を開発することで、植物において有用物質を高効率に高生産・高蓄積させる技術を開発する。また、植物で生産・蓄積された有用物質が本来の性能を有しているか評価する。

（研究開発項目①の中間目標）

実用植物の目的部位において、有用物質を生産する組換え実用植物を作出し、有用物質の生産・蓄積量は、実用化の見通しを評価可能な量を目標とする。

また、生成された有用物質の性能を評価する手法を確立する。

（研究開発項目①の最終目標）

実用植物の目的部位において、実用化可能なレベルまで有用物質を高効率に高生産・高蓄積させる組換え植物を開発し、組換え植物において生産・蓄積された有用物質の性能を評価する。

研究開発項目②**「有用物質生産のための基盤植物作出技術の開発」**

植物による有用物質の生産は、安定性と均一性が要求されるため、厳密な生産管理が可能な閉鎖型植物生産施設での生産が適していると考えられる。このため、閉鎖型人工環境下での育成に向け、閉鎖型人工環境下での栽培に適した組換え植物の作出技術の開発と、安定した品質と効率的な生産のための有用物質生産組換え技術の開発が必要である。次に、植物で生産される有用物質の翻訳後修飾が哺乳類のそれと異なる場合は、生体に安全なレベルまで翻訳後修飾を抑制した植物作出技術の開発が必要である。以上の技術開発は、研究開発項目①の開発に汎用的に寄与できるため、共通基盤技術として以下の研究を行う。なお、以下に記す植物は基本的には研究開発項目①で取り組む実用植物とする。

（１）閉鎖型植物生産施設での栽培に適した組換え植物の作出

矮性化、栽培サイクルの短縮化（多サイクル化）等、閉鎖型植物生産施設での栽培に適した組換え植物の作出に関する技術開発を行う。

（２）高効率有用物質生産組換え植物作出技術

安定した品質で効率的な有用物質の生産を行う組換え植物作出のために、発現効率を安定・向上させる新規の遺伝子組換え・発現技術等を開発する。

（３）植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術

哺乳類には見られない植物特異的の糖鎖修飾を抑制する技術の開発を行う。

（研究開発項目②の中間目標）

安定した品質で高効率に有用物質を生産できる基盤植物作出のための要素技術開発の見通しを得る。具体的には、実用植物について、矮性および栽培サイクルを従来と比較してそれぞれ 10%以上短くする。その他、有用物質の効率的な生産に必要な基盤植物体の最適化に必要な技術開発の見通しを得る。

また、植物特異的糖鎖修飾を 50%以上抑制する技術を開発する。

（研究開発項目②の最終目標）

研究開発項目①で取り組む実用植物に対して汎用的に適用可能な、有用物質を安定した品質で高効率に生産できる基盤組換え植物作出技術を確立する。具体的には、複数の実用植物について、矮性および栽培サイクルを従来と比較してそれぞれ20%以上短くする。その他、有用物質の効率的な生産に必要な基盤植物の最適化に必要な技術を確立する。

また、生体に安全なレベルの植物型糖鎖修飾の抑制として、植物特異的糖鎖修飾を70%以上抑制する技術を開発する。

研究開発項目**③「閉鎖型人工環境下での組換え植物栽培システムの構築」**

植物において有用物質を安定かつ均一に高生産・高蓄積させるためには、閉鎖型植物生産施設での生産が必要である。従来の植物生産施設は、生育に高い光量を必要としない葉菜類を中心に作物としての収量・収穫サイクルを効率化する目的で開発・実用化されている。しかし、本研究開発においては、閉鎖型人工環境下での栽培による効率的な有用物質生産のメリットを活用し、実用植物について、適切な部位に安定かつ均一に有用物質を高生産・高蓄積させる栽培技術の開発を行う必要がある。そこで閉鎖型人工環境下で組換え実用植物における目的有用物質生産量を最大化し、かつ省力化・低コスト化を目指した栽培技術の開発として、以下の研究を行う。なお、以下に記す植物は基本的には研究開発項目①で取り組む植物とする。

（１）光環境の制御技術

植物種に合わせた光源の選択・改良、照射方法の改善、光質の最適化等により、植物の生長と目的物質の生産・蓄積を最大化する技術の開発を行う。

（２）空気環境の制御技術

人工光による発熱に対する冷房（効率の向上、凝縮水の再利用）の最適化、空気循環の最適化（植物群落内の温湿度や CO_2 濃度の均質化等）等により、植物の生長と目的物質の生産・蓄積を最大化する技術の開発を行う。

（３）灌水技術（水耕栽培の場合）

肥料成分を適切に配分した培養液を効率よく適正なタイミングで灌水させることにより、植物の生長と目的物質の生産・蓄積を最大化する技術の開発を行う。

（４）遺伝子拡散防止等技術

通常の閉鎖型植物生産施設で必要とされる閉鎖度に加え、遺伝子拡散防止等を考慮したバイオハザード防止技術の開発を行う。

（研究開発項目③の中間目標）

閉鎖型人工環境下において、研究開発項目①および②で検討する実用植物の高効率・高生産な栽培技術を確立し、組換え実用植物において目的有用物質を安定かつ均一に生産・蓄積させる栽培技術開発の見通しを得る。具体的には、従来の開放系栽培において実用植物（非組換え体）を栽培する場合と比較して、単位面積、単位期間当たりの収穫量を最低30%以上向上させる。また、閉鎖型植物生産施設において組換え植物体（有用物質遺伝子でなくて可）を栽培し、対象物質の生産・蓄積を確認することで、目的有用物質の生産・蓄積量向上の見通しを得る。

（研究開発項目③の最終目標）

閉鎖型人工環境下において、研究開発項目①および②で開発された組換え実用植物を高効

率・高生産に収穫できる栽培技術および目的有用物質を安定かつ均一に生産・蓄積させる栽培技術を確立し、組換え実用植物による有用物質生産の実用性を閉鎖型植物生産施設において確認する。具体的には、従来の開放系栽培において組換え実用植物を栽培する場合と比較して、単位面積、単位期間当たりの収穫量を最低 50%以上向上させるとともに、目的有用物質の生産・蓄積量をそれぞれ単位重量当たり 20%以上向上させる。

２－３　研究開発項目と課題構成

本事業は、遺伝子組換え植物での有用物質生産技術を開発するとともに、当該技術を利用した新産業展開、即ち、事業化の端緒を開くことに重点を置いていることから、「モデル植物種ではなく各実施者が事業化を狙うワクチンや機能性成分等の目的物質を発現・生産・製品化させるのに現状最適な植物種を選択すること」、「さらに上記で選択された植物種の完全人工閉鎖系の栽培システム（遺伝子封じ込めから水耕栽培技術まで一貫して含む）を開発すること」を第一とした。

その結果、１３の課題が選定され（表 2-1)、研究対象植物は穀類、豆類、イモ類、葉菜類、果菜類など多様な実用作物で構成されている。（各課題は図 2-1 に対応しており、各研究開発項目として該当する項目を表右端に記載した。）

次章以降、研究開発成果、目標の達成度、および現時点における事業化・波及効果の見通しについて報告するが、１３の課題については、事業化対象の有用物質の観点から便宜上以下の３つのサブテーマに分類する。

【ヒト・動物用の医薬品原材料（ワクチン成分、医薬品原材料など）の生産】

【機能性成分（機能性タンパク質、二次代謝物など）の生産】

【有用物質生産のための基盤植物作出技術】

また、全課題に共通する調査研究として下記を実施した。

【基盤技術開発に関する総合調査研究】

本評価用資料では、以上４つのテーマをそれぞれ３章から６章に対応させ、記載する。

なお、本技術評価の対象年度は、通常平成１８年度と平成１９年度の２年間であるが、本評価用資料には、平成１９年度末時点での達成度の他、平成２０年度８月末までの研究実績、及び平成２０年度末時点での中間目標に対する到達見込みについても記載した。

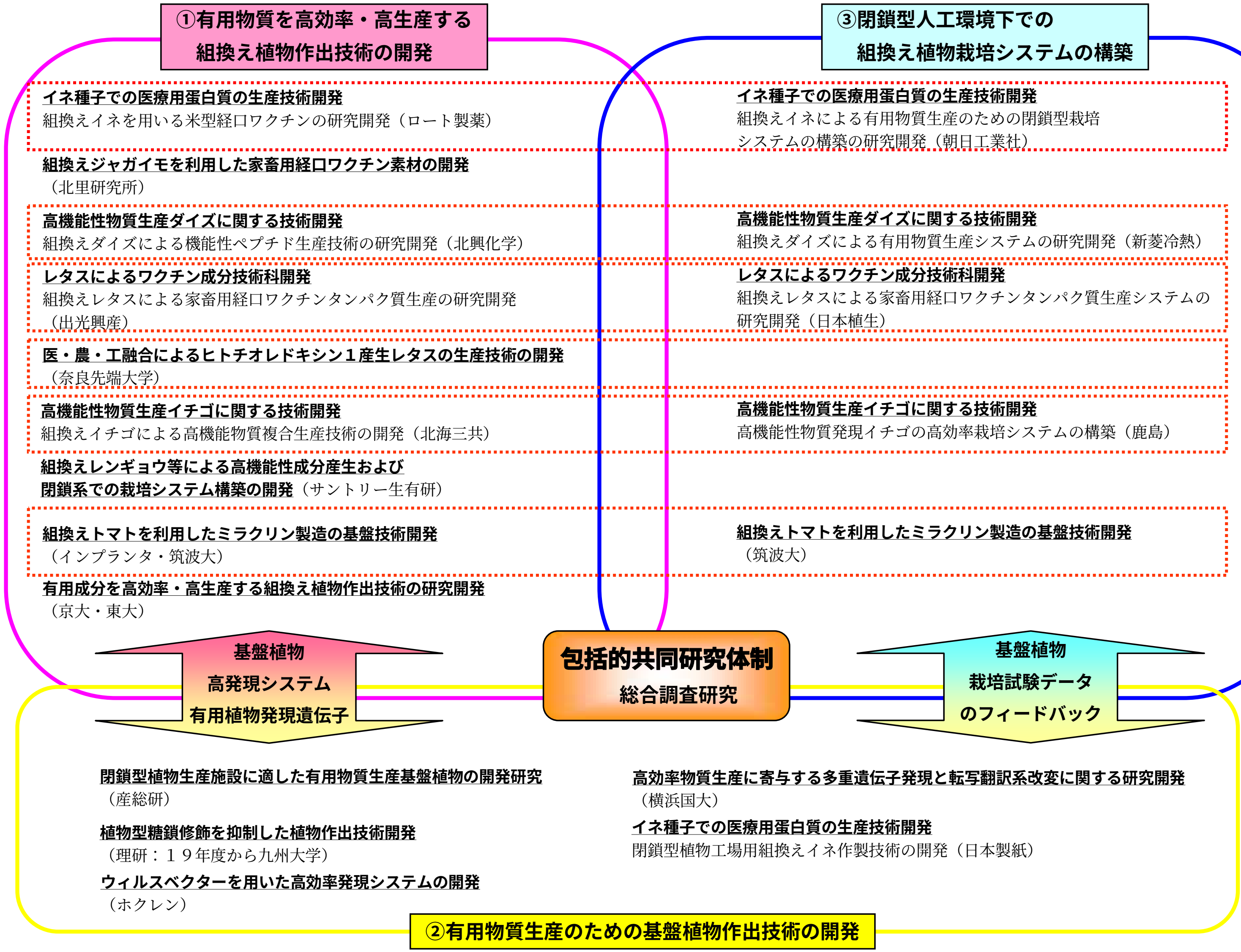


図 2-1　研究開発項目と研究課題の関係

表 2-1　開発課題と実施者一覧

【ヒト･動物用医薬品原材料生産植物の研究開発】

課題名と実施者	小課題名	研究開発項目		
イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発				
日本製紙 (株)	閉鎖型植物工場用組換えイネ作成技術の開発		②	
ロート製薬 (株)	組換えイネを用いる米型経口ワクチンの研究開発	①		
(株) 朝日工業社	組換えイネによる有用物質生産のための閉鎖型栽培システムの構築の研			③
組換えジャガイモを利用した家畜用経口ワクチン素材の開発				
(社) 北里研究所		①		
高機能性物質生産ダイズに関する技術開発				
北興化学工業 (株)	組換えダイズによる機能性ペプチド生産技術の研究開発	①		
新菱冷熱工業 (株)	組換えダイズによる有用物質生産システムの研究開発			③
レタスによるワクチン成分生産技術開発				
出光興産 (株)	組換えレタスによる家畜用経口ワクチンタンパク質生産の研究開発	①		
日本植生 (株)	組換えレタスによる家畜用経口ワクチンタンパク質生産システムの研究			③
医･農･工融合によるヒトチオレドキシン1産生レタスの生産技術の開発				
(国) 奈良先端科学技術大学院大学		①	②	③

【機能性成分生産植物の研究開発】

課題名と実施者	小課題名	研究開発項目		
高機能性物質生産イチゴに関する技術開発				
北海三共 (株)	組換えイチゴによる高機能性物質複合生産技術の開発	①		
鹿島建設 (株)	高機能性物質発現イチゴの高効率栽培システムの構築			③
組換えレンギョウ等による高機能性成分生産及び閉鎖系での栽培システム構築の開発				
(財) サントリー生物有機科学研究所		①		
組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発				
(国) 筑波大学　生命環境科学研究科	組換えトマトでのミラクリン生産をさらに改良･高度化するための基盤技術	①	②	③
(株) インプランタイノベーションズ	組換えトマトを利用したミラクリン製造の実用化を目指す研究開発	①		
有用成分を高効率･高生産する組換え植物作出技術の研究開発				
(国) 京都大学　生存圏研究所	プレニルトランスフェラーゼ遺伝子を利用した植物代謝工学技術の開発	①		
(国) 東京大学　生物生産工学研究センター	基質特異性や反応産物特異性、反応効率を改変した植物導入のための放線菌由来プレニルトランスフェラーゼ	①		

【有用物質生産のための基盤植物作出技術の研究開発】

課題名と実施者　　　　　　小課題名	研究開発項目		
閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物の開発研究			
(独) 産業技術総合研究所		②	
植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発			
(国) 九州大学　農学研究院		②	
ウイルスベクターを用いた高効率発現システムの開発			
ホクレン農業協同組合連合会　グリーンバイオ研究所		②	
高効率物質生産に寄与する多重遺伝子発現と転写翻訳系改変に関する研究開発			
(国) 横浜国立大学　環境情報研究院		②	

【総合調査研究】

課題名と実施者　　　　　　小課題名	研究開発項目		
植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発に関する総合調査研究			
バイオテクノロジー開発技術研究組合	ー	ー	ー

３．【ヒト・動物用医薬品原材料生産植物の研究開発】

３－１「イネ種子での医療用タンパク質の生産技術開発」

３－１－１　目的

本課題においては、閉鎖型植物工場でのイネ種子（以下、米）による医療用タンパク質の生産のため、植物への遺伝子導入技術（日本製紙株式会社・農業生物資源研究所)、環境制御・栽培技術（株式会社朝日工業社・千葉大学・岩崎電気株式会社)、品質管理・評価技術（ロート製薬株式会社・東京大学医科学研究所）の総合的な開発を行い、新規医薬品創製システムの確立を目指す。具体的には、米を物質生産ならびに蓄積の場とすることにより、常温で長期保存が可能なコレラ菌ワクチン及びインフルエンザウイルスワクチンを開発する。さらには、それらの米型ワクチンを植物工場で計画的に生産する技術を確立することで、医薬品としての品質、均一性・安定性を確保し、米粉末からワクチン抗原を抽出精製することなく、そのまま経口投与可能な製剤技術を確立する。

コレラ菌及びインフルエンザウイルスは､代表的な腸管及び上気道粘膜感染症であり、新興・再興感染症として日本及び世界規模での予防法の確立が急務とされている。しかしながら、粘膜感染症に効果的とされている経口投与は、消化酵素によるワクチン抗原の分解などの問題から一般化されておらず、また凍結乾燥製剤を用いた従来のワクチンは、常温保存が不可能であることから、利用できる地域にも限りがある。そのため、WHOは、多くの感染症が流行する発展途上国への輸送・応用が可能な”Needle- and cold-chain-free vaccine”の開発を提言・期待しているのが現状である。

本課題で着想した米は常温で長期保存が可能な貯蔵器官のため、ワクチン抗原などを蓄積させることで、医療用タンパク質の常温での長期保存および輸送が可能となる。さらに、消化酵素に耐性を示す細胞内タンパク質顆粒（以下、貯蔵器官）を有し、それにワクチン抗原を蓄積させることで、消化酵素耐性が付与され、腸管まで効率的に送達可能な経口ワクチン開発が可能となる。これらの特徴から、米型ワクチンは､”Needle- and cold-chain-free vaccine”と成り得る可能性を有しており、その応用開発が期待されている。

また、米型ワクチンを医薬品とするには、ワクチン抗原の含有量が一定でかつ効率的に計画生産できる完全制御型の植物工場での栽培が必要である。しかし、イネの生育には高照度の光と広い栽培スペースが必要であるため、人工環境下での大規模商業栽培の事例が無い。そのため、イネに適した植物工場の設備や栽培に関する技術開発が不可欠である。

これらの理由から､本課題では、コレラ毒素ワクチン抗原及びインフルエンザウイルスのワクチン抗原を蓄積させた米の作出及び機能評価に関する技術開発と、植物工場でのイネの育成に特化した環境制御技術及び栽培技術の確立を行う。これらの開発により、米型ワクチンを実用化するための総合的な技術開発を推進できる。

図１．米を宿主とした医療用タンパク質生産技術の特徴

３－１－２　目標および成果・達成度

表１．目標及び成果・達成度

中間目標・指標	**ワクチン抗原を均一に高発現させる技術** ・ 既存の貯蔵タンパク質プロモーターを用いて、コレラ対策用ワクチン抗原であるコレラ毒素Bサブユニット(CTB)を米1g 当り、1mg 蓄積するコレラワクチン米を作出する。 ・ CTB 遺伝子にプロラミンプロモーター･ターミネーター、シグナル配列、及び KDEL 配列を組み合わせて連結した 4 種類の遺伝子を導入したイネを作出する。 ・ 無毒化変異型コレラ毒素 mCT 及びインフルエンザ(HA)抗原遺伝子を挿入した導入ベクターを作成し、各コンストラクト当り 20 系統以上を作出する。
設定理由・根拠等	・ 組換えタンパク質の米での挙動を解析するため、3 種類の貯蔵タンパク質に対応したプロモーター・シグナルを用いた。 ・ ヒト臨床投与量の米約１g（CTB として 1mg）から設定した。 ・ 米の目的の細胞内貯蔵器官に蓄積させるため、上記配列が必要とされている。そのため、CTB に対する影響を調査した。
成果	・ グルテリン B1 プロモーター・ターミネーターを用いることにより、米 1g 当り 2.3mg の CTB が蓄積した組換えイネ系統が得られた。 ・ KDEL 配列の付加の有・無に関わらず、CTB の均一性に影響がないことを確認した。 ・ mCT及びインフルエンザ抗原遺伝子を挿入した5種類の導入ベクターで、各コンストラクト当り 42～190 系統の組換えイネを作出した。
達成度	19 年度目標 100%到達、中間目標 100%到達
最終目標・指標	・ CTB 及び HA 融合タンパク質を米胚乳のタンパク質貯蔵器官に米 1g 当り、1mg 蓄積させる。 ・ ワクチン米の安定性を評価し、常温保存性を実証する。
設定理由・根拠等	・ 免疫応答の誘導に必要な臨床投与の予測量より設定した。 ・ Cold-chain-free vaccineとしての有効性を実証するため設定した。
中間目標・指標	**効果的な免疫誘導技術** ・ 各種コンストラクトを用いて米に発現させた mCT 及び HA 融合タンパク質を用いて免疫誘導試験を行い、最終コンストラクトを確定する。
設定理由・根拠等	・ 最適コンストラクトにて作出されたワクチン米の感染防御・毒素中和効果誘導能を確認するために設定した。

成果	・ 19 年度末の成果として、CTB と HA1 遺伝子を連結し導入した組換えイネで、0.5mg/g の CTB‐HA1 融合タンパク質が蓄積した米が得られた。また、mCT 米と CTB 米で下痢抑制効果を実証した。 ・ 今年度中に CTB-HA1 米の次世代での蓄積を解析し、さらには免疫誘導効果を検証する
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：90%(年度内には 100%達成可能)
最終目標・指標	・ CTB 発現米及び HA 融合タンパク質発現米の経口ワクチンとしての有効性を確立する。尚、有効量については、モデル動物（マウス等）において、米として 100mg／回（5 粒）(ヒトでの有効量を米として 1g／回と想定)、投与回数として 3～6 回を目標とする。 ・ CTB 及び HA 融合タンパク質の医薬品としての本質（構造ならびに蓄積量）を評価できる方法により確定する。また、開発した試験方法を活用し医薬品としての品質を評価する。
設定理由・根拠等	・ 最終的に発現されたワクチン米のモデル動物での免疫誘導効果を実証するために設定した。mCT 米に関しては、中間評価の段階でその免疫応答、毒素中和効果は CTB 米で十分との成果を得たので、安全性の観点から最終目標を CTB 米で実証することにした。
中間目標・指標	**安定して発現する組換え植物を迅速に作成する技術** ・ プロトタイプ SDI1st vector を遺伝子導入した組換えイネより、有効な系統を選抜する。それらの組換えイネを用いて、効率的な遺伝子置換法、2nd vector 用の選抜因子などのイネ型 SDI 要素技術を確立する。
設定理由・根拠等	・ 遺伝子組換えにより改変された植物体に遺伝子を再導入する技術が確立されておらず、遺伝子置換法と選抜因子の検討を行った。 ・ イネでの再遺伝子導入を検証するモデルとして、宿主イネのプロトタイプを作出した。これにより、マウスに加えヒト・インフルエンザワクチン抗原を蓄積するワクチン米の開発速度を飛躍的に加速できると考えられる。
成果	・ 19 年度末時点の成果として、宿主イネのプロトタイプとして、７系統の組換えイネ系統を選抜した。また、遺伝子置換法の改良と選抜因子の利用により、遺伝子が置換された細胞が得られる頻度が、モデル植物であるタバコで 10%から約 5 倍に相当する 47%に上昇することが明らかとなった。 ・ イネ（プロトタイプ）において SDI システムの稼動を年度内に検証する予定。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：90%(年度内には 100%達成可能)

最終目標・指標	・ プロトタイプの宿主イネ（組換えイネ）を用いて、遺伝子置換技術を確立する。 ・ ワクチン抗原の生産に有効な宿主イネを作出し、遺伝子発現制御技術と合わせて、蓄積量が米 1g 当り、1㎎ のワクチン抗原で個体間差異が±20%の範囲で蓄積する宿主イネを作出する技術を確立する。
設定理由・根拠等	・ ワクチン抗原を増加させる可能性が高いと思われる形質（窒素吸収に関与する形質）を付与することにより、従来以上に、ワクチン抗原などを安定して高生産する能力を有した宿主イネの作出を目指す。 ・ 米の粉末等を直接使用するために、ワクチン抗原の蓄積量を±20%の範囲と設定した。
中間目標・指標	**ワクチン抗原を安定して、効率的に生産する技術** ・ 各貯蔵タンパク質の蓄積を解析するシステムを構築し、培養液の窒素濃度に応じた 3 種類の貯蔵タンパク質の挙動を解析する。
設定理由・根拠等	・ 貯蔵タンパク質群がワクチン抗原の蓄積に影響を及ぼす可能性が示唆されている。そこで、高蓄積を誘導する植物工場用の遺伝子発現調節システムの開発に目処をつけるため、各貯蔵タンパク質群（イネでは 3 種類）の挙動を調査した。
成果	・ 総タンパク質量が増加する培養液で、顕著に増加するタンパク質が確認された。これにより、閉鎖型植物工場での組換えタンパク質の遺伝子発現に適した発現調節システムに目処が得られた。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
最終目標・指標	・ 閉鎖型植物工場での栽培条件とリンクした組換えタンパク質の遺伝子発現システムの開発と蓄積量を増加させる形質に関する遺伝子を単離し効果を検証する。
設定理由・根拠等	・ 総タンパク質量が増加する培養液で、高蓄積するタンパク質のプロモーターを探索する。 ・ 閉鎖型植物工場でワクチン物質の生産効率を向上させるため、蓄積量を増加させる遺伝子を単離し、その効果を確認する。
中間目標・指標	**閉鎖型組換えイネ栽培システムの構築** ・ 閉鎖型人工環境下でイネを栽培するためのシステムを設計開発し、イネの生育に特化した環境制御技術を構築する。 ・ 従来の開放系栽培（水田栽培）と比較して、単位面積、単位期間あたりの非組換え植物体の収穫量を 50%以上増加させる。 ・ CTB 米を栽培し、目的抗原の蓄積を実証する。
設定理由・根拠等	・ 人工光環境下でイネを安定的に高収量で周年生産をする環境制御技術は例がなく、システム構築とあわせて開発する。

	・ 人工光の最大光強度は開放系の半分以下であるため、1作の収量は 50～100%と予想するが、光、温度および CO_2 環境の最適化による光合成促進、培養液組成・濃度の最適化により、開放系に比べて 50%までの増加が見込める。 ・ 閉鎖型人工環境を用いる組換えイネの生産目的での大量栽培は事例がないので、実証することとした。
成果	・ 閉鎖型栽培システムのプロトタイプを構築し、成長、収量及び貯蔵タンパク質量を増加する環境制御法を確立した。 ・ 19 年度末時点で、イネの光合成作用曲線に特化したランプを試作した。 ・ 栽培環境条件の最適化により 1 作収量は最大で 65%増加した。 ・ CTB 米の栽培は今年度後半に実施予定。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：80%(年度内には 100%達成可能)
最終目標・指標	・ 中間目標段階において確立した栽培方法を適用した場合に比べて、CTB の生産・蓄積量を 20%以上増加させる。 ・ CTB 米の栽培試験を行い、品質評価を実施する。 ・ 確立した栽培方法を実用規模で実現するための設備構築及び省エネルギー手法を開発する。
設定理由・根拠等	・ 培養液組成及び株あたりの有効分げつ数の制御等により 20%以上の増加を見込める。 ・ 事業化を考えた場合、品質評価及び実用規模の設計は、生産性、品質、コストの観点から技術開発項目として必要である。

３－１－３－１　個別要素技術成果

（１）　ワクチン抗原を均一に高発現させる技術の開発

グルテリンプロモーター、グロブリンプロモーター、プロラミンプロモーターの 3 種のプロモーターを連結した CTB 遺伝子を導入した組換えイネを作出し、ワクチン抗原を米の胚乳部分で蓄積させるための最適プロモーターを選別した。その結果、グルテリンプロモーターの制御により、中間目標値を上回る 1.5～2.3mg/g が蓄積した CTB 米の作出に成功した。次に、グルテリンプロモーターを用い、無毒化変異型コレラ毒素(mCT)及びその A 鎖(mCTA)を各々0.35mg/ g と 0.1mg/g を蓄積するコレラワクチン米の作出に成功した。またインフルエンザワクチンについては、同ウイルス(H1N1、PR8 株)抗原のヘマグルチニン（HA)及びその部分抗原(HA1)を蓄積させた組換えイネを作出し

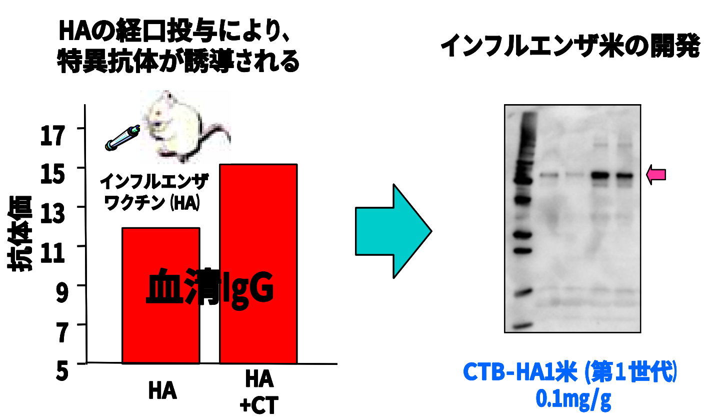


図２．インフルエンザ経口ワクチン開発

た。さらには、その改変型として粘膜上皮層に標的投与が可能な連結型ワクチン抗原CTB-HA1、後述する粘膜誘導組織特異的モノクローナル抗体を改変した一本鎖抗体(scFv)及びそれにHA1を連結させたscFv-HA1を発現するインフルエンザワクチン米の作出を試みた。1コンストラクト当り42～190系統の組換えイネの作出に成功し、また抗原量を評価した結果、CTB-HA1米で0.1mg/g、scFv米で0.5mg/gであることが確認された。現在、他の系統の発現蓄積を解析中である。

（２） インフルエンザワクチン米の有効性評価と、ワクチン効果の向上を目的とした粘膜誘導組織特異的分子（scFv）蓄積米の機能性評価

従来注射型のインフルエンザワクチンとして用いられているHAを経口ワクチンとして応用するにあたり、HAの経口投与時における免疫誘導効果を精査した結果、注射で免疫した場合と同様に高いレベルの免疫応答が誘導可能であることが確認された。但し、マウスでの免疫誘導に当たっては注射投与量の約250倍以上のHA抗原が必要であり、精製タンパク質を用いた経口ワクチン開発は現実的ではないことが示唆された。そこで、本課題では、HA1米に加え、CTBの持つ高い粘膜上皮層への送達効果を利用したCTB-HA1連結型ワクチン抗原をイネ種子内に蓄積させることで、消化管内での安定性に優れた経口ワクチンとして実現可能なインフルエンザ米の開発を試みた。現在、作出に成功したCTB-HA1米を用い[（１）参照]、その効果を、マウスモデルを用いて解析中である。一方、東大医科研では最小限の至適ワクチン抗原量で効果的な免疫応答を誘導しうる粘膜ワクチン開発を目的とし、最近デリバリー分子として応用可能な粘膜免疫誘導組織特異的モノクローナル抗体（NKM 16-2-4）の樹立に世界に先駆けて成功した。実際、NKM 16-2-4にワクチン抗原を結合させ粘膜免疫誘導組織に標的投与することで、免疫誘導に必要な抗原量を1/10以下にまで低減可能であった。また本抗体をコードする遺伝子配列を決定することにも成功し、その軽鎖・重鎖の可変領域を結合したscFvを米1g当たり0.5mg蓄積する米の作出にも成功し[（１）参照]、現在、scFv-HA1米の開発に向けた研究を精力的に進めている。

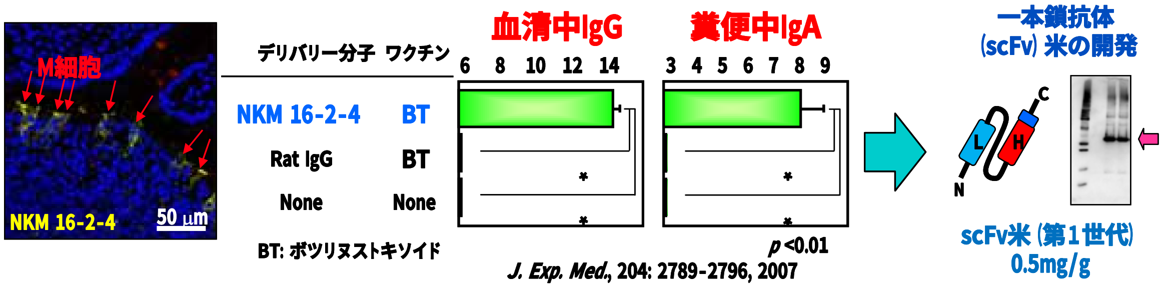


図３．粘膜免疫誘導組織標的型ワクチン開発

（３）コレラワクチン米の粘膜免疫誘導能と感染防御効果の評価

（１）で作出したCTB米及びmCT米をマウスに経口投与することで誘導される全身組織と粘膜組織での免疫応答を評価した結果、CTB米及びmCT米ともに、CTB特異的糞便中IgA及び血清中IgGを効果的に誘導できることを確認した。またCTB米はmCT米と比較して同等以上の下痢抑制効果を示した。加えて、CTB米の経口投与により誘導された免

疫効果は、旅行者下痢症の起因菌である病原性大腸菌の産生する易熱性毒素（LT）の B 鎖とも交叉反応することが確認され、LT 誘導性下痢を効果的に抑制することが実証された。以上の結果から、コレラや大腸菌感染に対する予防ワクチンとして、必ずしも mCT 米を用いる必要はなく、むしろ安全性や米胚乳での発現容易性の観点からも CTB 米の方が適していることが判明した。

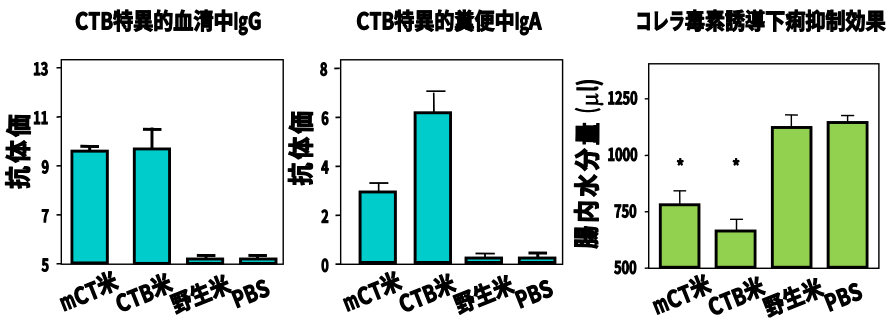


図４．mCT 米、CTB 米の経口投与によるコレラ毒素特異的免疫誘導

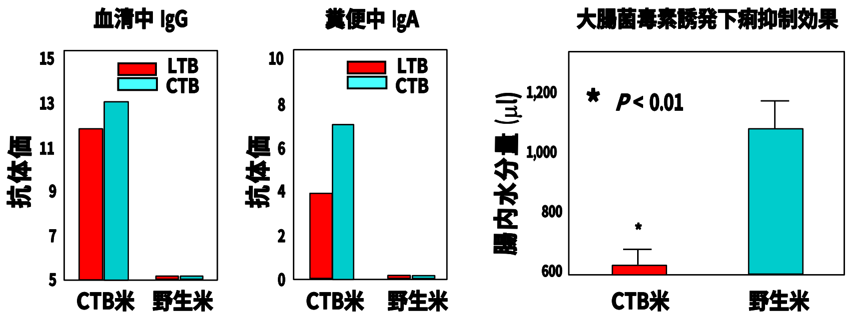


図５．CTB 米の経口投与により誘導される大腸菌毒素に対する交叉

（４）ワクチン米の解析、ワクチン抗原の定量法、安定性試験及び生産品質評価

（１）で作出したワクチン米のワクチン抗原蓄積部位を、CTB 米を例に免疫電顕法にて精査した結果、CTB が米のタンパク質貯蔵器官（プロテインボディー）の I 型及び II 型に蓄積していることを確認した。またプロテインボディーI に蓄積する貯蔵タンパク質として知られるプロラミンに加え、米中の CTB も酸性条件下での高濃度のペプシン処理に耐性があることを確認した。またワクチン抗原に対するモノクローナル抗体やポリクローナル抗体を作製することで、

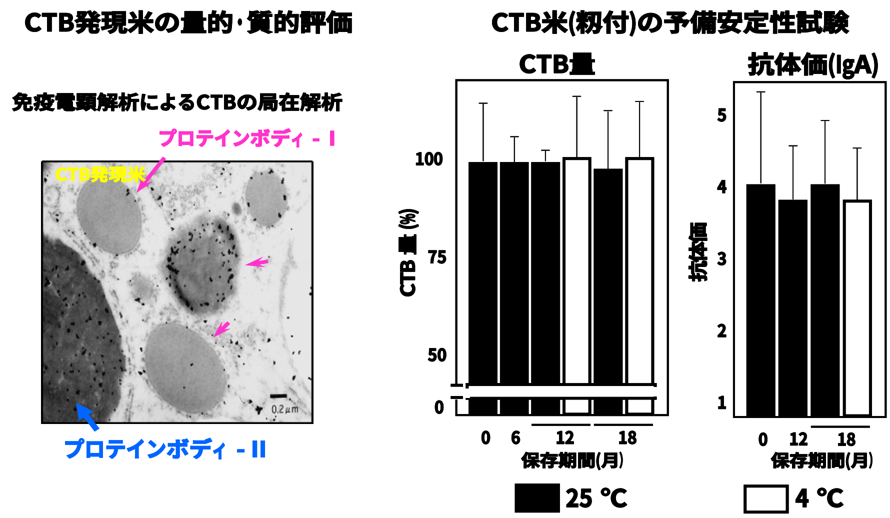


図６．ワクチン米の安定性評価

米に蓄積させた CTB、mCTA 及び HA1 抗原の蓄積量の定量法を確立した。さらには、CTB 米を籾の状態で常温及び冷暗所での予備的長期保存試験を実施した結果、CTB 蓄積量のみならず、CTB 特異的免疫誘導能においても、常温で 18 ヶ月以上安定であることが判明した。

（５） 安定して発現する組換え植物を迅速に作成する技術の開発

SDI システムは部位特異的な組換えによって、遺伝子を置換導入する技術である。イネに先立ち、既にシステムの稼動が確認されているモデル植物（タバコ）で検討を行った。その結果、選抜因子としてシトシンデアミナーゼ（*cod*A）遺伝子を用いた検討で、遺伝子置換効率が 10%から 19%まで上昇した。また、置換因子を最小化（400bp→31bp）することで、置換効率を 16%から 47%に上昇できることを確認した。さらに、イネ型の基盤植物のプロトタイプとして、170 系統の組換えイネから 7 系統を選抜した。これを用い、イネにおいて SDI システムの稼動を現在検証している（年度末までに完了の見込み）。また、本プロトタイプは、染色体上の位置を特定できるため、システムの稼動が確認されれば、ワクチン米の開発を加速できる。

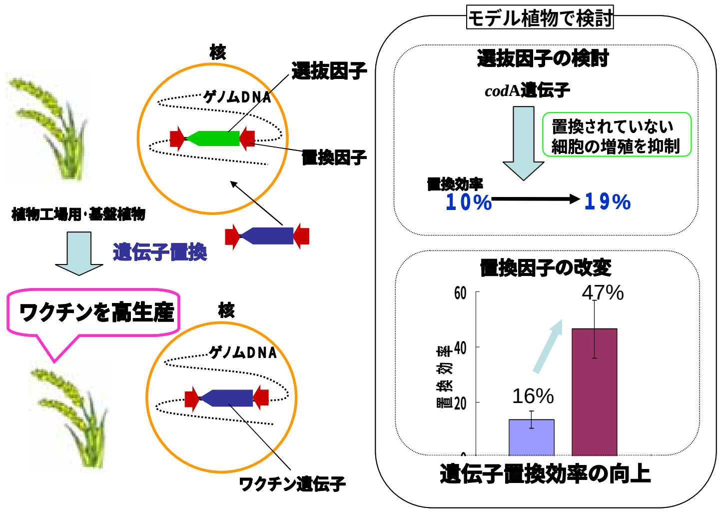


図７．遺伝子置換効率の検討

さらに、閉鎖型植物工場に適した形質として窒素吸収に着目して、宿主イネ（基盤植物）の実用型を開発する。これにより、ワクチン米の開発速度の加速と共に、導入ワクチン抗原などをより高蓄積に誘導することが可能になると考えられる。

（６）ワクチン抗原を安定して、効率的に生産する技術

閉鎖型植物工場での栽培条件に適した遺伝子発現システムの構築と、ワクチン抗原の米での蓄積量を増加させる因子の検討を行う。植物工場用の遺伝子発現システムを構築するため、米の総タンパク質量が増加した際の既存貯蔵タンパク質の挙動を解析した(図 8)。その結果、数種のタンパク質が、総タンパク質の増加率を越えて、顕著な増加を示すことが確認された。

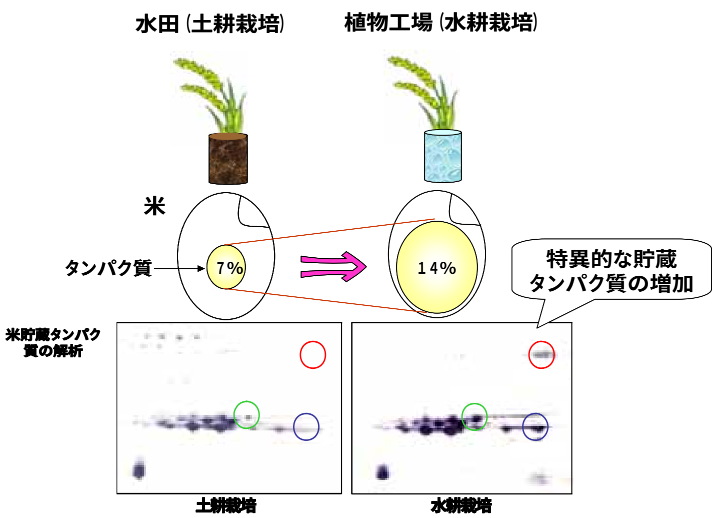


図８．貯蔵タンパク質の解析

さらに、一部の貯蔵タンパク質を抑制した場合にも、数種のタンパク質のみが顕著に増加することが確認された。これにより、植物工場で組換えタンパク質を安定的に米に生産させるプロモーターの開発に目処が得られた。また水耕の培養液条件（窒素量など）で米の総タンパク質量が異なることから、窒素吸収力が組換えタンパク質量に影響を与えることが示唆された。今後、イネの窒素吸収力を高めることより、米でのワクチン抗原の蓄積量を増加させる技術を検討する。これにより、閉鎖型植物工場でのワクチン米の効果的な生産に結びつけることを目指す。

（７）閉鎖型イネ栽培システムの構築

ワクチン米を閉鎖型栽培環境で効率よく作出するために、イネ群落の試験栽培が可能な中規模システムの設計、検討を行った。光環境、気温や気流などの空気環境が均一かつ安定した条件となる最適な設計を行うため、コンピューターシミュレーションによる予測を実施した。その結果、栽培室とランプ室を分離空調することで、イネの群落栽培が可能な強光で均一な光環境を確保しながら栽培エリアの温熱環境を一定に制御できるシステムを開発した。また、イネの成長に合わせた群落内気流の制御法を開発した。人工光源については、イネの光合成作用曲線に近似した光量子束分布を持ち照明電力あたりの光合成速度を高めた高効率の光源を開発した（図 9、10)。イネ幼苗の簡易栽培試験では、試作開発したセラミックメタルハライドランプの使用により、汎用型に比べて分げつ数と地下部（根）の重さが増加した。この成果をふまえて、プロトタイプ（栽培室：3.7m×3.9m×2.0m^{H}（内、栽培エリア 6.5m^{2})、育苗室：1.4m×3.0m×2.7m^{H})（図 11）を構築した。今後、本システムを用い、組換えイネや他の品種のイネを栽培し、収量・成長性などの検討を行う。

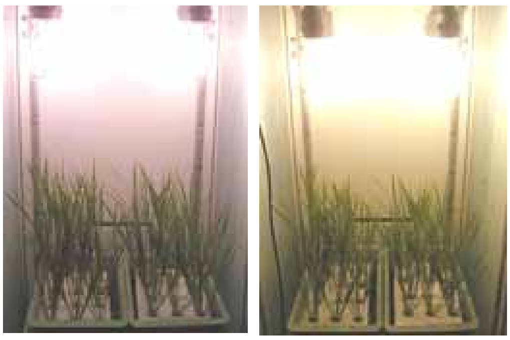


図９．試作ランプ（左）と汎用光源（右）

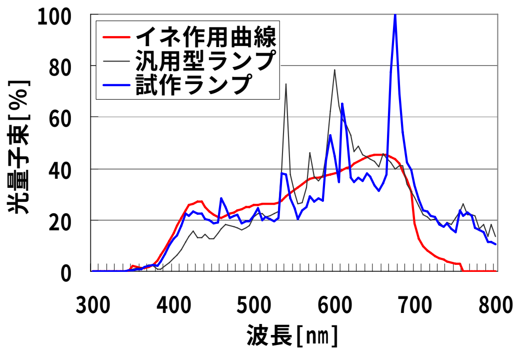


図１０．光量子束分布

図１１．閉鎖型イネ栽培システムプロトタイプでのイネ栽培風景

（８）イネ栽培システムの環境制御技術の開発

イネは生育に伴い草丈が 1m まで伸び、群落内の葉面積及び葉・穂の空間分布が変化するため、生育ステージ（育苗期～分げつ期～出穂期～登熟期）ごとの群落内の環境要素の最適制御が重要である。そこで前述のプロトタイプを使用して、群落内の光強度、温湿度、CO_2 濃度、風向風速、葉面温度等を測定し、生育ステージ毎の群落内環境の成立条件を把握した。

栽培エリアは空気吹出し壁面から吸込み面方向に約 3m 長の栽培ベッドがあるが、この距離内では気温と水蒸気飽差の変動は小さく、光合成及び蒸散に差は生じなかった。栽培室全体に閉鎖式同化箱法を適用して群落光合成速度（CO_2 の吸収速度）及び培養液量の変化から蒸散速度（養水分の吸収速度）を推定する方法を確立した。コンピューターシミュレーションによるイネ群落内の風速予測は実測結果と一致した（図 12）。本シミュレーションは、次年度から実施する実用規模施設にスケールアップさせるための設備構築技術の開発の有効な手段となる。イネ栽培室内の浮遊粒子は定植前で約 6000 個/ft^3（at 0.5μm≦）、HEPA フィルタの下流側では全く検出されなかった（図 13）。これに対して開花時期の浮遊イネ花粉は、栽培室で 7 個/ft^3 以下（平均粒径 45μm）であり、HEPA フィルタの大粒径粒子の捕集効率がほぼ 100%であることを考慮すると、本システムから系外への花粉の排出は防止できることが実証された。この結果は将来的なワクチン米などの医薬品原材料の生産に向けて環境への安全性を確保できることを示唆している。

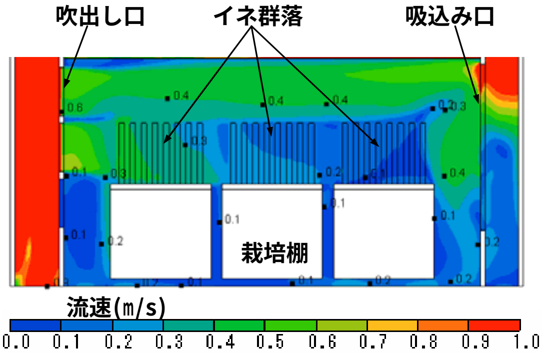


図１２．イネ群落内の風速予測

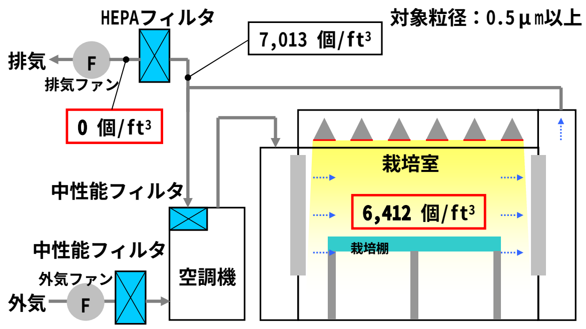


図１３．栽培システムの浮遊粒子濃度分布

（９）有用物質を効率よく生産する栽培条件の探索と評価

前述の栽培システムで開発した環境制御技術を用いて、様々な栽培環境条件下でのイネの栽培試験を行った。育苗室で播種から 28 日間育成後、栽培室で収穫まで約 95 日間栽培した。栽培は湛液水耕法とした。

空調のエネルギーコストを考慮すると、人工光で屋外の晴天日の光環境（最大光強度が約 2,200μmol m^{-2} s^{-1} PPF）を作るのは現実的ではないため（図 14 左）、水田栽培の栽培期間（約 120 日）の平均積算光量を目標値として光強度と明期の組み合わせを検討した。与える光強度において光合成速度・蒸散速度を高める気温と相対湿度の組み合わせと、群落の受光効率を高くして穂数を増やせる株密度（90～120 株/m^2）を決定した。この環境制御法により、投入光エネルギー当たりの玄米収量（光利用効率）は水田栽培よ

りも 34～58%も向上した（図 14 中央)。その結果、玄米収量は同一品種の水田栽培の平均値（536g/m^2）と比較して最大で 65%増加した。本システムを用いると年 3 作が可能であるため、水田栽培（1 作）に比べて約 5 倍の年生産量が得られる。

光強度が 1,000μmol m^{-2} s^{-1}で株密度 120 株/m^{2}の条件に培養液の肥料濃度制御を加えることにより、玄米の総タンパク質の含有率は水田栽培よりも 2%程度増加した（図 14 右)。栽培期間が水田栽培より約 25 日短い本栽培法の総タンパク質の単位期間、単位面積当たりの蓄積量（生産効率）は、水田の 2 倍以上になった。主要な貯蔵タンパク質の含有率及び生産効率は、総タンパク質と同様な傾向を示した。今年度後半は、CTB 米をこの栽培条件で栽培し、CTB の含有率及び生産効率を調査する予定である。

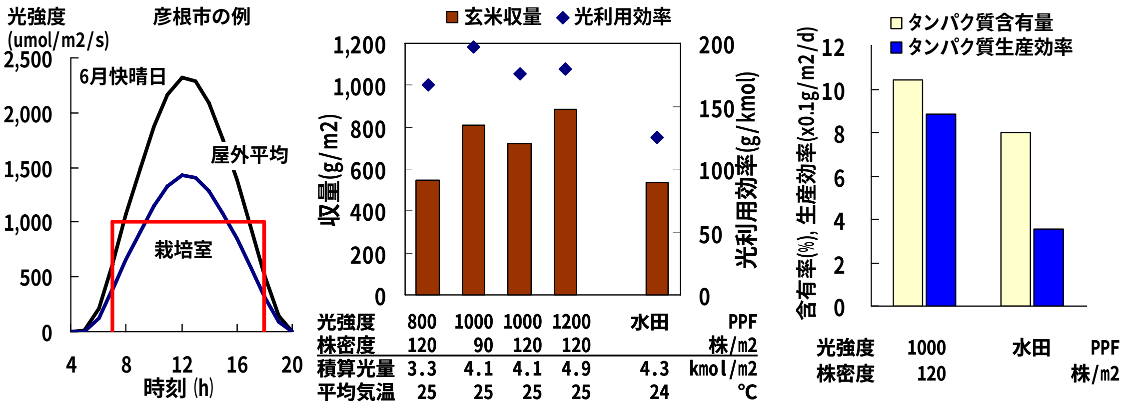


図１４．光環境の制御法（左)、収量（中央)、玄米のタンパク質含有率と生産効率（右)

３－１－３－２　達成度

表２．要素技術及び達成度

要素技術	（１）ワクチン含有米の開発
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
要素技術	（２）インフルエンザワクチン米の有効性評価と、ワクチン効果の向上を目的とした粘膜誘導組織特異的分子（scFv）蓄積米の機能性評価
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：90%到達(年度内には 100%達成可能)
要素技術	（３）コレラワクチン米の粘膜免疫誘導能と感染防御効果の評価
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
要素技術	（４）安定性試験及び生産品質評価
達成度	19 年度目標設定：なし、中間目標：100%到達
要素技術	（５）安定して発現する組換え植物を迅速に作成する技術の開発
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：90%(年度内には 100%達成可能)
要素技術	（６）ワクチン抗原を安定して、効率的に生産する技術
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
要素技術	（７）閉鎖型イネ栽培システムの構築
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
要素技術	（８）イネ栽培システムの環境制御技術の開発
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達

要素技術	（９）有用物質を効率よく生産する栽培条件の探索と評価
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：80%(年度内には 100%達成可能)

３－１－３－３　特許出願状況等

表３．特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被引用度数	特許等件数（出願を含む）	特許権の実施件数	ライセンス供与数	取得ライセンス料	国際標準への寄与
(1)～(4)	4	-	-	-	-	-	-
(5)～(6)	-	-	1	-	-	-	-
(7)～(9)	1	-	1	-	-	-	-
計	5	-	2	-	-	-	-

３－１－４　事業化、波及効果についての妥当性

３－１－４－１　事業化の見通し

（１）CTB 米の事業化計画

CTB 米の経口投与によるコレラ毒素ワクチンとしての有効性は、本課題を通じて実証することに成功したが、さらに、コレラ毒素と類似した細菌性毒素である大腸菌易熱性毒素により発症する旅行者下痢症への応用が判明した。WHO Weekly Epidemiological Record によると、病原性大腸菌による下痢症は旅行者下痢症の大半を占め、世界で毎年延べ約 2 億人が罹患し、38 万人（その大半が子供）が死亡している。コレラは、世界で毎年約 20 万人が罹患して、約 1 万人が死亡していることから、CTB 米の市場は、提案時と比較し、約 1000 倍の 2 億人に拡大したと考えられる。また、国内でも、海外への渡航者の約半数（750 万人）が大腸菌を主体とする細菌感染性下痢症に羅患しているとされている。本事業では、日本製紙・朝日工業社において、完全閉鎖工場での組換え米の栽培、精米を行い、ロート製薬にて精米を粉砕・原薬化し、乾燥工程、賦型剤を加えて製剤化、散剤、錠剤化したものを最終製品とする予定である。本課題期間の開発予定及び事業化計画を図 15 に示す。事業化にあたっては、製剤化後、安定性、安全性試験等の前臨床試験が必要となるが、最低 3-4 年が必要となる。その後、臨床試験として、フェーズ I、フェーズ II、フェーズ III に 4－5 年を必要とする。上市は本事業の終了後 8-10 年になると考えられる。

また、それぞれの臨床段階において、米の供給が必要となる。そのため、動物安全性以後は、GMP 制度への対応と組換え植物の栽培に関した第二種の産業利用制度を踏まえた閉鎖型植物工場の建設が必要となる。そのため、5 年後を目処に、中規模な閉鎖型植物工場の建設と 10 年後に大規模な閉鎖型植物工場の建設を行う。上記の国内の市場を対象とすると、本事業での目標全てを達成して、750 万人／年分では 12000m^2 以上の栽培施設が必要となる。

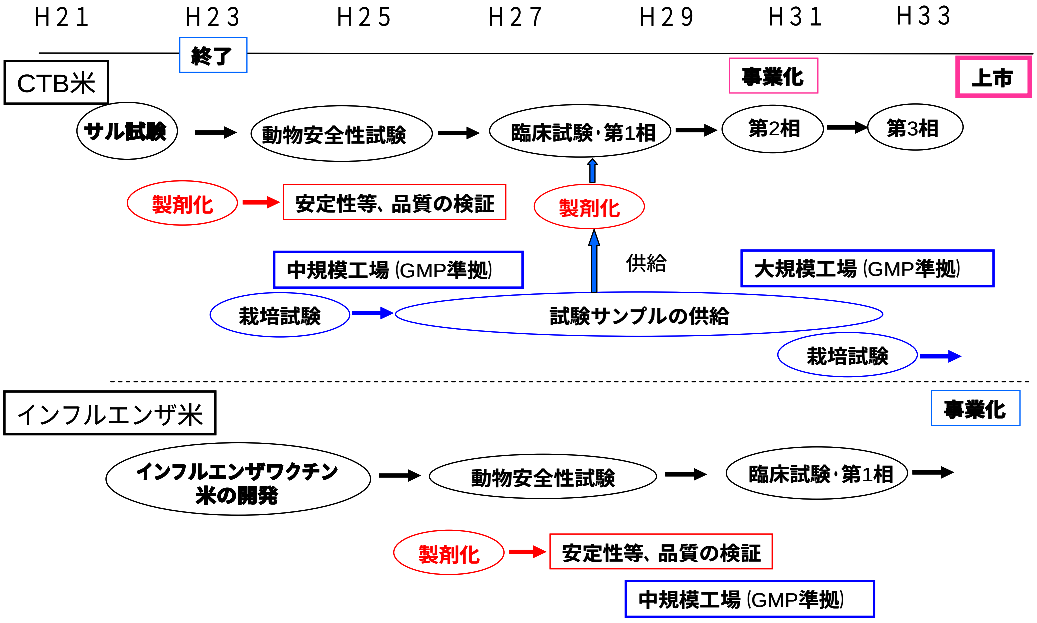


図１５．事業化計画

（２）インフルエンザワクチンを蓄積した米の事業化計画

インフルエンザワクチンについては、まずマウスで H1N1（PR8）インフルエンザウイルス感染モデルとしその有効性を証明することが先決であり、現在発現が確認できた CTB-HA1 米を中心に集約的な研究を推進中である。その後、CTB 米と同様のプロセスを経て、動物安全性試験及び臨床試験を実施し、実用化を進めていくことになる。インフルエンザウイルスは注射型のワクチンに加えて、最近アメリカで上市された経鼻型の弱毒化ワクチン（FluMist）があるが、安全性の観点から 2-59 歳に使用が限られている。しかしインフルエンザワクチンの真の対象は 2 歳以下の幼児及び 60 歳以上の中高年といえる。加えて、FluMist は現在冷所保存の製剤の開発が進んでいるが、現行品は凍結保存であり先進国しか使用できていないのも現状である。よって、本課題で作出する常温保存可能な米型インフルエンザワクチンは、桁違いの波及効果を世界に示すことになる。また、今後、マウスインフルエンザウイルスに加え、パンデミックインフルエンザワクチンとして H5N1 型のワクチンも考慮に入れて実用化を進めることにより、より市場の拡大も可能となる。

現在のインフルエンザワクチンは、約 2000 万本／年の需要があることが知られている。本事業における目標が全て達成されると、1000m^2 の栽培面積で、約 270 万本分（需要の約 15%に相当）のワクチンに相当する米が得られる。それらの栽培から最終加工までのコストは、1.35 億円であることから、当該技術で作成されたワクチン米は、50 円／1 本分として供給が可能となる（従来は約 600 円）。1000 m^2 の栽培面積の閉鎖型植物工場において、従来の製造方法と比較し、約 100 億円のコストダウンが可能となる。

３－１－４－２　波及効果

要素技術（１）ワクチン含有米の開発

事業化計画に記載。

要素技術（２）経口ワクチン抗原の粘膜免疫誘導組織へのデリバリー技術

本事業では、インフルエンザウイルスワクチンとしてヘマグルチニン（HA1）単独発現米に加え、粘膜免疫誘導組織を標的とした scFv-HA1 米及び粘膜上皮層を標的とした CTB-HA1 米の開発を進めている。scFv は、最近東大医科研が世界に先駆けて開発した粘膜誘導組織標的型ワクチンの担体として使えるデリバリー分子である。この分子の米での発現に成功したことは、効果的な粘膜ワクチン開発の画期的な技術になる可能性を秘めている。これにより、経口ワクチンの粘膜免疫誘導組織への標的効率が飛躍的に向上されることが期待され、他の経口ワクチン開発に向けた研究も加速すると予想される。

要素技術（３）大腸菌感染症を対象とした予防ワクチンとしての CTB 米の応用

上述（３－１－４－１、事業化の見通し）した通り、CTB 米の効果として、大腸菌感染症に対する予防ワクチン効果も見出した。本事業終了後、コレラに加え、旅行者下痢症用を対象とした前臨床試験及び臨床試験も合わせて進めることが重要な課題となる。

要素技術（４）Cold-chain-free vaccine としてのワクチン米の応用

本課題において、ワクチン米の常温下での長期保存性が実証された。これは WHO 等の世界の保険衛生機関が求めている cold-chain-free vaccine の可能性を世界で初めて示したもので、この結果を公表した論文は世界の新聞、雑誌に取りあげられた。

要素技術（５）安定して発現する組換え植物を迅速に作成する技術の開発

本課題で改良を実施している SDI vector システムに関して、数件の分与の依頼がある。本件に関しては、他の植物への応用と権利化の状況により、本事業の終了 2-3 年後を目処に、事業化を検討したい。経済効果としては、販売とロイヤリティー収入が予想される。

要素技術（6）ワクチン抗原を安定して、効率的に生産する技術

準備中の特許を出願後、閉鎖型植物工場での組換え植物（イネ）の栽培受託を検討する。すでに数件の問い合わせがあり、抽出・精製し試薬として販売を予定している某社と調整を行っている。本課題の事業化に先立ち、抽出を前提とした組換え植物を用いて閉鎖型植物工場での技術の一部を産業化できる。

要素技術（７）閉鎖型イネ栽培システムの構築と**要素技術（８）**イネ栽培システムの環境制御技術の開発

本課題では、組換えイネに特化した閉鎖型植物工場システムを開発しており、事業終了後にこのシステムの建設と販売を事業化する予定である。また、強光環境で栽培するイネ用の環境制御技術や省エネルギー手法は、他の植物種の閉鎖型システムについても実用化が期待できる。また、開発するセラミックメタルハライドランプは、閉鎖型植物栽培システム用はもとより、単独使用として花店、ビルや地下街などの屋内での観賞植物の植物育成用光源として大きな市場（約 10 億円）が予測される。

３－２「組換えジャガイモを利用した家畜用経口ワクチン素材の開発」

３－２－１　目的

現在、世界中で高病原性鳥インフルエンザ（highly pathogenic avian influenza:以下 HPAI）が流行しており、その感染は拡大の一途である。この疾病により全世界で約 3 億羽の家禽が死亡または処分されている（2008 年 6 月現在）。さらに、HPAI の感染は鳥のみに留まらず、人間に感染する事例も多発し始めている。

今後 HPAI のような致死率の高いインフルエンザが人から人へ容易に感染する能力を備え爆発的な流行（パンデミック）を起こした場合、多くの人命が失われることになる。したがって、このウイルスが人での感染拡大を始める前に鳥類に免疫を与えてこの感染症を未然に防圧することは、非常に重要である。

しかしながら、現在、HPAI の予防に使われている注射型ワクチンは、長期間にわたる予防を可能にするために何度も注射をする必要があり、その結果として鶏は注射による「痛み」のストレスで卵を産まなくなる。さらに、数十万羽規模の成鶏への注射は困難である、等の問題を抱えている。そこで、注射ワクチンに代わる免疫法として「飼料混合型経口投与ワクチン」が期待されている。そこで本課題では、経口投与が可能な組換え植物を追加免疫のワクチン素材として開発することを目指している（図１）。

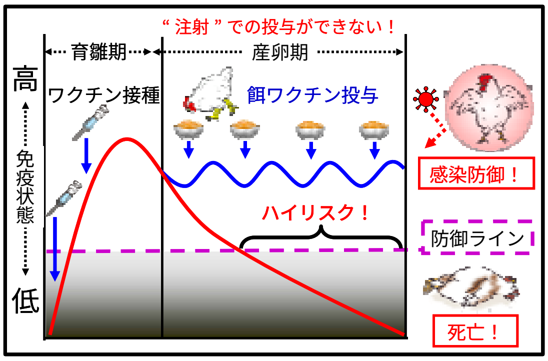


図１．経口ワクチンの使用法

本課題で使用する植物は、医薬品製造での管理が容易であり、経口摂取が可能な栄養生殖体であるジャガイモが好ましい。また、ジャガイモに導入するワクチン成分（以下抗原）は、インフルエンザウイルス粒子の表面タンパク質でヒトのワクチンにも利用されているヘマグルチニン（以下 HA)、ならびにウイルス粒子内のタンパク質で細胞性免疫と呼ばれる免疫システムを刺激するヌクレオプロテイン（以下 NP）を候補とする。NP 抗原については、現在までワクチンとして実用化された例は無いが、幅広いタイプのインフルエンザウイルスに対するワクチン効果を高いレベルで誘導できると期待されている。さらに、免疫応答を増強する物質（以下アジュバント）として CpG モチーフと呼ばれる塩基配列を採用し、これらを遺伝子上に組み込んだジャガイモを作出して、抗原とアジュバントを同時に融合発現する新しいタイプの組換え素材とする。この組換えジャガイモを乾燥粉末化し、飼料と混合することで、高等動物に備わる免疫機構を最大限利用する効果的な経口投与型ワクチンを提供する（図２）。

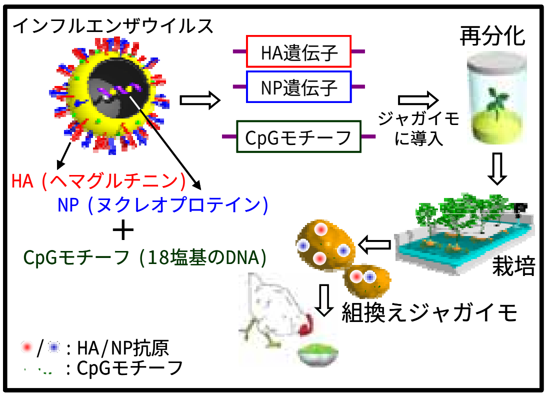


図２．ワクチン開発の概要

３－２－２　目標および成果・達成度

表１．目標および成果・達成度

中間目標・指標	植物発現に先立ち、候補抗原を大腸菌と酵母の発現系で作製し、それらを用いて抗原・抗体の測定法を確立する。
設定理由・根拠等	組換えジャガイモのワクチン効果を評価する際、投与量(抗原量)や免疫応答の強度(抗体量)を測定する必要がある。
成果	組換え HA、NP 抗原を大腸菌および酵母の発現系でそれぞれ作製した。これら組換え HA、NP 抗原を用いて、高感度かつ特異性に優れた定量的な抗原・抗体測定法を確立した。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
最終目標・指標	ワクチンの開発に必須な自家試験に対応可能な測定法を確立することに加えて、候補抗原の糖鎖修飾状態の解析など、副次的な検討項目を確認する。
設定理由・根拠等	候補抗原を高感度且つ特異的に測定する方法を構築し、免疫学的な根拠に基づく抗原解析を可能にする必要がある。
中間目標・指標	候補抗原の免疫誘導能と CpG モチーフのアジュバントの活性を、動物投与試験で確認する。
設定理由・根拠等	ジャガイモに導入する抗原および CpG モチーフに免疫誘導能およびアジュバント効果があることを確認し、さらに経口投与法による免疫再誘導を確認する必要がある。
成果	組換え HA、NP 抗原および CpG モチーフを、注射型ワクチン接種済み鶏に経口投与することで、免疫の再誘導効果が確認できた。また、液性免疫だけではなく細胞性免疫の誘導も確認できた。さらに、候補抗原および CpG モチーフで免疫したマウスは、亜型の異なるウイルスに対する防御を示した。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：90%到達（年度内には 100%達成可能）
最終目標・指標	候補抗原および CpG モチーフの経口投与による細胞性免疫応答を詳細に解析する。また、鶏での攻撃試験を実施する。
設定理由・根拠等	対象動物を使った直接的なワクチン効果を評価するために、鶏での攻撃試験を実施する。
中間目標・指標	候補抗原を 500ng/g 塊茎以上発現し、DNA 上に CpG モチーフを挿入した組換えジャガイモを得る。また、組換えジャガイモを植物工場内で大量生産する際の条件検討を行う。
設定理由・根拠等	鶏の他の疾病に対する追加型経口ワクチンに関する論文を参考に、10 日間の連続投与で有効性が期待できる抗原量が上記であるため。また、事業後半で速やかにジャガイモを大量生産に入れるよう、栽培条件検討を行う。
成果	目標値を上回る高発現組換えジャガイモの作出に成功した。また、水耕（NFT 方式）によるジャガイモの大量生産に成功

	した。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
最終目標・指標	確立した条件を基に、組換えジャガイモの大量生産を行う。
設定理由・根拠等	組換えジャガイモを用いて、追加免疫素材としての機能並びに植物工場内での至適栽培条件の確認を実施し、実用化のための生産性等を検証する必要がある。
中間目標・指標	組換え植物で発現された候補抗原のワクチン素材としての免疫学的有効性を確認する。
設定理由・根拠等	最終目標である組換えジャガイモでの評価を行う。
成果	組換えジャガイモで発現されたワクチン成分について、免疫学的手法によりその抗原性が確認できた。
達成度	20 年度より開始。中間目標：90%到達（年度内には 100%達成可能）
最終目標・指標	対象動物である鶏を用いて、組換えジャガイモの追加経口ワクチンとしての有効性を確認する。
設定理由・根拠等	組換えジャガイモをワクチン素材としての有効性を最終的に検証する。

３－２－３　成果、達成度

３－２－３－１　個別要素技術成果

（１）　組換え大腸菌等を用いた抗原の作製、ならびに抗原及び抗体検出系の確立（学校法人北里研究所）

ワクチン開発においては、候補抗原ならびに特異抗体を高感度に且つ特異的に定量する測定法を確立する必要がある。そこで、組換え HA 抗原は H5N2 亜型ウイルスを遺伝子供与体として酵母発現系で作製し、組換え NP 抗原は H9N2 亜型ウイルスを遺伝子供与体として大腸菌発現系で作製した。これらの組換え精製抗原を用いて、自家試験ならびに国家検定でも採用できる抗原抗体測定法を構築した。

これらの測定法を用いて、個別要素技術（２）、（３）を遂行した。

（２） 組換え大腸菌等発現抗原の免疫誘導能の確認及びアジュバントの活性評価（学校法人 北里研究所、国立大学法人北海道大学、学校法人いわき明星大学）

（１）で作製した組換え HA、NP 抗原を鶏に注射し、試験鶏血清を解析した結果、HPAI ウイルスのモデル細胞への感染を抑制する活性（中和活性）が誘導されていたことから、候補抗原のワクチン成分としての妥当性が確認できた（図３）。

さらに、本課題で重要な「鶏に対する経口投与での追加免疫」の有効性を検証した。その結果、注射ワクチンで免疫済の鶏に対して HA、NP、CpG モチーフを経口投与することにより、免疫の再誘導が可能であることを明らかにした（図４）。これら知見から、本課題の主軸である「経口免疫素材による高免疫状態の賦与」という方法論が充分に有効であることが明らかになった。

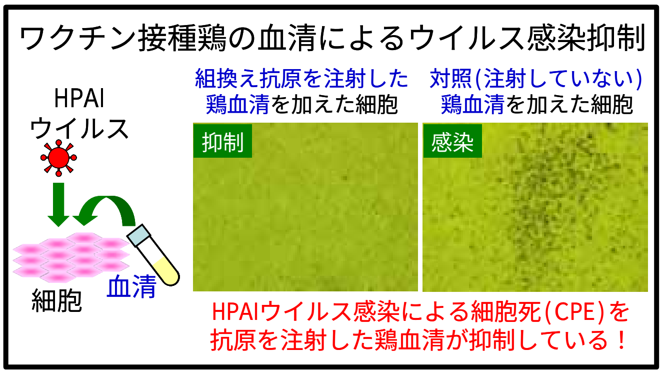


図３．ワクチン血清の抗ウイルス効果

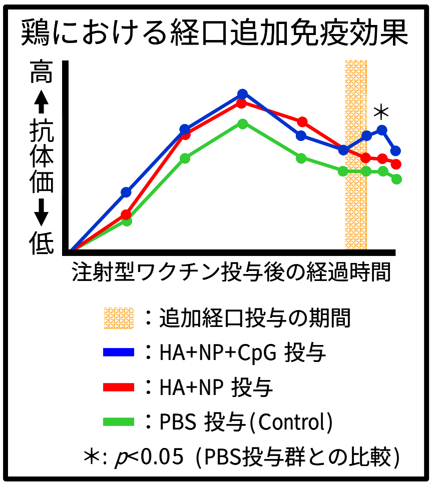


図４．経口ワクチンの追加免疫効果

さらに、本課題で使用するワクチン成分が、現在冬期に流行している人のインフルエンザに対して感染防御効果を示すか否か、実験マウスで観察した。免疫したマウスは、H1N1、H3N2 といった異なるタイプのインフルエンザウイルスに対して防御効果を示した（図５）。本結果により、H5N1 亜型に代表される HPAI ウイルスに限定されず、様々なタイプのインフルエンザに有効なワクチンを実現する可能性が見出された（「3-2-4-2 波及効果」参照）。

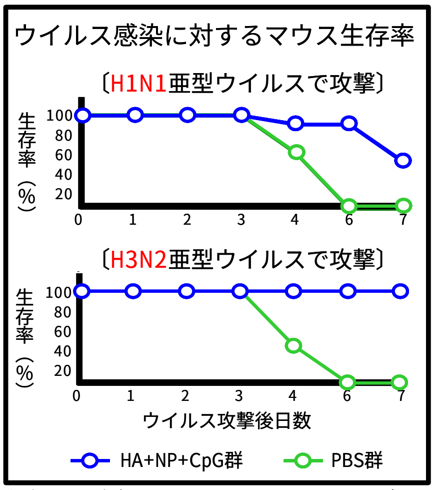


図５．異なるインフルエンザ
ウイルスに対する防御効果

（３） 抗原及びアジュバントを含む組換え植物の作出、並びに植物工場システムによる大量生産系の開発（学校法人北里研究所、独立行政法人産業技術総合研究所）

HA および NP 抗原を発現するジャガイモの作出に成功した。これら組換えジャガイモでの抗原発現量（葉）は、HA が 1-2μg/g 葉、NP が 5-6μg/g 葉（精製組換え抗原との比較）であり、当初の目標値を大きく上回る組換え個体が得られた。これに加えて、アジュバント候補である CpG モチーフを同時に組み込んだ組換えジャガイモについても、現在作出中である。一方、植物工場システムによるジャガイモの大量生産条件を検討した結果、14.5kg/m^2(塊茎)の収穫条件を確立した（図６）。この収量は畑作に比べて実に 4 倍以上である。今後、明・暗期条件等の改善を重ねた上、順次組換えジャガイモの栽培に取り掛かる。

（４） 組換え植物を利用した経口ワクチン原材料の鶏における免疫学的評価

本個別要素技術については平成 20 年度から開始した。作出した組換えジャガイモを用いて、抗原活性を持つ候補抗原の発現が確認でき（図７）、今後対象動物（鶏）を中心とした動物試験でその有用性を検証していく。

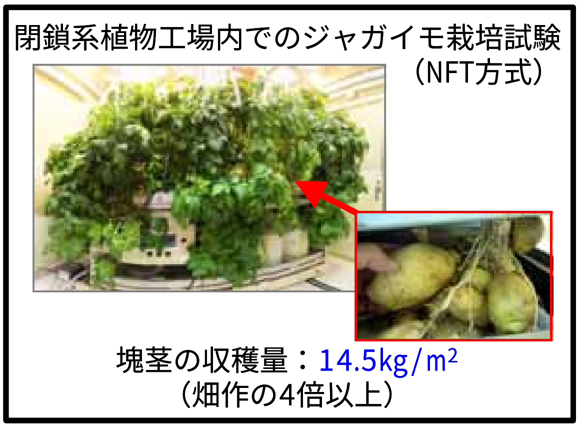


図６．植物工場でのジャガイモ栽培

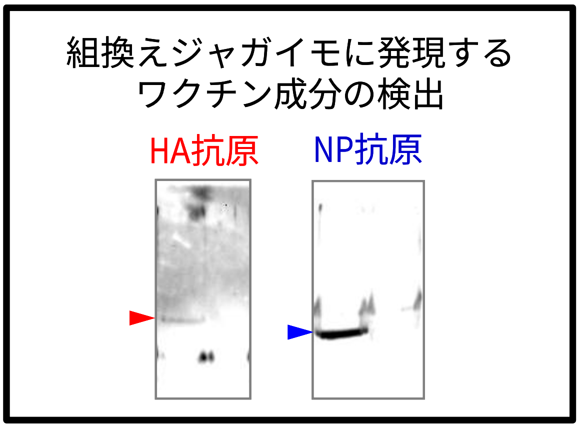


図７．組換えジャガイモでの抗原検出

３－２－３－２　達成度

要素技術	（１）　組換え大腸菌等を用いた抗原の作製並びに抗原及び抗体検出系の確立
達成度	19年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
要素技術	（２）　組換え大腸菌等発現抗原の免疫誘導能の確認及びアジュバントの活性評価
達成度	19年度目標：100%到達、中間目標：90%到達（年度内には100%達成可能）
要素技術	（３）　抗原及びアジュバントを含む組換え植物の作出、並びに植物工場システムによる大量生産系の開発
達成度	19年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
要素技術	（４）　組換え植物を利用した経口ワクチン原材料の鶏における免疫学的評価
達成度	20年度より開始。中間目標：90%到達（年度内には100%達成可能）

３－２－３－３　特許出願状況等

表２．特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被引用度数	特許等件数（出願を含む）	特許権の実施件数	ライセンス供与数	取得ライセンス料	国際標準への寄与
(1)-(4)	-	-	1	-	-	-	-
計	-	-	1	-	-	-	-

３－２－４　事業化、波及効果についての妥当性

３－２－４－１　事業化の見通し

本研究開発終了後4～5年で、ワクチンの製造供給に必須な確認試験（カルタヘナ法対応、製品設計、製造規模での試作、長期安定性試験、GLP試験（鶏への安全性）、GCP試験（野外での安全性と有効性））を実施し、動物用生物学的製剤として所轄官庁への申請

認可を経て事業化する。これと平行して、学校法人北里研究所と独立行政法人産業技術総合研究所との協力体制下で、生産施設整備の拡大等を進めていく。

３－２－４－２　波及効果

本提案原材料を利用したHPAI経口ワクチンは、「産卵期の鶏への投与が可能」で「高免疫状態を鶏に付与できる」といった特質を備えている。このことは、ワクチンによって養鶏産業を存続させつつHPAI流行を沈静化しうることを意味している。現在、世界規模でのHPAI発生で死亡または処分された鶏は実に約3億羽に達し、日本国内に限っても370万羽以上、隣国の韓国では本年だけで600万羽以上が処分されており、業界への経済被害は甚大である。これに加えて、本年2008年、国内で渡り鳥（白鳥）からのHPAI発生が確認され、世界的にみても欧州、アフリカへとその流行は拡大し続けている。本ウイルス感染によって、現在まで243人の死亡が確認され、中国ではヒトからヒトへの感染死亡事例も報告された。低コストで投与が簡便な本課題材料が実現できれば、国内は勿論、未だ本病発生の勢いが衰えていない経済力の弱い東南アジア諸国でも、HPAIの防圧に有効である。

さらに、我々が開発したワクチンは、亜型の異なるインフルエンザウイルスにも防御効果を示す事が確認できた。このことは、容易に変異を繰り返す本ウイルスの特性に対して幅広く対応できる素材である可能性を意味しており、将来的にはヒトでの新型インフルエンザだけではなく、季節性インフルエンザワクチン（図８）としても利用できる能力を有している。

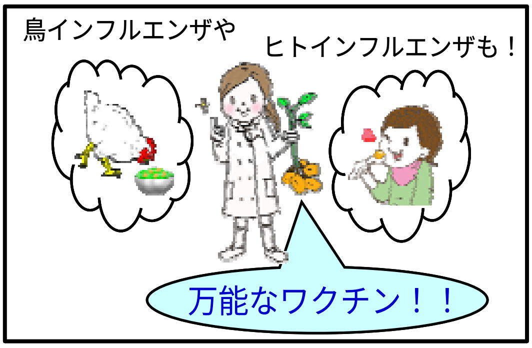


図８．将来的なワクチン像

３－３「高機能性物質生産ダイズに関する技術開発」

３－３－１　目的

ダイズは貯蔵タンパク質含量 40%と、イネやトウモロコシに比べても豊富で、有用タンパク質やペプチドの効率的な生産に適している。また、収穫までの期間が短く、草丈も比較的小型で、閉鎖型人工環境下での集約・効率的栽培にも適しており、種子を利用することで保管や輸送、加工・製剤化、さらにはヒトへの経口投与が容易となる。アルツハイマー病は、βアミロイドタンパクの蓄積による老人斑の形成、脳神経細胞破壊による損傷に起因する神経変性疾患であり、国内で約 200 万人、世界中で約 2,000 万人の患者がおり、今後高齢化社会を迎える状況において患者数が増加することは確実視され深刻な問題となっている。そのような背景の中、アルツハイマー病の予防・治療薬や進行を抑える薬剤が強く求められており、抗体医薬やワクチンの開発が進められているものの、大量製造方法や高価格、副作用等の点で問題を抱えている。

本技術開発では、これらの諸問題をふまえ、アルツハイマー病ワクチンとして効果の認められている機能性ペプチドを組込んだ遺伝子組換えダイズ種子による経口投与可能なアルツハイマー病ペプチドワクチンの閉鎖型人工環境下での大量生産技術を開発することを目的として、北興化学工業㈱（京都大学、弘前大学、(独)北海道農業研究センター）が機能性ペプチドを組込んだ遺伝子組換えダイズの作出を、新菱冷熱工業㈱が閉鎖型植物生産施設での組換えダイズの効率的な栽培技術の確立を分担して共同実施する。

３－３－２　目標および成果・達成度

表１．目標および成果・達成度

中間目標・指標	ダイズへの高効率高発現遺伝子導入技術を開発し、アルツハイマー病ワクチンペプチドを種子 100g 中に 10mg 以上蓄積する組換えダイズを作出する。また、疾患モデルマウスを用いた機能性評価法を確立する（注射投与）。
設定理由・根拠等	ワクチン注射投与試験例より 50μg/回 x4 回（計 200μg）を基準とし、評価法確立のために必要量を算出。
成果	ワクチンペプチドを組換え種子 100g 中に 10mg 以上蓄積する系統を作出した。疾患マウスへのワクチンペプチドを含む改変型タンパク質の注射投与によりペプチド抗原特異的抗体の産生が確認できた。19 年度末時点で機能性評価用のワクチンペプチド高蓄積ダイズを選抜し、疾患マウスでの機能性評価試験準備を完了した。
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：70%(年度内には 100%達成可能)
最終目標・指標	アルツハイマー病ワクチンペプチドを種子 100g 中に 100mg 以上高蓄積する組換えダイズを作出する。また、疾患モデルマウスを用いた組換えダイズ種子の経口投与による機能性評価を行なう。

設定理由・根拠等	経口投与量、期間を注射投与の 10 倍量とし 20mg/人（500μg/日×40 日）と設定。ワクチンペプチド 200μg/種子（約 200mg）で、種子 2～3 粒/人･日となり経口摂取可能量である。
中間目標・指標	閉鎖型人工環境下におけるダイズ（品種:Jack）の水耕栽培技術を確立し、非組換えダイズ及び組換えダイズにおいて、単位時間・単位面積あたりの種子の収穫量を、非組換えダイズを従来型のビニルハウスで土耕栽培した場合の収穫量(0.55 kg/m^2･年)に比べて 30%以上向上させて 0.75 kg/m^2･年とする。また、組換えダイズにおいて、マーカータンパク質が発現することを確認する。
設定理由・根拠等	人工環境下でダイズを栽培し多収穫を目指した例はない。まず人工環境下での栽培方法を確立する必要がある。 ビニルハウスで年 3 回作付けした場合の Jack の収穫量を試算した。栽培適期(5～8 月)のビニルハウスでの収穫量 0.25 kg/m^2(北興化学工業㈱実績)を元に、その前後期は日長や気温の影響から 1 期あたり 0.15 kg/ m^2 と試算し、これらの合計 0.55 kg/m^2･年を収穫量とした。それを 30%以上向上させた値＝適期収穫量 3 回分(0.75kg/m^2･年)を目標値とした。(参考:国内ダイズ収穫量 0.17kg/m^2(H18 年農林水産統計)、米国での Jack 収穫量 0.45kg/m^2(USDA))
成果	Jack(非組換え)を人工環境下で水耕栽培し、19 年度末には発芽能力を有し貯蔵タンパク質を約 33%含む種子 1.1 kg/m^2･年を収穫した。また同年末には、閉鎖型栽培施設を施工し稼動させた。現在、マーカー遺伝子を導入した組換えダイズを栽培中で、今年度中に収穫する予定である。
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：70%(年度内には 100%達成可能)
最終目標・指標	目的有用物質生産を行う組換えダイズにおいて、単位時間・単位面積あたりの種子の収穫量を、非組換えダイズを従来型のビニルハウスで土耕栽培した場合の収穫量(0.55kg/m^2･年)に比べて 50%以上向上させて 1.0kg/m^2･年とする。また、目的有用物質（機能性ペプチド）の発現量を、中間目標達成時と比較して 20%以上向上させる。
設定理由・根拠等	事業化を実現するためには、種子収穫量を増やし、種子中に目的有用物質を多く発現させる栽培法を確立し、物質生産性を高めることが必須である。中間目標達成時から技術開発を進めることにより 50%以上向上させた値(1.0kg/m^2･年)を目標値とした。

３－３－３　成果、達成度

３－３－３－１　個別要素技術成果

（１）高蓄積型貯蔵タンパク質の開発（北興化学工業株式会社、国立大学法人京都大学）

アルツハイマー病ワクチンとして利用するエピトープ配列は、原因物質βアミロイド（Aβ：42 アミノ酸）N 末側の B 細胞抗原決定基（7 アミノ酸）を用いた。このエピトープをタンデム化して組込んだ改変型貯蔵タンパク質をタンパク質輸送・蓄積を考慮した分子設計により作成するためにダイズ自身の 11S グロブリン、また蓄積機構や特性の違いが蓄積程度に影響することも想定してダイズ以外のカボチャ 11S グロブリン、イネプロラミン 10K、インゲンアルセリンをキャリアタンパク質として選定した。ダイズ 11S の A1aB1b サブユニットには 3 次元構造から推定した可変領域が 5 ヵ所存在し、タンデム化エピトープ配列を挿入した 8 種類の改変型貯蔵タンパク質を分子設計した。また、カボチャグロブリン、プロラミン、アルセリンについても可変領域を推定、選択して特性の異なる改変型貯蔵タンパク質 4 種類を分子設計した（図１）。

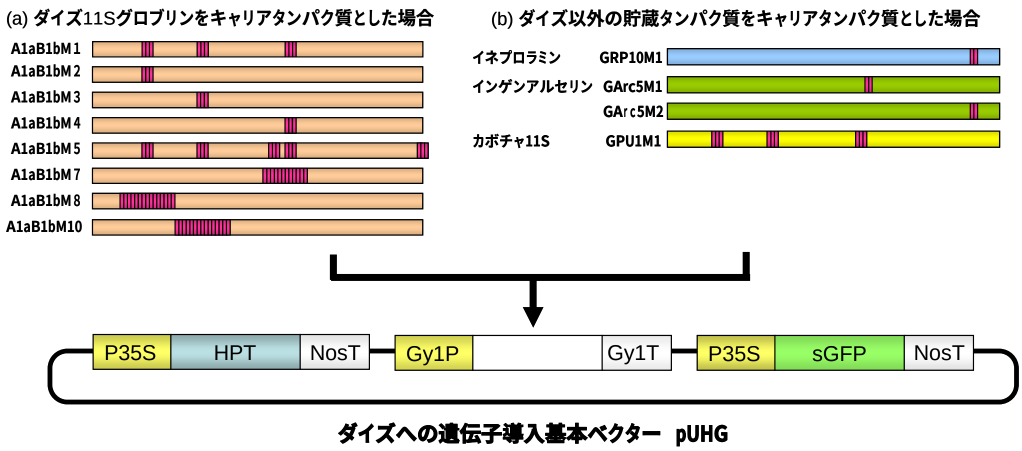


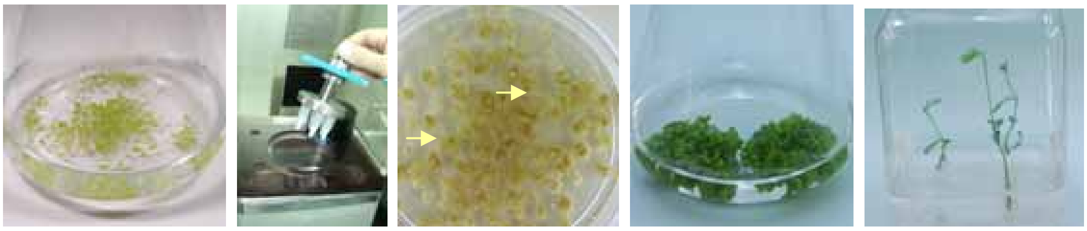
図１．改変型貯蔵タンパク質の分子設計

これらの改変型貯蔵タンパク質をダイズへ導入、発現させるためのコンストラクトにおいて、ダイズ由来 11S グロブリンプロモーター（Gy1P）と同ターミネーター（Gy1T）を用い、選抜マーカーとしてハイグロマイシン耐性遺伝子（Hyg)、cGFP マーカーを組込んだ発現ベクター12 種類を構築した。当初計画には設定されていなかったインゲン由来アルセリン 2（Arc2）プロモーター領域の単離を行った結果、従来の Gy1P および Arc5 プロモーターより高発現し、種子特異的発現であり、改変型貯蔵タンパク質のダイズ種子での高発現に有効であることが解った（特許出願）。

ダイズ種子へ導入した改変型貯蔵タンパク質の蓄積経路・機構を解明するために、上記の組換え種子のうち目的ペプチドの高蓄積が認められた系統を用いて細胞内の蓄積部位および輸送経路について免疫電子顕微鏡観察による解析を開始した。

（２）高蓄積型貯蔵タンパク質組換えダイズの開発（北興化学工業株式会社、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター）

北興化学工業（株）が開発したウイスカー（針状結晶）超音波法を用いてダイズへの遺伝子導入条件の最適化を検討した結果、超音波出力 50W、1 分間処理で不定胚への導入効率（一過的発現ﾌﾞﾙｰｽﾎﾟｯﾄ数）が従来条件の約 1.8 倍増加し、細胞への影響も少なく有効であった。導入に用いるダイズ不定胚は処理直前に 3㎜ 径のメッシュを通過させて均一化し、選抜および増殖後の不定胚成熟培養条件を従来の固体ゲル培養から液体振とう培養に変更することにより植物体再生率の向上が認められた。このような諸条件を最適化することによりダイズ細胞への導入効率が処理細胞塊当たり約 10%と高く、高発現可能な遺伝子導入法が確立できた（図２）。



(A)不定胚増殖　(B) 超音波処理　(C) 薬剤選抜　(D) 不定胚成熟　(E) 発根

（矢印：耐性細胞）

図２．ウイスカー超音波法によるダイズへの遺伝子導入

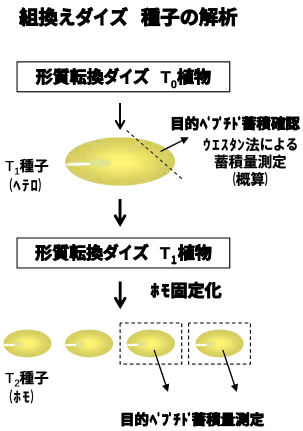
ダイズ種子は内在の貯蔵タンパク質が多く、遺伝子導入した外来タンパク質を蓄積するスペースが少ないことが目的タンパク質の高蓄積の障害になる可能性がある。その解決のため、遺伝子導入する材料に主要な貯蔵タンパク質（11S、7S）が欠損している変異系統を用いることは有効である。不定胚培養が可能な品種 Jack を戻し交配親として、突然変異により既に得られているグロブリン欠損系統との戻し交配を繰返して行い、後代系統（BC_3F_2）を得た。これらの系統の貯蔵タンパク質欠損性を確認し、未熟種子より不定胚形成、成熟培養、植物体再生を行い、Jack と同様に遺伝子導入に利用できる培養系を確立した。

Jack は、前述したように不定胚培養や植物体の再分化が効率的に行える品種で遺伝子組換えダイズを多数、効率的に作出するのに適している。そこで Jack 未熟胚から形成させた不定胚に上記（１）で作製した各種コンストラクトをウイスカー超音波法により遺伝子導入した。ハイグロマイシン 45mg/L で約 6 週間選抜培養した耐性不定胚を選別し増殖させた後、これらの不定胚の一部で PCR による導入遺伝子の確認および目的ペプチド抗体を用いたウエスタンブロット解析による改変型タンパク質の蓄積を確認した。その後、これらの不定胚からの植物体再分化により形質転換植物体を多数得ることに成功した。その結果、ダイズ 11S（A1aB1b）へ目的ペプチド挿入した改変型貯蔵タンパク質導入系統で計 102 系統の再分化植物体を得て、そのうち 51 系統を閉鎖型施設で栽培した。同様にイネプロラミン、インゲンアルセリンをキャリアとした導入系統で計 22 系統の再分化植物体を得て、そのうち 20 系統を閉鎖型施設で栽培した。以上より、目的ペプチドを挿入した各種改変型貯蔵タンパク質遺伝子を導入したハイグロマイシン耐性細胞を 740 系統、再分化植物体を 147 系統、そのうち 81 系統（個体）を栽培して、組換えダイズ種子を多数得た。

上記で得られた組換えダイズ種子（T1 世代）の一部分を用いてウエスタンブロット

解析により、改変型貯蔵タンパク質 A1aB1bM1、A1aB1bM3、A1aB1bM5、A1aB1bM7 を導入した種子で目的とするペプチドの高蓄積が確認できた（表２、図３(a)(b)）。一方、A1aB1bM2、A1aB1bM4 の導入種子では蓄積が認められず、ダイズ 11S グロブリンの A1aB1b サブユニットへのペプチド挿入部位（可変領域）によって蓄積程度が大きく異なることがわかった。特に、可変領域Ⅲのみに挿入した A1aB1bM3 において高蓄積する系統が多く、高蓄積型タンパク質として適していることがわかった。

表２．組換え種子（T1 世代）における目的ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞの蓄積程度



導入ｺﾝｽﾄﾗｸﾄ	T1種子系統	ｳｴｽﾀﾝﾌﾞﾛｯﾄ結果
A1aB1bM1 (6系統)	2-1	-
	3-3	+
	5-4	+
	7-1	-
	8-1	+
	10-2	++
A1aB1bM2 (6系統)	1-8	-
	1-11	-
	1-12	-
	2-8	-
	2-11	-
	3-3	-
A1aB1bM3 (4系統)	1-4	+++
	a-2	+++
	b-9	+
	c-5	+++

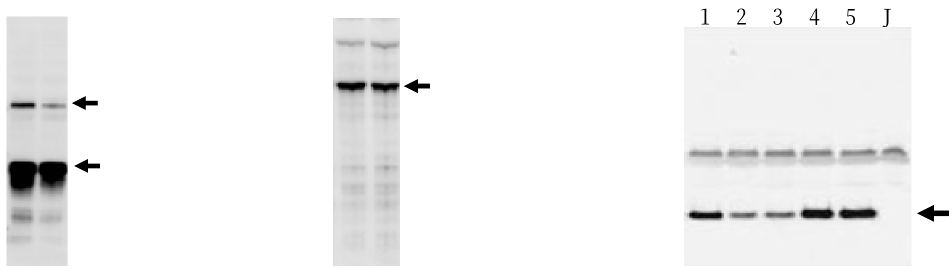
蓄積程度
- (無)、+、++、+++

導入ｺﾝｽﾄﾗｸﾄ	T1種子系統	ｳｴｽﾀﾝﾌﾞﾛｯﾄ結果
A1aB1bM4 (5系統)	1-1	-
	2-1	-
	2-4	-
	2-7	-
	4-2	-
A1aB1bM5 (9系統)	5-1	+++
	6-1	+
	6-3	-
	6-6	+++
	7-1	-
	8-3	-
	8-6	-
	8-7	-
	8-9	-
A1aB1bM7 (5系統)	1-9	++
	2-3	+++
	2-5	+
	3-4	+
	3-5	++

イネ由来プロラミン（野生型 10K)、ペプチド挿入改変型プロラミン RP10M1 が組換えダイズ種子中で高蓄積し（図３(c))、インゲンアルセリン（野生型)、ペプチド挿入改変型アルセリン GArc5M1、GArc5M2 も種子中で高蓄積が確認できた。カボチャ 11S グロブリンへの挿入改変型タンパク質 GPU1M1 も蓄積が認められた。したがってダイズ以外のプロラミンおよびアルセリンもキャリアタンパク質として有効で、高蓄積が期待できることがわかった。特に、プロラミンは難消化性のタンパク質として経口投与した場合の消化管内での安定性に有効であることが知られており、ダイズ 11S をキャリアとした組換えダイズとの機能性、安定性等について比較検討を進める予定である。

次に、組換えダイズ種子中に目的ペプチドが高蓄積した系統についてペプチド量の測定を開始した。その結果、A1aB1bM3･C-5 系統種子で約 30～73mg/100g 種子と最も高蓄積が確認され、A1aB1bM5･6-6 系統種子で約 3～11mg/100g 種子の蓄積量であった（いずれも中間目標値達成）（図４）。一方、これらはウエスタンブロット解析において複数のバンドが検出され、何らかの分解を受けている可能性が示唆された（図３(a))。

今後、高蓄積系統については後代種子によるホモ固定化を行い、T2 世代ホモ種子を用いて全粒による目的ペプチド量の測定を実施する。改変型タンパク質の分解については切断部位の特定と分解回避対策を検討する。改変型プロラミンやアルセリンを導入した組換え種子についても目的ペプチド量の測定を行い、蓄積量および特性等を指標に、更に高蓄積が期待できる改変型タンパク質の選抜を継続する。Jack への遺伝子導入で種子中の高蓄積が確認できた数種コンストラクト（A1aB1bM3、 A1aB1bM5 等）を用い、新たに作成した主要タンパク質欠損系統への遺伝子導入を開始する。



(a)A1aB1bM3 c-5 系統　　(b)A1aB1bM5 6-6 系統　　(c)GRP10M1 1～5 系統 （J：Jack）

図３．組換え種子中での改変型貯蔵タンパク質の発現（ウエスタンブロット解析）

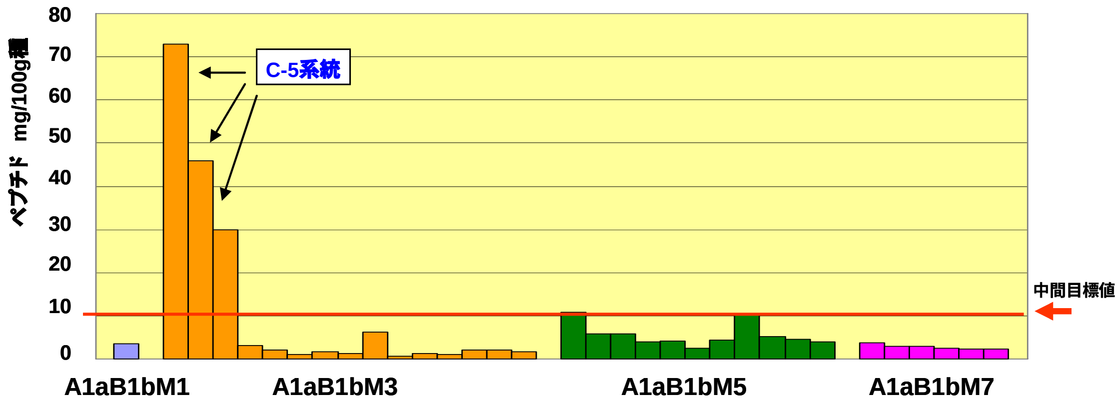


図４．組換え種子中の目的ペプチド蓄積量

（３）組換えダイズ由来ワクチンペプチドの開発（北興化学工業株式会社、国立大学法人弘前大学）

ワクチンとしての機能性評価試験のためアルツハイマー病トランスジェニックマウス（TgCRND8）をトロント大学神経変性病研究所（カナダ）より譲り受け、弘前大学医学部施設内において繁殖と大量飼育を行った。組換えダイズ由来ワクチンに先行して大腸菌で生産したエピトープ配列を挿入した改変型タンパク質 A1aB1bM1 の注射投与による免疫試験を行った。試験では、A1aB1bM1 タンパク質 50μg（ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟとして約 5μg 相当）を１週間毎に５回皮下注射して投与した。対象区は A1aB1b タンパク質を同様の条件で投与した（各区３頭）。投与後採血を行い、ELISA による抗原特異的抗体価測定を行った結果、A1aB1b 投与に比べ A1aB1bM1（ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ挿入型）で抗体価の上昇が確認できた（表３）。上記（２）で得られた組換えダイズ由来の改変型タンパク質 A1aB1bM1 の注射投与による評価は、平成 20 年度末までに終了する見込みである。

表３．採血サンプル（投与９週目）の抗体価測定（吸光度 OD 値）

	A1aB1bM1	A1aB1b (対照)
OD値	0.507 (305)	0.166 (100)

（４）閉鎖型人工環境下での組換えダイズ栽培システムの開発（新菱冷熱工業株式会社）

人工環境下で種子の多収穫と目的有用物質含量を多く得ることを目的としたダイズの栽培システムに関する研究事例はない。ここで開発する栽培システムとは、栽培施設（ハードウエア）と栽培技術（ソフトウエア）の両方を合わせたものである。

まず、閉鎖型でない植物用人工環境室でダイズの栽培技術を確立することから始めた。試験には非組換えダイズ（品種 Jack)を用いた。屋内での栽培に適した水耕栽培に着目し、NFT(薄層水耕)方式を選択した。NFT の利点は、循環水で栽培するため湛液式に比べ軽量であること、廃棄の容易な資材で構成され、組換え体の拡散防止が実施しやすいことである。なお培養液には、多くの作物で使用実績のある大塚ハウスの A 処方(大塚化学)を用いた。ダイズは茎の下方から上方に向かって花が付き、順に子実になる。この性質から、早く開花させれば(栄養成長期の短縮)、早く子実が収穫でき、年間栽培回数を増やせると考えた。開花の早い環境条件(明期の気温、相対湿度)で、CO_2濃度を変えて Jack を栽培した結果、最大で 1.1kg/m^2・年の収穫量が得られた（表４）。開花が早かったのは CO_2濃度 500µmol mol^{-1}の試験区であったが、単位面積あたりの収穫量と年間栽培回数を総合的に考えると 1000µmol mol^{-1}の試験区が最も良い結果となった。収穫した種子は、ビニルハウスで土耕栽培した種子以上にタンパク質を含み(約33%)、同程度の発芽能力も有していた。以上の結果から、植物用人工環境室での Jack の基本的な栽培技術が確立できた。しかし、収穫量は目標を満たしたが、環境条件によっては屋外の土耕栽培時の草丈(約 100cm)以上に伸長してしまう性質が明らかになった（表４の主茎長、図５）。今後は、開花後から収穫まで(生殖成長)の期間を短縮する栽培条件を検討することが課題であるのに加え、収穫量を保ちつつ管理しやすい草丈に制御する栽培技術の必要性が明らかになった。

組換えダイズの栽培を試みるため、閉鎖型栽培施設を建設した。施設では遺伝子の拡散を防止しながら、ダイズの栽培実験が可能である。閉鎖型栽培施設内の栽培室の空調フローを図６に示す。流体解析シミュレーションによる検討と建設後の実測で、環境制御性能すなわちハードウエアの性能が設計条件を満たしていることを確認した。

現在は、閉鎖型栽培施設において、これまでに検討してきた栽培条件で Jack とマーカー遺伝子(hpat、GFP)を Jack に導入した組換えダイズの両方を栽培し、ハードウエアとソフトウエアを合わせた栽培システムとしての性能を確認中である。栽培中の光強度は 1000µmol m^{-2} s^{-1}で、表４の 600µmol m^{-2} s^{-1}より高い。その他の栽培条件（水耕栽培方式、培養液管理手順、明期、気温、相対湿度、CO_2濃度）は、表４の CO_2濃度 500µmol mol^{-1}の試験区と同じである。子実の形成と肥大が進んでおり、今年度中に収穫する予定である。収穫後は、マーカータンパク質の発現を確認する。

表４．好適環境条件下で CO_2を施用したときの Jack(非組換え)の収穫量
(明暗期 14/10h,気温 33/19℃,相対湿度 50/75%,PPF600µmol m^{-2} s^{-1},栽培面積 4.23m^2)

明期の CO_2濃度 (µmol mol^{-1})	収穫までの日数	主茎長 (cm)	種子生重量 (kg/試験区)	年間栽培回数	種子収穫量 (kg/m^2・年)
500	99	160	1.17	3.7	1.0
1000	128	273	1.66	2.9	1.1
1500	150	280	1.26	2.4	0.7

図５．天井まで伸長した Jack(非組換え)

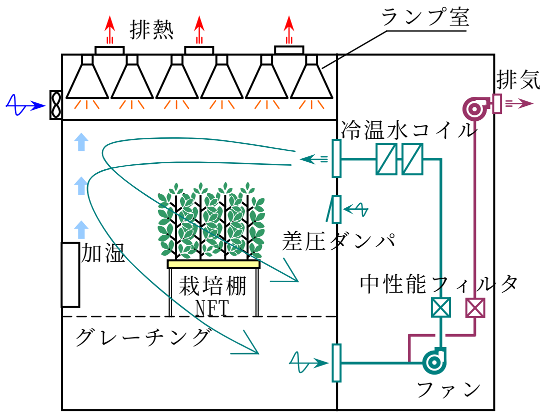


図６．閉鎖型栽培室の空調フロー

３－３－３－２　達成度

要素技術	（１）高蓄積型貯蔵ﾀﾝﾊﾟｸ質の開発（北興化学工業株式会社）
達成度	達成
要素技術	（２）高蓄積型貯蔵ﾀﾝﾊﾟｸ質組換えﾀﾞｲｽﾞの開発（北興化学工業株式会社）
達成度	達成
要素技術	（３）組換えﾀﾞｲｽﾞ由来ﾜｸﾁﾝﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞの開発（北興化学工業株式会社）
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：70%(年度内には 100%達成可能)
要素技術	（４）閉鎖型人工環境下での組換えダイズ栽培システムの開発（新菱冷熱工業株式会社）
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：70%(年度内には 100%達成可能)

３－３－３－３　特許出願状況等

表５．特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被引用度数	特許等件数(出願を含む)	特許権の実施件数	ライセンス供与数	取得ライセンス料	国際標準への寄与
(１)	-	-	1	-	-	-	-
(２)	-	-	1	-	-	-	-
(３)	-	-	-	-	-	-	-
(４)	-	-	2	-	-	-	-
計	-	-	4	-	-	-	-

３－３－４　事業化、波及効果についての妥当性

３－３－４－１　事業化の見通し

アルツハイマー病患者数は全世界で約 2,000 万人に達し、先進国の人口の高齢化にと

もない 2025 年までに約 3,400 万人に増加する見通しである（世界保健機関統計）。このような背景からアルツハイマー病用医薬品の世界規模での市場は約 6,000 億円と推定されており、そのうちアルツハイマー病ワクチンは約 1,000 億円を占めると考えられている。したがって、本事業で開発した遺伝子組換えダイズ種子による経口投与可能なアルツハイマー病ペプチドワクチンは国内のみならず世界的な需要も大きく、事業化可能と考える。事業化計画は①医薬品としての開発ステージと②製造販売を行う実用化ステージに分けられ、各年度別の事業化計画を図７に示した。

①開発ステージ

本事業において開発した組換えダイズ種子経口ワクチンを医薬品として事業化するために臨床開発経験を持つ国内または海外企業を選定し、交渉を行い、共同開発を実施する。臨床試験は動物に対する毒性試験の前臨床試験、その後臨床試験フェーズⅠ、Ⅱ、Ⅲと順次試験を進めていく予定で、前臨床試験に必要な組換えダイズ種子（約 1kg）は既に建設済みの nonGMP 型閉鎖型栽培施設内で行い、その後の臨床試験用サンプル種子（約 10kg）は新たに建設予定の cGMP 対応型閉鎖型栽培施設を用いて生産する。最終的な医薬品としての登録、上市は平成 31 年度以降を予定している。

②実用化ステージ

需要規模として国内患者 200 万人を対象とした場合に必要な組換えダイズ種子量は 40t（ﾜｸﾁﾝ 20mg/人＝種子 20g×200 万人）と算出され、それらを生産、加工のための大型植物工場(cGMP 対応型閉鎖型栽培施設)の栽培面積は約 40,000 ㎡(40t÷収量 1.0kg/m²･年）の施設となる。本施設は、臨床試験の進捗にあわせ、新菱冷熱工業㈱が新たに企画設計し建設を行う。最終的な商品形態は、組換えダイズ種子を粉砕後、脱脂および加熱処理したものをワクチン原薬として医薬関連会社へ供給､販売することを想定している。

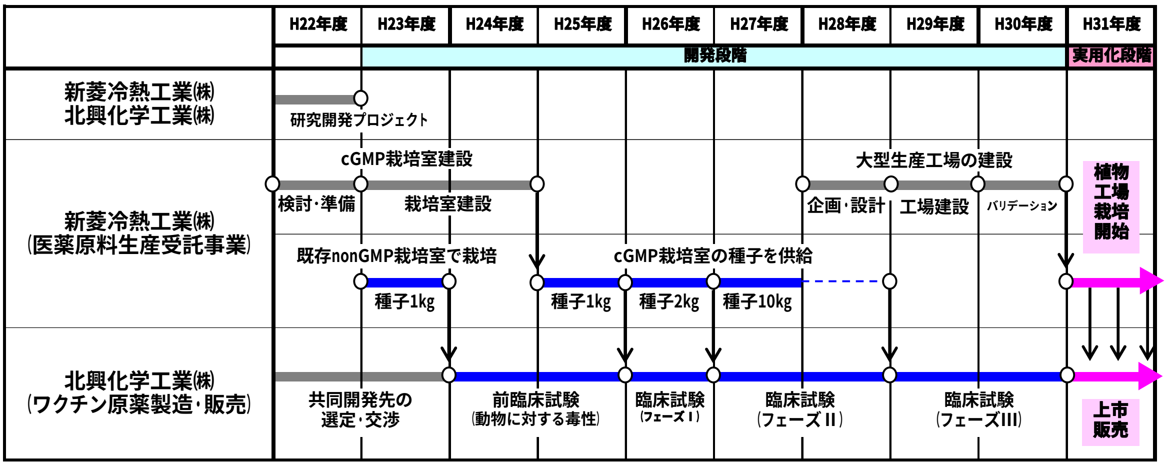


図７．事業化計画

３－３－４－２　波及効果

要素技術（２）で開発したダイズへの高効率高発現遺伝子導入技術は、一般にダイズへの遺伝子導入は難しく導入技術も限られている状況（米国企業が保有する遺伝子銃法のみ）において、有用物質生産に限らず有用農業形質等を付与するための遺伝子組換え

ダイズ作出の汎用基本ツールとして幅広く活用できる。また、アルツハイマー病ワクチンは世界的にも需要が大きく、本事業で開発した組換えダイズによるワクチン生産技術は世界的にも例がないため、国内のみならず海外への波及効果も大きく、本技術は海外企業への技術ライセンスも想定される。

要素技術（４）で開発中の閉鎖型栽培施設と恒常的な組換えダイズ栽培技術は、バイオ医薬品の他、健康食品素材、ファインケミカル素材等の有用物質大量生産への応用展開も見込まれる。

３－４「レタスによるワクチン成分生産技術開発」

３－４－１　目的

ブタ浮腫病は子豚に高発する疾病で、志賀毒素 Stx2e を産生する腸管出血性大腸菌が引き起こす。使用可能な抗生物質が限られ、ワクチンが存在しないため、有効な予防法はない。浮腫病は腸管粘膜を介して発症する為、粘膜免疫ができればきわめて有効となる。Makino et al.(2001)は無毒化 Stx2e 生産大腸菌を作製しこれを経口投与し予防に成功していることから、Stx2e を生産する経口投与型植物ワクチンの開発を目指す。

植物ワクチンは食経験のある宿主を選択することで高純度な精製が不要となり、食の安全性も確保できるなど大きなメリットがある。レタスはこの条件を満足し、また少ない光量でも十分に栄養成長し穀類等と比べ短期間で収穫できる現行植物工場で商業栽培可能な数少ない植物であり、宿主に適している。ワクチンには毒性本体の Stx2eA サブユニットを除外し、強い免疫原性が期待できかつ植物でも糖鎖修飾を受けない Stx2eB サブユニットもしくはエピトープ領域を選んだ。ワクチン生産レタスの開発は出光興産株式会社（共同研究先：帯広畜産大学、国立国際医療センター研究所、奈良先端科学技術大学院大学、奈良県農業総合センター）が、レタスでのワクチン生産最適化に重点を置いた植物工場の開発および栽培法の検討は日本植生株式会社（共同研究先：大阪府立大学大学院）が担当する。

３－４－２　目標および成果・達成度

表 1. 目標および成果・達成度

中間目標・指標	レタス品種（グリーンウェーブ及び岡山サラダ菜）で予備段階の *stx2e* 改変遺伝子形質転換レタスを作出。
設定理由・根拠等	植物工場に適した上述２品種の形質転換系は未確立である。
成果	２品種ともに再分化個体を得る最適条件を特定した。また予備段階の *stx2eB* 形質転換レタス（プロトタイプ）を作出した。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
最終目標・指標	中間評価時点までに明らかにした必要投与量を生産可能な Stx2e 形質転換レタスの作出。
設定理由・根拠等	第４ブロックと共通
中間目標・指標	Stx2e のエピトープの同定及び *stx2e* 遺伝子のコドン改変。
設定理由・根拠等	毒素中和活性をもつエピトープが同定できれば高効率に毒素中和抗体を誘導でき、生産量向上にも寄与しうる。コドン改変は生産量向上の常套手段。
成果	エピトープを網羅的に同定した。コドン改変で生産量向上効果を確認した。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
最終目標・指標	レタスにおける Stx2e タンパク質生産技術の最適化が完了しており、60μg/g レタス生重量を達成。
設定理由・根拠等	第４ブロックと共通

中間目標・指標	ワクチネーションに必要な Stx2e 有効投与量の確認。
設定理由・根拠等	Stx2e のワクチンとしての投与例はない。
成果	Stx2eB 経鼻投与実験で 1mg/head×3 回で予防効果を確認。経口投与でも 4mg/head×3 回で効果を確認した（継続中）。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
最終目標・指標	ワクチン生産レタスによるブタのワクチネーション成功および生体への安全性確認。
設定理由・根拠等	Stx2e 生産レタスの投与例はなく、生体安全性確認例もない。
中間目標・指標	レタスでの外来遺伝子の安定かつ高効率発現系と小胞輸送工学技術の構築。
設定理由・根拠等	Stx2eB を植物に生産させた例はなく、高発現要素技術及び蓄積部位を最適化する必要がある。
成果	タバコ由来翻訳エンハンサーおよび小胞体残留の有効性を確認、さらに新規高蓄積技術を開発した。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
最終目標・指標	レタスにおける Stx2e タンパク質生産技術の最適化および 60 μg/g レタス生重量の達成。
設定理由・根拠等 　第１、２ブロックの 　課題と共通	ワクチンをレタス総可溶性タンパク質の１%蓄積すれば、１株（約 100 g）当たり 6 mg となる。現行植物工場のレタス栽培コスト 70 円／株、浮腫病予防に 4 mg×３回（これまでの実験結果）とすると 2 株（12 mg）×70 円／株＝140 円／頭で実用化に目処（ブタ用ワクチン末端価格約 400 円）が立つ。
中間目標・指標	特殊環境制御が行える完全閉鎖型栽培実験施設の完成
設定理由・根拠等	遺伝子組換えレタスを栽培するために必要な栽培実験施設を開発し、これに特殊環境制御を行う装置を設置する。
成果	P1P レベルの栽培実験施設を導入し、この栽培施設内で特殊環境制御を行うための装置を開発した。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
最終目標・指標	ワクチン生産レタスの生産に特化した完全制御型栽培システムが完成している。
設定理由・根拠等	レタスの品種選定が完了しており、これを宿主とする組換えレタスの生産に特化した栽培システムの完成を指標とした。
中間目標・指標	*GUS* 遺伝子導入レタスの GUS タンパク質を増産させる栽培条件の確立および再分化体の効率的な水耕栽培法の確立
設定理由・根拠等	栽培環境改善により GUS タンパク質生産を 30%向上させる。再分化体の苗を効率的に水耕栽培する方法を検討する。
成果	再分化体のサイズと生存率に関連を見出した。また、レタス葉の GUS タンパク質を増産させる栽培条件を見出した。
達成度	19 年度目標:100%到達，中間目標:80%(年度内 100%到達可能)

最終目標・指標	ワクチン生産レタスにおけるワクチンタンパク質生産量を50%向上させる栽培技術の確立
設定理由・根拠等	ワクチン生産レタス中のワクチン含量を 50%向上させ、現行のブタ用ワクチンコストと同等となることを目標とする。

３－４－３　成果、達成度

３－４－３－１　個別要素技術成果

（１）宿主植物レタスの高効率形質転換技術の開発（奈良農総センター、出光興産）

（１）－１．再分化における最適条件の確立

再分化誘導に用いる置床部位（外植片）の最適化を行ったところ、「岡山サラダ菜」は播種後 6-11 日目の子葉切片と播種後 11 日目の本葉切片が最適で、「グリーンウェーブ」はどの生育ステージの子葉切片、本葉切片でも高い再分化率を示すことがわかった（図 1）。さらに再分化個体の生育程度やガラス化程度から、両品種ともに播種後 6 日目の子葉切片が健全な再分化個体を得る最適置床部位であることを見出した（データ非掲載）。

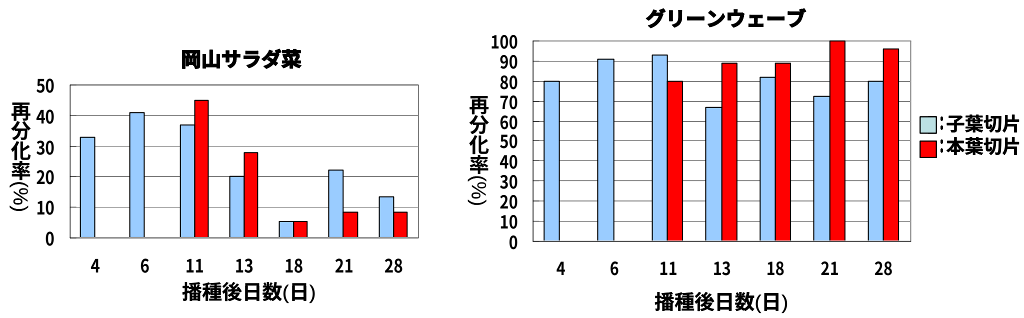


図 1　再分化最適化のための置床部位と生育ステージの特定

次に植物ホルモン（ベンジルアミノプリン；BA、ナフタレン酢酸；NAA）の最適濃度を検討した結果、いずれの品種も BA 0.05 mg/l と NAA0.1 mg/l を添加するのが健全な再分化個体を得る最適条件であることを特定した（図 2）。

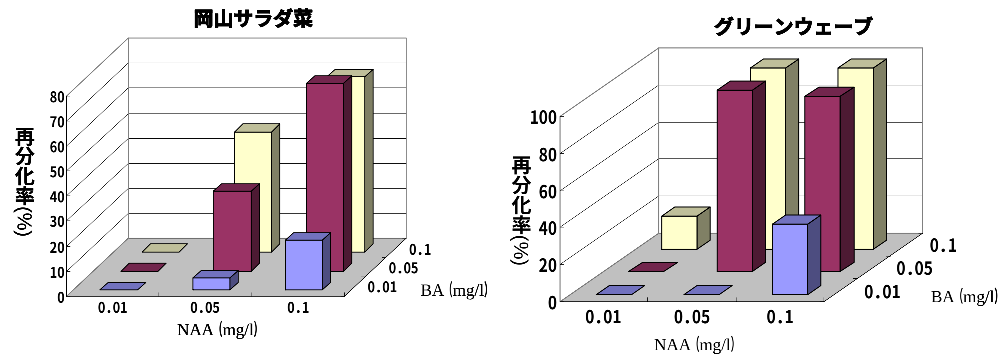


図2　再分化最適化のための植物ホルモン濃度の特定

（１）－２．予備段階の stx2eB 形質転換レタス（プロトタイプ）の作出

（１）－１．で確立した条件下、図 3 の遺伝子コンストラクトを導入したプロト

タイプレタスの作出に成功し、Stx2eB の生産を確認した（図 4)。

図 3　導入した *stx2eB* 遺伝子のコンストラクト

NtADH:NtADH5'UTR、S.P:分泌シグナル、HA:タンパク質検出用タグ、HDEL:小胞残留シグナル

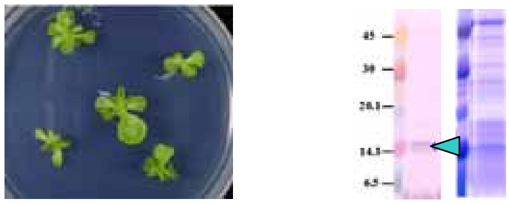


図 4　左：プロトタイプレタス、右：ウェスタン解析による翻訳量の確認

さらに（４）－２で後述する遺伝子コンストラクト（図 10 下）を導入した改良型１レタスを作出中であり、現時点で既に Stx2eB の蓄積を確認した数系統を得ることに成功している（データ非掲載)。今後、プロトタイプとの生産量比較や日本植生グループへの供給、ブタ経口投与試験供試を予定している。

（２）高効率生産のための *stx2e* 遺伝子改変（国立国際医療センター、出光興産）

（２）－１．*stx2e* 遺伝子のレタス用コドン改変

レタスコドン使用頻度と GC 含量を考慮した５種類のコドン改変型 *stx2eB* 遺伝子をデザイン・合成し、レタスプロトプラストを用いた一過性発現解析（データ非掲載）およびタバコ培養細胞 BY2 安定形質転換体による解析で Stx2eB の蓄積量を調べた結果、高 GC 含量になるようデザインした *mstx2eb3* および *mstx2eb5* はコドン改変前（*stx2eb*）に比べ高蓄積することが明らかになった（表 2 および図 5)。

表 2　*stx2eB* 遺伝子の GC 含量

	XXG/C (%)	G/C (%)
stx2eb	45	40
mstx2eb1	66	47
mstx2eb2	6.9	30
mstx2eb3	100	61
mstx2eb4	64	49
mstx2eb5	100	63

コドン第三塩基のG/C含量(XXG/C)、および総G/C含量を示す。

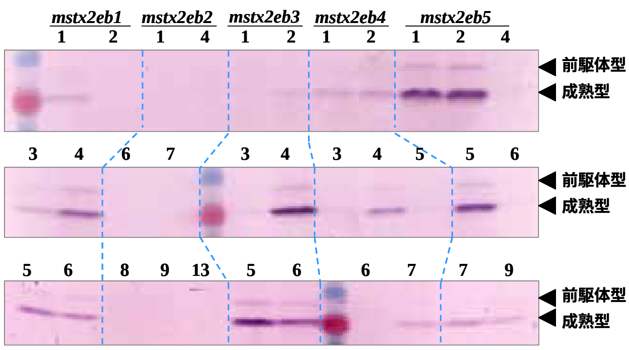


図 5 コドン改変による Stx2eB の高蓄積化（タバコ培養細胞 BY2)

レーン上の数字はクローン番号を表す。

（２）－２．エピトープの同定

Stx2e をコードする遺伝子 DNA を断片化して作成した約 4,000 コロニーの組換え大

腸菌を抗 Stx2e 抗体を用いて網羅的にスクリーニングし、絞り込んだ領域からさらに 10 残基のペプチド鎖を合成し抗 Stx2e 抗体との反応性を調べ 10 種類のエピトープ候補を得ることに成功した（図 6)。

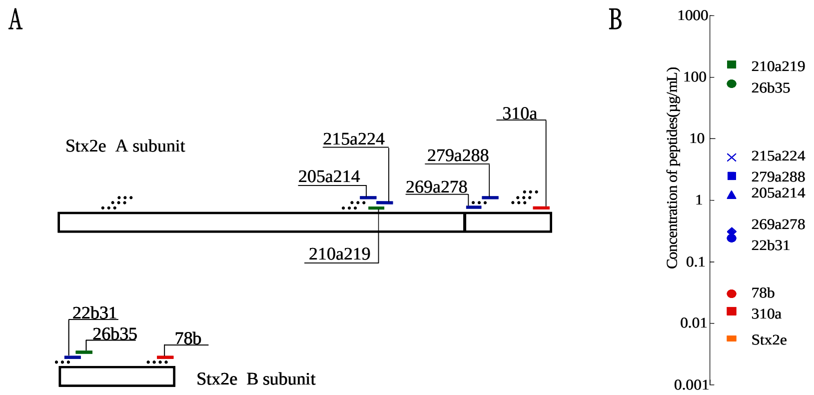


図 6　mStx2e エピトープ地図と抗 Stx2e 抗体との反応性

A. 特定したエピトープの位置と名称　B. 各エピトープの抗 Stx2e 抗体との反応性

現在、絞り込んだエピトープペプチドを免疫して得たウサギ抗血清とベロ細胞を用いて Stx2e 毒素の中和活性を評価中である（表 3)。さらに抗毒素活性を誘導するためには各エピトープの組み合わせや、より長い配列の抗原が必要となる可能性も考慮した毒素中和活性の確認も行う予定である。

表 3　エピトープの抗体誘導能および毒素中和活性

抗原	抗体誘導能	中和活性
310a	++	-
78b	++	-
205a224	免疫中	?
269a288	免疫中	?
22b35	免疫中	?

（3）Stx2e 有効生産量の設定及び性能評価（帯広畜産大、出光興産）

Stx2eB のワクチンとしての性能及び有効投与量を調べるために、組換え大腸菌で調製した Stx2eB のブタ経鼻投与実験を行った。その結果、1 mg/ head×3 回投与で浮腫病予防効果を確認した（図 7)。

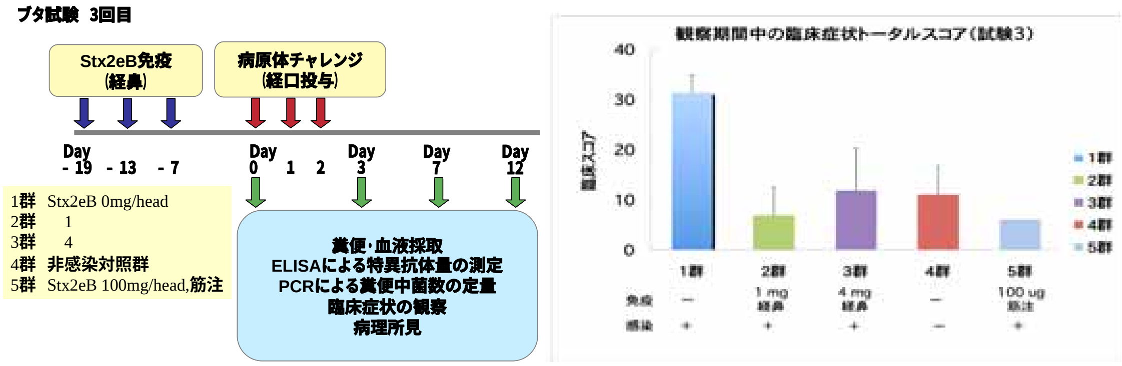
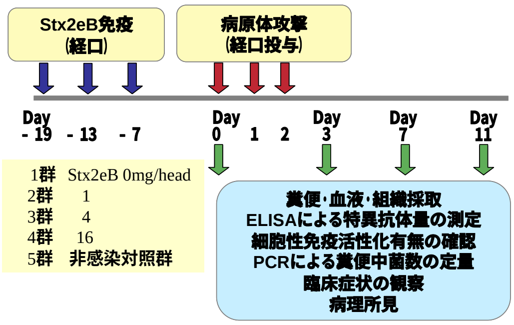


図 7　経鼻投与による浮腫病予防実験（左：試験概略、右：臨床スコア）

さらに経口投与実験を行った結果、4mg/ head×3 回投与で予防効果を確認した（図8)。今後、より実用的な母豚投与による乳汁免疫の可能性を検討する。



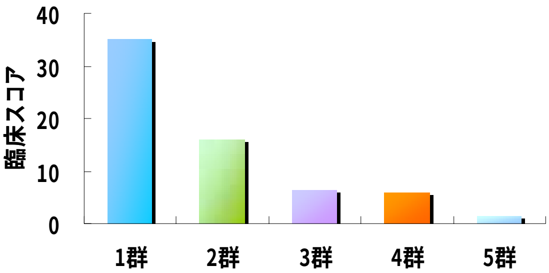


図 8　経口投与による浮腫病予防実験（左：試験概略、右：臨床スコア）

（４）Stx2e 生産を効率化するレタス小胞輸送工学の確立（奈良先端大、出光興産）

（４）－１．レタスにおける局在化シグナルと翻訳エンハンサーの評価

Stx2eB 蓄積の最適部位を調べるため、レタスプロトプラストによる一過性発現解析を行い、種々の局在化シグナルを用い細胞質、小胞体、アポプラスト、液胞および葉緑体への蓄積を試みた。同時に翻訳エンハンサーによる生産量向上も調べた。その結果、一般的に知られる翻訳エンハンサーの Kozak 配列(GCCACCATG(Met))よりもタバコアルコール脱水素酵素遺伝子の 5’ 非翻訳領域（*NtADH* 5’ UTR） が優れており、また蓄積箇所は細胞質や葉緑体よりも小胞輸送経路（小胞体、アポプラスト、液胞）が適していることを見出した（図 9)。タバコ培養細胞安定形質転換体による評価でも小胞輸送経路での蓄積が有効であることを確認した（データ非掲載)。これらの要素技術は（１）－２．で記述のプロトタイプレタスに導入した。

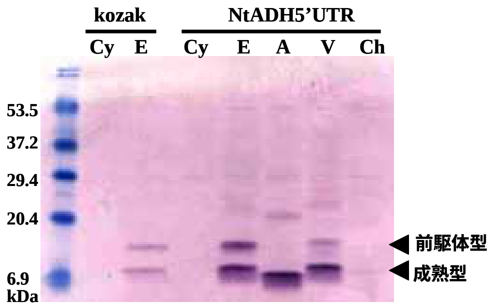


図 9　Stx2eB 生産における局在化シグナルおよび翻訳エンハンサーの効果

Cy: 細胞質、E: 小胞体、A: アポプラスト、V: 液胞、Ch: 葉緑体

（４）－２．タンデム連結による高生産検討

スペーサーを介し Stx2eB を 1 個、2 個、3 個および 4 個連結した遺伝子を作製し（図 10)、これらをレタスプロトプラストを用いた一過性発現解析およびタバコ培養細胞安定形質転換体作製に供し Stx2eB の半定量を行った結果、2×2eB 導入個体で 2eB の高蓄積化に成功した（データ非掲載)。また連結に用いるスペーサーは任意ではなく、長さやアミノ酸配列が高蓄積に関係することを明らかにし、タバコ培養細胞による解析の結果、PG12 が最適であることを見出した（図 11)。（１）－２．に記載の通り、

本技術を導入した改良型１レタスを作出中である。

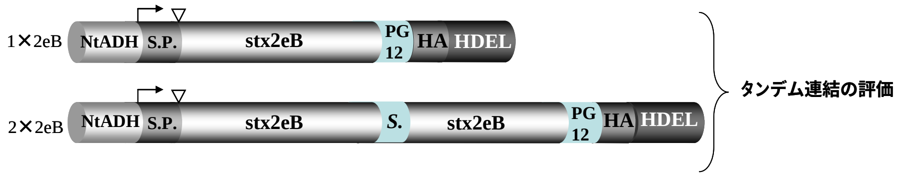


図 10　*stx2eB* をタンデム連結したコンストラクト

HA：タンパク質検出用 HA タグ、PG12：スペーサー(ArgSerProGlySerGlyProGlySerProArgSer)、

S：スペーサー(RS; ArgSer, PG7; ArgSerProGlySerArgSer, SG12; ArgSerGlySerGlySerGlySerGlySerArg Ser, PG12; ArgSerProGlySer GlyProGlySerProArgSer.のいずれかを使用).

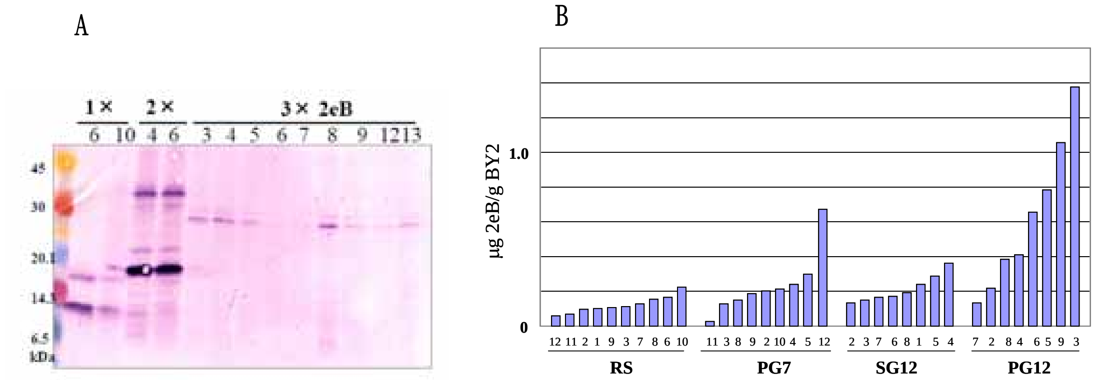


図 11 タバコ BY2 を用いたタンデム連結による Stx2eB の蓄積効果

A. タンデム連結 2eB の安定発現。スペーサーは PG12 を使用、抗 HA 抗体を用いウェスタン解析を行った。レーン上の数字はクローン番号を表す。B. 用いたスペーサーによる Stx2eB 蓄積効果.バーの下の数字はタバコ培養細胞のクローン番号を表す。

（５）組換えレタスによる家畜経口ワクチンタンパク質生産システムの研究開発

（日本植生株式会社，大阪府立大学大学院）

（５）－１．高効率ワクチンタンパク質生産施設の開発

既存のレタス工場からコンテナ型工場を選定し、これを生産するレタスの遺伝子拡散防止レベルに対応した栽培実験施設として開発し、特殊環境制御装置を設置した（図12)。

図 12　栽培実験施設外観（左）および P1P 栽培室（右）

（５）－２． 特殊環境装置、ソフトウェアの開発（大阪府立大学学院）

白色蛍光灯代替光源装置の開発（図 13）

植物への近接かつ均一な光照射を目的として HEFL（Hybrid Electrode Fluorescent

Lamp）照明を導入した。従来型の白色蛍光灯と比較して発熱は少ないため、さらに多段の栽培が可能となり単位面積当たりの生産量向上が期待できる。

LED を用いた高周波パルス光照射は連続光と比較して生育促進効果に関して統計的有意差はみられなかった。今年度中に組換え体を使った栽培試験を完了する。

図 13　HEFL 光源（左、中）および高周波パルス照射光源装置（右）

気流、局所温度、根圏環境制御装置の開発

光合成速度効率を高めるため、3 次元気流解析ソフトを用い植物群落内の気流速分布を調査し、送風装置の配置等を最適化した分散制御型送風装置を開発した。

また、葉温を直接的に制御する装置や根圏環境を制御する装置として養液温度制御装置、水ポテンシャル制御装置を開発中である（今年度中完成予定）。

ソフトウェア開発

レタス葉毎に葉齢、成熟度が異なり目的タンパク質の蓄積濃度が異なることから、生体重から一株あたりの目的タンパク質蓄積量を求めることは困難である。そこで、葉毎のタンパク質濃度や生体重、葉数の時間的変化を記述することによって一株あたりの目的タンパク質蓄積量の時間変化を表現できるモデルを開発した。

（６）ワクチンタンパク質高生産栽培条件の検討（日本植生株式会社）

（６）－１．　非組換えレタスのタンパク質増産栽培条件の探索

「グリーンウェーブ」について、総可溶性タンパク質（TSP）を増産させる栽培条件を検討した。その結果、従来の光量（150μmol/m^2/s）に比べ光量を増加（300μmol/m^2/s）することで地上部生体重は増加した。また、レタス葉の TSP 濃度には光量に加え、養液組成が影響していることが明らかとなった（図 14）。

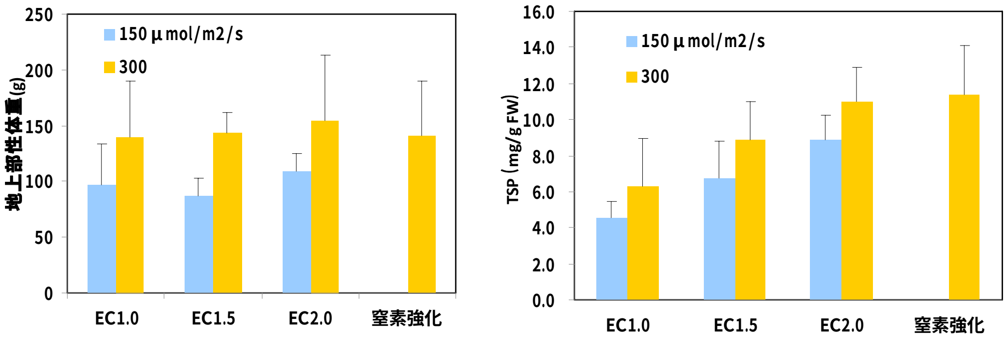


図 14　光量および養液組成が定植後 **35** 日目のレタスの地上部生体重（左）と総可溶性タンパク質（**TSP**、右）におよぼす影響

養液は大塚 **A** 処方を使用。窒素強化区は **EC 1.5mS/cm** 区の窒素成分を **2** 倍に調整。

（６）－２.再分化体の効率的な水耕栽培法の確立

供給された再分化体苗のサイズと水耕装置定植後の生存率について検討した(図 15)。未発根個体（A）や生育が不十分な個体（B）で半数が枯死したが（表 4)、選抜法の確立によりこのサイズでも生存率が高まり、定植作業の省力化や輸送コストの削減が期待できる。

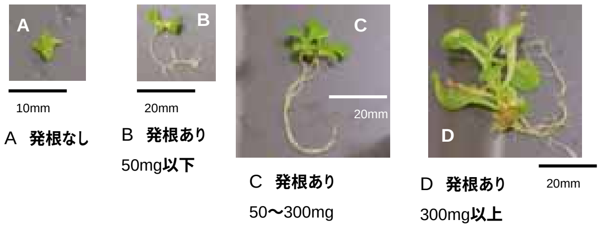


図 15　供試再分化体の形状

表 4　再分化体サイズと定植後生存率

	生存率(%)
A	48.1
B	57.2
C	85.0
D	93.9

（６）－３．レポーター遺伝子導入レタスにおける栽培条件の検討

レポーター遺伝子（*GUS*）導入レタスのレポータータンパク質生産量を向上させる栽培条件を検討したところ、照射光量を 2 倍に増加すると GUS 活性が約 80%増加した（図 16)。また、青色 LED による補光で光質を変化させた場合、GUS 活性が増加する傾向がみられた。

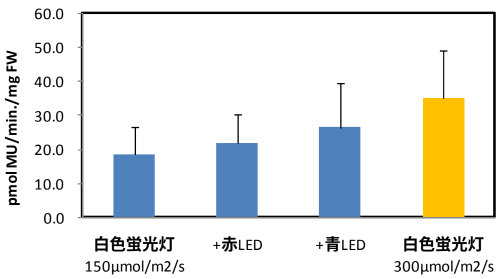


図 16　光量が遺伝子組換えレタスの GUS 活性におよぼす影響

３－４－３－２　達成度

要素技術	（１）宿主植物レタスの高効率形質転換技術の開発
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
要素技術	（２）高効率生産のための *stx2e* 遺伝子改変
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
要素技術	（３）Stx2e 有効生産量の設定及び性能評価
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
要素技術	（４）Stx2e 生産を効率化するレタス小胞輸送工学の確立
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
要素技術	（５）高効率ワクチンタンパク質生産施設の開発

達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
要素技術	（６）ワクチンタンパク質高生産栽培条件の検討
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：80%(年度内に 100%到達可能)

３－４－３－３　特許出願状況等

表 **5**. 特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被引用度数	特許等件数(出願を含む)	特許権の実施件数	ライセンス供与数	取得ライセンス料	国際標準への寄与
（１）	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
（２）	**2**	**-**	**5**※1	**-**	**-**	**-**	**-**
（３）	**-**	**-**	**5**※1	**-**	**-**	**-**	**-**
（４）	**-**	**-**	**6**※1	**-**	**-**	**-**	**-**
（５）	**2**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
（６）	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
計	**4**	**-**	**6**	**-**	**-**	**-**	**-**

※1：共同出願を含む

３－４－４　事業化、波及効果についての妥当性

３－４－４－１　事業化の見通し

動物医薬品（ワクチン）であることから、養豚業者がユーザーとなる。商品化には動物医薬品としての認可取得が必要であるが、遺伝子組換えワクチンの商品化は前例がないため、関係機関と連携しつつ各種法規制に対応したビジネスモデルを構築する。日本植生は本事業の成果を医薬品原材料受託生産事業として発展させ、出光興産が作出したワクチン生産レタスの受託生産を行う。

実用化までの計画概要は以下の通りである。

・平成 22 年度（プロジェクト最終年度）:

ワクチン効果及び組換えレタスの食品安全性に関する予備的評価を行い、性能が市場要求を満たすことを確認する。

次に植物ワクチンの医薬品認可・登録の必要要件が明らかになっており、またコスト・事業性を評価した上で、

・平成23-27年度をメドに

①GCP対応施設を用いた動物実験データ取得など、動物医薬品登録申請に必要なデータを取得する。

②共同取り組み先ワクチンメーカーを選定する。

③GMP対応のワクチン生産レタス供給体制を整備する。

・平成28年度をメドに

動物用医薬品製造承認の申請を開始する。

３－４－４－２　波及効果

ブタの生産頭数は国内で約1千万頭、海外主要生産国では総数約7億頭に上る。３－４－１で述べたとおり、浮腫病ワクチンは世界的にも存在しないことから、ワクチン生産レタスの開発に成功すれば国内のみならず海外への波及効果も大きい。このことを踏まえ、海外での事業展開・技術ライセンスを想定し、既に主要国への基本特許出願を済ませている。また周辺特許についても同様に外国出願を予定している（2008年度）。

また本技術は局所免疫と全身免疫を惹起可能な粘膜免疫を利用するものであることから、これが実用化に成功すれば注射投与に要した資源や労力の省力化にも貢献しうる。さらに本事業で開発した遺伝子組換えレタスの栽培システムをプラットフォームとして用いることで有用物質生産の商業利用化が期待できると考える。

３－５「医・農・工融合によるヒトチオレドキシン１産生レタスの生産技術の開発」

３－５－１　目的

ヒトチオレドキシン 1 (hTRX1)は酸化・還元を制御する生体内タンパク質であり、糖尿病をはじめとする生活習慣病、虚血再灌流障害、肺障害など、酸化ストレスが関与している病態に対して生体防御効果を示す。このため、hTRX1 は様々な組織における酸化ストレス防御のための医薬品として応用が期待されている。医薬品としての遺伝子組換え hTRX1 生産系は、現在大腸菌において開発されているが、この系の特徴として、エンドトキシンや培地成分など医薬品としての安全性をクリアすることと、生産効率が重要な課題となっている。これらの背景から、もし hTRX1 生産を食用植物で行うことができれば、動物や微生物による物質生産と比較して精製コスト面、安全性基準に非常にメリットがあると考えられる。また、植物工場化することで生産効率の向上および均一性も期待でき、生産コストを抑制できる。そこで、医・農・工の技術を結集し、医薬タンパク質として有望視されている hTRX1 を高生産する高機能レタス生産技術開発を目的とする。

３－５－２　目標および成果・達成度

表 1. 目標および成果・達成度

中間目標・指標	レタス葉緑体形質転換法を確立し、発現プロモーターの検討、レタス葉緑体型高度利用型コドンへの変換による hTRX1 のパイロット生産と生産量の解析を行う。また、パイロットスケールでのレタスからの hTRX1 精製法の確立を行う。
設定理由・根拠等	本開発研究の中心的技術であるレタス葉緑体における hTRX1 の生産と精製法確立が必須であるため。
成果	19 年度末時点で、レタス葉緑体形質転換系を確立した。この方法を用いて、hTRX1 発現レタス葉緑体形質転換体を作製した。形質転換レタスにおけるコドン非変換型 hTRX1 の発現を解析した結果、可溶性タンパク質の約３%、生重量あたり 0.43mg の蓄積量であった。また、形質転換レタス葉からの hTRX1 のパイロットスケール精製法の確立に成功した。現在、コドンとプロモーター改変による発現量増加を目指した研究を行っている。
達成度	19 年度目標:100%達成、中間目標 70%達成（年度末までに 100%の見込み）
最終目標・指標	レタス生重量 1g 当たり 2 mg の hTRX1 を発現させる。また、事業化スケールを考慮した hTRX1 精製法を確立する。
設定理由・根拠等	タバコ葉緑体形質転換技術において緑色蛍光タンパク質 GFP を生重量 1g 当たり 2 mg 産生できることから、レタス葉緑体での hTRX1 産生目標値をタバコにおける GFP と同じ値とした。
中間目標・指標	光合成活性化遺伝子 FBP/SBPase 導入によるレタス生育促進

	のための、最適 FBP/SBPase 発現量を可能とするプロモーター決定とこれを用いた葉緑体形質転換ベクターの構築および FBP/SBPase 遺伝子導入レタスの作製を行う。また、外来遺伝子と FBP/SBPase 遺伝子を同時導入し、外来遺伝子高発現を可能とするベクターの構築を行う。
設定理由・根拠等	タバコでの FBP/SBPase 遺伝子導入による生育促進技術のレタスへの移行による外来タンパク質高発現のための基盤材料作製が必須である。
成果	19 年度末時点で、FBP/SBPase 遺伝子導入レタスの作製に成功し、現在、FBP/SBPase 遺伝子導入による生育促進効果を解析中である。またタバコの生育促進効果を実現するために最適な FBP/SBPase 発現を達成するプロモーターを同定した。この結果から FBP/SBPase 遺伝子との共発現によるレタス葉緑体 hTRX1 高発現ベクターの構築を行った。
達成度	19 年度目標:100%達成、中間目標 80%達成(年度末までに 100%の見込み)
最終目標・指標	FBP/SBPase 遺伝子導入によるレタス収量 50%増大による、レタス葉緑体での外来タンパク質高発現系の確立を行う。
設定理由・根拠等	タバコの研究から FBP/SBPase による収量増大が 50%であることから、この技術をレタスに応用することを目標とした。
中間目標・指標	レタス遺伝子発現解析系構築とこれを用いたレタス栽培光環境最適化遺伝子診断アルゴリズム構築を行う。最適レタス栽培光環境を実現するプロトタイプ植物工場試作の開始。
設定理由・根拠等	遺伝子診断アルゴリズムにより設定した生育促進光環境をプロトタイプ植物工場に応用するために、アルゴリズム構築と植物工場試作開始が必要であるため。
成果	19 年度末時点で、レタス収量および hTRX1 発現量と栽培光環境を解析し、基礎データを収集した。また、レタス EST 解析情報をもとにマイクロアレイを作製し、遺伝子解析系を構築した。現在、遺伝子解析系を用いて、レタス栽培光環境最適化遺伝子診断アルゴリズムの構築を行っているところである。また、20 年度はじめから、プロトタイプ植物工場の試作を開始した。
達成度	19 年度目標:100%達成、中間目標 80%達成(年度末までに 100%の見込み)
最終目標・指標	レタス生育光環境最適化のための遺伝子診断技術を開発し、レタス収量を 20%増加させる。最適なレタス生育環境を実行するためのレタス用プロトタイプ植物工場の試作を行う。
設定理由・根拠等	シロイヌナズナの研究から光環境制御による収量 20%増加が

	報告されており、レタスにおいて同じ収量増加を目標とした。
中間目標・指標	レタス産生 hTRX1 の生物活性評価を行う。また、レタス産生 hTRX1 の医薬品原薬としての用途、市場性調査と商品開発案の決定を行う。
設定理由・根拠等	レタス産生 hTRX1 が医薬品原薬として利用可能か検討する必要がある。また、レタスからの hTRX1 精製コストを考慮した用途、市場性調査を行い、商品化案を決めることで、今後の商品化のための開発研究方向を固める必要がある。
成果	19 年度末時点で、レタスから精製した hTRX1 が医薬品原薬としてすでに開発が進んでいる大腸菌産生のものと比較して同等の酵素活性を有していることを確認した。現在、レタスから精製した hTRX1 の医薬品としての商品開発案とともに、形質転換レタス抽出液を用いた化粧化剤、機能性食品の可能性を調査中である。また、レタスそのものを、高付加価値レタスとしての開発案も候補として検討中である。
達成度	19 年度目標:100%達成、中間目標 70%達成（年度末までに 100%の見込み）
最終目標・指標	レタス産生 hTRX1 の医薬用原薬、化粧化剤、機能性食品としての商品化のための開発を行う。
設定理由・根拠等	プロジェクト終了後の事業化を見据えた、レタス産生 hTRX1 の商品化開発研究を行うことは必須である。

３－５－３　成果、達成度

３－５－３－１　個別要素技術成果

（１）レタス葉緑体における hTRX1 産生法の開発（奈良先端科学技術大学院大学、株式会社植物ハイテック研究所）

GFP 遺伝子をマーカーとして葉緑体形質転換系の確立を目指した。コスレタス、グリーンウェーブレタスで、それぞれ 25 回、45 回の遺伝子撃ち込みで、それぞれスペクチノマイシン耐性シュートが 1 個体、3 個体得られた。得られたシュートにおいて GFP 蛍光が観察され、さらに PCR により GFP 遺伝子の葉緑体ゲノムへの導入を確認することができた。コスレタスとグリーンウェーブレタスの葉緑体形質転換効率は、それぞれ 4%、6.7%であった。以上の結果から、コスレタス、グリーンウェーブレタスの葉緑体形質転換系を確立することができた。

hTRX1 遺伝子を導入するための葉緑体形質転換ベクター（コドン非改変型）とレタス葉緑体利用頻度表を参考に作製したコドン改変型 hTRX1 遺伝子導入用形質転換ベクター（コドン改変型）を用いて、コスレタス、グリーンウェーブレタスの葉緑体形質転換を行った。コスレタス、グリーンウェーブレタスともにコドン非改変型、改変型 hTRX1 遺伝子の導入に成功したことを、PCR により確認した。

先行して得られたコドン非変換型 hTRX1 遺伝子を葉緑体ゲノムに導入した形質転換コスレタスにおける hTRX1の発現を SDS-PAGE とウェスタンブロッティングにより解析した。その結果、hTRX1 タンパク質はレタス葉の可溶性タンパク質の約 3%を占めていることが明らかになった(図 1)。

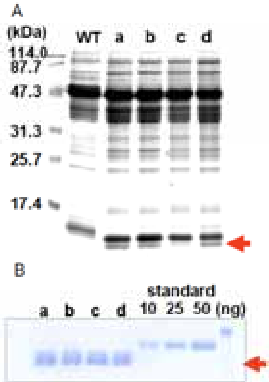


図 1　形質転換レタスにおける hTRX1 発現解析

A はレタス可溶性画分のタンパク質を 16 μg を SDS-PAGE に展開し、CBB で染色した。泳動写真上の a～d は葉切片から再生された 4 個体を示した。B は a～d の可溶性タンパク質 4 μg を SDS-PAGE、ウェスタンブロッティングに用いた。定量のための精製 His-タグ融合 hTRX1 はそれぞれ 10、25、50　μg を用いた。赤矢印は hTRX1 のバンドを示している。

hTRX1 遺伝子葉緑体形質転換コスレタスの葉からの hTRX1 精製技術を確立した。葉から調整した粗酵素溶液の酸性処理(pH 4.5)、陽イオン交換クロマトグラフィー、疎水クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトフラフィーを用いて精製を行った。それぞれの精製課程で回収した画分を SDS-PAGE によって解析した。精製最終段階で、hTRX1 は CBB 染色で単一のバンドとして確認された。

（２）複合遺伝子導入による生育促進レタス葉緑体による外来タンパク質高発現系の開発（奈良先端科学技術大学院大学、近畿大学農学部）

タバコを FBP/SBPase 遺伝子導入により、光合成活性化を介した 1.5 倍の生育促進に成功している。この技術のレタスへの移行のため、まず、psbA プロモーターに FBP/SBPase 遺伝子を連結して(1)で確立した葉緑体形質転換法を用いて、レタス葉緑体ゲノムへの導入を行った。得られた選抜個体の PCR による導入遺伝子の確認を行った結果、いずれの株においても FBP/SBPase 遺伝子が導入されていることが確認された。さらに SDS-PAGE、ウエスタンブロッティングにより FBP/SBPase が高発現していることを確認した（図２）。

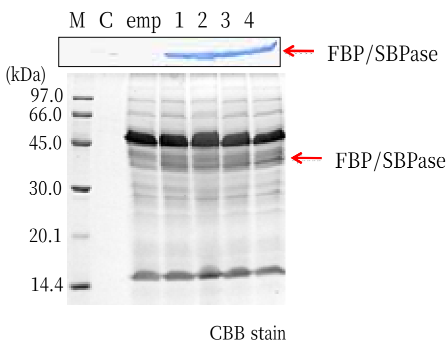


図２　形質転換レタスでの FBP/SBPase 発現の確認

FBP/SBPase 発現は生育促進を可能とするが、これ自身も外来タンパク質であることから、FBP/SBPase の過剰発現は目的外来タンパク質高蓄積を阻害すると予想される。タバコの研究から、生育促進には野生株の約 3 倍の FBP/SBPase 活性で十分であることが明らかになっており、目的タンパク質高蓄積と FBP/SBPase 導入による生育促進を同時に達成するためには、FBP/SBPase 発現量を生育促進効果が実現できる最小量（野生型の 2 倍の活性）に制御する必要がある。そこで、レタスでの FBP/SBPase 発現最適化プロモーターを決定するため、psbA、rrn、または psbA プロモーター下流の SD 配列(GGAGA)を

(GGAGG)および(GGACA)に改変した形質転換タバコを作出した。解析の結果、rrn プロモーターを用いることで､生育促進のための FBP/SBPase 発現量を達成することができると判断した。また、psbA プロモーターの SD を(GGAGG)に改変した株では、最大、野生型 psbA プロモーターの 10 倍であったことから､外来タンパク質高発現のための SD として使用できる可能性が考えられた。これらの結果から、レタスにおいてレタス生育促進を行いつつ hTRX1 を高発現させるためのベクターとして、psbA プロモーターに hTRX1、rrn プロモーターに FBP/SBPase を連結した形質転換ベクターを構築した。

（３）省エネ･生育促進光環境を実現するレタス用閉鎖型植物工場システムの開発（奈良先端科学技術大学院大学、大阪府立大学、三洋電機）

レタス生育促進と hTRX1 高蓄積のための光環境を解析した。NFT 方式で大塚ハウス肥料 A 処方の 1/2 濃度の養液と白色蛍光灯、赤色、青色 LED を用いた各光質での連続照射下で 4 週間生育させた hTRX1 遺伝子導入コスレタスの生育、hTRX1 蓄積量の解析を行った。その結果、白色蛍光灯と比較し、150 μmol/m^2/sec の赤色 LED で生育させた場合、生重量が約 2 倍に、レタス１株当たりの hTRX1 蓄積量が約 4 倍に増加した。

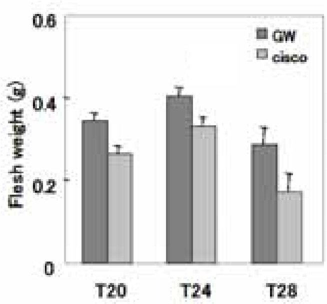


図 3　レタスにおけるサーカディアン共鳴現象　T20、24、28 は明期/暗期がそれぞれ 10/10、12/12、14/14 時間を示す。

シロイヌナズナを用いた研究から、最適な概日リズムを刻ませることで、成長促進させることができることが報告されている。この概日リズムの制御による促進効果は、サーカディアン共鳴現象と呼ばれ、レタスで再現することを試みた。シスコレタスとグリーンウエーブレタスで実験を行った結果､概日リズムと一致する光周期では､一致しない光周期に対して、生重量が 20%以上増大した（図 3)。この光環境を正確に植物工場に移行するために、生育促進、hTRX1 蓄積が増加する光環境下での遺伝子発現パターンを用いて最適光環境診断アルゴリズムの構築を行うことにした。このアルゴリズムにより、植物工場で最適な光環境が実現されているか否かの診断を行うことができ、工場における光環境設定を正確に行うことができる。まず、MS 培地で生育させたレタスを用い、EST ライブラリーを構築した。EST ライブラリーより、約 18,000 クローンの EST 配列解読を行った｡約 30%が独立した遺伝子情報を持つ遺伝子であった｡EST 配列情報をもとにレタス EST オリゴチップデザインを行った。

（４）レタス産生 hTRX1 の評価および医薬品原料としての開発（京都大学ウイルス研究所、レドックス・バイオサイエンス株式会社）

レタスで産生させ、精製した hTRX1 のインスリン還元活性を大腸菌産生のものと比較したところ、同等のインスリン還元活性を示した（図４)。このことから、hTRX1 葉緑体形質転換レタスが、大腸菌産生のものと同等の

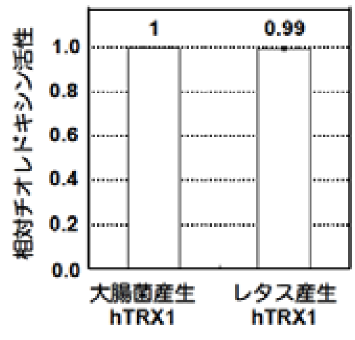


図４　レタス産生 hTRX1 の機能性解析

hTRX1 を生産する能力を持つことが分かった。

３－５－３－２　達成度

要素技術	（１）レタス葉緑体における hTRX1 産生法の開発
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標 70%達成 レタス葉緑体における hTRX1 産生に成功した。パイロットスケールでの hTRX1 精製法を確立した。
要素技術	（２）複合遺伝子導入による生育促進レタス葉緑体による外来タンパク質高発現系の開発
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標 80%達成 FBP/SBPase 遺伝子導入レタスの作製と外来タンパク質高発現ベクターの構築を行った。
要素技術	（３）省エネ・生育促進光環境を実現するレタス用閉鎖型植物工場システムの開発
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標 80%達成 レタス生育促進と外来タンパク質高発現のための光環境候補を同定した。また、プロトタイプ植物工場試作を開始した。
要素技術	（４）レタス産生 hTRX1 の評価および医薬品原料としての開発
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標 70%達成 レタス産生 hTRX1 の機能性試験を行った。

３－５－３－３　特許出願状況等

表 2. 特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被引用度数	特許等件数(出願を含む)	特許権の実施件数	ライセンス供与数	取得ライセンス料	国際標準への寄与
（1）	-	-	1	-	-	-	-
（2）	-	-	-	-	-	-	-
（3）	1	-	-	-	-	-	-
（4）	-	-	-	-	-	-	-
計	1	-	1	-	-	-	-

３－５－４　事業化、波及効果についての妥当性

３－５－４－１　事業化の見通し

当初中間目標として、１）レタス産生 hTRX1 を、大腸菌での遺伝子組換え hTRX1（医薬品原薬）と比較して、その生物活性を評価する、２）医薬品原薬としての用途調査、市場性調査、３）各精製純度とコストを考慮したレタス産生 hTRX1 の商品開発案の決定を設定した。上述したように、１）の生物活性評価では、大腸菌生産 hTRX1 とレタス生

産 hTRX1 間で生物活性に殆ど差異は認められなかった。臨床試験申請における「同等性」の確認の手順を検討するとともに、今年度のさらなる活動として両者の２）医薬品原薬としての用途調査、市場性調査を実施中であるとともに、事業化に向けた生産基礎データの取得を計画中である。２）との関連もあり、３）各精製純度のレタス生産 hTRX1 による商品開発案を策定中である。これまでに商品開発案として挙がっているものとして、hTRX1 が肺障害、糖尿病、脳・腎臓虚血再灌流障害などの酸化ストレスに関係する疾患の防護に関与することが分かっていることから、これら疾患に対する医薬品を第一候補としてレタス産生 hTRX1 の事業化を想定している。また、これらの疾患防護や活性酸素防護に効果を示す機能性食品としての、または活性酸素防護効果のある化粧化剤としての hTRX1 含有レタス抽出物の商品化案も考えている。さらに、酸化ストレス緩和効果のある野菜としてレタスそのものの商品化も検討している。これには、GM 作物が敬遠される国内での販売よりも、GM 作物が受け入れられやすい米国などをターゲットとしたほうが効果的であると期待している。今後、これらの商品化を目指したレタス産生 hTRX1 と hTRX1 含有レタス抽出物の研究開発を行っていく。本プロジェクトチームはレドックス・バイオサイエンスと植物ハイテック研究所の 2 企業を擁しており、本プロジェクトの成果をこれらの 2 企業の具体的事業の中に位置付けた。今後両企業は連携を強めて行くことで合意しており、上記案の商品の直接的な事業展開、またはこれらに興味を持つ企業との交渉やマネージメントを行っていく。実際に、本プロジェクトと知財に関して関心を持つ国内及び海外大企業が存在するので、適切な交渉を検討中である。

３－５－４－２　波及効果

代表的な遺伝子組換えタンパク質製剤であるエリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、インターロイキン２などは、それぞれ薬価ベースで 1250 億円、385 億円、130 億円の市場、抗体医薬は 440 億円市場と言われており、バイオ医薬品は今後も急増すると予測される。これらの状況から、肺障害、糖尿病を含む疾患に対する医薬品としての hTRX1 は、糖尿病患者、喫煙による慢性閉鎖性肺疾患の世界的患者数がそれぞれ、1 億 8000 万人、2100 万人であることから、新しい治療薬、予防薬として期待されるだけではなく、大きな市場開拓が期待できる。さらに、hTRX1 生産量増加、コスト低下が GM レタスを用いることで実現すれば、hTRX1 が世界的規模でのバイオ医薬品市場開拓可能な新しい医薬用タンパク質として、波及効果が期待できる。以下に、これまでの我々の研究成果から得られた波及効果を示す。

１)本年 3 月末の日本農芸化学会大会発表において記者発表演題に選出され、また 4 月下旬のマスコミ記者発表（京大にて）を行い、各マスコミで報道された（添付資料参照)。

２)2 つの大手企業連合体より、健康野菜、化粧品、医薬品原薬としての国内外での事業化も視野に入れた開発および国内での GM 国民理解促進活動への活用などへの参加の申し入れがあった。

３)報道の効果もあり、本プロジェクト参加研究者である京大大学・淀井と奈良先端大・横田に個別に植物工場によるレタス生産会社より hTRX1 産生レタス生産協力申し込みがあった。その一部は全体プロジェクト松村リーダーを通したものであった。また、レタスではない、hTRX1 の植物生産に関して、海外大企業 S 社が京都大学・淀井らに打診・

交渉した経緯(2002-2004 ビジネス上不成立)があり、本プロジェクトの国際的関心は高いと言える。

４．【機能性成分生産植物の研究開発】

４－１「高機能性物質生産イチゴに関する技術開発」

４－１－１　目的

本課題では，母乳に含まれる高機能性物質のうち，生活習慣病予防およびウイルス性下痢症軽減効果が期待できるアディポネクチン，αラクトアルブミン，ムチンの 3 種類の物質を高発現する遺伝子組換えイチゴを作出する（図 1:要素技術(1)～(3)）。さらに，閉鎖型人工環境下で目的物質を高蓄積・高生産させるための遺伝子組換えイチゴの最適栽培条件の解明と，実用規模生産のための多段式栽培システムの開発を行う（図 1：要素技術(4)～(6)）。

イチゴはランナーで増殖するため，世代を経ずに同一系統の大量増殖が容易である。加えて，草丈が低く，低光強度条件で栽培が可能なため，人工環境下での多段式栽培により単位面積当たり高い生産性が期待出来る。収穫されたイチゴ果実は，凍結乾燥粉末化後，様々な形態の製品に利用できる。イチゴが元来保有しているビタミンC，エラグ酸などの機能性物質と新規発現機能性物質を含む複合素材として，イチゴの嗜好性と生食性を生かした機能性食品やサプリメント等の製品開発が展開可能である。

なお，本研究には事業化を見据え，北海三共㈱が種苗権を有し，販売している四季成り性品種“エッチエスー138”を用いた。本課題は有用物質発現イチゴの開発で実績がある北海三共㈱と医薬品製造施設や大規模温室の建設エンジニアリングに実績がある鹿島建設㈱を中心に分担して行った。

図１　研究開発の全体概要と要素技術

４－１－２　目標および成果・達成度

表 1．目標および成果・達成度

中間目標・指標	花托高発現遺伝子を単離し，その転写領域の解析を行う。また，イチゴウイルス由来プロモーターについてはイチゴ果実における発現解析を終了する。
設定理由・根拠等	イチゴ果実は，花托組織が肥大化したものであるため，他植物の果実特異的プロモーターは高発現しない。そこで，新規にイチゴ果実（花托）高発現プロモーターの取得が必要。
成果	イチゴ花托においてカルコンシンターゼ（CHS）の高発現を同定。この遺伝子を単離，プロモーター領域を確定した。別戦略として，イチゴの DNA ウイルスのプロモーター解析を行い，これまでイチゴ果実で最も活性の高い CaMV35S プロモーターより約 2 倍高いプロモーター活性を確認した。
達成度	19 年度目標：100%到達，中間目標：100%到達
最終目標・指標	花托高発現プロモーターを同定する。
設定理由・根拠等	イチゴでは，従来用いられている CaMV35S プロモーターより高い発現を示すプロモーターが確認されていないため，果実においてより高発現するプロモーターが必要であった。
中間目標・指標	35S プロモーターに制御された目的の高機能性物質遺伝子が 200ng/g 生重量以上の発現量を示すイチゴ系統を作出するものとする。
設定理由・根拠等	アディポネクチン(Adi)を例にとると，母乳のアディポネクチン含量の平均値は 10～20ng/ml（Lisa et al,2006）であることから，1 回の授乳量（100ml）中の Adi 含量は 1,000-2,000ng となる。同量の Adi をイチゴ果実 1 個（約 10g）から摂取するために必要な発現量は 200ng/g 生重量となることからこの値を目標値として設定した。
成果	3 種類の母乳由来タンパク質（アディポネクチン，αラクトアルブミン，ムチン）遺伝子を導入した組換えイチゴをそれぞれ 100 系統以上作出し，解析した。このうちアディポネクチン遺伝子導入イチゴは，200ng/g 生重量（果実）以上の発現を確認した。
達成度	19 年度目標：100%到達，中間目標：100%到達
最終目標・指標	高機能性物質が 600ng/g 生重量以上蓄積するイチゴを作出する。また，複数の高機能性物質を同時に発現する組換えイチゴを作出し，当該発現物質の目的とする機能性の保持を確認する。
設定理由・根拠等	イチゴ栽培のコスト計算および販売見通しより、事業化には

	目標設定値の発現が必要と判断した。
中間目標・指標	人工環境下におけるイチゴの栽培技術を確立するとともに，地上部環境を適値に制御し，従来の開放系栽培と比較して，単位面積，単位期間あたりの収穫量を 30%以上増加させる。
設定理由・根拠等	人工照明を光源とした閉鎖型人工環境下で，イチゴの果実収穫までを対象とした研究や商業施設はこれまで例が無かった。従来のハウス栽培ではイチゴ果実の収穫量は 20%程度変動する。光環境，気温，CO_2 濃度を最適化した人工環境下で安定的に栽培すれば，従来の年平均収穫量の最大値の 30%増以上を生産することが可能と考えた。
成果	地上部の光強度，明期，気温，CO_2 濃度を変えた栽培試験の結果から，日積算光量 19.4 mol m^{-2}，気温 23℃，CO_2 濃度 1,000 μmol mol^{-1} の栽培環境条件で，ハウス栽培での同品種の年平均収穫量の最大値である 4.0kg/m^2 に対して 42%増となる年 5.7kg/m^2 の収穫量を得た。
達成度	19 年度目標：100%到達，中間目標：100%到達
最終目標・指標	目的物質の生産・蓄積を安定かつ最大化する栽培条件を解明し，中間目標段階において確立した栽培方法を適用した場合に対して高機能性物質の生産･蓄積量を 20%以上向上させる。高発現組換えイチゴ作出技術の成果と合わせて，高機能性物質の蓄積量を 720ng/g 生重量とする。
設定理由・根拠等	イチゴ果実の総タンパク質濃度は環境ストレスを受けた際に通常と比較して約 3～25%増加したという報告がある（Gulen and Eris，2003）。そこで，総タンパク質が増える条件で目的タンパク質も増加すると仮定し，環境ストレス付与による目的タンパク質濃度の増加率を最大 25%と考え，目標値としては 20%以上とした。
中間目標・指標	栽培室内環境の空間的な分布の実態を明らかにするとともに，イチゴの生育に与える影響について把握する。
設定理由・根拠等	大量生産のために広い栽培室内で多段式栽培を行うことを想定した場合，栽培空間が広くなるほど気温や風速の不均一性が生じ易く，植物の生育に影響を与えることが懸念される。しかし，栽培室内での環境の不均一性に関する研究報告は非常に少ない。そこで，多段式栽培が行われる栽培室内における環境分布の実態解明が必要である。
成果	蛍光灯を光源とする多段式栽培装置が設置された栽培室をモデルケースとして，多様な空調と照明設定条件下で気温，湿度，風向・風速，CO_2 濃度の多点環境計測を行い，各環境要素の空間分布を解明した（19 年度末時点）。また，栽培室

	内の環境分布とイチゴの生育との相互関係を解析した。
達成度	19 年度目標:100%到達, 中間目標:80%(年度内 100%達成可能)
最終目標・指標	栽培環境シミュレーション技術を中心とした栽培環境構築技術を確立する。また，閉鎖型遺伝子組換え植物工場に適した排水処理システムを開発する。これらの成果を基に，高効率栽培システムのモデルとなる施設の仕様を提示する。
設定理由・根拠等	植物体や多段式栽培装置の影響など，植物工場に特有の条件を考慮出来る環境シミュレーション技術はこれまでに無く，環境の不均一性を最小限に抑えた最適な栽培室を設計検討するための手法として必要である。また，生産規模を拡大した場合，水耕栽培に伴って発生する排水処理コストの増大が懸念され，より低コストな排水処理システムが求められる。

４－１－３　成果，達成度

４－１－３－１　個別要素技術成果

（１）高機能性物質を花托において高発現させる技術開発（北海三共，産総研）

花托組織（果実）で高発現するプロモーターを探索するためにイチゴ内在性遺伝子からの探索とイチゴウイルスからの探索の二つの戦略を用いた。

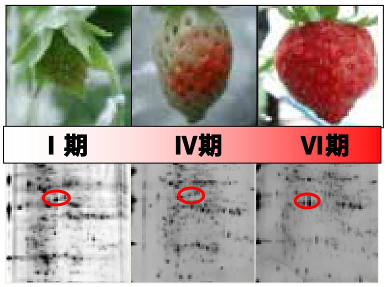


図 2　高発現タンパクの探索

果実において高発現するタンパク質遺伝子の同定は，果実の成熟ステージを 6 期に分け，抽出したタンパク質の二次元電気泳動を行い（図 2），成熟果実において高発現が推定される 4 種類のタンパクスポットを抽出して,アミノ酸解析を行った。得られた配列情報より，最も発現量が高いと推定されたカルコンシンターゼ(CHS)遺伝子の解析を進め，5’上流の転写調節領域の塩基配列を決定した。

一方，イチゴを宿主とする DNA ウイルス，ストロベリーベインバンディングウイルス(SVBV)のプロモーターFLt (Full)とその内部断片である SV10 をそれぞれレポーター遺伝子であるβ-glucronidase(GUS)遺伝子の上流に連結し，イチゴへ導入した。得られた 108 系統から 22 系統を選抜し，組織化学的解析を行った結果，CaMV35S プロモーターと同様に全組織で GUS 発現による染色が確認され，特に SV10 系統で強い染色が確認された。さ

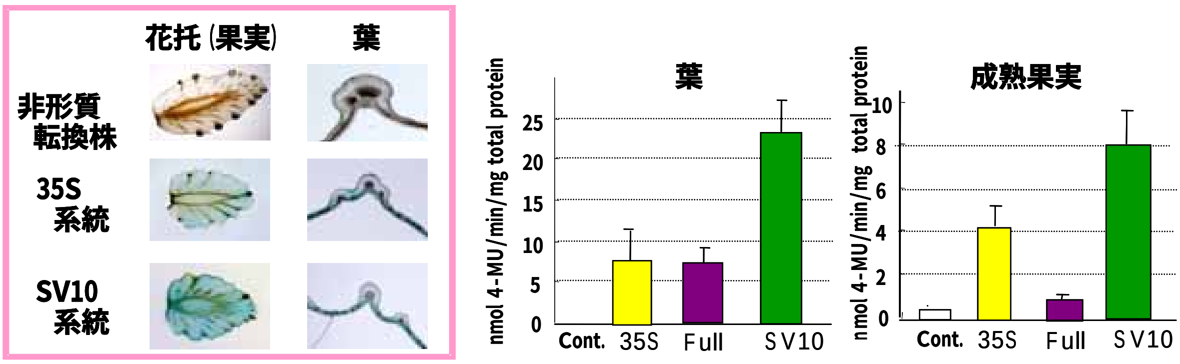


図 3　GUS 組織化学染色と活性比較

らに，定量的にGUS活性を測定した結果， SV10系統は35S系統に比べて,葉組織において3倍，果実において約2倍高い活性が認められ，SV10の有効性が確認された（図3)。

（２）高機能性物質高発現組換えイチゴの作出と発現解析

（北海三共，産総研，北海道大学）

○ヒトアディポネクチン(hAdi：生活習慣病予防効果)

hAdi遺伝子をCaMV35Sプロモーター制御で発現する形質転換イチゴを101系統作出し，遺伝子の導入・転写等の分子生物学的解析に加え，hAdi抗体を用いた果実における発現量を解析した結果，中間目標とする200ng/g生重量以上の発現を示す系統を8系統得た。hAdiは，生体内で3～12量体以上の多量体を形成し，その多量体形態によりグルコースホメオスタシスにおける作用機序が異なることが知られている。そこで，イチゴ果実発現hAdiのnative-western解析を行い，多量体形成様式を解析している（図4)。

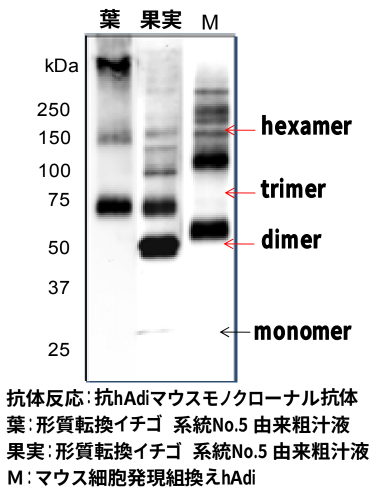


図4 多量体解析

○ウシαラクトアルブミン(bα-LA:コレステロール低下作用，胃粘膜保護効果等)

bα-LA遺伝子については，CaMV35Sプロモーター制御の形質転換イチゴを137系統，上述のイチゴウイルス由来SV10プロモーター制御の形質転換イチゴを136系統作出した。作出した形質転換体の葉および果実のELISAによる発現解析を行った結果(図5),35S 系統の中で最も高い発現を示す個体でも中間目標設定値（200ng/g 果実生重量）に到達できなかった（34ng/g果実生重量）が，SV10系統においては，果実での発現量が200ng/g以上を示す系統が得られた(259ng/g果実生重量)。

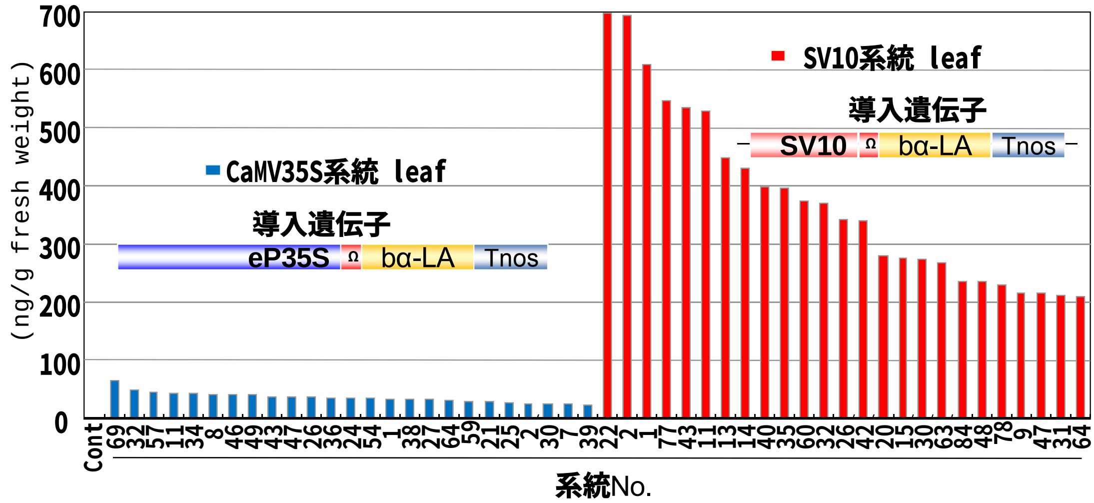


図5 bα－LA発現量（(DAS-ELISA法による解析)

○ウシムチン（bMUC1：ロタウイルス感染阻害，コレステロール吸収阻害等)

bMUC1遺伝子については,CaMV35Sプロモーター制御の形質転換イチゴを109系統,SV10プロモーター制御の形質転換イチゴを40系統作出した。ウシムチンの市販抗体はなく，

ヒトムチン抗体との交差性がないことを確認したため，現在，形質転換イチゴの発現解析のための抗体作成・検出系構築を行っている。

（３）高機能性物質高発現組換えイチゴの機能性評価試験

（北海三共，藤田保健衛生大学，北海道大学）

イチゴ発現タンパク質のロタウイルス感染防御効果の確認方法として，乳飲みマウス（生後 5-7 日）の感染モデル系を確立し（図 6），11 株のロタウイルスそれぞれの 50%下痢症誘発ウイルス量を決定した。この感染系を用い，非組換えイチゴ果実の粗汁液が抗ウイルス活性を示すことを確認した。また，ウシαラクトアルブミンとウシムチンの投与効果の評価基準を確定するために，経口投与したマウス血清における血糖値，トリグリセライド値等の傾向確認もおこなっている。ヒトアディポネクチンは，レトロウイルスベクター系を用いた in vitro 活性評価系を確立した。さらに，効果指標となる遺伝子を探索するために，経口投与マウスの肝臓・脾臓・小腸における遺伝子の発現抑制および亢進の動向をマイクロアレイ解析にて確認した（図 7）。今後は，アディポネクチン発現イチゴジュースの経口投与試験とペプチドアレイ等の検討を行う予定である。

図 6　乳飲みマウス・ウイルス感染試験の様子

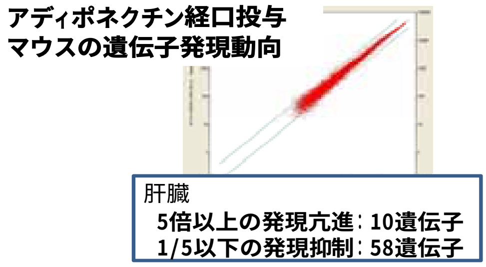


図 7　マイクロアレイ解析

（４）高機能物質生産のための最適栽培条件の解明（鹿島建設，千葉大学）

本課題で用いる四季成り性品種の光合成速度を高く維持できる環境条件を探索するため，白色蛍光灯下で明期，光強度，気温，CO_2 濃度を変え，葉の増加期（栄養成長期）と果実生産期（生殖成長期）のイチゴ個体群の光合成速度を 3 日間測定した。日平均気温 23°C，CO_2 濃度 1,000 μmol mol^{-1} の条件では，いずれの成長期でも光強度が高いほ

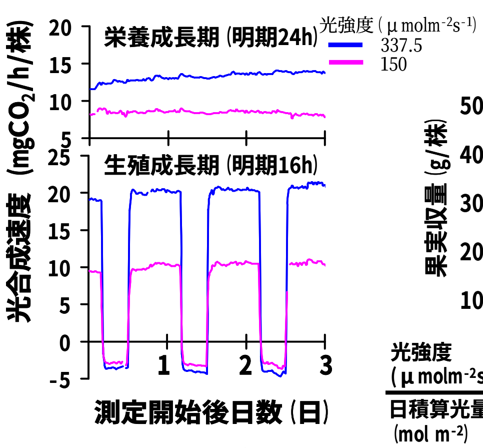


図 8　光環境と光合成速度

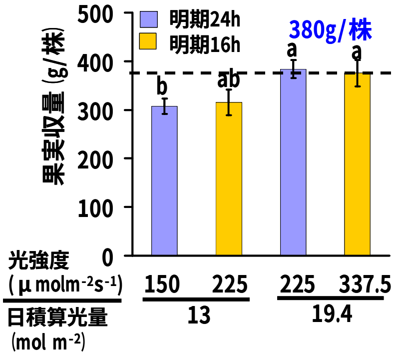


図 9　日積算光量と収量

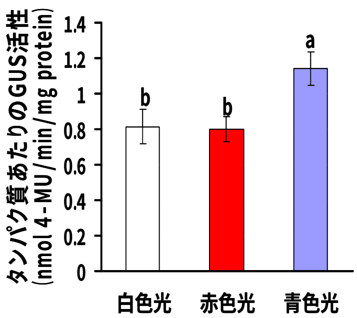


図 10　光質と GUS 活性

ど（337.5 μmol m^{-2} s^{-1}）高い光合成速度を示し，自然日長よりも長い明期（16h，24h）でも，測定期間中の光合成速度は低下しなかった（図 8)。この結果を踏まえて，閉鎖型生産施設で上述の日平均気温と CO_2 濃度を設定し,栄養成長期から生殖生長期まで連続した栽培試験を行い，最適な明期と光強度の組み合わせを探索した。その結果，日積算光量（明期×光強度）19.4 mol m^{-2} の条件下で最も成長速度が速く，１株当たり平均 380g の果実収量（栽培日数 90 日）が得られた（図 9)。この値から，年 3 作，栽植密度 5 株/m^2 として年間収穫量を計算すると，従来のハウス栽培における同品種の年間平均収穫量の最大値 4.0kg/m^2 に対して 42%増となる年 5.7kg/m^2 であった。

目的タンパク質遺伝子と同じプロモーターをもつ GUS 遺伝子を導入したイチゴによる栽培試験において，上記環境条件の範囲内で成長速度と果実収量の増加は確認出来たが,果実の GUS 活性は増加しなかった。そこで,新たな環境要素として光質に着目し，白色光，赤色光，青色光（光強度は 225 μmol m^{-2} s^{-1} で統一）下で栽培したところ，青色光下で栽培したイチゴ果実の GUS 活性が他の光質下のものより高くなり（図 10)，光質の調節により目的物質の蓄積濃度が増加する見通しを得た。

（５）多段式栽培における室内環境の実態解明とシミュレーション技術の開発

（鹿島建設，千葉大学，産総研）

蛍光灯を光源とする上下 2 段の栽培棚が 4 列導入された栽培室（W3m×D9m×H2.4m）(図 11)をモデルケースとして，気温，湿度，風向・風速，CO_2 濃度の環境計測を行い，各環境要素の空間分布を解明した。気温は，照明装置からの発熱の影響により光強度や風量の設定条件によって空間分布が大きく変化し，栽培室内で約 3～6℃の差が生じた。また,排気側の栽培室上部で特に気温が高くなる傾向を示した（図 12)。この結果を踏まえて，同栽培室内の環境分布とイチゴの生育および果実収量との関係について解析を行うとともに，3～6℃の気温条件の差異が果実収量に与える影響について詳細に把握するため栽培試験を実施している。また，環境シミュレーション技術に関しては，モデルケースを対象に気流数値解析を用いた計算モデルの構築を行い，風速分布と気温分布に関する再現性の検証を行った(図 13)。

図 11 栽培室内の状況(上)と栽培棚の配置(下)

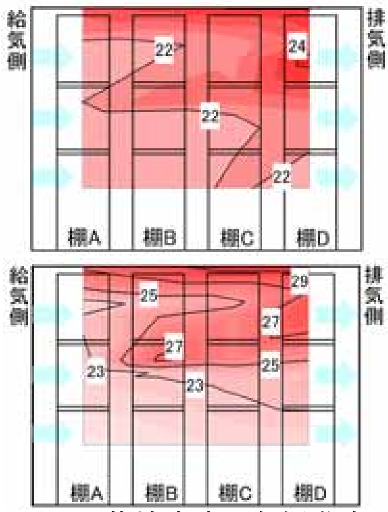


図 12 栽培室内の気温分布
(上:風量 100%，下:風量 60%)

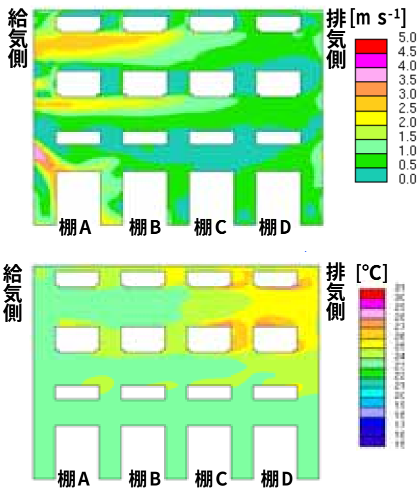


図 13 気流数値解析によるシミュレーション結果
(上:風速分布，下:気温分布)

（６）遺伝子組換え植物工場に適した排水処理システムの開発（鹿島建設）

遺伝子組換え植物工場に適した省エネ型の排水処理システムとして，フィルターと高圧蒸気滅菌処理を組み合わせたシステムを考案した（図 14)。従来の熱処理法では，排水全体を高温滅菌処理の対象としているが，本システムでは不活化の対象である花粉や種子をフィルターで捕捉した後，スチームによる高圧滅菌処理を行う。従来法に比べて不活化処理に必要なエネルギーコストの削減が期待でき，今後，システムの試作と性能評価を行う。

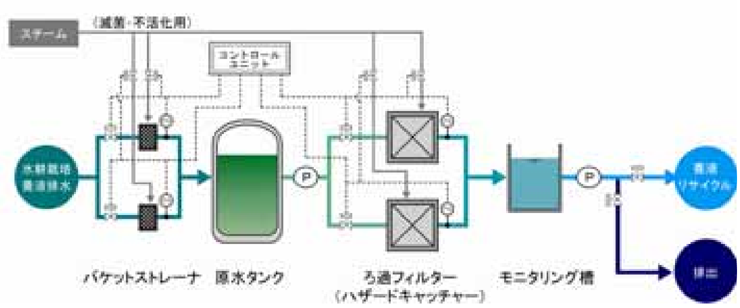


図 14　フィルター方式の省エネ型排水不活化システム概要

４－１－３－２　達成度

要素技術	（１）高機能性物質を花托において高発現させる技術開発
達成度	19 年度目標：100%到達，中間目標：100%到達
要素技術	（２）高機能性物質高発現組換えイチゴの作出と発現解析
達成度	19 年度目標：100%到達，中間目標：100%到達
要素技術	（３）高機能性物質高発現組換えイチゴの機能性評価試験
達成度	19 年度目標：100%到達，中間目標：80% (年度内 100%達成可能)
要素技術	（４）高機能性物質生産のための最適栽培条件の解明
達成度	19 年度目標：100%到達，中間目標：100%到達
要素技術	（５）多段式栽培における室内環境の実態解明とシミュレーション技術
達成度	19 年度目標：100%到達，中間目標：80% (年度内 100%達成可能)
要素技術	（６）遺伝子組換え植物工場に適した排水処理システムの開発
達成度	19 年度目標：100%到達，中間目標：100%到達

４－１－３－３　特許出願状況等

表 2. 特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被引用度数	特許等件数（出願を含む）	特許権の実施件数	ライセンス供与数	取得ライセンス料	国際標準への寄与
(1)～(3)	-	-	1	-	-	-	-
(4)～(6)	2	-	1	-	-	-	-
計	2	-	2	-	-	-	-

４－１－４　事業化，波及効果についての妥当性

４－１－４－１　事業化の見通し

2012 年に閉鎖型遺伝子組換え植物工場のパイロットプラントを設計・建設し，機能性食品等の素材として使用するための食品安全性試験に供試するための高機能物質複合発現イチゴの試験栽培生産を行う。2014 年までに組換えイチゴの商業生産の許認可に向けた試験・申請を行う。許認可を得た後，試供品生産と試験販売による市場調査，販売方法の検討等を行う。商業生産のための実生産開始は開発後 5 年目を目標とする（図 15)。

本成果で達成したイチゴ果実生産量年 5.7kg/m^2 と最終目標値である高機能性物質発現量 720ng/g 生重量を基に，母乳 100ml に相当するアディポネクチン 1.5μg を含有する健康機能性食品を，毎日 1 万人が摂食すると想定した場合，必要な栽培面積は約 1,300m^2（3 段式栽培の場合，必要な栽培室面積は約 433m^2）と試算される。生活習慣病予防食品の市場は年 600 億円以上と推定されている。現在，アディポネクチン含有機能性食品は販売されておらず，試薬 100μg の価格が 10 万円前後と高額であるため，競合商品はない。高機能性物質生産イチゴの生産コストおよび販売価格の検討は今後の課題であるが，上記試算における健康機能性食品の平均単価を 500 円と仮定すると，年間売上金額は約 18 億円となり，市場のシェア 3%を占める事業規模と試算される。

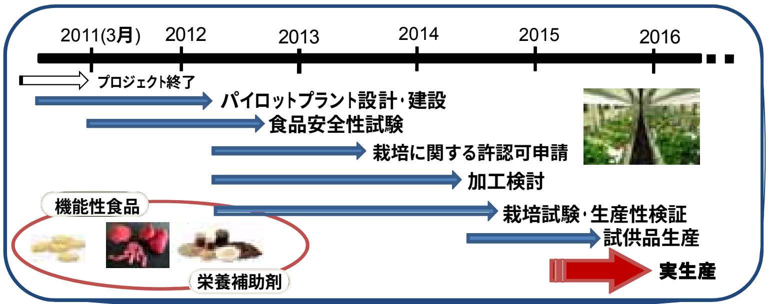


図 15　実生産までのスケジュール

４－１－４－２　波及効果

本研究により確立される組換えイチゴによる高機能物質生産技術は，より幅広い物質生産に活用できる。特に，イチゴ果実は生食可能な素材であることから，高齢者や乳幼児にとって摂取が容易な医薬品原材料の開発も可能である。本研究では可食性の花托部分に発現させたタンパク質を，精製することなく食品として供することを前提に技術開発を行っているが，医薬品原材料など，目的物質の用途に応じて発現タンパク質を精製することにより，多様な有用物質の生産に対応することが出来る。

また，栽培環境シミュレーション技術は，植物工場の計画段階で，環境の不均一性を抑えた最適な栽培室や空調設備の設計検討に広く活用することが出来る。また，本研究の成果は気流や温度の均一性が求められる各種生産施設内の環境予測評価と設計手法としても活用できる。遺伝子組換え植物工場に適した排水処理システムとして考案したフィルター方式の省エネ型排水不活化システムは，従来の熱処理法に代わる排水処理手法として，国内外の遺伝子組換え植物を扱う研究･生産施設への展開が見込まれる。その他，医薬品原薬製造の精製過程において，活性炭吸着工程後に行われる活性炭除去と滅菌処理を兼ねた装置として本システムを応用出来ることが期待されている。

４－２「組換えレンギョウ等による高機能性成分生産及び閉鎖系での栽培システム構築の開発」

４－２－１　目的

目的高機能性成分はゴマのリグナン類の代表的化学物質（2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane）を対象物質としている。機能性ゴマリグナン類は 20 世紀前半に発見されているが、その後さしたる応用もなく、２０数年前の生物化学プロセスでの活性構造の発見を糸口に、抗酸化活性や脂肪酸のβ酸化促進などの有用生理機能の科学的研究をはじめ種々の機能の解明が取組まれて、漢方で示される「補陰・潤腸・補肝腎の効能、虚弱体質や高齢者・病後・腸燥便秘への効能」の効能の内、ゴマリグナン類による効能の科学的証明が進んでいる。

既に代表的機能性リグナン類であるセサミンを用いた栄養補助食品が販売されている。この製品は小麦胚芽油のソフトカプセル製品で、高齢化社会を背景にする予防医療・健康寿命の伸長等の国民ニーズと期待効果に適合し、現在の市場では末端市場価格で２００億円を越す需要があり、需要は今後も伸びる見込みである。

ゴマリグナン類はゴマ種子の微量成分であり、含量を増した最新品種ゴマでも種子中に１％に満たない含有量であるので、需要の伸張に対して量と経済性に問題を呈している。

本研究開発はゴマの様に種子ではなく、モクセイ科レンギョウ等の葉にゴマリグナン類の生成能力を付与した組換え植物を創出し、閉鎖系施設にて茶の様に栽培して年間に複数回の葉の収穫と、それによるゴマリグナン類の精製工程の小規模化なども含む経済的供給を目的としている。

図１．レンギョウ

４－２－２　目標および成果・達成度

表１．目標および成果・達成度

中間目標・指標	①　目的の組換え植物チョウセンレンギョウ候補を獲得 ②　非組換え植物モクセイ科レンギョウ属チョウセンレンギョウの生成物質「ピノレジノール」生産性向上の栽培条件が得られている。
設定理由・根拠等	①　サントリー（株）は、ゴマ種子で二次代謝物ピノレジノールから 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane が生合成されることを解明し、この生合成酵素遺伝子の配列と活性機構を既に特許出願済み。 ②　宿主植物レンギョウ属の二次代謝経路は米国科学者が報告、またチョウセンレンギョウの葉に「ピノレジノール」の生成が多いことを日本の科学者が報告。 ③　レンギョウの組換え体作製技術（カルス化、再分化等）はモデル植物「シロイヌナズナ」の公開報告に比べて極めて参考知見が少ないがサント

	リー（株）の関連企業の途中知見の活用が可能。 ④ 従って、宿主植物をレンギョウとする 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane 生成能を持つ組換え植物創出を要素技術課題とした。 ⑤ ②の日本の科学者の報告によると、チョウセンレンギョウの葉のピノレジノールとその代謝物の量は、定植地の北海道と名古屋でそれぞれ約 9%と約 15%の差があり、栽培条件と葉の収穫時期による生成量向上の可能性が高いと判断した。 ⑥ 栽培条件と植物二次代謝物の量と分布の定量的把握によって、効率的な栽培条件の策定が可能となる。大阪大学のメタボリックプロファイリング分析方法の適用によってこれが可能となるので最適栽培条件の策定を上記④と並立する要素技術課題とした。
成果	[組換え植物について] ① 先行事例の無い宿主植物レンギョウ属並びに代替宿主オリーブ等の組換え体作製に要する基盤技術を確立。 ② 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane 生成とレンギョウ属の内因性競合代謝経路抑制を目的とした多重性ベクターを構築した。 ③ 上記ベクターのモデル植物シロイヌナズナやレンギョウ培養細胞を用いたモデル組換え実験では満足する発現を得た。 [栽培条件について] ④ 平成 19 年度に設定した評価用栽培条件下で、光条件の変更、青色光の照射が非組換え植物チョウセンレンギョウの「ピノレジノール」生産性向上にコントロール対比約 2 倍の増加効果のあることを確認した。 ⑤ 平成 19 年度に良好な結果を得た水耕栽培装置はその後の継続栽培で木本性宿主植物に適する良好な結果を得た。 ⑥ 実用化先行試験として栽培用苗の経済的育苗法と工業的な 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane 精製（回収率約 90%）の見通しを得た。
達成度	19 年度目標:100% 中間目標:（年度内には 100%達成可能）
最終目標・指標	① 閉鎖系栽培に於ける 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane 生産能力の第 1 目標値は 9g/m^2/year（品種改良ゴマに対して約 10 倍量） ② 茶の様な栽培方式で閉鎖系栽培施設への適合と年間に複数回の収穫による効率化方策が出来ている。
設定理由・根拠等	① 宿主植物チョウセンレンギョウのピノレジノールならびにその主要代謝物は葉に 8.9～14.5g/100g あり、同程度の 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octan

	e 生成を期待。 ② 宿主植物は植栽に用いられ葉の収穫量データが無いので、茶葉平均収穫量の 207g/ ㎡/year の 50%程度で試算すると 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane 約 9g/㎡/year が目標値。閉鎖系栽培は全環境制御であるので、栽培条件による葉の収穫量× 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane 含有量の最大値の条件設定はメタボリックプロファイリング分析方法を用いた解析で最適条件検索が可能。

４－２－３　成果、達成度

４－２－３－１　個別要素技術成果

（１）ゴマリグナン生産能を持つ組換え植物の創出

（財団法人サントリー生物有機科学研究所，サントリー株式会社）

１）レンギョウ類等宿主植物の対応技術

組換え体作製に必須の過程である宿主植物の無菌化、カルス化乃至再分化については、サントリー㈱関連企業から得た知見では再分化に難があり、ホルモンバランスや抗生物質による選抜条件を改善することでレンギョウ属ならびに代替宿主オリーブ、エゾウコギについての宿主対応技術を確立した。

２)組換えチョウセンレンギョウの作製

①　ゴマ種子とレンギョウはピノレジノールからそれぞれ異なる生合成を行うので、レンギョウに 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane 生成能力賦与を目的とした CYP81Q 遺伝子とレンギョウの主代謝酵素である PLR を RNAi 法で抑制する遺伝子の組換えを計画し、複数遺伝子発現ベクターを構築した。

②上記発現ベクターをモデル植物であるシロイヌナズナに導入したところ、CYP81Q の発現と PLR の発現抑制が確認できた。また、CYP81Q および PLR-RNAi 配列を導入した組換えチョウセンレンギョウの葉の培養細胞を作製し、CYP81Q の発現、PLR の発現抑制、および 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane の生成を検出した（図２）。また、レンギョウ葉での一過性発現でも同様の結果が得られた。これらの結果から、組換えレンギョウ類は 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane を生成する能力を有することが確認できた。

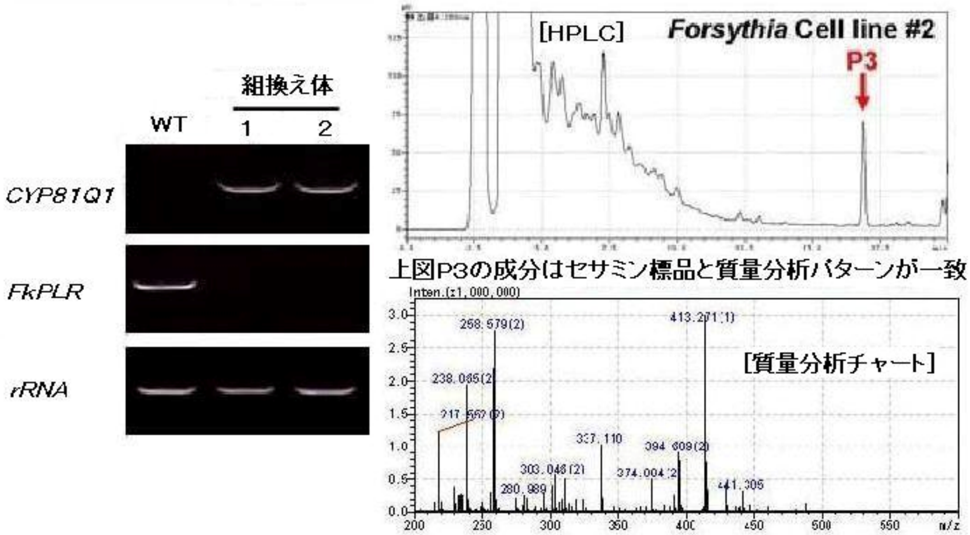


図２.レンギョウ培養細胞における CYP81Q 発現、PLR 発現制御、および 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane 生成

（２）閉鎖系インテリジェント栽培システムの開発

（国立大学法人大阪大学大学院小林研究室，財団法人サントリー生物有機科学研究所）

１）メタボリックプロファイリング分析法と青色照射の効果

目的とする 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane の最適生産条件を設定するために、前駆体となるリグナン類のメタボリック・プロファイリング技術を確立した。即ち、キャピラリー LC/MS を用いて 18 種のリグナン関連

表 2.レンギョウの二次代謝物と青色照射の効果

リグナン類[a]	内生量[b] (A) g/100g DW	青色光による増加率 (B) %	計算収量 (A×B/100) g/100g DW
ピノレジノール	0.0076	200	0.015
マタイレジノール	0.053	280	0.15
アルクチゲニン	2.6	150	3.9
エピピノレジノール	0.16	270	0.43
ピノレジノール配糖体	0.046	60	0.028
計	2.9	160	4.5

[a] 矢印は植物中での代謝経路を示す. [b] 白色蛍光灯で育成したレンギョウ葉に含まれる量を示す.

化合物を測定誤差 10% 以内で fmol まで同時検出定量可能となった。閉鎖系植物工場での最適栽培条件の探索を行い、青色光（LED, 80 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$）の連続照射７日後，表２に示すように、配糖体以外の主要リグナン類が 150～280% 増加することを見出した. この結果，主要リグナン類のレンギョウ葉乾燥重量当りの含有率が 2.9% から

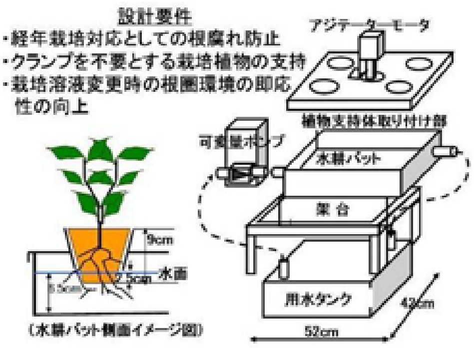


図３.人工植物支持体を用いた水耕栽培装置の設計

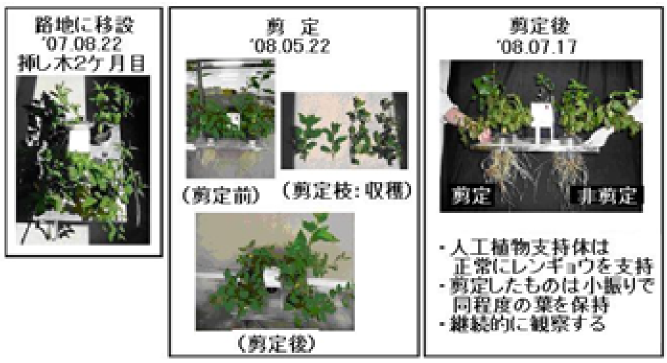


図４.年間栽培経過と垣根作りを前提にした剪定

4.5% まで増加した。

２）水耕栽培装置の設計と評価

既開発の水耕栽培装置の活用を計画していたが、装置の構造に由来する根腐れ、倒木が見られ、図３の様に設計変更を行った。その結果は倒木もなく根も正常に育成し、閉鎖系の栽培に適する垣根作りの可能性が認められた（図４）。

３）その他先行試験結果

① レンギョウは挿し木で増殖できるが、炭酸ガス濃度 330ppm と 1,200ppm の対比では発根・脇芽の効果は軽微で、通常大気で充分とした。また、人工植物支持体は自然素材とポリウレタンで構成しているので、挿し木発根時には水耕栽培液に特別の養分は必要が無く、図 7 の様な苗の製作を今後に適用できることが解かった。

② 組換え植物からの 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane の分離・生成についてその難易度を先行的に検証する予備実験を行った。機能性素材の活用であるので食品に使用可能なプロセスとして、溶媒としてヘキサン、クロロフォルムならびに ODS カラムクロマトとメタノールの展開によって 89%の回収率で添加した 2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane 分離精製が出来た。機能性素材精製の最終工程はこのメタノール溶液からの結晶化で得られる見通しが立った。

図 7.人工植物支持体を用いた挿し木による苗の製作

４－２－３－２　達成度

要素技術	（１）ゴマリグナン生産能を持つ組換え植物の創出
達成度	19 年度目標:100%　中間目標:（年度内に 100% 達成可能） 年度末には組換え植物体の獲得見込み
要素技術	（２）閉鎖系インテリジェント栽培システムの開発
達成度	19 年度目標:100%　（中間目標:年度内に 100% 達成可能） ピノレジノール生産性向上の光条件が完了

４－２－３－３　特許出願状況等

組換え植物獲得については、知財獲得のため途中の外部発表は控えている。

表 3. 特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被引用度数	特許等件数(出願を含む)	特許権の実施件数	ライセンス供与数	取得ライセンス料	国際標準への寄与
(１)	－	－	－	－	－	－	－
(２)	1	－	－	－	－	－	－
計	1	－	－	－	－	－	－

４－２－４　事業化、波及効果についての妥当性

４－２－４－１　事業化の見通し

本研究開発終了後の平成２３年にチョウセンレンギョウからのゴマリグナン等の抽出・精製に伴うコスト評価、平成２５年に工業化の検討を経て、平成２７年には製品化検討を行う予定。但し、ＰＡ（組換え植物の社会的受容性）の動向に留意したい。

４－２－４－２　波及効果

レンギョウは漢方の「連翹」で知られる効能の解熱剤・消炎剤・利尿剤・排膿剤・腫瘍･皮膚病以外に､ピノレジノールが体内でエンテロラクトン成分に変わり更年期障害の様々な症状、乳がんにかかる確率を減少する研究知見や、配糖体が血圧降下をする研究知見など機能性素材の価値が上がってきているで、本研究開発の途中成果の組換え植物の応用展開にもビジネスチャンスの可能性が高くなった。

４－３「組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発」

４－３－１　目的

過剰なエネルギー摂取により糖尿病およびメタボリックシンドロームと診断される国民は、年々増加傾向にある。そのため、国民および国の財政における医療費の負担を軽減するべく、治療医学から予防医学への重要性が指摘されている。

西アフリカ原産のミラクルフルーツに含まれるミラクリンは、酸味を甘味に修飾させる作用があることが知られている。この作用を医療の現場、もしくは普段の食生活の中で活用することで無理なく糖分の摂取を抑え、糖尿病やメタボリックシンドロームの予防に貢献できる。しかし、熱帯性果樹であるミラクルフルーツは日本での栽培が容易ではなく、またミラクリンの効果が持続するのは常温で１週間程度ということから国内での大量・安定供給は困難とされてきた。遺伝子情報を利用してミラクリンを高生産する試みも、大腸菌、酵母、タバコで実施されたが成功には至らなかった。こういった背景の中、国立大学法人筑波大学は、トマトにミラクリン遺伝子を導入することで味覚修飾作用を保持したミラクリンを生産することに初めて成功した。イチゴやレタスでも同様な組換え体を作出したが、イチゴは生産性の低さ、レタスでは世代を進めることでミラクリンの蓄積が見られなくなるなどの問題があった。一方、トマトでは後代においても安定してミラクリンを蓄積できる個体が得られている。そこで、栽培の容易さ、生産性の高さの点においても優れているトマトを使って事業化を進めることとした。また事業化に際し、商品としてはトマト果実そのもののみならず、健康食品、特別用途食品への利用など幅広い用途で社会に提供するため、トマトからのミラクリン精製品として販売することを想定している。

そのため本課題では、ミラクリンを生産する組換えトマトを植物工場内で栽培してミラクリンを大量・安定生産するための基盤技術開発を目的とする。

４－３－２　目標および成果・達成度

表 1. 目標および成果・達成度

中間目標・指標	１）組換えトマトでのミラクリン生産をさらに改良・高度化するための基盤技術開発 ①ミラクリンを 120μg/gFW 以上の濃度で遺伝的に安定して発現する作出技術を開発する。 ②複数の独立な方法により、候補系統を作出する。 ③15t/10a/年生産する栽培技術を確立する。 ④組換えトマト果実でミラクリンを 120μg/gFW 以上の濃度で安定して発現する栽培技術を確立する。

	２）組換えトマトを利用したミラクリン製造の実用化を目指す研究開発 ①利用可能な遺伝子のプロモーターを５個程度単離、決定する。 ②組換えトマト果実 1kg から 20mg 以上のミラクリンを精製可能にする。すなわち、この時点での精製効率を 20%以上とする。
	以上の各課題の成果を組み合わせて、開発した組換えトマトを用いることによりミラクリン精製品の生産量を、120(mg/kg) x $15x10^3$(kg/10a/年) x 20(%) = 360g/10a/年にすることを中間目標とする。
設定理由・根拠等	1)-① プロジェクト開始時の 100μg/gFW のミラクリン発現トマトを基準として技術開発により 20%増蓄することを目標とした。 -② 最終年までに固定化した候補系統を使い植物工場で栽培テストの実施を予定。そのため中間年までに候補系統の作出が必要。 -③ 完全閉鎖系での事例はないが、標準的な無加温ハウス栽培での収量は 6～15t/10a/年となるため、これを基準とした。 -④ 植物の物質生産性は栽培条件により変動する。そこでミラクリン生産性を最大限に発揮するための栽培条件検討が必要。 2)-① 最終目標の 2 個の有用プロモーターを開発するためには、中間年で最低 5 個の有力候補プロモーターの単離が必要であると判断した。 -② 総タンパク質あたりのミラクリン含量が多い方が、精製効率も良いため、1)-①の目標が達成されると、精製効率も改善される。更に精製技術の改善も考慮し、プロジェクト開始時の 2 倍の精製効率に引き上げることを目指した。
	個別要素の中間目標値から達成可能と判断でき、最終目標値へ向けての必要量から設定した。
成果	(トマトでのミラクリン蓄積量）×(収量)×(精製効率)を計算し、ミラクリン精製品の生産量 100(mg/kg) x $25x10^3$(kg/10a/年） x 15(%) = 375g/10a/年を達成した。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
最終目標・指標	1)-①ミラクリンを 180μg/gFW 以上の濃度で遺伝的に安定して発現する作出技術を開発する。 -②ライフサイクルを短縮することにより 3 サイクル/年から 4 サイクル/年以上の栽培を目指す。組換え植物の小型化ともあわせて、植物工場内で栽培できるトマト株数を年間あたりそれぞれ 25%増やし、果実の生産性を向上する。 -③30t/10a/年生産する栽培技術を確立する。②と合わせると、37.5t/10a/年となる。 -④組換えトマト果実でミラクリンを 180μg/gFW 以上の濃度で安定して発現する栽培技術を確立する。
	2)-①現在用いている 35S プロモーター系よりも 25%以上ミラクリンが発現するプロモーター系を 2 個程度開発する。

	-②組換えトマト果実1kgから60mg以上のミラクリンを精製可能にする。すなわち、この時点での精製効率を40%以上とする。
	以上の各課題の成果を組み合わせて、開発した組換えトマトを用いることによりミラクリン精製品の生産量を、180(mg/kg) x 37.5x10^3 (kg/10a/年) x 40(%) = 2700g/10a/年以上にすることを最終目標とする。
設定理由・根拠等	1)-① ミラクルフルーツでの平均が150μg/gFWであった。技術開発によりこれ以上の濃度が達成可能と判断し、20%増の値を設定した。 -② ライフサイクルの短縮はシロイヌナズナやトマトでのデータに基づき、遺伝子組換え等の開花制御により可能と判断し設定している。 -③ 栽培装置の多段化により2倍、さらに②の成果により植栽密度を増大させ25%増収となる値を設定した。 -④ 組換えトマトのミラクリンタンパク質蓄積量の最終目標値は180μg/gFWである。この数値を安定的に発現させる環境条件を検討する。 2)-① ミラクリン精製が比較的容易な果実で効率的にミラクリンを蓄積させるための有用プロモーター候補は、比較検討のため2種類以上必要であるとの判断から設定した。 -② 組換えトマトでのミラクリン蓄積量の180μg/gFWへの増加と更なる精製技術の改善も考慮し、中間目標の2倍の値を設定した。
	個別要素の成果により達成可能と判断でき、また事業化を考えた上での必要量から設定した。

４－３－３　成果、達成

４－３－３－１　個別要素技術成果

（１）ミラクリンを遺伝的に安定して発現する組換えトマト作出技術の開発

（国立大学法人筑波大学）

ミラクリン発現トマト（ミラクリン100μg/gFW）を第6世代まで更新し、トマトではミラクリンが遺伝的に安定して発現することを明らかにした。また、新規に単離したターミネーター配列が、その前方につないだGUS遺伝子・タンパク質の高発現化（従来の約6倍に増加）に有効であることを示した(図 1)。現在、ミラクリン遺伝子にその新規のターミネーター配列をつないだコンストラクトを作成して組換え体を作出中である。この組換えトマト系統において、年度末までにミラクリンを120μg/gFW以上の濃度で蓄積する系統の作出が見込まれる。

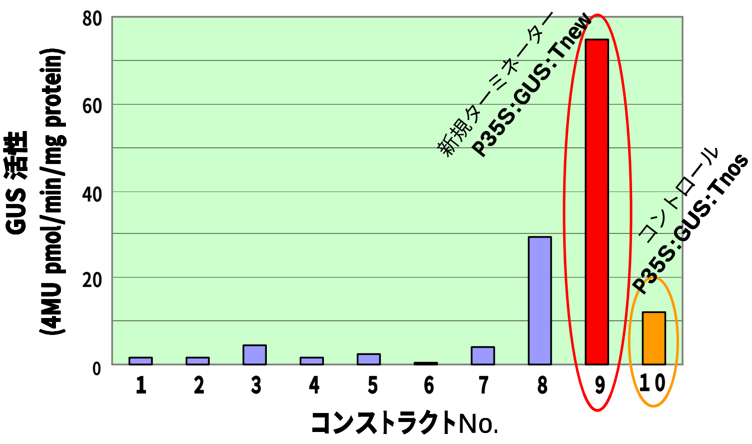


図1. プロモーターおよびターミネーター配列がGUS活性に及ぼす影響

（２）植物工場向けの小型組換えトマトの開発

（国立大学法人筑波大学）

交配及び遺伝子組換えという 2 つの独立な手法により、植物工場向け候補系統の作出を実施した。交配による方法では、矮性トマト(マイクロトム：MT)とミラクリン発現トマト(立性型トマト：マネーメーカー[MM])を掛け合わせ、F2 世代からミラクリンを発現し、MM よりも草型が小型で、MT よりも果実サイズが大きく収量も約4倍ある系統9C-1を候補として選抜した(現在 F4、図 2)。年度末には F6 世代まで栽培し固定化を終える。遺伝子組換えによる方法では、草姿の小型化・ライフサイクル短縮・果実肥大を目的として、異なる 11 種類の候補制御遺伝子のコンストラクト（過剰発現と発現抑制）の作成を終え、ミラクリン発現トマトへの形質転換を実施している。

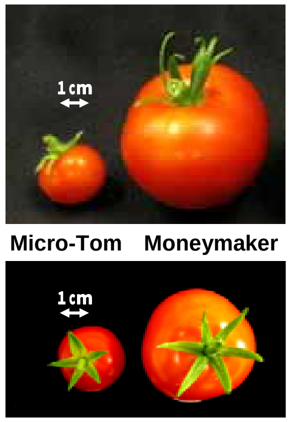


図 2．交配による植物工場向けの候補トマト系統

（３） 植物工場におけるトマト高収量栽培技術の開発

（国立大学法人筑波大学、植物情報物質研究センター）

閉鎖型二段式栽培装置による栽培環境（温度、光量、炭酸ガス濃度、水耕培養液など）を調整した栽培により、栽培装置設置面積 10a 当り 25t/年の生産を達成した。現時点でトマトを閉鎖系において大量生産している事例はなく、本課題の実施により、閉鎖系内においても安定的にトマト生産を行うことができることを実証した。

（４） 組換えトマトがミラクリンを安定して高発現する栽培技術の開発

(国立大学法人筑波大学)

ミラクリン蓄積量は栽培中の水分あるいは根域ストレスによって変動しないことを明らかにした。一方で、閉鎖系施設栽培において光環境条件がミラクリン蓄積に影響し、明期 20h 強光下以外でミラクリンが安定して蓄積することを発見した(図 3)。また、緑熟果実において赤熟果実と同等のミラクリンが蓄積することを示した。

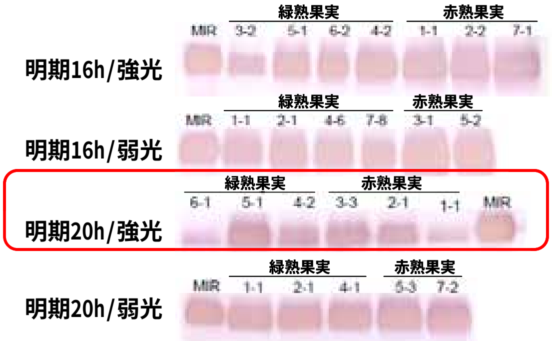


図 3．光条件が組換えトマトのミラクリンタンパク質蓄積量に及ぼす影響(ウエスタンブロット解析)
光条件：強光(450μmol/㎡/s),弱光(300μmol/㎡/s)
MIR:精製ミラクリン

（５） ミラクリンを果実特異的に発現する技術の開発

（株式会社インプランタイノベーションズ）

緑熟果実あるいは果実特異的にミラクリンを発現させるための候補プロモーターの選抜、単離およびその機能特性の調査を行った。緑熟果実で高発現している遺伝子の上位 3 候補からプロモーター推定領域の配列を決定し、それを GUS 遺伝子と連結して機能解析を実施した。単離した 3 種のプロモーターのうち、1 種は緑熟果実で機能することを明らかにした。また、果実特異的な発現をする遺伝子を 2 種、果実および花で発現している遺伝子を１種同定した。

（６） 組換えトマト果実からのミラクリン抽出・精製法の確立とその評価
（株式会社インプランタイノベーションズ、国立大学法人筑波大学）

プロジェクト開始当時 10%であった精製効率を 15%に引き上げた。現在、更に精製効率を改善するための簡便で精製効率の良い新しい方法を発見し、そのトマトでの利用条件を検討中である。この方法では、ミラクルフルーツのタンパク抽出液から一種類のカラムのみで以前の方法(2 回のカラム精製)と等しい純度のミラクリン精製が可能である。カラム精製の回数が 1 ステップ減ることで約 20%の回収ロスを改善できるため、さらなる精製効率の引き上げが見込まれる。

安全性評価に関しては、ミラクルフルーツ由来のミラクリンを用いたマウス急性経口毒性試験により、異常および死亡例は認められず、安全値は 0.2mg/kg 以上であった。

４－３－３－２ 達成度

要素技術	(1)ミラクリンを遺伝的に安定して発現する組換えトマト作出技術の開発
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標:83%(年度末 100%達成可能） 新規に単離したターミネーター配列が目的遺伝子の高発現化に有効であることを示した。
要素技術	(2)植物工場向けの小型組換えトマトの開発
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標:50%(年度末 100%達成可能) 植物工場向け候補系統を選抜した。
要素技術	(3)植物工場におけるトマト高収量栽培技術の開発
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標:100% 閉鎖型二段式栽培装置による栽培環境を調節した栽培により、栽培装置設置面積 10a 当り 25t/年生産の見通しが得られた。
要素技術	(4)組換えトマトがミラクリンを安定して高発現する栽培技術の開発
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標:83%(年度末 100%達成可能） 光環境の制御がミラクリンの蓄積量安定化に重要であることを示した。
要素技術	(5)ミラクリンを果実特異的に発現する技術の開発
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標:60%(年度末 100%達成可能） 緑熟果実高発現タイプのプロモーター候補を 3 種類単離し、そのうちの 1 つが、緑熟果実で機能することを示した。
要素技術	(6)トマト果実からのミラクリン抽出・精製法の確立とその評価
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標:75%(年度末 100%達成可能） 精製効率を 15%まで上げることができた。簡便で高効率な精製法の可能性を示した。

４－３－３－３ 特許出願状況等

表 2. 特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被	特許等件	特許権の	ライセン	取得ライ	国際標準

		引用度数	数（出願を含む）	実施件数	ス供与数	センス料	への寄与
(1)-(4)	1	-	2	-	-	-	-
(5)	-	-	-	-	-	-	-
(6)	-	-	1	-	-	-	-
計	1	-	3	-	-	-	-

４－３－４　事業化、波及効果についての妥当性

４－３－４－１　事業化の見通し

当該委託業務から得られる研究開発の成果は、糖尿病やメタボリックシンドローム予防を主眼とした健康食品（サプリメント）、特別用途食品、医薬品への利用・応用が期待される。研究成果の実用化は、①国内企業 A、B と共同でミラクリン発現トマトを栽培・供給する事業、②国内企業 C と共同でミラクリンを精製・粉末化する事業、の 2 つを計画している。また、食品企業 C、D、化粧品企業 E、製薬企業 F などが独自の商品に使用し、市場に出すことを検討している。

海外では、米国での実用化を計画している。米国では、製薬・食品企業のニーズとして、糖尿病対策、肥満予防に関する新技術は注目度が高く、遺伝子組換え食品に対する抵抗感も日本に比べて低い。そこで、G 州と G 州の日本企業担当エージェントの協力を仰ぎながら、米国法人を設立し、国内同様の体制で実施することを検討している。

以上のことから、市場規模が日本よりも大きい米国を想定して、原材料供給事業の試算を行った。米国におけるダイエット市場は、2007 年時点で約 6 兆 3,800 億円と推定される。そのうち、ミラクリン粉末が関与する可能性がある分野は、ソフトドリンク、人工甘味料、ダイエット食品等で全体の 48.43%、約 3 兆 900 億円の市場が見込まれる。国内企業での聞き取り調査では、10 万円/g（1 食当たり 5 円）であれば、ミラクリンを使用した商品化は可能であるとの意見であった。そこで、10 万円/g の販売により米国市場の 0.5%の独占率と仮定した場合、市場規模約 154.5 億円、年間 154.5kg のミラクリン粉末が必要となる。回収率が最終目標値の 2700g/10a/年の場合、工場としては東京ドーム約 1.2 個（約 5.7ha）が必要となる。植物工場およびミラクリン回収工場建設費および年間ランニングコストを算出した結果、粗利は約 24.3 億円/年（粗利率約 15.7%）の事業試算となり、十分事業ベースに乗ると想定される。

事業化への具体的なスケジュールは以下のとおりである。

平成 20 年度…ミラクリン発現トマトおよび組換えトマト由来ミラクリンの許認可に向けたデータの取得。ミラクリン発現トマトの品種登録申請。

平成 21 年度…許認可申請（審査期間推定 2～3 年）。実証プラント用植物工場建設計画および米国フロリダ大学との共同研究（米国での実用化に向けて）開始。

平成 22 年度…組換えトマトを利用したミラクリン大量安定供給のための基盤技術完成。

平成 23 年度以降…実証プラント規模での閉鎖型植物工場におけるトマト栽培、ミラクリン精製開始。試供品の販売による市場の動向調査と販売方法の調整。国内では平成 25 年度、米国では平成 24 年度の実生産開始を目指す。

４－３－４－２　波及効果

(１) 新規ターミネーター配列の利用は､ミラクリン以外の高機能性物質の安定高生産のためにも役立つことが期待される。

(２) 植物工場用の小型あるいはライフサイクルを短縮したトマト品種は､トマトを利用したミラクリン以外の高機能性物質大量生産システムのための資源として活用できる。

(３) 本課題によるトマトのための閉鎖環境制御技術の確立は､実用化が進んでいる閉鎖型育苗システムを使ったトマトの育苗技術に直接的に応用することが可能である。

(４) 組換え遺伝子の発現に光環境が影響することを明らかにし､植物を使った物質生産を行う際、栽培環境条件の検討が重要であることを示唆した。

(５) 単離したプロモーターは､ミラクリン以外の様々な遺伝子の果実発現用プロモーターとして、トマトだけなく他の植物での利用も期待できる。また、果実のみで発現させることで、植物の栄養生長に悪影響を及ぼすような機能性物質の生産も可能にする。

４－４「有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発」

４－４－１　目的

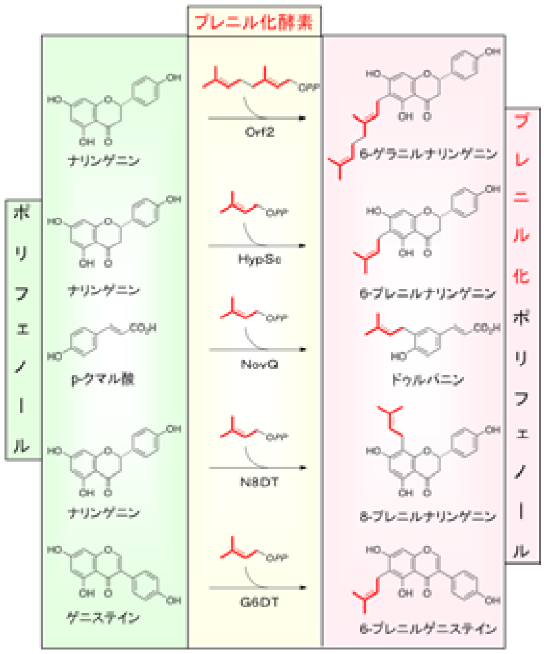
この課題では、抗腫瘍活性、抗菌活性、抗チロシナーゼ活性、抗酸化活性等、多彩で有用な生理活性を示す植物特有のプレニル化芳香族化合物を、高効率・高生産する植物を作出するための技術開発、即ちホスト・代謝工学デザイン・効率的回収法等を理論的に組立てた研究開発を行い､機能性食品や医薬品原料の生産に資することを目的とする。

プレニル化芳香族化合物の代表であるプレニル化ポリフェノール類は、有用な生理活性を示すことから効率的生産が望まれている。例えば、女性ホルモン様活性の高いプレニルナリンゲニンや、高品質プロポリスの抗酸化活性本体であるドゥルパニンがその好例である。しかしながら、プレニルナリンゲニンとドゥルパニンの植物内含有量は一般にきわめて低く、精製も容易ではない上、その生合成の鍵酵素であるプレニルトランスフェラーゼ（プレニル化酵素）は植物から取得されてはいない。

このような状況下、東京大学では土壌微生物の放線菌から基質特異性の広いプレニルトランスフェラーゼを取得したことから、この酵素遺伝子を植物に導入し高発現させることで、プレニルナリンゲニンを高生産できると考えた。同様に、放線菌より、p-クマル酸からドゥルパニンを合成できるプレニルトランスフェラーゼ遺伝子の取得を計画した。一方、京都大学は組換え植物における高度代謝工学、すなわち、外来酵素タンパク質の細胞内局在を制御する技術と、生産物の輸送・蓄積を制御する技術を持っている。酵素の特徴から新規な有用成分が得られる可能性にも配慮し、生物活性を指標とした化合物の選定を併行して行い、ターゲット化合物を絞り込んで代謝工学に反映させる。

本課題では､東京大学がプレニルトランスフェラーゼ遺伝子の提供と酵素機能の解析、プレニル化芳香族化合物の同定を担当し、京都大学は高度代謝工学を駆使して植物にプレニルトランスフェラーゼ遺伝子を高効率に発現させ、目的物質を高生産させる体制を取る。生理活性検定は外注とする。ホスト植物としては、ナリンゲニンなどのフラボノイドと p-クマル酸が供給可能で形質転換も可能なマメ科のミヤコグサと、食経験のあるトマトを選んだ。製品としては、組換え植物から上記プレニル化ポリフェノールを精製し、プロポリスに添加することで機能強化プロポリスとして利用することを想定している。そのため、プロポリスの生理活性に関する基礎研究と販売に実績のあるアピ株式会社と連携して開発を行う。


放線菌
植物
クローニング、改変
プレニルトランスフェラーゼ
（プレニル化酵素）
遺伝子導入
高度代謝工学
形質転換体
（ミヤコグサ）
（トマト）
高効率・高生産
ポリフェノール
プレニル化
ポリフェノール
機能性食品
医薬品原料
高機能化


プレニル化酵素
ポリフェノール
プレニル化ポリフェノール
ナリンゲニン
Orf2
6-ゲラニルナリンゲニン
ナリンゲニン
HypSc
6-プレニルナリンゲニン
p-クマル酸
NovQ
ドゥルパニン
ナリンゲニン
N8DT
8-プレニルナリンゲニン
ゲニステイン
G6DT
6-プレニルゲニステイン

４－４－２　目標および成果・達成度

表１．目標および成果・達成度

中間目標・指標	プレニルトランスフェラーゼ遺伝子の発現カセット６種の構築と、植物への導入（ミヤコグサ４種、トマト２種）。フラボノイド特異的あるいはフェニルプロパノイドを認識する新たなプレニルトランスフェラーゼの取得。
設定理由・根拠等	用いた放線菌の酵素２種は細胞質局在のため、プラスチド型、ミトコンドリア型に変える。形質転換体作出に要する時間を考慮し、ミヤコグサは４種、トマトは２種の作製を設定した。
成果	６種類全ての植物用発現コンストラクトを完成させ、うち 4 種については組換えミヤコグサ約 200 クローンを作出した。フラボノイド特異的遺伝子 N8DT とフェニルプロパノイドを認識する NovQ 遺伝子を同定しクローニングした。
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標 100%達成
最終目標・指標	最も生産性に寄与できる細胞内局在と遺伝子の組み合わせを同定し、他植物にも応用可能な代謝工学デザインを決める。
設定理由・根拠等	天然型酵素の細胞内局在が必ずしも最終産物の蓄積高生産に適しているとは限らないため、技術基盤として最適なデザインを知る必要がある。
中間目標・指標	様々な変異酵素を作製し、その酵素機能を明らかにする一方で、生産されるプレニル化ポリフェノールを同定する。さらにそれらのガン細胞に対する効果、並びに MRSA を用いた抗菌活性により、生産可能な化合物の活性評価を行う。
設定理由・根拠等	基本骨格やプレニル化位置の違いなどからくる生理活性の差を精査し、有用性の高い化合物の絞り込みを行う必要がある。プレニル化ポリフェノールの生理活性データを蓄積する。
成果	プレニル化フラボノイドには抗腫瘍活性が高く、実用化の面からプレニルナリンゲニンにメリットがあるとした。プレニル化フェニルプロパノイドには抗菌活性が認められ、さらに後者は抗生剤との併用で MRSA に有効であることが判明。
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標 100%達成
最終目標・指標	フラボノイドとしてはプレニルナリンゲニンを、フェニルプロパノイドとしてはドゥルパニンを高生産する組換え植物株を選抜し、これらプレニル化芳香族化合物の生産に資する。
設定理由・根拠等	プロポリスにも微量含まれており、さらに添加することで機能強化プロポリスをつくることが期待できる。
中間目標・指標	N-末端にトノプラストアンカーとなる膜貫通ドメイン MR2-T を融合させた液胞型輸送体の改変コンストラクトの作製及

	び、導入植物体の作製。
設定理由・根拠等	プレニル化ポリフェノールの効率的な蓄積を配慮して、輸送体タンパク質の膜局在を改変することを試みる。
成果	酵母膜タンパク質 PDR5 に MR2-T を融合させたベクターは 19 年度末に作製済。植物で発現させ液胞局在の是否の調査段階。
達成度	19 年度目標: 100%達成、中間目標(年度内には 100%達成可能)
最終目標・指標	液胞膜局在が確認されれば、上記高生産株との交配により、蓄積性を改善した二重遺伝子導入体を作製する。
設定理由・根拠等	蓄積性に問題があり生産性が上がらない場合にはその解決策の一つとなる。
中間目標・指標	優良株を選抜し生産性を向上させる。平成２０年度から開始の項目で、中間目標記載はない。
設定理由・根拠等	インビボでのプレニル化活性を基質投与で調べる。高生産株を絞り込むために役立つ。
成果	ナリンゲニン投与でプレニルナリンゲニンを生産するミヤコグサ株を複数同定した。
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標 100%達成
最終目標・指標	より高い生産性を示す株を選抜するとともに、効率の良い生産系、栽培法、抽出法を検討する。
設定理由・根拠等	株間によって生産性が大きく異なり、また、栽培法、抽出法もトータルの生産効率に大きく影響する。

４－４－３　成果、達成度

４－４－３－１　個別要素技術成果

（１）プレニルトランスフェラーゼ遺伝子の取得（東京大学，京都大学）

放線菌から基質特異性の広い可溶型プレニルトランスフェラーゼ遺伝子 Orf2、HypSc、NovQ をクローニングした。Orf2 と HypSc に関しては、機能を改変するために一連の変異酵素を作製した。NovQ に関しては、全配列に渡って植物での発現に適したコドンに改変した。一方、クララからは、基質特異性の高い膜結合型のプレニルトランスフェラーゼをコードする遺伝子 N8DT と G6DT をクローニングした。

（２）プレニルトランスフェラーゼのインビトロ機能評価（東京大学，京都大学）

Orf2、HypSc がナリンゲニンやゲニステインを含む多様なポリフェノールのプレニル化活性を持つこと、ナリンゲニンの６位と７-O 位をプレニル化すること等を明らかにした。また、NovQ は p-クマル酸からドゥルパニンを合成すること、クララ由来の N8DT はナリンゲニンをはじめとするフラバノンの、G6DT はゲニステインをはじめとするイソフラボンの８位と６位をそれぞれ特異的にプレニル化することを明らかにした。

（３）組換え植物の作製と生産性評価（京都大学）

Orf2、HypSc、NovQ について、サイトゾル、プラスチド、ミトコンドリアに細胞内局在を改変した植物用発現コンストラクト９種類を構築した。これらをミヤコグサに導

入し、中期目標に掲げた４種類の形質転換体について約 200 クローンを作製した。トマトでは、計画した４種類のコンストラクトのうち既に２クローンの形質転換体ができており、中期目標値は達成している。N8DT については、ミヤコグサの形質転換植体ができており、ナリンゲニン投与でプレニルナリンゲニンの生産に成功した。Orf2 導入ミヤコグサでは同実験で７-O-ゲラニルゲニステインを検出した。

中期目標には記載はないが、北興化学とのチーム間連携にてダイズにプレニルトランスフェラーゼ遺伝子を導入した組換え植物体の作製に成功し、現在栽培中である。

生産性を上昇させる独自の輸送工学による最終産物の安定蓄積の試みとして、プレニルフラボノイドを膜輸送できるトランスポータ PDR5 を同定し、ミヤコグサに導入した。またその局在を液胞に改変するコンストラクトも完成し、植物に導入している。平成２０年度からはウエスタンブロットによる高発現クローンの選抜と、生産性に優れたクローンの選抜を実施中である。

（４）プレニル芳香族化合物の機能評価（京都大学からアピに外注）

ヒト胃ガン細胞 KatoIII およびヒト大腸ガン SW480 細胞に対して、プレニル化フェニルプロパノイドよりもプレニル化フラボノイドに強い増殖抑制活性が認められた。また、MRSA などに対する抗菌活性、および抗 NO 産生活性評価を行い、ドゥルパニンなどのフェニルプロパノイドに抗生剤との併用による抗菌活性の相乗効果を認めた。実用化段階を担うアピ株式会社と合議で、ブラジル産プロポリスに含まれるドゥルパニンに倣い、生産させたプレニル化ポリフェノールはプロポリスへの応用を目指す方針を固めた。

４－４－３－２　達成度

要素技術	（１）プレニルトランスフェラーゼ遺伝子の取得
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標 100%達成
要素技術	（２）プレニルトランスフェラーゼのインビトロ機能評価
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標 100%達成
要素技術	（３）組換え植物の作製と生産性評価
達成度	19 年度目標: 100%達成、中間目標（年度内には 100%達成可能)、生産性向上の研究が 20 年度からの項目であるため最終年度末までに 100%の予定
要素技術	（４）プレニル化合物の機能評価
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標 100%達成（最終目標に対しては応用化研究が継続中であるため最終年度末までに 100%の予定）

４－４－３－３　特許出願状況等

表２．特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被引用度数	特許等件数(出願を含む)	特許権の実施件数	ライセンス供与数	取得ライセンス料	国際標準への寄与
（１)～(３)	2	2	1	-	-	-	-
（４）	-	-	2	-	-	-	-

計	2	2	3	-	-	-	-

４－４－４　事業化、波及効果についての妥当性

４－４－４－１　事業化の見通し

本課題から生産されるプレニル化ポリフェノールは、プロポリス等に添加することで機能性食品や特定保健用食品の候補成分となりうることから、その実用化と普及に関しては、共同研究者であるアピ株式会社を通じて行う計画である。

本課題は計画通り進行しており、中期計画には記載はなかったが、Orf2 と N8DT を導入した組換えミヤコグサを用いて、野生株ではまったく検出されないプレニル化フラボノイドを生産させることに成功した。今後、高生産株のスクリーニグと生産性・効率性を向上させる研究とを継続、進展させることで、最終目標である植物乾燥抽出物あたり最低 10 %の総プレニル化ポリフェノールの生産が見込めると考えている。また、機能性食品の製造試作については、組換え酵素を用いてプロポリスのフラボノイド画分を処理してプレニル化ポリフェノールができることを実証し、既に各生産物も同定した。

アピ（株）は、健康食品の中でも大きなシェアを誇るプロポリス等の製造を通じて、大手販売会社と多くの取引実績を持っていることから、同社が抽出、加工、製品化したものを販売会社に提案し、それぞれの販売会社のブランド名で商品の販売を目指す。

４－４－４－２　波及効果

（１）プレニルトランスフェラーゼ遺伝子の取得

フラボノイド特異的な植物プレニルトランスフェラーゼの取得は大きな成果として新聞各紙に報道されたが、これを受けて直ちに総説の執筆依頼２件、トピック１件の執筆依頼があった。それ以外に、企業からの問合せや講演依頼が４件のほか、関西 TLO からも説明の依頼があり、大きな反響があった。プレニル化ポリフェノールを可能とする遺伝子が如何に大きな波及効果があるかを示すものである。

（２）プレニルトランスフェラーゼのインビトロ機能評価

上記と同様で、プレニルトランスフェラーゼの基質特異性と生産物特異性を理解することは、その応用化に向けて大きな意義がある。波及効果としては（１）に準ずる。

（３）組換え植物の作製と生産性評価

様々な植物にプレニル化化合物を作らせることで、病害虫に強い植物や日持ちの良い木材の作出も可能と考えられ、農学、林学分野においても波及効果は及ぶと予測される。

（４）プレニル化合物の機能評価

日経バイオテクビジネスレビューでも紹介されたように、ポリフェノールがますます注目され、プレニル化による機能性向上にも期待がもたれている。サプリメント業界は世界中で拡張の兆しを見せており、市場のグローバル化、高齢者増加、介護予防、混合診療解禁等市場の飛躍的増加要因で、この成長はさらに続くと予測されている。この時期に本技術を実用化レベルまで持っていくことは、内外のライセンス収入の増大、国内生産プラントによる雇用の拡大、さらに類似研究の発展等を誘発し、我が国の経済再生にとって大きな追い風の一つとなることが期待される。

5．【有用物質生産のための基盤植物作出技術の研究開発】

5－1「閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物の開発研究」

5－1－1　目的

本課題では、閉鎖型植物生産施設における有用物質生産に適した形質を有する基盤植物及び、その基盤植物を作出するための技術開発を行う。即ち、「栽培空間を有効に利用するための、植物体の矮性化」「植物を効率良く栽培するための、栽培周期短縮」「バイオマス増加(不稔、花成遅延を含む)」「栽培コストダウンを実現する新規形質(光補償点の低下等)を有する基盤植物」等に関する技術開発を、転写抑制因子を用いた遺伝子抑制法(CRES-T 法、図１)等の遺伝子工学的手法等を利用することにより行う。

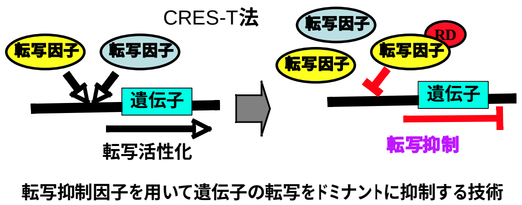


図１.CRES-T 法の概略:機能重複した転写因子（黄と青）の存在下でもその一つ（黄）にリプレッションドメイン(RD)を付与し転写因子抑制因子に改変し発現させると、優先して標的遺伝子発現を抑制するシステム

更に、閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物として､「植物型糖鎖修飾が抑制された基盤植物」の研究開発も行う。現在の技術では、ヒトや動物体内に直接投与するサイトカイン類や抗体等の医療用糖蛋白質原材料の遺伝子組換え植物による実用化が困難である。その理由として、植物で生産された糖蛋白質の N-結合型糖鎖には、植物特有な糖鎖修飾が存在することが挙げられる(α-1,3-フコース、β-1,2-キシロース修飾：図２)。この植物型糖鎖修飾は、アレルゲン性が指摘されており(Glycobiology 13(2003)427-434 等)、植物でヒトや動物体内に直接投与する医療用糖蛋白質を生産する際には、その除去が必要となる。そこで本課題では、N-結合型糖鎖生合成に関与する酵素の働きを強化もしくは抑制することで、植物型糖鎖修飾を抑制する技術開発を行う(図３)。その手法としては、ウイルス誘導遺伝子抑制法(Virus-induced gene silencing;VIGS 法)や転写後遺伝子抑制法(Post-transcriptional gene silencing;PTGS 法)等の遺伝子工学的手法を用いる(図４)。更に、植物生産医療用糖蛋白質を高度に精製するための技術、即ち、抗体カラムによる

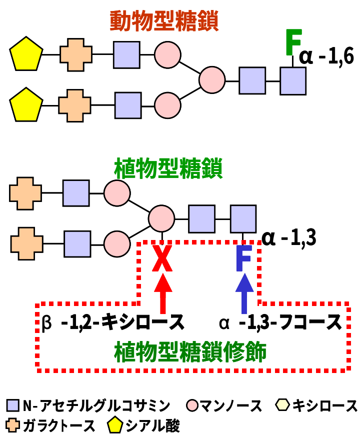


図２.植物及び動物由来 N-結合型糖鎖の相違点

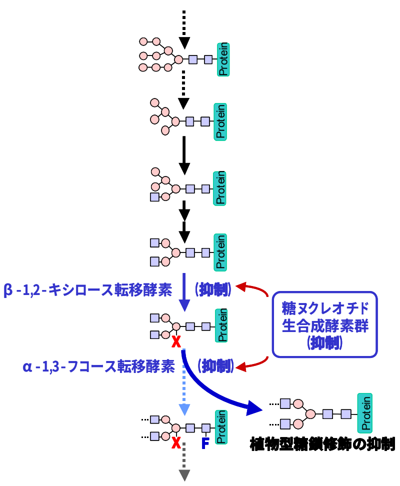


図３.植物型糖鎖修飾抑制の概略

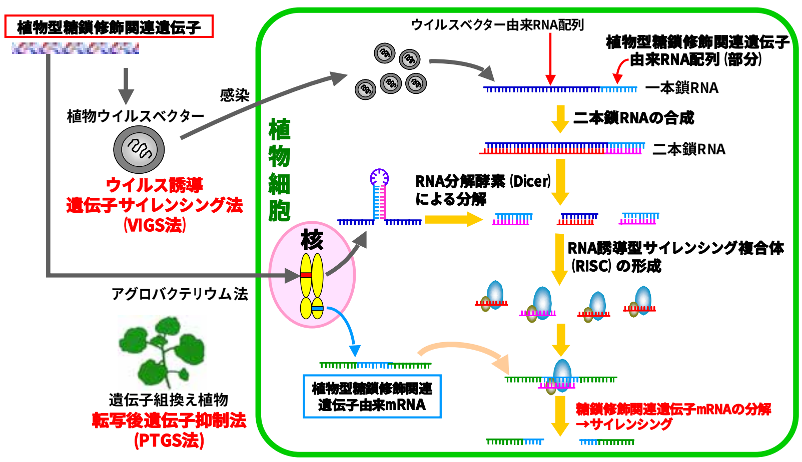


図４.植物型糖鎖修飾の抑制（RNA を標的とする遺伝子抑制）

植物型糖鎖修飾を有する糖蛋白質の選択的除去技術の開発を行う(図５)。また、マウスモノクローナル抗体をモデルタンパク質として、開発した植物型糖鎖修飾抑制基盤植物にて生産を行い、植物型糖鎖構造のアレルゲン性が指摘されているマウスをモデル動物として、当該抗体を投与し、糖鎖修飾抑制効果に関する知見を得る予定である。以上の研究開発を総合して、医療用糖蛋白質の植物生産を可能にする技術及び基盤植物を開発し、植物による医療用糖蛋白質生産を格段に広げることを目指す。

このように、開発する糖鎖修飾抑制技術自体が、遺伝子組換え技術を用いることで成立するものであり、特に、植物型糖鎖修飾の抑制のための手法の１つとして用いる植物ウイルスベクターは、組換えウイルスの屋外への拡散を防ぐ観点からも屋外の圃場で利用することは難しく、閉鎖系植物生産施設利用を前提とした手法、基盤技術であると言える。また、植物において糖蛋白質を生産させた場合、その育成時の環境条件や成長段階によって糖蛋白質上の糖鎖構造が変化することが少なくとも N-結合型糖鎖において報告されている［*Plant Physiology* 126 (2001) 1314–1322]。そこで、実用化においても再現性のある安定な糖蛋白質糖鎖制御には、一定環境条件での植物育成を前提とする必要があり、完全人工環境下施設においての実験・実用化を行うことが最も適当だと考えられる。以上のことから、本技術開発は、閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物技術として設定した。

本課題ではタバコ(*Nicotiana benthamiana* 及び *N. tabacum*)をモデル植物として選定した。タバコは遺伝子組換えが容易で、成長が早く、また、バイオマスが多く、物質生産基盤植物の基盤植物として多くの優位性を備えているが、屋内栽培には不適な形態を有している。しかし、植物による物質生産において海外を含め幅広く利用されている植物であるため(Molecular Farming, Fischer R. and Schillberg S.(eds)2004 WILLEY-VCH)、本課題で閉鎖型栽培施設における有用物質生産に適したタバコが開発されれば、開発された技術を事業化する際に多くのニーズがあると考えられる。また、経口投与薬品生産用基盤植物の有力な候補であるが、人工環境下栽培に関する情報は乏しいイネ、更に、それ自身が有用二次代謝産物を生産する植物であり、安定供給そして屋内施設での栽培技術が求められている、薬用植物オウレンにおいても開発を行う。

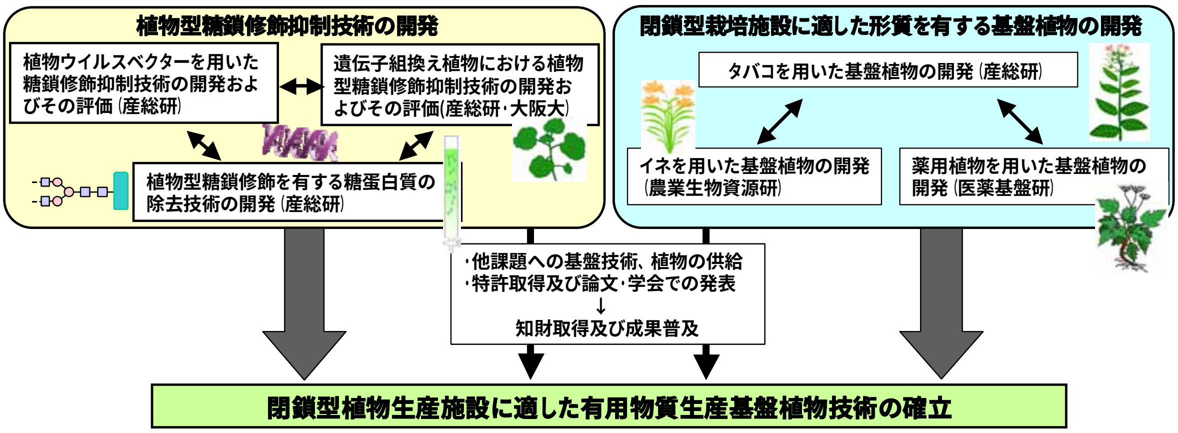


図５.本課題の概要

５－１－２　目標および成果・達成度

表１．目標および成果・達成度

中間目標・指標	タバコ：雄性不稔タバコの作出、節間が短くなり、背丈が 15%以上矮化した植物体の作出、葉数が 15%以上多くなった植物体の作出、栽培サイクルが 10%以上短縮あるいは延長した植物体の作出。
設定理由・根拠等	【雄性不稔】生殖成長へのエネルギー抑制、遺伝子拡散防止。【背丈】タバコ(平均背丈 1.5 ｍ)を多段栽培施設(棚高 1 ｍ)に適応させる必要値。【葉数】バイオマス増加のため。中間目標 15%:形質転換体の解析結果から達成可能な値。【栽培サイクル】生殖成長期間の延長によるバイオマス増加。中間目標 10%:形質転換体解析実績から達成可能な値。
成果	＊それぞれの目標形質に関する転写因子キメラリプレッサー(転写抑制因子に機能変改した転写因子)を見いだし、96%の花で雄性不稔誘導を達成。＊節間を縮め背丈 20%短縮に成功。＊葉数 15%増加達成。＊20 日以上の花成遅延、17 日以上早咲きタバコ植物の作出に成功。
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：80%達成(年度内には 100%達成可能)
最終目標・指標	タバコ：雄性不稔タバコの作出、節間が短くなり、背丈が 30～40%以上矮化した植物体の作出、葉数が 20%以上多くなった植物体及び栽培サイクルが 20%以上短縮あるいは延長した植物体の作出。
設定理由・根拠等	中間目標値に到達できれば、これまでの遺伝子操作を用いた解析実績から最終年度までには達成可能と考えられる値。
中間目標・指標	イネ：栽培サイクルが 10%以上短縮した植物体の作出、背丈が 10%以上矮化した植物体の作出及び光補償点が 10%以上低減した植物体の作出。
設定理由・根拠等	イネの圃場栽培実績を基準に目標値を設定した。 【栽培サイクル】栽培サイクル短縮による収量低下を危惧し、10%を目標とした。【背丈矮化】多段栽培(省スペース栽培)のため、収量性を変えずに矮化を達成できると範囲として、10%を目標とした。【光補償点】単位時間・単位体積当たりの栽培コスト低減を目指し、10%の光補償点低減を目標に設定した。
成果	【栽培サイクル】品種台中 65 号や日本晴の開花遺伝子改変系統を用い、収量を変えずに目標の栽培サイクル短縮に成功した。光源をメタルハライドから他の光源に変更することにより、栽培サイクルを変えずに一穂粒数が 5 割上がる系統を発見。【背丈矮化】草型にだけに作用して、穂サイズをほとんど変化させない性質を有する遺伝子である *sd1* 遺伝子の機能を抑えることで、穂を小さくしない半矮性形質転換系統を作成

	中である。【光補償点】光合成の光アンテナサイズを改変した系統を弱光で栽培し、生育可能であることを確認したが、収量性は落ちる傾向が見られた。
達成度	19年度目標：100%達成、中間目標：80%達成(年度内には100%達成可能)
最終目標・指標	イネ：栽培サイクルが 20%以上短縮した植物体の作出、背丈が 20%以上矮化した植物体の作出及び光補償点が 20%以上低減した植物体の作出。
設定理由・根拠等	当初、閉鎖型栽培施設におけるイネ生育に関する情報は乏しかったので圃場の日本晴を基準にし、閉鎖系栽培設備での基本栽培から圃場と同等な収量確保が可能であることを確認した。今後、各種品種・新たな形質転換系統の利用を検討、栽培条件の最適化を合わせて、年収量を変化させずに現実的に達成可能な数値として5年で20%以上の上記目標値を設定。
中間目標・指標	薬用植物：畑作栽培丹波オウレン根茎を指標とし、根の総量及び根茎の大きさが10%以上増大したオウレン植物体の作出。
設定理由・根拠等	オウレンはゲノム情報に乏しく成長が遅いためモデル植物で同定された転写因子を用い形質改変を行う。異種植物由来遺伝子を用いた場合の実現可能な数値として、根および根茎収量の 10%増加と設定した。
成果	薬用植物は一般に形質転換が非常に困難だが、オウレン培養組織からの効率的形質転換法を開発し(特許申請準備中)、バイオマスの増加に関与する転写因子遺伝子の導入を行った。また、非組換え体を材料に養液栽培条件を検討し、土耕栽培に比べて1株当たりの茎(地上茎および根茎)の収量が3.4倍、ベルベリン収量が6倍になる養液栽培法を確立した(畑作1年換算の収量の1.9倍、ベルベリン収量0.42倍)。
達成度	19年度目標：100%達成、中間目標：60%達成(年度内には100%達成可能)
最終目標・指標	薬用植物：根の総量及び根茎の大きさが 20%以上増大及び栽培サイクルが20%以上短縮したオウレン植物体の作出。
設定理由・根拠等	医療用漢方製剤の販売数量(実売)は年 7%伸長で推移しており、需要増加に対応可能な数値として 20%増加を設定した。また、栽培期間が長いことが国内栽培衰退の要因であるため、栽培サイクルの 20%短縮も設定した。
中間目標・指標	開発される技術を総合して植物型糖鎖構造の50%以上の抑制。
設定理由・根拠等	N-結合型糖鎖の生合成には、様々な酵素類が関与した複数の経路が存在すると考えられる。それらを同時に抑制することは困難であると予想されたため、植物型糖鎖構造の 50%以上

	の抑制を中間目標とした。
成果	複数の植物種より植物型糖鎖修飾関連遺伝子(6 種 27 遺伝子)を単離し、順次抑制試験を行った結果、GDP-D-mannose-4,6-dehydratase(GMD)遺伝子の抑制により 95%の N-結合型糖鎖がフコース修飾されていない遺伝子組換えタバコ植物体を、β-1,2-キシロース転移酵素の抑制によりキシロース修飾がほぼ 100%抑制された遺伝子組換えタバコ植物体を得た。また、植物ウイルスベクターを用いた GMD 遺伝子抑制により、タバコにおいてフコース修飾抑制に成功した。
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：95%達成(年度内には 100%達成可能)
最終目標・指標	開発される技術を総合して植物型糖鎖構造の 70%以上の抑制。
設定理由・根拠等	遺伝子の完全な抑制は困難であると予想されるが、より抑制効果の高い遺伝子配列の探索等を行い、70%以上の抑制を最終目標とした。
中間目標・指標	少なくとも 1 種類の植物型糖鎖修飾に特異的なモノクローナル抗体の作成。
設定理由・根拠等	一般に抗糖鎖抗体の作成は困難であり、現在、植物型糖鎖修飾に特異的なモノクローナル抗体は開発されていない。そこで、まず 1 種類の抗体作成を行うことを目標とした。
成果	23 種の糖蛋白質について、その N-結合型糖鎖の構造解析を行った。その結果、複数の糖蛋白質を組み合わせることで、抗植物型糖鎖修飾モノクローナル抗体の作成が可能であると推定された。抗体作成に必要な糖蛋白質を十分量確保した。
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：80%達成(年度内には 100%達成可能)
最終目標・指標	植物型糖鎖修飾特異的モノクローナル抗体による抗体カラムを作成し、植物型糖鎖修飾を持つ蛋白質の選択的除去を行う。
設定理由・根拠等	平成 20 年度までの研究成果を基に、更に植物型糖鎖修飾特異的モノクローナル抗体の作成を行う。抗植物型糖鎖修飾特異的抗体カラムの作成は、既存の技術で可能であり、本抗体カラムによる植物型糖鎖修飾を有する糖蛋白質の選択的除去を技術の開発及びその試験を行うことを最終目標とした。
中間目標・指標	制御が必要な酵素(酵素 A)の活性が 20%上昇した個体の作出、制御が必要な酵素遺伝子（酵素 B）の発現抑制のための組換え株の作出を行う。(特許申請に差し障りがあるため、具体的な酵素名は示さない)
設定理由・根拠等	【酵素 A 活性】糖鎖構造の制御のため、高い酵素 A 活性が必要となるため、20%以上活性を上昇させることを目標におい

	た。【酵素 B 活性】糖鎖構造の制御のため、酵素 B 遺伝子発現が抑制された植物体が必要であるため、酵素 A 活性が上昇した植物体と平行して作出を行う。
成果	酵素 A 活性が 20%上昇した個体の作出に成功し、現在 T1 世代を育成中。平成 20 年度末までに T2 世代を確保予定。また、酵素 B 抑制組換え株(T1 世代)の作出に成功した。
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：95%達成(年度内には 100%達成可能)
最終目標・指標	高マンノース型糖鎖含量を 20%以下、植物型糖鎖修飾を受けた糖鎖含量が 30%以下とし、アレルゲン性の無い糖鎖の存在比を大幅に増加させることを目指す。
設定理由・根拠等	酵素 B 発現抑制株と酵素 A 活性が上昇した株を交配し、植物型糖鎖修飾を有する糖鎖を 30%以下、高マンノース型糖鎖を 20%以下とすることで、アレルゲン性の無い糖鎖の存在比を大幅に増加させることが可能である。

５－１－３　成果、達成度

５－１－３－１　個別要素技術成果

(１)タバコを用いた基盤植物の開発((独)産業技術総合研究所)

雄性不稔を誘導する転写因子キメラリプレッサーH5R0599 を見いだし、これを形質転換したタバコ植物は、31 個体中、19 個体(61.3%)で雄性不稔形質を誘導した。また、節

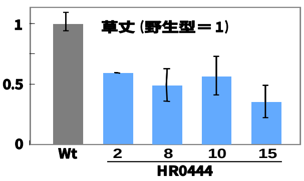


図６.節間の短縮

表２.節間短縮誘導因子の効果

Line No	Wt	HR0444 2	8	10	15	
背丈	34.4	20.0	16.5	19.2	11.8	(cm) N≧3
葉数	12±2.0	16.6±.5	16.8±1.2	15.8±2.1	15.2±2.2	

＊葉数は減少せず、節間短縮により背丈のみ低い

間短縮誘導因子(HR0444)を見いだし、これを発現するタバコは、葉数の減少無しに節間が短縮し、背丈が同時期に育成した野性型に比べ 15%以上短縮していた(図６、表２)。

一方、葉数を増加させる転写因子 2g36080 を見いだしこれをタバコ植物で発現させると腋芽が増加し、節間が短縮し葉数が野性型(平均 16 枚)に比べ 15%以上(29-35 枚)増加した(図７)。更に、花成時期を延長させる遅咲き因子 HR0444 と短縮させる早咲き因子 TOBNAG1 キメラリプレッサーを見いだし、同時期に生育させた野性型タバコに比べ 20 日以上(18%以上)の花成遅延、17 日以上(15%以上)早咲きになることを見いだした。

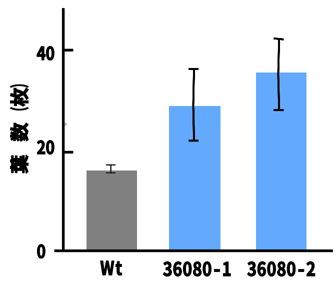


図７．葉数の増加

タバコに関しては、形態、早咲き、不稔系統に関して多様な品種が存在する。そのため、今後育種家と連携による供試品種の比較検討試験の実施を行い閉鎖型人工環境に最適な品種についての重要な情報を得ることは、本プロジェクトにとって有用であると考えられる。一方、本課題研究では、タバコ植物を物質生産の基盤植物として開発研究を行うと同時に、物質生産の基盤植物としてのモデル植物として取

り扱っており、すなわち、タバコ植物に於いて得た有用な形質をもたらす原因遺伝子を可能な限りパテント申請し、それらをダイズ、イネなど他の基盤植物となりうる植物に導入するための基盤データを提供することも目的の一つである。そのために最適な方法は、遺伝子操作であると考えられるため、本開発研究では、種々の遺伝子操作技術を用いて植物の改変を進めている。特に機能を改変した転写因子遺伝子を導入し、従来育種品種にない新たな有用形質を見出すため、遺伝子操作を用いたタバコの形質転換体の解析はさらに必要であると考えている。また、今後（21 年度から）は、タバコ基盤植物が作成出来次第、PJ 内の有用物質生産系を導入して、基盤植物の有用性を図る事を検討している。

(２)イネを用いた基盤植物の開発((独)農業生物資源研究所、(独)産業技術総合研究所)

【栽培サイクル】品種台中65号に開花遺伝子(*Ehd1*や *Hd1*)を導入し、収量性を下げずに、栽培サイクルの 10%短縮を実現した(図８)。また、光源をメタルハライドから他の光源に変更し複数種のイネを栽培した結果、栽培サイクルを変えずに、一穂粒数が 5 割上がる系統を発見した。

【背丈矮化】現在、草型だけに作用して穂のサイズをほとんど変化させない性質を有する *sd1* 遺伝子の機能を抑えることで、穂を小さくしない半矮性形質転換系統を作成中である。また、矮化による収量低下を、人工環境下超密植条件件でカバーする栽培条件も見い出した。

【光補償点】光補償点を低下させることを目的に、光合成の集光アンテナ増大が期待されるクロロフィル b の分解酵素が変異したイネである nyc 変異体の収量性を検討したが、低光量で収量が下がる傾向があり、光補償点を下げるだけでは実用的な成果が出せないと予想された。現在、さらに栽培条件を検討中である。

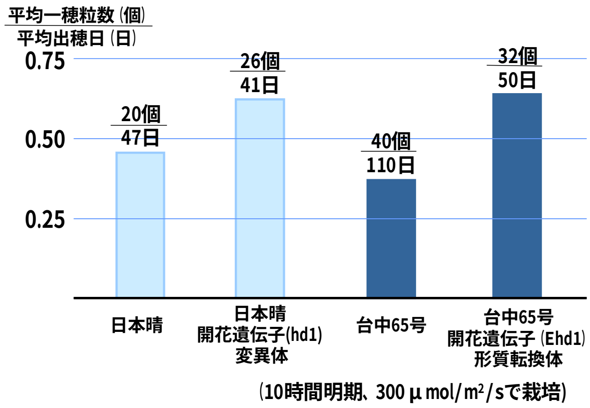


図８.栽培サイクル辺りの収量性(一穂粒数/出穂期）の系統間差

プロジェクトが終了後に開発した技術を有効に利用するためには、例えばイネを用いた有用物質生産研究グループとの事前協議による目標の仮設定が重要になると考えられる。そのための議論をで きるだけ早くはじめ、目標設定を始めたいと考えている。一方で、いろいろな遺伝背景を持つことで各地に適応しているイネ品種やゲノム解析によって得られた新規遺伝 材料、ひいては、野生イネ等の遺伝資源の中から、完全人工環境下においてパフォーマンスが優れた系統を選抜しつつ、そのパフォーマンスを効率的に引き出す人工環境条 件の最適化を進める必要があり、現在、考えられる限りの遺伝背景を変えた材料を、使用可能な設備を最大限に使用し、実験に供試している。現時点では、仮設定した有用物質 を生産する形質転換体を現時点で導入するのは時期尚早と考えられるが、現在進行している課題で成果が上がり次第開始することを検討している。また、供試する系統を選ぶにあたって、育種家

との連携は積極的に進める計画である。

(３)薬用植物を用いた基盤植物の開発((独)医薬基盤研究所、(独)産業技術総合研究所)

オウレン培養組織からの効率的形質転換法を開発した(特許申請準備中)。これにより、ゲノム情報の少ないオウレンを遺伝子工学的手法により効率的に改変可能となった。本手法を用い、オウレンに対しバイオマスの増加に関与する転写因子遺伝子の導入を行った。一方、閉鎖系栽培施設におけるオウレンの養液栽培例はほとんど無いため、非組換え体を材料に養液栽培条件を検討した。その結果、培養土ココピートを用いた養液栽培により、土耕栽培に比べて、栽培１年後の１株当たりの茎(地上茎および根茎)の収量が3.4 倍、薬用成分であるベルベリン収量が 6 倍になる養液栽培法を確立し(図９)、バイオマスに関しては目標値を達成した(畑作１年換算の収量の 1.9 倍)。しかし、ベルベリン収量は畑作１年換算の 42%であるため、アルカロイド収量増加に関し検討予定である。

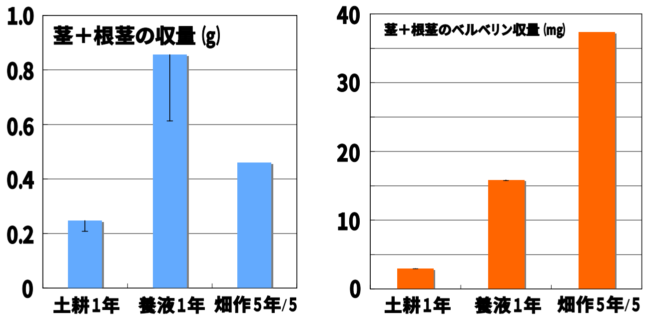


図９．閉鎖温室栽培(気温 20℃、相対湿度 50-60%、16 時間照明)1 年後のオウレンの収量(乾燥重量)とベルベリン収量（mg/株）および１年に換算した畑作５年の丹波オウレンの収量（乾燥重量 g）とベルベリン収量

(４)糖鎖修飾抑制技術の開発及びその評価((独)産業技術総合研究所)

植物型糖鎖修飾関連遺伝子を、*N. benthamiana* より 6 種 10 遺伝子、*A. thaliana* より 6 種 15 遺伝子、*N. tabacum* より 2 種 2 遺伝子単離し、抑制試験に順次用いた。抑制効果はマトリックス支援－飛行時間型質量分析器(MALDI-TOF-MS)により N-結合型糖鎖の構造解析することで評価した。その結果、GDP-フコースの合成に関与する酵素である GMD 遺伝子の抑制により 95%の N-結合型糖鎖がフコース修飾されていない遺伝子組換えタバコ植物体を得た(図１０)。更に、β-1,2-キシロース転移酵素の抑制により、キシロース修飾がほぼ 100%抑制された遺伝子組換えタバコの系統を得た。一方、80%の N-結合型糖鎖がフコース修飾されていないタバコ植物体を、キュウリモザイクウイルス(CMV)ベクターを用いた GMD 遺伝子の抑制により得た。その他の遺伝子については、現在、抑制効果が認められていないが、抑制効果を有する遺伝子配列の探索等を行う予定である。

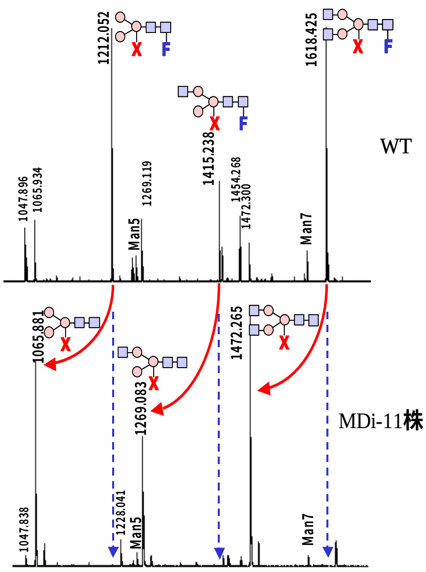


図１０．GMD 遺伝子抑制組換えタバコ植物体におけるフコース修飾抑制効(MALDI-TOF-MS)による解析結果)

(５)植物型糖鎖修飾を有する糖蛋白質の除去技術の開発((独)産業技術総合研究所)

23 種類の糖蛋白質について、その N-結合型糖鎖の構造解析を MALDI-TOF-MS により行った。その結果、マウス免疫化や抗体のスクリーニングの際に複数の糖蛋白質を組み合わせることで､抗植物型糖鎖修飾モノクローナル抗体の作成が可能であると推定された。現在、これらの糖蛋白質をモノクローナル抗体作成に十分な量を確保している。

(６)遺伝子組換えによる植物糖鎖制御技術の開発及びその評価((国)大阪大学、(独)産業技術総合研究所)

酵素 A の高発現化に関しては、酵素 A 遺伝子 2 種(酵素 A-1，酵素 A-2)を単離した(図１１)。各遺伝子を導入したタバコ植物体を作成し、非組換体の約 2 倍に酵素 A 活性上昇した遺伝子組換体を得た。一方、酵素 B の発現抑制に関しては、タバコより酵素 B 遺伝子を単離後（図１２）、酵素 B 遺伝子抑制株の取得のため、アンチセンス型、RNAi 型 2 種のベクターを作成し、それぞれ形質転換植物を得た。蛋白質量当たり反応速度は、遺伝子組換え体(J45 株)は非組換体の約 24%であり、75%抑制されていた。

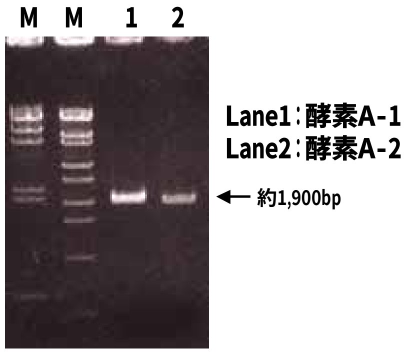


図１１.酵素 A 遺伝子の単離

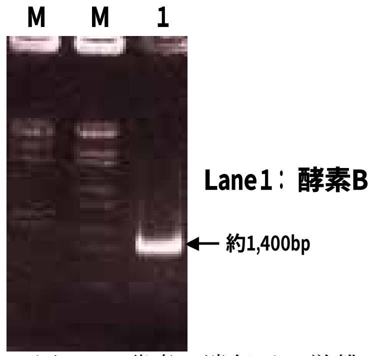


図１２.酵素 B 遺伝子の単離

５－１－３－２　達成度

要素技術	(１)タバコを用いた基盤植物の開発
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：80%達成(年度内に 100%達成可能)
要素技術	(２)イネを用いた基盤植物の開発
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：80%達成(年度内に 100%達成可能)
要素技術	(３)薬用植物を用いた基盤植物の開発
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：60%達成(年度内に 100%達成可能)
要素技術	(４)糖鎖修飾抑制技術の開発及びその評価
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：95%達成(年度内に 100%達成可能)
要素技術	(５)植物型糖鎖修飾を有する糖蛋白質の除去技術の開発
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：80%達成(年度内に 100%達成可能)
要素技術	(６)単一な糖鎖構造を付加するためのシステム開発
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：95%達成(年度内に 100%達成可能)

５－１－３－３　特許出願状況等

表３．特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被引用度数	特許等件数(出願を含む)	特許権の実施件数	ライセンス供与数	取得ライセンス料	国際標準への寄与
(1)～(3)	1	-	2	-	-	-	-
(4)～(6)	-	-	1	-	-	-	-
計	1	-	3	-	-	-	-

５－１－４　事業化、波及効果についての妥当性

５－１－４－１　事業化の見通し

本課題での成果は基盤技術であるため、多くの植物に応用可能なものであり、基本特許取得後、種苗会社や製薬企業等にライセンス化(種苗の生産や既存植物への技術の応用)することが可能である。本課題での成果は基盤技術であるため、多くの植物に応用可能なものであり、基本特許取得後、種苗会社や製薬企業等にライセンス化(種苗の生産や既存植物への技術の応用)することが可能である。「植物型糖鎖修飾抑制技術の開発」において開発された技術は、速やかにプロジェクト内において技術を応用することが望ましいが、プロジェクト内に技術を早急に適用する必要があるターゲットが無い状況にある。しかし、モデル抗体実験で基礎的な知見を得ることで、プロジェクト中もしくは終了後速やかにヒトモノクローナル抗体、サイトカイン分子等の医療用糖蛋白質への技術の応用が広く可能であると考えられるため、早急にプロジェクト外を含めたライセンス化に関する対話を進めたいと考えている。

５－１－４－２　波及効果

・閉鎖型栽培施設に適した形質を有する基盤植物の開発(要素技術１～３)

遺伝子組換え植物を用いた医薬生産では、世界的に 2 割の機関でタバコを基盤植物として用いている(平成 19 年度 JST-CRDS アグロファクトリーの創成)。このことからも今後、閉鎖系栽培施設を利用した医薬生産においても、多様な利点を有するタバコが用いられることが予想され、実際に重点的に研究開発が進めていることからも、本課題おける成果の波及効果は大きいことが予想できる。同様に、イネの場合、花粉症緩和米の例もあるように､経口可食や薬品抽出のための遺伝子組換え体が作出される可能性が高く、効率的な生産法や系統を確立する本開発研究おける成果の波及効果は大きい。薬用植物オウレンに関しては、閉鎖系での安定した生産システムの構築により格段の増収が見込まれ、衰退した国内栽培の再活性化が期待される。更に、国内栽培が衰退してしまった他の多くの薬用植物の国内生産を誘起することが出来ると考えられる。

・植物型糖鎖修飾抑制基盤植物の開発(要素技術４～６)

海外においても植物型糖鎖修飾抑制技術の研究は精力的に進められており、コケやタバコ等において､糖転移酵素遺伝子の抑制により植物型糖鎖修飾を抑制した報告がある。本研究では、糖転移酵素遺伝子だけでなく糖ヌクレオチド合成に関与する酵素も研究対象とし、既に GMD 遺伝子を抑制することで植物型糖鎖修飾の抑制に成功しており、これ

は海外特許等に影響されない独自の技術開発である。これまでの成果を含め、本研究において汎用性の高い植物型糖鎖抑制技術の開発し基本特許を取得することが可能であり、また、作出した植物型糖鎖修飾が抑制された植物体は、植物による医療用糖蛋白質生産における基盤植物となり、世界をリードすることが可能である。ガンの治療用抗体や、インターフェロン等のサイトカイン類を始めとした多くの医療用蛋白質は糖鎖修飾を有する。これらの糖蛋白質の植物生産可能とする本技術開発は、非常にインパクトの大きなものとなる。例えば、代表的な医薬用糖蛋白質である治療用抗体の平成 18 年度における国内市場規模は 454 億円、また、インターフェロン類では 580 億円にのぼる(日経バイオ年鑑 2007)。世界市場規模はこの十数倍に上ると推定され、現行の生産システムに替わり、植物による医療用糖蛋白質生産システムが実用化することで、医学、歯学、獣医学、畜産等幅広い分野で世界規模での非常に大きな経済的波及効果が期待できる。

５‐２「植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発」

５‐２‐１ 目的

植物を宿主とする有用物質の組換え生産は、そのコストが動物、微生物と比較して安価なこと、植物は移動せず収穫も容易であること等から注目されている。特に、近年の再生医療技術の開発に必須である増殖因子や、ミサイル療法のために用いられるヒト型抗体等の有用蛋白質の安価な供給が求められている。これらの有用蛋白質の殆どは、生合成と細胞内での輸送の過程で、糖鎖修飾等の各種の修飾を受けている。

植物において蛋白質に付加される糖鎖は、アスパラギン残基へ付加される糖鎖（N-結合型糖鎖）と、水酸基を持つアミノ酸の水酸基へ付加される糖鎖（O-結合型糖鎖）に大別される。N-結合型糖鎖は、真核生物に普遍的に存在する機構により蛋白質へ付加され、その後の構造変換の過程で植物に特徴的な部分構造を取ることが知られている。これとは異なり、O-結合型糖鎖の付加は、動植物、菌類が進化過程で独立に獲得した蛋白質の修飾と考えられ、その付加部位と付加機構はこれらの生物種で大きく異なっている。

植物のO-結合型糖鎖は、(A)蛋白質中で単独に存在するプロリン残基が水酸化されて生じたヒドロキシプロリン残基に、アラビノガラクタンと呼ばれる糖鎖が付加される型、(B)連続したプロリンが水酸化され、生じたヒドロキシプロリン残基にアラビノガラクタンまたは１から数個のアラビノースが付加される型、(C)セリン残基にガラクトースが付加される型の三種が知られ（図１）、殆どの植物細胞壁中の構造蛋白質や一部の植物細胞間情報伝達蛋白質は、これらの修飾を受けている。このうち(A)、(B)の修飾で付加されるアラビノガラクタンは、ヒトや動物に対して抗原性を持つものがあること(Altern. Med. Rev. 7, 138-149)、 動物のマクロファージ活性化能を有すること(J. Natl. Cancer Inst. 81, 669-675)、この糖鎖を結合させた化合物は投与された動物の肝臓と腎臓に

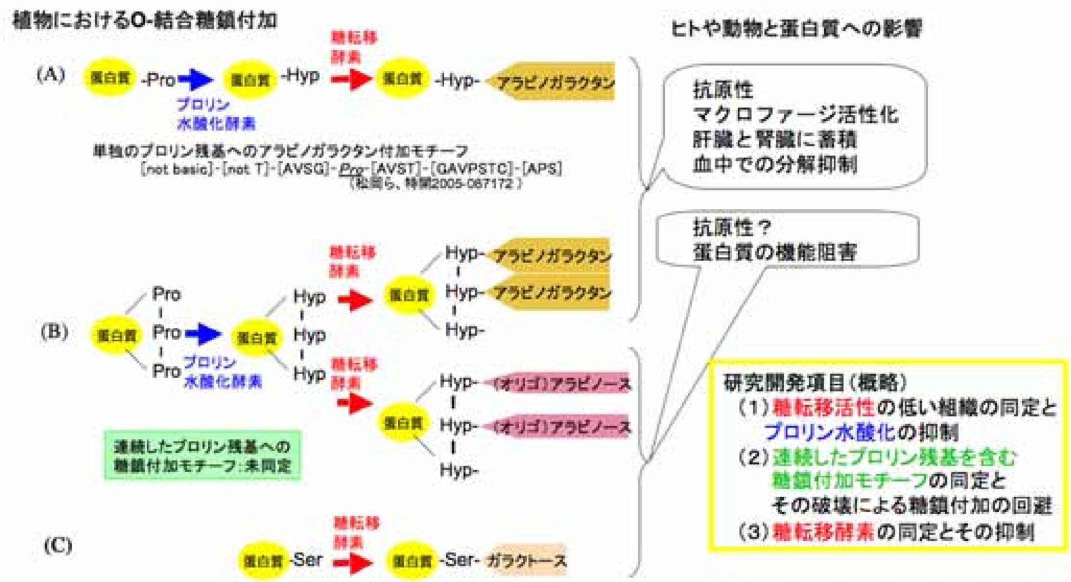


図１　植物で見出される3種のO-結合型糖鎖付加（左）と、付加される糖鎖のヒトや蛋白質へ及ぼす機能、及び研究開発項目の概略

研究開発項目の赤、青、緑の字は、糖鎖付加の各段階と未同定の情報に対応する。

蓄積すること（Bioconjug. Chem.5, 547-556）、組換え植物細胞で生産したこの糖鎖を付加させたインターフェロンは動物血中で非常に安定であること(Biotechnol. Bioeng. 97, 997-1008)等の、ヒトや動物に対して多彩な効果を有することが報告されている。また、植物で発現させた免疫グロブリンのプロリンが水酸化され、アラビノースの付加を受けるという報告もなされており(Glycobiology 15, 965-981)、この修飾により天然の免疫グロブリンとは異なる性質を示すこともあり得る。同様に(C)のセリン残基へのガラクトース修飾が蛋白質に起った場合も、その機能に異常を来す可能性は否定出来ない。

従って、植物で発現させた外来蛋白質へこれらの植物型のO-結合型糖鎖修飾が生じると、目的の活性を持たなかったり、天然蛋白質と異なった性質となったりすることが起こり得る。そこで、植物型O-結合型糖鎖修飾の抑制技術が必要となるが、技術開発の前提となるこの修飾機構に関する知見は非常に乏しい。そのため、この機構を解析しその成果を利用して、植物型糖鎖修飾を抑制した植物の作出技術を開発することを、本研究開発の目的としている。対象植物は、有用蛋白質の発現実績の最も多いタバコとするが、解析にはモデル植物や培養細胞、酵母での発現系等も利用する。

具体的には、上記の３種のO-結合型糖鎖修飾について、以下のとおりの３種の方向から研究開発を進めることにより、糖鎖修飾の抑制技術の確立を図る。

（１）(A)については、本プロジェクト開始以前に、実施者らにより糖鎖付加を受けるアミノ酸配列の法則性（モチーフ）が決定されており、また、糖鎖付加の前段階に働くプロリン水酸化酵素の同定もなされていた。そこで、モデル蛋白質を用いて糖鎖修飾程度の低い植物の器官を同定し、併せてプロリン水酸化酵素の発現や機能を抑制することにより、糖鎖付加部位への修飾が抑制されている器官を有するタバコ植物を開発する。併せて、上記モチーフを持つ有用蛋白質候補のタバコ細胞及びタバコ植物体での発現系を確立し、そのモチーフにアラビノガラクタンが付加されているかを確認すると共に、

上記で開発される技術または（３）で開発される技術を適用し、その技術の普遍性を確立する。

（2）(B) については、プロジェクト開始時点においては、付加モチーフが決定されておらず、連続したプロリンであっても糖鎖付加が起るか予測出来る状況には無かった。そこで、まずこのモチーフを明らかにし、次いでそのモチーフを持つ有用蛋白質にモチーフ破壊変異を導入し、それをタバコ植物体で発現させることにより、有用蛋白質への糖鎖付加を回避する技術を開発する。

（3）(A-C)の糖鎖を対象とし、研究開発の開始時点では全く同定されていない植物のO-結合型糖鎖付加酵素を、モデル植物のゲノム情報と酵母での発現系等を用いて同定し、その情報を基にタバコのO-結合型糖鎖付加酵素の抑制を行うことにより、蛋白質への糖鎖付加の低減技術を開発する。

（１）（２）については、植物と植物培養細胞での発現系を用いた解析に習熟している九州大学が、（３）については、酵母での糖転移酵素発現系と糖転移酵素の活性測定に習熟している産業技術総合研究所と崇城大学が担当するが、情報の交換、標品の分析等で補完し合いながら研究開発を進めている。成果については、知材化を優先としているため、中間評価段階では研究成果の発表数に限りが生じている。また、植物型構造のN-結合型糖鎖修飾の抑制技術の開発は、５－１「閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物の開発研究」で実施されるため、本課題では実施しない。

５－２－２　目標および成果・達成度

表１．目標および成果・達成度

中間目標・指標	単独のプロリンからなる糖鎖付加部位を持つモデル蛋白質の、50%以下にしか糖鎖を付加しないタバコを作出する。また、糖鎖付加モチーフを持つ少なくとも一つの有用蛋白質のタバコ培養細胞での発現系を確立する。
設定理由・根拠等	植物特異的な糖鎖修飾の抑制が判定出来る値を設定。今後の解析に必要な最低数。
成果	タバコ種子で発現させたモデル蛋白質スポラミンの、90%以上が糖鎖付加を受けていない分子であることを見出した。GFPとの融合蛋白質の形で、2 種のサイトカインのタバコ培養細胞中での発現を確認した。
達成度	19 年度目標：100%到達
最終目標・指標	有用蛋白質中の単独プロリンからなる糖鎖付加部位のうち70%以上が糖鎖付加を受けていないタバコを作出する。
設定理由・根拠等	植物特異的な糖鎖付加は必須であり、完全抑制は出来ない可能性が高い。そこで、植物体として存在出来ると考えられ、且つ糖鎖付加が低減されている条件として、70% を設定。
中間目標・指標	連続したプロリンからなる糖鎖付加モチーフを同定する。次

	いでモチーフを破壊して糖鎖付加割合が 50%以下に低下した変異有用蛋白質をタバコ培養細胞中に発現させる。
設定理由・根拠等	糖鎖付加の抑制が判定出来る値として、50%を目標値とした。
成果	19 年度末時点で連続したプロリンを持つ糖鎖付加モチーフを同定した。これらモチーフを持つ有用蛋白質を同定した。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：75%（年度末見込 100%）
最終目標・指標	連続プロリン型糖鎖付加モチーフを持つ有用蛋白質を改変し70%以上を修飾を受けない状態でタバコ植物中に発現させる。
設定理由・根拠等	糖鎖付加された分子を精製過程で除去できる割合から勘案。
中間目標・指標	モデル植物から、少なくとも一種の、植物特異的なO-結合型糖鎖修飾の遺伝子を同定する。
設定理由・根拠等	タバコ遺伝子の同定に最低必要な情報数。
成果	糖転移酵素候補５０種を酵母表層に発現させた（19 年度）。植物細胞からの O-ガラクトースおよび O-アラビノース転移酵素の活性測定に成功した（世界初）。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：75%（年度末見込 100%）
最終目標・指標	植物糖転移酵素遺伝子のタバコにおける発現抑制等により、糖鎖付加のターゲットとなるセリン残基のうち、70%以上において糖鎖付加が抑制されたタバコ植物を作成する。
設定理由・根拠等	植物特異的な糖鎖付加は必須であり、完全抑制は出来ない可能性が高い。そこで、植物体として存在出来ると考えられ、且つ糖鎖付加が低減されている条件として、70% を設定。

５－２－３　成果、達成度

５－２－３－１　個別要素技術成果

（１）　タバコ植物中でのプロリン水酸化酵素の制御による植物特異的な O-結合糖鎖付加抑制法の開発（国立大学法人九州大学）

植物特異的な糖鎖付加のうち、蛋白質中に単独で存在するプロリン残基の水酸化とそれに引き続く糖鎖付加の活性は、葉などの栄養成長組織では高く、種子等の貯蔵組織では低いと想定される。そこでタバコ植物体で発現させたこの修飾を受ける蛋白質スポラミンをモデルとして用い、物質生産に適した組織での糖鎖付加程度を検討した。その結果、スポラミンの 10%以下しか糖鎖付加を受けない組織を見出した（中間目標達成）。しかしこのスポラミンの約半量はプロリンの水酸化を受けており、天然型外来蛋白質を生産させる為には、水酸化の抑制も必要であることが判明した。

これと平行して、これら組織中に存在するプロリン水酸化酵素を抑制することにより、糖鎖付加に必須なヒドロキシプロリンの生成を阻害したタバコ植物を確立する研究を進めた。植物のプロリン水酸化酵素は、１型と 2 型のグループに区別される。既にタバコ

から二種の１型プロリン水酸化酵素の cDNA は取得していたので、まず、4 種の 2 型プロリン水酸化酵素の cDNA をタバコからクローン化した。次いでこれらの発現を RNA 干渉により抑制したタバコを作製した。これらとスポラミン発現タバコの交雑体の育成を進めており、年度末までにはそれらでの糖鎖付加の検討を終了する予定である。併せて、2 型プロリン水酸化酵素の細胞内局在機構の検討等を進めた。更に、抑制開発中の技術の普遍性を確立するために、アラビノガラクタン付加モチーフを持ち糖鎖付加を受ける有用蛋白質の同定も進めている。更に、開発中の抑制技術の普遍性を確立するために、アラビノガラクタン付加モチーフを持つ９種のヒトのサイトカイン前駆体を、GFP との融合蛋白質としてタバコ培養細胞中で発現させ、そのうち IL-6 と GM-CSF において分解を受けていない蛋白質の発現に成功した。これらにおいては、糖鎖付加の可能性のある複数のポリペプチドバンドを検出したが、発現レベルが低かったため、コドン使用頻度をタバコに至適化した合成遺伝子を作成し、発現レベルの上昇と、高発現を示した形質転換体からの精製、それに引き続く糖鎖付加の検討を進めている。なお、この検討で十分高い発現レベルが得られた場合には、これらの蛋白質の商品化を図る企業を探し、実用化を図るべく共同研究を進める予定である。

これらと平行して、本プロジェクトの他課題において発現が試みられている蛋白質のうち、本課題の成果の有効利用が可能なものを検討し、本プロジェクト内の「高機能性イチゴ・・・」において対象としている蛋白質の一つに、アラビノガラクタン付加モチーフを持つものを見出している。現在、この蛋白質へのアラビノガラクタン糖鎖付加と、Tox1 領域を利用したその抑制に関して、共同研究を進める方向で調整中である。

（２）連続したプロリン残基からなる植物特異的 O-結合糖鎖付加配列モチーフを持つ有用蛋白質のモチーフ破壊による修飾回避法の開発（国立大学法人九州大学）

変異を導入したスポラミンをモデル蛋白質とし、タバコ培養細胞での発現系を用いて、連続したプロリン残基へのオリゴアラビノースとアラビノガラクタンの付加モチーフの検討を進め、そのモチーフを見出した。次いで、これらのモチーフを持つヒトの蛋白質をデータベース検索により同定し、現在これらの野生型とモチーフ破壊変異体のタバコ培養細胞での発現が進行中である。

（３）植物由来のセリン残基への O-糖転移酵素の網羅的同定とその抑制による O-結合糖鎖付加抑制法の開発（独立行政法人産業技術総合研究所、学校法人崇城大学）

O-ガラクトースおよび O-アラビノース転移酵素の遺伝子を同定をするために、全遺伝子情報が明らかなシロイヌナズナで、酵母や哺乳動物で知られる O-結合型糖転移酵素遺伝子のホモログを始めとした、ペプチドへのガラクトースあるいはアラビノース転移酵素の候補遺伝子 126 個を選び出した。このうち、代表的な 53 遺伝子候補を選び、cDNA クローンを酵母発現ベクターに組み込み、酵母細胞表層に発現させて酵素活性を測定した。この方法は、ヒト糖転移酵素を 50 遺伝子発現させて、75%の成功率で活性が確認で

きた方法であり、植物のα-1,3-フコース転移酵素遺伝子を発現させた場合にも活性が確認できている。しかし、53の植物遺伝子候補に目的の酵素活性は検出できなかった。

そこで、酵素活性測定系を再検討する目的で、植物培養細胞の抽出液を調整し、酵素活性を測定したところ、ヒドロキシプロリン残基への、ガラクトースおよびアラビノースの転移活性を世界で初めて検出した。またそれぞれは、UDP-ガラクトース、UDP-アラビノースという糖ヌクレオチドを供与体基質にしていた（論文作成中)。一方、これら酵素は各種界面活性剤で全く可溶化せず、酵素を精製してアミノ酸配列を決定する方法で遺伝子の同定が図れないことが明らかになった。そこで、植物材料を変えて、ペプチドへのガラクトース転移酵素活性を測定したところ、ヒドロキシプロリン残基へのβ-ガラクトース付加、セリン残基へのα-ガラクトース付加の両方の活性が確認され、どちらも界面活性剤により可溶化することができた。現在、複数のカラムクロマトグラフィーを組み合わせて精製を進め、アミノ酸配列の決定から遺伝子の同定を試みている。

5－2－3－2　達成度

要素技術	（１）タバコ植物中でのプロリン水酸化酵素の制御による植物特異的なO-結合糖鎖付加抑制法の開発
達成度	19年度目標：100%到達
要素技術	（２）連続したプロリン残基からなる植物特異的 O-結合糖鎖付加配列モチーフを持つ有用蛋白質のモチーフ破壊による修飾回避法の開発
達成度	19年度目標：100%到達、中間目標：75%(年度内には100%達成可能)
要素技術	（３）植物由来のセリン残基への O-糖転移酵素の網羅的同定とその抑制による O-結合糖鎖付加抑制法の開発
達成度	19年度目標：100%到達、中間目標：75%(年度内には100%達成可能)

5－２－３－３　特許出願状況等

表２．特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被引用度数	特許等件数（出願を含む）	特許権の実施件数	ライセンス供与数	取得ライセンス料	国際標準への寄与
（１）	-	-	-	-	-	-	-
（２）	-	-	-	-	-	-	-
（３）	**1**	**6**	**1**	-	-	-	-
計	**1**	**6**	**1**	-	-	-	-

５－２－４　事業化、波及効果についての妥当性

５－２－４－１　事業化の見通し

成果は、特許出願を行うとともに企業にライセンスすることに務め、併せて研究発表を行うことで普及を図る。また、解析に用いた有用蛋白質がタバコ植物において大量に

合成された場合には、他企業と新たな共同研究を開始することで、実用化を目指す。

5－2－4－2　波及効果

（１）プロリン水酸化酵素の細胞内局在機構を利用して、動物由来の糖転移酵素をゴルジ装置に局在させる等、植物のゴルジ装置の機能改変のための手法を有している。
（２）プロリンへの糖鎖付加モチーフが決定出来たことは、ゲノム情報から得られた蛋白質を用いて、プロリンへ糖鎖修飾を受ける蛋白質の同定が可能となることを意味する。
（３）植物糖転移酵素の利用で、糖鎖合成に必要な糖ヌクレオチドの酵母細胞での生産が可能となっている。酵母の細胞壁発現株の形態で保存している 50 種類以上の植物糖転移酵素は、他の研究者に提供可能であるので、O-結合型糖鎖以外の研究にも貢献できる。

５－３「ウイルスベクターを用いた高効率発現システムの開発」

５－３－１　目的

植物ウイルスベクターは、一般的な遺伝子組換え植物での物質生産（６ヶ月以上要す）に比べ非常に短期間で（４週間以内）、また、塗抹接種のみという簡便な操作で目的物質の発現が可能な機動性に優れた方法である。

本課題は、ウイルスベクターの機動性を生かすモデルケースとして、ワクチン成分と免疫増強分子の二つの物質を異なるウイルスベクターの同時感染により、短期間で生産・効果確認を行う「デュアルシステム」の開発（図１）、ある特定の２種類のウイルス混合感染がウイルス増殖量を増大させる現象（相乗効果）のメカニズムを利用して、ウイルスベクターの発現量を上げるウイルスベクター用基盤植物、「相乗効果システム」の開発（図２）、さらに、ウイルスベクターの実用化において最大の短所である、圃場におけるウイルスベクターの感染拡大による無秩序な遺伝子拡散を、遺伝子組換え植物を利用して防止する「非拡散システム」の開発（図３）を行い、従来より有用な植物ウイルスベクターによる物質生産基盤技術を開発するものである。

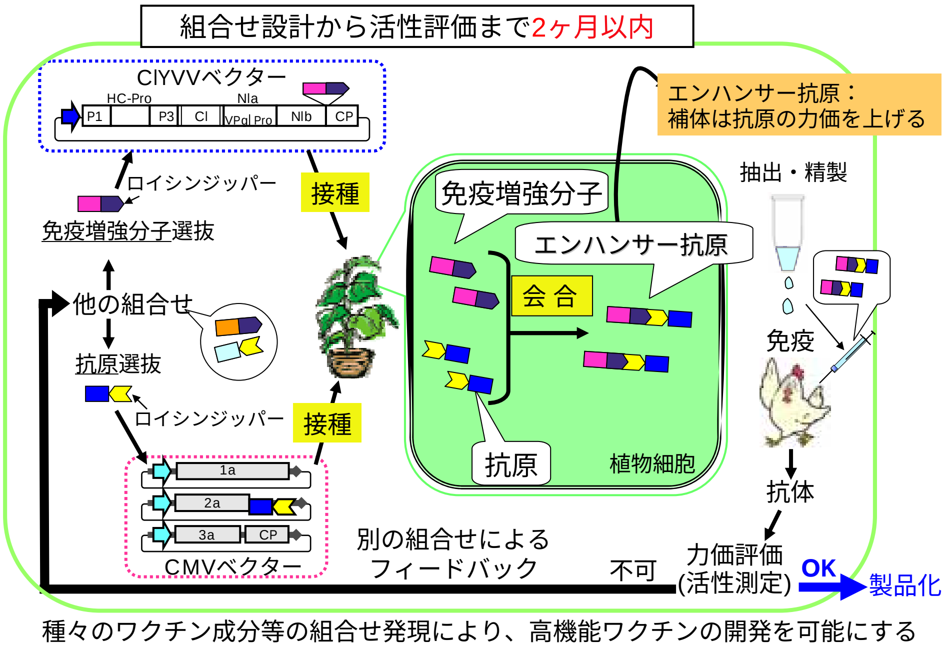


図１．　デュアルシステムを利用した高機能ワクチンの開発

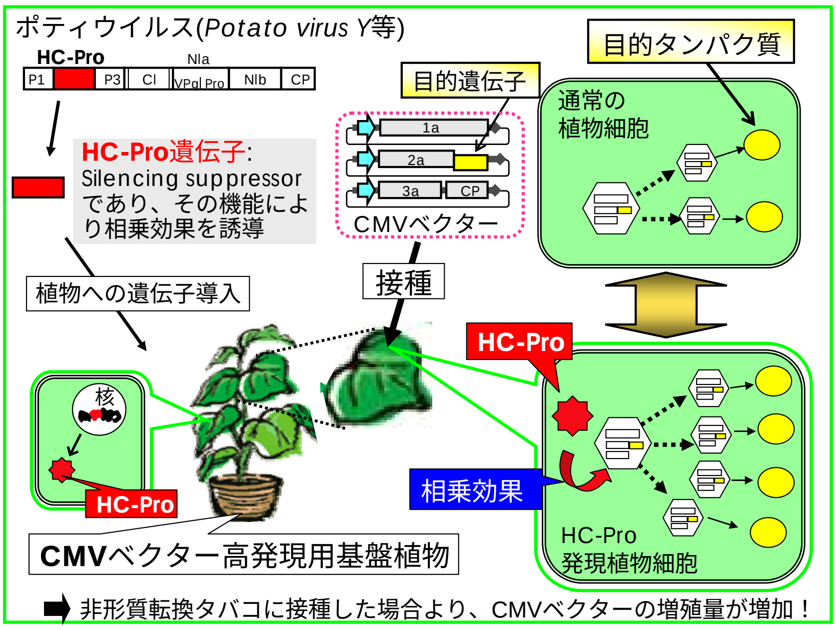


図２．　相乗効果システムの開発

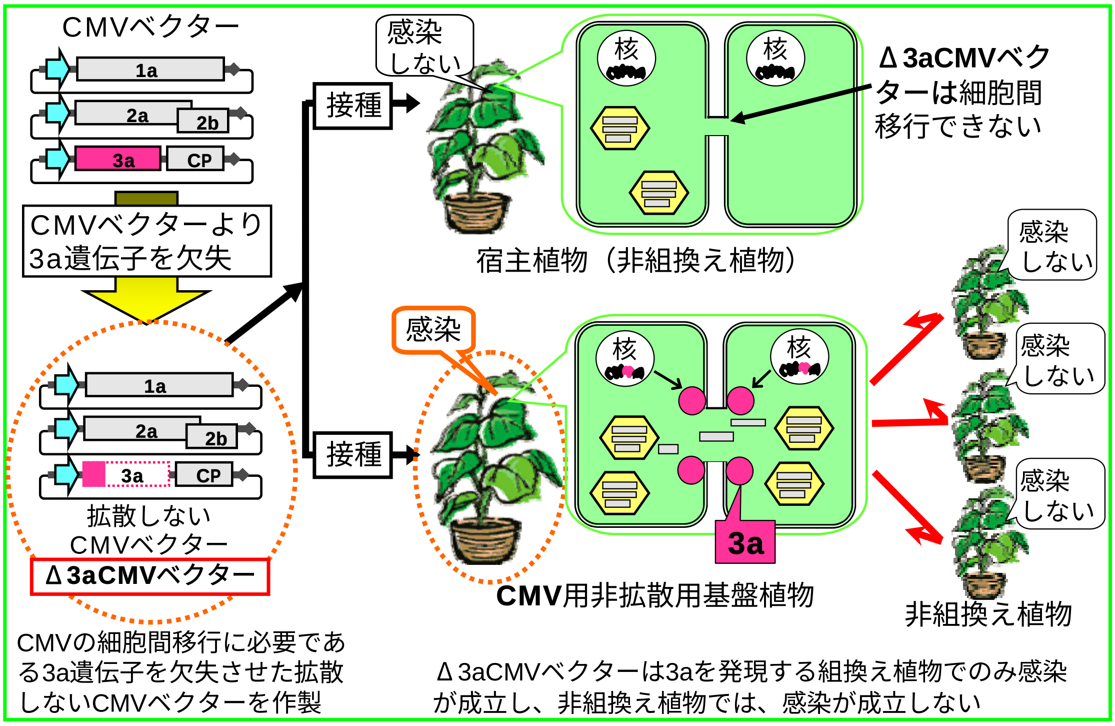


図３．　非拡散システムの開発

５－３－２　目標および成果・達成度

表１．目標および成果・達成度

中間目標・指標	（１）デュアルシステムの研究開発 補体成分、菌体成分とワクチン成分の遺伝子を導入した組換えベクターの作出とそれらベクターのタバコへの同時感染と目的タンパク質（補体、ワクチン成分など）の発現確認を行う。
設定理由・根拠等	２つの異なるウイルスベクターの補完的使用による有用タンパク質生産システムは、両ウイルスの制御が難しくこれまでに報告がない。まず、その技術を確立する必要がある。
成果	キュウリモザイクウイルス(CMV)ベクターを用いてワクチン成分を、クローバー葉脈黄化ウイルス(ClYVV)ベクターを用いて免疫増強成分を発現させ、これら両成分の植物体内での分子会合についても成功した。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達
最終目標・指標	本システムによる目的タンパク質による動物での抗体産生が、単独投与あるいは非会合標品投与の場合より増加しており、さらにウイルスに対する免疫効果（発症・死亡率、ウイルスの回収等）を従来型ワクチン（生ウイルスワクチン、不活化ワクチン）と比較し、免疫効果の増加があることを確認する。

設定理由・根拠等	２つのウイルスベクターから発現したタンパク質が分子会合した場合、複合体の抗原性が著しく上昇し、極めて効率的なワクチンの機動的生産システム実証として設定した。
中間目標・指標	（２） 相乗効果システムの研究開発 組換え CMV ベクターによる目的タンパク質の発現量を増大させるのに最も適したポティウイルスを選抜し、遺伝子組換え基盤植物を作出するために必要な HC-Pro 遺伝子を得る。
設定理由・根拠等	CMV に最も効果的に相乗効果を誘導するポティウイルスを同定する必要がある。
成果	３種類のポティウイルス(ClYVV, *Potato Virus Y*, *Turnip Mosaic Virus*)から CMV の増殖を最も促進する HC-Pro を調査した結果、PVY の HC-Pro 遺伝子で良好な相乗効果を確認した。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：110%到達
最終目標・指標	CMV ベクターは、従来植物葉 1g 当り 16μg 程度の目的タンパク質を生産するが、本課題では組換え基盤植物を用いて、植物葉 1g 当り 30μg 程度の目的タンパク質の生産を達成する。
設定理由・根拠等	CMV 感染タバコでは、ポティウイルスの相乗効果によりウイルス増殖量が 2 倍程度に上昇することが知られている。
中間目標・指標	（３） 非拡散システムの研究開発 ２種類の改変ベクターの混合接種植物における CMV ベクターの増殖・全身移行性と、他植物への非伝搬性を確認し、3a 遺伝子を導入した組換え植物を用いた非拡散システム開発の基本技術を確立する。
設定理由・根拠等	CMV は植物細胞間移行に自身のコードする 3a タンパク質を必要とする。本システム設計は、この遺伝子を欠失させたΔ3aCMV ベクターが細胞間移行できないこと、さらに他のウイルスベクターで同時発現させた 3a タンパク質により、Δ3aCMV ベクターの細胞間移行が可能になることを最初に実証する必要がある。
成果	ClYVV ベクター等で 3a タンパク質遺伝子を発現・供給することで、Δ3aCMV ベクターが全身感染すること、さらにこの全身感染植物から他の植物へ伝搬しないことを確認した。
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：120%到達
最終目標・指標	本課題で開発する遺伝子組換え基盤植物(3a 組換えタバコ等)を用いて、改変 CMV ベクターの増殖・全身移行性を保持し、かつ他の植物へ CMV ベクターが伝搬しない非拡散システムを構築する。

設定理由・根拠等	Δ3aCMV ベクターは、トランスに 3a タンパク質が供給されれば、全身感染可能であることを前提に、常時 3a タンパク質が発現する形質転換体が、Δ3aCMV ベクターによる物質生産基盤植物になる。

５－３－３　成果、達成度

５－３－３－１　個別要素技術成果

（１）デュアルシステムの研究開発（ホクレン、北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター、北海道大学大学院農学研究院）

CMV ベクターに、鶏のニューカッスル病ウイルスの抗原エピトープ配列に補体と結合させるためのロイシンジッパー構造を付加した遺伝子を導入し（ワクチン成分遺伝子）、一方で、ClYVV ベクターに、鶏肝臓由来補体遺伝子に補体同士の多量体形成のための COMP 遺伝子と抗原分子と結合させるためのロイシンジッパー構造を付加した遺伝子を導入した（免疫増強成分遺伝子）。これらのウイルスをタバコに混合接種し、感染植物の生重 1g 当たり、ワクチン成分が約 6μg、補体成分が 15μg 精製可能であることが明らかとなった。さらに、抗原分子と補体成分がロイシンジッパーにより会合していることを確認した（図４）。

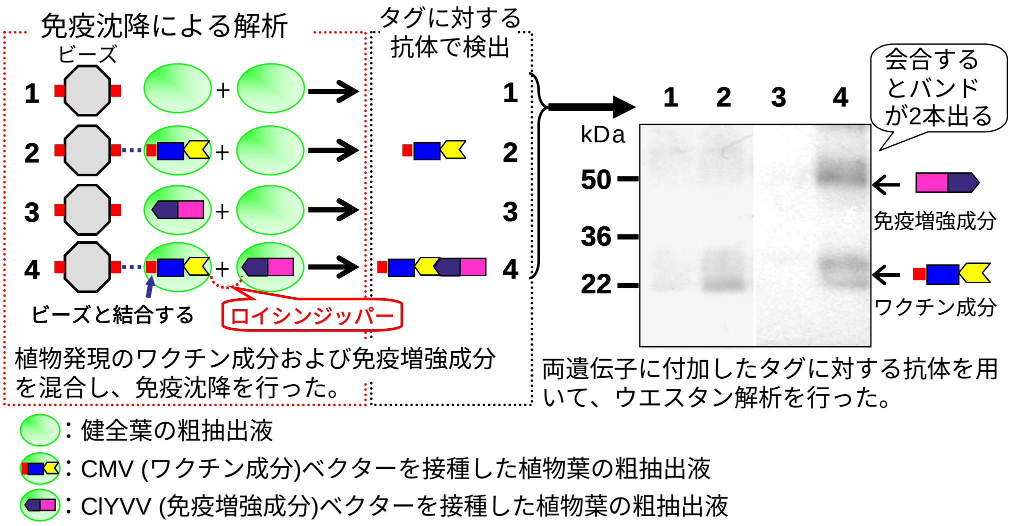


図４．　ワクチン成分と免疫増強成分の分子会合解析

（２）相乗効果システムの研究開発（ホクレン、北大農学）

ポティウイルスグループの中で、ClYVV、

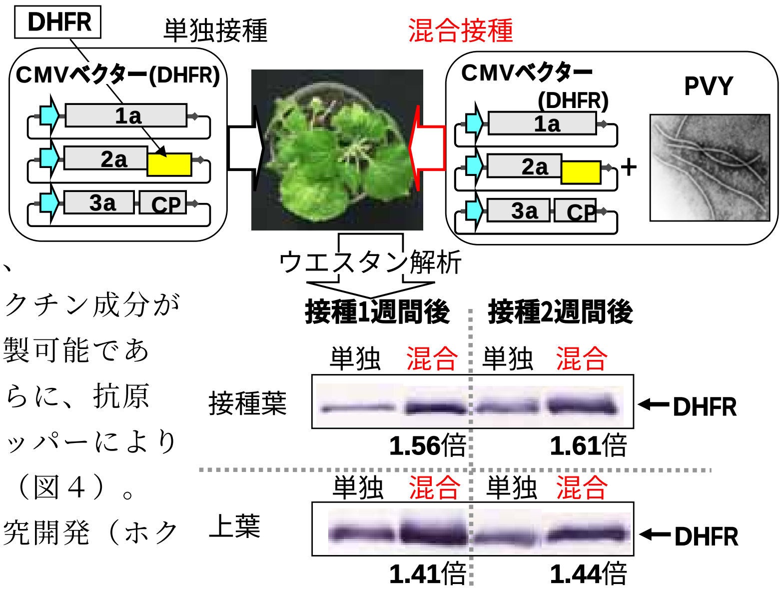


図５．　単独接種と混合接種における
マーカー遺伝子(DHFR)の発現比較

TuMV、PVY の 3 種類のウイルスは、CMV に対して相乗効果が報告されている。そこで、各々のポティウイルスと CMV の組合せでタバコに混合接種し、CMV ウイルス増殖量を比較解析した結果、PVY との混合接種で最も CMV の増殖が促進されることが判明した。続いて、マーカー遺伝子（dehydrofolate reductase:DHFR）を発現する CMV ベクターと PVY を混合感染したところ、ウイルスの場合と同様に PVY との混合接種で接種葉と上葉どちらにおいても DHFR の量が増加することが明らかになった(図５)。以上の結果より、PVY、すなわち PVY の HC-Pro が CMV ベクターの相乗効果に最も適していると判断し、相乗効果による CMV ベクターの高発現が常時誘導可能な CMV による物質生産用基盤植物体作出のため、PVY HC-Pro 遺伝子を導入したタバコを作出した（52 個体）。

（３）非拡散システムの研究開発（ホクレン、北大農学）

CMV ベクターは感染植物体での細胞間移行に 3a タンパク質を必要とする。このため、3a 遺伝子を欠失させたΔ3aCMV ベクターを構築し、このベクターが単独ではタバコに接種しても全身感染しないことを確認した。一方、3a タンパク質遺伝子を発現する ClYVV ベクター（3a-ClYVV ベクター）を構築し、これをΔ3aCMV ベクターと野生タバコに混合接種した結果、Δ3aCMV ベクターは接種葉および上葉において増殖していることを明らかにした（図６）。以上の結果より、3a-ClYVV ベクターから 3a タンパク質がトランスに供給されることにより、Δ3aCMV ベクターが増殖、全身移行可能になることが確認された。

同様に、3a タンパク質遺伝子を発現するジャガイモ X ウイルスベクター（3a-PVX ベクター）とΔ3aCMV を混合感染させたタバコにおいても、Δ3aCMV ベクターが増殖、全身移行可能になることを確認した。さらに、この感染植物体からΔ3aCMV ベクターが他の植物へ伝播するかを媒介虫であるアブラムシを用いて試験した結果、Δ3aCMV ベクターのアブラムシ伝搬は全く確認されなかった。以上の結果から、Δ3aCMV ベクターを用いた発現システムでは、Δ3aCMV ベクターは単独では全身感染できず、トランスに 3a タンパク質が供給される植物体のみで全身感染し、その植物体から他の植物体に伝播しない非拡散システムである、という基本戦略が正しいことが確認された。

そこで、Δ3aCMV ベクターによる物質生産基盤植物体作出のため、CMV の 3a 遺伝子をタバコに導入し、数十個体の形質転換体において 3a タンパク質の発現を確認するまでに至った。

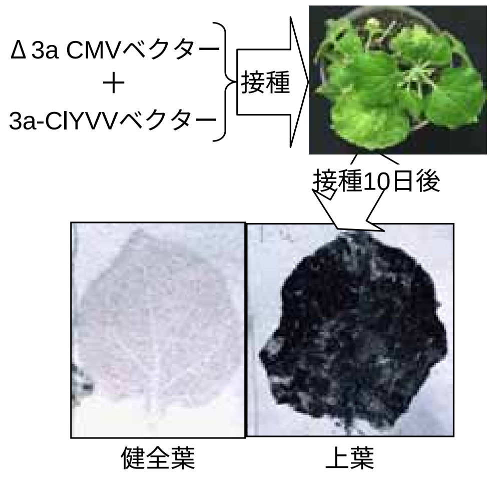


図６． ティッシュプリンティングによるΔ3aCMV ベクターの感染確認

５－３－３－２　達成度

要素技術	（１）デュアルシステムの研究開発
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：100%到達 ２種類の目的タンパク質の発現および分子会合を確認した。

要素技術	（２）相乗効果システムの研究開発
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：110%到達 CMV ベクターに最も適したポティウイルスを選抜した。
要素技術	（３）非拡散システムの研究開発
達成度	19 年度目標：100%到達、中間目標：120%到達 ２種類のウイルスベクターを用いた非拡散システムを構築した。

５－３－３－３　特許出願状況等

表２．特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被引用度数	特許等件数（出願を含む）	特許権の実施件数	ライセンス供与数	取得ライセンス料	国際標準への寄与
（１）	-	-	-	-	-	-	-
（２）	-	-	-	-	-	-	-
（３）	-	-	1	-	-	-	-
計	-	-	1	-	-	-	-

５－３－４　事業化、波及効果についての妥当性

５－３－４－１　事業化の見通し

国内外への特許出願・審査請求を行う。内容として、a）２種物質の同時生産とそれら２種物質の会合による新規機能発現、b）物質生産のための遺伝子組換え基盤植物を用いたウイルスベクターシステムの活用、c）ウイルスベクターの環境への拡散防止技術に関するものである。特許申請が終わった段階で、本プロジェクト参加企業やスーパークラスター（バイオクラスター）参画企業等、国内外の企業等への本システムの有効性の広報を行い、協議を開始する。ウイルスベクター系の機動性を活用できれば、本プロジェクト参加企業が対象としている物質を「仮ターゲット物質」として、プロジェクト期間内に試験的生産と予備的評価を行うことも可能である。また、本プロジェクトでは想定されていない「仮ターゲット物質」として、植物ウイルスの診断で使用する抗体生産への応用を考えている。本技術での抗原生産は、１．ウイルス収量が極端に悪い、２．感染植物が多くの多糖類やフェノール化合物を含む、３．なるべく簡単で特異的な簡易診断が望まれているなどの状況がある場合、特に効果的である。実際、そのようなウイルス診断のニーズも存在することから実行を予定している。

５－３－４－２　波及効果

（１）　ウイルスベクターを用いた高効率発現システムは、世界に類を見ない２種の全く異なるウイルスベクターシステムと、植物組換え技術を組み合わせた斬新な発想の上に実施されるものである。完成される技術は、a）２種類の物質を同時に生産でき、且つその組合せを短期間に容易に換えられる b）その２種類の物質を相乗的に働かせること

ができる、c）ウイルスベクターを物質生産により効率的に用いることを可能にする、d）遺伝子の環境への拡散を生物学的にも阻止できる（生物学的封じ込め）、等が可能となり、物質生産のための基本技術として産業的に大きな波及効果が想定される。
（２）　その効果は、今回のワクチン生産にとどまらず、様々な有用物質の高効率な生産へ道を開くものとなる。したがって、家畜用のワクチンなどの家畜用医療品に限らず、医療用原材料や医薬品、健康補助食品・機能性食品、試薬、酵素等様々な有用物質の国内生産を可能にし、それら生産分野におけるわが国の産業競争力の強化と新規産業の創設を強力に推進するものである。それに伴い、新規雇用の創出、海外への輸出など、わが国の経済発展へ大きく貢献できるものである。
（３）　日本においては、遺伝子組換え作物の利用に対する社会的許容は厳しい現状である。しかし、遺伝子の環境への拡散を完全に防御出きるシステムの完成により、国民生活に有用な物質が生産できることを実際に提示でき、遺伝子組換え技術の重要性に対する国民の意識に改革をもたらし、遺伝子組換え技術による新たな産業創生への志向に対しても大きな効果を与えるものである。

５－４「高効率物質生産に寄与する多重遺伝子発現と転写翻訳系改変に関する研究開発」

５－４－１　目的

目的物質生産の効率を向上させるためには導入した外来遺伝子の効率良い発現が重要となる。また、複数の外来遺伝子を計画的に発現させること、すなわち「多重遺伝子発現」により、高度な物質生産系を構築することが可能となる。それらの計画的な運用が可能となる技術が開発されれば植物細胞における外来遺伝子発現による各種物質生産のバイオマスあたりの生産性が著しく向上することが期待できる。しかし、現状ではそれらの要求を満たす技術は未熟であり、発展途上の部分が多い。そこで本研究では、遺伝子発現制御関連分野において十分な実績を有する横浜国立大学において当該研究を実施し、計画的運用が可能な高効率物質生産に寄与する多重遺伝子発現系と転写翻訳系の構築を目的とする（図１）。研究実施に際しては、横浜国立大学が有する特徴的な技術である、遺伝子発現の定量モニタリングが可能となる「レポーター遺伝子」の技術を重点的に活用し、他研究機関では実施が困難な高速・高精度な遺伝子発現計測技術を用いる。また、単独の mRNA から複数のタンパク質を翻訳させることが可能な IRES (internal ribosome entry site)配列を駆使する技術開発に関しては横浜国立大学が有する技術・ノウハウの蓄積を十分に活かすことを念頭に、本事業の他プロジェクトにおける複数遺伝子同時発現等のニーズへの対応と、その後の事業展開を企図している。また、新技術を活用した具体的実施例に関しても事例研究を行う。

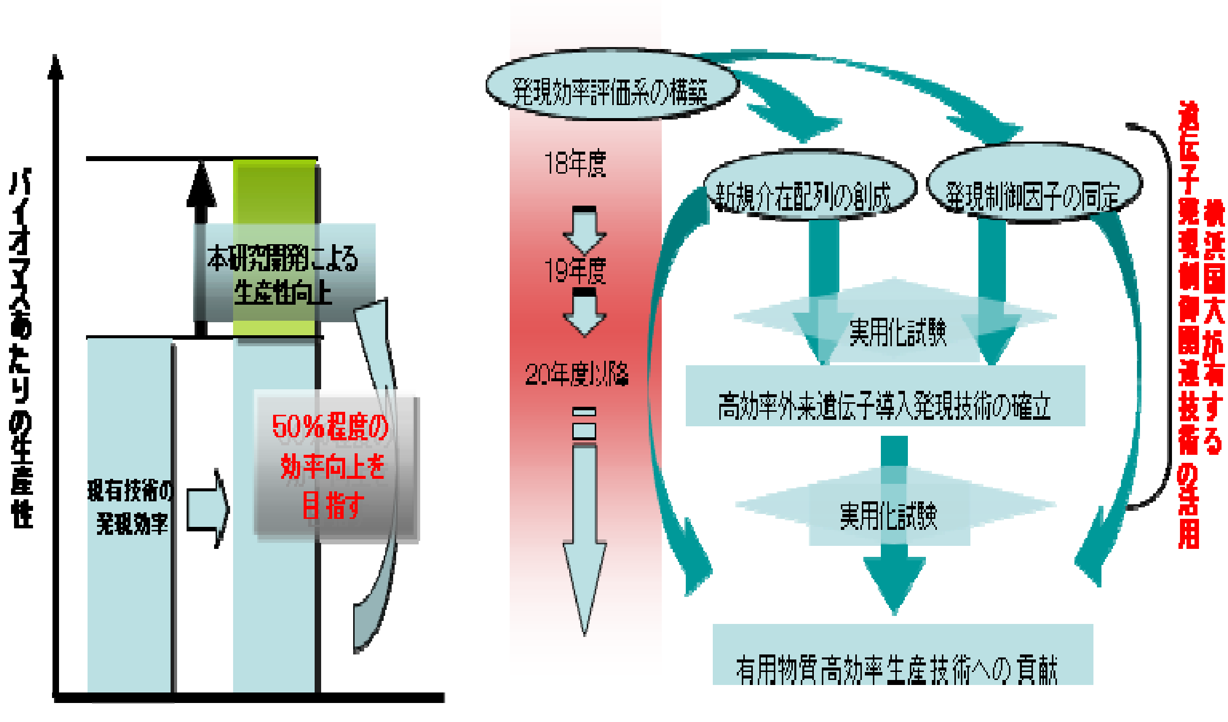


図１．本研究開発の目的（左図）と実施戦略の概要（右図）

５－４－２　目標および成果・達成度

表 1. 目標および成果・達成度

中間目標・指標	３種類以上の新規レポーター遺伝子による遺伝子発現効率評価系を構築する。
設定理由・根拠等	研究目標に対応したニーズと開始時の状況を考慮した。
成果	４種類の多色発光レポーターによる評価系を構築した。
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標:100%到達
最終目標・指標	新規介在配列創製、遺伝子変異探索の各研究開発段階に適宜導入し、本プロジェクトの推進に貢献する。
設定理由・根拠等	研究目標に対応したニーズと研究展開を考慮した。
中間目標・指標	多重遺伝子発現に寄与する介在配列を３種類以上創製する。
設定理由・根拠等	導入遺伝子数の現実的ニーズに対応した数量を考慮した。
成果	既知の最強介在配列を上回る高性能配列を７種類以上創製した。
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標:100%到達
最終目標・指標	50%以上の効率向上に寄与する新規配列を３種類以上創製し、多重遺伝子発現あるいは高効率発現に実践応用する。
設定理由・根拠等	明瞭な効果と必要とされるバリエーションに対応した数量を考慮した。
中間目標・指標	IRES 依存的翻訳制御に関与する遺伝子変異を 2 ないし 3 同定し、高効率発現に寄与するもの１種を同定する。
設定理由・根拠等	本研究の規模と現状の研究レベルを考慮した。
成果	該当する遺伝子変異を２種、翻訳関連因子を１種同定した。
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標:100%到達
最終目標・指標	50%以上の効率向上に寄与する新規因子を 2，3 種類同定し、高効率発現系への実践応用を試みる。
設定理由・根拠等	明瞭な効果と、必要とされるバリエーションに対応した数量を考慮した。
中間目標・指標	実用レベルでの発現効率の評価を行い、６種程度の ORF を独立に翻訳させることが可能なコンストラクトを作成する。
設定理由・根拠等	現実的に要求される遺伝子・ORF 数が６種類程度であることを考慮した。
成果	19 年度末までに 6 種類のレポーター遺伝子を独立な ORF として発現させるコンストラクトを完成しており、一過性発現を確認した。
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標:80%(年度内 100%達成可能)
最終目標・指標	６種程度の ORF を独立に翻訳させることが可能で､現状比 50%以上の発現効率向上が可能な技術を提供する。6 種程度の ORF を独立に翻訳させることが可能で、現状比 50%以上の発現効

	率向上が可能な技術を提供する。また、多重発現系の事例として IL12A および B の共発現を試みる。
設定理由・根拠等	各目標が達成されれば実現可能で、実用上も明瞭な効果が期待できる数値目標である。

５－４－３　成果、達成度

５－４－３－１　個別要素技術成果

（１）高精度・高性能な導入遺伝子発現効率評価系の構築（横浜国立大学）

多色発光レポーターが４種類のレポーター遺伝子、赤色発光遺伝子（CBR および SLR）と緑色発光遺伝子（CBG68 および CBG99）が緑色組織においても使用可能であることを示した。色素を有し自家蛍光が強い植物組織においても多色発光レポーターの分光測光による定量が可能であることを初めて明らかにし、３レポーター同時定量が可能となった（図２左）。

図２．高精度・高性能な導入遺伝子発現効率評価系の構築

また、植物個体をもちいても、本研究で吟味した適切な偏光フィルターを用いることにより生きたまま複数のレポーター活性のモニタリングが可能であることを明らかにした（図２右）。一連の技術により、測定区と対照区の同時計測が可能となり、定量精度と信頼性は格段に向上する。これらは多細胞生物では初めての試みであり、遺伝子発現評価系の性能向上に貢献する重要な成果であると考えられ、達成度は 100%であると判断する。

（２）高効率多重遺伝子発現が可能となる新規介在配列の創製（横浜国立大学）

植物ウイルスの５’UTR 配列に着目して 30 種類以上の新規配列を用いて徹底的な調査を行った（図２左）。その結果、既知最強 IRES よりも高活性を示す新規な配列を７種類同定し、そのうち１種はアブラナ科感染性トバモウイルス(crTMV）の３倍以上の高効率を示した（図２右）。また、IRES 活性を格段に向上させる新規な介在配列を見出した（特許２件出願準備中)。

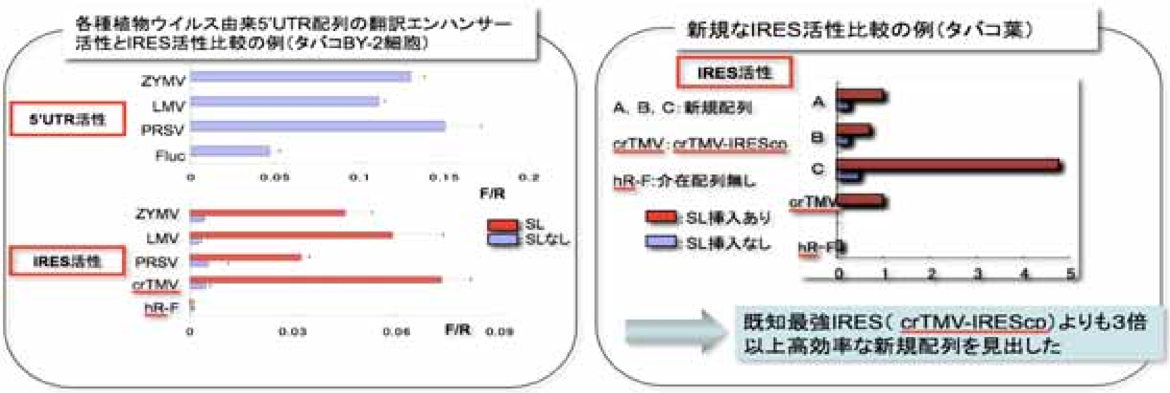


図３．高効率多重遺伝子発現が可能となる新規介在配列の創製

当初は、高効率な IRES を見出すのは困難であると思われたが、予想以上の成果が得ら

れていることから、達成度は 100%であると判断する。

（３）導入遺伝子の高効率発現に関与する因子の同定と利用（横浜国立大学）

IRES 活性の変動を指標とした変異体スクリーニングにより、これまでに遺伝子変異を２種類同定した（図３）。

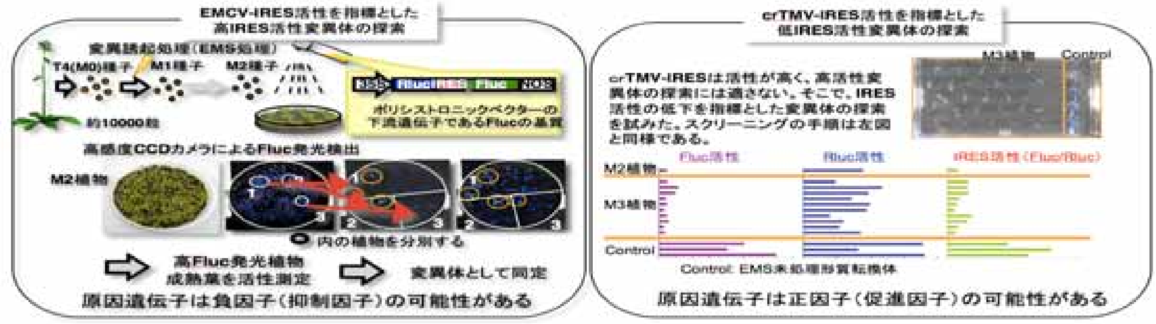


図４．IRES 活性の変動を指標とした変異体スクリーニング

また、変異遺伝子ではないが、シロイヌナズナの翻訳関連因子(TLN factor)の共発現により IRES 依存性翻訳活性が最大 50%程度上昇することを新たに見出した（図４）。

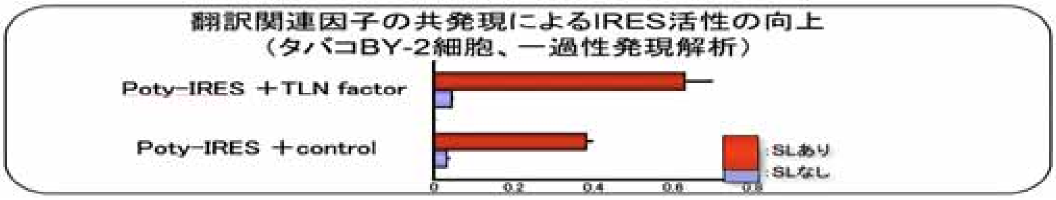


図５．シロイヌナズナの翻訳関連因子の共発現

これらの結果は、高効率物質生産に特化した植物の創製に貢献することが期待され、成果は予想以上であることから、達成度は 100%であると判断する。

（４）多重遺伝子発現系の実用化試験（横浜国立大学）

実用化試験として、６種類のレポーター遺伝子（CBR,CBG,Rluc,GUS,RFP,GFP）を発現するコンストラクトを作成し、一過性発現系にて各レポータータンパク質の発現を確認した（図５上）。さらに、完全合成したインターロイキン１２の p35 および p40 サブユニットを IRES により同時発現させるコンストラクトも作成した（図５下）。

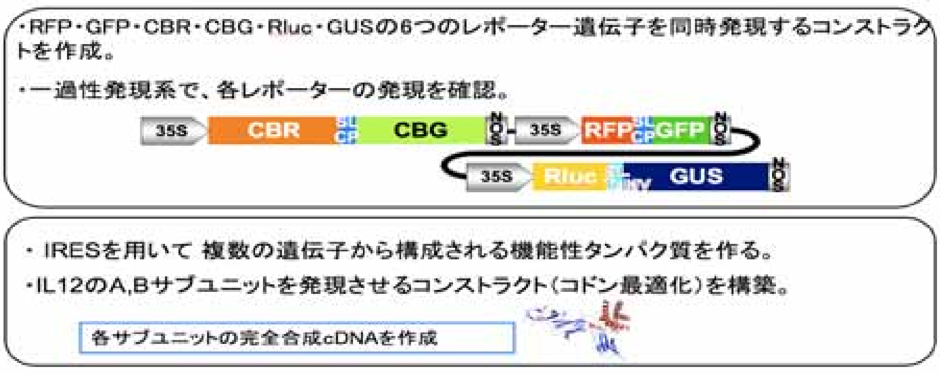


図６．多重遺伝子発現系の実用化試験

中間目標である６種類の独立 ORF 発現コンストラクトの作成は完遂したが、実用タンパク発現の確認は途上であることから、達成率は 80%であると判断する。

５－４－３－２　達成度

要素技術	（１）高精度・高性能な導入遺伝子発現効率評価系の構築
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標:100%到達 個体レベルの多色発光モニタリング系実用化等を達成
要素技術	（２）高効率多重遺伝子発現が可能となる新規介在配列の創製
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標: 100%到達 ７種類以上の新規高性能介在配列を創製
要素技術	（３）導入遺伝子の高効率発現に関与する因子の同定と利用
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標: 100%到達 ３種類以上の高効率発現関連因子を同定
要素技術	（４）多重遺伝子発現系の実用化試験
達成度	19 年度目標:100%到達、中間目標:80%(年度内に 100%達成可能） 実用化試験用の導入遺伝子コンストラクトを完成

５－４－３－３　特許出願状況等

表２．特許・論文等件数

要素技術	論文数	論文の被引用度数	特許等件数(出願を含む）	特許権の実施件数	ライセンス供与数	取得ライセンス料	国際標準への寄与
（１）	1	1	-	-	-	-	-
（２）	-	-	-	-	-	-	-
（３）	-	-	-	-	-	-	-
（４）	-	-	-	-	-	-	-
計	1	1	-	-	-	-	-

５－４－４　事業化、波及効果についての妥当性

５－４－４－１　事業化の見通し

配列情報と使用方法等を知財化する。実用化にあたっては、配列情報と使用方法のノウハウを関係使用希望者に提供する（20 年度以降)。導入遺伝子コンストラクトの設計から形質転換植物の作成までを受託することも可能であると考えられるが、その場合は植物関連のバイオベンチャー等との提携により実施する（21 年度以降)。

５－４－４－２　波及効果

要素技術（１）の開発で、植物遺伝子モニタリング技術としての活用が期待されるが、

我が国がリードしている計測機器類の普及開発にも波及効果があると予想される。要素技術（２）、（３）、（４）については、高効率多重遺伝子導入技術として注目され始めており、一部は本プロジェクトの参画者への技術供与を開始している。事業終了後には遺伝子組換え植物作成時に用いられる技術として広範囲の普及も期待される。

６．【植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発に関する総合調査研究】

６－１　目的

本課題の目的は、植物を用いて医薬品原材料等の高付加価値有用物質を製造する基盤技術を開発するという本事業の目標を達成するための総合的な支援・調査活動を行うことである。各実施者のビジネス展望を踏まえつつ、この新しい植物利用高付加価値有用物質製造分野における国内外の政策動向、社会動向、市場動向等に関する情報を収集・分析し、本事業の成果の展開を図る上での検討も行う。

６－２　目標および成果・達成度

表１　目標および成果・達成度

中間目標・指標	本事業完了時に創出される基盤技術開発成果を活用して植物による有用物質製造事業を新しい産業として展開していくために必要不可欠な、国内外の関連技術開発動向、他技術との競争力、について、関係情報の整理を行い、実施者各位に水平展開する。
設定理由・根拠等	本事業は、実用化開発に重点を置いており、国内外の技術開発の進捗、社会的情勢の変化を迅速に把握しておく必要がある。（※）
成果	国内外の関連動向を把握し、報告書としてとりまとめると共に、欧米の関係機関との人的ネットワークを構築した。
達成度	19 年度目標：100%達成、中間目標：100%達成
	本事業完了時に創出される基盤技術開発成果を活用して植物による有用物質製造事業を新しいビジネスとして展開していくために必要不可欠な、①関連市場の将来性、②他技術との品質・コスト競争力、③技術以外の要因について、関係情報と課題の整理を行う。（中間目標時の内容の深化）
設定理由・根拠等	（※に同じ）

６－３　成果、達成度

６－３－１　個別実施項目の成果

（１）植物利用高付加価値物質製造分野の動向調査と関連情報の収集・分析

本事業の成果を活用して、組換え植物からの医薬品原材料生産（PMPs: Plant-made Pharmaceuticals）ビジネスを新産業として展開していくために必要不可欠な下記の事項について検討する。

①組換え植物体による有用物質生産に関する最新技術動向

特許調査と Web による情報収集により、国内における組換え植物体による有用物質生産の取組み動向を調べ、遺伝子組換え植物による医療用等の有用物質生産関連の技術特許が 40 件以上あり、この新しい技術・市場分野における活発な動きを確認した。

また、文献調査により、ヒト用組換え医療用タンパク質の生産系について、特徴等の比較・整理を開始した。その一例を表２に示す。

表２　ヒト用組換え医療用タンパク質の生産系

システム	生産コスト	生産時間	スケールアップ	品質	糖鎖付加	コンタミのリスク	保存コスト
細菌	低	短	高	低	無	毒素	中
酵母	中	中	高	中	一部のみ	低	中
哺乳類動物細胞培養	高	長	非常に低	非常に高	完全糖鎖	ウイルスプリオン	高
遺伝子組換え動物	高	非常に長	低	非常に高	完全糖鎖	ウイルスプリオン	高
植物細胞培養	中	中	中	高	部分的な差	低	中
遺伝子組換え植物	非常に低	長	非常に高	高	部分的な差	低	低

（出典：Ma, Drake and Christou 2003）

②海外企業の動向②海外企業の動向

海外での組換え植物体を用いた有用物質生産に係る特許調査および Web 情報によれば、関係特許の申請数は、米国が最も多い。

海外企業による PMPs 研究で対象とされている宿主植物と有用物質には、ニンジンおよびタバコによるゴーチェ病酵素（イスラエル Protalix Biotheraputics)、浮き草による C 型肝炎用インターフェロン（米国 Biolex)、トウモロコシによるのう胞性線維症治療用胃リパーゼ（フランス Meristem)、浮き草による慢性中耳炎治療用 OP-145CSOM（オランダ OctPlus）やナタネとメロンによるコクシジウム症用経口ワクチン（カナダ Guardian Biotechnologies）等があり、また、カナダの SemBioSys はインスリン生産のための組換えベニバナを開放系で栽培し、インスリンを抽出・精製して製品化する研究を進めている。EU の R&D プロジェクトである Pharma Planta では、組換えトウモロコシとタバコで、HIV 治療用のモノクローナル抗体の生産に取組んでいる。

下記に「（医薬品原材料）市場を睨んでの海外 PMPs 企業の動きに関する 2007 年度の調査結果を纏めたものを示す。

表 3　研究開発段階別に見た海外企業による主な PMPs

段階	企業名(国名)	生産物質	対象疾病	宿主	備考
前臨床試験	Medarex （米国） Medicago(カナダ) SemiBioSys(カナダ)	モノクローナル抗体 Virus-Like Particle Apo AI	RCC 等の癌治療 H5N1 鳥ｲﾝﾌﾙｴﾝｻﾞ	アルファルファ ベニバナ	2008 年開始

フェーズI	UMSM(米国)	ワクチン	ブタ由来大腸菌易熱性毒素	ジャガイモ、トウモロコシ	
	UMSM(米国)	ワクチン	ノルウォークウイルス	ジャガイモ	
	IBCPA(ポーランド)	ワクチン	B型肝炎		
	NIST(米国)	ワクチン	B型肝炎		
	Fraunhofer USA(米国)	ワクチン	狂犬病		
	アリゾナ大学(米国)	ワクチン	E. Coli	ジャガイモ	
	アリゾナ大学(米国)	ワクチン	B型肝炎	ジャガイモ	
	アリゾナ大学(米国)	ワクチン	ノルウォークイウルス	ジャガイモ、タバコ	
	Meristem(フランス)	ラクトフェリン		トウモロコシ	2002年終了
	Planet Biotechnology(米国)	DoxoRx	胃腸疾患	タバコ	
	SemiBioSys(カナダ)	ヒト化インスリン	がん治療による脱毛緩和	タバコ	2007年開始
	St. George Hospital(英国)	ワクチン	糖尿病 HIV	トウモロコシ、タバコ	2008年開始
	OctoPlus(オランダ)	インターフェロンα	C型肝炎	浮き草	2007年終了(IIa)
フェーズII	Biolex(米国)	インターフェロンα	C型肝炎	浮き草	
	Meristem(フランス)	胃リパーゼ	のう胞性線維症	トウモロコシ	2004年終了
	OctoPlus(オランダ)	OP-145 CSOM	慢性中耳炎	浮き草	
	Planet Biotechnology(米国)	RihinoRx	一般風邪予防	タバコ	
	Planet Biotechnology(米国)	SlgA"CaroRx"	虫歯予防	タバコ	EUでライセンス獲得
	Phytomedics(米国)	PM1-001	リューマチ	タバコの根	
	Guardian Biotechnologies(カナダ)	経口ワクチン	コクシジウム症	ナタネ、メロン	カナダで認可
フェーズIII	Protalix(イスラエル)	Glucocerebroidase	ゴーチェ病	ニンジン	

一方、患者が最良の治療を受けられるよう様々な行政・政策決定レベルに働きかけることを主目的としている国際患者団体連合（International Alliance of Patents' Organization）では、特にPMPsに期待する疾病として、アルツハイマー病、関節炎、癌、慢性閉塞性肺疾患等の14疾病を挙げている。

表 4 IAPOが注目するPMPs適用疾病と患者数

IAPOが注目する疾病	患者数（千人）	
	世界	国内
アルツハイマー病	18,000	176
関節炎	5,000	317
慢性閉塞性肺疾患	80,000	5,300

クローン病	1,000	21
糖尿病	194,000	2,470
心臓疾患		863
C 型肝炎	170,000	2,000
HIV	38,600	17
腎臓疾患		20,000
多発性硬化症	2,500	10
脊髄損傷		100
癌	毎年 1,000 万人が新たに発病	1,423
嚢胞性線維症	コーカサス系白人乳児 2,500 人に 1 人	—
肥満症	127,000（主要 7 都市）	23,000

また、主として野外栽培を念頭に置いた欧米では、組換え遺伝子及び生産物の通常作物への混入リスクに関する指摘が数多く出されており、組換え植物を開放系ではなく、温室等の施設内で栽培させる傾向が強まりつつあるとも言える。開放系による栽培では、遺伝子拡散防止や食物への混在問題が完全に解決できていないことと、収穫が天候に左右されて希望の有用物質を安定的に生産できないこと等が、やはり現実的な主たる理由として挙げられている。従って、本委託事業の狙いである閉鎖型施設での有用物質生産の概念の“筋の良さ”が改めて確認されたと言える。

③技術以外の重要課題の国際動向

技術以外の重要課題の一つとしての、新規材料である PMPs の管理規制に関しては、欧米では既に PMPs ガイドライン案を起草している。すなわち、組換え植物からの医薬品原材料生産に係る米国 FDA ガイドライン草案と欧州 EMEA ガイドライン草案がそれらであり、既にそれらに対する関連企業、大学、研究機関等からのコメントを聴取する手順を踏んでいるが、いずれもまだ最終的な規制設定・発効には至っていない。

規制に係る課題は、PMPs を実用化するために整理・検討しておくべき必須の課題であり、わが国において想定される課題を抽出するため、厚生労働省と農林水産省関連の有識者にもヒアリングも実施した。今後も定点観測的に実施の予定である。

なお、国際動向調査ネットワーク作りの一環として、これまでに、米国では FDA（Food and Drug Administration）、USDA（United States Department of Agriculture）、NSF（National Science Foundation）、BIO（Biotechnology Industry Organization）、IFIC（International Food Information Council）、欧州では Pharma-Planta (EU の FP6 R&D Project)、 EFSA (European Food Safety Authority) 、EuropaBio、Gent University (ベルギー)、WUR (Wageningen University & Research Centre、オランダ) の各機関において、実際に現地に赴き、ヒアリング調査を行い、PMPs と遺伝子組換え植物産物全般の受容に係る現状と将来見通し等に関する意見交換を実施し、本事業の実用化検討を進めていく上で有用かつ有益な情報を得たので、下記に要約する。

【平成１８年度ヒアリング調査（米国）】

・FDA（訪問先：PMPsガイダンス起草責任者・Dr. Keith O. Webber／2007.3）
起草から４年以上経過していた PMPs ガイダンス草案の正式発効の見通しについて、次の情報を得た。「①BIO業界等から寄せられた膨大な数の意見への対応作業、②大手企業（AMGENとMONSANTO）の相次いでの関連研究の独自開発からの撤退、③FDA 内の組織改変とそれに伴う担当者変更、等の事情により、正式発効の目処は立っていない。１年以内に発効するのは無理と思う。

・USDA（訪問先：新技術&生産法部門・部門長Mr. Michael Henney他／2007.3）
PMPsに対する基本的な考え方について、次のコメントを得た。
「PMPsを支援している。(Ventria Bioscience社の野外栽培)イネによるヒト用免疫タンパクの生産の案件については、紆余曲折があって、結局(米作地帯ではなく混入問題発生の恐れのない、北部の州である)カンザスでの栽培になったが、USDAとしては期待している。（USDAでは）閉鎖型施設によるPMPsの検討は実施していないが、（METIによる閉鎖型PMPsプロジェクトは）有望ではないか。」

・IFIC（訪問先：副理事長Mr. Andy Benson／2007.3）
遺伝子組換え体に関し、次のコメントを得た。
「GMOは、PAが得られれば実現し、得られなければ挫折する。2006年の米国消費者動向調査の結果によれば、バイオテク食品に“期待する”人の方が“期待しない”人の倍。ただし、過半数は“よく分からない”。PMPsについてはほとんど知られていないが、知っている人は肯定的である傾向。米国では、FDAによる安全のお墨付きがあれば、大半の人は遺伝子組換え家畜由来の食料も購入するものと考えている。」

【平成１９年度ヒアリング調査（欧州）】

・Pharma Planta プロジェクト（訪問先：科学コーディネーター・Dr. Julian K-C. Ma、および 安全コーディネーター・Dr. Philip J. Dale／2007.10）
EUのPMPsプロジェクト・Pharma Planta（2005-2009）に関し、次のコメントを得た。
「Pharma-Plantaは、PMPs製造技術の開発と具体的な生産物の提示を通して、新規材料であるPMPsを世の中に展開していく上での基本的な考え方や仕組みを確立していくのが使命。科学的研究開発とバイオセイフティ関係規則に係る検討の２本立てで、両者を並行して行っているアカデミックなプロジェクトである。PMPs規制のあるべき姿に関する検討については、EMEA (European Medicines Agency) と協議しながら少しずつ前進している。目標生産物はタバコとトウモロコシによるエイズワクチンである。（組換え植物の）栽培については、温室での試験も実施するが、基本的には大消費地すなわちアフリカ等のエイズ大発生地域近くでの植物栽培とワクチン製造を謳っているので、今は発展途上国でも普通に栽培できる方法である野外栽培を念頭に置いて開発を進めている。」

さらに、平成18年11月には、PMPs研究の先駆者の一人である米国アリゾナ州立大・C．J．Arntzen 教授との意見交換会を企画・開催し、米国等における最新の研究事情に関する情報を得た。また、平成20年11月には、Pharma Planta のScientific Coordinatorである英国ロンドン大学・J．K-C．Ma教授（上述）との意見交換会を開催予定である。

上記の他に、現在欧米でPMPsから製剤化するための施設として建設されたGMP施設3カ所のうち、Kentucky Bioprocessingを除く（次年度視察調査予定），Fraunhofer IME/Sartoriusおよび Arizona Biodesign Instituteの視察、バイエル社、クロップデザイン社、アリゾナ大学、アリゾナ州立大学、Fraunhofer（アーヘン：独)、VIB(ベルギー)等での現地視察・意見交換を行ってきている。

④広報・成果普及活動

技術開発実施企業・大学による成果の対外発表及び広報活動を奨励すると共に、バイオテクノロジー開発技術研究組合としても雑誌(「バイオサイエンスとインダストリー」、「化学経済」）に投稿して本事業の周知を図った。また、バイオテクノロジー開発技術研究組合主催で毎年度開催の「バイオテクノロジーシンポジウム」において、本事業の内容をバイオテク関係研究者及び社会一般に広く広報・周知した。また、平成21年3月の日本農芸化学会福岡大会において、シンポジウム「遺伝子組換え技術を駆使した植物による有用物質生産の体系化」をNEDOプロジェクトと合同で企画・開催の予定である。

６－３－２　達成度

実施項目	（１）植物利用高付加価値物質製造分野の動向調査と関連情報の収集･分析
達成度	19年度目標：100%達成、中間目標：計画どおり進捗

７.植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発の全体の成果

本研究開発事業の全体としては中間評価時点まで進捗状況は予定通りであり、本年度末まで研究開発の目標は予定通り達成可能と判断される。

ここでは、研究開発項目①、②、③について、主な成果と研究目標達成度についてまとめる。

研究開発項目①「有用物質を高効率・高生産する組換え植物作出技術の開発」

（中間目標）

実用植物の目的部位において、有用物質を生産する組換え実用植物を作出し、有用物質の生産・蓄積量は、実用化の見通しを評価可能な量を目標とする。

また、生成された有用物質の性能を評価する手法を確立する。

（成果）

事業化、製品化を目的とする具体的な有用物質、ワクチン成分（コレラ毒素、鳥インフルエンザ、ブタ腐腫病、アルツハイマー病）、医薬品成分（ヒトチオレドキシン）および機能性成分（アディポネクチン、ミラクリン等）をそれぞれイネ、ジャガイモ、イチゴ、レタス、ダイズ等の目的の実用植物において、必要量を発現させることに成功している。

これと並行して、目的物質の発現評価に必要な抗体作製、検出系の確立、加えて大腸菌や酵母、昆虫細胞発現系を用いて発現させた目的物質を用いて、動物培養細胞や実験動物を用いた *in vitro* および *in vivo* における機能性・活性評価系の構築、活性確認するに至っている。本研究開発項目は、それぞれの目的物質の製品化・事業化に適した実用作物種における遺伝子組換え体を作出することを必須目的としている。したがって、扱う植物種においては、イネのように高効率の形質転換系および高発現系が既に確立されている作物とは別に、レンギョウのように形質転換の報告が無い植物、ダイズやレタスのように一部の品種でのみ形質転換報告がある作物種においても形質転換技術の確立や組換え体の作出に成功している。

（達成度）

19 年度目標：100%到達、中間目標：ほぼ 100%到達（年度内到達見込みも含めて）

研究開発項目②「有用物質生産のための基盤植物作出技術の開発」

（中間目標）

安定した品質で高効率に有用物質を生産できる基盤植物作出のための要素技術開発の見通しを得る。具体的には、実用植物について、矮性および栽培サイクルを従来と比較してそれぞれ 10%以上短くする。その他、有用物質の効率的な生産に必要な基盤植物体の最適化に必要な技術開発の見通しを得る。

また、植物特異的糖鎖修飾を 50%以上抑制する技術を開発する。

（成果）

イネやオウレンにおいて、バイオマスの増加や栽培サイクルの短縮に成功した。基盤

技術の確立を目的としてタバコを例に雄性不稔、矮性、栽培周期、バイオマス（葉数）に関与する転写因子キメラリプレッサーを見いだし、各形質を目的に合わせて変化させることに成功した。

植物型糖鎖修飾抑制に関しては、N 型糖鎖修飾において、RNAi を用いキシロースの修飾抑制を 100%抑制、フコース合成経路を抑制することにより 95%以上、VIGS を用いて 80%以上の抑制に成功し、当初の抑制目標値を大幅に上回る成果を得た。

また、ほとんど知見のない植物の O 型糖鎖修飾においても、修飾の起きるモチーフの一部同定、水酸化酵素の細胞内局在性、転移酵素活性の測定計確立に成功した。

植物における目的遺伝子高発現系の一つとして、多重遺伝子導入技術開発においては、新規の IRES 配列を同定し、翻訳効率を向上させながら６種類の遺伝子を一過性ではあるが同時発現させる技術開発に成功した。新規植物ウイルスベクターの開発においては、高発現系の基盤技術確立に加え、無秩序に宿主植物へ感染・増殖しない非拡散型のウイルスベクターシステムの基盤技術の構築にも成功した。

（達成度）

19 年度目標：100%到達、中間目標：100～120%（年度内到達見込みを含む）

研究開発項目③「閉鎖型人工環境下での組換え植物栽培システムの構築」

（中間目標）

閉鎖型人工環境下において、研究開発項目①および②で検討する実用植物の高効率・高生産な栽培技術を確立し、組換え実用植物において目的有用物質を安定かつ均一に生産・蓄積させる栽培技術開発の見通しを得る。具体的には、従来の開放系栽培において実用植物（非組換え体）を栽培する場合と比較して、単位面積、単位期間当たりの収穫量を最低 30%以上向上させる。また、閉鎖型植物生産施設において組換え植物体（有用物質遺伝子でなくて可）を栽培し、対象物質の生産・蓄積を確認することで、目的有用物質の生産・蓄積量向上の見通しを得る。

（成果）

穀類（イネ）、イモ類（ジャガイモ）、マメ類（ダイズ）、果菜類（イチゴ、トマト）、葉菜類（レタス）、落葉性低木（レンギョウ）を実用植物に選び、閉鎖型人工環境下で制御が可能な地上部環境（光、温度、湿度、ガス濃度、風）および地下部環境（培養液組成、培地種類、ガス組成）と生育の関係を調べ、成長・発育に好適な環境条件を決定した。また、イネ、ダイズ、イチゴ、トマト、レタスにおいては、空調、光制御、多段式栽培等に関して従来法にとらわれないユニークな技術を多数開発した。イネ、ダイズ、イチゴ、レタスについては、遺伝子拡散防止等を考慮したプロトタイプの閉鎖型栽培システムを構築し、組換え体の大量栽培に着手している。収穫量の目標値を設定した課題では、好適栽培条件下で栽培することにより、従来の開放系栽培と比較して単位面積、単位期間当たりの収穫量をイネ（１作 65%、年 300%）、ジャガイモ（年 300%）、ダイズ（年 100%）、イチゴ（年 42%）、トマト（年 67%）以上向上させた。レタスでは、レタス工場生産の技術に加えて目的有用物質の濃度およびその生産量を高めるための環境制御法および生育制御技術を開発し、有用物質を安定かつ均一に生産・蓄積させる見通しを得た。

（達成度）
19 年度目標：100%到達、中間目標：90%（今年度末には 100%到達可能）

8.研究開発マネジメント・体制・資金・費用対効果等

8－1　研究開発計画

植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発は、経済産業省からバイオテクノロジー開発技術研究組合および独立行政法人　産業技術総合研究所への委託により平成 18 年度から行われ、当初の 3 年間を終了したところである。本事業の研究開発計画は、3 つの研究の柱からなるが、高付加価値有用物質を発現する遺伝子組換え植物を作出し、これを遺伝子組換え植物工場において栽培・収穫し、新規産業を展開するには相互の技術融合が必要である。図 8-1 に平成 18 年度からの事業全体の研究開発計画概要を示す。

また、本事業の技術開発項目毎の年度計画を表 8-1 に示す。

図 8-1 に示すように、本事業では当初の 3 年間は、各課題毎の研究開発を主とし、成果が積み上がり次第、他課題との連携を進めていく予定である。特に、複数の遺伝子の同時発現、あるいは機動性に満ちた植物での遺伝子発現基盤技術開発は、他の課題の有用物質発現に迅速に流用していく予定である。また、植物型糖鎖修飾抑制技術のように、本事業内での活用より、広く PMPs を実施していく上で重要な技術開発は、特許等による権利化を最優先にし、特に PMPs 開発が盛んな欧米企業へのライセンシングを狙って行っていく予定である。

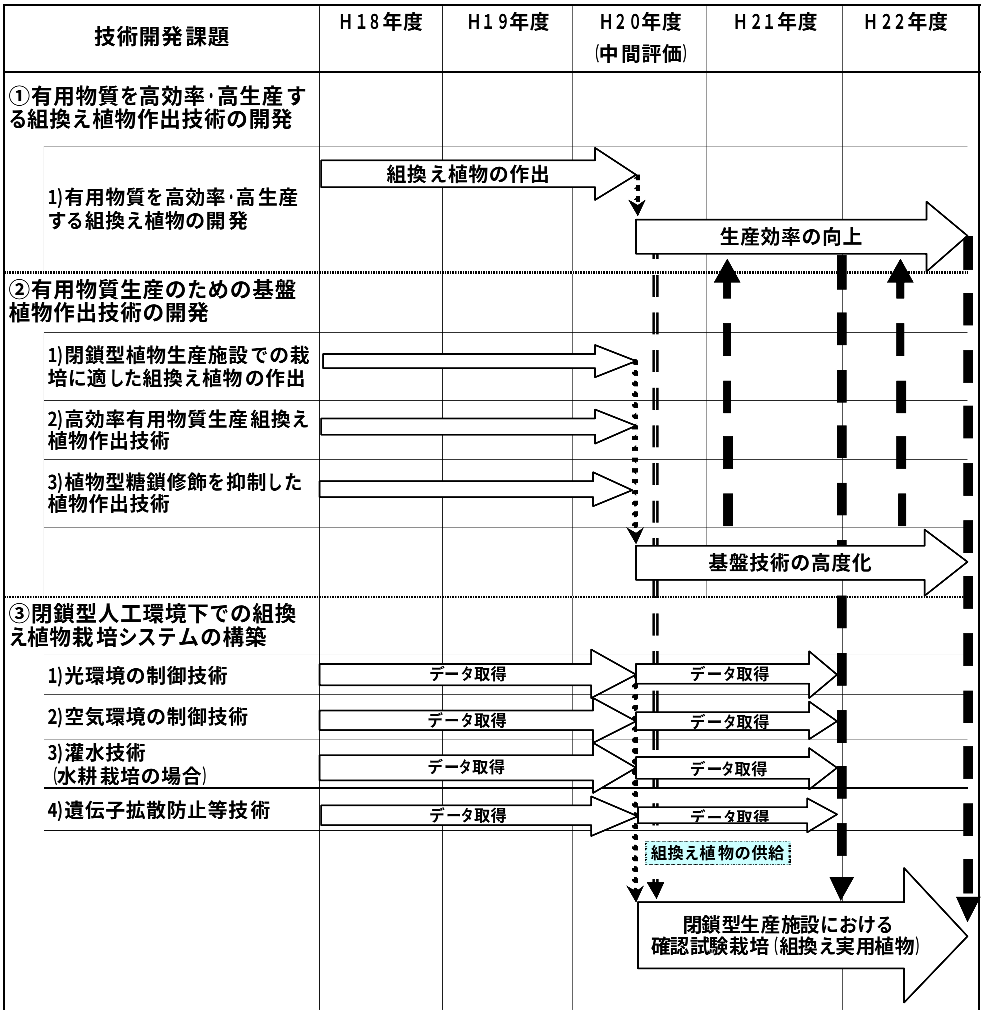


図 8-1　事業全体の研究開発計画

表 8-1　研究開発項目の年次計画（注：１実施者で複数の開発項目に係わる場合は，主に行う項目ついて記載した）

①有用物質を高効率・高生産する組換え植物作出技術の開発（１／３）

研究項目/年度	18 年度	19 年度	20 年度	21 年度	22 年度
イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発 組換えイネを用いる米型経口ワクチンの研究開発（ロート製薬）	各種コレラ及びインフルエンザワクチン抗原遺伝子コンストラクトを作製し、イネの形質転換を開始およびコレラワクチン評価モデルの構築。	最適コンストラクトを用いＣＴＢ米の作出と量的、質的評価。同ワクチンのコレラ評価モデルでの有効性を証明。mＣＴワクチン米の作出。	mＣＴ米の作出と量的、質的評価。インフルエンザHA･CTB－HAワクチンの作出。mＣＴ米のコレラ評価モデルで有効性を証明。	ワクチン米の2年の安定性評価。コレラワクチンのサルでの評価実験。インフルエンザHA･CTB－HAワクチンの量的･質的評価。	インフルエンザHA･CTB－HA米の作出と評価モデルでの有効性証明。ＣＴＢ米製剤の作製と規格試験実施。
組換えジャガイモを利用した家畜用経口ワクチン素材の開発 （北里研究所）	候補抗原を大腸菌等発現系で作製。抗原の免疫誘導能、CpG モチーフのアジュバント活性を確認。ジャガイモへの導入遺伝子設計および水耕栽培条件の基礎検討。	抗原･抗体の定量的測定法の確立。抗原の免疫誘導能、アジュバント物質の活性確認。抗原発現ジャガイモの再分化。植物工場システムでの水耕栽培を開始。	抗原の投与による細胞性免疫応答の解析、ウイルス感染防御試験。ジャガイモで発現された抗原の活性等の解析。植物工場システムでの大量栽培条件の検討。	抗原発現ジャガイモの植物工場システムでの栽培着手。鶏に対するジャガイモ経口投与ワクチンの免疫誘導能解析。至適ワクチンプログラムの検討。	鶏での経口投与ワクチンによる細胞性免疫応答の解析、およびウイルス感染防御試験。経口投与鶏における安全性の確認。
高機能性物質生産ダイズに関する技術開発 組換えダイズによる機能性ペプチド生産技術の研究開発(北興化学)	ワクチンペプチドを挿入した改変型貯蔵タンパク質の分子設計、ダイズへの導入開始。ウイスカー導入条件検討。アルツハイマー病マウスによる機能性評価体制の整備。	改変型貯蔵タンパク質のダイズへの遺伝子導入、形質転換体の作出および栽培採種。貯蔵タンパク質欠損系統の作出。アルツハイマー病マウスの大量飼育。	形質転換ダイズ種子中の目的ペプチド蓄積量解析および高蓄積系統の選抜。貯蔵タンパク質欠損系統の培養系確立。マウスでの注射投与による評価。	貯蔵タンパク質欠損ダイズ系統への高蓄積型貯蔵タンパク質の遺伝子導入、形質転換体作出および蓄積量解析。マウスでの経口投与による評価。	高蓄積ダイズ有望系統の遺伝的固定および特性、蓄積機構の解析。組換えダイズ種子のマウス経口投与による評価。
レタスによるワクチン成分生産技術開発 組換えレタスによる家畜用経口ワクチンタンパク質生産の研究開発（出光興産）	ﾚﾀｽ再分化条件最適化。ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ同定･ｺﾄﾞﾝ改変開始。ﾜｸﾁﾝ免疫原性確認。ﾜｸﾁﾝ蓄積最適部位特定･翻訳ｴﾝﾊﾝｻｰ評価。GUS 遺伝子導入ﾚﾀｽの作出･供給。	ﾌﾟﾛﾄﾀｲﾌﾟﾚﾀｽ作出･供給。ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ同定･ｺﾄﾞﾝ最適化完了。ﾜｸﾁﾝ有効投与量試算（ﾌﾞﾀ投与実験）。高生産要素技術開発(ﾀﾝﾃﾞﾑ連結化)。	改良型ﾚﾀｽ作出･供給。ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ中和活性評価。ﾏｳｽ系での組換えﾚﾀｽ安全性評価。ﾚﾀｽﾌﾞﾀ投与実験。高生産要素技術開発(ﾀｰﾐﾈｰﾀｰ他)。	H20 年度開発の高生産要素技術導入ﾚﾀｽ作出。ｱｼﾞｭﾊﾞﾝﾄ探索。ﾚﾀｽ安全性評価。母豚投与実験。高生産要素技術開発。	ﾜｸﾁﾝ･ｱｼﾞｭﾊﾞﾝﾄ生産ﾚﾀｽ作出。安全性評価。ﾌﾞﾀ投与による性能確認。ﾚﾀｽ後代でのﾜｸﾁﾝ生産安定性評価。

①有用物質を高効率・高生産する組換え植物作出技術の開発（２／３）

研究項目/年度	18 年度	19 年度	20 年度	21 年度	22 年度
医・農・工融合によるヒトチオレドキシン１産生レタスの生産技術の開発（奈良先端大学）	レタス再分化系確立。hTRX1 遺伝子導入用葉緑体形質転換ベクターの構築。プロモーター改変 FBP/SBPase 遺伝子導入ベクターの作製。レタス EST ライブラリーの作製。	レタス葉緑体形質転換系の確立。hTRX1 遺伝子導入レタスの作製。FBP/SBPase 発現最適化プロモーターの解析。レタス EST 配列決定とレタス遺伝子発現解析系の構築。	レタスにおける hTRX1 発現と小ケール hTRX1 精製法の確立。レタス産生 hTRX1 の機能評価。FBP/SBPase 遺伝子導入レタス作製。遺伝子発現解析と遺伝子診断アルゴリズムの構築。レタス産生 hTRX1 商品化案の決定。	大スケールでの hTRX1 精製法の検討。FBP/SBPase 遺伝子導入レタスの解析。複合遺伝子導入による hTRX1 産生。レタス生育光環境の最適化。各精製純度 hTRX1 の機能評価と事業化案の検討。	複合遺伝子導入と最適光環境によるレタスでの hTRX1 産生。最適光環境を実現したプロトタイプ植物での hTRX1 レタス栽培。レタス産生 hTRX1 の市場展開の準備。
高機能性物質生産イチゴに関する技術開発 組換えイチゴによる高機能物質複合生産技術の開発（北海三共）	イチゴ高発現プロモーターの探索･単離を行う。機能性成分遺伝子の発現ベクターを構築し、イチゴの形質転換を開始する。果実収量を高める地上部栽培条件を検討する。	ウイルス由来プロモーターの発現様式の解析。機能性成分形質転換イチゴの発現解析開始。形質転換イチゴの試験管内機能性評価系の構築。	イチゴ果実由来プロモーターの現様式の解析。当該プロモーターによる高発現ベクターの作製。形質転換イチゴの動物投与試験系の構築。	機能性成分高発現イチゴの作出と機能性評価。複数の機能性成分発現組換えイチゴの作出開始。	複数の機能性成分高発現組換えイチゴの解析･機能性評価。アレルギー性等の評価。
組換えレンギョウ等による高機能性成分生産および閉鎖系での栽培システム構築の開発（サントリー生有研）	宿主レンギョウ等組換え技術の確立と組換え目的遺伝子と抑制対象遺伝子を決める。 レンギョウ対応のメタボリックプロファイリング法を確立する。	組換えベクターを構築してモデル植物と宿主植物への組換えを始める。 レンギョウの水耕栽培を開始して評価に用いる標準の栽培法を決める。	宿主植物の種特異性の検出と対応を行って目的組換え植物を創出する。 宿主植物の目的成分の生産性を向上する標準栽培条件を決める。	標準の栽培法を用いて組換え植物並びに宿主植物の生産性比較を行う。 生産性が低い場合は更なる抑制遺伝子の組換えを行う。	組換え植物の剪定･葉の収穫時期に伴う生産性の変動を把握して経済性評価用の情報を獲得する。 収穫した葉からの精製法を確立する。

①有用物質を高効率・高生産する組換え植物作出技術の開発（３／３）

研究項目/年度	**18 年度**	**19 年度**	**20 年度**	**21 年度**	**22 年度**
組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発（インプランタ・筑波大）	トマト果実高発現プロモーターの検討。植物工場向け小型組換えトマトの交雑育種開始。ミラクリン抽出・精製法の検討開始。	組換え体作出によるプロモーターとターミネーターの検討。遺伝子組換えによる植物工場向け小型、収量増加、ライフサイクル短縮トマトの作出開始。	ミラクリン高発現トマトの作出と評価。植物工場向け組換えトマトの特性解析。トマト由来ミラクリンの安全性評価。ミラクリンの甘味誘導活性測定法の開発。	ミラクリン高発現組換えトマトの固定化。植物工場向け組換えトマト優良系統の選抜・固定化。大量原料からのミラクリン抽出・精製方法の検討。	植物工場向け交雑および組換えトマトの植物工場内での栽培試験。大量原料からのミラクリン抽出・精製方法の確立。
有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発（京大、東大）	プレニル化酵素遺伝子の発現カセットの構築、ミヤコグサへの導入を開始する。遺伝子の変異導入と新規遺伝子の取得を行う。酵素機能の評価と生理活性を調べる。特定網室を設置する。輸送体遺伝子の同定を行う。	プレニル化酵素遺伝子の発現カセットの構築、ミヤコグサへの導入を行う。遺伝子の変異導入と新規遺伝子の取得を継続する。酵素機能の評価とプレニル化化合物の生理活性評価を行う。輸送体遺伝子の発現カセットを構築する。	組換えミヤコグサのクローンを揃え、生産性の評価を行う。トマトへの導入遺伝子を決め、組換え体の作成を始める。輸送工学用の融合カセットの有用性を調べる。優良株の選抜による生産性向上の研究を開始する。	組換えミヤコグサで生産される化合物の同定を進める。選抜により、高生産株の絞り込みと、生産効率の向上の研究を行う。トマトのクローンを増やし、化合物の同定を開始する。生理活性と安全性の試験を開始する。	組換えミヤコグサ、組換えトマトの中から優良クローンを選び、栽培法や抽出法の改良を行い、生産性の向上に資する。優良クローンを増殖させる。生産させた化合物の機能性評価。安全性の評価。

②有用物質生産のための基盤植物作出技術の開発（１／２）

研究項目/年度	18 年度	19 年度	20 年度	21 年度	22 年度
閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物の開発研究（産総研）	形態形成関連因子探索、イネ光周感受性、矮性変異株の作成、薬用植物形質転換法最適化。糖鎖修飾関連酵素遺伝子の単離。それら遺伝子の強化･抑制技術の開発に着手。	タバコバイオマス関連因子探索、イネ光周性変異解析、密植検討、薬用植物形質転換体作出。糖鎖修飾関連酵素遺伝子の強化･抑制技術の開発の継続。	形態形成関連因子機能解析、イネ光周期、形質転換体作成、薬用植物水耕栽培、代謝物解析。糖鎖修飾関連酵素遺伝子の強化･抑制技術の開発の継続。	矮化タバコ作出、イネ栽培サイクルと収量の最適化、薬用植物栽培形態と代謝物の最適化。植物型糖鎖修飾抑制技術の植物での抗体生産への応用に着手。	目的物質の生産量最適化、イネ作出株栽培特性の最適化、医薬品原料植物栽培方法の確立。植物型糖鎖修飾抑制植物生産抗体の機能性やアレルギー性等の評価。
植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発（理研：19 年度から九州大学）	モデル蛋白質発現タバコの大量増殖。単独のプロリン残基への糖鎖付加モチーフを持つ有用蛋白質 cDNA の所得。タバコ 2 型プロリン水酸化酵素のクローニング。連続したプロリン残基への糖鎖付加付加モチーフの同定開始。植物糖転移酵素遺伝子候補の取得。	モデル蛋白質発現タバコからのモデル蛋白質精製。単独のプロリン残基への糖鎖付加モチーフを持つ有用蛋白質 cDNA のタバコ培養細胞での発現。プロリン水酸化酵素抑制植物の作製開始。連続したプロリン残基への糖鎖付加付加モチーフの同定。植物糖転移酵素候補蛋白質の酵母表面での発現と活性測定。	モデル蛋白質への糖転移活性の低い組織の同定。単独のプロリン残基へ糖鎖付加される有用蛋白質の同定。プロリン水酸化酵素抑制植物でのモデル蛋白質の発現。同定した糖鎖付加モチーフを持つ有用蛋白質と変異体の植物培養細胞での発現。植物糖転移酵素の同定。	単独のプロリン残基へ糖鎖付加される有用蛋白質発現コンストラクトの糖鎖付加能力の低い組織または／及びプロリン水酸化活性えを抑制した組織を有するタバコへの導入。連続したプロリン残基への糖鎖付加付加モチーフを持つ有用蛋白質変異体発現コンストラクトのタバコ植物への導入。タバコ糖転移酵素抑制体の作製開始。	糖鎖付加能力の低い組織または／及びプロリン水酸化活性えを抑制しタバコ組織で発現させた単独のプロリン残基への糖鎖付加抑制の確認。連続したプロリン残基への糖鎖付加付加モチーフを持つ有用蛋白質変異体での糖鎖付加回避の植物体での確認。タバコ糖転移酵素抑制体ので の糖鎖修飾抑制の確認。
イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発 閉鎖型植物工場用組換えイネ作製技術の開発（日本製紙）	既存の貯蔵タンパク質のプロモーターを連結した CTB 米の作出。閉鎖型植物工場用の組換えイネ（基盤イネ）作製のための遺伝子置換技術の改良。	CTB 米の蓄積量調査。インフルエンザワクチン米の作出。基盤イネのプロトタイプの作出。植物工場用の高蓄積プロモーターの探索。	高蓄積インフルエンザワクチン米の選抜。植物工場用の高発現プロモーターの単離。プロトタイプの基盤イネで遺伝子置換技術を検証。	植物工場用のプロモーターでワクチン米の作出。ワクチン生産効率向上の遺伝子の単離･解析。実用型基盤イネ作成用のベクター構築。	ワクチン物質の定量と変動を調査。ワクチン生産効率向上させる遺伝子の性能評価。実用型基盤イネの作出。

②有用物質生産のための基盤植物作出技術の開発（２／２）

研究項目/年度	18 年度	19 年度	20 年度	21 年度	22 年度
ウイルスベクターを用いた高効率発現システムの開発（ホクレン）	抗原、免疫増強遺伝子導入ウイルスベクターの構築。最適 HC-Pro 遺伝子の選抜。CMV，ClYVV ベクターの改変と植物発現用 CMV3a 遺伝子の構築。	構築ウイルスベクターの感染力、タンパク質発現の確認。選抜 HC-Pro 遺伝子組換タバコの作出。改変 CMV ベクターの解析と CMV3a 遺伝子組換タバコの作出。	構築ウイルスベクターによる植物内タンパク質発現の解析。HC-Pro 遺伝子導入組換タバコの選抜 。改変ベクターの非伝搬性の確認と CMV2b 遺伝子組換タバコの作出。	会合タンパク質による抗体生産。HC-Pro 遺伝子組換タバコでの CMV ベクターによるタンパク質発現の解析。3a+2b 両遺伝子導入組換タバコの作出。	抗体生産と免疫効果増加の確認。HC-Pro 組換タバコでの CMV ベクターによるタンパク質発現上昇の確認。遺伝子組換タバコ (3a，3a+2b)による改変ウイルスベクターの非拡散の確認。
高効率物質生産に寄与する多重遺伝子発現と転写翻訳系改変に関する研究開発（横浜国大）	遺伝子発現定量用の発光レポーター系の解析。導入遺伝子発現効率向上を目指した新規介在配列および宿主因子の探索。実用化試験対象の選定。	発光レポーター系の特徴づけ。高性能･高発現介在配列の探索と性能評価、宿主因子および発現促進因子の探索と性能評価。実証研究用試験の準備。	新規発光レポーター系の改良と実用化。高性能･高発現介在配列の改良と性能評価、宿主因子および発現促進因子の改良と性能評価。実証研究試験の開始。	新規発光レポーター系、高性能･高発現介在配列、宿主因子および発現促進因子の活用と性能評価。新技術を活用した実証試験の実施。	多重遺伝子発現、高効率発現に寄与する新技術の活用、関連プロジェクトへの技術移転ならびに実証研究の実施と評価。

③閉鎖型人工環境下での組換え植物栽培システムの構築（１／２）

研究項目/年度	18 年度	19 年度	20 年度	21 年度	22 年度
イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発 組換えイネによる有用物質生産のための閉鎖型栽培システムの構築の研究開発（朝日工業社）	閉鎖型イネ栽培システムのプロトタイプを構築。環境制御技術及び植物育成用光源の開発を開始。有用物質を効率よく生産する栽培条件の探索と評価の実施。	イネ群落内環境の成立機構の解析及び花粉飛散状況の評価。試作光源の改良。非組換えイネによる栽培環境条件と成長･収量及び有用物質含有量の関係評価。	生育ステージごとの最適環境条件を見出し、単位栽培面積、単位期間あたりの米の収量を最大とする環境条件の決定。CTB米栽培によるワクチン抗原の蓄積の実証。	形態形成調節及び内成分増強用光源の開発。ワクチン抗原を効率よく発現し、蓄積させるための最適な栽培環境条件の決定。実用化のための設備構築技術の開発。	光源と照明機器の組み合わせによる高効率照明システムの開発。育成条件とワクチン抗原の均一性等の生産品質の関係評価。実用化に向けた省エネルギー手法の開発。
高機能性物質生産イチゴに関する技術開発 高機能性物質発現イチゴの高効率栽培システムの構築（鹿島）	(19 年度より参加)	果実収量を高める地上部栽培条件の探索。多段式栽培が行われる栽培室内の環境分布実態把握。イチゴ群落の光合成･蒸散特性解明。水耕栽培排液の実態把握。	果実収量を高める地上部および地下部環境条件の探索。GUS 活性を高める栽培条件の探索。栽培環境シミュレーショプログラムの構築。組換え植物工場に適した排水処理システム検討。	新規組換えイチゴによる果実収量および高機能性物質蓄積量を高める栽培条件の探索。栽培環境シミュレーションの精度検証。組換え植物工場に適した排水処理システム試作。	高機能性物質の生産･蓄積量を最大化する栽培環境条件の解明。排水処理システム試作機の性能評価。栽培環境シミュレーションを用いたモデル施設の検討と経済性評価。
高機能性物質生産ダイズに関する技術開発 組換えダイズによる有用物質生産システムの研究開発（新菱冷熱）	非組換えダイズの栽培を開始。播種･育苗手順の探索。多収穫栽培条件の探索。閉鎖型栽培施設の設計。	マーカー遺伝子導入ダイズの栽培を開始。多収穫栽培条件の実証。閉鎖型栽培施設の構築と環境制御性能の検証。	目的有用物質導入ダイズの栽培を開始。多収穫･草姿制御栽培条件の探索。成育モニタ技術の開発。生産コストの検討を開始。	多収穫･草姿制御栽培条件の探索と実証。目的有用物質の増加技術の探索。成育モニタ技術の開発。	目的有用物質の増加技術の実証。生産コストの検討と試算。市場性の調査。

③閉鎖型人工環境下での組換え植物栽培システムの構築（２／２）

研究項目/年度	18 年度	19 年度	20 年度	21 年度	22 年度
レタスによるワクチン成分生産技術開発 組換えレタスによる家畜用経口ワクチンタンパク質生産システムの研究開発（日本植生）	組換えレタス栽培対応型実験施設の開発および施設内の微気象計測。非組換えレタスによるタンパク増産栽培条件の検討。	光･気流環境を制御する装置の開発。GUS 遺伝子導入レタスの栽培法検討。再分化苗の効率的水耕栽培法の検討。	根圏環境制御装置の開発。ワクチン生産レタス（プロトタイプ）による栽培法の検討。レタス保存、加工条件の検討。	開発した環境制御装置の機能の改良、省エネルギー化。ワクチン生産レタス（改良型）の栽培法の確立。	機械装置の省エネルギー化による栽培コストダウンの検討。ワクチン生産レタスの低コスト栽培法の検討。性能評価試験用供給。
組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発 （筑波大）	小型モデル装置の試作。光源、養液制御系の検討。栽培試験の実施。特定網室栽培でのミラクリン発現トマトの特性調査。	二段式栽培装置の試作。栽培試験による生長特性と収量調査の実施。閉鎖型人工環境下でのミラクリン発現トマトの特性調査。	二段式栽培装置の改良および当該装置によるミラクリン発現トマト栽培法の最適化。	高収量化(多段化) 栽培装置試作と当該装置による栽培環境制御条件の検討。育苗期間短縮法の検討。	高収量化（多段化）栽培装置の改良。ミラクリン発現トマトによる栽培試験の実施。実証プラント向けの栽培樋ユニットの軽量化･規格化･ローコスト化の検討。

８－２　研究開発実施者の実施体制・運営

８－２－１　研究開発の実施体制

本事業は経済産業省からバイオテクノロジー技術開発組合と独立行政法人産業技術総合研究所へ研究開発を委託し、実施している。バイオテクノロジー開発技術研究組合は、本技術開発事業の実施主体であるバイオテクノロジー開発技術研究組合加入１３社及びバイオテクノロジー開発技術研究組合からの再委託先６大学で構成する、全実施者による一体化した有機的な研究開発体制を構築・運営する。また、共同研究開発に参加する各研究開発グループの有する研究開発ポテンシャルの最大限の活用により効率的な研究開発の推進を図る観点から、研究体制には研究開発責任者（プロジェクトリーダー：松村　健（独）産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門グループリーダー、サブリーダー：後藤　英司千葉大学大学院園芸学研究科教授）を置き、その下に研究者を可能な限り結集して効率的な研究開発を実施している。

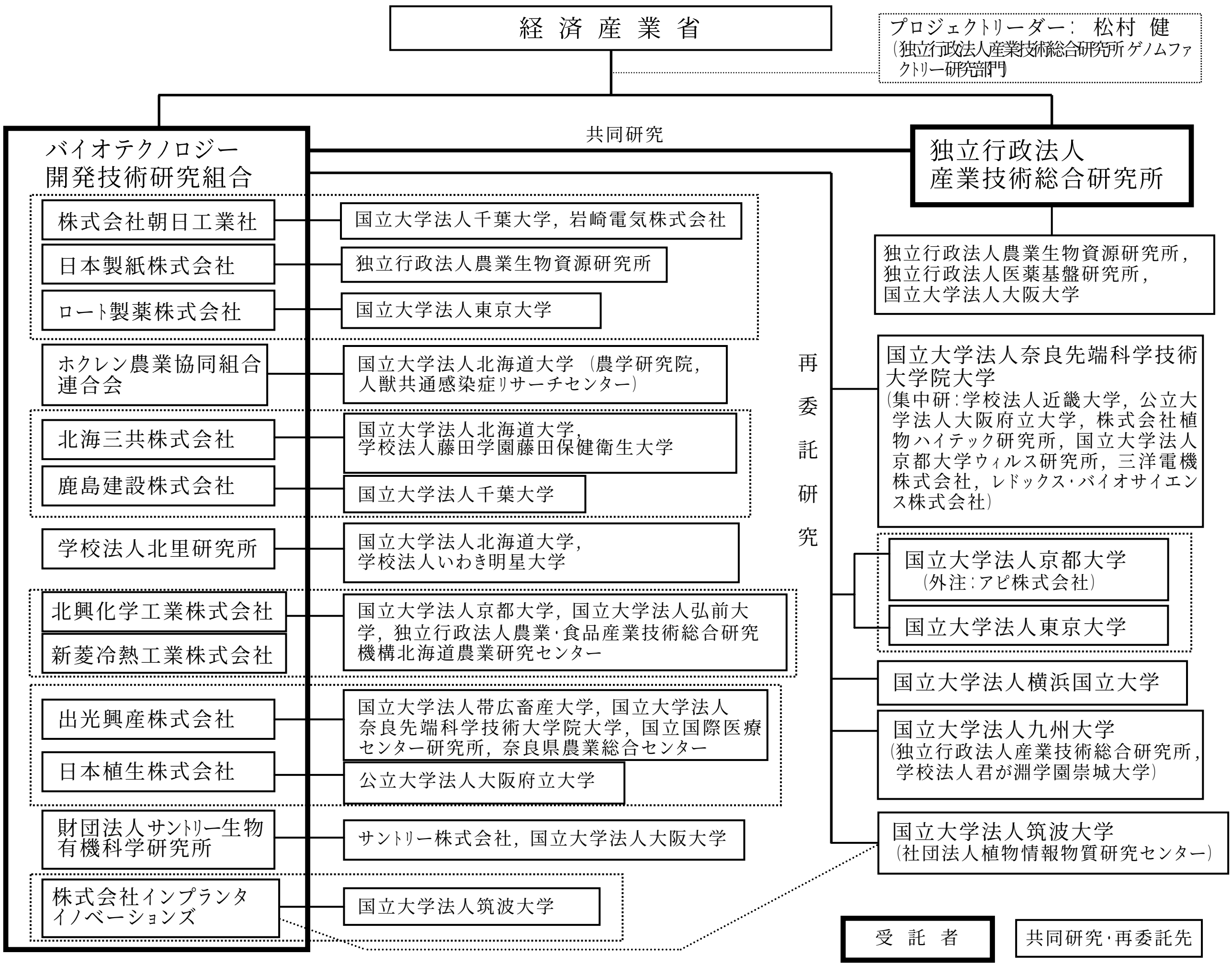


図 8-2　研究開発実施体制

８－２－２　研究開発の運営

研究開発体制を構築・運営し、技術開発活動を総合的かつ効率的に推進するために、植物分子生物学、植物生理学、植物工場分野、獣医学等に関する知見を有する外部有識者及び上記実施者から成る研究開発委員会を設け、研究開発進捗状況の報告、討議及び情報交換等を通じて適宜、研究開発の方向付けを行っている。併せて、研究開発委員会の下に複数の分科会を設け、特定テーマや共通要素技術等に関する詳細な情報交換、討議及び連携可能性検討等を行っている。

技術開発の進捗状況及びその成果の検討・情報交換と、研究開発の実施方針、目標に関する助言、全体調整、総合的な方向付け等を目的として、実施者及び４名の外部有識者から成る研究開発委員会を組織し、各年度、２～３回開催した。

また、主として目的有用物質に着目して３つの分科会、すなわち「基盤技術・ヒト医療用物質」分科会、「家畜用医療用物質・レタス」分科会及び「機能性物質・食品」分科会を組織し、各年度、各１回ずつ開催して、進捗状況の周知と成果、これらを踏まえた次年度計画に関する詳細な検討・討議を行い、外部有識者の意見等を踏まえ、各実施機関の次年度計画の修正、および数百万円の単位で各実施者予算の配分見直し等を行ってきている。

また、植物工場開発技術の知見を共有する目的で、対象作物種を超えた植物工場分科会も開催、特に共通知識として必要なカルタヘナ担保法に関する説明会も文部科学省から講師を招いて開催した（平成 19 年 9 月）。

また、本事業において特筆すべき点として、技術開発・事業展開において医学分野（ワクチン等）、農学（遺伝子組換え植物）分野、工学（生物環境調節：施設園芸・植物工場）分野の融合が必須なことから、単独企業での実施が困難な場合が多く、スタート時から複数の異業種企業が融合したチーム体制で取り組んでいることが挙げられる。加えて、分科会における検討・討議において、得られた新規成果をさらに本事業の技術開発に活用すべく、必要に応じてプロジェクトリーダー、サブプロジェクトリーダーの判断において、異なる実施チーム間で組み合わせ、派生課題として効率的に事業成果が創生されるように体制間連携を重要視した運営を行ってきている。さらに、事業間という大きな意味でも、同時並行して行われている NEDO 事業「植物機能を活用した高度モノづくり基盤技術開発／植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」（平成 14～21 年度）との連携を重視し、各プロジェクトリーダーが互いの外部有識者として参加しており、加えて実施者間においても、実施チームとの合同の委員会を開催（平成 19 年 9 月）し、両プロジェクトで得られた知見の交換及び今後の技術・材料等の交流を図り、プロジェクト横断的に効率的な推進を試みてきている。

８－２－３　成果普及体制

技術開発実施者による成果の対外発表及び広報活動を奨励すると共に、プロジェクトリーダー・サブリーダー及びバイオテクノロジー開発技術研究組合は、出版、成果発表、ワークショップ等の開催、広報を通じて、本事業の内容をバイオテク関係研究者及び社会一般に広く広報・周知した。

以下に、それぞれの総件数を示す。なお、詳細は別添資料２を参照されたい。

１．特許（出願済み）　　　２７件（年内出願予定８件を含む）
２．論文（査読あり）　　　１９件（審査中８件含む）
３．論文（査読なし)、総説、著書　等　１２件
４．学会発表（国内）　１１８件（うち招待講演３５件）
５．学会発表（国際）　　　２６件（うち招待講演８件）
６．プレス発表　　　　　　５４件
７．受賞　　　　　　　　　　１件
８．その他　　　　　　　　３８件

８－３　資金配分

本事業は平成１８年度から平成２２年度までの委託研究事業である。今回の中間評価に該当する平成１８年度から２０年度までの事業費推移とその内部配分を表 8-2 に示す。

表 8-2　資金配分（平成１８年度～平成２０年度）

（単位：千円／上段：予算、下段：実績）

研究項目 ／ 年度	18 年度	19 年度	20 年度
イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発	206,560	171,340	169,340
	202,862	167,521	－
組換えジャガイモを利用した家畜用経口ワクチン素材の開発	65,179	52,163	53,163
	63,579	50,854	－
高機能性物質生産ダイズに関する技術開発	97,230	96,958	100,958
	95,506	98,880	－
レタスによるワクチン成分生産技術開発	80,912	79,310	83,310
	74,700	79,448	－
医・農・工融合によるヒトチオレドキシン１産生レタスの生産技術の開発	58,000	52,310	50,310
	58,000	52,310	－
高機能性物質生産イチゴに関する技術開発	79,573	109,934	113,934
	79,573	111,647	－
組換えレンギョウ等による高機能性成分生産及び閉鎖系での栽培システム構築の開発	52,940	49,572	44,572
	52,861	44,124	－
組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発	63,532	55,360	53,360
	61,472	56,907	－
有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発	38,074	36,651	37,651
	38,074	36,773	－
閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物の開発研究	220,000	201,021	201,021
	219,783	201,021	－
植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発	43,210	38,808	38,808
	43,210	39,114	－
ウイルスベクターを用いた高効率発現システムの開発	69,790	65,265	61,265
	69,790	65,856	－
高効率物質生産に寄与する多重遺伝子発現と転写翻訳系改変に関する研究開発	14,370	14,455	14,455
	14,369	14,455	－
植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発に関する総合調査研究	18,460	17,285	18,285
	15,172	18,187	－
合　　計	1,107,830	1,040,432	1,040,432
	1,088,951	1,037,097	－

８－４　費用対効果

本技術開発は、植物の遺伝子組換え技術を利用し、高付加価値・有用な物質を発現する遺伝子組換え植物を作出し、これを完全人工環境制御下で栽培・生産するシステムを開発、遺伝子組換え植物を利用した物質生産事業の礎を築くことを目的とし、事業開始から 3 年間で総額約 31 億 8 千万の費用で行われてきている。

本事業において具体的製品化・事業化を目的とする有用物質において波及効果が期待される市場規模は、ワクチンの場合、我が国における市場規模は 600-650 億円（2006 年度実績、うち 47%インフルエンザ)、世界規模では 7000 億円にのぼる。

動物用医薬品市場は、約 800 億円超、うち動物用ワクチンは 160 億円超　（2003 年度実績）を占める。植物型糖鎖修飾抑制技術の開発に伴い、新たに植物生産が可能になると期待される治療用抗体や糖尿病治療薬の市場規模は、1,000 億円（2005 年度実績）を超える。現在、国内では約 2,300 万人に上るメタボリックシンドローム予備軍が居ると推測されている。一方、国内の機能性食品の市場は、特定健康保健食品に限っても約 6,000 億円を超え、健康志向性食品市場（シリーズサプリメント等含む）においても約 6,000 億円を超えている。世界における機能性食品市場は、2010 年には 23.4 兆円に拡大すると計算されている（日経産業新聞＆三菱総合研究所)。

また、植物工場の技術開発が波及するアグリ関連市場は、野菜工場や水耕栽培の拡大により現在まで右肩上がりの増加を示しており、2007 年度には資材等で 200 億円に上っている。本事業において、水耕栽培技術や関連機器の開発が加速化され、さらに飛躍的に拡大するものと予想できる。

上述のように、本事業の技術開発が波及する製品化・事業化対象分野の市場規模は、数千億円から数十兆円と非常に大きく、しかも今後の健康で安心な社会生活を形成において、さらに継続的に拡大していくものであると容易に推測され、費用対効果は十分にあると判断される。

８－５　変化への対応

事業開始時から現在まで、国内外において研究開発に影響を及ぼす社会的・技術的情勢の変化はなかった。しかし、情勢変化をいち早く捉え、変化に即応可能なように、プロジェクトリーダー、サブプロジェクトリーダーおよび、バイオテクノロジー開発技術研究組合が中心となり、欧米の同様の大型プロジェクト関係機関、EU 等の当該分野にかかる機関、さらには遺伝子組換え植物を利用した医薬品等有用物質生産研究開発を行っている複数の企業・大学等と直接議論する機会を設け、「足」を使った情報収集を積極的に行い、各年度当初の研究開発委員会において研究開発計画について検討し、開発を推進した。

別添１

「植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発」に関する平成１９年度実施計画

バイオテクノロジー開発技術研究組合

独立行政法人産業技術総合研究所

３．【ヒト・動物用医薬品原材料生産植物の研究開発】

３－１　イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発

＜組換えイネを用いる米型経口ワクチンの研究開発＞

１）ワクチン抗原を均一に高生産・高蓄積させる技術

①導入抗原タンパク質遺伝子コンストラクトの作製（ロート製薬株式会社、日本製紙株式会社）

平成１８年度に作製したCTB導入用コンストラクトからシグナル配列を除いたコンストラクトを作製し日本製紙株式会社に供与する。

②抗原タンパク質発現米の量的・質的評価（ロート製薬株式会社）

平成１８年度にコンストラクトを作製し、日本製紙株式会社により導入・作育されたCTB発現米について、平成１８年度に作製した抗CTBモノクローナル抗体を用いて、ウェスタンブロット法による抗原タンパク質の発現量の評価、免疫電顕法による抗原タンパク質の貯蔵箇所の特定を行い、発現量及び均一性の高い遺伝子コンストラクトの確定、並びに個体の選抜を行う。

２）効果的な免疫誘導技術

③有効性確立のためのワクチン抗原米及びワクチン抗原分子の作製（ロート製薬株式会社、国立大学法人東京大学医科学研究所、日本製紙株式会社）

平成１８年度に作製した粘膜免疫誘導組織特異的結合分子及び同分子とHA1を結合した融合蛋白質を米胚乳細胞発現用に最適化し、グルテリンプロモーター・ターミネーターと連結した導入用コンストラクトを作製する。

平成１８年度に作製した各種HA1発現米について、ウェスタンブロット法等により抗原タンパク質の発現量を確認し、免疫誘導等の試験に用いる個体を選抜する。並びに、平成１８年度の結果から、当HA1発現米は、抗原タンパク質の発現量が低く、ワクチンとしての効果が期待できないことが考えられるため、HA1の発現量向上に向け、再度、米胚乳細胞での発現を最適化したDNA配列を用いて、導入用コンストラクトを作製する。また、HA1-CTBも同様に最適化したコンストラクトを作製し、日本製紙株式会社に供与する。

④粘膜免疫誘導能の評価（ロート製薬株式会社、国立大学法人東京大学医科学研究所）

平成１８年度に導入・作製したHA1発現米、HA-CTB発現米（以下、複数のHAに関する抗原（発現米）の記載は、列記せずにHA関連抗原（発現米）と総記する）、並びに東京大学医科学研究所より供与を受けるmCT発現米をマウスに免疫し、各抗原に対する粘膜IgA及び血清IgG等の抗体誘導能をELISA法により比較評価する。

平成１８年度にCTB発現米の経口投与により良好な免疫誘導が確認できたことから、誘導された抗体のCT中和活性をELISA法及びCHO細胞の伸展抑制試験等により検証する。

⑤感染試験による有効性の評価（ロート製薬株式会社、国立大学法人東京大学医科学研究所）

平成１８年度にCTB発現米の経口投与により良好な免疫誘導が確認でき、更にはCTチャレ

ンジによる下痢症誘導モデルを構築できたことから、当該モデルを用いてCTB発現米経口ワクチネーションの下痢症防止効果についての有効性を評価する。

３）品質確保のための評価技術

⑥ワクチン米の解析（ロート製薬株式会社）

平成１８年度に作製した抗CTBモノクローナル抗体を用いて、CTB発現米中からCTBの単離精製法を確立し、プロテインシーケンサー、LC/MS等を用いてアミノ酸配列の解析・決定を行う。

⑦ワクチン抗原の定量法の開発（ロート製薬株式会社）

平成１８年度に検討したウェスタンブロット法によるCTB定量の精度並びに特異性を向上させるため、平成１８年度に作製した抗CTBモノクローナル抗体を用いた同方法の改良を行う。また、HA融合タンパク質等の単離精製・定量等に用いる抗HA1モノクローナル抗体を作製する。

⑧安定性試験及び生産品質評価（ロート製薬株式会社、株式会社朝日工業社）

平成２０年度に計画するパイロットプラント製造品でのCTB発現米の安定性試験の予備試験として、現在所有のCTB発現米を用いた予備安定性試験を開始する。

＜閉鎖型植物工場用組換えイネ作成技術の開発＞

①安定して発現する組換え植物を迅速に作成する技術の開発（日本製紙株式会社）

SDI システムは、部位特異的組換え系（R/RS）を用いて特定の位置に遺伝子を導入（置換）する遺伝子導入技術である。このシステムでは、1st vector で染色体上の優位な位置を特定し、その組換え植物に2nd vectorを導入する。 2nd vector は、R遺伝子及び目的タンパク質をコードする遺伝子からなっており、植物細胞に導入されることにより、染色体上に導入されている1st vector のRS配列と組換わり、目的遺伝子を含む領域が植物体の定められた染色体上の位置に挿入される。平成１９年度では、平成１８年度に作成したプロトタイプSDI・1st vectorを導入した組換えイネを栽培し、次世代の種子を得る。得られた種子から遺伝子発現により有効な系統を選抜し、遺伝的に固定する。さらに、平成１８年度にタバコにおいて効果を確認した部位特異的組換え配列（RS）の改変を行った結果をもとに、平成１９年度ではイネ型のベクターの構築を検討する。また、イネにおいて、選抜効率を向上させるために、平成１８年度に引き続き、ネガティブマーカーの調査・検討を行い、有効なネガティブマーカーの選定を行う。

②高付加価値物質の生産に適した形態・代謝に、宿主植物を改変するための基礎技術の開発（日本製紙株式会社、独立行政法人産業技術総合研究所）

平成１８年度は、単位面積当たりの組換えタンパク質量を増加させる可能性のある物質として、窒素条件の検討を行った。平成１９年度は、産総研北海道センター内のモデル植物工場において、それらの詳細な解析を行う予定である。また、平成１８年度の調査より、総タンパク質量が増加する事が確認されたので、それらの条件において、より組換えタンパク質を増加させるための技術の検討として、それらの性質を植物に付与する遺伝子を探索する。

③高付加価値な組換えタンパク質を安定して、効率的に生産する遺伝子発現・局在技術の開発（日本製紙株式会社、独立行政法人農業生物資源研究所）

イネ種子貯蔵タンパク質のプロモーター・シグナルに関する技術開発により、植物工場における実用植物での量的な安定性、及び生産効率を上昇させた高付加価値物質の蓄積技術の確立を目指す。具体的には、高付加価値物質をイネの貯蔵組織である米に、恒常的に高蓄積を誘導するため、植物工場での使用に特化した米での遺伝子発現を誘導する技術と、目的の貯蔵器官（細胞内小器官）へ特異的に物質を輸送・蓄積させる技術を確立する。平成１９年度は、平成１８年度に開発した貯蔵タンパク質の挙動解析に必要な手法を用いて、タンパク質蓄積に有効

な水耕培養液組成を検討する。さらに、平成１８年度に作成した、グロブリン、グルテリン、プロラミンの各貯蔵タンパク質のプロモーターを連結した mCTB 遺伝子を導入した組換えイネの後代を栽培し、ホモ化を進め、評価材料としての確立を目指す(日本製紙株式会社)。

さらに、平成１８年度に得られた成果を基に、水耕栽培で高収量（高タンパク質・高バイオマス）になる栽培条件下と普通の栽培条件下での RNA を単離し、マイクロアレーで発現のプロファイルを調べ、窒素等で誘導される遺伝子を単離する。さらにそれらのプロモーターを単離し、窒素誘導発現制御システムを調査する。

植物工場用の局在・蓄積システムとして、平成１９年度には、体系的に貯蔵タンパク質レスを作出し、最終的に全ての貯蔵タンパク質を欠いた系統を開発する。貯蔵タンパク質レスとは、貯蔵タンパク質を減少させた個体であり、減少量に関しては得られた個体中、最も少ない個体を選抜していく。現在、貯蔵タンパク質量を定量的に測定する技術は無く、それらの技術も合わせて構築する。目標としては、目的とした既存の貯蔵タンパク質の 30～50%を減少させることを目指す。貯蔵タンパク質レスを用いて、今後はどのような貯蔵タンパク質レスが外来遺伝子産物の高度集積に適するのか、外来遺伝子産物を集積している組換えイネとの交配等で調査する。加えて、外来遺伝子産物蓄積に適する遺伝資源を探索するために、種子タンパク質含量の高いイネ種子を遺伝資源より取り寄せ、種子タンパク質含量と種子成分を調べた。これらの高度種子タンパク含量品種と外来遺伝子発現組換えイネとを交配し、外来遺伝子産物がこうした高種子含量品種で蓄積が高まるか調査する。

④ワクチン含有米の作成（日本製紙株式会社）

平成１８年度に作成した組換えイネを栽培し、蓄積量を検討する。有効な系統を選抜し遺伝子のホモ化を進めるとともに、ロート製薬に供与する。

＜組換えイネによる有用物質生産のための閉鎖型栽培システムの構築の研究開発＞

１）閉鎖型イネ栽培システムの構築及び環境制御技術の開発（株式会社朝日工業社）

１）-2 地上部及び地下部環境の制御技術の開発

イネ栽培では、生育に伴い栽植密度、草丈の変化、群落内の葉・穂の密度及び空間分布が変化するため、環境要素の最適制御が重要である。平成１８年度に千葉大学園芸学部に設置したプロトタイプを使用して、生育ステージ（栄養成長期、生殖成長期）ごとに適値に制御するためハード面の改造を含め、技術開発を行う。地上部及び地下部の環境データを効率良く処理するためのデータ収集システムを構築するとともに、開発に当たっては、イネ群落内の温湿度、CO_2 濃度、葉面上の風速等の測定を実施する。また、研究課題３）-1 の「栽培環境条件と成長・収量の関係解明」と連携しながら、気流速度の垂直プロファイルを草丈の伸長に合わせて最適化し、群落内の温湿度、CO_2 濃度、葉面上の風速等の空気環境を適値に維持する制御技術を開発する。なお、閉鎖型イネ栽培システムを実用化する場合に必要となる遺伝子拡散防止のための基礎データとして、プロトタイプの栽培システム内におけるイネの花粉量のモニタリングを行う。

２）人工光源の開発（岩崎電気株式会社）

２）-1 植物育成用光源の開発

平成１８年度に光合成作用曲線に近似した低ワットセラミックメタルハライドランプを試作した。平成１９年度は、金型を試作して発光管形状の改良により効率を向上させた試作ランプの改良を実施し、その電気的特性と光学的特性を評価する。また、改良した試作ランプを使用して、人工気象器によるイネ育苗期の簡易栽培試験を行い、蛍光計測の光合成活性測定などにより、栽培試験評価を実施する。

３）有用物質を効率よく生産する栽培条件の探索と評価（株式会社朝日工業社、国立大学法人千葉大学）

３）-1 栽培環境条件と成長・収量の関係解明（国立大学法人千葉大学）

平成１８年度は主に､既存の植物育成チャンバーを用いて地上部環境要素として光強度､光質、明期、地下部環境要素として培養液組成に焦点をあてて生育ステージごとの成長を促進し、収量を高める栽培環境条件の探索を実施したが、平成１９年度は研究課題１）で構築する栽培システムも使用して光環境、培養液組成及び空気環境をパラメータに選び、光合成、形態形成、乾物成長、転流・分配、種子（モミ）の収量等を調べて、成長を促進し収量を高める栽培環境条件を見出す。

３）-2 栽培環境条件と有用物質含有量の関係解明（国立大学法人千葉大学）

光･気温等の地上部環境及び培養液組成を制御することにより､光合成に伴う養分吸収を高め、転流を促進し、種子内に窒素成分の蓄積を促す条件を見出せれば、開発する組換えイネの機能を最大限に発揮できると考えられる。今年度は非組換えイネを用いて、栽培環境条件と種子内有用物質の含有量との関係を求める。ここでは、光合成産物の貯蔵・分配、窒素吸収等の栄養学的解析、タンパク質分析等の手法を組み合わせて評価し、種子内有用物質の生産・蓄積を高める栽培環境条件を見出す。

３－２　組換えジャガイモを利用した家畜用経口ワクチン素材の開発

１）組換え大腸菌等を用いた抗原の作製、並びに抗原及び抗体検出系の確立
（社団法人北里研究所、国立大学法人北海道大学、学校法人北里学園北里大学）

③抗原検出系の確立（社団法人北里研究所）
平成１８年度に引き続き、組換え HA 及び NP 抗原を検出する系を構築する。平成２０年２月終了予定。本項目により中間目標の一部が達成される予定。

⑤大腸菌等発現抗原の糖鎖修飾解析（学校法人北里学園北里大学）
平成１８年度に引き続き、大腸菌等発現抗原の糖鎖修飾態度を解析する。平成２０年３月終了予定。

２）組換え大腸菌等発現抗原の免疫誘導能の確認及びアジュバントの活性評価（社団法人北里研究所、学校法人いわき明星大学、国立大学法人北海道大学）

①大腸菌等発現抗原のマウスにおける免疫誘導能の確認（社団法人北里研究所）
平成１８年度に引き続き、マウスにおける大腸菌等発現抗原の追加経口投与試験を実施する。平成２０年６月終了予定。

③非メチル化 CpG モチーフのマウスにおけるアジュバント活性の評価（社団法人北里研究所）
平成１８年度に引き続き、マウスにおける、合成 CpG モチーフを添加した大腸菌等発現抗原の追加経口投与試験を実施する。平成２０年７月終了予定。

④経口投与マウスにおける細胞性免疫応答の解析（学校法人いわき明星大学）
平成１８年度に引き続き、２）-①及び２）-③の供試マウスについて、細胞性免疫応答の解析を実施する。平成２０年８月終了予定。

⑤大腸菌等発現抗原の鶏における免疫誘導能の確認（社団法人北里研究所）
平成１８年度に引き続き、鶏における大腸菌等発現抗原の追加経口投与試験を実施する。平成２０年１０月終了予定。

⑥非メチル化 CpG モチーフの鶏におけるアジュバント活性の評価（社団法人北里研究所）
平成１８年度に引き続き、鶏における、合成 CpG モチーフを添加した大腸菌等発現抗原の追加経口投与試験を実施する。平成２０年１２月終了予定。

⑦経口投与鶏における細胞性免疫応答の解析（学校法人いわき明星大学）
平成１８年度に引き続き、２）-①及び２）-③の供試鶏について、細胞性免疫応答の解析を実施する。平成２１年３月終了予定。

⑧免疫マウス及び鶏へのウイルス攻撃試験（社団法人北里研究所、国立大学法人北海道大学）
CpG モチーフ添加抗原を追加経口投与されたマウス及び鶏に対して、遺伝子供与ウイルスあるいは強毒ウイルスによる攻撃試験を開始する。平成２１年３月終了予定。

３）抗原及びアジュバントを含む組換え植物の作出、並びに植物工場システムによる大量生産系の開発（社団法人北里研究所、独立行政法人産業技術総合研究所）

②植物への遺伝子導入及び再分化（独立行政法人産業技術総合研究所）
平成１８年度に引き続き、遺伝子組換えジャガイモの再分化個体の作出を実施する。平成１９年１２月終了予定。本項目により中間目標の一部が達成される予定。

③リアクターシステムでのマイクロチューバー（MT）培養の諸条件の基礎検討
（独立行政法人産業技術総合研究所）
平成１８年度に引き続き、効率的なリアクターシステムでの MT 培養の最適条件（培地条件、照明時間、通気条件等）の基礎的検証を実施する。平成１９年１２月終了予定。

④リアクターシステムでのマイクロチューバー（MT）の生産
（独立行政法人産業技術総合研究所）
３）-③で検討された最適条件により、HPAI 抗原発現ジャガイモの生産に着手する。平成２３年３月終了予定。

⑤NFT 方式による大量生産系の諸条件の基礎検討（独立行政法人産業技術総合研究所）
HPAI 抗原発現ジャガイモへの本法の応用に先立ち、他のジャガイモを用いて、効率的な NFT 方式による大量生産系の基礎的検証に着手する。平成２１年３月終了予定。

３－３　高機能性物質生産ダイズに関する技術開発

＜組換えダイズによる機能性ペプチド生産技術の研究開発＞

１）高蓄積型貯蔵タンパク質の開発

１）－①　ペプチド挿入高蓄積型貯蔵タンパク質の分子設計（北興化学工業株式会社、国立大学法人京都大学）

・タンデム化 T 細胞エピトープ配列の各種種子貯蔵タンパク質への挿入
種子貯蔵タンパク質として選択したダイズ及びカボチャ 11S グロブリン、イネ由来プロラミン、インゲン由来アルセリンの立体構造に基づいた可変領域に、平成１８年度に選択されたタンデム化Ｔ細胞エピトープ配列（A7、A9）を挿入した高蓄積型改変貯蔵タンパク質を作成し、これらの各種貯蔵タンパク質を大腸菌で発現させ、本来の構造形成を示すかどうか、また可溶性、分子集合性等について調べ、構造形成能評価を行う。

・エピトープ配列挿入種子貯蔵タンパク質のダイズへの導入コンストラクト作成
上記で選定した構造形成能が安定している高蓄積型改変貯蔵タンパク質の遺伝子をダイズ由来 11S グロブリンプロモーターと連結し、ダイズへの導入用コンストラクトを構築する。

１）－② ペプチド蓄積機構の解明（国立大学法人京都大学）
ペプチド配列を挿入した 11S グロブリンのダイズ種子における輸送・蓄積機構を解析し、より良いペプチド挿入法、高蓄積法の開発に結びつける。ダイズ種子における種子タンパク質の輸送蓄積機構の理解を深めるため、昨年度から継続してダイズ、カボチャ、エンドウにおける種子タンパク質の蓄積挙動を比較、解析する。具体的には、エンドウの登熟期種子を調製し、免疫電子

顕微鏡観察を行い、タバコ細胞を用いて同細胞におけるダイズ、カボチャ、エンドウ 11S グロブリンの集積挙動を解析する。

２）高蓄積型貯蔵タンパク質組換えダイズの開発

２）ー①　高発現・高効率遺伝子導入技術の開発（北興化学工業株式会社）

ウイスカー超音波法によるダイズ培養細胞への導入及び発現効率の向上を平成１８年度から継続して行う。ダイズ品種「Jack」由来の不定胚を用い、培養ステージ、導入 DNA 濃度、プラスミド形状及び超音波条件等について検討を行う。導入効率検定は、GUS 及び GFP 遺伝子等の一過的発現遺伝子を利用し、対照として従来ダイズへの遺伝子導入法として利用されている遺伝子銃法を用い、発現及び導入効率の比較を行う。また、形質転換不定胚及び再生植物体の導入遺伝子の解析を行い形質転換率を向上させる条件検討を行う。さらに、形質転換細胞の選抜マーカー遺伝子として、除草剤フォスフィノスリシン耐性遺伝子（MAT 遺伝子、HPAT 遺伝子）及びアミノ酸アナログ 5ーメチルトリプトファン耐性遺伝子（ASA１D 遺伝子）を用いた選抜条件について検討する。平成１８年度成果と合わせてダイズへの高効率、高発現遺伝子導入技術を確立する。

２）ー②　タンパク質高蓄積変異ダイズの作出（独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター）

不定胚からの植物体再生能に優れた品種「Jack」を戻し交配親として、ダイズの主要な貯蔵タンパク質（11S グロブリン、７S グロブリン）の欠損性を導入した系統を用いて不定胚の増殖、植物体再生能に優れた培養系統を作出する。また、「Jack」は子葉節からの植物体再生能にも優れていることから、得られた戻し交配系統を用いて、子葉節を用いた植物体再生能（不定芽形成）についても評価する。

２）ー③　高蓄積型組換えダイズの作出（北興化学工業株式会社、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター）

品種「Jack」から誘導・増殖した不定胚に、ウイスカー超音波法あるいは遺伝子銃法によりペプチド挿入高蓄積型貯蔵タンパク質遺伝子（上記１）ー①）を導入し、ハイグロマイシン耐性遺伝子を選抜マーカーとして導入細胞の選抜及び形質転換ダイズ植物体の再生を行う。１コンストラクト当りの形質転換系統は１０～２０系統を目標として､閉鎖型温室内で栽培して種子を得る。形質転換種子は､ウエスタン法により種子貯蔵タンパク質中の目的ペプチドの蓄積量を解析して、高蓄積系統を選抜する。

３）組換えダイズ由来ワクチンペプチドの開発

３）ー①　機能性評価法の確立（北興化学工業株式会社、国立大学法人弘前大学）

平成１８年度から継続して、これまでに確立した加齢とともに脳に老人斑アミロイド蓄積を示すアルツハイマー病のモデルトランスジェニックマウス（TgCRND8）において、PCR 及び ELISA によって発現遺伝子･蛋白を確認して、モデルマウス及び対照マウスの大量飼育を開始し、十分な匹数の加齢モデルマウスを準備する。各マウスに体重測定、Rotarod 試験等の基本的行動試験を行った後、Morris 水迷路試験、8-arm 放射状迷路試験、Conditioned taste avertion 試験等の海馬依存性／非依存性記憶検査を行い、記憶障害の評価を行う。また、目的とするT細胞エピトープ配列ペプチドの分析及び分取法を高速液体クロマトを用いて確立する。また、大腸菌等で生産したペプチド挿入型種子貯蔵タンパク質のサンプルを用いて、同マウスでの機能性評価（静注及び経口投与）を検討する。

５）プレニルトランスフェラーゼ遺伝子を利用した植物代謝工学技術の開発

５）ー①　発現カセットのダイズへの導入（北興化学工業株式会社、国立大学法人京都大学）

ダイズ品種「Jack」から誘導・増殖した不定胚に、ウイスカー超音波法により、放線菌をはじめとした芳香族基質プレニルトランスフェラーゼ遺伝子全長及びその改変遺伝子を組込んだ発現ベクターを順次導入し、ハイグロマイシン耐性遺伝子を選抜マーカーとして導入細胞の選抜及び

形質転換ダイズ植物体の再生を行う。１コンストラクト当りの形質転換系統は約１０系統を目標とする。

<組換えダイズによる有用物質生産システムの研究開発>

４）閉鎖型人工環境下での組換えダイズ栽培システムの開発（新菱冷熱工業株式会社）

①非組換えダイズによる育成条件の検討

・環境条件がダイズの収穫量に及ぼす影響の解析（平成１８年度から継続）

平成１８年度に引き続き、人工環境制御下においてダイズの収穫量を増大させるための好適な環境条件を解析することを目的とした実験を行う。人工光型ファイトトロンを使用し、各環境条件の中でも、特に大きな影響を及ぼすと考えられる CO_2濃度（CO_2施用）がダイズの期間あたりの収穫量に及ぼす影響を解析して好適な CO_2濃度を評価する。

・環境条件がダイズの栄養成長速度に及ぼす影響の解析（平成１８年度から継続）

平成１８年度に引き続き、人工環境制御下においてダイズの栄養成長速度を高めるための好適な環境条件を解析することを目的とした実験を行う。人工光型ファイトトロンを使用し、各環境条件の中でも、気温（明期、暗期）、相対湿度がダイズの栄養成長速度に及ぼす影響を解析して、コスト面も含めた高効率な生育が行える条件を評価する。

②組換えダイズによる育成実験

・閉鎖型植物生産施設の開発（平成１８年度から継続）

気温、湿度、気流速度等植物に影響を与える環境要因が制御でき、作出した組換え植物を用いた栽培実験が行える閉鎖型植物生産施設を開発する。この施設は、組換え植物により有用物質を高効率・高生産できる環境条件の検討が行える環境制御が可能であり、さらに組換え植物を栽培するための、従来の植物栽培施設とは異なった、高い閉鎖性を持ち適切なリスク管理が可能な施設である。

昨年度に行った実施設計に基づいて本年度は施設の建設を行い、運用を開始する。

・組換えダイズによる高収穫生育条件の評価

人工環境制御下においてマーカー遺伝子を組み込んだ組換えダイズの収穫量を増大させるための好適な環境条件を検討、評価することを目的とする。

開発した閉鎖型植物生産施設を用いて、平成１８年度から行われた非組換えダイズによる育成条件の検討の結果を基に生育させる環境条件を検討し、組換えダイズにおける効果を評価する。

・日長条件がダイズの収穫量に及ぼす影響の解析

人工環境制御下においてダイズの収穫量を増大させるための好適な日長条件を検討、評価することを目的とする。

開発した閉鎖型植物生産施設を用いて、日長以外の環境条件は一定とした環境条件下において明期／暗期を３水準程度変えてマーカー遺伝子を組み込んだ組換えダイズを生育させる。なお、実験の状況によっては人工光形ファイトトロンを用いた非組換えダイズによる補助実験も行う。

３－４　レタスによるワクチン成分生産技術開発

<組換えレタスによる家畜用経口ワクチンタンパク質生産の研究開発>

①宿主植物レタスの高効率形質転換技術の開発（出光興産株式会社、奈良県農業総合センター）

リーフレタスタイプの「グリーンウェーブ」とサラダナタイプの「岡山サラダ菜」を宿主としたレポーター遺伝子導入レタスの作出は平成１８年度で完了しており、その際の条件検討で確立した核ゲノムへの遺伝子導入条件を用いて、*stx2eB* 形質転換レタス（プロトタイプ）の作出を実施する(平成１８年度よりの継続)。

②高効率生産のための *stx2e* 遺伝子改変

②－1．エピトープの同定（出光興産株式会社、国立国際医療センター研究所）

抗 Stx2e 抗体を用いて Stx2e エピトープ領域を決定する。当該エピトープ部位のペプチドを合成し、マウスを用いて抗体誘導能評価を行う。さらにベロ細胞及びマウスを用い、誘導抗体の Stx2e 中和活性評価試験を実施する。

②－2．*stx2eB* 遺伝子のレタス高発現用コドン改変（出光興産株式会社）

平成１８年度に作製した４種類のコドン改変型 *stx2eB* をレタスプロトプラストを用いた一過性発現系による翻訳量の評価を行い、最適化コドン改変型 *stx2eB* を絞り込む。絞り込んだ最適化コドン改変型 *stx2eB* は④で実施の「Stx2e 生産を効率化するレタス小胞輸送工学の確立」で得られた高効率発現系を組み合わせ、*stx2eB* 形質転換レタス（プロトタイプ）の作出に供給する。

③Stx2eB 有効生産量の設定及び性能評価

③－1．マウスを用いた検討（出光興産株式会社、国立大学法人帯広畜産大学）

平成１８年度に引き続き、組換え大腸菌による Stx2eB タンパク質の大量精製法を確立する。これをもとに、Stx2eB タンパク質を大腸菌内で作出・精製、マウスに経口投与し十分な抗体価の上昇を確認できる量を算出し、抗体価上昇に必要な蛋白量を算定する。

③－2．ブタを用いた検討（出光興産株式会社）

上記組換え大腸菌に生産させた Stx2eB タンパク質をブタに経口投与し、ワクチン効果を発揮する有効投与量を調べ、レタスでの Stx2eB 生産目標量を厳密に設定する。本試験はノウハウを多数有する株式会社栄養・病理学研究所への外注を予定している。さらに①宿主植物レタスの高効率形質転換技術の開発で作出した *stx2eB* 形質転換レタス（プロトタイプ）を用いたブタ投与試験も実施する。

③－3．レタスの飼料としての安全性評価（出光興産株式会社、国立大学法人帯広畜産大学）

家畜飼料としてのレタスの安全性評価を行う。まずはマウスを用い、非形質転換レタス（グリーンウェーブ、岡山サラダ菜）及び *stx2eB* 形質転換レタス（プロトタイプ）についてアレルギーチェックを開始する。

④Stx2eB 生産を効率化するレタス小胞輸送工学の確立

（出光興産株式会社、国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学）

平成１８年度にレポーター遺伝子発現プラスミド、及び *stx2eB* 遺伝子発現プラスミドの作製(プロトタイプ)が完了している。このプラスミドを用い、外来タンパク質を液胞やアポプラストを含む小胞輸送系で高生産させる技術（小胞輸送工学）をレタスに応用可能であることを、形質転換レタス多芽体を用いた系で検証し、さらに技術改良・最適化を図る。またプロモーターまたはターミネーターによる転写効率の最適化、5’-UTR の検討による翻訳効率の最適化、及びコピー数制御等による転写安定化により、レタス染色体に導入する *stx2eB* 遺伝子を安定かつ高効率に発現させる系を構築する（平成１８年度からの継続)。

＜組換えレタスによる家畜用経口ワクチンタンパク質生産システムの研究開発＞

①効率的なワクチンタンパク質生産のための完全制御型栽培システムの開発

①－1．高効率ワクチンタンパク質生産施設の開発（日本植生株式会社、公立大学法人大阪府立大学大学院）

平成１８年度開発した実験施設に①－2 で開発する特殊環境制御装置を組み込み、栽培植物の状態をより均一にするシステムにするため、改良改善を重ねていく。

①－2．特殊環境制御装置、ソフトウェアの開発（公立大学法人大阪府立大学大学院）

平成１８年度に実施した微気象計測の結果をもとに、タンパク質生産に関わる環境因子を精

密に制御するための制御装置の設計、及びハードウェアの開発を行う。

高周波パルス光（200 マイクロ秒以上）が光合成の明反応に影響を及ぼし光合成活性が高まることがレタスで知られている。よって、特に平成１９年度は、LED を直流で高速に点滅させる電源を試作する。また、均一で高光量の光を照射するための光源システムの開発を目指す。

また、送風による物理的刺激，また CO_2 のより効率的な施用を実現するための、チューブを用いた植物群落内送風システムを開発する。

②ワクチンタンパク質高生産栽培条件の検討

②－1．非形質転換レタスにおけるタンパク質高生産栽培条件の探索（日本植生株式会社）

平成１８年度から開始した非形質転換レタスにおけるタンパク質高生産栽培条件の検討を継続して行う。平成１８年度は光質を中心に栽培条件の探索を行ったが、平成１９年度は光に加え栽培溶液についても可溶性タンパク質を増産させる条件として検討を行っていく。

②－2．レポーター遺伝子導入レタスにおける栽培条件の探索（日本植生株式会社）

平成１８年度に実施した再分化個体の馴化・水耕栽培法をもとに、レポーター遺伝子導入レタスの再分化個体を用いて、レポータータンパク質が最も増加する栽培条件や収穫時期、部位の探索を、光質を中心に検討する。レポーター遺伝子導入レタスの再分化個体は出光興産グループ・奈良県農業総合センターで作出し、活性等のチェックを経た後日本植生株式会社に供給される。

栽培したレタスは収穫後、導入遺伝子の確認、GUS 活性の確認を行い、環境要因との関連を明らかにしていく。タンパク質については非破壊検査法も検討する。

また事業化規模の遺伝子組換えレタス栽培には、コストの面からも種子からの栽培が必要となる。そのため、完全閉鎖環境においてレポーター遺伝子導入レタスより種子を回収するための条件検討を行う。

②－3．ワクチンタンパク質高生産栽培条件の探索（日本植生株式会社）

目的ワクチン遺伝子導入レタス（プロトタイプ、出光興産株式会社より提供）の再分化個体を用いて、非形質転換体、レポーター遺伝子導入レタスで得られた成果をもとに、ワクチン成分を高効率に生産させる栽培条件、高蓄積する栽培ステージの検討を実施する(検討開始は平成１９年度下期)。ワクチン遺伝子導入レタスの再分化個体は出光興産グループ・奈良県農業総合センターで作出し、チェックを経た後日本植生株式会社に供給される。また、ブタワクチン評価試験の試料供給に備えてレタスの凍結乾燥条件の検討を開始する。

３－５　医･農･工融合によるﾋﾄﾁオレドキシン1産生ﾚﾀｽの生産技術の開発

１）研究項目１：複合遺伝子導入による各種生育促進レタス葉緑体による外来遺伝子高発現系の開発（国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学集中研究室にて：国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学・近畿大学農学部・株式会社植物ハイテック研究所が支援）

①生育特性の異なる４種類のレタスのカルス化・再分化系と葉緑体形質転換系の開発

平成１８年度に引き続き、パーティクルガン遺伝子導入装置を用いたレタス葉緑体ゲノムへの遺伝子導入法の最適条件を GFP 遺伝子をマーカーに用いて検討する。これらの研究により４種のレタスの葉緑体形質転換条件を決定する。

②レタス生育促進育種のためのカルビン回路律速３酵素活性比最適化プロモーターの開発

平成１８年度に引き続き、変異 *psb*A プロモーター/FBP/SBPase 遺伝子発現ベクターの構築を行う。これらの FBP/SBPase 発現ベクターを用いて、研究項目１―①で確立した葉緑体形質転換法を用い、変異 *psb*A プロモーター/FBP/SBPase 遺伝子を導入した４種のレタスの作出を行う(形質転換植物作出に関しては一部近畿大学農学部で実施)。

③外来遺伝子導入のためのレタス葉緑体工学技術の開発

外来タンパク質を高発現させるためのレタス葉緑体形質転換用の最適ベクターの開発を平成１８年度に引き続き行う。*psb*A、*rbc*L、*atp*B プロモーターと 5'-UTR の組み合わせを変え、数種類のベクターを完成させる。これらを用いて形質転換レタスの作出を行い、GFP 等のマーカータンパク質の発現量の比較を行い、最適ベクターを構築する(形質転換植物作出に関しては一部近畿大学農学部で実施)。

２）研究項目２：省エネ・生育促進分子育種レタス用閉鎖型植物生産工場システムの開発（国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学集中研究室にて：国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学・大阪府立大学・三洋電機が支援）

①各種環境下で生育中レタスの EST ライブラリー構築と配列解読

平成１８年度に取得したレタス EST クローンの配列決定を引き続き行い、レタス EST クローンのデータ解析を行う。また、外来タンパク質を高蓄積させたときの発現遺伝子群に特化した EST 解析を行う。さらに、GFP 高発現レタスにおける GFP タンパク質の動態を詳細に解析する。

②EST オリゴチップアレーとリアルタイム RT-PCR による生育（生体リズム、細胞分裂力と生産力評価、環境応答）モニター

研究項目２—①で取得した EST クローンデータからレタス EST オリゴチップを作成し、レタス EST オリゴチップアレイの構築を行う。構築したレタスマイクロアレイ解析系を用いて、野生株と FBP/SBPase 導入レタス、非ストレス下と強光ストレス下で発現に違いがある遺伝子、また概日リズム遺伝子を同定し、分子診断マーカー遺伝子候補を検索する。

遺伝子発現解析のために、平成１８年度に購入し、大阪府立大学に設置しているレタス生育装置は、平成１９年度に大阪府立大学で最適化後、国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学・集中研に移設する。移設後、本装置を用いて集中研において研究を行う。

３）研究項目３：レタス葉緑体によるヒトチオレドキシン１生産法の開発（国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学集中研究室にて：国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学：株式会社植物ハイテック研究所、レドックス・バイオサイエンス株式会社、京都大学ウイルス研究所が支援）

①レタス葉緑体型高利用頻度コドンに変換したヒトチオレドキシン１遺伝子と各種プロモーターを用いたパイロット生産と生産量の解析

平成１８年度に構築した葉緑体型コドンに変換したヒトチオレドキシン１遺伝子の発現ベクターを用いて、パイロット実験としてヒトチオレドキシン１発現レタスの作成を行う。作成したヒトチオレドキシン１発現レタスにおけるヒトチオレドキシン１発現量の解析を行い、次年度の計画の参考とする。

また、本項で作成したヒトチオレドキシン１発現レタスからのヒトチオレドキシン１精製のためのパイロット実験を行う。まず、ヒトチオレドキシン１発現大腸菌の粗酵素溶液からの組換えヒトチオレドキシン１の各種クロマトグラフィーを用いた精製法を確立する。さらに、これまでに報告されている１mg 当たり８０units（unit：ヒトチオレドキシン１が１分間にインスリンを還元する活性で、レドックスバイオサイエンスで確立されている活性測定法で算出することができる）の活性を示すヒトチオレドキシン１を収率１５％で精製できる系の確立を目指す。この系を参考にし、大腸菌で確立した精製法をレタス葉からのレタス・ヒトチオレドキシン１の精製に応用する。

４）研究項目４：開発されるヒトチオレドキシン１の評価及び医薬品原料としての開発（レドックス・バイオサイエンス株式会社、京都大学ウイルス研究所が支援、平成２１年度より本研究項目を京大ウイルス研、RBS に持ち帰り共同研究）

①レタス・ヒトチオレドキシン１機能評価

研究項目３-①で作成するヒトチオレドキシン１発現レタスから部分精製を行ったヒトチオ

レドキシン１の活性測定を行い、レタス葉緑体において機能的なヒトチオレドキシン１を産生できているかの確認を行う。

４．【機能性成分生産植物の研究開発】

４－１　高機能性物質生産イチゴに関する技術開発

＜組換えイチゴによる高機能性物質複合生産技術の開発＞

１）高機能性物質を花托において高発現させる技術開発

１）-①イチゴウイルス由来プロモーターの発現解析

平成１８年度に作出した SVBV プロモーター(Full size)-GUS 発現イチゴ系統について、ゲノムに導入されたコピー数の決定及び GUS 遺伝子発現様式の解析（発現量、発現部位など）を行う。同時に 35S プロモーター導入系統との比較検討を行い、SVBV のプロモーター活性を明らかとする。また、高発現が期待される SVBV プロモーター領域の delation　mutant を作製し、その発現解析を開始する。　《北海三共株式会社、独立行政法人産業技術総合研究所》

１）-②花托高発現プロモーターの同定

平成１８年度に同定した２種類のタンパク質に関しては、アミノ酸配列に基づいた縮重プライマーの合成と、当該プライマーによる花托発現遺伝子 cDNA スクリーニングを行う。その他、花托特異的と推定されるタンパク質については、継続して解析を行い、同様に cDNA スクリーニングを行う。　《北海三共株式会社》

２）高機能性物質高発現組換えイチゴの作出と発現解析

２）-①ウシαラクトアルブミン

平成１８年度に得られた形質転換体の発現解析を行い､高発現系統を選抜し､増殖を開始する。また、新規プロモーター制御による高発現を目的として、ウイルス由来プロモーターにウシαラクトアルブミン遺伝子を連結し、植物発現ベクターへの組込みを行う。作製した遺伝子を用いてイチゴ形質転換を行い、再分化個体を得る。　《北海三共株式会社》

２）-②ヒトアディポネクチン

平成１８年度に得られた再分化個体の遺伝子導入の確認とタンパク質の発現解析を行い、高発現系統を選抜し、増殖を開始する。　《独立行政法人産業技術総合研究所》

２）-③ウシミルクムチン（ムチンコアタンパク質・MUC１）

MUC1 遺伝子を挿入した植物発現ベクターを用いて、イチゴへの形質転換実験を行い、再分化個体を得る。 また、バキュロシステム生産系によるムチンタンパク質の生産を行う。
《北海三共株式会社、国立大学法人北海道大学》

３）高機能性物質高発現組換えイチゴの機能性評価試験

２）で得られたウシαラクトアルブミン遺伝子導入イチゴを順化・栽培し、機能性解析のための果実採取を開始する。　《北海三共株式会社》

３）-①ウシαラクトアルブミン・ウシミルクムチン発現イチゴの機能性評価

a)コレステロール代謝・感染防御作用等効果確認

昆虫細胞系で発現させたムチンにおいて糖鎖付加の有無を検討する。また、ヒト MUC1 抗体との交差反応性を確認し、発現解析に適用する。昆虫細胞系で生産された組換えムチン並びに標品のラクトアルブミンをマウスに経口投与し、それらの効果を、血清コレステロール濃度等を指標に検索する。さらに、サルモネラ等腸管感染病原体に対する効果を in vitro で評価する。なお、ラクトアルブミンについては、経口投与による腸管系細胞への作用をマイクロアレイ解

析する。 《国立大学法人北海道大学》

b)ロタウイルス感染防御効果確認

平成１８年度に供試したウイルス株以外のロタウイルス株（ヒトロタウイルス Hosokawa 株：G4P1A、サルロタウイルス RRV 株：G3P5B）による乳飲みマウスでの 50%下痢誘発ウイルス量を決定する。また、母親マウスから搾乳した乳汁と凍結乾燥イチゴを用いた乳飲みマウスの経口投与実験系を確立する。さらに、ウシαラクトアルブミン製品の感染防御能及び摂取量を、マウスへの食餌を介した経口投与を行った後、感染性のロタウイルスで攻撃し、便中の排泄ロタウイルス量等の測定により解析する。平成１８年度に確立した IgG、IgA 測定のための ELISA 法、ロタウイルス内部抗原 VP6 検出のための ELISA 法を用いて、ロタウイルス感染後の下痢便、血清における IgG、IgA、VP6 の経時的変化を追跡する。

《学校法人藤田学園藤田保健衛生大学》

３）-②ヒトアディポネクチン発現イチゴの機能性評価

経口投与方法（回数、濃度等）を変えて、その効果をリアルタイム PCR により解析し、至適投与方法を検討する。バキュロウイルスで作製した組換えアディポネクチンの活性測定を行う。

《国立大学法人北海道大学》

４）高機能性物質をイチゴ果実で安定的に生産する栽培環境調節技術の確立

平成１９年度から、第５章第３節「高機能性物質発現イチゴの高効率栽培システムの構築」（鹿島建設）の事業内容に移行した。

５）「有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発（プレニルトランスフェラーゼ遺伝子を利用した植物代謝工学技術の開発）」（第１２章第２節）との連携共同研究《平成１９年度からの新規項目》

「線虫に対するプレニル化化合物の活性検定に関する研究」（第１２章第２節、実施内容⑥）に係る連携研究として、農業分野でのプレニル化化合物の有用性を検討するため、入手可能なプレニル化化合物を用いてキタネコブセンチュウに対する活性検定を行う。特に生理活性に対するプレニル基の寄与を検定するため、可能な限りプレニル基を持たない母核化合物との活性比較を行う。 《北海三共株式会社》

＜高機能性物質発現イチゴの高効率栽培システムの構築＞

１）「高機能性物質をイチゴ果実で安定的に生産する栽培環境調節技術の確立」

①成長を促進し果実収量を高める栽培条件の解明（国立大学法人千葉大学、鹿島建設株式会社）

平成１９年度は、発根培養期、育苗から花芽分化までの栄養成長期と花芽分化以降の生殖成長期、それぞれの成長速度を高めるための地上部及び地下部の環境条件を調べる。具体的には光強度、明期、CO_2濃度、培養液を環境要素に選んで栽培試験を行い、成長及び収穫量を高める環境条件を求める。試験では、個葉レベルの光合成速度・蒸散速度、個体生理計測、葉面積、葉柄長、葉の形状等の生態的・形態的測定、花房数、果実重量等の果実生産に関する測定を行う。また、光合成器官である葉と貯蔵器官である果実のバランスを制御して、目的とする形状・重量の果実を多く生産する条件を探索する。なお、本課題では北海三共株式会社より非組換え体イチゴ苗の提供を受けて試験を行う。

②目的物質の生産・蓄積量を高める栽培技術の確立（国立大学法人千葉大学）

高機能性物質発現遺伝子組換えイチゴのモデルケースとして、容易に発現物質の定性的・定量的及び組織的発現観察が可能なβ-グルクロニダーゼ（GUS）遺伝子組換えイチゴを指標に用いて、目的物質をイチゴ果実内で安定的かつ高効率に生産するための栽培技術の確立を行う。平成１９年度は、GUS 遺伝子組換えイチゴを育成し、生殖成長期（果実の成長から成熟の時期）に様々な環境条件下で栽培試験を行い、GUS タンパク質の発現量を果実サイズ、果実成長ステ

ージ、果実内、及び他の器官において定性的、定量的に解析する。果実において GUS タンパク質の蓄積の変動が大きい場合は、その理由を探るために、糖質や他の物質の挙動もあわせて分析する。

なお、本課題では北海三共株式会社より遺伝子組換えイチゴ苗の提供を受けて試験を行う。

２）「多段式栽培における高効率・栽培環境構築技術の確立」（研究課題①～③）

①組換えイチゴ栽培室の多点環境モニタリング

（鹿島建設株式会社、独立行政法人産業技術総合研究所、国立大学法人千葉大学）

独立行政法人産業技術総合研究所・北海道センター閉鎖型遺伝子組換え植物工場において、多段式栽培棚でイチゴを栽培している状態での多点環境モニタリングを行う。測定項目は温度、湿度、風向、風速、光量子量、CO_2 濃度などで、栽培室内における各項目の水平的及び垂直的な環境分布をイチゴの栽培期間を通じて連続的に記録する。また、イチゴの生育状況については果実重量などを測定し、栽培棚の各場所での環境データとイチゴの生育状況との相互関係について解析する。

なお、本課題では北海三共株式会社より非組換え体イチゴ苗及び遺伝子組換えイチゴ苗の提供を受けて試験を行う。

②イチゴ群落の光合成・蒸散特性の解明（鹿島建設株式会社、国立大学法人千葉大学）

小型チャンバーを用いた各種環境条件におけるイチゴ個体の光合成・蒸散測定試験を継続して行う。平成１９年度は光環境、温湿度環境に加えて、CO_2 環境が光合成・蒸散作用に与える影響を解明するための測定を行う。また、産総研・北海道センター閉鎖型遺伝子組換え植物工場において行われる環境モニタリングデータから栽培室内のイチゴ群落の光合成量と蒸散量を把握する。これらのデータをもとにイチゴ群落の光合成・蒸散モデルの構築について検討を行う。なお、本課題では北海三共株式会社より非組換え体イチゴ苗及び遺伝子組換えイチゴ苗の提供を受けて試験を行う。

③栽培環境シミュレーション技術の開発（鹿島建設株式会社）

イチゴ群落の光合成・蒸散作用を反映した栽培室の環境シミュレーション技術を構築するための第一段階として、独立行政法人産業技術総合研究所・北海道センターの閉鎖型遺伝子組換え工場における植物なしの条件での気流分布・温度分布の計算を CFD（数値流体力学、Computational Fluid Dynamics）を用いて実施し、多点環境モニタリング結果と比較することにより、植物以外の環境構成要素（栽培棚・照明など）に関連する計算モデルの精度を確認する。

３）「トータルシステムの構築と検証」（研究課題①～③）

②遺伝子組換え体拡散防止技術の確立（鹿島建設株式会社）

生産施設規模に応じた最適な排水処理システムの検討を行うためには、処理対象となる排水の量と質について明らかにする必要がある。そこで、今年度は水耕栽培に伴う排水の水量と水質の調査を行う。水質の分析項目としては、ｐH、温度、電気伝導度、硝酸イオン、 アンモニウムイオン、有機態窒素、リン酸イオンなどのほか、懸濁物質、全蒸発残留物、BOD、COD、TOC、粘性度などである。

４－２ 組換えレンギョウ等による高機能性成分生産及び閉鎖系での栽培システム構築の開発

１）ゴマリグナン生産能を持つ組換え植物の創出

①ゴマリグナン生合成遺伝子の同定（財団法人サントリー生物有機科学研究所）

平成１８年度に作製したゴマ種子や吸水種子のcDNA ライブラリーを活用し、リグナン類生合成系酵素遺伝子の同定を目指す。
以上をもって本課題の中間目標のゴマリグナン生合成遺伝子の同定を達成する予定である。

②ゴマリグナン生産組換え植物の作製
（財団法人サントリー生物有機科学研究所、サントリー株式会社先進コア技術研究所）
平成１８年度に、レンギョウやヤマトレンギョウのカルス化、遺伝子導入、再分化条件を決定し、ピノレジノールをセコイソラリシレジノールへ変換する酵素、PLR の RNAi ベクターを構築して導入した組換えレンギョウを構築し、現在育成中である。この組換え体で実際に PLR の発現が抑制されているかを調べ、PLR 抑制の影響を観察する。
PLR 抑制レンギョウに CYP81Q を導入した組換え体を作製し、CYP81Q の発現の有無や導入の影響を観察する。
　以上が中間目標の達成で詳細を述べる宿主植物チョウセンレンギョウへの組換え技術を完成し、製作した組換え植物体の評価の開始に繋がる。
上記研究過程でレンギョウを用いたリグナン類高生産性組換え体の作製が困難であると判明した場合に備え、2,6-bis(3,4-dimethylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane を生合成するシャクやピノレジノールを生産するオリーブなどの代替
物としての可能性を検討するために、リグナン化合物の種類や生成部位についての調査を行い、研究に適用可能と判断した場合、カルス化などの条件検討に着手する。
以上が最終目標のセリ科シャクの宿主植物活用技術の研究開発の開始である。
平成１８年度に中間目標の栄養循環装置の開発が終了したのが、同装置は直径 8cm 高さ 10cm の人工植物支持体を固定する機能を持たせ、潅木性の植物保持を可能としている。これを用いて、グロースチャンバーに設置し、宿主植物の挿し芽からの育苗乃至増殖を標準に、組換え植物体の育苗並びに挿し芽増殖の可能性を確認すると同時に、目的生産物の産生能力の経代挿し芽増殖による形質の継続性を確認する。
また、挿し芽の育成状況、すなわち根圏の状況を定量的に把握し（中性子による根の状況：東海村原子力研究所藤井副所長の協力を得る）、その効果を明確にする。これによって②人工植物支持体の評価と装置開発の中間目標を完了する。

２）閉鎖系インテリジェント栽培システムの開発（国立大学法人大阪大学大学院工学研究科）
平成１８年度の実施計画は、本課題を①閉鎖系インテリジェント栽培システムの開発と②人工植物支持体の評価と装置開発に分化していたが、人工植物支持体の評価と装置開発は根圏の中性子による評価を②ゴマリグナン生産組換え植物の作製の課題で実施するので、本課題は①閉鎖系インテリジェント栽培システムの開発をタスク課題とする。
平成１８年度に設置したファイトトロンを用いて、中間目標である宿主植物チョウセンレンギョウの代謝物であるピノレジノールを最も多く生産させる最適栽培条件の決定を行う。
栽培条件の検討は、チョウセンレンギョウの葉の収穫が可能になる植物の状況から開始し、一方は通常の初夏等の気候状況に設定し、他方は温度、湿度、照度並びに照射時間等の実験水準を設定し、葉の収穫量、メタボリック・プロファイリング分析による２次代謝物の生成量と組成を計測し、大きく効果するパラメータの検索を行う。
次いで、上述の様に根圏並びに茎葉部の条件変更を行い、寄与率の高いパラメータを得る。

４－３　組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発

＜組換えトマトでのミラクリン生産をさらに改良・高度化するための基盤技術開発＞

１）組換えトマトでのミラクリン生産をさらに改良・高度化するための基盤技術開発

①ミラクリンを遺伝的に安定して発現する組換えトマト作出技術の開発（国立大学法人筑波大学）

前年度にミラクリン遺伝子の内生プロモーターとターミネーター配列を単離し、作成したミラクリン遺伝子を導入した組換えトマトを T0 世代で特性解析する。十分なミラクリン発現量が得られた系統は、特定網室で栽培を行い、世代促進を行い、固定系統を獲得する。一方、前年度にマーカーフリーの組換えトマトを作成するためのベクターを導入した組換えトマトを特定網室で栽培し、その後代からミラクリン遺伝子のみを保有するマーカーフリー組換えトマトを選抜する。得られた系統のミラクリン発現量を測定し、十分量のミラクリン発現量が見られた系統については、世代促進を行い、固定系統を獲得する。さらに、前年度に引き続いて保有する現有のミラクリン発現組換えトマトを特定網室で栽培し、世代促進（６世代目：T5 世代まで）を行う。得られた固定系統を特定網室内で栽培し、第３節で行うミラクリン精製用の材料として供給する。前年度に引き続いて博士研究員１名を配置して実施する。

②植物工場向けの小型組換えトマトの開発（国立大学法人筑波大学）

平成１８年度に引き続いて、矮性トマト（マイクロトム）及び分けつ型加工トマトとミラクリンを発現する組換えトマト（立性型トマト）を交配し採種した F2 種子を播種し、植物工場向けの草型（小型、弱光下で生育可能）のミラクリン発現組換えトマトの候補系統を各１０系統選抜（F2 植物）し、F3 種子を採種する。F3 植物を栽培し、F4 種子を採種する。F4 植物を栽培し、目的の形質が安定して発現する候補系統を各３系統選抜する。また、ミラクリンを発現する組換えトマト（立性型トマト）で花成制御遺伝子の発現制御を行うことにより、ライフサイクルを制御するため、平成１８年に引き続き花成制御遺伝子のクローニング、発現コンストラクトの作成と、形質転換を行う。形質転換する植物から順次 T1 種子を採種する。T1 植物を栽培し、T2 種子を採種する。次いで T2 植物を栽培し、T3 種子を採種する。ここまでの栽培は主に特定網室で、遺伝子単離・解析と組換え体の作成は筑波大実験室で行う。大量の形質転換実験を行うため前年度に引き続いて実験補佐員１名を配置して実施する。

③植物工場におけるトマト高収量栽培技術の開発（社団法人植物情報物質研究センター）

平成１９年度は、二段化構造の装置、斜め誘引栽培樋や植物間照射光源などを改良し、冷陰極型蛍光灯（HEFL）や他の補助光源を活用して、光強度・照射方式・養液成分動態などについて、高収量を目指した条件検討を行う。閉鎖型の植物工場環境により適した形態や特性を持つトマト品種選択・育成法を検討し、立性型や矮性型トマト種について電気エネルギーコストや果実収量及び生産効率について評価検討する。組換え体栽培実験、研究指導に博士研究員１名を、栽培装置・制御装置の技術的改良に１名、栽培・運転試験実施に引き続いて実験補佐員２名を配置して実施する。組換え体を使った基礎データの蓄積実験は筑波大実験室を改修して設置する人工光栽培室で実施し、これらの基礎データを使った閉鎖系栽培のシステム化は社団法人植物情報物質研究センター内の施設と装置を使って実施する。

④組換えトマトがミラクリンを安定して高発現する栽培技術の開発（国立大学法人筑波大学）

平成１９年度は、前年度の根圏環境条件検討に引き続き、地上部環境の重要要素である光環境がミラクリン遺伝子組換えトマトの目的遺伝子並びに目的タンパク質発現状況に及ぼす影響を評価する。ここでは、平成１９年度に筑波大実験室を改修して設置する人工光栽培装置内において、光周期並びに光強度を組み合わせた各種条件下でミラクリン遺伝子組換えトマトの栽培を行い、トマト果実内でのミラクリン集積をモニタリングするとともに、その味覚修飾活性を測定する。同時に、育苗時の光質環境について、植物工場での生産に適した矮化草姿に調節

する条件を検討する。加えて、平成１８年度の成果として根圏ストレス環境によるトマト果実高糖度化がミラクリン味覚修飾活性を増大させた場合、上記光環境条件と根圏環境の相互作用を評価し、ミラクリンタンパク収量を最大とする環境条件を模索する。以上の研究により得られた基礎データは閉鎖系栽培のシステム化を実施する社団法人植物情報物質研究センターに提供する。なお、植物材料としては、平成１８年度のサブテーマ②で育成した系統のうち、本システムにおけるミラクリン生産に有望な系統を使用し、その評価も実施する。前年度に引き続いて実験補佐員１名を配置して実施する。

２）組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発の推進委員会

本プロジェクトの開始、及び年度の終盤に委員会を開催し、状況報告やより良い開発についての指導や助言を仰ぐ。

＜組換えトマトを利用したミラクリン製造の実用化を目指す研究開発＞

①ミラクリンを果実特異的に発現する技術の開発（株式会社インプランタイノベーションズ）

果実での発現強度を重視して選定した３個の遺伝子について、果実特異的発現が認められるか、RT-PCR により確認するとともに、これらの遺伝子のプロモーター配列をゲノムウォーキングにより単離する。単離した配列と GUS などのマーカー遺伝子を結合し、このコンストラクトを導入した遺伝子組換えマイクロトムを作製、弊社実験栽培室において栽培することにより、これらプロモーターの果実高発現性、また果実特異性の検証をマーカー遺伝子の発現解析により行う。一方、上記の遺伝子は必ずしも組織特異性が認められるわけではないので、これらの解析と並行して、果実組織特異的発現を重視した遺伝子３個の選定を行い、RT-PCR により確認する。果実での発現強度を重視して選定した３つの遺伝子に加え、果実組織特性を重視した遺伝子３個の合計６個の遺伝子を決定することを平成１９年度の目標とする。

最終目標として、現状の 35S プロモーターよりも高効率に発現するプロモーター系の構築を目指しているが、単離したプロモーター単独ではその効果が低い場合も想定される。その場合には、果実特異的プロモーターの働きを増強させるメカニズムの構築や、発現時期に違いがある遺伝子のプロモーター、他の植物プロモーターなども検討し、高発現プロモーター系を構築する。

②トマト果実からのミラクリン抽出・精製法の確立とその評価（株式会社インプランタイノベーションズ）

このプロジェクトの最終産物であるミラクリンたんぱく質の目標値の生産には①で記載した高い発現効率のみでは達成できず、高い抽出方法と、高い精製方法の確立が不可欠となる。特定網室で栽培された組換えトマト原料が収穫できるまで、平成１８年度に引き続き、天然のミラクルフルーツや少量の組換えトマト原料を用いて、効率よくミラクリンを抽出・精製する技術の検討を、国立大学法人筑波大学において共同で行う。特に、トマトからミラクリンの抽出効率をあげるためにトマトの前処理方法の改良を行う。抽出液の前処理方法として hemicellulase や cellulase 酵素処理による細胞壁の破壊などを含めミラクリンの抽出効率をあげる方法を検討し、40%以上の抽出効率を目指す。また、濃縮の効率の問題を解決する一つの手段として、抽出液の濃縮操作が省略できる疎水性クロマトグラフィーの条件検討を行い、安定した 50%以上の回収率が可能な方法の確立を目指す。ミラクリン製造に際しては、トマト果実での発現量の増産と回収効率の改善により、実用化可能な回収量を確保することができるため、上記①と②はどちらも重要な技術開発であるが、しかしどちらか一方が大きく飛躍することにより他方を相補できるものでもある。現時点においても、効率は低いながら回収は可能であるが、実用化可能な回収量を確保するには、大量の原料から効率よくミラクリンを抽出・精製する技術の確立が必要である。そのためには、実験レベルから実用レベルに対応するためにはどのような回収方法が必要となるのかという情報収集を行うとともに、実験としての抽出ではなく、製品化の際にクリアしなければならない基準に従った抽出方法とはどのようなものか、という情報収

集を行い、研究と実用化での間の問題点等の検討を開始する。

安全性評価に関して、具体的にミラクルフルーツから抽出したミラクリンと組換えトマトから抽出した粗抽出液を動物実験に供することにより、トマト由来ミラクリンに毒性が生じていないか、基礎的なデータの収集と比較検討を開始することを平成１９年度の目標とする。

４－４　有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発

＜プレニルトランスフェラーゼ遺伝子を利用した植物代謝工学技術の開発＞

１）発現カセット構築、植物への導入

①Orf2 に加え、新たに平成１８年度に取得した NovQ の野生型の酵素遺伝子を植物発現用のバイナリーベクターに組み込む。その際、NovQ に関しても野生型はサイトゾル局在であるため、NNCL によりプラスチド、ミトコンドリア等細胞内局在性のエンジニアリングを行う。また、クララ由来の N8DT については全長をバイナリーベクターに導入する。これにより、作成する予定のバイナリーコンストラクトは、従来の計画より４種類増える。また、変異酵素の中から好ましい活性が証明されたものができ次第、同様にして発現ベクターに組み込む。

②出来上がった発現コンストラクトを *Agrobactgerium* に導入し、引き続きミヤコグサの形質転換を継続するとともに、その進捗を見ながらミニトマトの形質転換を始める。

③組換え植物用の温室を運用し、遺伝子導入のためのホスト植物の育成と、形質転換植物育成を行う。形質転換ミヤコグサの育成を待って、早いものから順に代謝産物のチェックを開始する。

④さらにリソースを増やすために、プレニルフラボノイドの含量の高いマメ科植物クララから、N8DT に次ぐ更なるプレニルトランスフェラーゼ遺伝子をクローニングし、特異性の高いプレニル化に適した遺伝子を絞り込む。

⑤平成１９年度より新たに、プロジェクト内の他チーム（北興化学株式会社）との共同で、ダイズにこれらのプレニルトランスフェラーゼ遺伝子を導入する研究を開始する。即ち、植物内での発現を改変するために必要なシグナル配列を持つ遺伝子（国立大学法人京都大学）並びに野生型の遺伝子（国立大学法人東京大学）を北興化学工業株式会社に提供する。生育した形質転換植物を京都大学の組み換え温室でも栽培し、そのポリフェノール成分の変動を確認する。（国立大学法人京都大学）（分担：北興化学株式会社）

２）生産性の評価と生理活性の評価研究

①国立大学法人東京大学が酵素的に作成したプレニル化産物をアピ株式会社に提供し、ヒト大腸ガン SW480 細胞を用いたアッセイを継続するとともに、S-180 移植マウスを用いた抗腫瘍試験を行う。ミヤコグサの形質転換体の中に十分な大きさに生育するものがあった場合には、アピ株式会社へ提供し代謝産物の解析を開始する。（国立大学法人京都大学からアピ株式会社へ外注）

②抗腫瘍活性以外の生理活性として、MRSA などを用いた抗菌活性や、抗 NO 産生活性のスクリーニングを行い、有用性の期待される化合物の情報を蓄積する。（国立大学法人京都大学からアピ株式会社へ外注）

③強化プロポリスの新たなアイデアとして、プロポリスそのものをプレニルトランスフェラーゼで処理し、プレニル化ポリフェノールの含量を高めた試作品を作成する。これを用いて、従来品の生理活性と比較検討を行う。この実験で強い活性が認められた場合、活性本体である化合物の情報を国立大学法人東京大学に提供して酵素改変のターゲットとさせる。（国立大学法人京都大学からアピ株式会社へ外注）

④農業分野でのプレニル化化合物の有用性を検討するため、入手可能なプレニル化化合物を用いてキタネコブセンチュウに対する活性検定を行う。特に生理活性に対するプレニル基の寄与を検定するため、可能な限りプレニル基を持たない母核化合物との活性比較を行う。（分担：北海三共株式会社）

３）輸送工学植物の開発研究

①ATP-binding-cassette（ABC）蛋白質の膜局在を制御するため、MR12-T 以外のトノプラストアンカーとなる膜貫通ドメインをシロイヌナズナ MRP タンパク質の N-末端領域のスクリーニングから探索する。

②酵母 PDR5 とトノプラストアンカーとなる MR12-T を融合した輸送体遺伝子のコンストラクトを作成し、MR12T-PDR5 融合蛋白を植物に発現させ、局在の確認をする。

③PDF5 を基準として、プレニル化化合物を膜輸送できるより良い輸送体の遺伝子を植物及び酵母から見いだす。

４）優良株の選抜による生産性向上の研究

平成２０年より着手。

＜基質特異性や反応産物特異性､反応効率を改変した植物導入のための放線菌由来プレニルトランスフェラーゼの開発＞

１）発現カセット構築、植物への導入

①平成１８年度に引き続き、プレニルトランスフェラーゼ遺伝子に変異を導入した変異型酵素を作製する。

②プレニルトランスフェラーゼの変異型酵素のラショナルデザインをより正確に進めるために、構造既知の Orf2 以外の NovQ などの結晶化を目指すとともに、結晶が得られた場合には構造解析を行い、プレニル基受容体の基質特異性を決定しているアミノ酸残基を同定する。

③さらにリソースを増やすために、放線菌の他の株である furaquinocin 生産菌や BE-69785 生産菌などからプレニルトランスフェラーゼ遺伝子をクローニングし、大腸菌における発現系を構築する。また、ダイズの形質転換のため、野生型のプレニルトランスフェラーゼ遺伝子を大腸菌ベクターにクローニングして北興化学工業株式会社に提供する。

２）生産性の評価と生理活性の評価研究

①平成１８年度に引き続き、有用性の高い化合物のスクリーニングを進めるため、平成１８年度にプレニルトランスフェラーゼの作用によって生成が確認できたプレニル化化合物の精製と構造解析を完了する。また、活性評価依頼のため、平成１８年度に合成可能であることが判明したそれぞれのプレニル化化合物を少なくとも 10mg ずつ確保する。次いで、国立大学法人京都大学と協議してヒト胃ガン細胞 Kato III 及びヒト大腸ガン SE480 細胞を用いた増殖抑制活性評価や MRSA を用いた抗菌活性評価を外注先のアピ株式会社に依頼する。場合によっては、キタネコブセンチュウに対する活性検定については北海三共株式会社に依頼する。

②上記１）①の変異型酵素と③でクローニングされてくる furaquinocin 生産菌や BE-69785 生産菌由来の新たなプレニルトランスフェラーゼについても、様々な芳香族基質と反応させてプレニル化芳香族化合物を生産するか否か調べる。具体的な芳香族基質としては、フラボノイド類のナリンゲニン、ダイゼイン、ゲニステイン、クリシン、ガランギン、イソサクラネチンを、フェニルプロパノイドとしては、p-クマル酸とカフェ酸を、さらに新たに植物ポリケタイドとしてオリベトール、レスベラトロール、ピノシルビンを試すことにする。

５．【有用物質生産のための基盤植物作出技術の研究開発】

５－１　閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物の開発研究

１）「閉鎖型栽培施設に適した形質を有する基盤植物の開発」

①タバコを用いた基盤植物の開発

(独立行政法人産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門遺伝子転写制御研究グループ)

平成１８年度における形態形成に関与する遺伝子の探索をさらに促進するため、独立行政法人産業技術総合研究所で開発したキメラリプレッサーを利用した遺伝子サイレンシング法（CRES-T 法）によりタバコの遺伝子発現を効率的に操作し、多段式栽培が可能な節間が短い、葉数が多い等の閉鎖型植物生産施設に適合した基盤植物として形質を有するタバコの作出行う。同時に、タバコを用いた物質生産系では、葉が物質生産の場であること、また、生殖生長に移行すると基本的に葉の生育生長が停止することから、バイオマスを増加するために CRES-T 法を用いて、生殖生長へ移行しにくいもの、あるいは、移行しない植物体の作出を試みる。さらに、ダイズなど種子や果実を用いた物質生産系のための基盤植物の開発のため、光環境調節装置等を用いて生殖生長への移行期間が 20%短縮したタバコ植物の作出を行う。具体的には、前年度にマイクロアレイを用いて同定した形態形成に関与すると考えられる転写因子をキメラリプレッサーにして発現させたシロイヌナズナ形質転換植物体から、頂芽優勢が欠損した形質を持つ植物体を探索する。それらの原因遺伝子をタバコに導入することにより、節間の短いタバコの作出を行う。また、個々のキメラリプレッサー発現体から特定の糖鎖修飾が減少した形質転換体を検出するシステムの改良を進める。

②イネを用いた基盤植物の開発

（独立行政法人農業生物資源研究所、産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門遺伝子転写制御研究グループ）

平成１８年度に作成・種子増殖した系統を用いて、平成１８年度の予備的結果を受けて、より詳細な条件検討を行う。

ａ．光周性の弱いT65系統に開花遺伝子Hd1とEhd1をそれぞれ形質転換した系統を作製・導入した系統を確立し、 T65, T65+Hd1, T65+Ehd1, T65+Hd1+Ehd1系統の4系統を各種日長条件で生育させ、収量等の農業形質を調査し、高収量が安定に得ることができる環境条件を検討する。その結果を得てから、栽培環境をどう変化させるべきかを検討し、最適な条件を見いだすための解析を行う。効率的な開花期調節に加えて、光環境による、分げつ数、穂のサイズが、系統・栽培条件により改善する条件を見いだす。

ｂ．osdwarf4による直立葉変異を持つTos17系統を用いて、親品種日本晴との人工環境下での栽培状況を粗植・密植条件下で比較検討する。平成１８年度に開始した日本晴での結果を検討した上で、変異体を利用した人工環境栽培に適した栽培条件の解析を進める。また、半矮性遺伝子sd1変異をもつTos17系統を譲与してもらい、種子を増殖する。その後、日本晴と比較する形で、sd1変異体の人工環境下での高肥料条件での農業形質を調査する。

ｃ．以上の開発研究のため、高強度赤色光半導体レーザー光源と青色光の LED 光源を併設した光環境調節装置を設計購入し、試験栽培を行う。また、栽培している光環境を詳細に計測する。

補足： 矮性イネ作成の意義と農業生物資源研究所の平成１８年度の成果について

本プロジェクトで農業生物資源研究所が担当する矮性イネの利用は、矮性変異一般を指しているわけでなく、1960年代に、高収量性イネの育種、いわゆる「みどりの革命」で利用された半矮性遺伝子sd1の利用で、人工環境下でも収量を下げずに（高施肥条件下で は、収量を挙げる効果も可能性がある）、省スペース化が図れる可能性が高いとの考えに基づくもの

である。担当研究グループは、イネ研究に長年携わっており、矮性変異で収量性が下がるという一般的な問題は、当然、把握している。多くの矮性変異体の中で、他の矮性変異に比べsd1変異体でが収量性をさげないのは、この変異は、栄養生長期のイネの葉の伸長に関わっているが、穂の生長にほとんど影響せず、穂のサイズに影響があまり出ないことが大きな理由である。詳細には、この遺伝子がGA合成酵素の一つをコードし、またこの遺伝子の発現は、栄養生長期のイネの葉でみられるが、穂では発現していないためである。

また、圃場で高施肥条件での高収量になるのは、通常のイネ品種が高施肥下で徒長し、穂のサイズにも影響が出たり、風で倒伏したりして、収量性が確保できないのに対し、sd1変異体は、高施肥下でも徒長せず、穂のサイズも影響されず、風につよいイネがつくれるからである。人工環境下でのsd1変異体の栽培でも、穂のサイズに関しては、高施肥下でよい影響がある程度期待でき、収量性への効果も興味深いと考えている。

③薬用植物を用いた基盤植物の開発

（独立行政法人医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター、産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門遺伝子転写制御研究グループ）

a. セリバオウレン及びオニゲシ形質転換体の作出

前年度までに確立した不定胚培養、培養植物体を材料としたセリバオウレン形質転換法を用い、シロイヌナズナで単離した根茎部の肥大及び根の増加を誘導するキメラ遺伝子を導入したセリバオウレン形質転換体を作出する。また、sGFP をレポーター遺伝子に用い、オニゲシ形質転換方法を確立する。

b. 閉鎖型植物生産施設におけるセリバオウレン及びオニゲシ水耕・養液栽培条件の検討

セリバオウレン野生型植物を材料に、形質改変植物栽培のための基礎データとして、閉鎖型植物生産施設での水耕・養液栽培条件を検討し、植物の生育・収量について土耕栽培との比較を行う。また、オニゲシ野生型植物を材料に、同様に水耕・養液栽培条件を検討する。

c .セリバオウレン及びオニゲシに含まれるアルカロイド分析方法の最適化

アルカロイド組成・含量の変化をより詳細に検討するため、LC及びLC-MS法による分析方法を確立する。

２）「植物型糖鎖修飾抑制基盤植物の開発」

①植物ウイルスベクターを用いた糖鎖修飾抑制技術の開発及びその評価

（独立行政法人産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門植物分子工学研究グループ）

平成１８年度に引き続き、各種植物より植物型糖鎖修飾関連遺伝子の単離を進め、単離した遺伝子を順次 CMV ベクター等の植物ウイルスベクターに組込み抑制用ベクターを構築する。抑制用ベクターを *N.benthamiana* に接種し、植物型糖鎖修飾の抑制を試みる。抑制程度は MALDI-TOF-MS による糖鎖構造解析により評価する。また、平成１８年度にフコース付加抑制効果の認められた抑制用ベクターについて、より抑制程度の高い遺伝子配列の探索等を行い改良を加え、その効果の向上を図る。一方、モデル蛋白質であるマウスモノクローナル抗体生産植物体作出のためのマウスモノクローナル抗体の作成を進め、抗体遺伝子の単離に着手する。

②遺伝子組換え植物における植物型糖鎖修飾抑制技術の開発及びその評価

（独立行政法人産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門植物分子工学研究グループ及び遺伝子転写制御研究グループ）

平成１８年度に形質転換した遺伝子組換え植物体について糖鎖構造解析を行い、植物型糖鎖修飾抑制効果を検討する。また、新たに遺伝子抑制用ベクターの構築を行い、アグロバクテリウム法による形質転換により順次遺伝子組換えタバコ植物体を得る。得られた植物体について、植物型糖鎖修飾抑制効果について①と同様に MALDI-TOF-MS による糖鎖構造解析により評価する。また、キメラリプレッサーによって糖鎖修飾が抑制された植物体の探索を行うため、個々のキメラリプレッサーを発現するシロイヌナズナ植物体を順次作成し、その糖鎖構造の解析に着手する。

③植物型糖鎖修飾を有する糖蛋白質の除去技術の開発

（独立行政法人産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門植物分子工学研究グループ）

平成１８年度から引き続き抗原用糖鎖等の調製を行う。市販の植物生産糖蛋白質について、エキソグリコシダーゼ処理、エンドグリコシダーゼ処理、レクチンカラムによる精製等を組合せ、糖鎖等の調製を行う。調製した糖鎖等を用いα-1,3-フコース、β-1,2-キシロース構造に特異的なモノクローナル抗体の作製に着手する。抗体と植物型糖鎖との結合能は、平成１９年度購入予定である生体分子相互作用解析装置（Biacore）により植物型糖鎖を固定化したセンサーチップを用いること等で評価し、良好な抗体を取得する。

④単一な糖鎖構造を付加するためのシステム開発

（国立大学法人大阪大学生物工学国際交流センター及び独立行政法人産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門植物分子工学研究グループ）

タバコから、マンノシダーゼ遺伝子・アセチルグルコサミン遺伝子をクローン化し、機能確定を完了する。

タバコあるいはその他生物種のマンノシダーゼ遺伝子を導入した植物を30個体作出し、マンノシダーゼ活性が20%上昇した個体を5個体取得する。

アセチルグルコサミン遺伝子発現抑制のための組換え候補株を30個体作出する。

３）「有用物質高効率生産のための組換え植物作出及び閉鎖型人工環境制御下での栽培技術開発」（研究課題①～④）

①イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発

（日本製紙株式会社森林科学研究所、独立行政法人産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門植物分子工学研究グループ）

詳細は、主体となる研究開発テーマ内にて記載。

②ウイルスベクターを用いた高効率発現システムの開発

（ホクレン農業協同組合連合会グリーンバイオ研究所、独立行政法人産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門植物分子工学研究グループ）

詳細は、主体となる研究開発テーマ内にて記載。

③高機能性物質生産イチゴに関する技術開発

（北海三共株式会社農薬科学研究所、鹿島建設株式会社、独立行政法人産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門植物分子工学研究グループ）

詳細は、主体となる研究開発テーマ内にて記載。

④組換えジャガイモを利用した家畜用経口ワクチン素材の開発

（社団法人北里研究所生物製剤研究所、独立行政法人産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門植物分子工学研究グループ）

詳細は、主体となる研究開発テーマ内にて記載。

５－２　植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発

１）タバコ植物中でのプロリン水酸化酵素の制御による植物特異的なO－結合糖鎖付加抑制法の開発（国立大学法人九州大学）

①-（ｂ）平成１９年度には、平成１８年度に調製したスポラミン発現遺伝子組換えタバコの、約1kgの葉と約200gの種子からの、スポラミン精製を完了する。次いで精製したスポラミンへの糖鎖付加割合と付加された糖鎖を同定、定量することにより、成熟葉と種子のうち、どちらの組織が糖鎖付加活性が低いか、及び各組織での糖鎖付加の程度を明らかにする。

②-（ｂ）平成１８年度末迄にクローン化している２種の１型プロリン水酸化酵素と４種の２型プロリン水酸化酵素の活性サブユニットcDNA、及び平成１８年度末までに調製しているこれ

らのタンパク質に対するするポリクローナル抗体を用い、これら遺伝子と発現産物のタバコの各組織における発現を解析する。次いで葉と種子で発現が認められた遺伝子について、それらの器官での発現の抑制を、RNAi 法、不活性変異体の過剰発現法等を用いることにより図ってゆく。併せて、動物プロリン水酸化酵素と同様に、植物のプロリン水酸化酵素にも活性の調節サブユニットが存在するか、タバコ培養細胞を用いて検討を開始し、調節サブユニットの存在が示唆される場合には、活性の人工制御に利用するためにその調節サブユニットの同定を進める。

③－（ａ）植物特異的な単独に存在するプロリン残基への糖鎖付加モチーフを有する有用タンパク質が植物細胞中で糖鎖付加を受けるかの検討を行うために、平成１８年度に作成したこれらと GFP との融合タンパク質コンストラクトをタバコ培養細胞に発現させることにより、これらに植物特異的な糖鎖付加が起こり得るかについて、電気泳動上の移動度を指標に検討を行う。その結果、細胞レベルで糖鎖付加を受ける可能性があると推定されたタンパク質が認められた場合、それらの糖鎖付加候補サイトに変異を導入したものの解析を行うことにより、糖鎖付加の可能性について更に正確な情報を得るとともに、これらタンパク質への糖鎖付加の確認を行う為に、形質転換タバコ細胞からの発現タンパク質の精製条件の検討を開始する。併せて、これらのコンストラクトのタバコ植物体への導入を開始する。

２）連続したプロリン残基からなる植物特異的Ｏ－結合糖鎖付加配列モチーフを持つ有用タンパク質のモチーフ破壊による修飾回避法の開発（国立大学法人九州大学）

①-（ａ）平成１９年度には、平成１８年度に行った、タバコ培養細胞で発現させた、連続したプロリン残基をもつ変異を導入したモデルタンパク質誘導体に付加されている糖鎖の、糖鎖付加部位、糖組成と構造の解析を更に進めるとともに、更に配列を変更した変異体の解析を進めることにより、このモチーフ同定を完了させる。

①-（ｂ）次いで、このモチーフを持つヒトのサイトカイン／増殖因子等の有用タンパク質を、上記の単独のプロリン残基を持つものの場合と同様に検索し、これらを植物細胞及び植物体で発現させた場合に植物特異的な糖鎖付加を受けるか検討するための準備を始める。

３）植物由来のセリン残基への糖転移酵素の網羅的同定とその抑制による O－結合糖鎖付加抑制法の開発

①-（ｂ）平成１９年度においては、平成１８年度に作製した、セリン残基への糖転移酵素候補遺伝子に対応する cDNA の、酵母での発現のためのベクターを導入した酵母細胞を用い、植物由来のセリン残基への糖転移酵素の同定を進めてゆくとともに、候補遺伝子を破壊したシロイヌナズナの形質の解析も進めてゆく。

平成１９年度においても、平成１８年度に引き続き、アラビノガラクタンが付加されたタンパク質を材料に、植物型糖鎖の構造解析技術の開発を進める。

５－３　ウイルスベクターを用いた高効率発現システムの開発

１）デュアルシステムの研究開発（国立大学法人北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター、国立大学法人北海道大学大学院農学研究院、独立行政法人産業技術総合研究所）

１）-1 遺伝子組換えウイルスベクターの構築とウイルスの混合接種

平成１８年度に構築した、ニューカッスル病ウイルス粒子タンパク質遺伝子にロイシンジッパー構造を付加した遺伝子を組み込んだ CMV ベクターと、補体成分１量体及び２量体にロイシンジッパー構造を付加した遺伝子を組み込んだ ClYVV ベクターにおいて、その感染性とこれら遺伝子発現安定性をタバコやマメ類等に接種して調査する。安定な遺伝子発現がこれらベクターで確認できれば、これらの単独接種と混合接種の感染力と増殖能力をタバコ等の植物で検定し、単独感染と同時感染を確認する。また、安定・発現が十分でないようであれば、ベクターや発現遺

伝子を改良し、安定的に発現する組換えベクターを作出する。JUN-FOS 以外の分子会合システムについてもその探索、遺伝子クローニング、HN 蛋白質由来エピトープ、補体成分断片遺伝子との連結を行い、分子会合に適した系か否かを検討する。これと並行して HN 蛋白質由来エピトープ遺伝子、補体成分断片遺伝子をバキュロウイルス系ベクターに組み込み、組換えバキュロウイルスを作出する。2 種類のウイルスをそれぞれ昆虫細胞に感染させ各々の発現を確認した後、重感染により 2 種類の組換え蛋白質を同一細胞内で発現させ、その分子会合を確認する。植物での発現確認に使用する抗 HN 蛋白質、補体成分断片に対する抗体はバキュロウイルス系で作出、精製した組換え蛋白質により作製する。免疫増強成分として細菌の鞭毛蛋白質の遺伝子クローニングと発現も行う。

２）相乗効果システムの研究開発(ホクレン農業協同組合連合会、国立大学法人北海道大学大学院農学研究院、独立行政法人産業技術総合研究所)

２）-1 HC-Pro 遺伝子の機能解析と選抜

平成１８年度の結果から PVY の HC-Pro が CMV ベクター増殖に最適と判断したが、ClYVV や TuMV の HC-Pro の増殖促進効果がある程度見受けられたため、引き続き様々な条件検討を行う必要がある。タバコ等でこれらポティウイルスと GFP 等のマーカー遺伝子を持つ CMV ベクターを混合感染させて目的タンパクの発現量を経時的にモニターし、目的タンパク質の発現量を増大させるポティウイルスを選抜する。

２）-2 高発現用遺伝子組換え基盤植物の作成、組換え CMV の構築、並びにウイルスの増殖と相乗効果の解析

遺伝子組換え基盤植物における CMV の増殖・全身移行性を評価するため、CMV ベクターにマーカー遺伝子として、GFP 遺伝子のほかにも、薬剤（methotrexate、メソトレキセート）耐性 DHFR（dehydrofolate reductase）遺伝子を導入して、組換え CMV ベクター（CMV-DHFR ベクター）を作出する。更にこれらベクターのマーカーの発現安定性を調べて、ベクターの増殖性や移行性の評価に適当なベクターを選ぶ。

植物発現用遺伝子を構築した CMV ベクターの増殖に効果がある HC-Pro 遺伝子を用いて、タバコへの形質転換操作を行い、HC-Pro 遺伝子導入タバコを作成する。これら植物体において、HC-Pro の発現解析を開始する。

３）非拡散システムの研究開発（ホクレン農業協同組合連合会、国立大学法人北海道大学大学院農学研究院、独立行政法人産業技術総合研究所）

３）-1 組換えウイルスベクターの構築と接種

平成１８年度に作成した両改変ウイルスベクター（3a-ClYVV ベクター、Δ3aCMV ベクター）の感染性をタバコやマメ類等に接種して確認する。感染力があれば、遺伝子保持能力と安定性、増殖性、病原性をタバコ等に接種して評価する。ベクターとしての評価をクリアーできたなら、タバコ等に混合接種する。ここで Δ3aCMV ベクターの増殖と全身移行を調べる。

３）-2 非拡散用遺伝子組換え基盤植物の作出と非拡散システムの解析

平成１８年度に、非拡散用遺伝子組換え基盤植物を作成するために、構築した植物発現用 CMV 3a 遺伝子について、タバコへの形質転換操作を行い、CMV 3a 発現タバコを作成し、非拡散システムのための基本技術を確立する。

５－４　高効率物質生産に寄与する多重遺伝子発現と転写翻訳系改変に関する研究開発

１）高精度・高性能な導入遺伝子発現効率評価系の構築

多色発光レポーターに関する研究開発を重点的に行う。特に、ハイスループットで正確な遺伝子発現定量を目的とした、形質転換植物体における各レポーター遺伝子発現時の波長特性データの収集に加え、一過性遺伝子導入時の発現パターン特性について詳しく検討する。植物種あるいは細胞種による差異についても調査する。

２）高効率多重遺伝子発現が可能となる新規介在配列の創製

平成１８年度に見出した高効率翻訳に寄与する介在配列の特徴付けを行うとともに、植物ウイルス由来配列を中心として、引き続き多重遺伝子発現に寄与する新規介在配列を探索する。既に見出した介在配列の特徴付けとしては、形質転換植物（シロイヌナズナ、タバコ）による IRES 活性評価と、一過性発現系による植物種特異性の調査を実施する。新規介在配列の探索には主に一過性発現系を用いる（これまでの実験結果では、遺伝子銃による一過性発現系による植物種特異性に関する評価結果は、形質転換植物体を用いた場合と良く一致することが判明している)。また、IRES 等介在配列の活性と、組織特異性、環境要因についても調査する。

３）導入遺伝子の高効率発現に関与する因子の同定と利用

シロイヌナズナを用いて crTMV-IRES 依存的翻訳制御に関与する遺伝子変異のスクリーニングを実施し、優良な変異体を２ないし３同定する。一方、平成１８年度に得られた原因遺伝子候補（劣勢ミスセンス変異）の作用が確認された場合、高効率外来遺伝子発現への応用の可能性を探索する目的で、タバコ、トマトなどの相同遺伝子を取得し、当該遺伝子の RNAi 法により外来遺伝子発現の向上効果についての検証を試みる。

４）多重遺伝子発現系の実用化試験

抗体分子等の発現レベル定量が比較的簡便なタンパク質、あるいはサイレンシングサプレッサー等の機能発現による評価が可能な多重遺伝子を発現させるコンストラクトを作成し、一過性発現系にてそれらの発現を確認した後、シロイヌナズナとタバコの形質転換植物体を作成する。また、２）と関連して、最大６種程度の ORF を独立に翻訳させることが可能なコンストラクトの作成にも着手する。

６.【植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発に関する総合調査研究】

①関連情報の調査・収集・分析

ａ. 組換え植物体による有用物質生産に関する最新技術動向

平成１８年度に実施した文献・Web 調査等による“定点観測的”情報収集に加え、企業へのヒアリング及びアンケートを実施し、PMP 産業及び技術開発動向を把握する。また、開発側による市場投入までの費用･時間の目算､及び開発側が抱える手続き上の課題･不安を探る。

ｂ. 組換え植物体で生産される有用物質関連の市場動向

PMP の候補である有用物質の需要及び市場規模の把握、及び特定ワクチンの製造コストについて、従来法と PMP 法で比較する。

ｃ. 上記ａ及びｂに関する海外企業の動向

平成１８年度に実施した文献・Web 調査等による“定点観測的”情報収集に加え、海外の有力企業・大学にヒアリングを実施し、PMP 産業動向を整理する。

ｄ. 上記ａ及びｂに関する技術以外の重要課題の国際動向

平成１８年度の調査結果を基に､欧米のガイドライン管理機関､州政府及び国内の有識者に､

PMP 関連の法規制についてヒアリングを行う。

②広報、成果普及活動

専門誌、新聞、雑誌等の広報媒体への発表を随時行うとともに、パンフレットの作成、関係イベントへの参加等を行う。関係実施企業による関連の広報活動も奨励する。

別添２

「８－２－３　成果普及体制」で記載した成果発表等の件数の内訳を示す。ここでは、便宜上以下の項目に分けて内訳を示す。

（１）事業全体に関する成果発表：

本事業の全体概要および、「遺伝子組換え植物工場」というコンセプトに関するもの。

（２）個別技術に関する成果発表：

本文中３章～６章「表. 特許・論文等件数」としてまとめた個別技術の成果発表等（過去３ 年分）と対応したもの。

３－１「イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発」
３－２「組換えジャガイモを利用した家畜用経口ワクチン素材の開発」
３－３「高機能性物質生産ダイズに関する技術開発」
３－４「レタスによるワクチン成分生産技術開発」
３－５「医・農・工融合によるヒトチオレドキシン１産生レタスの生産技術の開発」
４－１「高機能性物質生産イチゴに関する技術開発」
４－２「組換えレンギョウ等による高機能性成分生産及び閉鎖系での栽培システム構築の開発」
４－３「組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発」
４－４「有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発」
５－１「閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物の開発研究」
５－２「植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発」
５－３「ウイルスベクターを用いた高効率発現システムの開発」
５－４「高効率物質生産に寄与する多重遺伝子発現と転写翻訳系改変に関する研究開発」
６.「植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発に関する総合調査研究」

（1）事業全体に関する成果発表：

１．特許（出願済み）　０件

２．論文（査読あり）　０件

３．論文（査読なし）、総説、著書　等　３件

１．安野理恵・松村健：「遺伝子組換え植物工場」月刊 BIO INDUSTRY　24（２）：92～99、２００８
２．後藤英司：「遺伝子組換え植物工場を用いた高付加価値物質の生産」SHITA REPORT 25：1-10．2008
３．後藤英司：特集企画「たべる医薬の開発－遺伝子組換え植物工場による高付加価値作物の生産－」月刊バイオインダストリー．2009 年１月号．2008※１
※１：以下の７論文で構成。「植物ウイルスベクターの開発」「植物の０型糖鎖修飾制御技術」「組換えレタスによるブタ浮腫病ワクチンの生産」「アルツハイマー病ワクチンダイズの開発」「プレニル化合物生産植物の開発」「イネ植物工場」「イチゴ植物工場」

４．学会発表（国内）　２４件　うち招待講演　１９件

１．安野理恵、田林紀子、加賀谷羽衣子、杉本千尋、松村健：「ヒトアディポネクチン遺伝子組換え植物の作出と機能解析 」，第 30 回日本分子生物学会年会、２００７年１２月 11 日
２．福澤徳穂、田林紀子、一町田紀子、澤田石一之、山上紗矢佳、松村健、片岡千和：「組換えタバコによる抗ダイオキシン単一鎖抗体の生産技術の開発」第 30 回日本分子生物学会年会、２００７年１２月１１日
３.松村健､安野理恵､田林紀子:｢Plant factory system for transgenic plants producing useful materials｣日本生態工学会 2007、２００７年１２月１１日
４．安野理恵、田林紀子、松村健：「Strawberry vein banding virus promoter のイチゴにおける発現解析」日本ウィルス学会学術集会、２００７年１０月２１日―２３日
５．田林紀子、伊藤亮、安野理恵、松村健：「組換えイチゴによる有用タンパク質生産」日本生物工学会大会 2006、２００年９月１３日
６．松村　健「完全人工制御型植物工場と照明技術」アグロ・イノベーションカンファレンス 2008，２００８年７月１７日
７．福澤　徳穂・松村　健「閉鎖型遺伝子組換え植物工場」アグリフォトニクス講演会－光が拓く新しい農業－，２００８年７月１１日
８．松村　健「完全密閉型遺伝子組換え植物工場施設」経産省ランチョンセミナー，２００８年４月１５日
９．松村　健「産業技術総合研究所における植物バイオ研究について」日本冷凍空調学会，２００８年１月２３日
１０．松村　健「植物バイオ研究と産業化について」バイオ政策研修、２００７年１１

月３０日

１１．松村　健「有用物質生産遺伝子組換え植物工場」2007 年度生態工学会定例シンポジウム、２００７年１１月９日

１２．松村　健「植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発プロジェクト」第 24 回バイオテクノロジーシンポジュウム，　２００６年１１月２１日

１３．松村　健「植物バイオ研究と産業化について」経済産業省研修、２００６年１１月１７日

１４．松村　健　「遺伝子組換え植物による物質生産技術開発」日本農芸化学会 2006 年度大会、２００６年３月２６日

１５．松村　健「閉鎖型システムを用いた遺伝子組換え植物による有用物質生産」SHITA シンポジウム、２００６年１月１８日

１６．後藤英司：「植物工場を用いた遺伝子組換え植物による医療用原材料生産」九州大学大学院理学研究院セミナー、２００６年６月１５日

１７．後藤英司：「完全制御型植物工場の課題と展望について」第４回植物バイオ新産業創出検討会（産総研北海道センター）、２００６年８月２２日

１８．後藤英司：「植物生産における人工光利用の現状と展望」第44回農業電化研究会特別講演、２００６年１０月１２日

１９．後藤英司：「植物工場事業化における問題点」幌延地圏環境研究所学術講演会、２００７年３月６日

２０．後藤英司：「光と植物生産業　－苗生産から医療用原材料生産まで－」アグリフォトニクス講演会　－光が拓く新しい農業－、２００７年６月２２日

２１．後藤英司：「次世代型植物工場を用いた医療用原材料・機能性食品の生産」平成19年度第1回ちばバイオクラスター交流会、２００７年１０月２９日

２２．後藤英司：「遺伝子組換え植物工場を用いた高付加価値物質の生産」第18回SHITA シンポジウム、２００８年１月２５日

２３．後藤英司・石神靖弘：「閉鎖系温室および特定網室に必要な環境制御と今後の施設構築」学術会議公開シンポジウム「遺伝子組換え作物実験施設の環境構築」２００８年５月８日

２４．後藤英司：「有用物質生産のための閉鎖系植物栽培施設」アグロ・イノベーション２００８、２００８年７月１６日

５．学会発表（国際）　５件　うち招待講演 ４件

１．安野理恵、宮崎綾子、恒光裕、田林紀子、松村健：Expression of the capsid protein of porcine astrovirus　in transgenic plants、Plant-Based Vaccines & Antibodies 2007 Italy、２００７年６月

２．松村　健：Production of Pharmaceutucls in Transgenic Plants, CEAC/BIO5 Special Seminar、２００６年１２月６日

３．E. Goto：「Plant production under artificial lighting」National Institute of Highland Agriculture (NIHA)　Special Seminar、２００６年８月２９日

４．E. Goto：「Environmental Control for Food Crop and Medicinal Plant Production in a Closed System」CEAC/BIO5　Special Seminar「Medical Molecular Farming Under Controlled Environments」、２００６年１２月６日

５. E. Goto :「Environmental control for production of valuable materials by using plants in closed plant production systems」国際シンポジウム「知能化植物生産システムに関連する基礎・応用科学」、２００８年９月９日

６. プレス発表　２０件

１.「特集　エレクトロニクスで農業革命/第１部〈注目が集まるワケ〉食の安全・安心を追い風に、成長軌道描く植物工場」日経エレクトロニクス2008.2月号

２.「イチゴやイモが医薬品を生産！世界初の完全閉鎖型植物工場」週刊ダイヤモンド 2007.10 月号

３.「特集　新しい農業・植物工場のゆくえ」発明 2007.6 月号

４.「完全密閉型遺伝子組換え植物工場で医薬品原料を生産」PHARM TECH JAPAN 2007.6 月号

５.「ワクチン原料のジャガイモなど栽培完全密閉型の GM 植物工場稼動へ」農業経営者 2007.5 月号

６.「密閉型遺伝子組換え工場が完成。遺伝子組換えジャガイモの実用化研究も」ポテカル 2007.3 月号

７.「遺伝子組換え植物工場が稼動　医薬品原料の生産を開始」Bionics 2007.3 月号

８.「工場野菜の真実-クスリを生産する次世代植物工場」日経ﾄﾚﾝﾃﾞｨ 2007.2 月号

９.「新連載『うちの研究室来る？』第１回産総研北海道センター」BTJ ｼﾞｬｰﾅﾙ 2007.1 月

１０.「産総研、完全閉鎖系組換え植物工場の施設竣工、植物生産医薬品の評価始まる」日経バイオテク, 2007 年 1 月 29 日

１１.「農業は日本を救うか。植物工場の行方」予測エイジ, 2006.7 月号

１２.「密閉型遺伝子組換え植物工場システムの開発」AIST today : ７ (8) : 14～15

１３.「ジャガイモ水耕栽培に成功」北海道新聞、２００８年１月２９日

１４.「Good design award 2007 新領域デザイン部門　完全密閉型植物工場」朝日新聞, ２００７年１１月２７日

１５.「産総研の『密閉型遺伝子組換え植物工場』技術の粋を集める」日刊工業新聞、２００７年５月２８日

１６.「遺伝子組換え植物工場　鹿島、産総研に引渡し」日本経済新聞、２００７年４月１６日

１７.「GM 作物栽培工場が稼動」読朝新聞、２００７年２月２日

１８.「完全密閉型植物工場が完成」世界日報、２００７年１月１６」日

１９.「遺伝子組み換え密閉型工場完成」北海道新聞、２００７年１月１１日

２０.「医薬製剤原料生産のための完全密閉型組換え植物工場」ＨＢＣ北海道放送、２００７年１月１０日

７. 受賞　１件

１.産総研･鹿島建設株式会社共同受賞｢完全密閉型植物工場システム｣Good design award 2007 グッドデザイン金賞（経済産業大臣賞：新領域部門），２００７年１０月

８．その他（主催、共催）　７件

１.「植物工場を用いた高付加価値物質生産」日本植物細胞分子生物学会大会シンポジウム、２００７年８月８日※２

※２：以下の４題で構成。

「植物工場の種類・特徴と将来展望」「人工光完全制御型植物工場の研究開発動向」「組換えレタスを用いたワクチン成分生産」「遺伝子組換え植物工場の開発」

２.「遺伝子組換え作物実験施設の環境構築」日本学術会議農業生産環境工学分科会主催公開シンポジウム、２００８年５月８日※３

※３：以下の４題で構成。

「閉鎖系温室および特定網室を用いた多様な組換え植物の特性評価実験」「閉鎖系温室および特定網室での遺伝子組換えイネ等の栽培試験」「閉鎖系温室および特定網室に必要な環境制御と今後の施設構築」「閉鎖系制御環境下における植物利用型有用物質生産」

３.「-特別展示- 完全閉鎖系栽培施設のモデル展示」アグロ・イノベーション2008、２００８年7月１６日～１８日

４.「平成１８年度バイオテクノロジーシンポジウム」、２００６年１１月２１日

５.「平成１９年度バイオテクノロジーシンポジウム」、２００７年１１月６日

６.「平成２０年度バイオテクノロジーシンポジウム」、２００８年１１月６日

７. 日本農芸化学会シンポジウム「遺伝子組換え技術を駆使した植物による有用物質生産の体系化」、２００９年３月予定※４

※４：NEDOプロジェクト「植物機能を活用した高度モノづくり基盤技術開発／植物の物質生産プロセス制御基盤技術開発」と合同で企画・開催の予定。

（２）個別技術に関する成果発表

論文、特許については、３～６章「表．特許・論文等件数」の総計。なお、表との対応は以下の通り。

・特許等件数：表の総計には、出願済みおよび年内出願予定のものを含む。

・論文数：表の総計には、論文（査読有り、出版済み）および論文（査読有り、審査中）を含む。

１．特許（出願済み）　２７件（年内出願予定８件を含む）

３－１「イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発」（株式会社朝日工業社、日本製紙株式会社、ロート製薬株式会社）　２件

１．特願２００７－２５３２８４，２００７年9月２７日出願、発明名称「メタルハライドランプ」、出願人「岩崎電気株式会社」

２．２００８年１２月出願予定、発明名称「組換えイネの栽培方法（仮題）」、出願人「日本製紙株式会社」

３－２「組換えジャガイモを利用した家畜用経口ワクチン素材の開発」（学校法人 北里研究所）　１件

１．特願２００８－２１００２１，２００８年8月１８日出願、発明名称「トリインフルエンザウイルス抗原及び経口投与で有効な粘膜アジュバントを併用したトリインフルエンザワクチンの追加免疫方法」、出願人「学校法人 北里研究所」

３－３「高機能性物質生産ダイズに関する技術開発」（北興化学工業株式会社、新菱冷熱工業株式会社）　４件

１．特願２００８－２１１３７７，２００８年8月２０日出願、発明名称「水耕栽培用局所加湿器」、出願人「新菱冷熱工業株式会社」

２．特願２００８－２１１３７８，２００８年8月２０日出願、発明名称「ダイズの栽培方法及び多段式ダイズ栽培装置」、出願人「新菱冷熱工業株式会社」

３．２００８年9月出願予定、発明名称「インゲンマメの種子貯蔵タンパク質アルセリンのプロモーターおよびその利用」、出願人「北興化学工業株式会社、（独）農業・食品産業技術総合研究機構」

４．２００８年１２月出願予定、発明名称「ワクチンを高蓄積する形質転換ダイズ植物およびその利用」、出願人「北興化学工業株式会社、（独）農業・食品産業技術総合研究機構、京都大学、弘前大学」

３－４「レタスによるワクチン成分生産技術開発」（出光興産株式会社、日本植生株式会社）　６件

１．特願２００７-１７４９１９，２００７年7月３日出願、発明名称「ブタ浮腫病ワクチン」、出願人「出光興産株式会社、奈良先端科学技術大学院大学、帯広畜産大学」

２．PCT/JP２００８／０５５５５０，２００８年3月２５日出願、発明名称「ブタ浮腫病ワクチン」、出願人「出光興産株式会社、奈良先端科学技術大学院大学、帯広畜産大学」
３．０８０１００２４０７（タイ），２００８年5月１５日出願、発明名称「ブタ浮腫病ワクチン」、出願人「出光興産株式会社、奈良先端科学技術大学院大学、帯広畜産大学」
４．特願２００８-１２０５７３，２００８年５月２日出願、発明名称「細菌毒素ワクチン」、出願人「出光興産株式会社、奈良先端科学技術大学院大学」
５．０９７１１８１１９（台湾），２００８年5月１６日出願、発明名称「ブタ浮腫病ワクチン」、出願人「出光興産株式会社、奈良先端科学技術大学院大学、帯広畜産大学」
６．P０８０１０２８９１（アルゼンチン），２００８年７月３日出願、発明名称「ブタ浮腫病ワクチン」、出願人「出光興産株式会社、奈良先端科学技術大学院大学、帯広畜産大学」

３－５「医・農・工融合によるヒトチオレドキシン１産生レタスの生産技術の開発」（国立大学法人　奈良先端科学技術大学院大学）　１件

１．特願２００８－０５２７０９，２００８年3月３日出願、発明名称「キク科植物葉緑体の形質転換用ベクター、ヒトチオレドキシン産生形質転換植物とその製造方法、並びにヒトチオレドキシン含有組成物」、出願人「国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学、国立大学法人京都大学」

4－1「高機能性物質生産イチゴに関する技術開発」（北海三共㈱、鹿島建設㈱）　2件

１．　２００８年１０月出願予定、発明名称「植物工場排水の花粉、種子等の除去、不活化方法およびその装置」、出願人「鹿島建設株式会社」
２．　２００８年１０月出願予定、発明名称「遺伝子組換え植物由来のアディポネクチンを含む経口用組成物」、出願人「北海三共株式会社」

４－３「組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発」（筑波大学，インプランタイノベーションズ）　３件

１．２００８年１０月出願予定、発明名称「組換え植物での目的タンパク質高蓄積技術」、出願人「筑波大学」
２．２００８年１０月出願予定、発明名称「甘味誘導物質ミラクリンの精製方法」、出願人「筑波大学」
３．２００８年１０月出願予定、発明名称「遺伝子組換えトマトの二段式栽培装置」、出願人「筑波大学」

４－４「有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発」（京都大学、東京大学）　３件

１．特願２００７－２１３１４５，２００７年8月１７日出願、発明名称「プレニルフ

ラボノイド、その製造方法、抗癌剤及び抗菌剤」、出願人「アピ株式会社、東京大学」
２．特願２００８−１９０１５９，２００８年７月２３日出願、発明名称「膜結合性プレニルトランスフェラーゼ」、出願人「京都大学、アピ株式会社」
３．特願２００８－２１４５６３，２００８年８月２２日出願、発明名称「抗生剤」、出願人「アピ株式会社、東京大学」

５－１「閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物の開発研究」（独立行政法人産業技術総合研究所、独立行政法人農業生物資源研究所、独立行政法人医薬基盤研究所、国立大学法人大阪大学）　３件

１．特願２００８−０６２１１３，２００８年３月１２日出願、発明名称「転写抑制ペプチド及びその遺伝子」、出願人「独立行政法人産業技術総合研究所」
２．特願２００８−２２２８８４，２００８年８月２９日出願、発明名称「矮小化形質転換植物および矮性化を誘導するための遺伝子」、出願人「独立行政法人産業技術総合研究所」
３．特願２００８－２２２９６１，２００８年８月３０日出願、発明名称「植物における糖鎖構造の改変方法及びその植物体」、出願人「独立行政法人産業技術総合研究所」

５－２「植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発」（国立大学法人九州大学：共同実施、独立行政法人産業技術総合研究所、学校法人君が淵学園崇城大学）　１件

１．特願２００６－２０４４２１２００６年７月２７日出願、PCT/JP２００６/３０４１４７、発明名称「ＵＤＰ－ラムノースの製造方法」、出願人「独立行政法人産業技術総合研究所」

５－３「ウイルスベクターを用いた高効率発現システムの開発」（ホクレン農業協同組合連合会）　１件

１．特願２００８－２０６４４６，２００８年８月８日出願、発明名称「非拡散植物ウイルスベクター」、出願人「独立行政法人産業技術総合研究所、ホクレン農業協同組合連合会、国立大学法人北海道大学」

２．論文（査読あり）　１９件（審査中８件含む）

３－１「イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発」（株式会社朝日工業社、日本製紙株式会社、ロート製薬株式会社）　５件

１．丸山真一、石神靖弘、後藤英司：「人工環境下における出穂後の限界日長より長い明期がイネの生育に及ぼす影響」、植物環境工学（審査中）
２．Nochi, T., Takagi, H., Yuki, Y., Yang, L., Masumura, T., Mejima, M., Nakanishi, U., Matsumura, A., Uozumi, A., Hiroi, T., Morita, S., Tanaka, K., Takaiwa, F.

and Kiyono, H. Rice-based mucosal vaccine as a global strategy for cold-chain- and needle-free vaccination. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 10986-10991, 2007

３.Nochi, T., Yuki, Y., Matsumura, A., Mejima, M., Terahara, K., Kim, DY., Fukuyama, S., Iwatsuki-Horimoto, K., Kawaoka, Y., Igarashi, O. and Kiyono, H. New generation of mucosal vaccine: Novel M cell specific carbohydrate-targeted vaccination is effective for the induction of antigen-specific immune responses. *J. Exp. Med.* 204. 2789-2796, 2007

４. Yuki, Y., Tokuhara, D., Nochi, T., Yasuda, H., Mejima, M., Kurokawa, S., Takahashi Y., Kataoka, N., Hagiwara, Y., Fujihashi, K., Takaiwa, F. and Kiyono, H. Oral MucoRice expressing double mutant cholera toxin A and B subunits induced the toxin specific neutralizing immunity. *J. Infect. Dis.*, (審査中)

５. Tokuhara, D., Yuki, Y., Nochi, T., Mejima, M., Kurokawa, S., Takahashi Y., Kataoka, N., Kodama, T., Honda, T., Takaiwa, F., Kiyono, H. Oral MucoRice CTB induce crossprotective antigen-specific secretory IgA provide an essential defence against V.cholera and enterotoxigenic E. coli. *J. Clin. Invest.*, (審査中)

３－４「レタスによるワクチン成分生産技術開発」（出光興産株式会社、日本植生株式会社）　４件

１. Shimizu T, Kawakami S, Sato T, Sasaki T, Higashide M, Hamabata T, Ohta T, Noda M. The serine 31 residue of the B subunit of Shiga toxin 2 Is essential for secretion in enterohemorrhagic *Escherichia coli.* Infect Immun 75: 2189-2200, 2007.

２. Shimizu T, Sato T, Kawakami S, Ohta T, Noda M, Hamabata T. Receptor affinity, stability and binding mode of Shiga toxins are determinants of toxicity. Microb Pathog 43:88-95, 2007.

３. Tsuyoshi Okayama, K. Okamura, and H. Murase: A Simulation Model for Heterologous Protein Production in Transgenic Lettuce. Environ. Control Biol. 46(3).2008

４. Tsuyoshi Okayama, Kenichi Okamura, Jai-Eok Park, Mirwan Ushada and Haruhiko Murase: Precision airflow control using a multi-fan for a plant factory. Environ. Control Biol. 46(3).2008

３－５「医・農・工融合によるヒトチオレドキシン１産生レタスの生産技術の開発」（国立大学法人　奈良先端科学技術大学院大学）　１件

１. Hirokazu Fukuda, Yu Uchida, Norihito Nakamichi, Effect of a Dark Pulse Under Continuous Red Light on the *Arabidopsis thaliana* Circadian Rhythm, Environment Control in Biology, 46 (2), 123-128, 2008

４－１「高機能性物質生産イチゴに関する技術開発」（北海三共㈱、鹿島建設㈱）２件

１．Yuta Miyazawa, Shoko Hikosaka, Takashi Aoki, Eiji Goto:「Effects of Light Conditions and Air Temperature on the Growth of Everbearing Strawberry During the Vegetative Stage」, Acta Horticulturae　（審査中）
２．Shoko Hikosaka, Kana Sasaki, Takashi Aoki and Eiji Goto:「Effects of in vitro Culture Methods During the Rooting Stage and Light Quality During the Seedling Stage on the Growth of Hydroponic Everbearing Strawberry」, Acta Horticulturae （審査中）

４－２「組換えレンギョウ等による高機能性成分生産及び閉鎖系での栽培システム構築の開発」（大阪大学大学院）１件

１．畑　直樹、岡澤敦司、森本絹世、小埜栄一郎、佐竹　炎、小林昭雄：レンギョウ緑枝挿しの発根に及ぼす IBA 浸漬処理、液肥施用、日長および光強度の影響．植物環境工学（審査中）

４－３「組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発」（筑波大学，インプランタイノベーションズ）　１件

１．Rym Fekih, Kana Miyata, Rim Nefissi, Hiroshi Ezura, Tsuyoshi Mizoguchi: Roles of Circadian Clock and Histone Methylation in Floral Repression. Advances in Botanical Research　（審査中）

４－４「有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発」（京都大学、東京大学）　２件

1.　Kanako Sasaki, Koji Mito, Kazuaki Ohara, Hirobumi Yamamoto, Kazufumi Yazaki: Cloning and characterization of naringenin 8-prenyltransferase, a flavonoid-specific prenyltransferase of *Sophora flavescens*. Plant Physiol., 146: 1075-1084. 2008.
2.　Takuto Kumano, Stephane B. Richard, Joseph P. Noel, Makoto Nishiyama, Tomohisa Kuzuyama: Chemoenzymatic syntheses of prenylated aromatic small molecules using *Streptomyces* prenyltransferases with relaxed substrate specificities. Bioorg. Med. Chem. 16: 8117-8126. 2008.

５－１「閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物の開発研究」（独立行政法人産業技術総合研究所、独立行政法人農業生物資源研究所、独立行政法人医薬基盤研究所、国立大学法人大阪大学）　１件

１．Miho Ikeda, Masaru Ohme-Takagi: Repressive activity of WUSCHEL regulates stem cell fate in shoot and floral meristems. Genes & Development（審査中）

５－２「植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発」（国立大学法人九州大学：共同実施、独立行政法人産業技術総合研究所、学校法人君が淵学園崇城大学）　１件

1．Takuji Oka, Tadashi Nemoto, Yoshifumi Jigami: Functional analysis of Arabidopsis thaliana RHM2/MUM4, a multidomain protein involved in UDP-D-glucose to UDP-L-rhamnose conversion. J. Biol. Chem. 282: 5389-403, 2007

５－４「高効率物質生産に寄与する多重遺伝子発現と転写翻訳系改変に関する研究開発」（横浜国立大学）　１件

1．Masataka Asada, GunAajavee Bayarmaa, Kengo Morohashi, Kazuyuki Hiratsuka: Expression and subcellular localization of pre-rRNA processing factor homologues in higher plants. Plant Biotechnol. 24: 301-306. 2007

３．論文（査読なし）、総説、著書　等　９件

３－３「高機能性物質生産ダイズに関する技術開発」（北興化学工業株式会社、新菱冷熱工業株式会社）　１件

１．寺川輝彦：「組換えダイズ作出技術の開発と有用物質生産への利用」、月刊BIOINDUSTRY、2009年1月号, 2008（印刷中）

３－４「レタスによるワクチン成分生産技術開発」（出光興産株式会社、日本植生株式会社）　１件

１．澤田和敏、松井健史、川本恵子、加藤晃、牧野壮一：ブタ浮腫病ワクチン生産レタスの開発. BIO INDUSTRY. 2009年1月号, 2008（印刷中）

4－1「高機能性物質生産イチゴに関する技術開発」（北海三共㈱、鹿島建設㈱）　1件

１．高砂裕之、彦坂晶子、田林紀子：「組換えイチゴによる有用物質生産と高効率システムの構築」月刊バイオインダストリー2009年1月号、2008（印刷中）

４－２「組換えレンギョウ等による高機能性成分生産及び閉鎖系での栽培システム構築の開発」（大阪大学大学院）　１件

１．畑　直樹、岡澤敦司、小林昭雄：食品中リグナンの摂取と機能–リグナン研究の最新動向–. 農業および園芸 83:649-656. 2008

４－４「有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発」（京都大学、東京大学）　３件

１．矢崎一史：「ポリフェノールを高機能化する酵素を特定」化学、63: 74. 2008

２．佐々木佳菜子、鶴丸優介、矢崎一史：「植物ポリフェノールの高機能化を司るプレニル化酵素」バイオサイエンスとインダストリー、66: 509-513. 2008

３．佐々木佳菜子、矢崎一史：「フラボノイドを高機能化する植物プレニル化酵素遺伝子の発見」Bio Industry、2009年1月号, 2008（印刷中）

５－２「植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発」（国立大学法人九州大学：共同実施、独立行政法人産業技術総合研究所、学校法人君が淵学園崇城大学）　３件

１．岡拓二: 植物の糖ヌクレオチド合成. 生物工学会誌 85:283,2007

２．陶山明子, 森口亮, 松岡健: 植物を用いた有用蛋白質生産の新技術　ーインターフェロンの収量と安定性を向上させるアラビノガラクタン糖鎖ー, 化学と生物　（印刷中）

３．森口亮, 陶山明子, 岡　拓二, 新間陽一, 松岡　健: 蛋白質への植物特異的O-結合型糖鎖修飾抑制技術開発への展望, 月刊バイオインダストリー、2009 年 1 月号, 2008（印刷中）

６.「植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発に関する総合調査研究」（バイオテクノロジー開発技術研究組合）　2件

１．小関喜久夫 :「植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発プロジェクト」バイオサイエンスとインダストリー、**64**：**702,2006**

２．小関喜久夫 :「地球温暖化を踏まえての植物機能利活用の新展開 —有用物質製造と炭素固定にかかわる革新技術—」、化学経済、**2007** 年 **2** 月号

４．学会発表（国内）　９４件、うち招待講演　１６件

３－１「イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発」（株式会社朝日工業社、日本製紙株式会社、ロート製薬株式会社）　２８件、うち招待講演８件

１．山田千晶、森峰彦、石神靖弘、後藤英司、磯野一智、本田重夫：「人工環境下における明期がイネの栄養成長および幼穂分化に及ぼす影響」日本生物環境工学会2007年創立記念大会、2007年6月25日—6月27日

２．丸山真一、石神靖弘、後藤英司、磯野一智、本田重夫：「工環境下の培養液濃度および明期がイネの出穂後の生育に及ぼす影響」日本生物環境工学会2007年創立記念大会、2007年6月25日—6月27日

３．宮永栄治、本田重夫、磯野一智、井川直彦、中島啓之、籠山宏、後藤英司、石神靖弘、田澤信二：「閉鎖型イネ栽培システムに関する研究（その１）試験用閉鎖型栽培室の検討と設備概要」2007年度日本建築学会大会（九州）学術講演会、2007年8月29日—8月31日

４．籠山宏、本田重夫、磯野一智、井川直彦、中島啓之、宮永栄治、後藤英司、石神靖弘、田澤信二：「閉鎖型イネ栽培システムに関する研究（その２）試験用閉鎖型栽培装置の空気環境と光環境の性能評価」2007年度日本建築学会大会（九州）学術講演会、2007年8月29日—8月31日

５．中島啓之、宮永栄治、籠山宏、磯野一智、加地隆、本田重夫、井川直彦、後藤英司、石神靖弘、田澤信二：「閉鎖型イネ栽培システムの構築及び性能評価」平成19年度空気調和・衛生工学会大会、2007年9月12日—9月14日

６．松浦将軍、後藤英司、石神靖弘、磯野一智、本田重夫：「光環境が生殖成長期のイ

ネの成育に及ぼす影響」日本農業気象学会2008年度全国大会、2008年3月20日―3月21日

７．中島啓之、鹿島光司、籠山　宏、本田重夫、磯野一智、後藤英司、石神靖弘：「閉鎖型イネ栽培室におけるイネ花粉の飛散挙動に関する研究」第26回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会、2008年4月15日―4月16日

８．中島啓之、鹿島光司、籠山宏、宮永栄治、本田重夫、磯野一智、後藤英司、石神靖弘：「閉鎖型イネ栽培システムにおけるイネ群落内環境の性能評価」平成20年度空気調和・衛生工学会大会、2008年8月27日―8月29日

９．山田千晶、石神靖弘、後藤英司、鹿島光司、中島啓之：「青色光を用いる短日処理がイネの花成に及ぼす影響」日本生物環境工学会2008年松山大会、2008年9月7日―9月11日

１０．中島啓之、籠山宏、宮永栄治、本田重夫、磯野一智、鹿島光司、後藤英司、石神靖弘：「閉鎖型イネ栽培システム　－試験用閉鎖型栽培室の構築と性能評価－」日本生物環境工学会2008年松山大会、2008年9月7日―9月11日

１１．田中麻美、石神靖弘、後藤英司、鹿島光司、中島啓之：「閉鎖型植物生産システムで栽培したイネの種子タンパク質の解析」日本生物環境工学会2008年松山大会、2008年9月7日―9月11日

１２．中島啓之、鹿島光司、本田重夫、籠山宏、磯野一智、後藤英司、石神靖弘：「閉鎖型イネ栽培システムに関する研究（その３）試験用閉鎖型栽培室のイネ花粉の飛散挙動」2008年度日本建築学会大会（中国）学術講演会、2008年9月18日―9月20日

１３．笠原さおり：「閉鎖系温室および特定網室での遺伝子組換えイネ等の栽培試験」：日本学術会議農業生産環境工学分科会主催公開シンポジウム「遺伝子組換え作物実験施設の環境構築」、2008年5月8日

１４．笠原さおり、 杉田　耕一、島田　照久：「組換えイネの水耕栽培について」第26回日本植物細胞分子生物学会（大阪）大会・シンポジウム、2008年9月1日-2日

１５．野地智法、幸義和、松村亜紀子、目島未央、寺原和孝、五十嵐脩、清野宏：「粘膜ワクチンの新世代：M 細胞標的型粘膜ワクチンは効果的に免疫応答を誘導する」第 44 回日本消化器免疫学会、2007 年 7 月 8 日-9 日

１６．清野宏：「MucoRice for the Development of New Generation Vaccine」第 28 回日本炎症・再生医学会、 2007 年 8 月 2 日-3 日

１７．清野宏：「MucoRice：コメ発現システムを応用した経口ワクチン開発」第 35 回日本臨床免疫学会、2007 年 10 月 19 日-20 日、

１８．清野宏：「植物を用いた経口ワクチン開発」第 55 回日本ウイルス学会、2007 年 10 月 21 日-23 日

１９．中西潮、清野宏：「経口ワクチン用ナチュラル・デリバリー・キャリアとしての遺伝子組換え米の有用性」第 25 回バイオテクノロジーシンポジウム、2007 年 11 月 6 日

２０．野地智法、幸義和、徳原大介、片岡伸浩、寺原和孝、五十嵐脩、清野宏：「New generation of *Clostridium botulinum* oral vaccine: Novel M cell-targeted vaccination effectively induces protective immunity against the botulinum toxin challenge」第 37 回日本免疫学会、2007 年 11 月 20 日-22 日

２１．幸義和、野地智法、清野宏：「Development of rice-based mucosal vaccine for needle- and cold-chain-free vaccination」第 37 回日本免疫学会、2007 年 11 月 20 日-22 日

２２．野地智法、幸義和、清野宏：「M cell-targeted and rice-based mucosal vaccine: a new global strategy for needle- and cold-chain-free vaccination」第 37 回日本免疫学会・シンポジウム、2007 年 11 月 20 日-22 日

２３．野地智法、幸義和、清野宏：「M 細胞標的型粘膜ワクチンによる効果的な粘膜感染症防御免疫の誘導」第 11 回日本ワクチン学会、2007 年 12 月 8 日-9 日

２４．幸義和、野地智法、清野宏：「コールドチェーンフリー経口ワクチンの開発」第 11 回日本ワクチン学会、2007 年 12 月 8 日-9 日

２５．清野宏：「粘膜免疫を基盤とした次世代ワクチン開発へ」第 145 回日本獣医学会、2008 年 3 月 28 日-30 日

２６．野地智法、清野宏：「M 細胞の免疫生物学的基礎解明とそれを基盤とした M 細胞標的型粘膜ワクチン開発」、日本食品免疫学会・シンポジウム、2008 年 5 月 13 日-14 日

２７．野地智法、清野宏、粘膜ワクチンによる粘膜感染症の予防法の確立、日本家畜臨床感染症シンポジウム、2008 年 6 月 19 日

２８．幸義和、徳原大介、野地智法、清野宏：「無毒化コレラ毒素 A 及びＢサブユニットを発現する遺伝子組換え米型経口ワクチンの開発」第 12 回日本ワクチン学会、2008 年 11 月 8　日-9 日

３－２「組換えジャガイモを利用した家畜用経口ワクチン素材の開発」（学校法人 北里研究所）　２件

１．三好幸宏、諏佐健太郎、姫野尚美、五反田亨（北里研）、伊藤亮（産総研＝共研先）：「経口投与型鶏インフルエンザワクチンの開発－組換え抗原およびアジュバントの評価－」第 146 回日本獣医学会 学術集会、平成２０年９月２４－２６日

２．田坂恭嗣、城真一郎、澄川奈津子、松村健（産総研＝共研先）、一町田紀子（ホクレン）：「閉鎖型植物工場におけるジャガイモの養液栽培技術の開発」園芸学会 平成２０年度秋季大会、平成２０年９月２７－２８日

３－３「高機能性物質生産ダイズに関する技術開発」（北興化学工業株式会社、新菱冷熱工業株式会社）　４件

１．横田昇平、澤田和美、小島洋志（新菱冷熱工業株式会社）：「人工環境下におけるダイズ栽培システムに関する研究」農業環境工学関連学会２００７年合同大会、2007 年 9 月 11 日—9 月 14 日

２．小島洋志、澤田和美、元山尚美、佐川美佳、横田昇平（新菱冷熱工業株式会社）：「人工環境下におけるダイズ栽培システムに関する研究－ダイズの栄養成長期の

成育環境－」2008 生態工学会年次大会、2008 年 6 月 19 日—6 月 20 日

３．澤田和美、馬田博貴、植田俊克、小島洋志、横田昇平（新菱冷熱工業株式会社）：「組換えダイズ栽培用閉鎖型植物生産施設の開発（第１報：施設概要と CFD による検討）」平成２０年度空気調和・衛生工学会大会、2008 年 8 月 27 日—8 月 29 日

４．元山尚美、小島洋志、横田昇平、澤田和美（新菱冷熱工業株式会社）：「人工環境下におけるダイズ栽培システムに関する研究－ダイズの収穫物に関する環境の影響—」日本生物環境工学会２００８年松山大会、2008 年 9 月 8 日—9 月 10 日

３－４「レタスによるワクチン成分生産技術開発」（出光興産株式会社、日本植生株式会社）　12 件、うち招待講演 4 件

１．澤田和敏：「組換えレタスを用いたブタ浮腫病ワクチン成分生産」日本植物細胞分子生物学会第。25 回大会、2007 年 8 月 7 日—8 月 9 日

２．松井健史、紀　美佐、澤田和敏、吉田和哉：「豚浮腫病ワクチン生産のためのレタス小胞輸送工学」日本植物細胞分子生物学会第 25 回大会、2007 年 8 月 7 日－8 月 9 日

３．浅尾浩史、徳田玲奈、澤田和敏：「レタスにおける導入遺伝子を高発現させるマイクロプロパゲーションシステムの確立」平成 19 年度園芸学会近畿支部奈良大会、2007 年 9 月 1 日

４．松井健史、紀　美佐、澤田和敏、加藤　晃、新名惇彦、吉田和哉：「植物工場に供する浮腫病ワクチン生産レタスの作製」第 59 回日本生物工学会、2007 年 9 月 25 日－9 月 27 日

５．澤田和敏：「植物工場を活用した家畜用ワクチン生産レタスの開発」平成 19 年度第 1 回ちばバイオクラスター交流会、2007 年 10 月 29 日

６．澤田和敏：「組換えレタスによる家畜用経口ワクチンタンパク質生産の研究開発」第 25 回バイオテクノロジーシンポジウム、2007 年 11 月 6 日

７．岡山毅：「レタスを用いた“食べるワクチン”生産シミュレーション」シンポジウム「戦略的植物製造構想」、2008 年 3 月 26 日

８．村瀬治比古、岡山毅、福田弘和、岡村憲一：「閉鎖系制御環境下における植物利用型有用物質生産」日本学術会議農業生産環境工学分科会主催公開シンポジウム「遺伝子組換え作物実験施設の環境構築」、2008 年 5 月 8 日

９．松井健史、浅尾浩史、加藤　晃、澤田和敏、吉田和哉：「ブタ豚浮腫病ワクチンタンパク質を生産する形質転換レタス植物工場の開発」日本生物工学会第 60 回大会、2008 年 8 月 27 日－8 月 29 日

１０．浅尾浩史、松井健史、加藤　晃、澤田和敏、吉田和哉：「ブタ豚浮腫病ワクチンタンパク質を生産する形質転換レタスの作製」日本植物細胞分子生物学会第 26 回大会、2008 年 9 月 1 日－9 月 2 日

１１．澤田和敏、松井健史、川本恵子、牧野壮一、加藤　晃、吉田和哉：「植物におけるブタ浮腫病ワクチンタンパク質高生産技術の開発」日本植物細胞分子生物学会第 26 回大会、2008 年 9 月 1 日－9 月 2 日

１２．川本恵子、塚原隆充、刈屋晴子、澤田和敏、中西信夫、牧野壮一：「経鼻粘膜免

疫によるブタ浮腫病臨床実験」日本獣医学会学術集会第 146 回大会、2008 年 9 月 24 日－9 月 26 日

３－５「医・農・工融合によるヒトチオレドキシン１産生レタスの生産技術の開発」（国立大学法人　奈良先端科学技術大学院大学）　１件

1. Soon Lim[1], Koji INAI[1], Hiroki ASHIDA[1], Noriko KATOU[2], Hiroshi MASUTANI[3], Junji YODOI[3], Akiho YOKOTA[1] ([1]NAIST, [2]Redox Bio Science Inc., [3]Institute for Virus Research, Kyoto University) Production of human Thioredoxin 1 protein in lettuce chloroplasts. 日本農芸化学会２００８年度大会、名城大学天白キャンパス、2008 年、3 月 26 日～２９日、記者発表題目に選抜された

４－１「高機能性物質生産イチゴに関する技術開発」（北海三共㈱、鹿島建設㈱）１４件

１．彦坂晶子、鈴木克俊、大野覚、後藤英司､松村健､安野理恵、田林紀子､青木隆：「閉鎖型植物生産システムにおける光質および光強度が四季成り性イチゴの生殖成長に及ぼす影響」　日本生物環境工学会　2007年創立記念大会 、2007年6月25日—27日

２．劉賓男、彦坂晶子、後藤英司、青木隆：「人工環境下における光強度、明期および気温が四季成り性イチゴの栄養成長に及ぼす影響」日本生物環境工学会　2007年創立記念大会 、2007年6月25日—27日

３．安野理恵、田林紀子、松村健：「Strawberry vein banding virus promoterのイチゴにおける発現解析」、第55回 日本ウイルス学会学術集会、2007年10月21日—23日

４．安野理恵、田林紀子、加賀谷羽衣子、杉本千尋、松村健：「ヒトアディポネクチン遺伝子組換え植物の作出と機能解析」BMB2007（第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会)、 2007年12月11日—15日

５．彦坂晶子、西村英朗、後藤英司：「人工環境下における明期が四季成り性イチゴ個体群の光合成速度に及ぼす影響」日本農業気象学会2008年度全国大会、2008年3月20日—21日

６．権藤尚、高砂裕之、武政祐一、加藤正宏、田林紀子、後藤英司：「閉鎖型植物生産施設の環境構築手法の開発（第１報）室内環境分布の実態把握」空気調和・衛生工学大会2008年、2008年8月27日—29日

７．武政祐一加藤正宏、権藤尚、高砂裕之、田林紀子、後藤英司：「閉鎖型植物生産施設の環境構築手法の開発(第2報)植物なしの条件における室内環境の再現計算」空気調和・衛生工学大会2008年、2008年8月27日—28日

８．大野覚、彦坂晶子、後藤英司、高砂裕之、工藤善：「光環境がGUS遺伝子導入イチゴの果実収量およびGUS活性に及ぼす影響」、日本生物環境工学会2008年松山大会、2008年9月8日—10日

９．権藤尚、武政祐一、加藤正宏、　高砂裕之、田林紀子、後藤英司：「閉鎖型植物生産施設の環境構築手法の開発（第１報）室内環境分布の実態把握」、日本生物環境

工学会2008年松山大会、2008年9月8日―10日

１０．武政祐一、加藤正宏、権藤尚、高砂裕之、田林紀子、後藤英司：「閉鎖型植物生産施設の環境構築手法の開発（第２報）植物なしの条件における室内環境」、日本生物環境工学会2008 年松山大会、2008年9月8日―10日

１１．西村英朗、彦坂晶子、後藤英司、高砂裕之、工藤善：「人工環境下における光強度が四季成り性イチゴ個体群の光合成速度および成長に及ぼす影響」、日本生物環境工学会2008年松山大会、2008年9月8日―10日

１２．工藤善、高砂裕之、彦坂晶子、後藤英司、青木隆：「人工環境下における四季成り性イチゴの光合成・蒸散特性」、日本生物環境工学会2008年松山大会、2008年9月8日―10日

１３．油井晶子、前野芳正、谷口孝喜:「乳飲みマウスにみられた、イチゴ投与によるロタウイルス下痢症の軽減化」第40回藤田学園医学会、2008年10月2日―4日

１４．古田和義、加賀谷羽衣子、田林紀子：「イチゴ花托高発現遺伝子の単離と転写調節領域の解析」BMB2008（第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会）2008年12月9日―12日

４－２「組換えレンギョウ等による高機能性成分生産及び閉鎖系での栽培システム構築の開発」（大阪大学大学院）４件

１． 奥村亮平、岡澤敦司、畑　直樹、和泉自泰、小埜栄一郎、佐竹　炎、福崎英一郎、小林昭雄：「リグナン類の高感度微量分析系の確立ならびにレンギョウ中のリグナン含量と光環境の相関解析」植物化学調節学会第 42 回大会、2007 年 10 月 29 日-10 月 30 日

２． 奥村亮平、岡澤敦司、畑　直樹、和泉自泰、小埜栄一郎、佐竹　炎、福崎英一郎、小林昭雄：「リグナン類の高感度微量分析系の確立ならびにレンギョウ中のリグナンプロファイルと光環境の相関解析」第 49 回日本植物生理学会年会、2008 年 3 月 20 日-3 月 22 日

３． 岡澤敦司、奥村亮平、和泉自泰、畑　直樹、小埜栄一郎、佐竹　炎、福崎英一郎、小林昭雄：「光質がレンギョウ中のリグナン類生合成に与える影響」日本農芸化学会 2008 年度大会、2008 年 3 月 26 日-3 月 29 日

４． 畑　直樹、岡澤敦司、森本絹世、小埜栄一郎、佐竹　炎、小林昭雄：「IBA 浸漬処理、施肥、日長および光強度がレンギョウ挿し穂の不定根形成ならびに伸長に及ぼす影響」園芸学会平成 20 年度春季大会、2008 年 3 月 28 日-29 日

４－３「組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発」（筑波大学，インプランタイノベーションズ）　３件、うち招待講演１件

１． 矢野めぐむ、福川剛、Sun Hyeon-Jin、福田直也、江面浩：「組換えトマトで発現したミラクリンの発現安定性と甘味誘導活性の安定化」日本植物細胞分子生物学会 2007 年千葉大会、2007 年 8 月 8 日―8 月 9 日

２． 江面浩：「組換え植物を使った味覚修飾タンパク質ミラクリンの大量生産」バイオウィーク in 札幌、2008 年 6 月 3 日―6 月 4 日

３．　平井正良、角田英男、福川剛、福田直也、江面浩：「機能性タンパク質生産を目的とした閉鎖環境下でのトマト高収量栽培法の開発」日本生物環境工学会 2008 年松山大会、2008 年 9 月 7 日―9 月 11 日

４－４「有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発」（京都大学、東京大学）　５件

１．熊野 匠人、葛山 智久、西山 真：「放線菌由来芳香族基質プレニル基転移酵素とその変異酵素の機能解析」日本農芸化学会 2008 年名古屋大会、2008 年 3 月 26 日―29 日

２．尾崎 太郎、西山 真、葛山 智久：「芳香族基質プレニル基転移酵素NovQの基質特異性と位置選択性に関する研究」日本農芸化学会2008年名古屋大会、2008年3月26日-29日

３．加藤 健司、山田 弥生、鈴木 和道、矢崎 一史、葛山 智久、三島 敏：「放線菌由来芳香族基質プレニル基転移酵素を用いたフェニルプロパノイドのプレニル化」日本農芸化学会2008年名古屋大会、2008年3月26日-29日

４．杉山暁史、Philip Linley、士反伸和、葛山 智久、矢崎一史：「放線菌由来プレニルトランスフェラーゼを高発現するミヤコグサの分子育種」第26回日本植物細胞分子生物学会（大阪)、2008年9月1日-9月2日

５．士反伸和、杉山暁史、矢崎一史：「プレニル芳香族輸送体を高発現するミヤコグサの分子育種」第26回日本植物細胞分子生物学会（大阪)、2008年9月1日-9月2日

５－１「閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物の開発研究」（独立行政法人産業技術総合研究所、独立行政法人農業生物資源研究所、独立行政法人医薬基盤研究所、国立大学法人大阪大学）　３件

１．池田美穂、高木優：「分子育種法による閉鎖系栽培施設に適した形質の付与」第２６回日本植物細胞分子生物学会大阪大会 2008 年 9 月 1 日-9 月 2 日

２．松尾幸毅、松村健：「植物ウイルスベクターによる糖鎖構造の改変」第２６回日本植物細胞分子生物学会大阪大会、2008 年 9 月 1 日－9 月 2 日

３．松尾幸毅、松村健：「PTGS 法による GMD 遺伝子抑制タバコの作出」第３１回日本分子生物学会神戸大会、2008 年 12 月 9 日－12 月 12 日

５－２「植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発」（国立大学法人九州大学：共同実施、独立行政法人産業技術総合研究所、学校法人君が淵学園崇城大学）　７件、うち招待講演 ２件

１．　岡拓二、根本 直、地神芳文：「*Arabidopsis thaliana* の UDP-L-ラムノース合成に関与する RHM2/MUM4 蛋白質の機能解析」第 26 回日本糖質学会年会、2006 年 8 月 23 日―8 月 25 日

２．　岡拓二：「*Arabidopsis thaliana* の UDP-L-ラムノース合成に関与する RHM2/MUM4 蛋白質の機能解析」　日本分子生物学会 2006 フォーラム、2006 年 12 月 6 日―12 月 8 日

3．　岡拓二、根本 直、地神芳文：「*Arabidopsis thaliana* の UDP-L-ラムノース合成に関与する RHM2/MUM4 蛋白質の機能解析」　日本農芸化学会 2007 年度大会、2007 年 3 月 24 日-3 月 27 日.

4．　松岡　健、新間陽一、地神芳文、陶山明子、森口亮、岡拓二、齋藤扶美恵：「植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発」　第 25 回　バイオテクノロジーシンポジウム、2007 年 11 月 6 日

5．　松岡　健:「植物特異的な 蛋白質への O-結合型糖鎖付加」 AIST シンポジウム 酵母の糖鎖生物学とその応用、2008 年 2 月 14 日

6．　岡　拓二：「植物における糖ヌクレオチドの生合成」 AIST シンポジウム 酵母の糖鎖生物学とその応用、2008 年 2 月 14 日

7．　岡 拓二、齋藤 扶美恵、新間 陽一、横尾 岳彦、久野 敦、平林 淳、松岡 健、地神 芳文：「アラビノガラクタン合成に関与するシロイヌナズナのハイドロキシプロリン O-ガラクトース転移酵素(HGT)の諸性質」、2008 年 3 月 26 日-3 月 29 日.

５－３「ウイルスベクターを用いた高効率発現システムの開発」（ホクレン農業協同組合連合会）　４件

1．後藤一法、目黒文乃、増田　税：「サイレンシング経路におけるキュウリモザイクウイルス2bタンパク質の作用点について」平成２０年度日本植物病理学会大会、2008年4月26日―4月28日

2．石原岳明、増田　税：「キュウリモザイクウイルスベクターを用いたトマト果実におけるサイレンシングの誘導」平成２０年度日本植物病理学会大会、2008年4月26日―4月28日

3．福澤徳穂、一町田紀子、石原岳明、増田　税、松村　健：「*Cucumber mosaic virus* (CMV) ベクターによる有用物質生産のための非拡散システム」第56回日本ウイルス学会学術集会、2008年10月26日―10月28日

4．福澤徳穂、一町田紀子、石原岳明、増田　税、田林紀子、松村　健：「植物ウイルスベクターの非拡散システム構築のための基盤植物体の作出と有用物質生産」第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会、2008年12月9日―12月12日

５－４「高効率物質生産に寄与する多重遺伝子発現と転写翻訳系改変に関する研究開発」（横浜国立大学）　７件、うち招待講演 １件

1．　小倉里江子、松尾直子、平塚和之：「ウイルス遺伝子のキャップ非依存的翻訳に関与する因子群の探索について」日本植物病理学会大会、(宇都宮市)、2007 年 3 月 28 日

2．　中浜克彦、小倉里江子、林原千恵子、松尾直子、平塚和之：「数種Potyvirusの5’非翻訳領域（5’UTR）に由来するInternal ribosome entry site（IRES）活性について」　日本植物病理学会大会、(宇都宮市)、2007年3月28日

3．　平塚和之：「食の安全・安心に貢献する植物遺伝子モニタリング技術について」第20回バイオメディカル分析科学シンポジウム(八王子市)、2007年7月2日(招待講演)

4．　小倉里江子、松尾直子、平塚和之：「高等植物におけるキャップ非依存的翻訳に関

与する因子群の探索について」日本植物細胞分子生物学会大会（千葉市）、2007年8月8日

５．　渡邊知行、中浜克彦、小倉里江子、林原千恵子、松尾直子、平塚和之：「Tobamovirusの 5’非翻訳領域（5’ UTR）に由来する Internal ribosome entry site（IRES)活性について」　日本植物病理学会関東部会（厚木市）、2007 年 9 月 13 日

６．　林原千恵子、武田智子、小倉里江子、松尾直子、平塚和之：「一過的発現系による RNA サイレンシングサプレッサーの導入遺伝子に与える影響について」　日本植物生理学会年会（札幌市)、2008 年 3 月 21 日

７．　中浜克彦、小倉里江子、松尾直子、平塚和之　：「各種 *Potyvirus* 属ウイルス由来 5'非翻訳領域（5’UTR）の翻訳エンハンサー活性ならびに Internal ribosome entry site（IRES）活性について」　日本植物病理学会大会（松江市）、2008 年 4 月 28 日

５．学会発表（国際）　２１件、うち招待講演４件

３－１「イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発」（株式会社朝日工業社、日本製紙株式会社、ロート製薬株式会社）、５件、うち招待講演 ２件

1. Nochi, T., Yuki, Y., Takagi, H., Yang, L., Masumura, T., Mejima., M, Nakanishi, U., Matsumura, A., Hiroi, T., Morita, S., Tanaka, K., Takaiwa, F. and Kiyono, H. :「Rice-based mucosal vaccine: a new global strategy for needle-free vaccination.」 American Association of Immunologist 94th Annual Meeting, Maiami, USA, 4/2007
2. Nochi, T., Yuki, Y., Matsumura, A., Mejima, M., Terahara, K., Kim, DY., Fukuyama, S., Igarashi, O. and Kiyono, H. 「New generation of mucosal vaccine : Novel M cell specific carbohydrate-targeted vaccination is effective for the induction of antigen-specific immune responses.」 13th International Congress of Mucosal Immunology, Tokyo, Japan, 7/2007
3. Yuki, Y., Kiyono, H. A needle- and cold-chain-free rice based vaccine against cholera toxin. Keystone Symposia, South Africa, 10/2007
4. Nochi, T., Yuki, Y., Matsumura, A., Mejima, M., Kohda, T., Kozaki, S. and Kiyono, H. :「New generation of mucosal vaccine: Novel M cell-targeted oral vaccination is effective for the induction of antigen-specific immune responses.」 Annual Joint Meeting on Immunology Teaching and Research, Hanoi, Vietnam, 3/2008
5. Yuki, Y., Tokuhara, D., Nochi, T., Yasuda, H., Mejima, M., Kurokawa, S., Takahashi Y., Kataoka, N., Takaiwa, F. and Kiyono, H. :「Oral rice-based nontoxic mutant Cholera Toxin induces enterotoxin neutralizing immunity」 American Association of Immunologist 95th Annual Meeting, San Diego, USA, 4/2008

３－４「レタスによるワクチン成分生産技術開発」（出光興産株式会社、日本植生株式

会社）　２件

１．Tsuyoshi Okayama, Kenichi Okamura, Haruhiko Murase: Lettuce growth model for "edible vaccine" production. ISMAB2008. 2008 年 5 月 27 日―5 月 29 日

２．Takeshi Matsui, Misa Ki, Ko Kato, Kazutoshi Sawada, Kazuya Yoshida: Production of candidate vaccine against edema disease in plant cells. FESPB2008. 2008年8月17日―8月22日

３－５「医・農・工融合によるヒトチオレドキシン１産生レタスの生産技術の開発」（国立大学法人　奈良先端科学技術大学院大学）　１件

１．Soon Lim[1], Koji INAI[1], Hiroki ASHIDA[1], Noriko KATOU[2], Hiroshi MASUTANI[3], Junji YODOI[3], Akiho YOKOTA[1] ([1]NAIST, [2]Redox Bio Science Inc., [3]Institute for Virus Research, Kyoto University)　Production of functional human Thioredoxin-1 protein in lettuce chloroplasts. The 4th INDONESIAN BIOTECHNOLOGY CONFERENCE、2008 年 8 月 5 日―8 月 7 日

４－１「高機能性物質生産イチゴに関する技術開発」（北海三共㈱、鹿島建設㈱）３件

１．Yuta Miyazawa, Shoko Hikosaka, Takashi Aoki, Eiji Goto: Ⅵ　INTERNATINAL STRAWBERRY SYMPOSIUM 2008: Effects of Light Conditions and Air Temperature on the Growth of Everbearing　Strawberry During the Vegetative Stage. 2008年3月3日―7日

２．Shoko Hikosaka, Kana Sasaki, Takashi Aoki and Eiji Goto: Ⅵ　INTERNATINAL STRAWBERRY SYMPOSIUM 2008:Effects of in vitro Culture Methods During the Rooting Stage and Light Quality During the Seedling Stage on the Growth of Hydroponic Everbearing Strawberry. 2008年3月3日―7日

３．Rie Yasuno, Noriko Tabayashi, Uiko Kagaya, Takeshi Matsumura: International Congress of Virology (ICV 14th) : Expression analysis of full-length transcript promoter from Strawberry vein banding virus (SVBV) in transgenic strawberry plants. 2008年8月10日―15日

４－３「組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発」（筑波大学，インプランタイノベーションズ）　４件

１．Yano Megumu, Fukukawa Go, Fukuda N, Sun Hyeon-Jin, Ezura Hiroshi : The 4th Solanaceae Genome Workshop: Salt stress enhances sweetness-inducing activity of miraculin expressed in transdenic tomato fruit. 2007年9月9日―9月13日

２．Sun Hyeon-Jin, Kataoka Hiroshi, Yano Megumu, Ezura Hiroshi: The 4th Solanaceae Genome Workshop: Genetically stale expression of the taste-modifying protein, miraculin, in transdenic tomato plants. 2007年9月9日―9月13日

３．Hirai Tadayoshi, Kakuta Hideo, Fukukawa Go, Fukuda Naoya, Ezura Hiroshi: The 5th Solanaceae Genome Workshop: Development of tomato cultivation system toward plant factorization. 2008年10月9日—10月13日

４． Tsuyoshi Mizoguchi, Rym Fekih, Hiroshi Ezura: The 5th Solanaceae Genome Workshop: Roles of a MADS box protein SVP in Micro-Tom and Arabidopsis. 2008年10月9日—10月13日

５－２「植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発」（国立大学法人九州大学：共同実施、独立行政法人産業技術総合研究所、学校法人君が淵学園崇城大学）　２件、うち招待講演 １件

1. Ken Matsuoka: Role of basic amino acid residues in the cytosolic region of type II membrane proteins on Golgi localization in plant cells. Gordon Research Conference on Plant Cell Walls. 2006 年 7 月 30 日-8 月 4 日
2. Takuji Oka, Tadashi Nemoto, Yoshifumi Jigami: Functional analysis of Arabidopsis thaliana RHM2/MUM4, a multidomain protein involved in UDP-D-glucose to UDP-L-rhamnose conversion. The first International Fungal / Plant Cell Wall Meeting. 2007 年 3 月 10 日-3 月 14 日

５－３「ウイルスベクターを用いた高効率発現システムの開発」（ホクレン農業協同組合連合会）２件

１．Kazunori Goto, Chikara Masuta: Japan-Australian International Symposium on Biological interactions with plant roots and aerial tissues: Molecular interaction between the 2b protein of *Cucumber mosaic virus* and Argonaute 1 protein. 2008年7月28日

２．Noriho Fukuzawa, Noriko Itchoda, Takeaki Ishihara, Takeshi Matsumura, Ichiro Uyeda, Chikara Masuta: XIV. International Congress of Virology: Development of a new *Cucumber mosaic virus* -based vector system that confines the vector in inoculated plants. 2008年8月10日—8月15日

５－４「高効率物質生産に寄与する多重遺伝子発現と転写翻訳系改変に関する研究開発」（横浜国立大学）　２ 件、うち招待講演 １件

１． Naoko Matsuo, Rieko Ogura, Kazuyuki Hiratsuka: Characterization of IRES-mediated Gene Expression System in Plants. International Conference. “Plant Transformation Technologies″ （ウイーン、オーストリア）、2007年2月６日（口頭発表）

２． 平塚和之：「発光レポーターによる植物遺伝子発現モニタリング系の開発と応用について」　日台農業生物技術とその応用セミナー（台北市・台湾）、 2007年7月13日（招待講演）

６．プレス発表　３４件

３－４「レタスによるワクチン成分生産技術開発」（出光興産株式会社、日本植生株式会社）　１件

１．「出光．ブタ浮腫病ワクチンの組換えワクチンが経鼻投与でブタの浮腫の度合い軽減、08 年に組換えレタス投与へ」、日経バイオテクノロジージャパン「Food Science」、2007 年 11 月 6 日

３－５「医・農・工融合によるヒトチオレドキシン１産生レタスの生産技術の開発」（国立大学法人　奈良先端科学技術大学院大学）　15 件

１．ＮＨＫ関西　ニュース、2008 年 4 月 29 日
２．東海ラジオ、2008 年 5 月 9 日
３．「若返る！？レタス」、読売新聞朝刊、2008 年 4 月 29 日
４．「レタスがストレス抑えます」、産経新聞朝刊、2008 年 4 月 29 日
５．「レタスで長寿」、毎日新聞朝刊、2008 年 4 月 29 日
６．「アレルギー抑制物質レタスの葉で効率的に生産」、日本経済新聞朝刊、2008 年 4 月 29 日
７．「「レタス」食べてストレス解消？」、京都新聞朝刊、2008 年 4 月 29 日
８．「「ストレス抑えるレタス」作りに成功　奈良先端大と京都大学」、中日新聞朝刊、2008 年 4 月 29 日
９．「レタスからアレルギー薬　奈良先端大と京大が成功」、奈良新聞朝刊、2008 年 4 月 29 日
１０．「レタスからアレルギー薬」、東京新聞朝刊、2008 年 4 月 29 日
１１．「医薬品候補物質レタスの葉で生産」、日経産業新聞朝刊、2008 年 4 月 30 日
１２．「炎症やアレルギー抑制タンパク質生成遺伝子組換えレタス開発　京大と奈良先端大」、フジサンケイビジネスアイ朝刊、2008 年 4 月 30 日
１３．「京大と奈良先端科技大　医薬向けレタス開発　抗酸化・抗炎症たんぱく質葉緑体ゲノムへ導入」、日刊工業新聞、2008 年 4 月 30 日
１４．「有用たん白生産レタス　安全安価　医薬など実用化探る」、化学工業日報朝刊、2008 年 5 月 12 日
１５．「ヒトチオレドキシン１産生レタス　奈良先端大と京大が共同開発　医薬健康産業へ応用期待」、科学新聞、2008 年 5 月 16 日

４－３「組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発」（筑波大学，インプランタイノベーションズ）　７件

１．「有用な遺伝子を抽出　理研技術で事業展開」、日本経済新聞、2006 年 6 月 2 日
２．「ビジネスかながわ　トマトでミラクル」、テレビ神奈川　ニュース９３０、2006 年 8 月 1 日
３．「To make lemons into lemonade, Try‘Miracle Fruit’」、The Wall Street Journal、2007 年 3 月 30 日
４．「‘Miracle fruit’ berry turns sour to sweet by altering taste buds」、Fresh Plaza、2007 年 4 月 12 日

５．「インプランタイノベーションズ、味覚が変わるミラクリンで新規事業推進」、日経バイオテク、2007 年 5－21 号ｐ16
６． 「糖たんぱく質ミラクリンの生産にはレタスやイチゴよりトマト」、Biotechnology Japan、2008 年 6 月 9 日
７．「ミラクリン研究とインプランタイノベーションズ」、フナコシレビュー、2008 年 9 月 1 日発行

４－４「有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発」（京都大学、東京大学） 11 件

１． 「アピ、京大、東大と共同でプレニル化ポリフェノールの機能解明へ、機能性向上に期待」日経バイオテク、2006 年 7 月 31 日
２． 「肥満時代でメーカーが殺到するポリフェノール」日経バイオテクビジネスレビュー、2006 年 8 月 28 日
３． 「ポリフェノール強化の遺伝子発見」毎日新聞朝刊、2008 年 3 月 15 日
４． 「ポリフェノール高機能化酵素、初めて特定」京都新聞朝刊、2008 年 3 月 15 日
５． 「アンチエイジングに効く酵素」産經新聞朝刊、2008 年 3 月 15 日
６． 「アンチエイジングに効く酵素を発見　京大グループ」産経ニュース 2008 年 3 月 15 日
７． 「ポリフェノール高性能化　京大、酵素遺伝子を特定」日刊工業、2008 年 3 月 15 日
８． 「ポリフェノール強化の遺伝子発見　京大・矢崎教授　薬・食品に応用可能」朝日新聞夕刊、2008 年 3 月 21 日
９． 「ポリフェノール強める遺伝子　京大発見」日本経済新聞朝刊、2008 年 4 月 4 日
１０． 「ポリフェノール高機能化酵素特定」科学新聞、2008 年４月 11 日
１１． その他、新聞記事をもとに、バイテクハウス Mail News やフレッシュ eye ニュースなど、ウエブ上のニュース多数。

７．受賞　０件

８．その他　３１件

３－２「組換えジャガイモを利用した家畜用経口ワクチン素材の開発」（学校法人 北里研究所） ７件

１．「ジャガイモ水耕栽培視察受入（産総研対応）」　７機関に視察対応・公開

３－４「レタスによるワクチン成分生産技術開発」（出光興産株式会社、日本植生株式会社） ２件

１．濱端崇：「レタスによるワクチン成分生産～食べるワクチン」、IMCJ Frontier’s

Report、2007 年 5 月

２．濱端崇：「レタスによるワクチン成分生産～抗原部位の最適化」、IMCJ Frontier’s Report、2008 年 5 月

４－１「高機能性物質生産イチゴに関する技術開発」（北海三共㈱、鹿島建設㈱）　１９件

１．産総研植物工場・栽培システムの視察　　１９機関の視察対応

４－３「組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発」（筑波大学，インプランタイノベーションズ）　３件

１．　高根健一、「甘味誘導タンパク質、ミラクリン事業」、バイオジャパン 2007、2007 年 9 月 19 日―9 月 21 日

２．　植物まるかじり叢書（化学同人社）「植物で未来をつくる」松永和紀著のコラムで紹介、2008 年 3 月

３．　高根健一、ポスター発表「ミラクルトマトの作出」、第 7 回産学官連携推進会議、2008 年 6 月 14 日―6 月 15 日

第３章　評価

第３章　評価

１．事業の目的・政策的位置付けの妥当性

本研究開発は、遺伝子組換え植物を用いた医薬品等の高付加価値物質生産に必要な基盤技術を開発するもので、国民の健康増進の推進ならびに新産業創出につながるものであり、国民・社会のニーズに合致し、事業の目的は非常に重要で、政策的位置付けも極めて明確である。我が国が先行している植物工場の技術を生かした閉鎖型施設での生産を目指した点は、技術的な新規性・先進性があり、海外に対する優位性が期待でき経済戦略的にも意義がある。 また、個別の民間企業・大学のみではその実施は困難であり、国の事業として実施する緊急性が極めて高い。 なお、微生物や動物細胞の系で既に商業化が可能な物質ではなく、植物でなくてはできない利点を有し、かつ、これまでに手がけられていない物質をできるかぎり追求すべきである。その意味で、例えば、抗原を発現させ、抽出精製を行わずそのまま収穫物を経口投与する手法などは、大変好ましいアプローチといえる。

【肯定的意見】

- 国民の生命や健康の増進に関わる医薬品や健康食品の原料になる有効な物質を効率的に生産する技術の開発はとても重要であると判断できる。しかも日本としての特長のある閉鎖型の方式を確立していくものである。個別の企業だけでは、一般的に開発のリスクも高く、様々な企業の協力、さらには産学官連携で推進していく必要性が高いと思われる。日本の技術面のイノベーションの重要課題に位置づけられていると考えられる。
- 健康，環境，安心・安全に対する国民や社会のニーズ高まりに対応した産業を創生する重要な事業と思われる。世界をリードする新産業を創生するには，技術基盤となる新規の要素技術の蓄積と体系化が必要である。そのためには費用対効果を期待できない研究開発投資も必要であり，本事業のように官が技術基盤の形成に積極的に関わるべきである。特に，費用対効果が必ずしも期待できないが，新産業の共通の基盤技術となりうる技術の研究開発は，民の要望に沿って官主導で実施すべきである。そのような観点からも，本事業においては，官民の役割が適切に分担されていると思われる。
- 第3期科学技術基本計画等の上位施策と関連する事業と思われる。先行する欧米においては，野外圃場および温室での生産を目指しているが，本事業では，日本が先行している植物工場の技術基盤を生かした閉鎖型完全制御植物生産施設での生産を目指して

おり，新規性，先導性がある。また，野外圃場や温室では実現できない特殊な環境制御により，高効率，安定，安全生産が実現でき，経済戦略的にも欧米に対して優位性が期待できる。

- 組換え植物を用いる有用物質の生産とその事業化は，これからの新分野であるだけに，民間のみではなしえないプロジェクトであり，非常に意義が大きい。新規・革新的な多くの技術開発が期待され，これが成功すれば社会に大きく貢献できる。
- 植物の遺伝子組換え技術の分野では、日本は、研究においては世界をリードする面も多々あるが、その事業化においては、手付かずといってよい惨状にあり、アメリカなどに大きく遅れを取っている。これは、国として、ビジネスチャンスを逸しているとしかいえない状況である。民間企業、大学、公的機関が単独で打開できる展望はなく、国のリーダーシップが求められているのは明らかである。
- 閉鎖型人工環境における高付加価値物質生産に的を絞った事業の位置づけは、的確な方向といえる。
- 国の事業として妥当であり、国の関与が必要とされ、国民や社会のニーズに合っている。
- 遺伝子組換え作物を積極的な利用は民間のみでは進めがたい状況にあるため、官が主導で民間及び大学等の知見を活用して進めることは重要なことである。
- 本事業を通して高付加価値を持つ遺伝子組換え作物を開発することは、国民への健康増進の推進及び新産業創出につながることであり、事業の政策的及び社会経済的な意味は大きい。

【問題点・改善すべき点】

- 植物を用いる物質生産にはさまざまな利点があるが、単なるコスト面の有利さは要注意である。植物を用いた研究には長い時間を要する上に、他の生産系も日進月歩の改良が進むため、技術の完成時には、コスト面の差別性を失っていることがありうるからである。また、微生物や動物細胞の系ですでに商業化が可能な物質について、後から参入するのは非常に困難である。したがって、植物でなくてはできないといった絶対的な利点があり、かつ、これまでに手がけられていない製品の開発を、できるかぎり追求すべきである。その意味で、例えば、ワクチンを発現させ、抽出精製を行わずそのまま収穫物を経口利用する手法などは、大変好ましいアプローチといえる。他の課題においても、さまざまな観点から工夫をして欲しい。

２．研究開発等の目標の妥当性

　個別要素技術ごとに具体的かつ明確に年度目標及び目標水準が設定されている。
　なお、目標設定の際、現在の目標に加えてチャレンジ度が高い目標や欧米との比較に対する優位性の程度を示す目標を併せて掲げることにより、一層の事業進捗の促進が期待できるのではないか。

【肯定的意見】
- 栽培サイクルを10%以上、収穫量を30%以上向上などのように、出来る限り量的に目標を設定するよう心がけていると判断できる。
- 各要素技術において達成すべき水準が設定されている。
- 目的達成のためにかなり具体的かつかなり明確な研究開発等の目標及び目標水準をほぼ設定している。中間評価時点で、達成すべき水準（基準値）がほぼ明確に設定されている。
- 目標達成度を測定・判断するための適切な指標がおよそ設定されている。
- 個々のテーマについて有意義な点を明確化した上で，年度内でおよそ実現可能なレベルでの研究計画が考慮されており，中間評価時点における達成すべき目標も明確である。
- 具体的かつ明確に目標設定を行っている。また、設定した目標に対して、全課題が100%の達成を成し遂げているのは、申し分ない成果である。中には、設定目標を上回る成果も多いので、そのような部分にも何らかの評価点を付与し、目標を大きく上回ったことを明確に示す仕組みにすれば、より事業成果のアピールができるのではないか。例えば、目標設定時、到達目標に加えて、よりチャレンジ度が高い項目も併せて掲げ、これが実現できた場合には、他制度100%に加え何らかの数値・記号を付与することにより、成果の評価ができる。
- 目標設定は適切である。

【問題点・改善すべき点】
- 各要素技術において，達成すべき数値目標が，野外圃場で「食料となる農作物」として生産した場合の収量と有用物質の蓄積量の平均値を基準として設定されているが，今後は、欧米に対する優位性の程度を示す数値目標を検討すべきと思われる。
- 課題名と研究内容の乖離がみられる。研究内容を否定しているものではなく内容は優れており、また適切に進められているが、例えば4-4、5-1などの課題で顕著と思われる。課題設定の経緯で様々な議論があったはずなので安易に否定するものではないが、課題が具体的であるべきかもしれないし、目的の記載等に説明を加えることで誤解を生じないように対処できると思われる。

３．成果、目標の達成度の妥当性

各課題において、いずれも計画通りまたはそれ以上の成果が得られており妥当である。

なお、今後、欧米との競争を見据えた視点も取り入れて行うべきである。

【肯定的意見】

- 意義のある成果を出していると言える。目標の達成度も多くの研究プロジェクトで100%となっており、相当な努力がなされていると思われる（しかし、もともと開発リスクが高いから、国が支援する意味があり、この目標達成度が高いことは少々理解しづらいところではあるが）。これは中間目標ということで、最終的な実用化を目指す段階でどうなってくるか気になるところである。
- ほとんどの要素技術において，得られた成果の内容が明確に示されており，成果の指標として，論文，特許が認められた。
- いくつかの要素技術においては，設定目標以外の成果も認められた。
- 中間目標はおおむね達成されているが，進行状況はテーマによって異なる。最終目標はあくまでも実用化，事業化にあるので，それを見据えて研究を継続する必要がある。
- 設定された課題に対し、計画通りに成果をあげており、申し分ない。
- 得られた成果は妥当であり、設定された成果以上のものが得られている。

【問題点・改善すべき点】

- 遺伝子組換え植物工場に関して、中間評価時点での国際標準の形成，プロトタイプの作成は不可能であるが，最終目標として，どのような国際標準やプロトタイプを目指すのかを，欧米との競争戦略の視点から示すべきと思われる。
- 前述（２．研究開発の目標の妥当性）のように，欧米における有用物質の生産に対する優位性に関して達成度を評価することを今後検討すべきと思われる。
- 中間段階であるためか、発表論文数および特許出願数が期待したよりも少なかった。今後の努力を期待したい。

４．事業化、波及効果についての妥当性

　ほとんどのテーマについて戦略的かつ具体的な事業化のシナリオが示されており、大きな波及効果、市場規模が期待できる。事業化を担う企業と研究協力、情報交換を行うなど、研究開発当初から事業化を明確に指向した取組がなされていることは高く評価できる。
　なお、一部の課題について、事業化シナリオ、生産するターゲット物質の具体性に欠けるものも見られるため、それらについては最終年度に向けた取組を期待したい。
　また、最終物質の安全性を十分に検討すること、国民に対し遺伝子組換え植物利用への国民理解を深めること、関係機関との調整等、本事業の成果をスムーズに普及できるような取組を、国として別途進めてほしい。

【肯定的意見】

- 国際競争が厳しくなることが想定される中、数年先の市場規模を考え、事業化のシナリオを書く努力をしている。まら、このプロジェクトは人間の生命や健康などに関わり、大きな市場規模が期待できると考えられる。
- ほとんどの研究開発課題において事業化に向けてのシナリオが戦略的に示されている。また，多くの研究開発課題において，投入費用をかなり上回る波及効果が期待できる。
- 事業化の見通しはかなりある。関連学会でのインパクトは大きい。
- 各テーマで修正点，問題点が出てきたが、それらをクリアーすることにより事業化出来る可能性は大いにある。本プロジェクト内での波及効果ではあるが，研究グループ間で情報交換，研究協力が行われた。今後得られる本プロジェクトの成果を外に向けてより積極的に発信することにより、大きな波及効果がもたらされる。
- 多くの課題において、開発する商品が明確であり、事業化を担う企業がメンバーとして加わっているか、そのような企業との対話が進んでいる点は、高く評価できる。

【問題点・改善すべき点】

- 事業化していく際に、安全性の問題は大きいと考えられる。顧客への安心感を高める研究の推進や対策が求められる。
- 一部の研究開発課題（特に，３－４と３－５）において，戦略的な事業化シナリオおよび波及効果の期待が評価用資料には具体的に示されていない。
- 大きな問題点は，遺伝子組換え植物を食べること，組換え植物由来蛋白を利用すること対する国民の心配・不安感が少なからずあることである。この解決は民間の力のみでは不可能で，政府が国民の意識改革をうながすよう取り組む必要があると同時に，コンセンサスを得た制度を作る必要がある。

- **高度な機能性を持ち、疾病の予防・改善に関わる遺伝子組換え農作物は医薬品となるが、農作物を用いた医薬品は世界的にも実例がないため、医薬品としての認可の手続きが実用化の障害となりかねないため、早い段階から厚生労働省への情報提供と実用化のための検討をスタートする必要がある。**

５．研究開発マネジメント・体制・資金・費用対効果等の妥当性

ほとんどの課題において、研究開発計画・実施体制・運営・資金配分・費用対効果は妥当である。事業化を担う企業と研究協力、情報交換を行うなど、研究開発当初から事業化を明確に指向した取組がなされている。

本研究開発は多くの研究機関が属する大プロジェクトであるが、プロジェクトリーダー、サブリーダーが、各課題の実施機関に頻繁に赴き議論・アドバイスを行ったり、課題をまたぐ議論・情報交換の機会を積極的に設けたりするなど、研究開発の活性化に努め、目標の達成度を全体として高くしている点は、高く評価できる。

なお、研究開発組織が大きく、また、今後一層各実施課題からの成果の体系化と事業化が重要になると考えられることから、総括リーダーとサブリーダーの機能のさらなる充実が望まれる。

また、関係学会や製薬会社との協力、情報交換等、最終年度に向けさらに成果をあげるための取組を期待する。

【肯定的意見】

- 数多くの研究機関が属する大プロジェクトであるにもかかわらず、目標の達成度を全体として高くしている点は、研究開発マネジメント上、評価できる。また、プロジェクト内の情報交換や外部の有識者を入れて研究開発の活性化を促進させていると言える。
- ほとんどの研究開発課題において，計画，資金配分，費用対効果は妥当と思われる。
- 研究マネジメントはほぼ順調かつ妥当だった。運営体制が整っていたと考えられる。
- 研究開発運営・体制・資金・費用対効果はおおむね妥当である。本プロジェクトに係わるすべての研究者が十分に能力を発揮できるよう，プロジェクトリーダーが実験現場を訪れ，アドバイスをするなどしている。
- プロジェクトリーダー、サブリーダーは、各課題の実施機関に頻繁に赴き、現地での議論を重視し、また、課題をまたぐ議論・情報交換の機会も積極的に設けているとのことであり、課題運営上高く評価できる。

【問題点・改善すべき点】

- 余りにプロジェクトに参加する研究機関が多いので、情報交換により、どのような研究上の刺激や、メリットがあったのか理解しづらい面がある。しかしながら、外部有識者を交えた研究開発委員会や分科会を開催して、研究開発の進捗状況の把握に努め、資金配分の変更を行なっている点はマネジメント面で評価できる。
- 本事業の 3 年目以降においては，各実施課題からの成果の体系化と事業化が重要になると考えられることから，総括リーダーとサブリーダーの機能のさらなる充実が望ま

れる。

- 各研究開発課題間の連携/競争が十分に行われる体制になっていることが評価用資料では確認できない。
- 植物工場の知識，技術および人的基盤を積み上げてきた日本生物環境工学会（旧日本植物工場学会）が蓄積してきた豊富な知識，技術および人的基盤をもっと広く活用する方策を講じることが有効と思われる。
- 製薬会社，特に，生薬を生産している製薬会社の参画が少ないので，特に，事業化に関しては製薬会社との情報交換などの方策が望まれる。
- 「足」を使った積極的な情報収集の結果を公表し、欧米との競争戦略の観点から、欧米に対する優位性を客観的に確認する作業を続けるべきである。

６．総合評価

遺伝子組換え植物を用いた医薬品等の高付加価値物質生産に必要な基盤技術の開発を目指した本プロジェクトは、国が関与する事業として政策的位置付けも明確であり、技術的・社会的意義も大きく、妥当である。

研究開発当初から事業化を明確に指向した取組がなされており、目標も的確に立てられ、概ね計画どおりの成果が得られていると評価でき、継続すべき事業である。研究開発のマネジメントも適切に行われていると評価できる。

なお、最終年度に向け、研究開発で得られる成果の普及をより意識し、従来の栽培手法にとらわれない研究開発の推進と、遺伝子組換え植物の導入に対するパブリックアクセプタンスの将来動向及び欧米の研究開発の進展に対する戦略的な対応策の検討を行うことが重要であろう。

【肯定的意見】

- 人間の生命や健康の増進につながる研究開発に国を挙げて力を入れていることは高く評価できる。中間目標もほぼ達成されていると考えられる。国際競争が激しくなる中で、特長のある閉鎖型生産方式で競争力を高める努力をしている。
- 事業の目的，計画および成果は良好であり，今回の中間評価を踏まえて改善すべき点を明確にした上で，国際競争力のある新産業の創生を目指す国策として継続すべき事業である。
- 事業の目標，実施方法は的確であり，個々のテーマで種々修正を加えながらも，全体としては中間目標通りプロジェクトは進行している。
- 高度な専門能力を有する多くの研究機関によって取り組まれている画期的な研究開発であり、全体的に技術レベルが高く、これまでに高い成果が得られており、今後に得られる成果への期待も高い。
- 経口ワクチンの開発など、植物ならではの商品開発であり、すぐれた着想といえる。
- 全体的に見て、すぐれたプロジェクトであると考えられる。
- 全体として計画通り進んでおり、具体的な物質を扱っている成果も技術開発についても重要なものであり、プロジェクトとしての価値は高いと考える。その上で、各課題についてコメントした。

【問題点・改善すべき点】

- 数多くの研究機関が参加している大プロジェクトであり、プロジェクトリーダーの役割は大変であると思うが、各々の研究課題の間の情報交流や全体的な統括の内容が見えにくかった。
- 組換え植物の導入に対するパブリックアクセプタンスの将来動向および欧米の研究開発の進展に対する戦略的対応策が認められない。

- **栽培システムおよび栽培環境の最適化に関しては，「食料としての農作物」の収量を増加させるための従来の技術や考え方にとらわれない態度が必要と思われる。**

７．今後の研究開発の方向等に関する提言

・最終年度に向け研究開発を進めるに当たっては、欧米の研究開発動向等も見つつ、日本として今後競争力が見込まれる分野の開拓を進めてもらいたい。また、知的財産権について注意を払い特許申請を速やかに行うことが重要である。

・閉鎖型人工環境という全く新しい栽培環境に適した植物の開発にあたっても、従来の育種の技術・知見・ノウハウ・遺伝資源などの技術資産を最大限に活用しつつ、遺伝子工学的手法により従来不可能であった改良を加えることにより、相乗効果を実現することが有用であるため、育種者との連携のさらなる強化が望まれる。

・閉鎖型植物栽培システムにおける物質生産・エネルギー収支、コストの把握に努め、効率性を評価するための課題を入れることで、事業全体の意義が向上すると思われる。

・研究開発成果の事業化を早期に実現するために、基盤的課題であっても、開発段階より商品仮説、事業仮説、シナリオ仮説を立て、下流の事業者や、顧客候補との対話を進めることが重要である。

・我が国では、未だ遺伝子組換え植物を利用することへの国民の十分な理解・受容が得られていないことから、民間だけでなく国が、国民の不安感を拭うような取組を行うと同時に、国際間での論議や協調を経た上で、実用化までに必要な社会制度等の整備を行うことが望まれる。

・従来の「食料としての農作物」の収量を増加させるための技術や考え方にとらわれず、「有用物質生産担体としての植物開発」のために最適な植物体、栽培法の開発を新規技術として確立することを徹底していただきたい。その際には、閉鎖型完全制御植物生産施設の優位性を生かした方法を積極果敢に導入することを検討してほしい。

【各委員の提言】

・　各々の研究課題の中間目標はほぼ達成されているが、今後、事業化に向ってどのようなシナリオを組むかよく考えていただきたい。欧米の研究開発のフェーズを見ると、今後の状況変化が予想される。よく見極めながら、日本として、競争力ある分野の開拓を進めてもらいたい。その際、本プロジェクトで特に期待のもてる研究課題については予算配分も柔軟的に行なうことも必要であろう。

　　そして、今回のような研究領域については、知的財産権の面で十分な注意を払

う必要があり、特許申請は速やかに行なっていただきたい。

事業化において、組換えによる商品については、安全面での綿密な検討が必要であり、顧客に対する不安感を拭う努力がなされなければならない。

なお、事業化の大切さと共に、鳥インフルエンザの研究課題のように、独自技術を通じた国際貢献の視点を強く持つ必要があると考えられる。だからこそ、国が積極的に関与する必要性が出てくる。

- 欧米との長期的な競争戦略の観点から，組換え植物の導入に対するパブリックアクセプタンスの今後の変化および欧米の研究開発動向の変化に対応して，研究開発の計画，事業化のシナリオ，波及効果等を見直す作業を継続的に実施する必要がある。特に，野外圃場や温室での有用物質生産を目指している欧米に対する優位性を基に達成度や波及効果を確認しながら，研究開発および事業化に対して柔軟な見直し作業を実施することが望まれる。
- 「食料としての農作物」の収量を増加させるための従来の技術や考え方にとらわれずに，導入遺伝子の効果的発現と対象部位への有用物質の効率的蓄積を目的とした栽培システムおよび栽培環境の最適化の手法を新規技術として確立することを徹底すべきである。その際，閉鎖型完全制御植物生産施設の優位性を生かして，野外圃場や温室では設定不可能な特殊環境（特殊人工光，環境ストレス条件，局所環境制御など）を積極果敢に導入することを検討すべきである。
- 各研究開発課題で確立された多様な要素技術の体系化をはかり，新産業の発展と競争力強化のための技術基盤を形成することが望まれる。

- まず，中間目標をおおむね達成出来る見通しが得られたことについて，各研究者ならびに企業の努力，また，経済産業省の指導に敬意を表する。

  今後大きな課題になると考えられることは，前にもふれたが遺伝子組換え植物を食べること，組換え植物由来蛋白を利用することへの国民の心配・不安感が少なからずあり，この点について十分なコンセンサスが得られていないことである。この解決は民間の力のみでは不可能で，政府が国民の意識改革をうながすよう取り組む必要があると同時に，コンセンサスを得た上で社会的制度を作る必要がある。それには国際間での論議や協調関係も必要になる。有用物質生産事業化の前に，環境を整えておくべきである。

- 閉鎖型人工環境という、全く新しい栽培環境に適した植物の開発にあたっても、これまでの育種の技術・知見・ノウハウ・遺伝資源などが、大いに役立つことが期待される。このような技術資産を最大限に活用し、遺伝子工学との相乗効果を実現することが肝要である。したがって、これまでに育成・研究されてきた多数の品種や

変異についての知見に基づき、従来品種および伝統育種の技術についての活用オプションを徹底的に検討することが重要である。その上で、遺伝子工学的手法により、従来の方法ではできなかった改良を加え、本事業に最適な植物を開発していくのが有用な方法論であり、育種家との連携のさらなる強化が望まれる。

研究開発成果の事業化を早期に実現するには、基盤的な課題であっても、開発の初期から、最終的な商品や事業形態を具体的に設定し、そこに到達するための道筋を描くのがよいとされている。長い道のりであっても、仮の設定でも、頻繁に見直しが必要であってもよいので、商品仮説、事業仮説、シナリオ仮説を立て、下流の事業者や、顧客候補との対話を進めるのが重要である。

- 閉鎖型システム全体の物質・エネルギー収支を明らかにし、エネルギコストの把握に努め、閉鎖型システムが、原理的には、省資源的、環境保全的、省力、省スペース的でもあることを示す課題を取り込むとより良くなる。

８．個別要素技術に関するコメント

３．【ヒト・動物用医薬品原材料生産植物の研究開発】

３－１「イネ種子での医療用蛋白質の生産技術開発」

【成果に対する評価】

- 達成度は満足できる。
- CTB蛋白の高発現にも成功した。CTBに比べ，CTB-HA1の発現量が低いが，実用化に向けては改善方法を探る必要があるのではないか。
- 試作ランプの効果が明瞭ではない。どの程度の効果があるのか。データを比較する場合，有意性の有無で判断すべきである。
- 計画と比較した達成度、達成された成果自体の意義は共に高いと判断される。

【事業化の見通しに関する評価】

- CTB 米の事業化は予定通り進行させるべき。CTB-HA1 米についても，蛋白高発現に成功すれば，事業化は可能であろう。
- 事業化の見通しは相当程度に高い。

３－２「組換えジャガイモを利用した家畜用経口ワクチン素材の開発」

【成果に対する評価】

- 中間目標はほぼ達成されたと言える。鳥インフルエンザで、産卵期に注射が打てない鳥に対して、本経口ワクチンは効果を発揮しうると考えられる。ただ、このような飼料を摂取した鳥からの卵にどのような影響があるか気になるところである。
- 研究はおおむね順調に進んでいる。
- HA 組換えジャガイモを用いる実地試験を早急に行い，効果を確認する必要あり。また，CpG 発現ジャガイモのアジュバント効果を証明する必要あり。
- 発現蛋白量が数μg/gで，だいじょうぶか。
- 成果は十分にあり、意義は高い。

【事業化の見通しに関する評価】

- 国内の市場だけではなく、東南アジア市場での鳥インフルエンザに対しての有効な防御策となる。これは通常の事業を超えて、大きな国際貢献になりうる。さらに、将来的には、ヒトインフルエンザにも適応可能性が広がり、期待できる研究開発である。
- アジュバント（CpG）の効果が証明でき，発現抗原量の問題（現在の結果で十分か）がクリアーされれば，事業化の可能性は大いにある。

・ 事業化の見通しはかなり高い。

３－３「高機能性物質生産ダイズに関する技術開発」

【成果に対する評価】

・ 蛋白を精製して医薬品として利用するには，発現蛋白量が低いのではないか。
・ 抗体産生をモデル実験では注射で確認しているが，実際に想定している経口投与でのデータがほしい。以前からの指摘事項であるが，経口摂取でワクチン効果をもたらすメカニズムが明確ではない。また，アジュバントの使用は重要と思われる。
・ C-5系統で収量の多いものはあるが，ばらつきも大きすぎるので，安定して高蛋白量を発現させる工夫が必要となる。
・ 計画と比較した達成度、達成された成果自体の意義は相当程度にある。

【事業化の見通しに関する評価】

・ 事業化を達成するためには，免疫メカニズム（注射ではなく経口投与での抗体産生その他），アジュバントの選択などの問題点をクリアーする必要がある。
・ 今後努力すれば、事業化の見通しはある。

３－４「レタスによるワクチン成分生産技術開発」

【成果に対する評価】

・ レタスは現行植物工場で十分な栽培技術基盤が確立されており，それらの既存の技術基盤を基に十分な成果をあげている。さらに，ワクチンタンパク質高生産栽培条件として，培養液強化，青色LEDの補光などの有効性も見出している。
・ 「食品」としてのレタス栽培を目的とした現行の植物工場での技術基盤にとらわれずに，導入遺伝子の効果的発現およびワクチンタンパク質の高濃度蓄積を目的とした栽培システムと栽培環境の最適化の手法の確立に積極的に取り組むことが望まれる。
・ 実験は予定通り進んでいる。
・ 得られる蛋白発現量では少ないのではないか。すなわち，経鼻投与試験でも数mgが必要であるので，対象を子豚とする場合には，レタスの投与量を考えると改善する必要あり。

【事業化の見通しに関する評価】

事業化シナリオおよび波及効果について、評価用資料に具体的な記載がない。
蛋白発現量を高め，母ブタを免疫する方法なども検討すれば，事業化の方向性も視野に入る。

３－５「医・農・工融合によるヒトチオレドキシン１産生レタスの生産技術の開発」

【成果に対する評価】

- 各要素技術について所期の成果を上げているが，一部の目標・指標に関して，成果と達成度の記載がない（表）。
- 遺伝子発現パターンを基に，ヒトチオレドキシン１の蓄積を増加させるための光環境診断アルゴリズムの構築を行うとともに，赤色LEDの補光による高蓄積などを実現している。
- 目標達成までさらに努力が必要。
- 報告書には具体的な蛋白発現量のデータがないのでわかりにくいが，どの程度の高発現量なのか。2 ㎎蛋白/gはクリアーされているのか。また，実用化に耐える精製効率が求められる。

【事業化の見通しに関する評価】

- 事業化にむけたシナリオ作成のための各種の調査や検討が，まだ計画中または実施中であり，具体的な事業化シナリオを描く必要がある。
- 蛋白を精製して利用するのであれば，事業化するためには，蛋白高発現は必要条件である。

４．【機能性成分生産植物の研究開発】

４－１「高機能性物質生産イチゴに関する技術開発」

【成果に対する評価】

- 本産業の共通の技術基盤となることが期待される草丈の短い植物用の多段式栽培システムに関する貴重な成果を生み出している。また，対象部位の収量だけでなく有用目的物質の蓄積を促進する環境条件（青色光利用）を見出す手がかりとなる成果も得ている。
- 本産業の共通の技術基盤となることが期待される省エネ型の排水処理システムを考案している。
- 計画と比較した達成度は高く、達成された成果自体の意義は高い。

【事業化の見通しに関する評価】

- 具体的な収益性の見積もりによる事業化シナリオが描かれている。ただし，事業化に向けては，欧米に対する競争戦略的な対応についても検討すべきである。
- 事業化の見通しは高い。

４－２「組換えレンギョウ等による高機能性成分生産及び閉鎖系での栽培システム構築の開発」

【成果に対する評価】

- 間目標はほぼ達成されたと言える。セサミンをゴマ種子から取る不経済性を鑑み、組換えレンギョウの活用および閉鎖型の栽培システムの構築は高く評価される。人間の最も大事な健康の増進に貢献するものである。ただ、このような商品の人体への安全性についての配慮を十分に行なっていただきたい。
- 20 年度末までに目標とする組換えレンギョウを獲得できる見通しがたっている。また，青色 LED 照射によって目的物質（リグナン類）の蓄積が促進されることを見出している。
- レンギョウは多年生の木本植物であり，多年生木本植物を植物工場で水耕栽培するための技術基盤はほとんどないと思われる。従って，生物環境工学会などの植物工場の専門家の協力を得て，閉鎖型完全制御植物生産施設における多年生木本植物の水耕栽培システムを構築する必要があると思われる。
- 研究はおおむね予定通り進行している。
- セサミンの精製（回収率）も満足すべきものである。報告書には具体的な蛋白発現量のデータがないのでわかりにくいが，どの程度の高発現量なのか。

【事業化の見通しに関する評価】

- サントリーのこの分野での開発力やマーケティング力を考えれば、事業化の可能性は高い。むしろ、このような研究に国がどこまで関与するか気になるくらいである。なお、中国の研究所などとの共同により、直接のビジネスの効果以外に、日中連携の機運が高くなることを期待する。
- ゴマリグナン類の事業化での経験を生かした，中国との共同による事業化のシナリオが具体的に描かれている。
- レンギョウ（多年性木本植物）の閉鎖型完全制御植物生産施設における水耕栽培の事業化に際しては，大規模栽培システムの研究開発が重要になると思われる。
- セサミンを精製して利用するのであるから，事業化するためには，セサミン高発現は必要条件である。この点がクリアーされれば，セサミン産生実用化の目途は十分たつ。

４－３「組換えトマトを利用したミラクリン製造の基盤技術開発」

【成果に対する評価】

- ミラクリン発現小型トマトの作出，植物工場における高収量栽培技術，ミラクリンの

トマト果実への高蓄積技術の確立に，ほぼ見通しのたつ成果が得られている。
- プロモーターと特殊環境制御の組み合わせによる果実への高集積技術は，今後の大量生産の基盤技術になりうると期待される。
- 達成度は比較的高く、その成果の意義はかなり高い。

【事業化の見通しに関する評価】
- 綿密な収益見積もりによる事業化シナリオが描かれており，平成 24 年度に米国で，平成 25 年度に日本で事業化の見通しが立っている。
- 事業化の見通しはある程度高い。

４－４「有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発」
【成果に対する評価】
- 計画通りに、プレニルトランスフェラーゼ遺伝子の取得・操作、植物への導入、プレニル化合物の作成・評価などを進めている点は高く評価できる。
- フラボノイド特異的なプレニルトランスフェラーゼの取得など技術的に注目を集める成果をあげている点も高く評価できる。
- 計画された目標に対して適切な達成度を示している。
- 最も生産性に寄与できる細胞内局在と遺伝子の組み合わせを同定し、代謝工学デザインを決めることは本研究目的に合致しているが、プレニル化ポリフェノールのガン細胞に対する効果などを確認し、プレニル化芳香族化合物の生産を行うことが本課題の目的か。課題の選定理由に有用性の高い化合物の絞り込みを行う必要があるとされているが、「有用成分を高効率・高生産する組換え植物作出技術の研究開発」は技術開発であって、その趣旨に合致しているとは思えない。
- なお、プレニル化ポリフェノールの効率的生産系は価値があると考えられる。

【事業化の見通しに関する評価】
- 成果の商業化を担当しうる企業と連携し研究開発を進めている点は高く評価できる。
- さまざまなプレニル化合物を評価し、機能の高い化合物を選定し植物を用いて生産し、食品、医薬への応用する計画である。一般に、食経験のない新規物質の食品利用のハードルは高く、生理機能が高ければ逆に注意を要する点も生じるであろう。一方、医薬として用いるには明確な薬効の証明が求められる。いずれにしても、事業化には、さまざまな困難が予想されるので、さらに、事業化を行う企業との対話・連携を強化してほしい。
- 当初から健康食品を製造・販売している民間企業と組んでおり、事業化の見通しはつ

いていると考えられる。

５．【有用物質生産のための基盤植物作出技術の研究開発】

５－１「閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物の開発研究」

【成果に対する評価】

- 計画どおりに、キメラリプレッサーや開花遺伝子の利用による、稔性・草丈・早晩性の制御を進めている点は評価できる。
- オウレンの養液栽培法の確立は大きな成果である。
- N型糖鎖抑制技術など糖鎖関連技術の開発も興味深い。
- 雄性不稔性を示した系統が61.3%であるが、これにより安定した遺伝子拡散防止が可能とは考えにくく、達成率100%とするには疑問がある。節間短縮と葉数の増加ついては達成されたと考える。他の計画に対する達成度は適切であると考える。
- 植物型糖鎖修飾抑制技術の開発が閉鎖型植物生産施設に適した有用物質生産基盤植物技術の確立につながるのか、その理由が不明であり説明を要する。
-

【事業化の見通しに関する評価】

- 本課題で開発を目指している糖鎖制御技術の利用にあたり、できる限り早く、具体的なターゲットタンパク・物質の設定や、事業化を担う企業等との対話が進むことを期待する。
- 稔性、草型、早晩性その他の栽培特性等、遺伝学的に複雑な形質の改良にあたっては、育種学的な手法が有用であり、その上で、従来育種では対応できない問題に的を絞って、遺伝子工学的な手法を利用するのが有力な考え方である。育種家との連携強化をはかるべきであろう。

５－２「植物型糖鎖修飾を抑制した植物作出技術開発」

【成果に対する評価】

- 計画どおりに、O 型糖鎖制御技術の開発を進めている点は高く評価できる。
- 計画された事項について適切に達成されていると考えられる。

【事業化の見通しに関する評価】

- 本課題で開発を目指している糖鎖制御技術の利用にあたり、できる限り早く、具体的なターゲットタンパク・物質の設定や、事業化を担う企業等との対話が進むことを期待する。

- 本事業計画に記載されているように、新規技術を特許化しライセンスする方針が適切と考える。

５－３「ウイルスベクターを用いた高効率発現システムの開発」

【成果に対する評価】

- 計画どおりに、効率のよいウイルスベクターの開発を進めている点は高く評価できる。
- 本事業計画に記載されているように、新規技術を特許化しライセンスする方針が適切と考える。

【事業化の見通しに関する評価】

- 本課題で開発を目指しているウイルスベクター技術の利用にあたり、できる限り早く、具体的なターゲットタンパク・物質の設定や、事業化を担う企業等との対話が進むことを期待する。
- CMVベクターの非拡散技術の開発は、興味深い課題である。ただし、野生型CMVとの混合感染が起きた場合に、組換えウイルスの拡散が生じてしまう懸念がある。混合感染がどの程度の問題になりうるのか解明を行い、アブラムシによる媒介試験も含め、さまざまな観点から検討を進め、有用な拡散防止技術の開発と、その有効な利用体系を確立してほしい。

５－４「高効率物質生産に寄与する多重遺伝子発現と転写翻訳系改変に関する研究開発」

【成果に対する評価】

- 中間目標はほぼ達成されたと言える。ただ、実用タンパク発現の確認は途上であり、達成率は80%というのは気になる点である。目的物質生産の効率を向上させるための多重遺伝子発現という重要な研究開発に取り組んでいることは評価できる。
- 計画どおりに、多重遺伝子発現技術や転写翻訳系改変技術の開発を進めている点は高く評価できる。
- 計画された要素技術は適切に達成されていると判断された。

【事業化の見通しに関する評価】

- この研究領域で十分な知見を持つ横浜国立大学であるので、事業化に向けて努力していただきたい。今のところ、2 件の特許出願を準備中とのことであるが、期待している。

- 本課題で開発を目指している多重遺伝子発現技術や転写翻訳系改変技術の利用にあたり、できる限り早く、具体的なターゲットタンパク・物質の設定や、事業化を担う企業等との対話が進むことを期待する。
- 本事業計画に記載されているように、新規技術を特許化しライセンスする方針、植物関連のバイオベンチャー等との提携を視野に入れた方針も適切と考える。プロジェクト後半では成果の達成状況により具体的な事業化の見通しがつけば好ましいと考える。

６．【植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発に関する総合調査研究】

【成果に対する評価】

- 中間目標はほぼ達成されたと言える。本プロジェクトに関わる技術の国内外の状況の把握、さらには本プロジェクトの競争力などについての資料収集とヒアリング調査などを進めたものである。評価用資料だけでは理解しにくかったので質問させていただいた。海外企業によるＰＭＰｓはフェーズIIIまで進んでいるイスラエルの企業があり、フェーズIIは数社、フェーズＩでは数十社あり、この分野での動きが活発になってきたとのことである。問題は、このような分野での国際競争が厳しくなってきた際に、本プロジェクトのような研究がどの程度の競争力を持つかである。この点に関して、原価の低減、栽培サイクルの短縮、安定した品質の確保などの強みがあるとの分析をされております。国を挙げて支援する以上、日本としての強みを認識し、今後の事業化に向けて、遺伝子組換え物質の安全性などを含めてクリアすべき点を調査によって明らかにしていただきたい。
- 十分な成果が得られている。　閉鎖型システム全体の物質・エネルギ収支を明らかにし、エネルギコストが把握され、閉鎖型システムが、原理的には、省資源的、環境保全的、省力、省スペース的でもあることを示すことができるとさらに良い。

【事業化の見通しに関する評価】

- 事業化の見通しは高い。

第４章　評点法による評点結果

第４章　評点法による評点結果

「植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発」に係るプロジェクト評価の実施に併せて、以下に基づき、本評価検討会委員による「評点法による評価」を実施した。その結果は「３．評点結果」のとおりである。

１．趣　旨

評点法による評価については、産業技術審議会評価部会の下で平成 11 年度に評価を行った研究開発事業（39 プロジェクト）について「試行」を行い、本格的導入の是非について評価部会において検討を行ってきたところである。その結果、第 9 回評価部会（平成 12 年 5 月 12 日開催）において、評価手法としての評点法について、

(1)数値での提示は評価結果の全体的傾向の把握に有効である、

(2)個々のプロジェクト毎に評価者は異なっても相対評価はある程度可能である、

との判断がなされ、これを受けて今後のプロジェクト評価において評点法による評価を行っていくことが確認されている。

また、平成 17 年 4 月 1 日に改定された「経済産業省技術評価指針」においても、プロジェクト評価の実施に当たって、評点法の活用による評価の定量化を行うことが規定されている。

これらを踏まえ、プロジェクトの中間・事後評価においては、

(1)評価結果をできる限りわかりやすく提示すること、

(2)プロジェクト間の相対評価がある程度可能となるようにすること、

を目的として、評価委員全員による評点法による評価を実施することとする。

本評点法は、各評価委員の概括的な判断に基づき点数による評価を行うもので、評価報告書を取りまとめる際の議論の参考に供するとともに、それ自体評価報告書を補足する資料とする。また、評点結果は分野別評価、制度評価にも活用する。

２．評価方法

・各項目ごとに４段階（Ａ(優)、Ｂ(良)、Ｃ(可)、Ｄ(不可)<ａ，ｂ，ｃ，ｄも同様>）で評価する。

・４段階はそれぞれ、Ａ(ａ)＝３点、Ｂ(ｂ)＝２点、Ｃ(ｃ)＝１点、Ｄ(ｄ)＝０点に該当する。

・評価シートの記入に際しては、評価シートの《判定基準》に示された基準を参照し、該当と思われる段階に○を付ける。

・大項目（Ａ，Ｂ，Ｃ，Ｄ）及び小項目（ａ，ｂ，ｃ，ｄ）は、それぞれ別に評点を付ける。

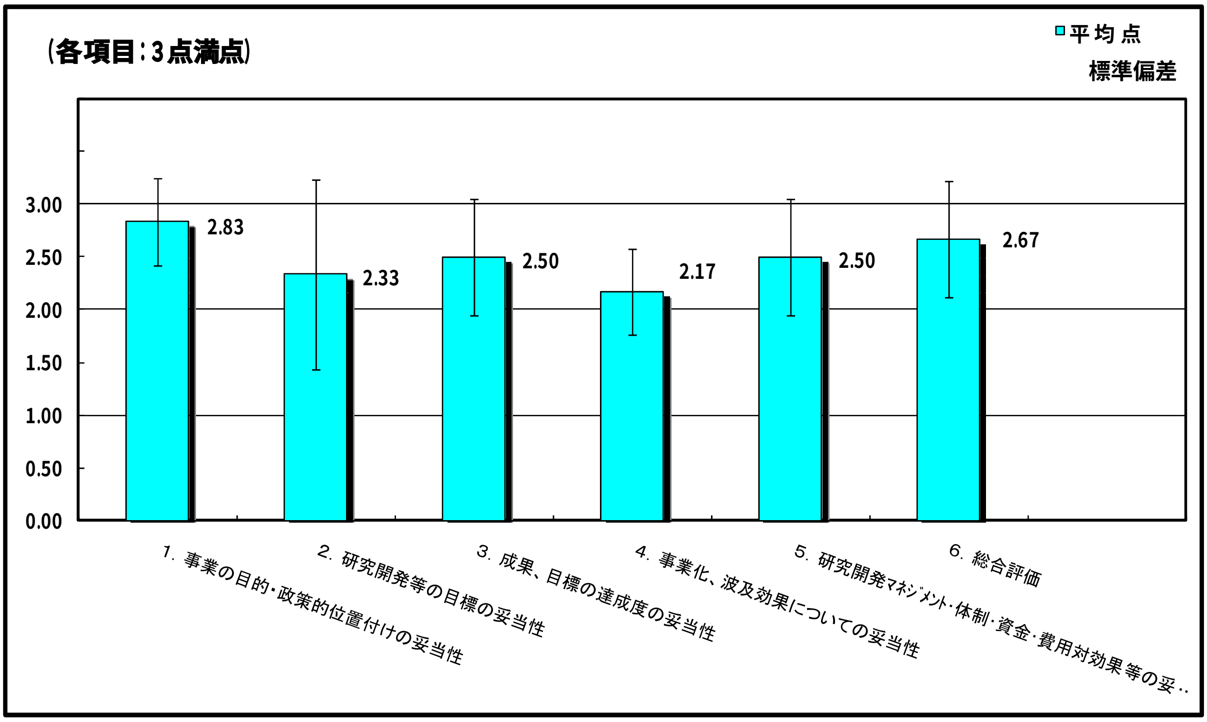
・総合評価は、各項目の評点とは別に、プロジェクト全体に総合点を付ける。

３．評点結果

評点法による評点結果

（植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発）

評　価　項　目	平 均 点	標準偏差
１．事業の目的・政策的位置付けの妥当性	2.83	0.41
２．研究開発等の目標の妥当性	2.33	0.52
３．成果、目標の達成度の妥当性	2.50	0.55
４．事業化、波及効果についての妥当性	2.17	0.41
５．研究開発ﾏﾈｼﾞﾒﾝﾄ･体制･資金･費用対効果等の妥当性	2.50	0.55
６．総合評価	2.67	0.52



「植物機能を活用した高度モノ作り基盤技術開発／植物利用高付加価値物質製造基盤技術開発」プロジェクト評価（中間）

今後の研究開発の方向等に関する提言に対する対処方針

提　　言	対 処 方 針
○　閉鎖型人工環境という全く新しい栽培環境に適した植物の開発にあたっても、従来の育種の技術・知見・ノウハウ・遺伝資源などの技術資産を最大限に活用しつつ、遺伝子工学的手法により従来不可能であった改良を加えることにより、相乗効果を実現することが有用であるため、育種者との連携のさらなる強化が望まれる。	○　これまでも現栽培品種以外の育種素材も活用してきているが、今後、事業化を見据え、育成者権等に留意しながら栽培技術を含めて育種分野との連携を積極的に進めていきたいと考える。実際に、一部遺伝子工学的手法の他に交配を交えて閉鎖型環境に適した基盤植物の開発も始めている。
○　従来の「食料としての農作物」の収量を増加させるための技術や考え方にとらわれず、「有用物質生産担体としての植物開発」のために最適な植物体、栽培法の開発を新規技術として確立することを徹底していただきたい。その際には、閉鎖型完全制御植物生産施設の優位性を生かした方法を積極果敢に導入することを検討してほしい。	○　栽培技術開発に関わる個別課題は、事業前半で閉鎖型の特徴を活かした成長促進技術に取り組み、後半で有用物質の発現量・蓄積量を最大化する技術に取り組む計画で進めている。その中で、閉鎖型でしか成し得ないユニークな特殊環境制御技術を積極的に取り入れて開発していく予定である。
○　閉鎖型植物栽培システムにおける物質生産・エネルギー収支、コストの把握に努め、効率性を評価するための課題を入れることで、事業全体の意義が向上すると思われる。	○　有用物質の蓄積量は、他の生産系との比較や、野外・温室の植物生産系との優位性を示す必要があり、最終的には個別課題で数値目標を設定して取り組んでいきたい。

○　研究開発成果の事業化を早期に実現するために、基盤的課題であっても、開発段階より商品仮説、事業仮説、シナリオ仮説を立て、下流の事業者や、顧客候補との対話を進めることが重要である。	○　これまでの成果を基に、基盤技術の開発と目的物質生産課題とを、より効率的に開発が進むような視点で新規に連携させ、事業の残りの期間において新たな連携体制で取り組むことにした。また、プロジェクト体制外の顧客候補との対話やマスメディアを通した成果情報普及を始めている。
○　最終年度に向け研究開発を進めるに当たっては、欧米の研究開発動向等も見つつ、日本として今後競争力が見込まれる分野の開拓を進めてもらいたい。また、知的財産権について注意を払い特許申請を速やかに行うことが重要である。	○　欧米で実施中の組換え植物による医薬品等有用物質生産大型プロジェクトについて、プロジェクトリーダーを筆頭にネットワークを築いており、今後も密な情報交換を行っていく中で日本として今後競争力が見込まれる分野の開拓を進める。また、当プロジェクト内で開発される基盤技術を含め、事業化へ向けて速やかな知財化を今後も実施する予定。
○　我が国では、未だ遺伝子組換え植物を利用することへの国民の十分な理解･受容が得られていないことから、民間だけでなく国が、国民の不安感を拭うような取組を行うと同時に、国際間での論議や協調を経た上で、実用化までに必要な社会制度等の整備を行うことが望まれる。	○　すでに医療用原材料生産に組換え微生物等は用いられている。組換え植物による生産も十分な説明をすれば受容されると考えており、遺伝子組換え技術に対する国民理解に向けた取り組みを行っているところ。また、組換え植物活用の方策については本プロジェクトの成果を通して、開放系での組換え植物開発を対象とした NEDO 事業および農水省とその実施研究機関、大学等と連携を持って進めたいと考えている。また、本プロジェクト内で引き続き欧米での動向をリアルタイムで収集していく。