

2.2.2 植物ものづくり

(1) 研究開発領域の定義

人類は古くから様々な植物由来物質を利用してきたが、植物バイオテクノロジーの発展に伴い、植物が生産しない物質を植物で生産するという異種生産のホストとしての利用も拡大してきた。「植物ものづくり」という用語は、一般には植物による物質生産だけでなく、微生物による植物代謝物の生産までを含むこともあるが、本稿では植物、特に陸生植物とその培養物等での物質生産について、本来、植物が生産する物質の高効率利用と、植物が本来は生産しない物質を植物で生産させる異種生産の二項に分け、高効率物質生産を実現するためのバイオテクノロジーについても触れながら、解説する。

(2) キーワード

物質生産、木質バイオマス (リグノセルロース)、植物バイオテクノロジー、植物によるバイオ医薬品生産 (Plant Made Pharmaceuticals: PMPs)、脂質、バイオポリエステル、リグニン、セルロース、一過性発現系、植物組織・細胞培養

(3) 研究開発領域の概要

[本領域の意義]

地球温暖化に伴う気候変動は人類の持続可能な成長にとって喫緊の問題となっており、様々な物質生産を化石燃料由来からカーボンニュートラルな植物由来に変えていくことは急務である。また、化石燃料資源は有限であるうえ生産国が偏在しており、国際情勢などの影響を受けやすい。すなわち、様々な物質を植物で生産するための技術開発、バイオプロセスもしくは化学プロセスによる物質合成の出発基幹物質を植物で生産するための技術開発、本来、植物が生産する物質の生産効率や抽出効率を向上させる技術開発は重要な意義をもつ。

[研究開発の動向]

【植物が本来生産する物質の生産】

人類は古くから植物が生産する物質を利用してきた。この項目では、人類が利用する植物由来物質について、細胞壁由来成分、植物特化代謝物、脂質の3種類について解説する。

・細胞壁由来成分 (木質バイオマス: セルロース、ヘミセルロース、リグニン)

植物から水分を除くと、その重量の半分以上は細胞壁成分、すなわち木質バイオマスである。この細胞壁成分は、科学的にはリグノセルロースと呼ばれる炭水化物の塊であり、一般的には非可食バイオマスと呼ばれることもある。本稿ではこの木質/非可食バイオマスを以降、リグノセルロースと記載することにする。リグノセルロースは、セルロース、ヘミセルロース、リグニンからなる。セルロースは、グルコースが直鎖上に重合してできた地上に最も多く存在する炭水化物で、化学的に合成することは極めて困難な物質の一つである。グルコースはバイオ燃料や各種高付加価値物質を生産する、微生物生物生産の出発基幹物質であるが、現在は主として食用農産物であるデンプンやショ糖を原料に製造されている。地球上の耕地面積が限られている中で、物質生産のために食料を利用することは食料不足を誘発することから避けなければならないが、リグノセルロースを分解して高効率にグルコースを得る技術の開発は半世紀以上も試み続けられているが、未だ道半ばである。セルロースからのグルコース回収率向上を目指し、セルロース成分を量的・質的に遺伝子操作で改変するアプローチが行われてきた。特に二次細胞壁 (木質) 中のセルロースは双子葉類、針葉樹においてはセルロースの大部分を占めていると考えられており、植物の遺伝子操作のターゲットになってきたが、セルロース合成に直接働きかけるような手法は難航している。菌類由来のセルラーゼを植物に発現させて分解性を向上させ

る取り組みはよく知られているが、遺伝子組換え植物になることが避けられない¹⁾。セルロースからのグルコース回収効率を上げる目的で他の多糖類を操作する取り組みも多く行われており、むしろそちらの方が成功例が多い。たとえば、陸上植物に含まれるヘミセルロースのほとんどは、キシランが占めており、キシラン含有量の低下がセルロース分解性を向上させることが知られている²⁾。しかし、これは道管にも悪影響を及ぼし成長を阻害するので、遺伝子組換え植物にはなってしまうが、道管でのみキシランを回復させる取り組みなどが行われている³⁾。キシラン側鎖は、セルロースとの相互作用に影響を与える。アラビノース側鎖をキシラン主鎖から外すイネ酵素をイネで過剰発現させた場合は、セルロース量が増大することが見出されている⁴⁾。また、シロイヌナズナのグルクロン酸転移酵素遺伝子の二重変異体では、木部形態も含めた成長への影響は認められないにもかかわらず、酵素糖化性の向上が報告され、キシラン側鎖の糖化効率に与える影響が大きいことが示唆された⁵⁾。現在、針葉樹の相同遺伝子が単離され、育種用マーカーおよび組換え育種に向けた開発が進んでいる⁶⁾。これらのことから、キシラン側鎖の低減はキシラン主鎖の低減よりも、実用面の展開が比較的容易である可能性が高い。キシランはさらに主鎖、側鎖が様々に修飾されることが知られており、特にアセチル基修飾はキシランだけでなく、キシログルカンやグルコマンナンにも見られるヘミセルロースの一般的な修飾構造で、植物細胞壁の乾燥重量あたり2~4%を占めている。バイオマスリファイナリーにおいては、アセチル基修飾もたらす疎水性と立体障害が糖化酵素の反応を阻害するだけでなく⁷⁾、希アルカリ前処理によって酢酸を生じ、糖化後のエタノール発酵を阻害する⁸⁾。よってアセチル基の低減はバイオマス原料作物の育種開発において1つの目標と考えられる。ヘミセルロースへのアセチル基転移に関わる遺伝子をRNAiによりポプラで抑制し、アセチル基量を25%程度低下させるにとどめた場合、生育への影響なしに糖化効率を20%向上させると報告されている⁹⁾。また、細胞壁中でアセチル化キシランのエステラーゼを発現させ、キシラン合成後の主鎖キシロースとアセチル基間のエステル結合を分解する手法も開発されている。糸状菌由来炭水化物エステラーゼ遺伝子を発現させたポプラについては、5年間にわたる野外圃場試験が実施され、木部特異的なプロモーターで発現させれば生長抑制なく、糖化率が13~27%向上した系統が得られたと報告されているが害虫による被害が頻繁に見られたとも報告されている^{10,11)}。アセチル基以外では、イネ科アラビノキシランを修飾するフェルラ酸量の低減を目指して、類似のアプローチが取り組まれている。糸状菌由来のフェルラ酸エステラーゼ遺伝子をイネ科バイオマス原料植物で発現させ、アラビノキシランとリグニンを架橋するフェルロイル基を低減し、糖化率を向上させている^{12,13)}。フェルロイル基を付加する遺伝子も同定されており、その発現抑制系統では細胞壁フェルロイル酸量が30~50%減少し、糖化率が24%向上する¹⁴⁾。また、アラビノキシランにクマロイル基を付加する酵素遺伝子を過剰発現するイネ系統ではパラクマロイル酸量が3倍に増え、逆にフェルラ酸量が60%減少する。この変異系統では、植物体の成長に顕著な影響を与えず、糖化率を20~40%増大させる¹⁵⁾。メカニズムはよくわかっていないが、主に一次細胞壁に含まれる多糖類であるペクチンの生合成を抑制することでセルロースの分解性が向上した事例も報告されており近年注目を集めている¹⁶⁾。ペクチンの生合成抑制によるセルロース分解性の向上は特にイネやスイッチグラスなどのイネ科草本植物で顕著であり、これらの植物での一次細胞壁エンジニアリングの重要性を示唆している。セルロースからのグルコース回収効率を上げる目的で、リグニン形成を制御する取り組みが非常に多く行われている。2000年代まではモノマー生合成経路の酵素遺伝子をノックダウンし、リグニンが量的に低減した植物を用いた糖化率の解析が主として行われた¹⁷⁾。しかし、この手法ではシナミルアルコール脱水素酵素のノックダウン¹⁸⁾やフェルラ酸-5-ヒドロキシラーゼの木部特異的過剰発現¹⁹⁾の例を除いて、植物体に深刻な生長抑制を引き起こすことが明らかとなった²⁰⁾。2010年代以降では、微生物や植物由来のリグニン代謝に関わらない酵素遺伝子を用いて、リグニンモノマーにメチル基を導入して重合を抑制する手法²¹⁾や、葉緑体中のシキミ酸経路に着目し、植物性ポリフェノールでもあるプロテカテク酸を蓄積させる²²⁾、または細胞質にシキミ酸-3リン酸を蓄積させる²³⁾のいずれかでモノマー供給量を操作する手法、脱重合化が容易な新奇な非従来型モノマーをリグニンに取り込ませる手法が開発され²⁴⁾、いずれも顕著な生長抑制が少なく糖化率を向上させることが、多くの植物で確認されている。しかし、これらの新しい手法は遺伝子組換えが前提となっており、社会受容が容

2.2

俯瞰区分と研究開発領域
農業・生物生産

易ではない可能性がある。

• 植物特化代謝物

植物は厳しい環境下を生き抜き、病害虫に抵抗するため、植物は多種多様な二次代謝物（近年では特化代謝物と呼ばれることが多い）を生産することが知られている。人類は古くから、そうした植物特化代謝物を、漢方薬やハーブ、香辛料、染料、香料、甘味料、などとして利用してきた。本稿では、植物特化代謝物のうち、ポリフェノール類とイソプレノイド類を取り上げる。ポリフェノールは、芳香族カルボン酸に由来し、アントシアニンやレスベラトールなど、人間の健康に有用であるとされているものが多く知られている。生合成系がほとんど解明されていることから、微生物での生産も一般的ではあるが、様々な植物の培養細胞や毛状根培養系、組織培養などによる生産が数多く提案されている。フラボノイド類である健康促進特性と、天然食品着色料として知られるアントシアニンは、ポリフェノール類の中のフラボノイド類であり、よく研究されている。アントシアニンは様々な植物の組織培養で生産され得る。広く研究されているサツマイモでは、貯蔵根から誘導された組織培養で塊茎の数倍もの生産が可能である²⁵⁾。スチルベンは、よく知られているレスベラトール、フィトアレキシン、に代表される二環式ポリフェノールであり、液体培地でのピーナッツ毛状根培養系やブドウの培養細胞などで高生産化されている事例がある^{26, 27)}。毛状根培養系はよく用いられる物質生産系であり、毛根病菌 *Agrobacterium rhizogenes* の感染によって誘発される毛状根を切り出し、植物組織培養用培地上で培養すると旺盛な増殖を示し、特に二次代謝産物の生産として利用されることが多い。多くのシソ科やボラギナ科の種子に見られる、2つのカフェイン酸分子から構成されるロスマリン酸は抗酸化物質として注目されており、ヒソップの毛状根培養系やラベンダーの培養細胞での高生産事例が報告されている^{28, 29)}。クルクミンは、ウコンの根に由来する黄色の強力なポリフェノール抗酸化物質であり、胆汁分泌促進効果が知られている。水に難溶であることからその健康促進効果は限定的であったが配糖化酵素を発現させたニチニチソウ培養細胞系を用いて水溶性の非天然配糖体に改変できた事例がある³⁰⁾。こうした二次代謝産物生産系においてはストレス関連因子を処理することによる合成系遺伝子の活性化を図り高収量化する試みがなされてきている。こうした因子としてはジャスモン酸や天然の生物エリシター（キチン、キトサンなど）などが挙げられる。しかし、そのような技術を駆使しても実用化された工業生産例は少ない。工業生産に成功した代表例として挙げられるのはムラサキ培養細胞を使用したシコニンの生産である³¹⁾。ラベンダー培養細胞でのロスマリン酸生産³⁵⁾ や、ビート毛状根でのベタレイン生産³²⁾、ウド培養細胞でのアントシアニン生産³³⁾ については、バイオリアクターなどを用いた大量パイロット生産系の構築が報告されている。バイオリアクターは、細胞の増殖と生理活性物質の採取に必要な環境条件を正確に設定できるように設計された大容量の培養装置の総称であり、培養の種類と目的に応じてさまざまなタイプがある。たとえば、毛状根の培養による代謝産物の生産にはエアリフトバイオリアクターと呼ばれる類の装置が使用される。

β -カロテンは重要な栄養素であり、サプリメントの成分や、化粧品の添加物、動物飼料の着色料、食品の抗酸化剤、日焼け止め成分などとして使用される。 β -カロテンを含むすべてのカルテノイドは、構成単位としてイソテルペンが8個結合しているため、イソプレノイドに含まれる。 β -カロテンは、ニンジンなどの *in vitro* 培養系や柑橘類のカルスで高生産可能なことが知られている。

イソプレノイドには、人類が大量に利用している天然ゴムも含まれ、2,500種以上の植物種で生産されることが知られている。商業用ゴムの生産は現在、ブラジル原産のパラゴムノキに依存しており、生産も東南アジアに偏っている。天然ゴムは、熱分散能、復元力、弾力性、穿刺後の再シール性、耐摩耗性、耐衝撃性、などに優れ、近年の合成ゴムの発展にもかかわらずタイヤ原料としての重要性を依然として保っている。ロシアタンポポとグアキュールが高分子量のゴムを生産することからパラゴムノキを代替する可能性を秘めており、注目を集めている。

2.2

俯瞰区分と研究開発領域
農業・生物生産

• 脂質

植物油は、アブラヤシ、ダイズ、ナタネ（キャノーラ）、ヒマワリ、綿実、ピーナッツ、トウモロコシ、オリーブ、ベニバナ、ゴマ、ココナッツ、亜麻などで生産されており、大部分は食品用途であるが、2割程度は産業用（非食用）で使用されている。植物油の主要な産業利用の1つは、中アブラヤシ核油およびココナッツ油から抽出するラウリン酸（炭素数12の飽和脂肪酸）であり、石鹼、洗剤、などの界面活性剤用途に使用されている。亜麻やダイズなどから取れる不飽和脂肪酸は表面コーティングやインクの合成乾燥剤、接着剤で使用するエポキシ化油に利用されている。また、トウゴマの胚乳に蓄積するひまし油から高純度に取りれるリシノール酸は潤滑剤としての利用の他、ナイロン製造の原料となるウンデシレン酸を生成できる。ウンデシレン酸は抗真菌剤としても利用されている。高エルカ酸ナタネから抽出できるエルカ酸は、押出ポリエチレンやプロピレンフィルム製造に使用されるエルカアミドの原料になる。しかし、エルカ酸は食用にすると心疾患等を引き起こす懸念があるとされており、エルカ酸フリーの食用ナタネ（キャノーラと呼ばれる）からは隔離して栽培する必要がある点が生産の障害になりえる。油糧種子作物は、栄養価を優先して選択されており、主要な5種類の脂肪酸、すなわち、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸をバランスよく含んでいる傾向がある。これらの油中の個々の脂肪酸の最大レベルは、食品用途には適しているが、産業用原料に好ましい純度レベルには達していない。一価不飽和脂肪酸は、耐酸化性が高く、潤滑剤やバイオディーゼルなどの目的で油を使用するための安定性が向上するほか、化学処理によって二重結合部位が容易に切断され、さまざまなナイロンモノマーになることから、産業的価値が高い。オレイン酸は代表的な一価不飽和脂肪酸であるが、8割程度の純度（遺伝子組換えや突然変異育種、ゲノム編集でダイズやベニバナなどにおいて実現できている）では食用としては良いが産業用途では純度が低い。ベニバナにおいて種子で発現する脂肪酸デサチュラーゼおよび脂肪酸チオエステラーゼ遺伝子を標的としたRNAiによる遺伝子ノックダウンにより、93%のオレイン酸を含む組換えベニバナが開発されたとの報告がある³⁴⁾。エルカ酸は、高エルカ酸ナタネであっても50%程度にしか到達しないため、産業用途への問題が大きい。これはエルカ酸がナタネトリアシルグリセロールの外側の位置にのみ見られるためであるが、アブラナ目リムナンテス科のリゾホスファチジン酸アシルトランスフェラーゼ遺伝子を、脂肪酸伸長酵素遺伝子と共に高オレイン酸ナタネ系統に導入することで、エルカ酸レベルを最大72%にまで増加させることに成功したとの報告がある³⁵⁾。脂肪酸・トリアシルグリセロール以外の脂質では多くの植物由来ワックスが産業用途に使用されている。ワックスは、脂肪族アルコールにエステル化された脂肪酸で構成され、一般に全長がC40からC60の範囲を取る。ほとんどの植物は、表面の脂質層の成分としてワックスエステルを生成する。産業的に使用される主要な植物ワックスは、カルナバヤシから得るもので、表面保護剤、つや出し剤等として使用されている。葉面ワックスとは対照的に、砂漠の低木ホホバはワックスを種子に貯蔵しており（ホホバオイル）、室温で液体であることから化粧品などで用いられている。かつては鯨から採取されたワックスエステルが潤滑油に広く使用されていたが、ホホバは収穫量が少なく、その生産は労働集約的であるため、非常に高価であり、現状では鉱油に対抗できるものではない。しかし、一般的な油糧作物の種子でワックスエステルを生産するには基本的には2種類の酵素活性（脂肪アルコールを生成するための Fatty acyl-coenzyme A reductase [FAR] と脂肪アルコールを脂肪酸にエステル化するための wax synthase [WS]）のみを導入すればよくシロイヌナズナでの成功例³⁶⁾があることから、油糧作物で大量生産できる可能性があると考えられる。

【植物が本来生産しない物質の生産（異種発現）】

• 植物によるバイオプラスチック生産

ポリヒドロキシアルカノエート（PHA）は炭素およびエネルギー貯蔵化合物として多種多様な細菌によって生成される生物学的ポリエステルであり、バイオプラスチック、化学薬品、および飼料市場で潜在的なアプリケーションを持つ。最も単純なPHAであるポリ-3-ヒドロキシ酪酸（PHB）は2つの細菌遺伝子を植物に導入することでアセチルCoAから生産できる³⁶⁾。PHBの生産は、バイオマス作物の葉や油糧種子作物の種子

で実証されており、特に色素体ゲノムを形質転換することによる色素体での生産は乾燥重量の20%近くまでに達する³⁷⁾。また、C4植物であるサトウキビにおいてはアセチルCoA合成酵素を導入することでPHB生産量を倍加させることに成功している³⁸⁾。PHAとは全く異なるバイオポリエステルモノマーとして2-ピロン-4,6-ジカルボン酸(PDC)が提唱されているが、これまで化学合成プロセスの報告はなく、微生物を用いたバイオプロセスによる生産のみが報告されていた。最近、シロイヌナズナにおいてではあるが、5遺伝子を導入することで、PDCを乾燥重量の3%程度まで生産させた事例が報告された³⁹⁾。植物においてPDCはシキミ酸経路から分岐する形で生成されるため、PDCへ向かう経路を活性化するとシキミ酸を必要とするリグニン生合成が抑制され、結果的にセルロースの酵素糖化性が高まる^{22, 39)}。PDCを得られる上、セルロースからグルコースを得やすくもなるため一石二鳥と言えよう。PHBやPDCからのバイオプラスチック生産はグルコースから乳酸を経てのポリ乳酸、エタノールを経てのポリエチレン、ポリプロピレン、ソルビトールやイソブタノールを経てのPET生産などと並んでバイオプラスチック生産の中心となる可能性が高い。

• 植物によるバイオ医薬品生産 (PMPs)

PMPsは、1990年代に、遺伝子組換え植物体内で哺乳類の生理活性タンパク質や病原体の一部の遺伝子発現によるワクチン効果が認められる報告が複数なされて以来、新たに確立された研究領域である。以降、植物での高効率な遺伝子導入法、目的遺伝子の高発現のためのベクターやエンハンサーの開発、翻訳後産物の細胞内局在に関する研究、糖鎖などの翻訳後修飾に関する研究、植物生産ワクチン等の動物試験など、個々の要素技術に関して非常に多くの研究開発が欧米の研究機関において行われてきた。しかし、2009年に欧州食品安全機関(EFSA)から当該組換え体の食品・飼料へのコンタミネーションリスクから非食用作物種利用の提言が出されたことに加え、圃場栽培での医薬品製造基準への適合が困難でもあることから、圃場でのPMPs生産はほぼ断念される形となった。一方、日本では、2005年頃からPMPs研究分野と植物工場研究分野を融合させる試みが開始され、最終的にはこの融合研究において上記コンタミネーションリスクの回避と医薬品製造にかかる種々の基準をクリアすることで、2013年、世界で2例目となる遺伝子組換え体を用いた医薬品、インターベリー[®](動物薬)の開発・承認・上市に至り、当該領域での最先端成果を挙げることに成功した⁴⁰⁾。

2012年に承認1例目となったイスラエルProtalix社のゴーシェ病治療薬Eleyso[®]はノンジンの培養細胞を用いたものであった⁴¹⁾が、インターベリーは遺伝子組換えイチゴを栽培する完全密閉型植物工場により医薬品製造の基準を満たすことで、完全密閉型植物工場が、医薬品製造工場としても機能することを実証した。このコンセプトを受けて諸外国でも同様の研究開発が進められ、特に米国ではDARPAやビルゲイツ財団等巨額の研究開発費を投入しており、上述の世界初の承認を得られた日本の植物・医薬品工場に比して、栽培/製造面積が約10倍から100倍規模の遺伝子組換え植物/医薬品等製造工場研究開発拠点が複数箇所整備され、実用化・事業化へ向けた具体的な研究開発が現在も急加速で進められている。

また、日本をはじめ、世界各国で遺伝子組換えオオムギやイネ、タバコを用いてヒト成長因子を主成分とした化粧品⁴²⁾や、再生医療用の培地成分として必須なアルブミン、トランスフェリン、アクチビンA等の成分について、植物を用いたアニマルフリーな製品の開発が活発化している。こうした植物による医療用等タンパク質生産には、現在では一過性発現系と呼ばれる遺伝子発現システムが主流となってきている。一過性遺伝子発現システムは、大別すると植物ウイルスベクター、アグロインフィルトレーション、および、両者を融合したMagniCON[®]に代表されるアグロインフェクション法が主として用いられている。これらは、いずれも植物病原体の感染・増殖機能を利用する方法である。遺伝子組換え植物体を作成するには数ヶ月から半年程度必要であるのに対して、一過性発現系では、感染後約1~2週間以内で発現、目的物質にも因るが、葉生重量1gあたり最大数mgの目的物質を得られる⁴³⁾。

上述の海外における一過性発現系の植物工場では、主にヒトの感染症に対するワクチンや医療用抗体等の生産開発が進められており⁴⁴⁾、メディカゴ社がCOVID-19に対するワクチン開発において臨床試験を経て⁴⁵⁾、

2022年ヒト用植物ワクチンとして世界で初めてカナダで承認された (Covifenz®)。同ワクチンは、メディカゴ社の筆頭株主は、田辺三菱製薬社であり、2021年10月より同ワクチンの日本における臨床試験も開始されたが、2023年2月に田辺三菱製薬社は、メディカゴ社の全ての事業を停止すると発表した。一方、タイでも BAIYA 社が政府の開発資金を得て開発を行い、現在 Phase I の試験に入っている。

米国の Kentucky BioProcessing 社は、これまで日本をはじめとする企業の一過性発現系の受託生産を行い、栽培から精製に至るまでの実生産規模の工程における生産効率、エネルギー消費に関する研究開発も行ってきたが⁴⁶⁾、2020年に British American Tobacco 社に買収され、K-Bio 社として独自にワクチン開発に乗り出している。

上述のように、PMPs が実用化研究、事業化への展開が現実的になると共に、PMPs のコスト性、省エネルギー性を評価する研究も行われてきている⁴⁷⁾。

国内においては、デンカ社が2015年に、前述の一過性発現ベクターとして有名な MagniCon® を開発したドイツの Icon Genetics 社を買収、100%子会社とし、当該技術を用いた実用化研究を行っている。

(4) 注目動向：

[新展開・技術トピックス]

【植物の合成生物学】

近年「システムバイオロジー」、「合成生物学」といった工学的発想での研究開発が注目されている。特に「合成生物学」は異種の物質合成系などを移植するような試みを指すことが多く、「植物ものづくり」分野にフィットする。しかしながら、それに特化した手法があるわけではなく、単なる概念である。合成生物学/植物ものづくりは遺伝子組換え技術を前提としてきたが、近年のゲノム編集技術全盛時代を迎え、典型的物質生産プラットフォームであるベンサミアナタバコをゲノム編集技術により改良して、より物質生産に適した性質を持つよう改良したり、目的物質を生産している植物の酵素遺伝子や転写因子遺伝子をゲノム編集技術により改良(塩基置換により活性を向上させたり、拮抗する物質生産系をノックアウトしたりする)して生産性を高めたりする研究は今後のトレンドとして報告が多くなるだろう。ベンサミアナタバコの事例では遺伝子サイレンシング機構をノックアウトしてタンパク質生産性を高めた事例がよく知られている⁴⁸⁾。ゲノム編集技術の実用化に際しては、ゲノムDNAへのゲノム編集ツールの挿入が問題視され、後代でゲノム編集ツールをゲノム内に含まない個体(ヌルセグレガント)を取得するのが一般的であるが、多くの実用植物は純系ではないので、優良形質の分離が問題となる。そこで、極力核酸やアグロバクテリウムを用いずに、タンパク・RNA複合体(RNP)を物理的手法により植物の分裂組織に送達する手法が注目されているが、それとは別に近年植物ウイルスを用いる手法も注目されている。RNAウイルスによってゲノム編集ツールを植物に送達する場合、一般に植物ゲノムへの外来DNA挿入は起こらないので都合がよい⁴⁹⁾。また、「植物ものづくり」研究において長年植物ウイルスの利用が検討、改良されてきたこともあり、「植物ものづくり」分野に相性が良い。

【ゲノム情報の利用と遺伝子発現制御】

ハイスループットシーケンス技術(次世代シーケンス技術)の隆盛も今後「植物ものづくり」分野に少なからず影響を与えるだろう。近年では、多くの植物の標準系統のゲノム配列が解読されているだけでなく、同種の様々な系統についてもゲノム配列が解読されつつあり、比較ゲノム研究が発展してきている。このような状況では標準系統はもはや標準ではなく、単に最初にゲノム配列が解読された系統に過ぎないと捉えられ、標準系統を標準としたSNP解析、GWAS解析は過去のものになりつつある。最近ではゲノム配列をグラフ表記する手法が注目を集めており、これを利用してSNPsだけでなく構造多型をも含んだGWAS解析を行うことが徐々に試みられてきている^{50, 51)}。こうした手法を用いて、目的物質の生産性がより高い系統の原因を同定して他の優良形質と組み合わせたり、ゲノム編集技術によって同様の変異を導入したりする戦略は、社会受容に課題のある遺伝子組換え技術よりも近い将来での社会実装可能性が高く、今後の一つのトレンドとなることが

予想される。

植物にアグロバクテリウムを浸潤させてタンパク質を一過的に発現させる手法は「植物ものづくり」において一般的である。このとき、発現させる遺伝子をウイルスに組み込み、植物体内でのコピー数の増大や発現細胞の拡大を図る手法がよく用いられている。近年筑波大学の三浦らによって開発された「つくばシステム」はジェミニウイルス由来の複製システムとダブルターミネーターを使用しており⁵²⁾、大腸菌などにも匹敵する世界最高のタンパク質生産が実現できると謳っている。しかもベンサミアナタバコ以外のナス科、ウリ科、キク科、コチョウランなどでも使用できたと説明されており、汎用性という面でも注目される。一過的発現システムは、そのタンパク質発現量だけでなく、アグロバクテリウムを混ぜることによって、ときには10種類以上もの遺伝子を同時発現させられることも大きな強みになっている⁵³⁾。

植物ものづくりにおいては、代謝系関連遺伝子の発現調節が重要であり、自然界では環境変動に応じて関連DNA配列のメチル化・脱メチル化によって制御されていることが相次いで報告されてきた。これを受けて、カリフォルニア大のグループではCRISPR/dCASの系を用いて、国内では植物ウイルスベクターの系を利用して、それぞれ目的DNA配列のみにメチル化・脱メチル化を誘導する技術の開発に成功した。これらは、組換えと異なり元のDNA配列を一切変えることなく遺伝子の発現を制御可能な方法であり、今後、物質生産の広範囲にわたって利用可能な有望な新規技術である⁵⁴⁾。

【高まる植物由来タンパクの需要】

欧米を中心に、畜産による環境への負荷への懸念や、動物食への倫理的抵抗感により、植物由来タンパク質への需要が飛躍的に高まっている。動物由来原料の代わりに植物由来原料を使って加工食品を開発するスタートアップが大きな注目を集めており、2023年には業界をリードするEAT JUST社（卵を使わないマヨネーズの開発、販売）、Planted社（繊維質の食感のある植物ベースの代替肉の開発）、Juicy Marbles社（ステーキと同じ食感の植物ベースの代替肉の開発）などが一堂に会するイベントが予定されている。植物由来タンパクの需要は、欧州だけでも2029年には2兆円の市場になるとの予測もある。

【技術トピックス】

名古屋大学のグループによって2020年に発表された異科接木システム⁵⁵⁾も興味深い。根の形質が良い植物種と茎や葉、花、果実などの形質が良い植物種を接ぎ木するだけでなく、根粒菌が付くマメ科を台木として接ぎ木することにより化学肥料の投入を低減したり、ウイルスベクターを使用しやすい植物種を台木として使用し、穂木での物質生産を制御する戦略などが考えられる。

また、植物の乾燥重量の過半はリグノセルロース（木質/二次細胞壁）が占めており、この代わりに望む物質生産を行うことができれば画期的である。双子葉類において、道管以外のリグノセルロースを失う、転写因子遺伝子の変異体は生育自体にはほとんど問題がないことが知られており⁵⁶⁾、これをベースにした細胞壁と無関係な「植物ものづくり」の可能性は興味深い。また、植物の受精時に花粉管内容物だけが胚珠内で放出されるとPOEMと呼ばれる胚珠の増大が起きることが知られているが⁵⁷⁾、これがイネで起きると、正常な受精後に起きるデンプンの蓄積の代わりにスクロースが大量蓄積することが示された⁵⁸⁾。糖を出発点とした物質合成は様々なものが想定されるため「植物ものづくり」の観点からも興味深く、今後の展開が期待される。

【注目すべき国内外のプロジェクト】

【国内】

日本国内では2020年度よりNEDO材料・ナノテクノロジー部による「カーボンリサイクル実現を加速するバイオ由来製品生産技術の開発」プロジェクトが行われており、その中で「遺伝子組換え植物を利用した大規模有用物質生産システムの実証開発」という課題が遂行されている。低炭素社会構築を指標に、植物の一過性発現系を軸にし、播種から目的物質精製までの一貫した大規模生産システムの基盤技術開発も行われて

いる。また、2022年度よりNEDOムーンショット部による「遺伝子最適化・超遠縁ハイブリッド・微生物共生の統合で生み出す次世代CO₂資源化植物の開発」プロジェクトが開始されている。

【海外】

米国ではエネルギー省が2022年度より「BioPoplar: A tunable chassis for diversified bioproduct production」と題したポプラによる物質生産プロジェクト、「B5: Bigger better brassicaceae biofuels and bioproducts」と題したアブラナ科植物によるバイオ燃料・物質生産プロジェクトに予算を配賦している。

EUではいずれもHORIZON2020もしくはその後継プロジェクトにおいて、バイオリファイナリー用産業用途植物を開発するもの（プロジェクト略称：GRACE）や、ゲノム編集技術等を用いて物質生産用の新たなタバコ属植物を開発するもの（プロジェクト略称：Newcotiana）、チコリーを用いて食物繊維やテルペン化合物を生産するもの（プロジェクト略称：CHIC）、バイオマス植物としてのポプラの代謝系を研究するもの（プロジェクト略称：POPMET）、化粧品原料を植物で生産する研究（プロジェクト略称：InnCoCells）、アルキオンバイオテック社による植物での物質生産用バイオリクター開発と利用に関する研究（略称：AlkaBurst2.0）などが行われている。

（5）科学技術的課題

・多種多様な実用植物への外来遺伝子導入を可能にする技術の開発

「植物ものづくり」では、遺伝子工学的手法によって外来DNAを植物体内に送り込むことは重要な技術である。外来DNAの導入には、古くからアグロバクテリウムを使用する方法が用いられており、ホスト植物の改良を企図する場合は安定性が重要であるため、遺伝子組換え植物とするのが一般的である。一方、ベンサミアナタバコなどの植物を単にものづくりのホストとして用いる場合は、植物体内での外来DNAのコピー数が多い方が大量に物質生産を行うことができるため、植物をある程度まで育ててから、外来DNAを、ゲノムに取り込まれない形で注入し、一過的に遺伝子発現させるケースが多い。アグロバクテリウムによるDNA導入はいずれの場合にも用いることができ、適用可能な植物種範囲はかなり広いものの、あらゆる植物にDNAを送達可能なわけではなく、これによって遺伝子工学的手法を適用可能な植物種が限定されている。アグロバクテリウム自体の改良も一つの課題ではあるが、植物種に依存しない、輸送ペプチドによる手法や、パーティクルガンを活用した手法など、物理的な手段によるDNA送達技術の開発も期待されており、普及しているとはいえ言えないものの報告は相次いでいる^{59, 60}。細胞内での外来DNAのコピー数を増大させるため、自律的増殖能を持つ植物ウイルスを活用したベクターシステム（ウイルスベクター）によって植物に外来DNAを一過的に送り込み、物質生産を行わせる手法もよく用いられている。この際、植物ウイルスとして植物に感染させるか、アグロバクテリウムを用いて植物に導入するか、の選択肢があるが、前者はウイルスの宿主範囲により、後者はアグロバクテリウムの適用対象により制限を受ける。アグロバクテリウムの適用対象は一般に広いが、その後導入したウイルス構成因子が期待した通りに増幅するか、植物体全体に広がっていくかは、結局ウイルスの宿主範囲によって制限を受ける。宿主範囲の広いウイルスベクターも開発されているが、どんな植物にも適用可能というわけではなく、宿主範囲の拡大を目指した研究開発が期待される。また、植物細胞内でのコピー数やどこで目的物質の生産が行われているかという観点で、葉緑体ゲノムにパーティクルガンによって外来DNAを導入する手法もよく行われているが、これが可能な植物種は非常に少なく、また技術的難易度も高いため適用範囲の拡大に向けて今後の研究開発が期待される。

ゲノム編集技術は、近年急速に発達している分野であり、植物でのものづくりにおいてもその利用可能性が期待されているが、ゲノム編集技術は植物核ゲノムもしくは葉緑体、ミトコンドリアのゲノムを改変するものであるから、適用対象としては植物自体の改良に限定される。現在のゲノム編集技術は、単純にDNAを切断してそれが修復される際のエラーによって遺伝子もしくはシスエレメントがノックアウトもしくはノックダウンされるように用いるのが一般的であるが、それで実現できることは限られている。植物ものづくりにおいては、た

例えば、物質生産に関係する酵素の活性を上昇させるような塩基置換を施すといった使い方が想定されるが、現在の技術では置換可能なパターンがかなり限られており、今後の研究開発が期待される。しかし、一方で、相同組換えやそれに類する手法で、ゲノムDNAの特定領域を任意のDNA断片に置換する、プライム・エディティングと呼ばれる手法も開発されており^{61, 62)}、そちらの方が今後主流になっていく可能性が高い。

• 植物版iPS細胞化を可能にする技術開発

現状では、一部の作物を除き、ほとんどの有用植物において遺伝子組換え技術が確立していない。有用遺伝子の同定や機能解析といった研究開発段階においても、有用物質生産といった実用段階においても、汎用な遺伝子導入技術の確立は極めて重要である。多くの場合、遺伝子導入を行うには、組織培養を経てカルス化と再分化が必要であるが、こうした培養方法は植物ごとに条件が異なることが多く、培養系の確立に極めて長時間を要することが多い。脱分化を促すためのケミカルバイオロジーを用いたアプローチ⁶³⁾や、脱分化・再分化に関わる新たな因子の探索が進められている⁶⁴⁾が、未だ、植物版iPS細胞とも呼べる技術は確立されておらず、喫緊の課題と言えよう。多くの植物二次代謝物は特定の組織や細胞でのみ生合成されるため、脱分化と再分化に自在に介入できるようになれば、特定の物質を生合成する組織を培養したり、特定の組織を多く含む植物体を設計したりすることで、植物による物質生産の効率を飛躍的に高めることが可能になる。

(6) その他の課題

植物のものづくりは常にコストや安定性、社会受容の観点でその実現可能性が問題視されてきた歴史がある。植物しか生産していないような物質であっても、ひとたびその生合成系が解明されると、微生物での大量生産が企画され、多くのケースで実現されている。生合成系の解明までは明らかに植物の研究であるが、それ以降は植物研究ではなくなってしまう。植物での生産は、仮に屋外の畑のような広大な開放系で露地生産できればコストも低く、CO₂排出も少ないというメリットがある。しかし、遺伝子組換え植物の開放系での利用には、カルタヘナ法締約国においては関連法による規制があり、これを膨大な労力をかけてクリアしたとしても、社会的に受容されるかはきわめて未知数であり、一般市民を顧客とする営利企業が手掛けるにはリスクが大きすぎる。また、農業と同様に天候による影響を大きく受け生産が不安定になりがちな点もリスク要因となる。こうしたリスクを払ってでも事業化を促すには、微生物で容易に大量生産できる物質は避け、植物ならではの特徴を生かしたターゲット物質を選定することに加え、植物で生産することの環境保護メリットや、地方経済に貢献するメリットを勘案した政策的インセンティブが必要であるかもしれない。遺伝子組換え植物に対する市民の理解を促進することもまた重要な課題である。一方で、ゲノム編集技術を利用して自然界でも起きうるような変異を導入し、外来DNAが植物ゲノム内に残されていない場合は、わが国においては遺伝子組換え体とみなされず、カルタヘナ関連法の規制を受けない(ただし、届出は必要)ことになった。しかし、技術の急速な発展により、相同組換えもしくはそれに類する手法によって、元のゲノムDNA配列から1~数塩基異なる外来DNAを導入して置き換える手法が発達してきており、そのような手法で実現した植物がカルタヘナ法規制対象になるかどうか、といった問題がある。外来DNAを用いているため、手法としては遺伝子組換えに近いが、できた成果物は自然界でも起きうる変異体といえるかもしれない。このように、急速な技術の発展に法律の仕組みが追いついていない部分もあり、技術の社会実装を進めていく上での課題となる可能性

がある。

(7) 国際比較

国・地域	フェーズ	現状	トレンド	各国の状況、評価の際に参考にした根拠など
日本	基礎研究	○	→	取り組んでいる研究グループの数は少ないが、レベルは高い。植物ホルモンや植物の生合成研究については歴史的に強みがあるが、中国や米国に比べると当該分野の研究者人口や研究費が少ない。植物細胞壁を出発点としたものづくりの基礎となる細胞壁研究は比較的層が厚く、高いレベルにある。
	応用研究・開発	○	→	シコニン生産の実用化に代表されるように伝統的に強い分野であったが、近年の実用化例はほとんど聞かない。一方で気候変動問題への対応として、バイオマス利活用の研究開発が活発になっており、植物細胞壁を出発点としたものづくりの成果創出が期待される。当該研究開発分野での実用化・事業化を目標とする国内企業は複数在るが、国内での研究ネットワーク・拠点が少ない、企業における当該分野の人材が不足していることから、海外での研究開発が進められている。現在、当該分野を含め産学連携体制での大きなプロジェクトが無いことも、国内での実用化開発の失速の一因である。
米国	基礎研究	◎	→	質・量ともに圧倒的な強さを誇っており、今後もこの傾向は続くと思われる。ブレイクスルーとなる発見の多くは米国発の研究であることが多い。また、有用物質生産植物種の大型ゲノム解析プロジェクト、高発現ベクターの開発などが進められてきたが、現在は実用化・事業化目的の応用研究へ比重がかなりシフトしている。
	応用研究・開発	◎	→	応用研究においても多くの重要な発見が米国において為されており、今後もその傾向は変わらないと思われる。優れた成果の3~4割は米国発であると言ってよい。大型生産設備の拡充や植物からの目的物質抽出・精製工程の研究、それに伴う施設整備・ランニングコスト・エネルギー消費・製品製造にかかる原価コストの試算等の具体的な研究開発が進められている。
欧州	基礎研究	○	→	重要な研究成果を輩出している。世界有数の森林国であるスウェーデンは伝統的に細胞壁研究に強く、細胞壁を出発点とするものづくりに資する細胞壁研究が盛んである。また、モデル植物研究が一段落し、実用植物の基礎研究が充実している。
	応用研究・開発	◎	↗	植物でのヒト型糖タンパク質生産技術、ICON genetics社の開発したmagniCON®等の一過性高発現ベクター開発成果が顕著であり、知財化、およびライセンス化され世界中で利用されるなど、基礎・基盤技術が開発されてきている。米国のような大型施設は無いが、小・中規模ながら既に製造・上市に至る企業施設を有し、アカデミアと企業を結ぶ国際会議も毎年開催され、研究者間ネットワークが以前から構築されており、応用技術の実用化意欲が高い。特に油糧作物、油脂関係の研究開発に秀でている。研究資金の提供も十分にあり、今後のさらなる飛躍が期待できる。米国と欧州で優れた成果の7~8割を輩出していると言ってよい。
中国	基礎研究	○	↗	ゲノム編集、エピゲノム編集など基礎的論文数は非常に多く報告されており、増加の傾向が続いている。伝統的にイネ科植物での研究開発が盛んであり、多くの成果が生み出されている。日本から移籍した日本人研究者による成果にも注目される。日本に追いつき追い越す勢い。
	応用研究・開発	△	↗	応用研究に関する情報はあまり見えてこないが、既に組換え植物での試薬等生産を事業化している企業等は認められる。ものづくりというほどではないが、応用を目指した研究は増えている。また、総説の発表が多く、今後の発展が見込まれる。一方、この分野における規制・基準がどのようになっているのかわかっているのかは見えて来っていない。

韓国	基礎研究	○	→	植物生産タンパク質の翻訳後修飾などの基礎研究が行われている。高発現化への基礎研究はむしろあまり認められない。日本と同様、研究者数の規模は大きくない。
	応用研究・開発	◎	↘	Bioapp社の開発した家畜用ワクチンの承認が得られたことにより、規制・基準がある程度明確化されたことが実用化への道を拓いている。一方、米国と同様 COVID-19の流行のためか、新規の植物研究における大型プロジェクトは無く、減速傾向にある。PMPs以外では目立った実用化研究はない。
イスラエル	基礎研究	△	→	基礎研究において、特に目立った動きは無い
	応用研究・開発	◎	→	培養細胞ながら遺伝子組換え植物で世界初のヒト用医療用タンパク質の承認をFDAより取得し、ファイザー社と販売契約を結んでいる。その他、ファブリー病治療薬や経口投与型医薬品の開発などを手がけている。
カナダ	基礎研究	△	↗	基礎研究において、特に目立った動きは無い
	応用研究・開発	◎	→	メディカゴ社が人間の医薬品として COVID-19ワクチンの認可を世界で初めて取得。現在、この分野の実用化で一歩リードしている。当該ワクチンの日本国内での臨床試験も開始している。
オーストラリア	基礎研究	△	↗	細胞壁からのものづくりという観点で、基礎となる細胞壁研究は盛んである。若手の台頭もあり今後に期待される。
	応用研究・開発	○	→	日本ほどではないが有用物質生産や脂質代謝工学において一定の実績がある。

(註1) フェーズ

基礎研究：大学・国研などでの基礎研究の範囲

応用研究・開発：技術開発（プロトタイプの開発含む）の範囲

(註2) 現状 ※日本の現状を基準にした評価ではなく、CRDSの調査・見解による評価

◎：特に顕著な活動・成果が見えている

○：顕著な活動・成果が見えている

△：顕著な活動・成果が見えていない

×：特筆すべき活動・成果が見えていない

(註3) トレンド ※ここ1～2年の研究開発水準の変化

↗：上昇傾向、→：現状維持、↘：下降傾向

参考・引用文献

- 1) Y. Li et al., "Overproduction of fungal endo-β-1,4-glucanase leads to characteristic lignocellulose modification for considerably enhanced biomass enzymatic saccharification and bioethanol production in transgenic rice straw." *Cellulose* 26 (2019) : 8249-8261. doi: 10.1007/s10570-019-02500-2
- 2) J. D. Crowe et al., "Xylan is critical for proper bundling and alignment of cellulose microfibrils in plant secondary cell walls." *Front. Plant Sci.* 12 (2021) : 737690. doi: 10.3389/fpls.2021.737690
- 3) P. D. Petersen et al., "Engineering of plants with improved properties as biofuels feedstocks by vessel-specific complementation of xylan biosynthesis mutants." *Biotechnol. Biofuels* 5 (2012) : 84. doi: 10.1186/1754-6834-5-84
- 4) M. Sumiyoshi et al., "Increase in cellulose accumulation and improvement of saccharification by overexpression of arabinofuranosidase in rice." *PLoS One* 8 (2013) : e78269. doi: 10.1371/journal.pone.0078269
- 5) J. J. Lyczakowski et al., "Removal of glucuronic acid from xylan is a strategy to improve the conversion of plant biomass to sugars for bioenergy." *Biotechnol. Biofuels* 10 (2017) : 224. doi: 10.1186/s13068-017-0902-1

- 6) J. J. Lyczakowski et al., "Two conifer GUX clades are responsible for distinct glucuronic acid patterns on xylan." *New Phytol.* 231 (2021) : 1720-1733. doi: 10.1111/nph.17531
- 7) X. Pan, N. Gilkes, and J. N. Saddler "Effect of acetyl groups on enzymatic hydrolysis of cellulosic substrates" *Holzforchung*, 60, no. 4 (2006) : 398-401. doi: 10.1515/HF.2006.062
- 8) L. J. Jönsson, and C. Martín "Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects." *Bioresource Technology* 199 (2016) : 103-112. doi: 10.1016/j.biortech.2015.10.009
- 9) P. M. Pawar et al., "Downregulation of RWA genes in hybrid aspen affects xylan acetylation and wood saccharification." *New Phytol.* 214 (2017) : 1491-1505. doi: 10.1111/nph.14489
- 10) M. Derba-Maceluch et al., "Cell wall acetylation in hybrid aspen affects field performance, foliar phenolic composition and resistance to biological stress factors in a construct-dependent fashion." *Front. Plant Sci.* 11 (2020) : 651. doi: 10.3389/fpls.2020.00651
- 11) S. Pramod et al., "Saccharification potential of transgenic greenhouse- and field-grown aspen engineered for reduced xylan acetylation." *Front. Plant Sci.* 12 (2021) : 704960. doi: 10.3389/fpls.2021.704960
- 12) M. M. Buanafina et al., "Expression of a fungal ferulic acid esterase increases cell wall digestibility of tall fescue (*Festuca arundinacea*)." *Plant Biotechnol. J.* 6 (2008) : 264-280. doi: 10.1111/j.1467-7652.2007.00317.x
- 13) M. M. de O Buanafina et al., "Probing the role of cell wall feruloylation during maize development by differential expression of an apoplast targeted fungal ferulic acid esterase." *PLoS One* 15 (2020) : e0240369. doi: 10.1371/journal.pone.0240369
- 14) S. R. Möller et al., "CRISPR/Cas9 suppression of OsAT10, a rice BAHD acyltransferase, reduces *p*-coumaric acid incorporation into arabinoxylan without increasing saccharification." *Front. Plant Sci.* 13 (2022) : 926300. doi: 10.3389/fpls.2022.926300
- 15) W. R. de Souza et al., "Silencing of a BAHD acyltransferase in sugarcane increases biomass digestibility." *Biotechnol. Biofuels* 12 (2019) : 111. doi: 10.1186/s13068-019-1450-7
- 16) A. K. Biswal et al., "Sugar release and growth of biofuel crops are improved by downregulation of pectin biosynthesis." *Nat. Biotechnol.* 36 (2018) : 249-257. doi: 10.1038/nbt.4067
- 17) K. Yoshida, S. Sakamoto, and N. Mitsuda "In planta cell wall engineering: From mutants to artificial cell walls." *Plant Cell Physiol.* 62 (2021) : 1813-1827. doi: 10.1093/pcp/pcab157
- 18) R. Sibout et al., "CINNAMYL ALCOHOL DEHYDROGENASE-C and -D are the primary genes involved in lignin biosynthesis in the floral stem of Arabidopsis." *Plant Cell* 17 (2005) : 2059-2076. doi: 10.1105/tpc.105.030767
- 19) K. Meyer et al., "Lignin monomer composition is determined by the expression of a cytochrome P450-dependent monooxygenase in Arabidopsis." *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95 (1998) : 6619-23 doi: 10.1073/pnas.95.12.6619
- 20) F. Muro-Villanueva, X. Mao, and C. Chapple "Linking phenylpropanoid metabolism, lignin deposition, and plant growth inhibition." *Curr. Opin. Biotech.* 56 (2019) : 202-208. doi: 10.1016/j.copbio.2018.12.008
- 21) Y. Cai et al., "Enhancing digestibility and ethanol yield of Populus wood via expression of an engineered monolignol 4-*O*-methyltransferase." *Nat. Commun.* 7 (2016) : 11989. doi: 10.1038/ncomms11989

2.2

俯瞰区分と研究開発領域
農業・生物生産

- 22) A. Eudes et al., "Expression of a bacterial 3-dehydroshikimate dehydratase reduces lignin content and improves biomass saccharification efficiency." *Plant Biotechnol. J.* 13 (2015) : 1241-1250. doi: 10.1111/pbi.12310
- 23) S. Hu et al., "Rerouting of the lignin biosynthetic pathway by inhibition of cytosolic shikimate recycling in transgenic hybrid aspen." *Plant J.* 110 (2022) : 358-376. doi: 10.1111/tpj.15674
- 24) P. Oyarce et al., "Introducing curcumin biosynthesis in Arabidopsis enhances lignocellulosic biomass processing." *Nat. Plants* 5 (2019) : 225-237. doi: 10.1038/s41477-018-0350-3
- 25) Konczak et al., "Regulating the composition of anthocyanins and phenolic acids in a sweet potato cell culture towards production of polyphenolic complex with enhanced physiological activity." *Trends Food Sci. Tech.* 16 no. 9 (2005) 377-388. doi: 10.1016/j.tifs.2005.02.007
- 26) F. Medina-Bolivar et al., "Production and secretion of resveratrol in hairy root cultures of peanut." *Phytochemistry* 68 no. 14 (2007) : 1992-2003. doi: 10.1016/j.phytochem.2007.04.039
- 27) A. Tassoni et al., "Jasmonates and Na-orthovanadate promote resveratrol production in *Vitis vinifera* cv. Barbera cell cultures." *New Phytol.* 166 (2005) : 895-905. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01383.x
- 28) Y. Murakami et al., "Rosmarinic acid and related phenolics in transformed root cultures of *Hyssopus officinalis*." *Plant Cell Tissue Organ Culture* 53 (1998) : 75-78. doi: 10.1023/A : 1006007707722
- 29) Pavlov A. et al., "Optimization of rosmarinic acid production by *Lavandula vera* MM plant cell suspension in a laboratory bioreactor." *Biotechnol. Prog.* 21 (2005) : 394-396. doi: 10.1021/bp049678z
- 30) Y. Kaminaga et al., "Production of unnatural glucosides of curcumin with drastically enhanced water solubility by cell suspension cultures of *Catharanthus roseus*." *FEBS Lett.* 555 no. 2 (2003) : 311-316. doi: 10.1016/S0014-5793 (03) 01265-1
- 31) 田畑美穂子、藤田優子「植物細胞培養によるシコニンの生産」In: M. Zaitlin, P. Day, A. Hollaender (eds) *Biotech. Plant Sci.* オーランド (1985) : 207-218.
- 32) Pavlov A., M. Georgiev, and T. Bley "Batch and fed-batch production of betalains by red beet (*Beta vulgaris*) hairy roots in a bubble column reactor" *Zeitschrift für Naturforschung C* 62 no. 5-6 (2007) : 439-446. doi: 10.1515/znc-2007-5-619
- 33) Y. Kobayashi et al., "Large-scale production of anthocyanin by *Aralia cordata* cell suspension cultures." *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 40 (1993) : 215-218. doi: 10.1007/BF00170369
- 34) C. C. Wood et al., "Seed-specific RNAi in safflower generates a superhigh oleic oil with extended oxidative stability." *Plant Biotechnol. J.* 16 (2018) : 1788-1796 doi: 10.1111/pbi.12915
- 35) U. K. Nath et al., "Increasing erucic acid content through combination of endogenous low polyunsaturated fatty acids alleles with Ld-LPAAT + Bn-fae1 transgenes in rapeseed (*Brassica napus* L.)." *Theor. Appl. Genet.* 118 (2009) : 765-773 doi: 10.1007/s00122-008-0936-7
- 36) Y. Poirier et al., "Polyhydroxybutyrate, a biodegradable thermoplastic, produced in transgenic plants." *Science* 256 (1992) : 520-523. doi: 10.1126/science.256.5056.520
- 37) Bohmert-Tatarev et al., "High levels of bioplastic are produced in fertile transplastomic

- tobacco plants engineered with a synthetic operon for the production of polyhydroxybutyrate.” *Plant Physiol.* 155 (2011) : 1690-1708. doi: 10.1104/pp.110.169581
- 38) R. B. McQualter et al., “The use of an acetoacetyl-CoA synthase in place of a β -ketothiolase enhances poly-3-hydroxybutyrate production in sugarcane mesophyll cells.” *Plant Biotechnol. J.* 13 (2015) : 700-707. doi: 10.1111/pbi.12298
- 39) Chien-Yuan L. et al., “In-planta production of the biodegradable polyester precursor 2-pyrone-4,6-dicarboxylic acid (PDC) : Stacking reduced biomass recalcitrance with value-added co-product.” *Metabolic Eng.* 66 (2021) : 148-156. doi: 10.1016/j.ymben.2021.04.011
- 40) 産業技術総合研究所、世界初! 遺伝子組み換え植物からできたイヌ用の薬が販売開始に。ここにもあった、産総研 vol. 2 (2014) : 14.
- 41) Aviezer, D. et al., “A plant-derived recombinant human glucocerebrosidase enzyme—a preclinical and phase I investigation”, *PLoS ONE* 4, no. 3 (2009) : e4792. DOI: org/10.1371/journal.pone.0004792.
- 42) Magnusdottir, A. et al., “Barley grains for the production of endotoxin-free growth factors”, *Trends Biotechnol* 31, no. 2 (2013) : 572-580. DOI: 10.1016/j.tibtech.2013.06.002.
- 43) Gleba, Y. et al., “Plant viral vectors for delivery by *Agrobacterium*”, *Curr Microbiol Immunol* 375 (2014) : 155-192. DOI: 10.1007/82_2013_352.
- 44) Hefferon, K.H., “The role of plant expression platforms in biopharmaceutical development: possibilities for the future”, *Expert Rev Vaccines* 18 (2019) : 1301-1308. DOI: 10.1080/14760584.2019.
- 45) Brian J. W. et al., “Phase 1 randomized trial of a plant-derived virus-like particle vaccine for COVID-19” *Nature med.* 27,(2021) : 1071-1078. doi: 10.1038/s41591-021-01370-1.
- 46) Alam A. et al., “Technoeconomic Modeling of Plant-Based Griffithsin Manufacturing.” *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 6 (2018) : 102. doi: 10.3389/fbioe.2018.00102.
- 47) Matthew J. et al., “Technoeconomic Modeling and Simulation for Plant-Based Manufacturing of Recombinant Proteins” *Recombinant Proteins in Plants* pp159-189 (2022) DOI: 10.1007/978-1-0716-2241-4_11
- 48) Matsuo, and G. Atsumi “CRISPR/Cas9-mediated knockout of the RDR6 gene in *Nicotiana benthamiana* for efficient transient expression of recombinant proteins.” *Planta* 250 (2019) : 463-473. doi: 10.1007/s00425-019-03180-9
- 49) H. Ariga, S. Toki, and K. Ishibashi “Potato virus X vector-mediated DNA-free genome editing in plants.” *Plant Cell Physiol.* 61 (2020) : 1946-1953. doi: 10.1093/pcp/pcaa123
- 50) P. E. Bayer et al., “Plant pan-genomes are the new reference.” *Nat. Plants* 6 (2020) 914-920. doi: 10.1038/s41477-020-0733-0
- 51) R. Della Coletta et al., “How the pan-genome is changing crop genomics and improvement.” *Genome Biol.* 22 (2021) : 3. doi: 10.1186/s13059-020-02224-8
- 52) T. Yamamoto et al. “Improvement of the transient expression system for production of recombinant proteins in plants.” *Sci. Rep.* 8 (2018) : 4755. doi: 10.1038/s41598-018-23024-y
- 53) R. S. Nett, W. Lau, and E. S. Sattely “Discovery and engineering of colchicine alkaloid biosynthesis.” *Nature* 584 (2020) 148-153. doi: 10.1038/s41586-020-2546-8
- 54) Gallego-Bartolomé, J. et al., “Targeted DNA demethylation of the *Arabidopsis* genome

2.2

俯瞰区分と研究開発領域
農業・生物生産

- using the human TET1 catalytic domain”, PNAS 115, no. 9 (2018) : E2125-E1234. DOI: org/10.1073/pnas.1716945115.
- 55) Notaguchi et al., “Cell-cell adhesion in plant grafting is facilitated by β -1,4-glucanases.” Science 369 (2020) : 698-702. doi: 10.1126/science.abc3710
- 56) Mitsuda et al., “NAC transcription factors, NST1 and NST3, are key regulators of the formation of secondary walls in woody tissues of Arabidopsis.” Plant Cell 19 no. 1 (2007) 270-280. doi: 10.1105/tpc.106.047043
- 57) R. D. Kasahara et al. “Pollen tube contents initiate ovule enlargement and enhance seed coat development without fertilization.” Sci. Adv. 2 (2016) : e1600554. doi: 10.1126/sciadv.1600554
- 58) Y. Honma et al., “High-quality sugar production by osgcs1 rice.” Commun. Biol. 3 (2020) : 617. doi: 10.1038/s42003-020-01329-x
- 59) Law. S. S. Y. et al., “Polymer-coated carbon nanotube hybrids with functional peptides for gene delivery into plant mitochondria.” Nat. Commun. 13 (2022) : 2417. doi: 10.1038/s41467-022-30185-y
- 60) R. Imai et al., “In planta particle bombardment (iPB) : A new method for plant transformation and genome editing.” Plant Biotechnol. 37 no. 2 (2020) : 171-176. doi: 10.5511/plantbiotechnology.20.0206a
- 61) Anzalone A. V. et al., “Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA.” Nature 576 (2019) : 149-157. doi: 10.1038/s41586-019-1711-4
- 62) J. Peter et al., “Enhanced prime editing systems by manipulating cellular determinants of editing outcomes”. Cell 184 no. 22 (2021) : 5635-5652. doi: 10.1016/j.cell.2021.09.018
- 63) 中野雄司他「新規植物カルス誘導化合物FPX」『化学と生物』57巻(2019) : 267-269,
- 64) Bo-Hwa, C. and Do-Young, “K. A national project to build a business support facility for plant-derived vaccine”, Clin Exp Vaccine Res 8, no. 1 (2019) : 1. DOI: 10.7774/cevr.2019.8.1.1.