

非食用遺伝子組換え動物の最近の開発状況についての調査

中島 治[#], 穠山 浩, 手島玲子

Study on recent status of development of genetically modified animals developed not for food purposes

Osamu Nakajima[#], Hiroshi Akiyama and Reiko Teshima

Genetically modified (GM) animals can be classified into two groups, those developed for food purposes and those developed not for food purposes. We investigated the recent status of development of GM animals developed not for food purposes. Among the GM animals developed not for food purposes, GM fish, chickens, and pigs were selected because many articles have been published on these organisms. Relevant articles published between 2008 and 2011 were surveyed using PubMed and transgenic fish, chicken, or pig as keywords. Then, studies on organisms that could potentially contaminate the food chain with products from these GM animals were selected and analyzed.

Fifteen articles on GM fish were found. These articles were classified into four categories: bioreactor (n=4), resistance to microorganisms (n=6), resistance to environmental stresses (n=1), and detection of chemicals (n=4). Zebrafish were used in 8 of the articles. Six, three, and three articles were reported from Taiwan, Canada and China.

Seven articles on GM chickens were found. These articles were classified into two categories: bioreactor (n=5), and resistance to pathogens (n=2). Two articles were reported from Japan and Korea, each.

As for GM pigs, 43 articles were found. These articles were classified into three categories: xenotransplantation (n=36), bioreactor (n=6), and environmental cleanup (n=1). Nineteen, seven, six, and five articles were reported from USA, Germany, Korea and Taiwan, respectively.

Understanding the recent development of GM animals produced not for food purpose is important for assuring the safety of food.

Keywords: GM fish and animal, food chain, bioreactor, xenotransplantation, resistance to microorganisms

1. はじめに

近年、遺伝子組換え (GM) 技術の進歩によってGM動物が多数作られるようになった。これらのGM動物の分類の一つの方法として、開発の目的に基づいて食用と非食用に分類することができる。本研究では非食用GM動物について最近の開発状況を調査した。

我が国においてGM動物に由来する肉、卵、ミルク等は食用として未承認であり、食料の一次生産から最終消費までの流れ (フードチェーン) に混入し、流通するこ

とはできない。特に、非食用GM動物は食用にすることを前提とした配慮がなされておらず、フードチェーンに混入してしまったときに何らかの大きな健康危害を引き起こす可能性が考えられる。したがって、非食用GM動物の開発状況を把握し、食品への混入防止について検討することは食品の安全確保のために重要である。

本調査では非食用GM動物の中から報告の多い魚、ニワトリ、ブタを取り上げて文献調査を行った。非食用GM魚、ニワトリ、ブタを扱った論文の中でフードチェーンへの混入につながる可能性が考えられるものについて情報収集を行ない、最近の開発状況を解析した。

2. 方法

2008年から2011年の期間に学術雑誌に掲載された論文を検索した。論文検索にはPubMedを利用してキーワードにはtransgenic fish, chicken, pigを主として用いた。

[#] To whom correspondence should be addressed:

Osamu Nakajima; Division of Novel Foods and Immunochemistry, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141 ext.243; Fax: +81-3-3700-6950; E-mail: onakajim@nihs.go.jp

該当する論文からは年、開発国、区分、発現させた組換えタンパク、非食用GM動物の機能や性質、GM動物を利用して行った研究などについて情報収集を行った。

非食用GM魚の区分は、それらの用途や性質に基づいて、バイオリクター、抗微生物耐性付与、環境ストレス耐性付与、化学物質の検出の4つとした。化学物質の検出の区分について説明すると、環境中での化学物質の検出を目的として、野外でのGM魚の飼育が考えられる場合である。

非食用GMニワトリの区分はそれらの用途や性質に基づいて、バイオリクター、病原菌耐性付与の2つとした。

非食用GMブタの区分はそれらの用途に基づいて、臓器移植、バイオリクター、環境浄化の3つとした。

3. 結果と考察

3-1. 非食用GM魚について

非食用と考えられるGM魚に関する論文は15報が該当した。これらの論文の情報をTable 1に示した。2008年から2011年の合計で各区分に分類される論文は抗微生物耐性付与について6報、バイオリクターについて4報、化学物質の検出について4報、環境ストレス耐性付与について1報があった。

なお、GM微細藻類を魚に食べさせて魚に抗微生物活

性を付与した論文があった¹⁰⁾。この報告は直接魚に遺伝子を導入していないが、組換え遺伝子が利用されているので本研究の対象とした。

また、構造遺伝子の機能やプロモーターの性質の解析、病態モデルの作成、化学物質のスクリーニングを目的に開発された非食用GM魚は閉鎖系実験室の中で飼育されるにとどまり、フードチェーンに混入する可能性は極めて低いと考えて、本研究では対象から外した。

また、開発国は6ヶ国のみであり、ある程度限定されていた。4つの区分の合計で報告数が多い国は台湾（6報）、カナダ（3報）、中国（3報）であった。台湾からの6報の中では5報が抗微生物耐性付与の区分に属した。また、カナダからの3報はいずれもバイオリクターの区分に属しており、開発国ごとに力を注いでいる分野に特徴が見られた。

魚の種類としてはゼブラフィッシュが非食用GM魚の論文全体の15報中の8報で使われており群を抜いて多かった。ゼブラフィッシュはモデル生物として広く使われており、短時間で遺伝子操作の結果が観察できるなどの特長がある。ゼブラフィッシュに遺伝子導入を行った報告が多数あり、その方法が確立しているために、本研究で該当した論文においても多用されたと推定される。ゼブラフィッシュが使われた8報の中で4報は抗微生物耐性付与の区分に属した。ゼブラフィッシュに続いて、ティ

Table 1 Summary of GM fish developed not for food purposes

Categories	Kinds of fish	Expressed recombinant proteins (Function)	Nations	Years	References
Bioreactors	tilapia	humanized insulin	Canada	2008	1
	tilapia	humanized insulin	Canada	2010	2
	tilapia	humanized tilapia insulin	Canada	2011	3
	zebrafish	tilapia insulin-like growth factors-1, 2	Taiwan	2011	4
Resistance to microorganisms	zebrafish	tilapia hepcidin2-3	Taiwan	2010	5
	zebrafish	epinecidin-1	Taiwan	2010	6
	zebrafish	bovine lactoferricin	Taiwan	2010	7
	zebrafish	tilapia hepcidin1-5, shrimp chelonianin	Taiwan	2011	8
	rare minnow	rare minnow Mx-like protein	China	2009	9
	microalgae	bovine lactoferricin-DsRed fusion protein	Taiwan	2009	10
Resistance to environmental stresses	zebrafish	Vitreoscilla hemoglobin (resistance to low concentration of oxygen)	China	2011	11
Detection of chemicals	medaka	GFP (detection of estrogen)	Japan	2008	12
	medaka	choriogenin-GFP fusion protein (detection of estrogen)	Bangladesh	2008	13
	zebrafish	luciferase-GFP fusion protein (detection of mercury)	USA	2008	14
	zebrafish	GFP (detection of estrogen)	China	2010	15

Abbreviation: Discosoma sp. red fluorescent protein (DsRed), green fluorescent protein (GFP)

ラピアが3報で使われており、3報ともバイオリクターの区分に属した。ティラピアは我が国でも食用に利用されるので、これらの論文はフードチェーンへの混入の観点から注目に値する。また、メダカは2報で使われており、いずれも化学物質の検出の区分に分類された。rare minnowという魚を使った論文が1報あった。この魚は日本ではあまり馴染みがないが、中国に生息する淡水性硬骨魚である。

バイオリクターの区分に属する4報の内訳はヒト化したインシュリンが3報、インシュリン様成長因子-1, 2が1報であり、導入される遺伝子に一定の傾向が見られた。

微生物への耐性付与のカテゴリーに属する論文では以下の遺伝子が導入されていた。ティラピア hepcidin2-3, epinecidin-1, ウシ lactoferricin, ティラピア hepcidin1-5, エビ chelonianin, rare minnow Mx様タンパク遺伝子, ウシ lactoferricin-Discosoma sp. 赤色蛍光タンパク (DsRed) 融合遺伝子。

環境ストレスへの耐性付与のカテゴリーでは *Vitreoscilla* という細菌のヘモグロビン遺伝子が導入されていた。

化学物質の検出の区分では4報の中の3報がエストロジェンの検出を目的としていた。これらの論文では環境中のエストロジェンを内分泌かく乱物質の観点から取り上げていると推定される。これらの論文4報とも green fluorescent protein (GFP) 遺伝子あるいは GFP と choriogenin あるいはルシフェラーゼとの融合遺伝子をメダカあるいはゼブラフィッシュに導入しており、レポーター遺伝子として GFP が頻繁に使われていた。

非食用GM魚について研究用と産業用に分類すると以下ようになる。研究用の非食用GMとしてはバイオリクター¹⁴⁾のカテゴリーに属する論文が該当する。バイオリクターについては産業での利用が意識されていると思われるが、組換えタンパクの発現量が少ないなど

の問題があり、現在は研究途上にあると考えられる。産業用の非食用GM魚としては微生物への耐性付与⁵⁻¹⁰⁾、環境ストレス耐性付与¹¹⁾、化学物質の検出¹²⁻¹⁵⁾のカテゴリーに属する論文が該当する。これらはそれぞれ一定の効果が認められているようであり、産業的な利用の可能性が考えられる。

3-2. 非食用GMニワトリについて

非食用と考えられるGMニワトリの論文は7報が該当した。収集した情報をTable 2にまとめた。バイオリクターに分類される報告が5報あった。この中で3報をヒトエリスロポエチンまたはエリスロポエチンとFcの融合タンパクを発現させた論文が占めた。エリスロポエチンは赤血球の産生を促進する糖タンパクであり、医療での利用を念頭に置いていると思われる。また、ニワトリへの遺伝子導入のためのベクターにはレトロウイルスが多用されていたが、導入する遺伝子の長さ制限がある。エリスロポエチンは165個のアミノ酸から成り、そのcDNAが短いことも論文報告が多いことに関係があると思われる。バイオリクターの区分では導入遺伝子としてエリスロポエチンの他にヒト顆粒球コロニー刺激因子遺伝子、卵胞刺激ホルモン遺伝子が使われていた。

病原菌耐性付与の区分では2報の論文が報告されていた。導入遺伝子ではニューカッスル病ウイルス hemagglutinin-neuraminidase タンパク遺伝子、鳥インフルエンザウイルスポリメラーゼを阻害する小ヘアピンRNA遺伝子が使われていた。

開発国に注目すると、日本と韓国から2報ずつ論文が報告されていた。

非食用GMニワトリについて研究用と産業用に分類すると以下ようになる。研究用の非食用GMニワトリとしてはバイオリクター¹⁶⁻²⁰⁾のカテゴリーに属する論文が該当する。バイオリクターについては産業での利用が意識されていると思われるが、組換えタンパクの発現

Table 2 Summary of GM chickens developed not for food purposes

Categories	Products / Characteristics	Nations	Years	References
Bioreactor	h granulocyte-colony stimulating factor	Korea	2008	16
	h erythropoietin	Japan	2008	17
	h follicle-stimulating hormone	Israel	2009	18
	h erythropoietin / Fc	Japan	2010	19
	h erythropoietin	Korea	2010	20
Resistance to pathogens	Newcastle disease virus hemagglutinin-neuraminidase protein (resistance against the virus)	USA	2008	21
	shRNA inhibiting avian influenza virus polymerase (suppression of influenza transmission)	UK	2011	22

Abbreviation: human (h), small hairpin RNA (shRNA)

量が少ないなどの問題があり、現在は研究途上にあると考えられる。産業用の非食用GMニワトリとしては病原体への耐性付与^{21, 22)}のカテゴリーに属する論文が該当する。これらはそれぞれ一定の効果が認められているようであり、産業的な利用の可能性が考えられる。

3-3. 非食用GMブタについて

非食用と考えられるGMブタの論文は43報が該当した。なお、ブタの培養細胞を使って実験を行い、ブタの個体にまで至っていない研究については、ただちにフードチェーンへの混入につながらないと考えて本研究の対象外とした。

該当する論文の情報をTable 3, 4に示した。まず、3つの区分の合計では、最近の4年間で毎年10–12報の論文が発表されており、ほぼ一定して報告されていた。開発国に注目すると、3つの区分の合計では米国（19報）が圧倒的に報告数が多く、ドイツ（7報）、韓国（6報）、台湾（5報）が続いた。米国とドイツの論文は臓器移植に分類されるものが大多数あるいはすべてであった。一方、韓国の論文は臓器移植とバイオリクターに分類される論文が3報ずつ報告されていた。開発国によって力の注ぐ分野が異なる傾向が示唆された。

区分ごとに分類した論文数を調べると、4年間の合計で臓器移植36報、バイオリクター6報、環境浄化1報であった。臓器移植に分類される論文が大多数を占めて、最近の4年間で毎年ほぼ一定の数の論文が発表されていた。

臓器移植の区分に属するGMブタについての情報をTable 3に示した。GT-KOブタ、ヒトCD46、ヒトDAFトランスジェニックブタが登場する論文はそれぞれ15報、13報、6報と多かった（重複あり）。いずれもブタの臓器を移植するときの拒絶反応を抑制する試みの研究であった。これらについて説明すると、GT-KOブタはヒトの自然抗体によって認識される主要な異種抗原を発現しないようにしたブタである。ヒトCD46、ヒトDAFトランスジェニックブタはヒトの補体の活性化を調節するタンパクを発現させたGMブタである。臓器移植の区分に属する論文で使われている導入遺伝子はこれら以外に以下のものがあつた。H-トランスフェラーゼ、ヒト白血球抗原-DR15+、ブタ内在性レトロウイルス特異的小ヘアピンRNA、ヒトA20、ヒトCD59、ヒトトロポモジュリン、ブタリンパ球関連抗原4-Ig、ブタ内在性レトロウイルスgagとpol遺伝子に対するsiRNA、ヒト白血球抗原-E/ヒトβ-2ミクログロブリン、ヒトCD55、ヒトヘムオキシゲナーゼ1、ヒトCD39、ヒトCD73、ヒト組織因子経路阻害剤、水溶性ヒト腫瘍壊死因子-α受容体1-Fc、ヒトCD47、ヒト組織因子経路阻害剤-ヒトCD4融合タンパ

ク。

次に、臓器移植に分類される論文をさらに5つの細区分に分類した。5つの細区分とは、(i) 新規にGMブタを作成、(ii) ヒヒまたはサルにGMブタの臓器を移植、(iii) マウスにGMブタの臓器を移植、(iv) ヒトまたはヒヒの血清にGMブタの細胞や臓器をさらす、(v) ブタ内在性レトロウイルスの分析である。細区分 (i) に属する、新規にGMブタを作成した論文は10報であり、臓器移植の区分に属する論文の全体の23%にすぎず、少なかった。残りの4つの細区分には2007年以前に作成したGMブタを利用して臓器移植に関連する実験を行ったと推定される33報の論文が属し、臓器移植の区分全体の77%に達した。具体的には、細区分 (ii), (iii), (iv), (v) に属する論文はそれぞれ10報, 3報, 11報, 3報であった（重複は1報あり）。

なお、文献37, 57については論文の要旨中に導入遺伝子の名称が記載されておらず、文献37についてはGMブタの種類を要旨中の記載通りにmulti-transgenicとした。

バイオリクター、環境浄化の区分に属する非食用GMブタについての情報をTable 4に示した。バイオリクターの区分については、ヒト凝固第9因子を発現させた論文が2報あつた。他の導入遺伝子にはヒト顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子、ヒトフォン・ヴィレブラント因子、ヒトエリスロポエチン、ヒトリゾチームがあつた。環境浄化の区分についてはフィターゼを発現させた1報のみだつた。この報告はえさ中のフィチン酸塩を分解して糞尿中のリンの含有を低下させた非食用GMブタを開発することを目的としていた。

非食用GMブタについて研究用と産業用に分類すると以下のようなになる。研究用の非食用GMブタとしては臓器移植²³⁻⁵⁸⁾、バイオリクター⁵⁹⁻⁶⁴⁾、環境浄化⁶⁵⁾のカテゴリーに属する論文が該当する。臓器移植については現在のところ移植片の拒絶反応の問題がまだ十分に克服できておらず、研究途上である。しかし、近年では臓器移植についての活発な研究が行われており、将来にこのような問題が解決すれば産業用に臓器移植のための非食用GMブタが飼育される可能性がある。環境浄化のための非食用GMブタについては論文数が少なく、まだ研究途上にあると考えられる。

4. まとめ

本研究では非食用GM動物の中から非食用GM魚、ニワトリ、ブタの開発状況について文献調査を行った。フードチェーンへの混入の可能性が考えられる非食用GM魚、ニワトリ、ブタの研究にとりして15報、7報、43報の論文が該当した。合計すると65報になった。近年では非食用GMブタについての研究が盛んであることが明らか

Table 3 Summary of GM pigs developed not for food purposes (Xenotransplantation)

Kinds of GM pigs (Experiments)	Nations	Years	References
GT-KO, hCD46 (transpl. of hearts to primates)	USA	2008	23
GT-KO, hDAF (transpl. of organs to baboons)	USA	2008	24
GT-KO, GT-KO/HT, hCD46, GT-KO/hCD46 (exposure of PBMCs & PAECs to human or baboon sera)	USA	2008	25
HLA-DR15+ (transpl. of skin to mice)	Taiwan	2008	26
HLA-DR15+ (transpl. of skin to mice)	Taiwan	2008	27
HT (characterization of cartilage)	USA	2008	28
hDAF (exposure of PAECs to human sera)	Taiwan	2008	29
PERV-specific shRNA (knockdown of PERV expression)	Germany	2008	30
hA20 (examination of PAECs & hearts)	Germany	2009	31
hCD59/hDAF/h thrombomodulin	Germany	2009	32
porcine CTLA4-Ig, GT-KO/porcine CTLA4-Ig	USA	2009	33
GT-KO, GT-KO/hCD46 (transpl. of islets to monkeys)	USA	2009	34
si RNA against gag and pol PERV genes	USA	2009	35
hDAF, GT-KO (transpl. of kidneys and hearts)	USA	2009	36
multi-transgenic (examination of PERV expression)	Germany	2009	37
HLA-E/human beta 2-microglobulin (examination of lymphoblasts and endothelial cells)	Germany	2009	38
hCD55, hCD59, hCD46 (exposure of skins to baboon sera)	Spain	2010	39
GT-KO, hCD46 (examination of PBMCs)	USA	2010	40
hCD59	Korea	2010	41
hHO1/hCD39/hCD73	Italy	2010	42
hDAF (+) , hDAF (+) /hHO-1 (+) , hDAF (+) /hHO-1 (-) (exposure of PAECs to monkey sera)	Taiwan	2010	43
GT-KO, GT-KO/hCD46 (transpl. of kidneys to baboons)	USA	2010	44
GT-KO/hCD46 (transpl. of hearts to baboons)	Germany	2010	45
GT-KO, GT-KO/hCD46 (transpl. of livers to baboons)	USA	2010	46
GT-KO (exposure of liver cells to human or baboon sera)	USA	2010	47
GT-KO, hCD46, hTFPI (exposure of PAECs to baboon sera)	USA	2010	48
GT-KO, GT-KO/hCD46 (transpl. of livers to baboons)	USA	2010	49
GT-KO/hCD46 (transpl. of livers to baboons)	USA	2011	50
GT-KO, hCD55, hCD59, hCD39, hHT (transpl. of kidneys to baboons)	France	2011	51
hCD46 (transpl. of hearts to baboons)	Germany	2011	52
GT-KO, GT-KO/hCD46 (examination of mesenchymal stromal cells)	USA	2011	53
Soluble h tumor necrosis factor- α receptor 1-Fc	Korea	2011	54
hCD47 (transpl. of B-lymphoma cells to mice)	Unknown	2011	55
GT-KO (perfusion of lungs with human blood)	USA	2011	56
Unknown (exposure of fibroblasts to sera or plasma from humans or baboons)	Spain	2011	57
hDAF, hTFPI-hCD4 fusion protein	Korea	2011	58

Abbreviations: α 1, 3-galactosyltransferase knock out (GT-KO), human (h), complement regulatory (CD), decay acceleration factor (DAF), H-transferase (HT), human leukocyte antigen (HLA), porcine endogenous retrovirus (PERV), cytotoxic T lymphocyte-associated antigen (CTLA), heme-oxygenase (HO), tissue factor pathway inhibitor (TFPI), porcine aortic endothelial cell (PAEC), peripheral blood mononuclear cell (PBMC), transplantation (transpl.)

になった。これらの論文を開発国ごとに分類した情報を Table 5に示した。非食用GM魚、ニワトリ、ブタの論文を合計すると、論文報告の多い国は米国 (21報)、台湾 (11報)、韓国 (8報)、ドイツ (7報)であった。米国か

らの論文が圧倒的に多く、米国からの21報の中で19報が非食用GMブタについてであり、本調査に該当する論文の中で大きな割合を占めた。台湾からは非食用GM魚とブタについて6報、5報の論文発表があり、非食用GM魚の

Table 4 Summary of GM pigs developed not for food purposes (Bioreactor, Environmental cleanup)

Categories	Products (Experiments)	Nations	Years	References
Bioreactor	h factor IX (pharmacokinetics in rats)	Taiwan	2008	59
	h granulocyte-macrophage colony stimulating factor	Korea	2008	60
	h factor IX (analysis of N-glycan)	USA	2008	61
	h von Willebrand factor	Korea	2009	62
	h erythropoietin	Korea	2009	63
	h lysozyme	China	2011	64
Environmental cleanup	Phytase (analysis of manure)	USA	2008	65

Abbreviation: human (h)

Table 5 Summary of GM fish, chickens and pigs developed not for food purposes

Nations	GM animals developed not for food purposes			
	fish	chicken	pig	Total
USA	1	1	19	21
France			1	1
Germany			7	7
Spain			2	2
Taiwan	6		5	11
Korea		2	6	8
Italy			1	1
China	3		1	4
Canada	3			3
Bangladesh	1			1
Japan	1	2		3
Israel		1		1
UK		1		1
Unknown			1	1
Total	15	7	43	65

論文の割合が高いことが特徴的だった。韓国からは非食用GMニワトリ、ブタについての論文が2報、6報あった。ドイツからは7報の論文発表があり、すべてが非食用GMブタについてであった。

非食用GM動物は将来有効に利用される可能性が考えられる。しかし、これらがフードチェーンに混入しないように防止するための管理方法や、フードチェーンへの混入を監視するための検知の分析方法を確立することが望まれる。たとえば、ヒトエリスロポエチンなどの生理活性物質を生産させた非食用GM動物に由来する肉などは外見では通常の肉などと区別ができない。しかし、これらの肉などを摂取してしまうと何らかの健康への影響を起す可能性が考えられる。したがって、非食用GM動物に由来する肉などをフードチェーンに混入させないために、それらを正確に検知することは重要と考えられる。

今後も同様な研究を継続して、非食用GM魚や動物の

開発状況を把握して食品の安全確保につなげたい。

5. 謝辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金「非食用モダンバイオテクノロジー応用生物の食品への混入危害防止のための検知法開発に関する研究 (H22-食品-一般-001)」の一環として実施した。

引用文献

- 1) Wright, J. R. Jr., Snowdon, J., Hrytsenko, O., Morrison, C. M. and Pohajdak, B.: *Transgenic Res.*, **17**, 991-2 (2008)
- 2) Hrytsenko, O., Pohajdak, B. and Wright, J. R. Jr.: *Transgenic Res.*, **19**, 305-6 (2010)
- 3) Hrytsenko, O., Rayat, G. R., Xu, B. Y., Krause, R., Pohajdak, B., Rajotte, R. V. and Wright, J. R. Jr.: *Transgenic Res.*, **20**, 1397-8 (2011)
- 4) Hu, S. Y., Liao, C. H., Lin, Y. P., Li, Y. H., Gong, H. Y., Lin, G. H., Kawakami, K., Yang, T. H. and Wu, J. L.: *Transgenic Res.*, **20**, 73-83 (2011)
- 5) Hsieh, J. C., Pan, C. Y. and Chen, J. Y.: *Fish Shellfish Immunol.*, **29**, 430-9 (2010)
- 6) Peng, K. C., Pan, C. Y., Chou, H. N. and Chen, J. Y.: *Fish Shellfish Immunol.*, **28**, 905-17 (2010)
- 7) Lin, C. Y., Yang, P. H., Kao, C. L., Huang, H. I., Tsai, H. J.: *Fish Shellfish Immunol.*, **28**, 419-27 (2010)
- 8) Pan, C. Y., Peng, K. C., Lin, C. H. and Chen, J. Y.: *Fish Shellfish Immunol.*, **31**, 275-85 (2011)
- 9) Su, J., Yang, C., Zhu, Z., Wang, Y., Jang, S. and Liao, L.: *Fish Shellfish Immunol.*, **26**, 828-35 (2009)
- 10) Li, S. S. and Tsai, H. J.: *Fish Shellfish Immunol.*, **26**, 316-25 (2009)
- 11) Guan, B., Ma, H., Wang, Y., Hu, Y., Lin, Z., Zhu, Z. and Hu, W.: *Mar. Biotechnol. (NY)*, **13**, 336-44 (2011)
- 12) Kurauchi, K., Hirata, T. and Kinoshita, M.: *Mar. Pollut. Bull.*, **57**, 441-4 (2008)

- 13) Salam, M. A., Sawada, T., Ohya, T., Ninomiya, K. and Hayashi, S.: *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.*, **43**, 272-7 (2008)
- 14) Kusik, B. W., Carvan, M. J. 3rd and Udvadia, A. J.: *Mar. Biotechnol (NY)*, **10**, 750-7 (2008)
- 15) Chen, H., Hu, J., Yang, J., Wang, Y., Xu, H., Jiang, Q., Gong, Y., Gu, Y. and Song, H.: *Aquat. Toxicol.*, **96**, 53-61 (2010)
- 16) Kwon, M. S., Koo, B. C., Choi, B. R., Park, Y. Y., Lee, Y. M., Suh, H. S., Park, Y. S., Lee, H. T., Kim, J. H., Roh, J. Y., Kim, N. H. and Kim, T.: *Mol. Reprod. Dev.*, **75**, 1120-6 (2008)
- 17) Kodama, D., Nishimiya, D., Iwata, K., Yamaguchi, K., Yoshida, K., Kawabe, Y., Motono, M., Watanabe, H., Yamashita, T., Nishijima, K., Kamihira, M. and Iijima, S.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **367**, 834-9 (2008)
- 18) Harel-Markowitz, E., Gurevich, M., Shore, L. S., Katz, A., Stram, Y. and Shemesh, M.: *Biol. Reprod.*, **80**, 1046-52 (2009)
- 19) Penno, C. A., Kawabe, Y., Ito, A. and Kamihira, M.: *Transgenic Res.*, **19**, 187-95 (2010)
- 20) Koo, B. C., Kwon, M. S., Lee, H., Kim, M., Kim, D., Roh, J. Y., Park, Y. Y., Cui, X. S., Kim, N. H., Byun, S. J. and Kim, T.: *Transgenic Res.*, **19**, 437-47 (2010)
- 21) Perozo, F., Villegas, P., Estevez, C., Alvarado, I. R., Purvis, L. B. and Saume, E.: *Avian Dis.*, **52**, 253-9 (2008)
- 22) Lyall, J., Irvine, R. M., Sherman, A., McKinley, T. J., Núñez, A., Purdie, A., Outtrim, L., Brown, I. H., Rolleston-Smith, G., Sang, H. and Tiley, L.: *Science*, **331**, 223-6 (2011)
- 23) Byrne, G. W., Stalboerger, P. G., Davila, E., Heppelmann, C. J., Gazi, M. H., McGregor, H. C., LaBreche, P. T., Davies, W. R., Rao, V. P., Oi, K., Tazelaar, H. D., Logan, J. S. and McGregor, C.G.: *Xenotransplantation*, **15**, 268-76 (2008)
- 24) Issa, N. C., Wilkinson, R. A., Griesemer, A., Cooper, D. K., Yamada, K., Sachs, D. H. and Fishman, J. A.: *J. Virol.*, **82**, 12441-8 (2008)
- 25) Hara, H., Long, C., Lin, Y. J., Tai, H. C., Ezzelarab, M., Ayares, D. and Cooper, D. K.: *Transpl. Int.*, **21**, 1163-74 (2008)
- 26) Tu, C. F., Tai, H. C., Chen, C. M., Huang, T. T., Lee, J. M., Yang, T. S., Chen, C. H., Tseng, Y. L., Chou, N. K. and Lee, P. H.: *Transplant. Proc.*, **40**, 578-80 (2008)
- 27) Tai, H. C., Tu, C. F., Lee, J. M., Ho, L. L., Tseng, Y. L., Chou, N. K., Yang, T. S., Weng, C. N., Lee, P. H., Chang, K. J. and Tang, Y. B.: *Transplant. Proc.*, **40**, 570-3 (2008)
- 28) Costa, C., Brokaw, J. L. and Fodor, W. L.: *Transplant. Proc.*, **40**, 554-6 (2008)
- 29) Lee, J. M., Tu, C. F., Tai, H. C., Chou, N. K., Weng, C. N., Lee, Y. C. and Lee, P. H.: *Transplant. Proc.*, **40**, 551-3 (2008)
- 30) Dieckhoff, B., Petersen, B., Kues, W. A., Kurth, R., Niemann, H. and Denner, J.: *Xenotransplantation*, **15**, 36-45 (2008)
- 31) Oropeza, M., Petersen, B., Carnwath, J. W., Lucas-Hahn, A., Lemme, E., Hassel, P., Herrmann, D., Barg-Kues, B., Holler, S., Queisser, A. L., Schwinzer, R., Hinkel, R., Kupatt, C. and Niemann, H.: *Xenotransplantation*, **16**, 522-34 (2009)
- 32) Petersen, B., Ramackers, W., Tiede, A., Lucas-Hahn, A., Herrmann, D., Barg-Kues, B., Schuettler, W., Friedrich, L., Schwinzer, R., Winkler, M. and Niemann, H.: *Xenotransplantation*, **16**, 486-95 (2009)
- 33) Phelps, C. J., Ball, S. F., Vaught, T. D., Vance, A. M., Mendicino, M., Monahan, J. A., Walters, A. H., Wells, K. D., Dandro, A. S., Ramsoondar, J. J., Cooper, D. K. and Ayares, D. L.: *Xenotransplantation*, **16**, 477-85 (2009)
- 34) van der Windt, D. J., Bottino, R., Casu, A., Campanile, N., Smetanka, C., He, J., Murase, N., Hara, H., Ball, S., Loveland, B. E., Ayares, D., Lakkis, F. G., Cooper, D. K. and Trucco, M.: *Am. J. Transplant.*, **9**, 2716-26 (2009)
- 35) Ramsoondar, J., Vaught, T., Ball, S., Mendicino, M., Monahan, J., Jobst, P., Vance, A., Duncan, J., Wells, K. and Ayares, D.: *Xenotransplantation*, **16**, 164-80 (2009)
- 36) Knosalla, C., Yazawa, K., Behdad, A., Bodyak, N., Shang, H., Bühler, L., Houser, S., Gollackner, B., Griesemer, A., Schmitt-Knosalla, I., Schuurman, H. J., Awwad, M., Sachs, D. H., Cooper, D. K., Yamada, K., Usheva, A. and Robson, S. C.: *Am. J. Transplant.*, **9**, 1006-16 (2009)
- 37) Dieckhoff, B., Kessler, B., Jobst, D., Kues, W., Petersen, B., Pfeifer, A., Kurth, R., Niemann, H., Wolf, E. and Denner, J.: *Xenotransplantation*, **16**, 64-73 (2009)
- 38) Weiss, E. H., Lilienfeld, B. G., Müller, S., Müller, E., Herbach, N., Kessler, B., Wanke, R., Schwinzer, R., Seebach, J. D., Wolf, E. and Brem, G.: *Transplantation*, **87**, 35-43 (2009)
- 39) Quereda, J. J., Martínez-Alarcón, L., Mendoça, L., Majado, M. J., Herrero-Medrano, J. M., Pallarés, F. J., Ríos, A., Ramírez, P., Muñoz, A. and Ramis, G.: *Transplant. Proc.*, **42**, 3239-43 (2010)

- 40) Hara, H., Campanile, N., Tai, H. C., Long, C., Ekser, B., Yeh, P., Welchons, D., Ezzelarab, M., Ayares, D. and Cooper, D. K.: *Xenotransplantation*, **17**, 370-8 (2010)
- 41) Ahn, K. S., Won, J. Y., Park, J. K., Sorrell, A. M., Heo, S. Y., Kang, J. H., Woo, J. S., Choi, B. H., Chang, W. K. and Shim, H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **400**, 667-72 (2010)
- 42) Vargiolu, A., Manzini, S., de Cecco, M., Bacci, M. L., Forni, M., Galeati, G., Cerrito, M. G., Busnelli, M., Lavitrano, M. and Giovannoni, R.: *Transplant. Proc.*, **42**, 2142-5 (2010)
- 43) Tu, C. F., Tai, H. C., Wu, C. P., Ho, L. L., Lin, Y. J., Hwang, C. S., Yang, T. S., Lee, J. M., Tseng, Y. L., Huang, C. C., Weng, C. N. and Lee, P. H.: *Transplant. Proc.*, **42**, 2138-41 (2010)
- 44) Lin, C. C., Ezzelarab, M., Shapiro, R., Ekser, B., Long, C., Hara, H., Echeverri, G., Torres, C., Watanabe, H., Ayares, D., Dorling, A. and Cooper, D. K.: *Am. J. Transplant.*, **10**, 1556-68 (2010)
- 45) Bauer, A., Postrach, J., Thormann, M., Blanck, S., Faber, C., Wintersperger, B., Michel, S., Abicht, J. M., Christ, F., Schmitz, C., Schmoeckel, M., Reichart, B. and Brenner P.: *Xenotransplantation*, **17**, 243-9 (2010)
- 46) Ekser, B., Echeverri, G. J., Hassett, A. C., Yazer, M. H., Long, C., Meyer, M., Ezzelarab, M., Lin, C. C., Hara, H., van der Windt, D. J., Dons, E. M., Phelps, C., Ayares, D., Cooper, D. K. and Gridelli, B.: *Transplantation*, **90**, 483-93 (2010)
- 47) van Poll, D., Nahmias, Y., Soto-Gutierrez, A., Ghasemi, M., Yagi, H., Kobayashi, N., Yarmush, M. L. and Hertl, M.: *Cell Transplant.*, **19**, 783-9 (2010)
- 48) Lin, C. C., Ezzelarab, M., Hara, H., Long, C., Lin, C. W., Dorling, A. and Cooper, D. K.: *J. Thromb. Haemost.*, **8**, 2001-10 (2010)
- 49) Ekser, B., Long, C., Echeverri, G. J., Hara, H., Ezzelarab, M., Lin, C. C., de Vera, M. E., Wagner, R., Klein, E., Wolf, R. F., Ayares, D., Cooper, D. K. and Gridelli, B.: *Am. J. Transplant.*, **10**, 273-85 (2010)
- 50) Ezzelarab, M., Ekser, B., Gridelli, B., Iwase, H., Ayares, D. and Cooper, D. K.: *Xenotransplantation*, **18**, 320-7 (2011)
- 51) Le, Bas-Bernardet, S., Tillou, X., Poirier, N., Dilek, N., Chatelais, M., Devallière, J., Charreau, B., Minault, D., Hervouet, J., Renaudin, K., Crossan, C., Scobie, L., Cowan, P. J., d'Apice, A. J., Galli, C., Cozzi, E., Soulillou, J. P., Vanhove, B. and Blancho, G.: *Transplant. Proc.*, **43**, 3426-30 (2011)
- 52) Bauer, A., Renz, V., Baschnegger, H., Abicht, J. M., Beiras-Fernandez, A., Brenner, P., Thein, E., Schmoeckel, M., Reichart, B. and Christ, F.: *Xenotransplantation*, **18**, 232-8 (2011)
- 53) Ezzelarab, M., Ezzelarab, C., Willhite, T., Kumar, G., Hara, H., Ayares, D. and Cooper, D. K.: *Xenotransplantation*, **18**, 183-95 (2011)
- 54) Cho, B., Koo, O. J., Hwang, J. I., Kim, H., Lee, E. M., Hurh, S., Park, S. J., Ro, H., Yang, J., Surh, C. D., D'Apice, A. J., Lee, B. C. and Ahn, C.: *Transplantation*, **92**, 139-47 (2011)
- 55) Wang, C., Wang, H., Ide, K., Wang, Y., Van, Rooijen, N., Ohdan, H. and Yang, Y.G.: *Cell Transplant.*, (2011) in press
- 56) Nguyen, B. N., Azimzadeh, A. M., Schroeder, C., Buddensick, T., Zhang, T., Laaris, A., Cochrane, M., Schuurman, H. J., Sachs, D. H., Allan, J. S. and Pierson, R. N. 3rd.: *Xenotransplantation*, **18**, 94-107 (2011)
- 57) Ramis, G., Martínez-Alarcón, L., Majado, M. J., Quereda, J. J., Mendonça, L., Herrero-Medrano, J. M., Abellaneda, J. M., Gomes-Coelho, K., López-Navas, A., Ríos, A., Ramírez, P. and Muñoz, A.: *Transplant. Proc.*, **43**, 249-53 (2011)
- 58) Lee, H. J., Lee, B. C., Kim, Y. H., Paik, N. W. and Rho, H. M.: *Reprod. Domest. Anim.*, **46**, 325-32 (2011)
- 59) Chang, C. H., Chou, T. K., Yang, C. Y., Chang, T. J., Wu, Y. H. and Lee, T. W.: *In Vivo*, **22**, 693-7 (2008)
- 60) Park, K. W., Choi, K. M., Hong, S. P., Han, G. S., Yoo, J. Y., Jin, D. I., Seol, J. G. and Park, C. S.: *Theriogenology*, **70**, 1431-8 (2008)
- 61) Gil, G. C., Velander, W. H. and Van, Cott, K. E.: *Glycobiology*, **18**, 526-39 (2008)
- 62) Lee, H. G., Lee, H. C., Kim, S. W., Lee, P., Chung, H. J., Lee, Y. K., Han, J. H., Hwang, I. S., Yoo, J. I., Kim, Y. K., Kim, H. T., Lee, H. T., Chang, W. K. and Park, J. K.: *J. Reprod. Dev.*, **55**, 484-90 (2009)
- 63) Cho, S. K., Hwang, K. C., Choi, Y. J., Bui, H. T., Nguyen, V. T., Park, C., Kim, J. H. and Kim, J. H.: *J. Reprod. Dev.*, **55**, 128-36 (2009)
- 64) Tong, J., Wei, H., Liu, X., Hu, W., Bi, M., Wang, Y., Li, Q. and Li, N.: *Transgenic Res.*, **20**, 417-9 (2011)
- 65) Mao, J., Ajakaiye, A., Lan, Y., Olk, D. C., Ceballos, M., Zhang, T., Fan, M.Z. and Forsberg, C. W.: *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 2131-8 (2008)