

新育種技術（NBT）

オーストラリア・ニュージーランド食品規格が主催する ワークショップの報告書

2013年8月

免責声明

FSANZ は、本報告書の内容を使用又は信頼した結果による直接又は間接の喪失又は負傷についての一切の責任を否認する。

本報告書の内容は、外部専門家パネルの議論の要旨であり、必ずしも FSANZ 又は FSANZ の職員の見解を表明したものではない。本報告書中の情報は、情報としてのみ提供されているに過ぎない。内容が特定の目的に適合すること、又は報告書に参照された如何なる者又は企業の専門的資格について表明し保証するものではない。

本報告書中の情報は、法的助言として信頼してはならず、又は法的助言の代わりとして使用してはならない。また、読者は重要な案件でこの情報に依存する前に、自身の技量、配慮及び判断を行使し、関連する食品法及びオーストラリア・ニュージーランド食品規格法の遵守に関することを含め、独立した法的助言を求めること。

内容

免責声明	1
概要	3
序文と背景	5
技術に関する議論	6
早期開花の誘導に続く加速繁殖	6
標的突然変異誘発技術	8
一時的発現のためのアグロ・インフィルトレーション (agro-infiltration)	11

概要

オーストラリア・ニュージーランド食品規格(FSANZ)は、規制当局が関心を示すようになった多くの新しい植物繁殖技術について討議するために技術的ワークショップを開催した。これは、この主題でFSANZが主催したものとしては2回目のワークショップであった。植物繁殖とバイオテクノロジーを専門とする多くの科学者がワークショップに招待された。

ワークショップの目的は：各技術についてFSANZの科学的知識を高め理解を深めること、そして由来する食品製品が遺伝子組換え(GM)食品として見なされるべきか否かを含め、科学的、技術的、そして規制上の課題を討議すること、であった。ワークショップの科学的結論は、規格1.5.2-オーストラリア・ニュージーランド食品規格法の遺伝子組換え技術を使用して生産された食品 - を改訂するに際して適用を検討するときにFSANZが検討する内容となることが考えられる。

議論された技術は以下のものであった。

1. **早期開花の誘導に続く加速繁殖** - 繁殖プロセスを加速させるために樹種の開花時間を短くする技術。この技術は、繁殖の親の一つとして遺伝子組換え早期開花植物系統を使用する。繁殖プロセスの最後の段階で、早期開花導入遺伝子を受け継いでいない植物系統が選定される。
2. **標的突然変異誘発技術** - ゲノムの特定部位に突然変異を導入するために開発された一連の技術。これは、突然変異がランダムに起きる伝統的な突然変異技術とは対照的なものである。各種標的技術がどのように展開するかによって、突然変異が一つ又は少数のヌクレオチドに限定されるか、DNAの新しい種の挿入が行われるか、に分かれる。議論された具体的な技術は以下のものであった。
 - a. **転写活性剤のようなエフェクターヌクレアーゼ(transcription activator-like effector nucleases=TALENs)** - 転写活性剤のようなエフェクターDNA結合ドメインを日特異的DNA開裂ドメイン(ヌクレアーゼ)に融合させることによって発生する人工制限エンドヌクレアーゼ酵素。
 - b. **タイプIIクラスタード(群生した)、一定の間隔を置いた、type II clustered, regularly interspaced, short palindromic repeats) CRISPR)/Casシステム** - 切断のためのゲノムの特定の部位を標的とするために、エンドヌクレアーゼ(Cas9)と共同して小さなガイドRNAに依存する遺伝子操作されたDNAを標的とする複合体。

- c. **メガヌクレアーゼ** - ゲノムの中の特定の部位を標的とすることが出来る大きな切断部位を持つエンドヌクレアーゼ。
 - d. **三重鎖形成オリゴヌクレオチド** - ゲノムの中の特定の部位を標的とするために制限エンドヌクレアーゼに関連している短い、単一鎖の合成オリゴヌクレオチド。
3. **アグロ・インフィルトレーション** - 主として植物の中の遺伝子の一時的及び局部的発現に使われる技術で、通常導入された DNA の植物ゲノムへの統合を伴わない。ベクターを含むアグロバクテリウムの懸濁液をもつインフィルトレーション組織（通常そのままの葉）が関わる。この技術は主として研究用ツールとして開発されたが、今ではワクチンなど高価値タンパク質の生産プラットフォームとして使われている。

1. 早期開花の誘導に続く加速繁殖に関連しては、最終の食品生産システムは従来の植物繁殖方法を用いて開発されたものに相当する、と結論付けられた。従って、由来する食用製品は GM 食品と見なされてはならない。しかしながら、安全性の観点からは、導入された導入遺伝子が最終の食用製品システムから除外されることを確実にするために、早期開花形質転換親システムが完全に特徴づけられることが重要である。この技術は未だ研究段階にあり、従って当面商品は期待されない。

2. **標的突然変異誘発技術**については、それらの技術は全て最初の FSANZ ワークショップで検討されたジंक・フィンガー・ヌクレアーゼ技術と概念として類似であると結論付けられた。小さな変更のみを導入するために使用される場合、これらの技術は他の突然変異生成と比べて際立って大きな食品安全性の懸念を提起するわけではない。全ての導入遺伝子が最終食品生産システムから隔離されてきたことを考えると、由来食品は従来の突然変異技術を用いて生産された食品に類似していると言えるであろう。従って、そのような食品は、GM と見做してはならない。しかしながら、新しい遺伝子を導入するために使用される場合は、その技術は遺伝子組換えと同等であり、従って全ての食用製品は GM と見做されなければならない。

3. **アグロ・インフィルトレーション**については、その技術は食品への適用は限られていると結論付けられた。この種の発現システムを用いて生産された全ての食用製品は精製タンパク質であり、それらがその中で生産されたところの植物自身は食品として使用されないため、食品の安全性上大きな懸念は無い。精製タンパク質製品が GM 食品と見做されるか否かについては、それらの使用及びそれらが由来することの植物が GM であるか否か、による。

謝辞

FSANZ は全ての参加者に対して、快く時間を割いていただいたこと、そして議論において熱心に知識と専門性で貢献して下さったことに感謝する。

序文と背景

オーストラリア・ニュージーランド食品規格(Food Standards Australia New Zealand (FSANZ))は、多くの新しい植物繁殖技術について技術的ワークショップを開催した。これはこの主題について FSANZ が主催する 2 回目のワークショップであった。ワークショップの目的は、各種の新しい繁殖技術についての FSANZ の知識と理解を深め、それらの技術を商業的農業に使用する可能性に関する科学的、技術的そして規制上の課題を検討することであった。

いくつかの新しい植物繁殖技術から生成される製品の規制状況に関して多くの問い合わせが FSANZ に寄せられ、その結果として 2 つのワークショップが立ち上げられた。今日までに評価され承認された遺伝子組換え(GM)食品を生成するために使用された技術（それらは全て遺伝子組換え植物に由来するが）に比べ、多くの新しい技術は、遺伝子組換えである最終食品生産系統に繋がらない。従って、由来食用製品が規格 1.5.2（オーストラリア・ニュージーランド食品規格法（以下「法」）による遺伝子技術を使用して生産された食品）の範疇にあるかは常に明確であるわけではなく、従って、販売前の安全性評価と承認の対象である。

2012 年 5 月に開催された最初のワークショップは、多くの新しい植物繁殖技術に由来する食品は GM 食品と見なすべきであるか否か、又はそれらは従来の食品に近いと言えるか否か、という科学的な問題を検討した。最初のワークショップの報告書は FSANZ ウェブサイト([link](#))で見ることが出来る。2 回目のワークショップでは以下のその他の技術が検討された。

- ・ 早期開花に続く加速繁殖
- ・ 最初のワークショップで討議されなかった標的を狙った突然変異技術、そして
- ・ アグロ・インフィルトレーション

これらのワークショップの科学的結論は、規格 1.5.2(遺伝子工学を用いて生産された食品)を改訂する申請を検討するときに FSANZ が尊重するかもしれない関連する検討事項となるかもしれない。

以下の植物バイオテクノロジーと植物繁殖の専門家である科学者達がワークショップに参加すべく招待された。

氏名	役職
Bernard Carroll 教授	クイーンズランド大学、化学及び分子生物科学学部
Rob Defeyter 博士	CSIRO Plant Industry、知的財産部長
Allan Green 博士	CSIRO Plant Industry、Deputy Chief
Roger Hellens 博士 ¹	ニュージーランド、植物食品研究所、ゲノミクス科学グループリーダー
Peter Langridge 教授	アデレード大学、植物機能性ゲノミクスオーストラリアセンター、センター長兼 CEO
Bill Taylor 博士 ²	CSIRO Plant Industry、事業開発部長
Peter Waterhouse 教授	シドニー大学、分子生物科学学部

その他のワークショップ参加者は FSANZ 職員、オーストラリア政府農業省遺伝子工学規制室、ニュージーランド一次産業省。ワークショップは、FSANZ 科学フェローである Peter Langridge 教授を議長（委員長）として開催された。

技術に関する議論

早期開花の誘導に続く加速繁殖

技術の概要

この技術の主たる目的は、植物が開花する時間（幼若期）を短くすることにより繁殖プロセスを加速することである。木の種によっては 10 年以上という長い幼若期を持つものがあり、それは繁殖プロセスが長時間を要し費用がかかることになる。このことは、新しい形質が野生種から導入された場合、プロセスを通して維持される不要な形質を排除するために広範な戻し交配が必要となる場合に、正にあてはまる。従って幼若期を短くすることは、種によっては極めて重要な繁殖目標である。

早期開花を誘導するには、遺伝子組換え及びより従来のな方法も含めた、多くの異なる手法が存在する。³ 後者の手法は成功の度合いがまちまちであったが、概して開花期間を 12 か

¹ Hellens 博士は現在クイーンズランド工業大学の農業バイオテクノロジー教授である。

² Taylor 博士はその後引退した。

³ 例：自然に早熟な繁殖台木の選定、せん根処理及び環状剥皮、特別な台木への接ぎ木、成長調整物質の

月より短くすることは出来なかった。

他方、遺伝子組換え手法は、果樹の開花期間を大幅に短縮することが出来た。それらは主として、開花進路に関わる種々の遺伝子の過剰発現をもたらす。例えば、LEAFY (LFY)、FRUITFUL(FUL)、APETALA1(AP1)又は FLOWERING LOCUS T(FT)などの開花誘導遺伝子の過剰発現は、ある果実種では大幅な開花期間の短縮に繋がった。RNA 干渉も、開花抑止に関わる特定の遺伝子を沈黙させることにより早期開花を誘導するのに役立った。例：TERMINAL FLOWER 1-1 (TFL1-1)、TERMINAL FLOWER 1-2 (TFL 1-2)。

過剰発現した開花遺伝子（例：FT 及び AP1）の多くは MADS ボックス遺伝子ファミリーに属し、即ちその全てが MADS ボックスとして知られている高度に保存された DNA 結合ドメインによって特徴付けられているタンパク質をコード化する。MADS ボックス遺伝子は動物、菌類及び植物に見られ、一般的に転写因子をコード化する。

加速繁殖への道筋は、数年の間隔を置いて多くの異種交配した世代の生産を容易にするために早期開花形質を使用することである。この戦略は、遠く離れた野生種から単一形質を導入して、次に不要な形質を除去するために高品質の栽培品種と戻し交配させるのに特に有益である。この手法を使えば、10 年以内にいくつかの戻し交配を達成することが可能かもしれない、それは繁殖プロセスの大きな加速になるであろう。最終段階で、従来の繁殖プロセスで導入された関心のある遺伝子（例：新しい疾病耐性遺伝子）のみが残るように、導入遺伝子が反対の意味で選択された。従って、繁殖プロセスは親系統の一つとして遺伝子導入植物から始まるが、最終的な食品生産系統は遺伝子組換えではない。

この手法を用いた最もよく知られた例の一つは、遺伝子組換えリンゴがアメリカシラカンバからの BpMADS4 遺伝子を過剰発現する Flachowsky 他 (2011 年)⁴による研究である。BpMADS4 遺伝子は、*A. thaliana* からの FUL 遺伝子と同族（ホモログ）であり MADS ボックス遺伝子ファミリーの一員である。数か月以内に開花した単一の形質転換系統が選択された。この系統は、野生リンゴ (*Malus Fusca*) の火傷病耐性を遺伝子移入してその形質をリンゴ赤カビ病とうどん粉病への耐性遺伝子と結合させる交雑育種プログラムで使用されている。混ぜ合わされた耐性形質を持った遺伝子組換え播種は、野生種から取得した不要な形質の除去を継続するために、次に「ゴールデン・デリシャス」と交配される。他の選良栽培品種との戻り交配プロセス中に、非遺伝子組換えの、複数耐性の播種を選択することが

適用、ストレスの賦課、そして植物栄養の集中的管理。

⁴ Flachowsky H, Le Roux P-M, Peil A, Patocchi A, Richter K, Hanke M-V (2011). 遺伝子組換え早期開花植物とマーカー補助による選定に基づくリンゴ (*Malus x domestica*) への高速繁殖技術の適用。

出来、それらは更に最終的な商業系統を取得するために従来の繁殖プログラムで使用する事が出来る。これは時間のかかる複雑なプロセスではあるが、伝統的な植物繁殖手法よりも格段に早い。

この技術は主として木の繁殖に使われているが、より広い応用も検討されている。例えば、一年毎に複数世代を可能にする方法として遺伝子型を冬から春に変換する温帯の穀物に。

議論

議論での主な点を以下にまとめる。

- ・挿入された導入遺伝子と早期開花表現型に起因する意図するものと意図しないものも含め全ての変化という点で、このプロセスは繁殖プロセスの后者の段階で分離される導入遺伝子をもたらずので、これらは早期発生に限定されることになる。
- ・安全性の観点から最も重要なことは、最初の系統の中の導入遺伝子のコピー数が判るように、出発点の形質転換系統が完全に特徴づけられている（判っている）ことである。そうすれば、全ての挿入物が最終的な食品生産系統から除外されたことを確実にすることは合理的に明確になる。
- ・全ての導入された導入遺伝子が分離されれば、それらの導入遺伝子に関連する全ての変化は、最早最終的な食品生産系統又は製品には存在しないことになる。従って、最終食品生産系統及び由来の食用製品は、従来の植物繁殖手法を用いて由来したものと同等になる。
- ・この技術は最初の交配に要する時間を加速するにはうまく行くが、満足すべき商業製品が開発されるまでには、依然として長い時間がかかるのである。従って商業製品は当面期待出来ない。
- ・早期開花技術と種の生産技術や逆繁殖など、最初のワークショップで議論されたその他の技術との間には類似点が存在する。3つのケース全てで、繁殖プロセスを容易にするために早期の段階で遺伝子導入植物系統が使われたが、最終の食品生産系統は非 GM である。

結論

繁殖プロセスが早期開花導入遺伝子の完全除去に結果としてなるのであれば、最終の食品生産システムは遺伝子組換えではなくなる。従って、この技術を使ったことによる食用製品は GM 食品と見做されてはならない。

標的突然変異誘発技術

この技術の概要

検討された技術は以下のものであった。

- ・転写活性剤のようなエフェクターヌクレアーゼ(transcription activator-like effector nucleases=TALENs)
- ・タイプ II クラスタド(群生した)、一定の間隔を置いた、短回帰性反復(type II clustered, regularly interspaced, short palindromic repeats =CRISPR)/Cas システム
- ・メガヌクレアーゼ
- ・トリプル・ヘリックス (三重らせん) 形成性オリゴヌクレオチド (triple helix-forming oligonucleotides = TFO)

以下の表 1 に記載されたこれらの技術は、そこには最初の FSANZ ワークショップで検討されたジンク・フィンガー・ヌクレアーゼ(ZFN)技術も含まれているが、それらは全て植物ゲノムの特定部位での二重らせん切断(double stranded break=DSB)の導入という同じ目標を達成するための異なるツールと見做すことが出来る。一旦 DSB が作られると、切断部位(break site)に突然変異を導入する選択肢は、使用される技術に関係なく同じである。

突然変異は、非相同末端結合(non-homologous end joining = NHEJ)又は相同性指向修復(homology directed repair = HDR)のいずれかの、細胞自身の修復経路を使って導入される。NHEJ が植物の修復経路において支配的であるが、この二つの修復経路は忠実性とプレート要件において異なっている。NHEJ では、切断された末端(cleaved end)は修正(modify)され、その後わずかな配列相同性又は配列無相同性を用いて直接結合される。HDR では、修復を導くのに相同の配列が必要である。通常の場合では、相同の修復テンプレートは姉妹染色分体によって提供され、元の配列の忠実な復元に繋がる。しかしながら、切断部位に特定の変更を導入するには、外因性の DNA テンプレートを提供すれば良い。結果としての変化は、点変異から新しい遺伝子の挿入まで及ぶことがある。

植物細胞へのデリバリーという意味では、ZFN 技術、TALENs 及び CRISPR/Cas9 などの技術は、通常アグロバクテリウム介在の形質転換又はプロトプラスト形質転換のいずれかを用いる。このことは一時的ではなく安定した遺伝子の発現をもたらすが、その意図は商業

化の前に導入された DNA を分離することである。メガヌクレアーゼの場合、それらの安定性のために、それらは直接植物細胞に移動（例：遺伝子銃又はエレクトロポレーションによって）又は間接的に mRNA を経由して移動することが出来、その後植物細胞の中で翻訳される。いずれのデリバリー方法も、DNA の導入とその後のホストゲノムへの統合を避ける。TFO の場合、アグロバクテリウム形質転換を経てのデリバリーは可能ではないので、遺伝子銃、エレクトロポレーション、ポリエチレングリコール介在形質転換及び炭化ケイ素ホイスター介在の形質転換などの技術に依存する。

表 1：各種標的突然変異誘発技術の説明

技術	DNA 認識と切断	意見
ジンク・フィンガー・ヌクレアーゼ(ZFN)技術 ⁵	DNA 認識はジンク・フィンガー-DNA 結合ドメインの遺伝子操作されたアレーによって行われ、それぞれが3つのヌクレオチドと相互作用する。切断は FokI 由来の非特定エンドヌクレアーゼドメインによる。	ZFN ダイマーは 36-bp 配列まで標的とすることが出来る。ZFN の特異性の調整は、確立したトリプレット特異性を持つドメインのシャッフリングに依存する。
転写活性剤のようなエフェクターヌクレアーゼ(TALENs)	DNA 認識は、12 から 26 の反復のアレーからなる転写活性剤のようなエフェクター(TALE)タンパク質によって行われ、それぞれの反復が1つのヌクレオチドと相互作用する。ZFN 技術のように、切断は FokI 由来の非特定エンドヌクレアーゼドメインによる。	操作された TALENs の構築は困難だが、自動化可能なハイスループット技術を含め、各種組み立て技術が開発されている。TALENs はシロイヌナズナ、タバコ、コメ及びヤマカモジグサ（パンチ・グラス）の標的突然変異に使われてきており、近い将来大豆、ジャガイモ及びカノーラなどの穀物に広げられると予測されている。
クラスタード（群生した）、一定の間隔を置いた、短回帰性反復(CRISPR)/ CRISPR 関連システム	DNA 認識は、標的配列に対して補完的な配列をその中に埋め込んだ人工的単一ガイド RNA (sgRNA)によって行われる。切断はタイプ II CRISPR 関連ヌクレアーゼ(Cas9)によって行われる。	RNA に導かれた Cas9 は、DSBs を特定の部位に導入するために各種の細胞と生物の中で機能することが出来る。CRISPR/Cas9 システムが RNA と DNA の間の二重又は三重の形成に依存するため、それはタンパク質ベースのシステムよりもかなり高い特異性を潜在的に持っている。タンパク質の複雑な操作が必要となる ZFN 技術や TALENs とは対照的に、sgRNA の短い断片のみが求める配列を標的にするために設計される必要がある。CRISPR/Cas はこれまでシロイヌナズナ、タバコ、ソルガム及びコメでの標的突然変異のために使われてきた。
メガヌクレアーゼ	DNA 認識は、かなり長い (12-40bp) そして時には非対称の認識配列に結合する DNA 結合ドメインによって行わ	あつらえたサブストレート特異性を持つ再設計されたメガヌクレアーゼは、極めて特異性が高く極めて安定したタンパク質

⁵ ZFN は、新しい植物繁殖技術に関する最初の FSANZ ワークショップで詳細に議論され、ここで比較のために含まれている。

	れる。メガヌクレアーゼの場合、DNA 結合ドメインは触媒の(切断)ドメインから明確に分離されていない。このためメガヌクレアーゼが特定の DNA 配列を標的とするために操作することを困難にしている。	であるという利点を持つ。緑藻クラミドモナス葉緑体(1-Crel)からの再設計されたメガヌクレアーゼはトウモロコシの <i>liguleless1</i> の中に突然変異を成功裏に導入するために使用されてきた (Gao 他、2010 年)。 ⁶
トリプレックス形成性オリゴヌクレオチド (TFOs)	DNA 認識は、制限エンドヌクレアーゼに接合した、短い三重らせん形成人口オリゴヌクレアーゼによって行われる。	この手法の適用は主として、らせんがプリン体又はピリミジンによって構成される DNA 断片への三重らせん形成の制限によって妨害される。TFO 技術の全体の効率は低い、高い特異性(核酸 DNA 認識の結果)が的外れの効果を最小にすることを確実に行っている。

議論

議論での主な点を以下にまとめる。

- ・殆どの関心は ZFN、TALENs 及び CRISPR/Cas9 システムの開発に集中した。植物の標的突然変異のためのメガヌクレアーゼ又は TFO 技術の追求には殆ど関心が無い。
- ・各種技術に関して検討する 主な課題の一つは、それらの特異性、特に意図しない(的外れ)効果の可能性である。一般的に、DNA 中の認識部位が長いほど、特異性が大きい。しかしながら、ZFN 技術の場合は、長い認識部位は極めて大きな ZFN の操作が必要になり、それは難しいことである。他方、TALENs については、長い認識部位に対応するために追加の反復を加えることは、多分容易なことである。タンパク質・DNA 結合による認識における主な問題は、相互作用についての現在の理解が未だに全く限られているということである。それとは対照的に、核酸がどのように結合するかの知識は十分蓄積されており、相互作用のための規則は全く正確である。RNA/DNA の相互作用は、多分 DNA/DNA の相互作用よりも正確である。認識についてタンパク質・DNA 結合ではなく核酸の結合に依存するため、CRISPR/Cas9 システムは ZFN と TALENs に比べてより大きな特異性を持つであろう。
- ・一時的なデリバリーシステムも調査中であるが、安定した形質転換が、ヌクレアーゼ構築物を細胞にデリバリーするための望ましい方法であり続ける。安定した形質転換が使用される場合、その目指すところは、最終食品生産システムに導入遺伝子が残らないようにするた

⁶ Gao 他、(2010 年)設計されたエンドヌクレアーゼを使ったトウモロコシの遺伝性標的突然変異。植物ジャーナル 61:176-187。

め、一旦望ましい突然変異が起きたら、導入された構築物を分離することである。

- ・ NHEJ と HDR の双方が細胞の中の DSB のための主な修復メカニズムではあるが、植物細胞の中に自然な HDR が起きることは実際には極めて稀なことである（多分 100 万回に 1 回）。従って、DSB の修復を導くためにテンプレートが提供される場合であっても、植物細胞によって使用される修復メカニズムは HDR ではなく NHEJ になると思われる。NHEJ 修復は通常正確であり効率的であるが、小さな削除又は挿入など不誠実な修復製品を散発的に作り勝ちであり、それがしばしば遺伝子の崩壊に繋がる。
- ・ 各種 ZFN 技術を使った食品に関して最初のワークショップで検討された一般的な原則と課題は、これらの他の標的突然変異技術にも適用される。技術の特異性は常に進歩しており、的外れの効果の可能性を益々制限することが注目された。

結論

この二回目のワークショップで議論された突然変異技術は、概念的には ZFN 技術に似ている。小さな変更を導入するときに使用された場合、このような技術は他の突然変異の形に比べて、より際立って大きな食品安全性の懸念を提起するわけではない。導入された DNA が最終食品生産系統から分離されたとすれば、これらの技術を使って操作された植物に由来する食品は、伝統的な突然変異技術を使って作られた食品と似ていることになるので、従ってそれは GM 食品と見做されてはならない。しかしながら、新しい遺伝子を導入する場合に使われたのであれば、その技術は形質転換と同じであり、その場合全ての食用製品は GM と見做されなければならない。

一時的発現のためのアグロ・インフィルトレーション

技術の概要

アグロ・インフィルトレーションは、主として、安定的に植物の形質を転換する必要なしに、候補遺伝子とプロモーターの活動と機能を評価するための研究ツールとして開発された技術である。この技術では関心のある遺伝子・プロモーターを特定のベクターにクローン化して、それが次にアグロバクテリウムに転換される。アグロバクテリウムは、液体懸濁液の中で植物組織の細胞間スペースに浸潤され、そこで関心のある遺伝子を植物細胞に移動させる。発現は通常一時的であり、標的細胞は通常分裂しないので、導入された DNA が植物ゲノムに統合されることなしに起きる。即ち、その場合の植物は遺伝子導入植物ではないのである。しかしながら、アグロ・インフィルトレーションは、例えば、生殖系列細胞を含む花

がインフィルトレーションのための標的組織である場合、遺伝子導入植物を作るのにも使用できる。アグロ・インフィルトレーションは、非ウイルス又は植物ウイルス由来のベクターを含め、各種発現ベクターを伴って実行することが出来る。

インフィルトレーションの標的として使用される最も一般的な組織は、葉である。バクテリアの懸濁液はそのままの植物の葉にインフィルトレーションすることが出来る。又は、別の方法として葉片、葉又は植物全体が真空下で細菌懸濁液中に沈めることが出来る。この技術はタバコ、シロイヌナズナ、ブドウ、エンドウ及び亜麻を含め、各種植物で有効に使用されてきた。

この技術は、主として研究用ツールとして使われてはきたが、通常は細胞培養で作られる医薬用タンパク質（例：ワクチン）などの高価値製品の生産プラットフォームとしても開発されてきた。この種の技術は、食品加工に使用されるタンパク質、特に酵素、を作るためにも使える可能性がある。

一時的な発現システムとしてのアグロ・インフィルトレーションの主要な特徴は以下の通りである。

- ・生産プロセスの終わりに、植物性素材は廃棄されるか刈り取られる。
- ・生産はほぼ常に温室又は研究所の中で行われる。
- ・それは極めて高い発現レベルが達成され、急速であり、規模の拡大縮小が可能である。
- ・それは比較的廉価であり使用が容易である。

議論

そのシステムが医薬用製品に比べて安価な食品に実際に使用されるであろうか、という議論が重ねられた。酵素生産の分野では、細菌発酵システムは既に極めて費用効率が高いことが注目されていた。また、食品の産業規模の生産には、一時的発現よりも安定的形質転換はより効率的なシステムであるとも提案された。

議論の主要点は以下の通りであった：

- ・食品の観点から言うと、生産される可能性が高い製品は食品加工酵素又は食品添加物であり、その他タンパク質サプリメントの可能性もある。但し、それらの生産に GM 技術が使用されたか否かに関わらず、食品加工酵素と食品添加物は食品とは見做されておらず、法の下で別の規格で規制されていることが注目された。

- ・タンパク質サプリメントなどの食用製品にとって、それが GM 食品と見做されるか否かは、発現ベクターが安定して植物ゲノムに統合されるか否かに依存する。そのような統合は、インフィルトレーションされた領域では低頻度で生じるかもしれないが、体細胞（非生殖系列）のみが関わっている場合、統合された DNA は次の世代には遺伝しない。
- ・この種の発現システムを使って生産される食用製品は精製タンパク質であるため、そしてそれらがその中で生産される植物は食品として使用されないため、この技術は潜在的な食品安全性の懸念は提起しない。

結論

この技術は、食品として使用されるタンパク質の潜在的生産プラットフォームとなることを予想することは出来るが、食品への応用可能性は低い。この場合、いかなる食品安全性の懸念も提起しない。精製タンパク質製品が GM 食品と見做されるか否かは、それらの用途、そしてそれらが由来するところの植物自体が GM であるか否かによる。