

(別紙)

○ 飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令等の施行について（平成15年4月1日付け14生畜第8598号生産局長、水産庁長官通知）一部改正新旧対照表

(傍線の部分は改正部分)

改 正 後	改 正 前
1 安全性に関する確認の対象について <u>確認手続告示に基づく安全性に関する確認は、次に掲げるものを対象として行う。</u> ① <u>組換えDNA技術によって得られた種子植物を含む飼料（以下「組換え種子植物」という。）</u> ② <u>組換えDNA技術によって得られた微生物（細菌、酵母及び糸状菌をいう。以下同じ。）を含む飼料又は組換えDNA技術によって得られた微生物を利用して製造された飼料であって、生きた当該微生物を含有しないもの（以下「組換え微生物飼料」という。）</u> ③ <u>組換えDNA技術によって得られた微生物を利用して製造された飼料添加物であって、当該微生物自体を含有しないもの（以下「組換え微生物利用飼料添加物」という。）</u> <u>なお、その他のものの安全性に関する確認については、個別事例ごとに農林水産省に相談されたい。</u> 既に改正省令に基づく安全性の確認を受けた組換え種子植物を用い、伝統的な育種の手法を用いて作出した品種（以下「後代交配種」という。）は、当該育種過程において組換えDNA技術を用いていないことから、新たな確認を義務付けられるものではないが、 ① 組換えDNA技術により新たに獲得された性質が後代交配種においても変化していないこと。 ② 亜種間での交配が行われていないこと。	1 安全性に関する確認の対象について <u>(1) 確認手続告示は、現在、組換えDNA技術を応用して得られた種子植物（以下「組換え種子植物」という。）又は組換えDNA技術によって得られた非病原性の微生物を利用して製造された飼料若しくは飼料添加物であって当該微生物自体を含有しないもの（以下「組換え微生物利用飼料等」という。）が、開発され、又は流通している実態を踏まえ、制定したものである。なお、その他のものの安全性に関する確認については、個別事例ごとに農林水産省に相談されたい。</u> <u>(2) 既に改正省令に基づく安全性の確認を受けた組換え種子植物を用い、伝統的な育種の手法を用いて作出した品種（以下「後代交配種」という。）は、当該育種過程において組換えDNA技術を用いていないことから、新たな確認を義務付けられるものではないが、</u> ① 組換えDNA技術により新たに獲得された性質が後代交配種においても変化していないこと。 ② 亜種間での交配が行われていないこと。

③ 摂取量、使用部位、加工法等の変更がないこと。
を開発者等において確認することが望ましい。

なお、後代交配種に該当するか否かについて不明な点がある場合は、農林水産省に相談されたい。

2 安全性に関する確認の考え方について

(1) 安全に関する審査について

確認手続告示に基づく安全性に関する確認のための審査は、別添2の「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性審査基準」(以下「審査基準」という。)に基づいて行うものとする。

(2) 組換え種子植物

審査基準により審査が可能な組換え種子植物は、家畜への使用実績のある既存のものとの相違を十分に比較可能なものとする。

また、安全性に関する確認は、組換えDNA技術によって付与されることが期待されている性質、組換えDNA技術によって発生する影響及び発生の可能性等、組換えDNA技術を応用することに伴い発生するすべての事項について評価することにより行う。なお、この場合において、当該種子植物の利用及び加工方法についても考慮する。また、飼料として利用される形態が非たん白質性の抽出物のみに限られる場合等には、そのことを考慮する。

(3) 組換え微生物飼料

審査基準により審査が可能な組換え微生物飼料は、原則として、食品又は飼料として利用された実績を有する非病原性の宿主に由来する組換え体を用いたものであって、かつ、既存の食品又は飼料との相違を十分に比較可

③ 摂取量、使用部位、加工法等の変更がないこと。
を開発者等において確認することが望ましい。

なお、後代交配種に該当するか否かについて不明な点がある場合は、農林水産省に相談されたい。

2 安全性に関する確認の考え方について

(1) 安全に関する審査について

確認手続告示に基づく安全性に関する確認のための審査は、別添2の「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性審査基準」に基づいて行うものとする。

(2) 組換え種子植物

組換え種子植物の安全性に関する確認は、組換えDNA技術によって付加された性質以外のものについて既存のものと同等とみなし得ることを評価した上で、組換えDNA技術によって付加されることが期待されている性質、組換えDNA技術によって発生する影響及び発生の可能性等、組換えDNA技術によって付加されたすべての事項について評価することにより行う。なお、この場合において、当該種子植物の利用及び加工方法についても考慮する。

(3) 組換え微生物利用飼料等

能なものとする。

また、安全性に関する確認は、組換え体、組換え体が生産する生理活性物質、生産物中の常成分の変化その他組換えDNA技術を応用することに伴い発生するすべての事項について評価することにより行う。また、組換え微生物利用に伴う飼料の原材料及び製造方法の変更による影響、発酵過程における組換え体と飼料基質や飼料の細菌叢との相互作用、その結果もたらされる飼料成分の変化等についても考慮し、評価の必要性の有無について検討する。

なお、組換え微生物飼料は、製造方法が多岐にわたることから、一律の基準で評価することが困難な場合には、必要に応じて別途示す安全性審査の考え方にに基づき評価する。

(4) 組換え微生物利用飼料添加物

審査基準により審査が可能な組換え微生物利用飼料添加物は、原則として、以下①又は②のいずれかの実績を有する非病原性の宿主に由来する組換え体を利用して製造されたものであって、かつ、既存の添加物又は飼料添加物との相違を十分に比較可能なものとする。

① 添加物又は飼料添加物の製造に利用された実績

② 食品又は飼料として利用された実績

また、安全性に関する確認は、組換え体、組換え体が生産する生理活性物質、生産物中の常成分の変化その他組換えDNA技術を応用することに伴い発生するすべての事項について評価することにより行う。また、当該飼料添加物の製造、精製等の過程についても評価する。

3～6 (略)

別添1 (略)

組換え微生物利用飼料等の安全性に関する確認は、既存の飼料又は飼料添加物と同等とみなし得る飼料等であることを評価した上で、組換え体、組換え体が生産する生理活性物質、培地成分等の生産物への混入、生産物中の常成分の変化その他組換えDNA技術を応用することに伴い発生するすべての事項について評価することにより行う。また、飼料等の製造、精製等の過程についても評価する。

(新設)

3～6 (略)

別添1 (略)

別添 2

組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性審査基準

I 組換えDNA技術によって得られた種子植物を飼料として用いる場合の安全性審査基準
(削る)

別添 2

組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性審査基準

第1 組換えDNA技術によって得られた種子植物を飼料として用いる場合の安全性審査基準

1 生産物の既存のものとの同等性に関する事項

次の(1)から(4)までの資料から総合的に判断し、当該生産物(組換えDNA技術により得られた種子植物)が既存のもの(宿主植物)と同等とみなし得ると判断できること。

なお、この「同等とみなし得る」とは、当該種子植物の飼料としての安全性を評価するために、既存の飼料(種子植物)を比較対象として用いるという方法が適用できるということであり、ここで、(1)から(4)までに掲げる各要素について検討し、当該植物と既存のものが全体として飼料としての同等性を失っていないと客観的に判断されれば、既存の飼料との比較において、2以下の各事項に掲げられた基準に沿って審査が可能となるものであること。

(1) 遺伝的素材に関する資料

ア 遺伝子が導入される宿主植物の種類及び由来

イ 遺伝子供与体の種類及び由来

ウ 挿入遺伝子の性質

(2) 家畜等の安全な飼養経験に関する資料

申請された生産物の開発に用いた宿主植物による広範囲な家畜等の飼養経験の有無

(3) 飼料の構成成分等に関する資料

ア 宿主植物及び組換え体の構成成分(たん白質、脂質等)の種類及びその量の概要

イ 宿主植物及び組換え体における毒性物質・抗栄養素

	<u>(栄養素の吸収等を阻害する物質。例えば、トリプシンインヒビター、フィチン酸等)等の種類及びその量の概要</u>
(削る)	<u>(4) 既存種と新品種との使用方法の相違に関する資料</u> ア <u>収穫時期(成熟程度)と貯蔵方法</u> イ <u>家畜等の摂取(可食)部位</u> ウ <u>家畜等の摂取量</u> エ <u>調製及び加工方法</u>
(削る)	<u>2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項</u> <u>組換え体の利用目的及び利用方法が明らかであること。</u> <u>3 宿主に関する事項</u> <u>(1) 学名、品種、系統名等の分類学上の位置付けに関する事項</u> <u>学名、品種名及び系統名が明らかであり、それらによりその植物が飼料用に利用されてきた歴史及び広範囲な家畜等の安全な飼養経験があること。</u> <u>(2) 遺伝的先祖に関する事項</u> <u>宿主植物の遺伝的先祖が、毒素及び抗栄養素等の有害生理活性物質を産生する植物であるか否かが明らかであること。</u> <u>(3) 有害生理活性物質の生産に関する事項</u> <u>宿主植物が有害生理活性物質を産生する場合、その種類、作用及び量が明らかであること。</u> <u>(4) 寄生性及び定着性に関する事項</u> <u>宿主植物が、家畜等に寄生又は定着するか否かが明らかであり、寄生又は定着する場合、家畜等に悪い影響を与えるか否かが明らかであること。なお、一般に、種子</u>

植物の場合、それを食する家畜等や他の生物（飼料となる生物）に寄生又は定着することはないことから、上記（１）が明らかにされていること。

（５） ウイルス等の病原性の外来因子に汚染されていないことに関する事項

ア 当該組換え体の開発に用いた宿主植物に感染する病原体が知られているか否かが明らかであること。

イ また、そのような病原体が知られている場合は、当該病原体は家畜等に対する病原性がないか又は家畜等に対する病原性を担う遺伝子が含まれていないこと。

（６） 自然環境を反映する実験条件の下での生存及び増殖能力に関する事項

当該組換え体の開発に用いた宿主植物が、原産地及び日本での生存や増殖能力（雑草化の可能性を含む。）が明らかであり、強い雑草能力を有しないこと。

（７） 有性生殖周期及び交雑性に関する事項

他の食用及び飼料用植物への遺伝子拡散の観点から、有性生殖周期（原産地と日本でのライフサイクル）や交雑性（他の植物種との交雑の可能性）が明らかであること。

（８） 飼料に利用された歴史に関する事項

宿主植物が、飼料として利用されてきた歴史が明らかであること。

（９） 飼料の安全な利用に関する事項

当該組換え体の開発に用いた宿主植物に、安全な飼料利用のために用いられた技術的な経緯がある場合、それが明らかであること。

（１０） 生存及び増殖能力を制限する条件に関する事項

宿主植物の生存及び増殖を制限する条件が明らかであること。

(削る)

雑草化した際の防除方法等が明らかであること。

(11) 近縁種の有害生理活性物質の生産に関する事項

当該組換え体の開発に用いられた宿主植物の近縁種において、有害生理活性物質を産生するものがある場合、その有害生理活性物質が当該組換え体においても産生されているか否かが明らかであること。なお、当該組換え体にその有害生理活性物質が産生されている場合は、その摂取量を基に安全性に問題がないと判断できること。

4 ベクターに関する事項

(1) 名称及び由来に関する事項

- ・発現のために利用されたプラスミド等のベクターの名称及び由来が明らかであること。
- ・家畜等に対する有害性が知られていないこと。

(2) 性質に関する事項

ア DNAの分子量を示す事項

DNAの分子量又は塩基数が明らかであること。

イ 制限酵素による切断地図に関する事項

宿主植物への遺伝子の挿入に用いる発現ベクター（注：発現ベクターとは、挿入しようとする遺伝子が組み込まれたベクターのこと。以下同じ。）の切断地図が明らかにされていること。この場合、用いた制限酵素の名称の他、断片の数、サイズ及び電気泳動パターンが明らかにされていること。

ウ 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

既知の有害なたん白質を産生する塩基配列が含まれていないこと。

(3) 薬剤耐性に関する事項

プラスミド等のベクター中に、薬剤耐性遺伝子が含まれている場合は、その遺伝子の性質が明らかであること

(削る)

(4) 伝達性に関する事項

伝達性（ベクターが宿主植物から他の生物へ自ら移動できる性質）がないこと。伝達性がある場合は、伝達域が明らかであること。

(5) 宿主依存性に関する事項

組換えに用いられたベクターが、他の植物、家畜等では増えないこと。他の植物で増える場合は、宿主域が明らかであること。

(6) 発現ベクターの作成方法に関する事項

宿主植物への遺伝子の挿入に用いる発現ベクターの作成方法が明らかであること。

(7) 発現ベクターの宿主への挿入方法及び位置に関する事項

宿主植物への遺伝子の挿入に用いる発現ベクターの宿主への挿入方法及び発現ベクター内における挿入しようとする遺伝子の位置が明らかであること。

5 挿入遺伝子及びその遺伝子産物に関する事項

(1) 供与体に関する事項

ア 名称、由来及び分類に関する事項

名称、由来及び分類が明らかであること。

イ 安全性に関する事項

- ・挿入遺伝子の供与体は、病原性及び毒素産生性がないものであること。また、大腸菌（E.coli）のように病原性がある株が知られている場合、病原性がない株に由来することが明らかであること。
- ・供与体に病原性又は毒素産生性があることが知られている場合、挿入遺伝子自身は病原性又は毒素産生性とは無関係であることが明らかであること。

・挿入遺伝子の供与体は、安全な摂取の経験の有無が明らかにされていること。

(2) 遺伝子の挿入方法に関する事項

ア ベクターへの挿入遺伝子の組込方法に関する事項
ベクターへの挿入遺伝子の組込方法が明らかであること。具体的には、

・宿主植物へ導入するDNA構築物（コンストラクト）の作成方法

・ベクターにプロモーター、オープンリーディングフレーム、ターミネーターを導入した順序及び方法が明らかであること。

イ 挿入遺伝子の宿主への導入方法に関する事項

発現に用いるプラスミドやDNA構築物（コンストラクト）等、挿入遺伝子の宿主（植物体）への導入方法が明らかであること。具体的には、

・挿入遺伝子の宿主への導入方法

・選抜方法（遺伝子が導入された宿主を選抜する方法）

・植物体としての再生方法

が明らかであること。

(3) 構造に関する事項

ア プロモーターに関する事項

用いたプロモーターの由来、性質等が明らかなこと

イ ターミネーターに関する事項

用いたターミネーターの由来、性質等が明らかなこと。

ウ 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

植物体に挿入されるDNAの塩基配列が全て明らかにされ、既知の有害塩基配列が含まれていないこと。

(4) 性質に関する事項

ア 挿入DNAの機能に関する事項

挿入DNAの機能及び挿入DNAから産生されるたん白質の性質、機能等が明らかであり、そのたん白質が有害作用をもたないこと。

イ DNAの分子量を示す事項

挿入遺伝子の分子量又は塩基数が明らかであること

ウ 制限酵素による切断地図に関する事項

宿主植物に導入されたDNA断片について切断地図が明らかにされていること。なお、この場合、用いた制限酵素の名称、断片の数、サイズ及びサザンブロッティング解析パターンが明らかにされていること。

(5) 純度に関する事項

- ・挿入しようとする遺伝子全体の塩基配列、大きさ及び由来が明らかであること。
- ・挿入しようとする全ての遺伝子はクローニングされ、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されていること

(6) 安定性に関する事項

- ・挿入された遺伝子の塩基配列、大きさ及び由来が明らかであること。
- ・安定性を判断するに足りる複数の後代世代において、栽培試験の結果、サザンブロッティング法及びウエスタンブロッティング法により挿入遺伝子の構造、発現部位及び発現量が変化せず、安定性を認めることができること。
- ・なお、この場合、どのラインの何世代の植物体についてこれらの試験を行ったかが明らかであること。
- ・挿入遺伝子により植物に導入された形質や当該遺伝子

の発現量が、世代を経るとともに変化するかどうかを観察されており、その結果、挿入された遺伝子の構造及びコピー数が安定していることが確認されていること。

(7) コピー数に関する事項

- ・ 宿主植物に挿入されたDNAの構造とコピー数（遺伝子はどのように挿入されたのか、挿入された遺伝子はどのような構造になっているのか、挿入遺伝子は1個だけかそれとも重複して入っているか、挿入遺伝子に欠失があるか等）が明らかであること。
- ・ 挿入されたDNAの近傍における植物（組換え体）のDNA配列を明らかにすること。これにより、宿主植物へこの遺伝子が挿入された組込み事象（イベント）が特定されること。すなわち、ここで安全性の確認を求めている組換え体系統（ライン）を特定及び識別ができるような塩基配列情報が明示されること。

(8) 発現部位、発現時期及び発現量に関する事項

- ・ 発現部位、発現時期及び発現量が明らかであること。
- ・ 組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量の変化等に関する考察が行われており、安全性に問題ないと認める合理的な理由があること。

(9) 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

抗生物質耐性マーカー遺伝子を使用している場合は、次のア及びイの各項目について、組換え体内における変化等に関して行われた考察も含め、総合的に判断して、抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に問題がないと判断できること。

ア 遺伝子及び遺伝子産物の特性に関する事項

(ア) 構造及び機能

- ・ 遺伝子については塩基配列、たん白質については

機能が明らかであること。

・挿入した抗生物質耐性マーカー遺伝子以外に有害塩基配列を含まないこと。

・発現するたん白質が酵素の場合、必要に応じ、遺伝子産物の基質特異性が明らかであること。

(イ) 耐性発現の機序、使用方法及び関連代謝産物

・抗生物質の使用法（経口、静注等）が明らかであること。

・耐性発現の機序が明らかであること。

・耐性発現に関連する代謝物質が安全性に問題のないものであること。

(ウ) 同定及び定量方法

遺伝子産物の同定及び定量方法が明らかであること。

(エ) 抗生物質耐性マーカー及び関連代謝物質の不活性化法

抗生物質耐性マーカー及び関連代謝物質の不活性化法が明らかになっていること。

(オ) 消化管内環境における酸又は消化酵素による変化

人工胃液及び人工腸液に対する安定性の試験により、安定性がないことが明らかであること。安定性がある場合においては、安全性に問題ないことを示す合理的な理由があること。

イ 遺伝子及び遺伝子産物の摂取に関する事項

(ア) 予想摂取量

発現量から予想される当該たん白質の摂取量を推定すること。

(イ) 耐性の対象となる抗生物質の使用状況

耐性の対象となる抗生物質の使用状況（使用方法、使用量、使用目的等）が明らかであること。

(削る)

(ウ) 環境中に存在する抗生物質耐性菌との比較

挿入した抗生物質耐性マーカー遺伝子と同じ遺伝子を持つ耐性菌が環境中に存在しているか否かが明らかであること。

(エ) 経口投与をした抗生物質の不活化推定量及びそれに伴って問題が生ずる可能性

抗生物質耐性マーカー遺伝子の発現たん白質（抗生物質代謝酵素）の摂取量、加工過程及び消化管内における分解量、抗生物質の使用状況等から検討した抗生物質の不活化に伴う問題がないことが推察されていること。

(10) オープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

原則として、導入した遺伝子には、目的以外のたん白質を発現するオープンリーディングフレームが含まれていないこと。なお、その確認に当たっては、1つの遺伝子内に開始コドンとして働くA T G塩基配列が複数存在しないこと、及び、目的のたん白質以外のたん白質を発現する可能性がないことがノーザンブロットィング法、R T - P C R法等を用いて確認できていること。

仮に、目的以外のたん白質を発現する可能性のある遺伝子が含まれている場合は、当該遺伝子及びその遺伝子が発現するたん白質は安全性に問題のないものであること。

6 組換え体に関する事項

(1) 組換えD N A操作により新たに獲得された性質に関する事項

挿入D N Aから生産されるたん白質の性質、機能等が明らかであり、そのたん白質は有害作用をもたないこと

。他の生物への影響が明らかであること。

(2) 遺伝子産物の毒性に関する事項

既知の毒性物質との構造相同性に関する検索方法及び検索結果が明らかにされており、原則として、構造相同性がないこと。仮に構造相同性がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。

(3) 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

物理化学的処理により、遺伝子産物の分子量、酵素活性、免疫反応性等が変化するかどうかを示すデータが明らかにされていること。

具体的には、

- ・ 次のアからウまでの処理をした遺伝子産物（以下（3）において「物理化学的処理をした遺伝子産物」という。）の分子量が、処理前の遺伝子産物と比べてどの程度小さくなっているかについて、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動等により示すこと。

ア 人工胃液による酸処理及び酵素（ペプシン）処理

イ 人工腸液によるアルカリ処理及び酵素（パンクレアチン）処理

ウ 加熱処理

- ・ 遺伝子産物が酵素の場合は、物理化学的処理をした遺伝子産物と処理前の遺伝子産物とを比べて、その酵素活性が変化しているかどうかを示すこと。
- ・ 物理化学的処理をした遺伝子産物の抗体反応性が処理前の遺伝子産物と比べて変化しているかどうかについて、ウェスタンブロット法あるいはELISA法により示すこと。なお、この場合用いる抗体は、処理前の遺伝子産物に対するポリクローナル抗体であること。

上記の一連のデータにより、遺伝子産物は物理化学的

処理に対する感受性が高いことが認められること。

(4) 遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項（既存種中の基質と反応する可能性に関する事項を含む。）

遺伝子産物が酵素である場合は、その基質特異性が明らかにされており、原則として基質特異性が高いこと。基質特異性が低い場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。

また、遺伝子産物が酵素として植物体内の代謝系に働き、関連成分が変化した場合は、その変化等に関する考察が行われており、安全性に問題ないと認める合理的な理由があること。

(5) 宿主との差異に関する事項

組換え体に存在する栄養素や、毒素、抗栄養素等の有害生理活性物質等について、宿主植物を含めた既知の非組換え体と比較したデータにより、有意な差があるかどうか明らかにされており、原則として有意差がないこと。有意差がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。

(6) 外界における生存及び増殖能力に関する事項

外界における生存及び増殖能力について、宿主植物と組換え体がどの程度相違するかの情報が明らかにされており、原則として、相違ないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。

(7) 生存及び増殖能力の制限に関する事項

生存・増殖能力の制限に関し、宿主植物と組換え体がどの程度相違するかを示す情報が明らかにされており、原則として、相違ないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。

第 1 審査対象品目の概要に関する事項

審査対象品目について、開発の経緯及び次の第 2 から第 6 までの概要が説明されていること。

(8) 不活化法に関する事項

不活化法について、宿主植物と組換え体がどの程度相違するかの情報が明らかにされており、原則として、相違ないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。

(9) 外国における認可、飼料用等に関する事項

外国における認可状況に関する情報が明らかにされていること。また、飼料用又は食用として利用されているか否かに関する情報が明らかにされていること。

(10) 作出、育種及び栽培方法に関する事項

- ・作出・育種及び栽培方法について、宿主植物と組換え体がどの程度相違するかの情報が明らかにされており、原則として、相違ないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。
- ・農薬の使用方法について明らかであること。
- ・農薬を代謝することで農薬耐性を示す場合は、代謝物が調べられるとともに、主な代謝物の安全性が確認されていること。

(11) 種子の製法及び管理方法に関する事項

種子の製法及び管理方法について、宿主植物と組換え体がどの程度相違するかの情報が明らかにされており、原則として、相違のないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。なお、組換え前の宿主の種子とともに、組換え後の各世代における種子を保存すること。

(新設)

第2 安全性審査において比較対象として用いる既存品種の性質に関する事項

次の1から8までの事項の概略を示し、組換えDNA技術により得られた種子植物の飼料としての安全性審査を行う上で必要とされる比較対象として、既存品種が存在すること及び第3に示す組換え体と既存品種の相違点が明確であることを示す。

1 既存品種の分類学上の位置付けに関する事項

学名（必要に応じて亜種名、組換え体の開発に用いた既存品種名又は系統名）及び由来が明らかであること。

2 既存品種による家畜等の飼養実績に関する事項

その植物が飼料用に利用されてきた歴史及び当該飼料の家畜等への広範囲かつ安全な飼養実績があること。

3 既存品種の利用方法に関する事項

（ア）収穫時期（成熟程度）及び貯蔵方法

（イ）家畜等の摂取（可食）部位

（ウ）家畜等の摂取量

（エ）調製及び加工方法

4 既存品種の遺伝的先祖、育種開発の経緯及び近縁の植物種に関する事項

既存品種の遺伝的先祖が、毒素、栄養阻害物質等の有害生理活性物質を産生する植物であるか否かが明らかであること。有害生理活性物質を産生する植物であった場合、育種過程においてどのようにしてこれらの毒素、栄養阻害物質等の有害生理活性物質の生産を低下・消失させてきたのかが可能な限り明らかにされていること。

審査対象となる組換え体の開発に用いられた既存品種の近縁種において、有害生理活性物質を産生するものがある場合、その有害生理活性物質が当該組換え体におい

（新設）

ても產生されているか否かが明らかであること。なお、当該組換え体にその有害生理活性物質が產生されている場合は、その摂取量等を基に安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

5 既存品種の構成成分等に関する事項

(ア) 既存品種の主要栄養素等（たん白質、脂質等）の種類及びその量の概要

(イ) 既存品種に含まれる毒性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・吸収等を阻害する物質。例えば、トリプシンインヒビター、フィチン酸等）等の種類、作用及びその量の概要

6 既存品種の栽培及び流通過程において、家畜等に悪影響を及ぼす外来因子による汚染に関する事項

(ア) 当該組換え体の開発に用いた既存品種が外来因子に汚染されることが知られている場合は、当該外来因子が家畜等に悪い影響を及ぼすおそれがないこと。

(イ) 作出過程で汚染防止対策がとられている等により、既存品種が、既存品種及び家畜に対して有害な微生物に汚染されていないこと及び品種として汚染が維持されることがないこと。

7 既存品種の安全な利用に関する事項

当該組換え体の開発に用いた既存品種に、安全な飼料利用のために用いられた加工又は技術的な経緯がある場合、それが明らかであること。

8 既存品種の寄生性及び定着性に関する事項

既存品種が、家畜等に寄生又は定着するか否かが明らかであり、寄生又は定着する場合、家畜等に悪い影響を与えるか否かが明らかであること。

- 第3 組換え体の既存品種との相違等に関する事項
- 1 新たに付加される形質又は改変される形質
- 2 利用目的
- 3 利用方法
- (1) 栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法
- (ア) 作出・育種及び栽培方法について、既存品種と組換え体がどの程度相違するかの情報が明らかにされており、原則として、相違ないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由が4で記載されていること。
- (イ) 農薬の使用方法について明らかであること。
- (ウ) 栽培方法について、農薬を代謝することで農薬耐性を示す場合は、代謝物が調べられるとともに、主な代謝物の安全性が確認されていること。
- (エ) 種子の製法及び管理方法について、既存品種と組換え体がどの程度相違するかの情報が明らかにされており、原則として、相違のないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由が4で示されていること。なお、当該組換え体の開発に用いた既存品種の種子とともに、組換え後の各世代における種子が保存されていること。
- (2) 家畜等の摂取（可食）部位、調製及び加工方法
- (3) 家畜等の摂取量
- 4 安全性において検討が必要とされる既存品種との相違点
- 3 (1) の (ア) 及び (エ) で、相違がある場合には、安全性に問題がないことを示す合理的な理由が示されていること。
- 5 既存品種以外のものを比較対象とする場合の理由

(新設)

第4 挿入DNA、遺伝子産物及びコンストラクトの構築に関する事項

1 ベクターの名称及び由来に関する事項

(ア) 遺伝子導入のために利用されたプラスミド等のベクターの名称及び由来が明らかであること。

(イ) 家畜等に対する有害性が知られていないこと。

2 ベクターの性質に関する事項

(1) ベクターの塩基数及びその塩基配列を示す事項

ベクターの塩基数及び塩基配列が明らかであること。

さらにその塩基配列が公開されている場合には、ベクターバックボーンに該当する領域の構成要素及び公開データベースにおける登録番号が明らかであること。また、サザンブロッティングを行った場合には、ベクターの切断地図が明らかであること。この場合、用いた制限酵素の名称のほか、断片の数、サイズ及び電気泳動パターン等が明らかであること。

(2) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

既知の有害なたん白質を産生する塩基配列が含まれていないこと。

(3) 組換え体の選抜に関わる遺伝子に関する事項

ベクター中に組換え体の選抜に関わる遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む。以下同じ。）が含まれている場合は、その遺伝子の性質が明らかであること。

(4) 伝達性及び自律的可動性に関する事項

原則として、伝達性（ベクターが複数の生物種間で移動できる性質）がないこと。伝達性がある場合は、伝達域が明らかであること。また、トランスポゾンのような自律的可動性を示す配列がないこと。

(新設)

(5) 既存品種への依存性に関する事項

組換えに用いられたベクターが、他の植物、家畜等では増えないこと。他の植物で増える場合は、宿主域が明らかであること。

3 挿入DNAの供与体に関する事項

(1) 名称、由来及び分類に関する事項

名称、由来及び分類が明らかであること。

(2) 安全性に関する事項

(ア) 挿入DNAの供与体は、病原性及び毒素産生性が知られていないものであること。また、大腸菌 (*Escherichia coli*) のように病原性がある株が知られている場合は、病原性がない株に由来することが明らかであること。

(イ) 供与体に病原性又は毒素産生性があることが知られている場合は、挿入DNA自身に毒素産生性がなく、挿入DNA由来のたん白質に病原性がないことが明らかであること。

(ウ) 挿入DNAの供与体に関して、安全な摂取の経験の有無が明らかにされていること。

4 導入遺伝子（組換え体の選抜に関わる遺伝子を含む。）

及び遺伝子産物の性質に関する事項

(1) 導入遺伝子の機能に関する事項

導入遺伝子の機能及び導入遺伝子から産生される遺伝子産物の性質、機能等が明らかであり、そのたん白質が有害作用をもたないと判断できる合理的な理由があること。他の生物への影響が明らかであること。挿入した抗生物質耐性マーカー遺伝子以外に有害塩基配列を含まないこと。

なお、導入遺伝子の転写及び翻訳の後、生成されるたん白質が植物細胞内で切断又は消化される場合には、そ

これらの生成物に関しても上記が明らかであること。

導入遺伝子から産生されるたん白質と既知の毒性たん白質との構造相同性に関する検索方法及び検索結果が明らかにされており、原則として、構造相同性がないこと。仮に構造相同性がある場合は、安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

(2) 組換え体の選抜に関わる遺伝子のうち、抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項

必要に応じて以下の事項を確認すること。

(ア) 耐性の対象となる抗生物質の使用法（経口、静注等）が明らかであること。

(イ) 耐性発現の機序が明らかであること。

(ウ) 耐性発現に関連する代謝物質が安全性に問題のないものであると判断できる合理的な理由があること

(エ) 耐性の対象となる抗生物質の使用状況（使用法、使用量、使用目的等）が明らかであること。

(3) 導入遺伝子及び組換え体の選抜に関わる遺伝子の発現に関わる領域に関する事項

ア プロモーターに関する事項

用いたプロモーターの由来、性質等が明らかであること。

イ ターミネーターに関する事項

用いたターミネーターの由来、性質等が明らかであること。

ウ 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

植物体に挿入されるDNAの塩基配列が全て明らかにされ、既知の有害塩基配列が含まれていないこと。

エ 導入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列を組み込んだ場合には、その由来、性質等が明らかであること。

5 その他、導入遺伝子の機能並びに発現たん白質の性質及び機能に関する事項

既存品種の細胞に導入してもゲノムに挿入されない遺伝子を用いており、その遺伝子から生産されるたん白質がある場合は、その由来、機能、安全性等が明らかであること。

6 ベクターへの挿入DNAの組込方法等に関する事項

挿入DNAのクローニング又は合成方法が明らかであること。また、ベクターへの挿入DNAの組込方法について以下の内容が明らかであること。

(ア) 既存品種へ導入するコンストラクトの作製方法。特に複数の遺伝子断片を結合しようとする場合には、その作製方法も記載されていること。

(イ) ベクターにプロモーター、オープンリーディングフレーム（以下「ORF」という。） 、ターミネーター並びに組換え体の選抜に関わる遺伝子を導入した順序及び方法が明らかであること。

7 コンストラクトに関する事項

(1) 塩基数及び塩基配列に関する事項

コンストラクト及び既存品種に挿入しようとするDNA断片について、挿入DNAの塩基数及び塩基配列が明らかであること。

(2) 挿入領域に関する事項

既存品種に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域がコンストラクト上で明らかであること。

(3) 純度に関する事項

導入しようとするコンストラクトは、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されていること。

第5 組換え体の作出及び組換え栽培系統に関する事項

1 遺伝子導入に関する事項

(1) 遺伝子の既存品種への導入方法に関する事項

遺伝子の既存品種（植物体）への導入方法について以下の内容が明らかであること。

（ア）遺伝子の既存品種への導入方法

（イ）組換え体の選抜方法

（ウ）植物体としての再生方法

(2) 組換え栽培系統に関する事項（系統の考え方に基づいた記述及び育成図）

育種過程を示す樹形図等により、安全性の評価を受けようとしている世代や系統の範囲が特定されていること。

(3) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項

DNAシーケンシング等により、既存品種に導入された遺伝子の塩基配列、構造、コピー数、大きさ及び由来（遺伝子はどのように挿入されたか、導入された遺伝子はどのような構造であるか、導入遺伝子は1個のみか又は重複して導入されているか、導入遺伝子に欠失があるか等）が明らかであること。

なお、既存品種のゲノムに挿入されたDNAの近傍のDNA配列が明らかにされるとともに、その挿入によって既存品種の遺伝子配列の変化が生じる可能性がないことが可能な限り明らかにされていること。その結果、遺伝子配列の変化が生じていた場合には、安全性に問題がないことが明らかであること。

(4) 組換え栽培系統における導入遺伝子の安定性に関する事項

（ア）安定性を判断するに足る複数の後代世代において、栽培試験の結果、DNAシーケンシング、

（新設）

サザンブロットイング、ウェスタンブロットイング等により、導入された遺伝子の構造、発現部位及び発現量が変化しないことをもって、導入遺伝子の安定性を確認できること。

(イ) なお、この場合、育種過程のどの系統の何世代目の遺伝子組換え植物についてこれらの試験を行ったかが明らかであること。

(ウ) 導入された遺伝子により植物に導入された形質や当該遺伝子の発現量が、世代を経るとともに変化するかどうかを観察されており、その結果、導入された遺伝子の構造及びコピー数が安定していることが確認されていること。

(5) O R Fの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

(ア) 原則として、コンストラクト及び既存品種に導入された遺伝子又はDNA（既存品種のゲノムに挿入されたDNAの近傍のDNA配列を含む。）において、O R Fの確認が行われ、目的以外のたん白質を発現するO R Fが含まれていないと判断できる合理的な理由があること。特に遺伝子導入の際に突然変異、欠失又はリアレンジメントが生じた場合には、それによってO R Fがどのように変化したかが塩基配列によって明らかにされていること。なお、O R Fの確認に当たっては、目的のたん白質以外のたん白質を発現する可能性がないことがDNAシーケンシング、ノーザンブロットイング、RT-PCR等を用いて確認できていること

。 (イ) 仮に、目的以外のたん白質を発現する可能性のあるO R Fが含まれている場合は、当該O R F及

びそのORFが発現するたん白質の安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

2 遺伝子産物の組換え栽培系統における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項

導入された遺伝子（組換え体の選抜に関わる遺伝子を含む。）由来の遺伝子産物の定量方法があり、発現部位、発現時期及び発現量が明らかであること。組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量の変化等に関する考察が行われており、安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

3 遺伝子産物のたん白質摂取量に関する事項

抗生物質耐性マーカー遺伝子を用いている場合には、その発現たん白質（抗生物質代謝酵素）の摂取量、さらに、人工胃液・腸液による分解、加熱等の加工過程における分解量及び抗生物質の使用状況等から、抗生物質の不活化に伴う問題がないと判断できる合理的な理由があること。

4 遺伝子産物（たん白質であるものに限る。）の物理化学的処理に対する感受性に関する事項（組換え体の選抜に関わる遺伝子を用いている場合にはその遺伝子産物についても評価すること。）

次の（ア）から（ウ）までの処理によって、遺伝子産物の分子量、酵素活性、免疫反応性等が変化するかどうかが明らかにされ、遺伝子産物は物理化学的処理に対する感受性が高いことが認められること。感受性が高いことが認められない場合は、安全性に問題ないことを示す合理的な理由があること。分子量はSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動等によって示されていること。免疫反応性は処理前の遺伝子産物に対する特異的抗体を用いてウェスタンブロッティング法、ELISA法又はこれらと同等の

方法によって示されていること。

なお、物理化学的処理は省略可能であると判断する場合、その判断の根拠について合理的な理由が示されていること。（例えば、農林水産大臣により既に安全性が確認されている遺伝子産物と同一であることが明らかである場合が該当する。）

(ア) 人工胃液による酸処理及び酵素（ペプシン）処理

(イ) 人工腸液によるアルカリ処理及び酵素（パンクレアチン）処理

(ウ) 加熱処理

5 組換え栽培系統の代謝経路への影響に関する事項（既存品種、在来品種及びその近縁種に含まれる基質と反応する可能性に関する事項を含む。）

導入した遺伝子から生産されるたん白質が酵素である場合は、その基質特異性が明らかにされており、原則として基質特異性が高いこと。また、遺伝子導入によって結果的に基質特異性に変化が生じていないことを合理的に示す理由が提示されていること。その基質特異性に変化が生じた場合又はもとより基質特異性が低い場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること

。

また、遺伝子産物が酵素として組換え体内の代謝系に働き、関連成分が変化した場合は、その変化等に関する考察が行われており、安全性に問題ないと認める合理的な理由があること。

6 既存品種との差異に関する事項

(1) 栄養素、有害生理活性物質等に関する事項

組換え体に存在する栄養素、毒性物質、栄養阻害物質等の有害生理活性物質等について、既存品種を含めた既知の非組換え体と比較したデータにより、有意差がある

かどうか明らかにされており、原則として有意差がないこと。有意差がある場合は、安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

(2) 改変された栄養成分の構成又は代謝系に関する事項

栄養成分の構成又は代謝系の改変を目的としている場合には、意図した成分等については安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

また、意図したもの以外について、原則として、既存品種と比べて有意差がないこと。有意差がある場合は、安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

(3) 外界における生存及び増殖能力に関する事項

外界における生存及び増殖能力について、既存品種と組換え体がどの程度相違するかの情報が明らかにされており、原則として、相違ないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。

(4) 生存及び増殖能力の制限要因に関する事項

生存・増殖能力の制限に関し、既存品種と組換え体がどの程度相違するかを示す情報が明らかにされており、原則として、相違ないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。

(5) 不活化法に関する事項

不活化法について、既存品種と組換え体がどの程度相違するかの情報が明らかにされており、原則として、相違ないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。

7 諸外国における認可、飼料利用等に関する事項

諸外国における認可状況に関する情報が明らかにされ

ていること。また、飼料用又は食用として利用されているか否かに関する情報が明らかにされていること。

第6 第2から第5までにより飼料の安全性に関する知見が得られていない場合は次の試験のうち必要な試験の成績に関する事項

次の試験結果に基づき飼料としての安全性が確認できること。

なお、試験方法については、原則として「飼料添加物の評価基準の制定について」（平成4年3月16日付け4畜A第201号畜産局長、水産庁長官通知）に記載されている方法による。

1～9 （略）

（注）1 試験成績は、「飼料添加物の動物試験の実施に関する基準について」（昭和63年7月29日付け63畜A第3039号畜産局長、水産庁長官通知。）の記の4のアのGLP（以下「GLP」という。）に適合する施設でGLPに従って行われたものであること。

2 （略）

II 組換えDNA技術によって得られた非病原性の微生物を含む飼料又は組換えDNA技術によって得られた非病原性の微生物を利用して製造された飼料の安全性審査基準

i 組換えDNA技術を応用して得られた非病原性の微生物（組換え体）に関する安全性審査

7 2から6までにより安全性に関する知見が得られていない場合は次の試験のうち必要な試験の成績に関する事項

次の試験結果に基づき飼料としての安全性が確認できること。

なお、試験方法については、原則として「飼料添加物の評価基準の制定について」（平成4年3月16日付け4畜A第201号畜産局長通知）に記載されている方法による。

（1）～（9） （略）

（注）1 試験成績は、「飼料添加物の動物試験の実施に関する基準について」（昭和63年7月29日付け63畜A第3039号畜産局長、水産庁長官通知。）の記の4のアの飼料添加物GLP（以下「GLP」という。）に適合する施設でGLPに従って行われたものであること。

2 （略）

（新設）

第1 安全性審査において比較対象として用いる宿主の性質及び組換え体との相違に関する事項

次の1から5までの事項の概略を示し、組換え体の安全性審査を行う上で必要とされる比較対象として、既存の宿主が存在すること、宿主の性質が明らかであること及び組換え体と宿主の相違点が明確であることを示す。

1 宿主及び挿入DNAに関する事項

(1) 宿主の種名（学名）、株名等の分類学上の位置付け及び由来

(2) DNA供与体の種名、株名、系統名等の分類学上の位置付け及び由来

(3) 挿入DNAの性質及び導入方法

2 宿主の飼料製造への利用実績又は飼料に利用された歴史に関する事項

3 宿主の構成成分等に関する事項

宿主に含まれる有害生理活性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・吸収等を阻害する物質）等がある場合は、その種類及び量の概要

4 宿主と組換え体の飼料への利用方法及びその相違に関する事項

(1) 製造方法及び貯蔵方法

(2) 用途及び使用形態

(3) 家畜等の摂取量

(4) 調製及び加工方法

5 安全性審査において検討が必要とされる組換え体と宿主の相違点に関する事項

当該組換え体と比較対象となり得る宿主との比較において、第2以下の各事項に掲げられた項目に沿って審査を行う。

第2 宿主に関する事項

1 種名（学名）・株名等の分類学上の位置付け等に関する事項

学名、株名等が明らかであり、その宿主が飼料に利用されてきた歴史又は一般に家畜等がばく露されていることが明らかであること。

2 病原性及び有害生理活性物質等の生産に関する事項

宿主は非病原性であること。また、有害生理活性物質を産生する場合、その種類、作用及び量が明らかであること。

3 寄生性及び定着性に関する事項

宿主が、家畜等に寄生又は定着するか否かが明らかであり、寄生又は定着する場合、家畜等に悪い影響を与えるか否かが明らかであること。

4 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項

当該組換え体の開発に用いた宿主が病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないこと。

5 宿主の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する事項

宿主の近縁株において、病原性がある場合や有害生理活性物質を産生するものがある場合、組換え体を利用して製造された飼料の製造に用いた当該微生物において、同様の病原性や有害生理活性物質の産生等の有無について明らかであること。なお、有害生理活性物質等の産生が認められる場合には、当該微生物を用いた製造に安全性上の問題がないと判断できる合理的な理由があること

。

第3 ベクターに関する事項

1 名称及び由来に関する事項

遺伝子導入のために利用されたプラスミド等のベクターの名称及び由来が明らかであること。また、家畜等に対する有害性が知られていないこと。宿主に直接DNA断片が導入され、目的遺伝子が相同組換え等により宿主ゲノムに挿入された場合は、その旨を記し、用いたDNA断片に関する情報（第4に記載のものを除く。）を示す。

2 性質に関する事項

（1）ベクターの塩基数及びその塩基配列を示す事項

DNAの塩基数及びその塩基配列が明らかであること。さらにその塩基配列が公開されている場合には、公開データベースにおける登録番号が明らかであること。

ベクターの切断地図が明らかにされていること。この場合、用いた制限酵素の名称のほか、断片の数、サイズ等が明らかにされていること。

（2）既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

既知の有害なたん白質を産生する塩基配列が含まれていないこと。

（3）薬剤耐性に関する事項

ベクター中に、薬剤耐性遺伝子が含まれている場合は、その遺伝子の性質が明らかであること。

（4）伝達性に関する事項

原則として、伝達性（ベクターが宿主となる微生物から他の菌株へ自ら移動（水平伝播）できる性質）がないこと。伝達性がある場合は、伝達域が明らかであること。

（5）宿主依存性に関する事項

組換えに用いられたベクターが、他の微生物又は家畜等では増えないこと。他の微生物で増える場合は、宿主

域が明らかであること。

第4 挿入DNA、遺伝子産物及びコンストラクトの構築に関する事項

1 挿入DNAの供与体に関する事項

(1) 名称、由来及び分類に関する事項

名称、由来及び分類が明らかであること。

(2) 安全性に関する事項

(ア) 挿入DNAの供与体は、家畜等に対する病原性及び毒素産生性が知られていないものであること。また、大腸菌 (*E. coli*) のように病原性がある株が知られている場合、病原性がない株に由来することが明らかであること。

(イ) 供与体に病原性又は毒素産生性があることが知られている場合、挿入DNA自身に毒素産生性がなく、挿入DNA由来のたん白質に病原性がないことが明らかであること。

(ウ) 導入遺伝子の供与体に関して、家畜等の安全な摂取の経験の有無が明らかにされていること。

2 挿入DNA又は導入遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む。）及び遺伝子産物の性質に関する事項

(1) 挿入DNAのクローニング又は合成方法に関する事項

挿入DNAのクローニング又は合成方法が明らかであること。

(2) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

宿主に導入しようとするDNA断片について、塩基数及び塩基配列が明らかであること。また切断地図が明らかにされ、制限酵素の名称、断片の数、サイズ等が明ら

かにされていること。

(3) 導入遺伝子の機能に関する事項

導入遺伝子の機能及び導入遺伝子から産生される遺伝子産物の性質、機能等が明らかであり、そのたん白質が有害作用をもたないと判断できる合理的な理由があること。特に、当該遺伝子産物（たん白質であるものに限る。）がアミノ酸置換等を伴う場合には、当該遺伝子産物が安全性上問題ないと判断できる合理的な理由があること。

3 導入遺伝子及び抗生物質耐性マーカー遺伝子の発現に関わる領域に関する事項

(1) プロモーターに関する事項

用いたプロモーターの由来、性質等が明らかであること。

(2) ターミネーターに関する事項

用いたターミネーターの由来、性質等が明らかであること。

(3) その他、導入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列を組み込んだ場合には、その由来、性質等が明らかであること。

4 ベクターへの挿入DNAの組込方法に関する事項

(ア) 宿主へ導入するベクターの作製方法。特に複数の遺伝子及び遺伝子断片を結合しようとする場合には、その作製方法も記載すること。

(イ) ベクターにプロモーター、ORF、ターミネーター並びに抗生物質耐性マーカー遺伝子を導入した順序及び方法が明らかであること。

5 コンストラクトに関する事項

(ア) 塩基数及び塩基配列並びに制限酵素による切断地図に関する事項

コンストラクトについて、挿入DNAの塩基数及び塩基配列が明らかであること。また切断地図が明らかにされ、制限酵素の名称、断片の数、サイズ等が明らかにされていること。

(イ) 原則として、コンストラクトには、目的以外のたん白質を組換え体内で発現するORFが含まれていないこと。仮に、目的以外のたん白質を発現する可能性のある遺伝子が含まれている場合は、当該遺伝子及びその遺伝子が発現するたん白質は安全性に問題のないと判断できる合理的な理由があること。

(ウ) 宿主に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域がコンストラクト上で明らかであること。

(エ) コンストラクトは、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されていること。

6 DNAの宿主への導入方法に関する事項

挿入DNAの宿主への導入方法が明らかであること。

具体的には、

・DNAの宿主への導入方法（相同組換えなどの技術を利用することにより、必要とされるDNAのみを残し、組換え体から最終的にベクターを排除する場合は、その方法）

・選抜方法（DNAが導入された宿主を選抜する方法）が明らかであること。

第5 組換え体に関する事項

1 遺伝子導入に関する事項

(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項

DNAシーケンシング等により宿主に導入された遺伝子の塩基配列、大きさ及び由来が明らかであること。

宿主に導入されたDNAの構造及びコピー数（遺伝子

はどのように挿入されたか、導入された遺伝子はどのような構造であるか、導入遺伝子は1個のみ又は重複して導入されているか、導入遺伝子に欠失があるか等）が明らかであること。

宿主に挿入されたDNAの近傍のDNA配列を明らかにするとともに、その挿入によって宿主の遺伝子配列の変化が生じる可能性がないことを可能な限り明らかにすること。また、その結果、遺伝子配列の変化が生じていた場合には、安全性に問題がないことを明らかにすること。

(2) ORFの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

原則として、宿主に導入されたDNAにおいても、目的以外のたん白質を発現するORFが含まれていないと判断できる合理的な理由があること。特に遺伝子導入の際に突然変異、欠失やリアレンジメントが生じた場合、それによってORFがどのように変化したかが明らかであること。なお、その確認に当たっては、目的のたん白質以外のたん白質を発現する可能性がないことがDNAシーケンシング、ノーザンブロッティング法、RT-PCR法等を用いて確認できていること。

仮に、目的以外のたん白質を発現する可能性のあるORFが含まれている場合は、当該遺伝子及びその遺伝子が発現するたん白質の安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

2 遺伝子産物の組換え体内における発現量に関する事項

導入された遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む。）由来の遺伝子産物の定量方法があり、発現量が明らかであること。

組換え体内における発現量の変化などに関する考察が

行われており、安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

3 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

抗生物質耐性マーカー遺伝子が導入されている場合は、当該遺伝子及び遺伝子産物の構造及び機能が明らかであること。必要に応じ、基質特異性が明らかであること

。

また、飼料の製造工程において当該遺伝子及びその産物が安全性に問題のない程度まで除去されることが明らかでない場合は、次の事項に関する考察も含め、総合的に判断して、抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性が確認されること。

・耐性発現の機序、使用方法及び関連代謝産物

抗生物質の使用法（経口、静注等）が明らかであること。耐性発現の機序が明らかであること。耐性発現に関連する代謝物質が安全性に問題のないものであると判断できる合理的な理由があること。

・耐性の対象となりうる他の抗生物質の使用状況（使用方法、使用量、使用目的等）が明らかであること。

・挿入された抗生物質耐性マーカー遺伝子の由来は、通常存在する抗生物質耐性菌と同様のものであること。

・家畜等における抗生物質耐性マーカー遺伝子の遺伝子産物（たん白質）の摂取量、調製過程及び消化管内環境（人工胃液及び人工腸液）における分解量、抗生物質の使用状況等から、検討した抗生物質の不活化に伴う問題がないと判断できる合理的な理由があること。

4 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項

安定性を判断するに足る複数の継代培養の後、DNAシーケンシング、サザンブロッティング法、ウェスタンブロッティング法等により、導入された遺伝子の構造

、導入箇所及び発現量に変化せず、安定性を確認することができること。導入された遺伝子により微生物に導入された形質が、継代を重ねるとともに変化しないかどうかを観察されていること。

5 遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項

導入した遺伝子から生産されるたん白質が酵素である場合は、その基質特異性が明らかにされており、原則として基質特異性が高いこと。また、遺伝子導入によって結果的に基質特異性に変化が生じていないことを合理的に示す理由を提示すること。その基質特異性に変化が生じた場合、又はもとより基質特異性が低い場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。また、遺伝子産物が酵素等として組換え体内の代謝系に働き、関連成分が変化した場合は、その変化等に関する考察が行われており、安全性に問題がないと認める合理的な理由があること。

6 宿主との差異に関する事項

組換え体と宿主等を比較したデータにより、非病原性及び有害生理活性物質の生産に関して、有意差があるかどうか明らかにされており、有意差がある場合には、安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

7 組換え体の不活化に関する事項

組換え体を不活化する方法、又は完全に死滅させる条件について示すこと。

8 組換え体の取扱い、保存及び管理方法に関する事項

組換え体の取扱い、保存及び管理方法について、宿主と組換え体がどの程度相違するかの情報が明らかにされており、原則として、相違のないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な

理由があること。組換え前の微生物（宿主）株と組換え後の微生物（組換え体）株は安全性審査に関して要請がある場合は提出すること。

ii 組換え体を利用して製造された飼料の安全性審査

組換え体を利用して製造された飼料の安全性審査にあたっては、i における組換え体を対象とした安全性審査を行った上で、ii の審査項目に沿って、製造された飼料等に応じた安全性審査を行う。なお、組換え体を利用して製造された飼料は、その製造工程で、組換え体を加熱処理等により不活化することを前提としており、生きた組換え体を含む飼料の安全性審査は行わない。また、飼料の原材料及び製造方法に応じた安全性審査の考え方は、必要に応じて、別途定めるものとする。

なお、組換え体としての安全性確認が既に行われている当該組換え体を利用して製造された飼料に関しては、ii に係る安全性審査のみ行うこととする。

第1 生きた組換え体が含まれないことの確認に関する事項

（ア）組換え体の増殖に適する培地に最終製品の一部を接種し、増殖に適する温度で培養した時、当該組換え体の増殖が認められないこと。

（イ）組換え体が飼料の製造工程において不活化されると判断できる工程があること。

第2 組換え体を利用して製造された飼料の安全性審査において、比較対象となる従来飼料に関する事項

（ア）比較対象となる従来飼料利用の歴史又は産業上の製造経験等が明らかであること。

（イ）従来飼料の原材料及び製造方法が明らかであること。

と。

(ウ) 従来飼料が有害生理活性物質を含有する場合、その種類、作用及び含量が明らかであること。

第3 組換え体を利用して製造された飼料の製造方法、栄養素等に関する事項

1 製造方法に関する事項

製造方法が従来飼料と異なる場合、その相違が明らかであること。その場合、製造工程において混入する可能性のある有害物質の種類及び量を予測することができ、安全性の上から問題がないと判断できる合理的な理由があること。

2 主要栄養素に関する事項

組換え体を利用して製造された飼料が飼料として供給されることによって栄養摂取量の変化がもたらされる可能性があるか否かを評価するため、主要栄養素（たん白質、脂質等）の組成の変化が明らかにされていること。

3 製造に由来する成分の安全性に関する事項

製造に由来する主要成分及び有害性が示唆される成分の含有量が、従来飼料に比べ有意に変化しておらず、かつ、従来飼料には含まれない有害性が示唆される成分を含有しないこと。それ以外の場合においては、当該成分の含有及び従来成分の増減について安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

4 製造工程で共存する他の微生物への影響に関する事項

製造工程で、組換え体が他の微生物と共存する条件下で使用される場合は、組換え体が他の微生物に及ぼす影響及び組換え体から他の微生物への遺伝子伝達について、安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

5 諸外国における認可、飼料利用等に関する事項

諸外国における認可状況に関する情報が明らかにされていること。また、飼料用又は食用として利用されているか否かに関する情報が明らかにされていること。

第4 i の第2及び第3並びに ii の第2及び第3までにより飼料の安全性に関する知見が得られていない場合は次の試験のうち必要な試験の成績に関する事項

次の試験結果に基づき飼料としての安全性が確認できること。

なお、試験方法については、原則として「飼料添加物の評価基準の制定について」（平成4年3月16日付け4畜A第201号畜産局長、水産庁長官通知）に記載されている方法による。

1 単回投与毒性試験

2 反復投与毒性試験（短期）

3 反復投与毒性試験（長期）

4 世代繁殖試験

5 発がん性試験

6 変異原性試験

7 発生毒性試験

8 対象家畜等を用いた飼養試験

9 その他の試験

(注) 1 試験成績は、G L P に適合する施設で G L P に従って行われたものであること。

2 合理的な理由があれば、全部又は一部を省略することができる。

Ⅲ 組換えDNA技術によって得られた非病原性の微生物を利用して製造された飼料添加物の安全性審査基準

(削る)

(削る)

第2 組換えDNA技術を応用して得られた非病原性の微生物を利用して製造された飼料及び飼料添加物の安全性審査基準

1 生産物の既存のものとの同等性に関する事項

組換え体を利用して製造された飼料及び飼料添加物及びそれと同種の既存の飼料及び飼料添加物についての成分、性質及び使用方法に関する資料から総合的に判断して、既存の飼料及び飼料添加物と同等とみなし得ると判断できること。なお、この「同等とみなし得る」とは、当該飼料及び飼料添加物の安全性を評価するために、既存の飼料及び飼料添加物を比較対象として用いるという方法が適用できるということであり、ここで、成分、性質及び使用方法に関して検討し、当該飼料及び飼料添加物と既存のものが全体として同等性を失っていないと客観的に判断されれば、既存の飼料及び飼料添加物との比較において、2以下の各事項に掲げられた基準に沿って審査が可能となるものであること。

2 組換え体等に関する事項

(1) G I L S P (Good Industrial Large-Scale Practice)
組換え体又はカテゴリー1組換え体を安全に取り扱うことができる作業レベルでの製造に用い得る非病原性の組換え体であることに関する事項

G I L S P組み換え体であるか又はカテゴリー1組換え体であるかが明らかであること。

なお、G I L S P組換え体であるかカテゴリー1組換え体であるかについては、「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の製造基準」別記第1によること。

(2) 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項

組換え体の利用目的及び利用方法が明らかであること

。

(3) 宿主に関する事項

ア 学名、株名等の分類学上の位置付けに関する事項

学名及び株名が明らかであり、その微生物により一般に家畜等が曝露されていることが明らかであること

。

イ 病原性及び有害生理活性物質の生産に関する事項（非病原性であること。）

組換えに用いる微生物は非病原性であること。また、有害生理活性物質を産生する場合、その種類、作用及び量が明らかであること。

ウ 寄生性及び定着性に関する事項

当該組換え体の開発に用いた微生物が、家畜等や他の生物に寄生又は定着するか否かが明らかであり、寄生・定着する場合、家畜等や他の生物に悪い影響を与えるか否かが明らかであること。

エ ウイルス等の病原性の外来因子に汚染されていないことに関する事項

当該組換え体の開発に用いた微生物が病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないこと。

オ 自然環境を反映する実験条件の下での生存及び増殖能力に関する事項

当該組換え体の開発に用いた微生物の自然環境中における生存・増殖能力が明らかであること。

カ 有性又は無性生殖周期及び交雑性に関する事項

他の飼料、飼料添加物及び食品製造に用いられる微生物への遺伝子拡散の観点から、組換え体の開発に用いた微生物の有性生殖周期（ライフサイクル）や交雑

性（どの様な生物（種を越えたもの）と交雑できるか。）が明らかであること。

キ 飼料に利用された歴史に関する事項

当該組換え体の開発に用いた微生物が、飼料として利用されてきた歴史が明らかであること。

ク 生存及び増殖能力を制限する条件に関する事項

当該組換え体の開発に用いた微生物の生存及び増殖能力を制限する条件があること。

ケ 類縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する事項

当該組換え体の開発に用いた微生物の近縁株において、病原性がある場合や有害生理活性物質を産生するものがある場合、開発に用いた微生物においては、同様の病原性がないことや、その有害生理活性物質が産生されていないことが明らかであること。

（４）ベクターに関する事項

ア 名称及び由来に関する事項

- ・発現のために利用されたプラスミド等のベクターの名称及び由来が明らかであること。
- ・家畜等に対する有害性が知られていないこと。

イ 性質に関する事項

（ア）DNAの分子量を示す事項

DNAの分子量又は塩基数が明らかであること。

（イ）制限酵素による切断地図に関する事項

遺伝子の挿入に用いる発現ベクターの切断地図が明らかにされていること。この場合は、用いた制限酵素の名称の他、断片の数、サイズ及び電気泳動パターンが明らかにされていること。

（ウ）既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

既知の有害なたん白質を産生する塩基配列が含ま

れていないこと。

ウ 薬剤耐性に関する事項

プラスミド等のベクター中に、薬剤耐性遺伝子が含まれている場合は、その遺伝子の性質が明らかであること。

エ 伝達性に関する事項

伝達性（ベクターが宿主となる微生物から他の菌株へ自ら移動（水平伝搬）できる性質）がないこと。伝達性がある場合は、伝達域が明らかであること。

オ 宿主依存性に関する事項

組換えに用いられたベクターが、他の微生物又は家畜等では増えないこと。他の微生物で増える場合は、宿主城が明らかであること。

カ 発現ベクターの作成方法に関する事項

遺伝子の挿入に用いる発現ベクターの作成方法が明らかであること。

キ 発現ベクターの宿主への挿入方法及び位置に関する事項

遺伝子の挿入に用いる発現ベクターの宿主への挿入方法及び発現ベクター内における挿入しようとする遺伝子の位置が明らかであること。

（５）挿入遺伝子及びその遺伝子産物に関する事項

ア 供与体の名称、由来及び分類に関する事項

名称、由来及び分類が明らかであること。

イ 遺伝子の挿入方法に関する事項

（ア）ベクターへの挿入遺伝子の組込方法に関する事項

ベクターへの挿入遺伝子の組込方法が明らかであること。具体的には、

・微生物へ導入するＤＮＡ構築物（コンストラクト）の作成方法

・ベクターにプロモーター、オープンリーディング
フレーム及びターミネーターを導入した順序及び
方法

が明らかであること。

(イ) 挿入遺伝子の宿主への導入方法に関する事項

発現に用いるプラスミドやDNA構築物（コンス
トラクト）等、挿入遺伝子の宿主（微生物）への導
入方法が明らかであること。具体的には、

・挿入遺伝子の宿主への導入方法

・選抜方法（遺伝子が導入された宿主を選抜する方
法）

・微生物としての再生方法

が明らかであること。

ウ 構造に関する事項

(ア) プロモーターに関する事項

用いたプロモーターの由来、性質等が明らかなこ
と。

(イ) ターミネーターに関する事項

用いたターミネーターの由来、性質等が明らかな
こと。

(ウ) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

宿主に挿入されるDNAの全塩基配列が明らかに
され、既知の有害塩基配列が含まれていないこと。

エ 性質に関する事項

(ア) 挿入DNAの機能に関する事項

挿入DNAの機能及び挿入DNAから産生される
たん白質の性質、機能等が明らかであり、そのたん
白質が有害作用をもたないこと。

(イ) DNAの分子量を示す事項

挿入遺伝子の分子量又は塩基数が明らかであるこ

と。

(ウ) 制限酵素による切断地図に関する事項

宿主（微生物）に導入されたDNA断片について、切断地図が明らかにされていること。なお、この場合、用いた制限酵素の名称、断片の数、サイズ及びサザンブロッティング解析パターンが明らかにされていること。

オ 純度に関する事項

- ・挿入しようとする遺伝子全体の塩基配列、大きさ及び由来が明らかであること。
- ・挿入しようとする全ての遺伝子はクローニングされ、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されていること。

カ 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

抗生物質耐性マーカー遺伝子を使用している場合は、当該遺伝子及び遺伝子産物の構造及び機能が明らかであること。また、生産物の製造工程において遺伝子及びその産物が安全性に問題のない程度まで除去されることが明らかでない場合は、さらに次の（ア）及び（イ）の各項目について、組換え体内における変化等に関して行われた考察も含め、総合的に判断して、抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に問題がないと判断できること。

（ア）遺伝子及び遺伝子産物の特性に関する事項

① 構造及び機能

遺伝子については塩基配列、たん白質については機能が明らかであること。

挿入した抗生物質耐性マーカー遺伝子以外に有害塩基配列を含まないこと。

必要に応じ、遺伝子産物の基質特異性が明らか

であること。

- ② 耐性発現の機序、使用方法及び関連代謝産物
抗生物質の使用法（経口、静注等）が明らか
であること。耐性発現の機序が明らかであること
。耐性発現に関連する代謝物質が安全性に問題の
ないものであること。

- ③ 同定及び定量方法
遺伝子産物の同定及び定量方法が明らかである
こと。

- ④ 抗生物質耐性マーカー及び関連代謝物質の不活
化法
熱等の物理的処理に対する感受性があること（
酵素活性を失っていること等が明らかにされてい
ること。）。

- ⑤ 消化管内環境における酸又は消化酵素による変
化
人工胃液及び人工腸液に対する安定性の試験に
より、安定性がないことが明らかであること。安
定性がある場合においては、安全性に問題ないこ
とを示す合理的な理由があること。

（イ）遺伝子及び遺伝子産物の摂取に関する事項

- ① 予想摂取量
発現量から予想される当該たん白質の摂取量を
推定すること。
- ② 耐性の対象となる抗生物質の使用状況
耐性の対象となる抗生物質の使用状況（使用方
法、使用量、使用目的等）が明らかであること。
- ③ 環境中に存在する抗生物質耐性菌との比較
微生物に挿入された抗生物質耐性マーカー遺伝
子の由来は、通常存在する抗生物質耐性菌と同様

のものであること。

- ④ 経口投与をした抗生物質の不活化推定量とそれに伴って問題が生ずる可能性

抗生物質耐性マーカー遺伝子の発現たん白質（抗生物質代謝酵素）の摂取量、調理過程及び消化管内における分解量、抗生物質の使用状況等から検討した抗生物質の不活化に伴う問題がないことが推察されていること。

- キ オープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

原則として、導入した遺伝子には、目的以外のたん白質を発現するオープンリーディングフレームが含まれていないこと。なお、その確認に当たっては、1つの遺伝子内に開始コドンとして働くA T G塩基配列が複数存在しないこと、及び、目的のたん白質以外のたん白質を発現する可能性がないことがノーザンブロッティング法、R T-P C R法等を用いて確認できていること。

仮に、目的以外のたん白質を発現する可能性のある遺伝子が含まれている場合は、当該遺伝子及びその遺伝子が発現するたん白質は安全性に問題のないものであること。

- (6) 組換え体に関する事項

- ア 組換えDNA操作により新たに獲得された性質に関する事項（非病原性であること。）

挿入遺伝子がどのように発現するかが明らかであり、病原性を獲得しないことが明らかであること。挿入DNAから産生されるたん白質の性質・機能等が明らかであり、そのたん白質は家畜等に対する有害作用をもたないこと。

- 第 1 審査対象品目の概要に関する事項
審査対象品目に関する開発の経緯及び次の第 2 から第 7 までの概要が説明されていること。
- 第 2 安全性審査において比較対象として用いる飼料添加物、宿主等の性質並びに組換え飼料添加物及び組換え体と

- イ 宿主との差異に関する事項
組換えに用いた株（宿主）と組換え体の非病原性及び有害生理活性物質の非生産に関する差異が明らかであり、安全性に問題のないものであること。
- ウ 外界における生存性及び増殖性に関する事項
宿主株と組換え体の外界における生存及び増殖能力がどの程度相違するかについての情報が明らかであり、安全性に問題がないものであること。
- エ 生存及び増殖能力の制限に関する事項
生存及び増殖能力の制限に関し、組換えに用いた株と組換え体がどの程度相違するかについての情報が明らかであること。
工業的利用の場合にあっては、宿主と同程度に安全であり、外界において限られた増殖能力しか示さず、かつ、環境に悪い影響を及ぼさないこと。
- オ 不活化法に関する事項
不活化法について、組換えに用いた株と組換え体がどの程度相違するかについての情報が明らかにされており、原則として、相違ないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。
その不活化法を用いた場合の組換え体の生存率が明らかであること。

（新設）

（新設）

の相違に関する事項

次の 1 から 5 までの事項の概略を示し、その中で、次の（ア）から（ウ）までの事項が明確であること。

（ア）組換え DNA 技術を応用して得られた非病原性の微生物により製造された飼料添加物の安全性審査を行う上で必要とされる比較対象として、既存の飼料添加物が存在すること。なお、酵素においては、比較対象となる酵素と類似の反応を触媒することが明らかであること。

（イ）製造に用いられる組換え体の由来となる宿主の性質が明らかであること。

（ウ）組換え飼料添加物と既存の飼料添加物及び組換え体と宿主等の相違点が明確であること。

1 従来の飼料添加物の性質、用途等に関する事項

（1）名称、基原及び有効成分

（2）製造方法

（3）用途及び使用形態

2 宿主に関する事項

（1）宿主の種名（学名）、株名等の分類学上の位置付け及び由来

（2）宿主の飼料添加物製造への利用実績又は飼料に利用された歴史に関する事項

宿主の飼料添加物製造への利用実績又は飼料に利用された歴史が明らかであること。安全に消費されてきた歴史が短く利用実績が乏しい場合、さらに、次の（ア）から（ウ）までの各項目に関する考察も含め、総合的に判断して宿主の安全性に問題がないと判断できること。

（ア）寄生性及び定着性に関する事項

宿主が、家畜等や他の生物に寄生又は定着するか否かが明らかであり、寄生又は定着する場合、家畜等や

他の生物に悪影響を与えるか否かが明らかであること

（イ）家畜等に悪影響を及ぼす外来因子に関する事項

当該組換え体の開発に用いた宿主が外来因子に汚染されることが知られている場合は、当該外来因子は家畜等に悪影響を及ぼすおそれが無いことが知られていること。

（ウ）宿主の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する事項

宿主の近縁株において、病原性がある場合又は有害生理活性物質を産生するものがある場合、組換え飼料添加物の製造に用いた当該微生物においては、同様の病原性や有害生理活性物質の産生の有無について明らかであること。なお、有害生理活性物質の産生が認められる場合には、当該微生物を用いた製造に安全性上の問題がないと判断できる合理的な理由があること。

（３）宿主の構成成分等に関する事項

宿主は、非病原性であること。また、宿主が有害生理活性物質、栄養阻害物質等を生産又は含有する場合は、その種類、作用及び量が明らかであること。

３ 挿入ＤＮＡに関する事項

（１）挿入ＤＮＡの供与体の種名、株名、系統名等の分類学上の位置付け及び由来に関する事項

（２）挿入ＤＮＡの性質及び導入方法に関する事項

４ 組換え飼料添加物の性質、用途等に関する事項

（１）製品名及び有効成分に関する事項

（２）製造方法に関する事項

（３）用途及び使用形態に関する事項

（４）有効成分の性質及び推定摂取量に関する従来の飼料添加物との比較に関する事項

5 安全性審査において検討が必要とされる組換え飼料添加物と既存の飼料添加物及び組換え体と宿主等の相違点に関する事項

審査対象となる組換え飼料添加物及び組換え体と比較対象となり得る既存の飼料添加物及び宿主等があると判断されれば、安全性審査を行う。

第3 遺伝子導入に用いる塩基配列（挿入DNA、遺伝子産物及びコンストラクトの構築）に関する事項

1 ベクターの名称及び由来に関する事項

遺伝子導入のために利用されたプラスミド等のベクターの名称及び由来が明らかであること。また、家畜等に対する有害性が知られていないこと。

2 ベクターの性質に関する事項

（1）ベクターの塩基数及びその塩基配列を示す事項

ベクターの塩基数及びその塩基配列が明らかであること。さらにその塩基配列が公開されている場合には、ベクターバックボーンに該当する領域の構成要素及び公開データベースにおける登録番号が明らかであること。また、サザンブロット解析を行った場合には、ベクターの切断地図が明らかであること。この場合、用いた制限酵素の名称のほか、断片の数、サイズ等が明らかであること。

（2）既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

既知の有害なたん白質を産生する塩基配列が含まれていないこと。

（3）組換え体の選抜に関わる遺伝子に関する事項

ベクター中に、組換え体の選抜に関わる遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む。以下同じ。）が含まれ

（新設）

ている場合は、その遺伝子の性質が明らかであること。

(4) 伝達性に関する事項

原則として、伝達性（ベクターが宿主となる微生物から他の菌株へ自ら移動（水平伝播）できる性質）がないこと。伝達性がある場合は、伝達域が明らかであること

。

(5) 宿主依存性に関する事項

組換えに用いられたベクターが、当該ベクターの宿主以外の微生物又は家畜等では増えないこと。他の微生物で増える場合は、宿主域が明らかであること。

3 挿入DNAの供与体に関する事項

挿入DNAの供与体は、家畜等に対する病原性及び毒素産生性が知られていないものであること。また、大腸菌（*E. coli*）のように病原性がある株が知られている場合は、病原性がない株に由来することが明らかであること。

さらに、供与体に病原性又は毒素産生性があることが知られている場合、挿入DNA自身に毒素産生性がなく、挿入DNA由来のたん白質に病原性がないことが明らかであること。

また、挿入DNAの供与体に関して、安全な摂取の実績の有無が明らかであること。

4 導入遺伝子（組換え体の選抜に関わる遺伝子を含む。）及びその遺伝子産物の性質に関する事項

導入遺伝子の機能及び導入遺伝子から産生される遺伝子産物の性質、機能等が明らかであり、そのたん白質が有害作用をもたないと判断できる合理的な理由があること。

特に、当該遺伝子産物（たん白質であるものに限る。）がアミノ酸置換等を伴い、酵素としてそのまま使用さ

れるような場合には、必要に応じ、飼料製造工程での使用形態や最終製品における推定残存量等を考慮した上で、当該遺伝子産物の毒性について安全性上の問題がないと判断できる合理的な理由があること。

5 導入遺伝子及び組換え体の選抜に関わる遺伝子の発現に関わる領域に関する事項

(1) プロモーターに関する事項

用いたプロモーターの由来、性質等が明らかであること。

(2) ターミネーターに関する事項

用いたターミネーターの由来、性質等が明らかであること。

(3) その他の事項

導入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列を組み込んだ場合には、その由来、性質等が明らかであること。

6 ベクターへの挿入DNAの組込方法等に関する事項

挿入DNAのクローニング又は合成方法が明らかであること。また、ベクターへの挿入DNAの組込方法について以下の内容が明らかであること。

(ア) 宿主へ導入するコンストラクトの作製方法。特に複数の遺伝子断片を結合しようとする場合には、その作製方法も記載されていること。

(イ) ベクターにプロモーター、ORF、ターミネーター及び組換え体の選抜に関わる遺伝子を導入した順序及び方法が明らかであること。

7 コンストラクトに関する事項

(1) 塩基数及び塩基配列に関する事項

コンストラクト及び既存品種に挿入しようとするDNA断片について、挿入DNAの塩基数及び塩基配列が明らかであること。

(2) 挿入領域に関する事項

宿主に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域がコンストラクト上で明らかであること。

(3) 純度に関する事項

導入しようとするコンストラクトは、目的外の遺伝子が混入しないよう純化されていること。

第4 組換え体に関する事項

1 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項

組換え体の利用目的及び利用方法が明らかであること

2 宿主との差異に関する事項

組換え体と宿主等を比較したデータにより、非病原性及び有害生理活性物質の非生産に関する差異が明らかであり、安全性に問題のないものであること。

3 遺伝子導入に関する事項

(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項

DNAシーケンシング、サザンブロッティング、PCR解析等により、宿主に導入された遺伝子の塩基配列、大きさ及び由来が明らかであること。

また、宿主に導入された遺伝子の構造とコピー数（遺伝子はどのように挿入されたか、導入された遺伝子はどのような構造であるか、導入遺伝子は1個のみか又は重複して導入されているか、導入遺伝子に欠失があるか等）が明らかであること。

なお、宿主に挿入されたDNAの近傍のDNA配列が明らかであるとともに、その挿入によって宿主の遺伝子配列の変化が生じる可能性がないことを可能な限り明らかにすること。また、その結果、遺伝子配列の変化が生

(新設)

じていた場合には、安全性に問題がないことが明らかであること。

(2) O R Fの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

(ア) 原則として、コンストラクト及び宿主に導入された遺伝子又は挿入されたDNA（宿主のゲノムに挿入されたDNAの近傍のDNA配列を含む。）において、O R Fの確認が行われ、目的以外のたん白質を組換え体内で発現するO R Fが含まれていないと判断できる合理的な理由があること。特に遺伝子導入の際に突然変異、欠失又はリアレンジメントが生じた場合には、それによってO R Fがどのように変化したかが塩基配列によって明らかであること。なお、O R Fの確認に当たっては、目的のたん白質以外のたん白質を発現する可能性がないことが、DNAシーケンシング、ノーザンブロットイング、RT-PCR等を用いて確認できていること。

(イ) 仮に、目的以外のたん白質を発現する可能性のあるO R Fが含まれている場合は、当該O R F及びそのO R Fが発現するたん白質は安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

4 組換え体の選抜に関わる遺伝子の安全性に関する事項
組換え体の選抜に関わる遺伝子が導入されている場合は、当該遺伝子及び遺伝子産物の構造及び機能が明らかであること。必要に応じて基質特異性が明らかであること。

また、抗生物質耐性マーカー遺伝子を用いており、かつ、飼料添加物の製造工程において当該遺伝子及びその産物が安全性に問題のない程度まで除去されることが明らかでない場合は、耐性発現の機序、使用方法及び関連

代謝産物等について、次の（ア）から（オ）に関する考察も含め総合的に判断して、組換え体の選抜に関わる遺伝子の安全性が確認できていること。

（ア）耐性の対象となる抗生物質の使用方法（経口、静注等）が明らかであること。耐性発現の機序が明らかであること。耐性発現に関連する代謝物質が安全性に問題のないものであると判断できる合理的な理由があること。

（イ）耐性の対象となる抗生物質の使用状況（使用方法、使用量、使用目的等）が明らかであること。

（ウ）導入された抗生物質耐性マーカー遺伝子の由来は、通常存在する抗生物質耐性菌と同様のものであること

（エ）抗生物質耐性マーカー遺伝子の遺伝子産物（たん白質であるものに限る。）の摂取量、飼料の製造過程及び消化管内における分解量、抗生物質の使用状況等から、抗生物質の不活化に伴う問題がないと判断できる合理的な理由があること。

（オ）遺伝子産物（たん白質であるものに限る。）の物理化学的処理に対する感受性について、以下の①から③の処理によって、遺伝子産物の分子量、酵素活性、免疫反応性等が変化するかどうかは明らかであること。分子量をSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動等によって示していること。免疫反応性は処理前の遺伝子産物（たん白質であるものに限る。）に対する特異的抗体を用いてウェスタンブロッティング及びELISA法又はこれらと同等の方法によって示されていること。

なお、人工胃液及び人工腸液に対する安定性の試験により、安定性がある場合においては、安全性に問題ないことを示す合理的な理由があること。また、物理

化学的処理による感受性の試験は省略可能であるとする場合、その判断の根拠について合理的な理由が示されていること。（例えば、酵素について*in silico*解析によりペプシン及びトリプシンの切断部位が示された場合や、農林水産大臣により既に安全性が確認されている遺伝子産物と同一であることが明らかである場合が該当する。）

① 人工胃液による酸処理及び酵素（ペプシン）処理

② 人工腸液によるアルカリ処理及び酵素（パンクレアチン）処理

③ 加熱処理

第5 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項

（ア）飼料添加物の製造原料又は製造器材としての使用実績があること。

（イ）飼料添加物の製造原料又は製造器材としての安全性について知見が得られていること。

（削る）

（ウ）（ア）及び（イ）について確認できない場合は、飼料添加物の製造原料又は製造器材についての安全性が明らかであること。

第6 組換え飼料添加物に関する事項

1 諸外国における認可、使用等に関する事項

2 （略）

3 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項

3 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項

（1）飼料又は飼料添加物の製造原料としての使用実績及び安全性に関する事項

飼料又は飼料添加物の製造原料としての使用実績があり、安全性について知見が得られていること。

（2）飼料又は飼料添加物の製造器材としての使用実績及び安全性に関する事項

飼料又は飼料添加物の製造器材としての使用実績があり、安全性について知見が得られていること。

（（1）及び（2）について確認できない場合は、飼料又は飼料添加物の製造原料又は製造器材についての安全性が明らかであること。）

4 生産物に関する事項

（新設）

（1） （略）

（2）製造に由来する不純物の安全性に関する事項

製造に由来する非有効成分の含有量が既存の飼料添加物に比べ有意に増加しておらず、かつ、既存の飼料添加物には存在しない非有効成分を含有しないこと。それ以外の場合においては、非有効成分について安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

4 精製方法及びその効果に関する事項

飼料添加物の精製方法及びその効果が明らかであり、製造工程において混入する可能性のある有害物質の種類及び量を予測することができ、安全性上問題がないと判断できる合理的な理由があること。

5 (略)

(削る)

第7 第2から第6までにより安全性に関する知見が得られていない場合は次の試験のうち必要な試験の成績に関する事項

次の試験結果に基づき飼料添加物の安全性が確認できること。

なお、試験方法については、原則として「飼料添加物の評価基準の制定について」（平成4年3月16日付け4畜A第201号畜産局長、水産庁長官通知）に記載されている方法による。

1～9 (略)

製造に由来する不純物の含有量が、既存の飼料又は飼料添加物に比べ有意に増加しておらず、かつ、既存の飼料又は飼料添加物には存在しない不純物を含有しないこと。それ以外の場合においては、不純物について安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

(3) 精製方法及びその効果に関する事項

生産物の精製方法及びその効果が明らかであり、製造工程において混入する可能性のある有害物質の種類及び量を予測することができ、安全性の上から問題がないと判断できる合理的な理由があること。

(4) (略)

(5) 組み換え体によって製造された生産物の外国における認可及び使用等の状況に関する事項

外国における認可状況に関する情報が明らかにされていること。また、飼料用、飼料添加物用又は食用として利用されているか否かに関する情報が明らかにされていること。

5 2から4までにより安全性に関する知見が得られていない場合は次の試験のうち必要な試験の成績に関する事項

次の試験結果に基づき飼料又は飼料添加物の安全性が確認できること。

なお、試験方法については、原則として「飼料添加物の評価基準の制定について」（平成4年3月16日付け4畜A第201号畜産局長通知）に記載されている方法による。

(1)～(9) (略)

(注) (略) 別添 3 (略) 別添 4 製造管理マニュアル、製造作業マニュアル及び緊急時対応 マニュアルに定める事項 1 製造管理マニュアル 次の事項について定められていること。 (1) 設備及び装置の管理に関する事項 ア～エ (略) (削る) (2) ～ (6) (略) 2・3 (略)	(注) (略) 別添 3 (略) 別添 4 製造管理マニュアル、製造作業マニュアル及び緊急時対応 マニュアルに定める事項 1 製造管理マニュアル 次の事項について定められていること。 (1) 設備及び装置の管理に関する事項 ア～エ (略) <u>オ カテゴリー 1 組換え体を利用した飼料又は飼料添加 物の製造にあつては、製造基準告示別記第 1 の 2 に規 定する要件を満たすための管理方法</u> (2) ～ (6) (略) 2・3 (略)
--	--