

(2) 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。
- ・挿入遺伝子の供与体にアレルギー誘発性が知られている場合は、アレルギー誘発性に関する知見が明らかであること。

2 遺伝子の挿入方法に関する事項

(1) 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。

(2) 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

(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、性質等が明らかなこと。

(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、性質等が明らかなこと。

(3) 有害塩基配列の有無に関する事項

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

(1) 挿入DNAの機能に関する事項

挿入DNAの機能及び挿入DNAから産生される蛋白質の性質、機能等が

明らかであり、その蛋白質が有害作用をもたないこと。

(2) 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トィング解析パターンが明らかにされていること。

(3) 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。

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、サザンブロットィング法及びウェスタンブロット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(1)及び(2)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。

(1) 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、蛋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。
- ・ 発現する蛋白質が酵素の場合、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。
- ・ 遺伝子産物について、既知のアレルゲンと構造相同性がないこと。

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調理又は加工を行った場合の熱又は物理的圧力による変化

- ・ 加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。

⑥アレルギー誘発性

- ・ アレルギー誘発性に関する知見が明らかであること。

(2) 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蛋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通常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。

④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蛋白質(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。

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、目的以外の蛋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ATG塩基配列が複数存在しないこと、及び、目的の蛋白質以外の蛋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、RT-PCR法等を用いて確認できていること。
- ・仮に、目的以外の蛋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蛋白質は安全性に問題のないものであること。

第6 組換え体に関する事項

1 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

挿入DNAから生産される蛋白質の性質、機能等が明らかであり、その蛋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 遺伝子産物のアレルギー誘発性に関する事項

次の(1)から(6)までの事項から総合的に判断して、安全性が確認されること。

(1) 供与体の生物の食経験に関する事項

- ・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もの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。