

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(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

(4) 既存種と新品種との使用方法の相違に関する資料

- ア 収穫時期(成熟程度)と貯蔵方法
- 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

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

- (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
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。
- (2) 遺伝的先祖に関する事項
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。
- (3) 有害生理活性物質の生産に関する事項
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。
- (4) 寄生性及び定着性に関する事項
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。
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。

(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、宿主城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、性質等が明らかでないこと。

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、性質等が明らかでないこと。

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、サイズ及びサブクローニ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、サザンブロットリング法及びウェスタンブロットリ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が観察されており、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システム（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