

- ・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。

(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ATG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、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られ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。

(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。

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) 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) 催腫瘍性試験
- (6) 変異原性試験
- (7) 催奇形性試験

- (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、「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 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。

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) GILSP (Good Industrial Large-Scale Practice) 組換え体又はカテゴリ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

GILSP組み換え体であるか又はカテゴリ1組換え体であるかが明らかであること。

なお、GILSP組換え体であるかカテゴリ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、宿主域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。