

(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ト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

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。

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。

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

(1) 組換え体の混入を否定する事項

組換え体の混入は、最も適切な工程における試料を用いてドットプロットハイブリダイゼーション法等適切な試験により否定されること。

(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) 含有量の変動により有害性が示唆される常成分の変動に関する事項

含有量の変動により有害性が示唆される常成分にあっては、その濃度の変動について、既存の飼料添加物と同等であること。仮に変動があっても、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。

(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) 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、GLP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。