

(5) 伝達性に関する事項

原則として、伝達性（ベクターが宿主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。

第5 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクター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

- ・挿入DNAの供与体は、ヒト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。
- ・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由来のタンパク質に病原性がないことが明らかであること。
- ・挿入遺伝子の供与体に関して、安全な摂取の経験の有無が明らかにされていること。

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

(1) 挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法に関する事項

挿入遺伝子のクローニング若しく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、サイズなどが明らかにされていること。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

挿入遺伝子の機能及び挿入遺伝子から産生される遺伝子産物（RNA及びタンパク質）の性質、機能等が明らかであり、そのタンパク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。なお、挿入遺伝子の転写・翻訳の後、生成されるタンパク質が植物細胞内で切断・消化される場合には、それらの生成物に関しても上記が明らかであること。挿入遺伝子から産生されるタンパク質と既知の毒性タンパク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。

(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項

- ・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 挿入遺伝子及び薬剤耐性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、挿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
- ベクターへの挿入DNA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発現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。
 - ・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、ならびに薬剤耐性遺伝子を導入した順序及び方法が明らかであること。
- 5 構築された発現ベクターに関する事項
- (1) 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
構築された発現ベクターについて、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、サイズなどが明らかにされていること。
 - (2) 原則として、最終的に宿主に導入されると考えられる発現ベクター内の配列には、目的以外のタンパク質を組換え体内で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。
仮に、目的以外のタンパク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タンパク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。
 - (3) 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発現ベクター上で明らかであること。
 - (4) 導入しようとする発現ベクターは、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及び交配に関する事項
- DNA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、

- ・ DNAの宿主への導入方法
- ・ 選抜方法 (DNA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。また、育種過程を示す樹形図等により、安全性評価を受けようとしている系統を特定すること。

第6 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

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の構造とコピー数 (遺伝子はどのように挿入されたのか、導入された遺伝子はどのような構造になっているのか、導入遺伝子は1個だけかそれとも重複して入っているか、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) 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、宿主に導入されたDNAにおいても、目的以外のタンパク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、それによってオープンリーディングフレーム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、目的のタンパク質以外のタンパク質を発現する可能性がないことがノーザンブロット法、RT-PCR法等を用いて確認できていること。
- ・ 仮に、目的以外のタンパク質を発現する可能性のあるオープンリーディングフレーム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タンパク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 (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(タンパク質)が一日蛋白摂取量の有意な量を占めるか否かに関する事項

遺伝子産物がヒトのタンパク質一日摂取量の有意な量を占めるかについて推計されており、原則として、当該摂取量の有意な量を占めていないこと。有意な量を占めている場合は、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。

・抗生物質耐性マーカー遺伝子を用いている場合には、その発現タンパク質(抗生物質代謝酵素)の摂取量、さらに、第6 4 (3)の項で明らかにされている人工胃液・腸液による分解及び加熱などの調理過程における分解量、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 遺伝子産物(タンパク質)のアレルギー誘発性に関する事項(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遺伝子産物(抗生物質代謝酵素)についても評価すること。)

次の(1)から(4)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。なお、(1)から(4)までの事項で判断できない場合には、(5)の事項を含め、総合的に判断して安全性が確認されることが必要である。また、合理的な理由がある場合には、一部を省略することができる。

(1) 挿入遺伝子の供与体(抗生物質耐性マーカー遺伝子供与体を含む。)のアレルギー誘発性(グルテン過敏性腸炎誘発性を含む。以下同じ。)に関する知見が明らかにされていること。

(2) 遺伝子産物(タンパク質)についてそのアレルギー誘発性に関する知見が明らかにされていること。

(3) 遺伝子産物(タンパク質)の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

以下の①から③の処理によって、遺伝子産物(タンパク質)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ていること。分子量はSDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動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(タンパク質)に対するポリクローナル抗体を用いてウェスタンブロッティング法及びELISA法あるいはこれらと同等の方法によって示されていること。

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;加熱条件はヒトが経口摂取する際に処理される場合と同等の条件で行う。

(4) 遺伝子産物(タンパク質)と既知のアレルゲン(グルテン過敏性腸疾患に関与するタンパク質を含む。以下アレルゲン等。)との構造相同性に関する事項
遺伝子産物(タンパク質)について、既知のアレルゲン等と一次構造を比較し、

既知のアレルゲン等と構造相同性を有しないこと（抗原決定基（エピトープ）を示す可能性のある配列を明らかにするためには、アミノ酸配列に関する相同性検索などを実施する必要がある。）。その際、用いたアレルゲンデータベースの名称、検索条件、検索方法、検索結果を明らかにすること。

(5) 遺伝子産物(タンパク質)のIgE結合能の検討

(1) から (4) までの事項等により、ヒトの健康を損なう恐れがないと判断できない時は、遺伝子産物（タンパク質）のIgE結合能を検討すること。

使用するアレルギー患者血清の選択は、下記の①から④のいずれかで行う。

- ① 挿入遺伝子の供与体がアレルギー誘発性を持つ場合はその供与体に対する特異的IgE抗体価が高値な血清、
- ② 既知アレルゲンとの構造相同性が認められた場合は当該アレルゲンを含む生物に対する特異的IgE抗体価が高値な血清、
- ③ 既知のアレルゲンとの構造相同性が示されないが、上記(1)～(3)の項目で、アレルギー誘発性を否定しきれない場合は、遺伝子供与体の近縁種生物に対して特異的IgE抗体価が高値な血清、
- ④ ①から③で適切な血清が得られない場合は、主要なアレルゲン(卵、ミルク、大豆、米、小麦、そば、たら、えび及びピーナッツ)に対して特異的IgE抗体価が高値な血清を用いる。

挿入遺伝子の供与体がアレルギー誘発性を持つ場合で、遺伝子産物（タンパク質）に対するアレルギー患者血清を用いたIgE結合能の検討で陰性結果が得られたものの、なお安全性の証明が十分ではないと考えられた場合は、皮膚テストや経口負荷試験などの臨床試験データが必要とされる。

5 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せず、安定性を確認することができること。
- ・なお、この場合、第5の「6 DNAの宿主への導入方法及び交配に関する事項」に記載した育種過程のどの系統の何世代目の組換え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。
- ・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が観察されており、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。

6 遺伝子産物(タンパク質)の代謝経路への影響に関する事項(在来種中の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タンパク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、あるいはもとも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

7 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、毒性物質、栄養阻害物質等の有害生理活性物質等について、宿主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と判断できる合理的な理由があること。宿主のアレルギー誘発性等に係るタンパク質の構成成分において、宿主と比べて変化が生じている場合、アレルギー誘発性等にどのように影響するかが明らかにされていること。

8 諸外国における認可、食用等に関する事項

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、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。

9 栽培方法に関する事項

- ・栽培方法について、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。

10 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。

第7 第2から第6までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要な事項

次のうち、必要と考えられる試験成績に基づき、食品としての安全性が確認できること。

- (1) 急性毒性に関する試験
- (2) 亜急性毒性に関する試験
- (3) 慢性毒性に関する試験
- (4) 生殖に及ぼす影響に関する試験
- (5) 変異原性に関する試験
- (6) がん原性に関する試験
- (7) その他必要な試験（腸管毒性試験、免疫毒性試験、神経毒性試験、栄養試験等）

(別添2)

遺伝子組換え植物の掛け合わせについての安全性評価の考え方

遺伝子組換え植物については、食品としての安全性評価が行われているところであり、既存の食品と比較して、これと安全性が同等であることを確認している。この安全性評価済みの遺伝子組換え植物の掛け合わせについての評価の考え方について整理を行った。

なお、これまで、厚生労働省では、安全性審査済みの遺伝子組換え植物と従来品種とを伝統的な育種の手法を用いて掛け合わせたものを「後代交配種」と呼んでおり、これに関しては、

- ・ 新たに獲得した性質が変化していないこと、
- ・ 亜種間での交配でないこと、
- ・ 摂取量・食用部位・加工法等の変更がないこと、

の3要件を確認したものは、安全性審査済みとみなしてきたが、これも含め、評価の考え方について、以下のとおり整理した。

《遺伝子組換え植物について》

遺伝子組換え植物は、付与される形質によって、以下の3つに分類される。いずれも、食品としての安全性評価が必要とされる。

- ① 挿入された遺伝子によって、宿主の代謝系には影響なく、害虫抵抗性、除草剤耐性、ウイルス抵抗性などの形質が付与されるもの。
- ② 挿入された遺伝子によって、宿主の代謝系が改変され、特定の代謝系を促進又は阻害して、特定の栄養成分を高めた形質や細胞壁の分解などを抑制する形質が付与されるもの。
- ③ 挿入された遺伝子によって、宿主の代謝系における一部の代謝産物が利用され、宿主が有していない新たな代謝産物を合成する形質が付与されるもの。

《遺伝子組換え植物の掛け合わせについて》

(1) 上記の①、②、③と従来品種との掛け合わせ、若しくは上記の①同士の掛け合わせについて：

- a) 亜種のレベル以上での交配によって得られた植物については、当面の間、安全性の確認を必要とする。
- b) 亜種のレベル以上での交配でないが、摂取量・食用部位・加工法等に変更がある場合には、当面の間、安全性の確認を必要とする。

(2) ①と②、①と③の掛け合わせについては、当面の間、安全性の確認を必要とする。

(3) 上記の②同士、③同士、および②と③の掛け合わせについては、安全性の確認を必要とする。