

組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査基準

第1章 総則

第1 目的

本基準は、組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査の手續に基づき、安全性審査を行うに当たっての基準を定めることを目的とする。

第2 安全性審査を行う食品及び添加物の範囲

安全性審査は、当分の間、組換えDNA技術(宿主、ベクター及び挿入DNAの供与体が同一の種に属する場合(いわゆるセルフクローニング)及び組換え体と同等の遺伝子構成を持つ生細胞が自然界に存在する場合(ナチュラルオカレンス)を除く。)によって得られた生産物が既存のものと同等とみなし得る場合であって、かつ、組換えDNA技術によって得られた種子植物の全部又は一部を食品として用いる場合、又は、組換えDNA技術によって得られた非病原性の微生物を利用して食品又は添加物を製造する場合(当該微生物を摂食するものを除く。)に限り行うものとする。

第3 組換えDNA技術によって得られた種子植物の安全性評価の考え方

- 1 組換えDNA技術により得られた種子植物の安全性は、組換えDNA技術によって種子植物に付加されたすべての因子について評価を行う。すなわち、組換えDNA技術によって付加されることが期待されている性質だけでなく、組換えDNA技術に起因し発生するその他の影響等についても、そのような事態の発生の可能性も含めて安全性評価を行う。なお、その際には、当該種子植物の利用及び加工方法についても考慮する。
- 2 また、当該種子植物の安全性審査の範囲は、既存のものと同等とみなし得る組換え体とする。その理由は、そのような組換え体において付加された性質以外の性質については、すでにその安全性が広く受け入れられてきたため、あらためて考慮する必要がないか、又は、その安全性の評価を行う上で必要とされる知見等の蓄積が十分になされていると考えられるためである。なお、同等とみなし得ること自体が、当該組換え体が安全であることを意味するものではなく、既存の種子植物との比較において、当該組換え体の安全性評価に必要となる項目について個々に評価をし、判断するものである。

- 3 さらに、例えば、菜種油のように、組換え体からの抽出物のみを食する場合であっても、抽出物以外のものを食する可能性を考慮して、組換え体の安全性審査を行うものである。

第4 組換えDNA技術によって得られた非病原性の微生物を利用して食品又は添加物を製造する場合の安全性評価の考え方

- 1 組換えDNA技術により得られた微生物を利用して製造された食品又は添加物の安全性は、当該食品又は添加物に付加される全ての因子について評価を行う。すなわち、組換え体、組換え体が生産する生理活性物質、培地成分等の生産物への混入、生産物中の常成分の変化等、組換えDNA技術を応用することに伴い発生する事項について安全性の観点から評価することが必要である。また、製造、精製等の過程についても安全性の観点から評価することが必要である。
- 2 組換えDNA技術によって得られた微生物を利用して製造された食品又は添加物の安全性審査の範囲は、非病原性である組換え体を利用して製造された食品又は添加物が既存の食品又は添加物と同等とみなし得る場合とする。その理由は、そのような食品又は添加物においては、基本的に安全性評価を行う上で必要とされる知見等の蓄積が十分なされていると考えられるためであるが、同等とみなし得ること自体が、当該食品又は添加物が安全であることを意味するものではなく、既存の食品又は添加物との比較において、当該食品又は添加物に付加された因子等の安全性評価に必要となる項目について個々に評価をし、判断するものである。

第2章 組換えDNA技術によって得られた種子植物の全部又は一部を食品として用いる場合の安全性審査基準

第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、当該種子植物の食品としての安全性を評価するために、既存の食品(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食品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、既存の食品との比較において、第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次の事項を明らかにする資料

- (1) 遺伝子が導入される宿主植物の種類及び由来
 - (2) 遺伝子供与体の種類及び由来
 - (3) 挿入遺伝子の性質
- 2 広範囲な人の安全な食経験に関する資料
申請された生産物の開発に用いた宿主植物の広範囲な人の食経験の有無
- 3 食品の構成成分等に関する資料
 - (1) 宿主植物及び組換え体の構成成分(蛋白質、脂質等)の種類及びその量の概要
 - (2) 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
 - (1) 収穫時期(成熟程度)と貯蔵方法
 - (2) 摂取(可食)部位
 - (3) 摂取量
 - (4) 調理及び加工方法

第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。

第3 宿主に関する事項

- 1 分類学上の位置付け(学名、品種名及び系統名等)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食用に利用されてきた歴史及び広範囲な人の安全な食経験があること。
- 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 アレルギー誘発性に関する事項
当該組換え体の開発に用いた宿主植物のアレルギー誘発性に関する知見が明らかであること。

5 寄生性及び定着性に関する事項

宿主植物が、人や他の生物に寄生又は定着するか否かが明らかであり、寄生又は定着する場合、人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。なお、一般に、種子植物の場合、それを食する人や他の生物（食品となる生物）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。

6 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項

- (1) 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。
- (2) また、そのような病原体が知られている場合は、当該病原体は人に対する病原性がないか又は人に対する病原性を担う遺伝子が含まれていないこと。

7 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。

8 有性生殖周期及び交雑性に関する事項

他の食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。

9 食品に利用された歴史に関する事項

宿主植物が、食品として利用されてきた歴史(食文化)が明らかであること。

10 安全な摂取に関する事項

当該組換え体の開発に用いた宿主植物に、安全な摂取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。（例：シアン含有雑豆）

11 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。

12 宿主の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。

第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。
- ・人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

(1) 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。

(2) 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。

(3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

既知の有害な蛋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、人では増えないこと。他の植物で増える場合は、宿主域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。

第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

(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テ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、サザンブロッティング法及びウェスタンブロッテ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

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。

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。

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。

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。)

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。

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

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。

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。

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。

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法、RT-PCR法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。

- ・ 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) 遺伝子産物がアレルゲンとして知られているか否かに関する事項

挿入遺伝子の遺伝子産物について、アレルギー誘発性に関する知見が明らかであること。

(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

蛋白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 から 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。

人工胃液による酸処理及び酵素 (ペプシン) 処理

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

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) 遺伝子産物の摂取量を有意に変えるか否かに関する事項

遺伝子産物の摂取量を有意に変えるか否かが推計されており、原則として、当該摂取量を有意に変えないことが示されていること。

(5) 遺伝子産物と既知の食物アレルゲンとの構造相同性に関する事項

既知のアレルゲンと一次構造を比較し、構造相同性に関する検索条件と検索結果が明らかにされており、既知のアレルゲンと構造相同性を有していないこと。

(6) 遺伝子産物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

遺伝子産物が人の蛋白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。

上記(1)から(6)までについては、合理的な理由があれば、一部を省略することができる。

上記(1)から(6)までに掲げる事項により人の健康を損なうおそれがあると認められるか否かが判断できない場合は、構造相同性が認められたアレルゲンに対する患者IgE抗体と遺伝子産物との結合性に関する事項(ウェスタンブロット法及びELISA法あるいはこれと同等の方法によるアレルギー患者のIgE抗体結合能の評価を行った結果)及び主要アレルゲン(注)に対する患者IgE抗体の遺伝子産物への結合性に関する事項(ウェスタンブロット法及びELISA法あるいはこれと同等の方法によるアレルギー患者のIgE抗体との結合性を判定した結果)が明らかであり、それらのデータにより、安全性に問題がないと判断できること。

(注：卵、ミルク、大豆、米、小麦、そば、たら、えび及びピーナッツに対するアレルギー患者血清を用いること。)

3 遺伝子産物の毒性に関する事項(アレルギー誘発性に関する事項を除く。)
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。

4 遺伝子産物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。)
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。宿主植物のアレルギー誘発性に係る蛋白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、アレルギー誘発性にどのように影響するかが明らかにされていること。

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 組換え体の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 組換え体の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 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。

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。

第7 第2から第6までにより安全性の知見が得られていない場合は次の試験の成績に関する事項

次の試験結果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)

(注)

- 1 試験成績(栄養試験を除く。)は、G L P (Good Laboratory Practice) 適合施設でG L P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3章 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食品又は添加物の安全性審査基準

第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食品又は添加物及びそれと同種の既存の食品又は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、既存の食品又は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、当該食品又は添加物の安全性を評価するために、既存の食品・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、当該食品又は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、既存の食品又は添加物との比較において、第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。

第2 組換え体等に関する事項

- 1 G I L S P (Good Industrial Large - Scale Practice) 又はカテゴリー1による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
G I L S P 組み換え体であるか又はカテゴリー1組換え体であるかが明らかであること。
なお、G I L S P 組換え体であるかカテゴリー1組換え体であるかについては、それぞれ、「組換えDNA技術応用食品及び添加物の製造基準」の第

2条第9項及び第11項の定義によること。

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

(1) 分類学上の位置付け(学名及び株名等)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人が曝露されていることが明らかであること。

(2) 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。

(3) 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、人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、人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。

(4) 病原性の外来因子(ウイルス等)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。

(5) 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。

(6) 有性又は無性生殖周期及び交雑性に関する事項

他の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。

(7) 食品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、食品として利用されてきた歴史(食文化)が明らかであること。

(8) 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。

(9) 宿主の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

(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。
- ・人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

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。

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。

既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

既知の有害な蛋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。

(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、他の微生物又は人では増えないこと。他の微生物で増える場合は、宿主域が明らかであること。

(6) 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。

(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

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 挿入遺伝子に関する事項

(1) 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。

(2) 遺伝子の挿入方法に関する事項

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。

挿入遺伝子の宿主への導入方法

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。

(3) 構造に関する事項

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。

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。

有害塩基配列の有無に関する事項

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。

(4) 性質に関する事項

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。

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ング解析パターンが明らかにされていること。

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) 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、さらに次の及びの各項目について、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。

遺伝子及び遺伝子産物の特性に関する事項

・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。

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の構造相同性がないこと。

・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。

・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。

・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

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。）

・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。

・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にされていること。

遺伝子及び遺伝子産物の摂取に関する事項

- ・ 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。

- ・ 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。

- ・ 通常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。

- ・ 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。

(7) 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ティング法、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アレルギー誘発性を含め、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（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から産生される蛋白質の性質・機能が明らかであり、その蛋白質は人に対する有害作用をもたないこと。

(2) 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。

(3) 組換え体の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。

(4) 組換え体の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。

(5) 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。

第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 食品又は添加物の製造原料又は製造器材としての使用実績があること。
- 2 食品又は添加物の製造原料又は製造器材としての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、食品又は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。)

第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により行った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、既存の食品又は添加物に比べ有為に増加しておらず、かつ、既存の食品又は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 生産物の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つては、その濃度の変動について、既存の添加物と同等であること。仮に変動があつても、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諸外国における認可及び使用等の状況に関する事項
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。

第5 第2から第4までにより安全性の知見が得られていない場合は次の試験の成績に関する事項

次の試験結果に基づき、食品又は添加物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、神経毒性試験等）

（注）

- 1 試験成績はG L P 適合施設でG L P に従って行われたものであることを必要とする。
- 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。