

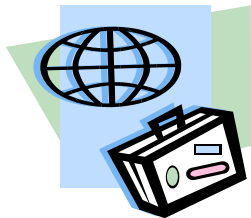
第二種使用等拡散防止措置  
確認申請手続きマニュアル  
(大臣確認申請書作成留意事項)  
遺伝子組換え微生物編

令和6年3月

農林水産省消費・安全局農産安全管理課

# 申請者の申請書作成から大臣確認までの流れ

## ☆申請の事前相談



申請を円滑に行うため、申請に先立ち、産業利用としての遺伝子組換え微生物の使用目的、特性と拡散防止措置の内容、使用施設の概要、実施体制、実施責任者、研究開発第二種使用の実施の有無等の説明し、助言を受ける。(任意である。申請に必要とされる情報の詳細や申請手続き等の相談も可)

## ☆申請書案作成



申請書案作成に当たっては、「遺伝子組換え生物等の第二種使用等のうち産業上の使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令(産業二種省令)様式第一(遺伝子組換え微生物)」に基づき、本マニュアルを参考に、各項目を網羅し、説明の根拠となる科学的データを添付する。拡散防止措置のうちハード面は写真映像等を添付し、ソフト面は作業手順書等のコピーを添付する。(用紙の大きさは、日本産業規格A4とする。)

## ☆形式要件及び参照資料の点検



申請書案の内容を点検する(項目ごとの記載内容が適切か、根拠データが添付されているか、添付資料は適切か等)。必要に応じ窓口へ申請書案を照会し、再検討を助言された場合は、修正や差し替えを行う。

## ☆申請書提出



申請書案が整った時点で、正式に社名、代表者等を明記した申請書を提出する。事務局が正式受理をしてから大臣確認を発するまで標準処理期間は3か月である。ただし、拡散防止措置の確認に先立ち意見を聴く微生物検討会又は\*動物用組換えDNA技術応用医薬品調査会(以下、「微生物検討会等」という。)及び事務局からの指摘に関する対応期間は処理期間には含まない>(\*動物用医薬品原料等の生産に係るものについて当該調査会で審議する。)

## （☆申請書受理）

### ☆審査開始（微生物検討会等での審議）



申請された拡散防止措置の確認に当たって学識経験者からの意見聴取を行うため、微生物検討会等が開かれる。微生物検討会等では、必要に応じ、申請者に申請書等の説明を求めることとしている。意見を聴取する学識経験者メンバーは下記のアドレスに掲載。

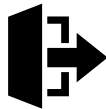
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/about/index.html#1-4>（学識経験者名簿(第二種使用等)）

### ☆現地確認調査実施



初回及び必要に応じて現地において、申請書どおりにソフト面、ハード面で拡散防止措置が整備されているかを確認する調査が行われる。微生物検討会等において指摘を受けた点について、改善されているか確認が行われる。

### ☆審査終了



微生物検討会等で受けた指摘点の改善状況を中心に現地確認内容とともに報告される。検討会委員から拡散防止措置について有効との評価が得られ、事務局においても同様と判断した時点で大臣確認発出の手続きが行われる。

### ☆大臣確認



申請者に対し大臣確認通知が発出され、必要な情報はホームページに掲載される。

<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/index.html#1>

（第二種使用等拡散防止措置の確認状況）

### 確認スケジュール

申請書の事前点検後、正式な申請書の提出を受けてから、微生物検討会等での審査準備、微生物検討会等の開催、必要に応じて現地調査、大臣確認発出手続きを約3か月以内を進めることを基本とする。なお、微生物検討会等の指摘において、追加的な情報及び試験データ等資料が求められた場合や拡散防止措置の改善が指示された場合にこれらに対応した期間は含まない。

# 申請書作成の記載方法について

(枠内は産業二種省令の様式第一の備考)

## 1. 申請者

申請者が法人の場合にあっては、「申請者の氏名」については、法人の名称及び代表者の氏名を記載し、「申請者の住所」については、主たる事務所の所在地を記載すること。

- ・ 法人の代表者の氏名には、法人登記等の際に用いる正式な職名も記載すること。
- ・ 住所については使用等する機関の主たる事務所の所在地を正式な名称で都道府県・市町村・字・番地まで記入すること。
- ・ 申請中に、氏名、住所に変更があるときは、速やかに連絡すること。

## 2. 遺伝子組換え生物等の種類の名称

当該遺伝子組換え生物等の宿主の分類学上の種の名称及び当該遺伝子組換え生物等の特性等の情報を含め、他の遺伝子組換え生物等と明確に区別できる名称とすること。また、開発者が付した識別記号及び国際機関において統一的な識別記号が付されている場合にあっては、当該記号を記載すること。

- ・ 学名は当該生物分野の命名規約に則り記述すること。また、ウイルスは国際ウイルス命名委員会公表資料を参照すること。
- ・ 遺伝子名はイタリック体で記入のこと。
- ・ 識別記号を記載する場合は、登録機関の名称をあわせて記載すること。
- ・ 名称の記載例は以下のとおり。  
「〇〇由来〇〇〇〇遺伝子(〇〇<遺伝子名>)導入(又は欠損)△△△菌(又はウイルス等)〇〇株(導入遺伝子名、宿主名(学名)(識別記号 54321))」

## 3. 第二種使用等をしようとする場所

- ・ 申請書には、生産工程中の当該遺伝子組換え微生物を第二種使用するすべての作業区域を網羅して記載すること。
- ・ 施設内の該当する培養棟等の名称まで記載すること。
- ・ 同種の遺伝子組換え微生物で、申請者が同一であっても、複数所在地で別途に培養・増殖等第二種使用等を行う場合は、各々の施設ごとにその拡散防止措置に係る確認申請を行うこと。
- ・ 申請者が委託契約を取り交わし、生産工程の一部を他者に委ねる場合は、委託契約の受託者も該当施設に関して拡散防止措置に係る確認申請を行う必要がある。生産受託者においても、産業二種省令に沿って拡散防止措置として十

分考慮し整備された施設であるか、SOP が用意されているか、施設内の作業者の作業管理体制が整っているかが必須の審査事項となるので留意すること。

#### 4. 第二種使用等の目的及び概要

遺伝子組換え生物等が生産の手段として使用されるか、それ自体が製品として使用されるかについての別を記載するとともに、製品の種類及び利用形態を併せて記載すること。

- 例えば、遺伝子組換え微生物産生の抗原（タンパク質）を不活化ワクチンとして製造した際に、その品質試験や効果測定等のため使用する他の抗原生産設備や施設は、併せて予めの拡散防止措置の大臣確認を受けること。
- 遺伝子組換え微生物自体を成分として使用する生ワクチンの第一種使用等の申請に必要なデータ収集を目的とする場合は、以下の記載例を参考に記載すること。

##### 記載例

(目的)

本遺伝子組換え微生物〇〇について、カルタヘナ法に基づく第一種使用等の申請及び薬機法に基づく生物学的製剤として使用の申請を行うことを前提とし、本遺伝子組換え微生物を使用して、申請に必要な動物接種試験、〇〇試験及び〇〇試験を、拡散防止措置が確認された室内で行う。

(概要)

本遺伝子組換え微生物は、〇〇病原原因ウイルスである〇〇の感染防御抗原である〇〇タンパク質を発現する遺伝子組換え〇〇ウイルスであり、〇〇の疾病に対する予防のための遺伝子組換え生ワクチンである。〇〇年に開発され、〇国で承認使用されている。なお、当該第二種使用等で使用されるサンプルは〇国から密閉容器で輸入され、カルタヘナ法産業第二種省令に基づき拡散防止措置が執られた〇〇に運搬・保管される予定である。

#### 宿主又は宿主の属する分類学上の種

#### 5. 分類学上の位置及び自然環境における分布状況

- (1) 学名（属及び種）及び株名
- (2) 公的な微生物保存機関から分与されたものである場合には、当該機関の名称と株番号
- (3) (2)でない場合には、同定の根拠となる事項（既に学名が公認されている種との同異点及びその根拠、株の分離源及びそれから作製した基準株の寄託場所及び保管番号等）

(4) 宿主を、遺伝的改変を用いて得た場合にはその遺伝的改変の内容（野生株から宿主株までの遺伝的改変の経緯を示すとともに誘導するために用いた遺伝的改変の操作（例えば紫外線照射による突然変異の誘発、接合等））。ただし、宿主が既に主要な学術文献等に記載されている株である場合は、その株名を記載すること。

(5) 宿主として野生株を用いる場合には、自然環境における分布状況を記載し、必要に応じて関連資料を添付すること。

- 学名は当該生物分野の命名規約に則り記述すること。また、ウイルスは国際ウイルス命名委員会公表資料を参照し記載すること。

## 6. 使用等の歴史及び現状

宿主として利用する株が産業利用された歴史を有する場合には、その内容及び期間を記載し、必要に応じ関連資料を添付すること。

## 7. 繁殖又は増殖の様式

有性又は無性生殖の周期、増殖温度域、増殖速度、栄養要求性、薬剤感受性等の特性について記載するとともに、必要に応じ、関連資料を添付すること。

- 申請には、増殖様式の内容を裏付けるデータ・文献を添付すること。

## 8. 病原性

病原性の有無及びその根拠並びに病原性に関係あるウイルス及びプラスミドの有無を記載するとともに、病原性が知られている場合には、その内容並びに予防及び治療の方法を記載し、必要に応じ関連資料を添付すること。

## 9. その他の情報

有害な影響を及ぼす生理活性物質等の産生性の有無を記載するとともに、該当する物質の存在が知られている場合は、その名称並びに活性及び毒性の強さについて記載し、必要に応じ関連資料を添付すること。

また、抗生物質の産生性等の主要な生理学的性質について記載し、必要に応じ関連資料を添付すること。

## 供与核酸

### 10. 構成及び構成要素の由来

目的遺伝子、隣接領域及び調節系の構成並びにその由来について明らかな範囲で記載すること。また、構造について、制限酵素地図、塩基数及び塩基配

列を必要に応じ記載すること。

- ベクターに挿入される直前の配列を供与核酸として、構成要素の名称、由来、サイズ（塩基数）等を列記して表形式で整理すること。
- ベクターも供与核酸として、染色体もしくは細胞質内に組み込まれる場合は、ベクター内の構成要素も供与核酸として、表形式で整理すること。
- 表題は「〇〇由来〇〇〇〇遺伝子（〇〇<遺伝子名>）導入（又は欠損）△△△菌（又はウイルス等）〇〇株の作出に用いられた供与核酸の各構成要素」と記載すること。
- 供与核酸の構成図は、表の構成要素を網羅し、わかりやすく記載すること。
- 欠損・置換等の変異を導入した供与核酸を用いる場合などは、その詳細が分かる図を別途作成し、添付すること。
- 供与核酸の塩基配列は別紙で添付すること。塩基配列がすでに公開されている供与核酸の構成要素については、掲載データベースのアクセッションナンバーを記入すること。
- 論文やカタログのコピーは、必要に応じ当該申請に係る内容を分かりやすく整理、説明を付した上で添付すること。

### 1 1. 構成要素の機能

供与核酸が遺伝子として有する機能及び物質を生産又は処理する場合に推定される代謝経路について記載すること。

- 上記供与核酸の各構成要素の表に、これら供与核酸が本来遺伝子として有する機能を追記すること。
- 供与核酸が宿主内で組み込まれた後に、発現する機能を記載し、宿主内で今までの代謝経路に何らかの変化を与えるのであれば、これらを推定し記載すること。
- 機能が明確にされていない供与核酸を導入した場合、宿主に病原性を付与しないことを具体的なデータ等を示して説明すること。

## ベクター

### 1 2. 名称及び由来

ベクターの名称及び由来する生物の分類学上の位置を記載すること。

- ベクターの全体構成と制限酵素サイトの配置が分かる図を示すこと。
- 供与核酸が挿入される直前の当該ベクターの配列を資料として整備すること。

### 1 3. 特性

ベクターの伝染性、病原性、伝達性、塩基数等について明らかな範囲で記載すること。なお、既知のベクターについて改造又は修飾を行い、新しいベクターを開発した場合は、改造又は修飾前のベクターに関する文献を添付し、改造又は修飾を行った部分について説明すること。

また、ベクターの由来生物の特性についても必要に応じ記載すること。

- なお、ベクターの伝達性のうち、ベクターを微生物から調製し、動植物等への感染により伝達する場合は、伝染性という。
- 予めオペレーター等の調節系が組み込まれたベクターを使用する場合には、それらの機能もすべて記載すること。

## 遺伝子組換え微生物

### 1 4. 調製方法

(1)細胞内に移入する核酸の構成（目的遺伝子、プロモーター、マーカー等の配列）及びベクターへの目的遺伝子の挿入方法

(2)宿主への核酸の移入方法

(3)遺伝子組換え微生物の育成経過（遺伝子組換え微生物を選抜した方法及びその後の育成経過の概要）

を記載し、必要に応じ図示すること。

- 供与核酸のベクターへの挿入から、遺伝子組換え微生物が作出されるまでの工程をフロー図に簡潔にまとめて添付すること。
- マスターシード及びマスターセルバンクの定義を記載した上で、これらの作製・更新方法、保存条件についても記載された資料を添付すること。

### 1 5. 細胞内に移入した核酸の存在状態及び発現の安定性

(1)移入した核酸が遺伝子組換え微生物の染色体に組み込まれているか細胞質内に存在するかの別

(2)目的遺伝子の宿主内での発現の安定性

を記載すること

- 根拠として、目的遺伝子による発現形質の分離様式とPCR法、サザンブロット分析等により移入した核酸の有無及び、制限酵素切断試験等により継代後の遺伝子組換え微生物内の存在状態に変化が無いことを確認した結果を示すこと（文献のデータによる確認の場合は、申請書の説明との整合性をとること。）。
- 目的遺伝子の発現に関しての上記以外の知見も極力データを示すこと。
- 理論的にも説明できる程度の複数回数の継代（継代の方法も明記）を重ねても、移入した核酸の脱落や遺伝子発現量の過度の上昇や低下が認められない



ことを示すこと。

- ・ 移入した核酸の挿入部位において、新たなオープンリーディングフレームの出現の有無、目的のタンパク質以外のタンパク質の発現の有無について記載し、意図しない性質の発現がないことを確認した結果を示すこと。
- ・ 参考として、継代培養後の遺伝子組換え微生物にプラスミドが正常かつ安定的に保持されている比率を記載すること。

## 16. 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

遺伝子組換え微生物の宿主又は宿主の属する分類学上の種との特性の違いに関し、繁殖又は増殖の様式、病原性、その他の情報について相違点を記載すること。なお、遺伝子組換え微生物の宿主又は宿主の属する分類学上の種からの識別を可能とする特徴があれば、それを併せて記載すること。

- ・ 細菌等の増殖性については、水道水、環境水等に曝露し、経時的にサンプリングをし、宿主と比較することで、宿主と同等又はそれ以下であることをコロニー形成ユニット（CFU）で確認すること。
- ・ ウイルスの増殖性については、複数種の培養細胞にて感染試験を行い、増殖曲線を宿主と比較することで、宿主と同等又はそれ以下であることを確認すること。その際、TCID<sub>50</sub>法やプラーク法等で感染価を測定すること。
- ・ 必要に応じ関連資料を添付すること。

## 拡散防止措置

### 17. 使用区分

以下の区分に分類し、別表\*の上欄に掲げる遺伝子組換え生物等の区分に応じて、別表\*の下欄に定める拡散防止措置を実施する旨を記載すること。なお、以下の区分に該当しないものは「その他」と記載し、予定している拡散防止措置の内容を別紙に記載すること。

a. GILSP（宿主、供与核酸、ベクター及び遺伝子組換え微生物が次の基準を満たすもの）

#### (1) 宿主

- (ア) 病原性がないこと
- (イ) 病原性に関係のあるウイルス及びプラスミドを含まないこと
- (ウ) 安全に長期間利用した歴史がある又は特殊な培養条件下では増殖するがそれ以外では増殖が制限されていること

#### (2) 供与核酸及びベクター

- (ア) 性質が十分明らかにされており、有害と認められる塩基配列を含まないこと

- (イ) 伝達性に乏しく、かつ、本来耐性を獲得することが知られていない生細胞に耐性マーカーを伝達しないこと
- (3) 遺伝子組換え微生物
  - (ア) 病原性がないこと
  - (イ) 宿主と比べて増殖する能力が高くないこと
- b. カテゴリー1（遺伝子組換え微生物が病原性がある可能性が低く、かつGILSPに含まれないもの。）

\*産業二種省令の別表

- ・ GILSP, カテゴリー1については、「産業二種省令」別表の下欄に定める拡散防止措置の具体的な内容を以降の該当項目に網羅して記載すること。

## 18. 作業区域の位置

事業所内外の建屋の配置及び名称並びに作業区域を図示すること。

- ・ 事業所の所在位置が確認できるよう、各事業所所在地の周辺地図も参考に示すこと。
- ・ 「作業区域」は、事業所内にある作業する場所のうち、遺伝子組換え微生物を取り扱う又はその可能性のある区域を指す。作業区域と作業区域以外の区域とは明確に区別できるようにすること。

## 19. 設備・配置

作業区域を含む平面図を示し、遺伝子組換え微生物を取り扱う主要な設備の位置及び名称を記載すること。

- ・ 平面図の作成にあたっての留意点
  - ① 作業区域には、作業者の入・退室経路、遺伝子組換え微生物の搬入・搬出経路の動線を矢印などで書きこむこと。
  - ② 培養、滅菌、給排気、排水等に関わる各設備の形状、設置状況、「組換え微生物培養中」「関係者以外立ち入り禁止」等表示状況の確認が可能な写真・資料を添付すること。

## 20. 設備・構造

遺伝子組換え微生物の取扱いに係る設備又は装置に関し、

- (1) 設備の仕様
- (2) 排水系統
- (3) 換気設備（「使用区分」を「カテゴリー1」と分類した場合であって、作業区域のうち強制換気を行っている建屋又は部屋の換気設備）

を記載し、必要に応じ図示すること。

- 設備の仕様には、耐用年数、設置時期、メンテナンスの内容等も含め記載すること。
- 施設について、耐震性等構造面を確認するため、建築基準法第6条第1項の建築基準関係規定の自治体の適合証明書等の写しを添付すること。
- 動物用医薬品（製造の中間工程で作られたものであって、以後の製造工程を経ることによって、製品となるものを含む。）の製造を行う場合は、本申請の後に薬機法\*に基づく承認を受ける必要があり、薬機法において定めている製造施設の要件である「動物用医薬品製造所等構造設備規則（H17.3.29，農林水産省令第35号）」に適合することが求められるので留意すること。

\*医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和35年8月10日法律第145号）

## 2 1. 設備・生産工程

遺伝子組換え微生物の生産又は遺伝子組換え微生物を使用して行う物質の生産の工程についてその概略を図示すること。図には、各種機器の名称、バルブの箇所等を記載し、必要に応じ各工程の名称及び内容を記載すること。

- 上記生産工程概略図はフローチャートの形で作成すること。
- 図には、工程中の無菌試験、廃液等の滅菌処理、培養液が漏出しないような運搬手段も含めて書き込むこと。
- 遺伝子組換え微生物の残存性の否定
  - 組換え微生物発現系でタンパク質を生産する場合は、不活化の方法（精製方法とその条件）、残存しないことの確認方法等を明記すること（ウイルスを使用する場合は下記\*に留意すること）。
    - \*「医薬品の品質管理とウイルス安全性」（日本医薬品等ウイルス安全性研究会 編）第2章 1) 2. 医薬品等のウイルスに対する総合的な安全性確保を図るために必要な基本的方策  
<https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/2011/112011/201106016A/201106016A0005.pdf>
  - （バキュロウイルスの場合）精製方法や残存しないことの確認方法等については、学術論文で示されている特定の方法を参考に検討し定めること。（例えば、アフィニティ精製やアジリジン（エチレンイミン）類によるDNAのアルキル化等による不活化・除去した説明とバキュロウイルスが残存しないことの試験結果を参考文献とともに提出すること（必ずしも当該論文の精製方法に限定するものではない））。

## 2 2. その他

(1) 上記以外の遺伝子組換え微生物の使用に関し得られている知見

(2) 事故時等緊急時における対処方法  
(3) 事業者における管理体制  
等について必要に応じ記載すること。

(1) 上記以外の遺伝子組換え微生物の使用に関し得られている知見

今回の申請が、過去に確認を受けた拡散防止措置と同様の作業区域及び内容である場合は、確認年月日、確認番号及び遺伝子組換え微生物の種類の名称を記載すること。

(2) 事故時等緊急時における対処方法

施設の破損等によって適切な拡散防止措置が執れなくなった場合の具体的な対処方法に関して、以下の項目について整理し記載すること。

① 実施体制及び責任者

② 申請に係る遺伝子組換え生物等を不活化（遺伝子組換え生物等を「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律施行規則」（平成15年財務省・文部科学省・厚生労働省・農林水産省・経済産業省・環境省告示第1号）第1条に定める細胞等以外のものに人為的に変えることをいう。）するための具体的な措置の内容

③ 農林水産大臣への連絡の方法

④ その他必要な事項

・事故時においても遺伝子組換え生物の拡散防止措置が機能するための対応を検討すること。

➤ 通常時と同様、作業区域に至る複数の扉の開閉手順の徹底

➤ 培養タンク等の破損、扉の破損時の対応

➤ 培養室の状況を外部から把握できるシステム

➤ 夜間・休日における人的配置の体制

➤ 緊急時に必要な人員の配置

(3) 緊急連絡網を作成し、担当者の目のつくところに掲載もしくは所持させること。

(4) 緊急時のマニュアル等を準備されている場合は、申請書類に添付すること。

(5) 事業者における管理体制

① 施設・設備の保守点検体制

② 経験者の配置及び教育訓練体制（「農林水産大臣がその第二種使用等をする者の行う事業を所管する遺伝子組換え生物等の第二種使用等に係る拡散防止措置の確認の申請について」（以下「通知」という。）第4の4に定める管理責任者及びこれを補佐する管理主任者（遺伝子組換え生物等の第二種使用等について経験を有する者の中からの選任に努める）を置く場合には、そ

の旨を記載すること。)

- ③ その他必要な事項(「通知」第4の1に定める委員会を設置する場合には、その旨を記載すること。委員の名簿(遺伝子組換え実験、又は管理の経験年数、及び申請者が法人の場合には、当該法人に所属するか否か)を申請書とともに提出すること。)

- (6) 施設・建築物の耐震性等については、建築基準法(第1章第6条)、都道府県等が定める建築物の基準等、必要な法令を満たしている説明資料(自治体の建築確認写し)を添付すること。

(なお、申請施設が法定耐用年数を過ぎている場合には、都道府県等の認定を受けた耐震診断士による簡易診断を受けることを推奨する。)

- (7) 作業工程の手順を明確化するため、標準作業手順書(SOP)を整備し申請書に添付すること。併せて、作業者への周知徹底を図ること。

- (8) 既に大臣確認を取得した拡散防止措置区域の移設及び拡張等の大幅変更は伴わないが、作業区域内の軽微な改修を行う際には、機器の配置換えや更新と同様に再申請は求めない。しかしながら、機器の配置換え等より大きな変更となることから、微生物検討会、動物用組換えDNA技術応用医薬品調査会に相談の上、農産安全管理課で判断することとする。

なお、軽微なものを含め上記変更については、申請者の事務局への事前の相談を必須とし、改修を伴うものは大臣確認時の申請書の該当部分に、新旧対照を明記した書類をもって、説明を行うこと。