

別添 2

組換え D N A 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性確認基準（案）

第 1 章 組換え D N A 技術によって得られた種子植物を飼料として用いる
場合の安全性確認基準

第 1 確認対象品目の概要

確認対象品目について、開発の経緯及び次の第 2 から第 6 までの概要が説明されていること。

第 2 安全性確認において比較対象として用いる既存品種等の性質に関する事項

次の 1 から 8 までの事項の概略を示し、組換え D N A 技術により得られた種子植物の飼料としての安全性確認を行う上で必要とされる比較対象として、既存のもの（既存品種）等が存在すること及び第 3 に示す組換え体と既存品種等の相違点が明確であることが必要とされる。

1 既存品種の分類学上の位置付けに関する事項

学名（必要に応じて亜種名、組換え体の開発に用いた既存品種名、系統名）及び由来が明らかであること。

2 既存品種による家畜等の安全な飼養経験に関する事項

その植物が飼料用に使用されてきた歴史及び広範囲な家畜等の安全な飼養経験があること。

3 既存品種の使用方法に関する事項

（ア）収穫時期（成熟程度）と貯蔵方法

（イ）家畜等の摂取（可食）部位

（ウ）家畜等の摂取量

（エ）調製及び加工方法

4 既存品種の遺伝的先祖及び育種開発の経緯並びに近縁の植物種に関する事項

既存品種の遺伝的先祖が、毒素及び栄養阻害物質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。有害生理活性物質を産生する植物であった場合、育種過程においてどのようにしてこれらの毒素及び栄養阻害物質等の有害生理活性物質の生産を低下・消失させてきたのかが可能な限り明らかにされていること。

確認対象となる組換え体の開発に用いられた既存品種の近縁種において、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、その摂取量等を基に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。

5 飼料の構成成分等に関する事項

(ア) 既存品種の主要栄養素等（たん白質、脂質等）の種類及びその量の概要

(イ) 既存品種に含まれる毒性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・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、作用及びその量の概要)

6 既存品種の栽培及び流通過程において、家畜等に悪い影響を及ぼす外来因子に関する事項

(ア) 当該組換え体の開発に用いた既存品種が外来因子に汚染されることが知られている場合は、当該外来因子は家畜等に悪い影響を及ぼすおそれがないことが知られていること。

(イ) 作出過程で汚染防止対策がとられている等により、既存品種が、既存品種及び家畜に対して有害な微生物に汚染されていないこと及び品種として汚染が維持されることのないこと。

7 既存品種の安全な利用に関する事項

当該組換え体の開発に用いた既存品種に、安全な飼料利用のために用いられた加工、技術的な経緯がある場合、それが明らかであること。

8 寄生性及び定着性に関する事項

既存品種が、家畜等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、家畜等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、それを食する家畜等や他の生物（飼料となる生物）に寄生又は定着することはないことから、上記 2 が明らかにされていること。

第 3 組換え体の利用目的、利用方法及び既存品種との相違に関する事項

1 新たに付加される形質又は改変される形質

2 利用目的

3 利用方法

(1) 栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法

(ア) 作出・育種及び栽培方法について、既存品種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 4 で記載されていること。

(イ) 農薬の使用方法について明らかであること。

(ウ) 栽培方法について、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。

(エ) 種子の製法及び管理方法について、既存品種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 4 で示されていること。なお、当該組換え体の開発に用いた既存品種の種子とともに、組換え後の各世代における種子が保存されていること。

(2) 家畜等の摂取（可食）部位、調製及び加工方法

(3) 家畜等の摂取量

4 安全性において検討が必要とされる相違点

3 (1) (ア) 及び (エ) で、相違がある場合には、安全性に問題がないことを示す合理的な理由が示されていること。

5 既存品種以外のものを比較対象とする場合の理由

第 4 挿入 DNA、遺伝子産物及びコンストラクトの構築に関する事項

1 ベクターの名称及び由来に関する事項

(ア) 遺伝子導入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。

(イ) 家畜等に対する有害性が知られていないこと。

2 ベクターの性質に関する事項

(1) ベクターの塩基数及びその塩基配列を示す事項

ベクターの塩基数及び塩基配列が明らかであること。さらにその塩基配列が公開されている場合には、ベクターバックボーンに該当する領域の構成要素及び公開データベースにおける登録番号が明らかであること。また、サザンブロッティングを行った場合には、ベクターの切断地図が明らかであること。この場合、用いた制限酵素の名称のほか、断片の数、サイズ及び電気泳動パターン等が明らかであること。

(2) 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。

(3) 組換え体の選抜に関わる遺伝子に関する事項

ベクター中に組換え体の選抜に関わる遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む。以下同じ。）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) 伝達性等に関する事項

原則として、伝達性（ベクターが複数の生物種間で移動できる性質）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。また、トランスポゾンのような自律的可動性を示す配列がないこと。

(5) 既存品種への依存性に関する事項

遺伝子組換えに用いられたベクターが、他の植物、家畜等では増えないこと。他の植物で増える場合は、宿主域が明らかであること。

3 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

(ア) 挿入DNAの供与体は、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は、病原性がない株に由来することが明らかであること。

(イ) 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は、挿入DNA自身に毒素産生性がなく、挿入DNA由来のたん白質に病原性がないことが明らかであること。

(ウ) 挿入DNA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。

4 挿入DNA又は遺伝子（遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子を含む。）及びその遺伝子産物（RNA及びたん白質）の性質に関する事項

(1) 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と判断できる合理的な理由があること。他の生物への影響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。

なお、挿入遺伝子の転写、翻訳の後、生成されるたん白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たん白質と既知の毒性たん白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。

(2) 組換え体の選抜に関わる遺伝子のうち、抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項

必要に応じて以下の事項を確認すること。

(ア) 耐性の対象となる抗生物質の使用法（経口、静注等）が明らかであること。

(イ) 耐性発現の機序が明らかであること。

(ウ) 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。

(エ) 耐性の対象となる抗生物質の使用状況（使用法、使用量、使用目的等）が明らかであること。

(3) 挿入遺伝子及び組換え体の選抜に関わる遺伝子の発現に関わる領域に関する事項

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及び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及び性質等が明らかであること。

ウ 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

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。

エ 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、その由来及び性質等が明らかであること。

5 その他の導入遺伝子の機能並びに発現たん白質の性質及び機能に関する事項

既存品種の細胞に導入してもゲノムに挿入されない遺伝子を用いており、その遺伝子から生産されるたん白質がある場合は、その由来、機能及び安全性等が明らかであること。

6 ベクターへの挿入 DNA の組込方法等に関する事項

挿入 DNA のクローニング又は合成方法が明らかであること。また、ベクターへの挿入 DNA の組込方法について以下の内容が明らかであること。

(ア) 既存品種へ導入するコンストラクトの作製方法。特に複数の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されていること。

(イ) 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（以下「ORF」という）、ターミネーター、並びに組換え体の選抜に関わる遺伝子を導入した順序及び方法が明らかであること。

7 コンストラクトに関する事項

(1) 塩基数及び塩基配列並びに制限酵素による切断地図に関する事項
コンストラクト及び既存品種に挿入しようとする DNA 断片について、挿入 DNA の塩基数及び塩基配列が明らかであること。

(2) 挿入領域に関する事項

既存品種に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域がコンストラクト上で明らかであること。

(3) 純度に関する事項

導入しようとするコンストラクトは、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されていること。

第 5 組換え体の作出及び遺伝子組換え栽培系統に関する事項

1 遺伝子導入に関する事項

(1) 遺伝子の既存品種への導入方法に関する事項

遺伝子の既存品種（植物体）への導入方法について以下の内容が明らかであること。

(ア) 遺伝子の既存品種への導入方法

(イ) 選抜方法（組換え体を選抜する方法）

(ウ) 植物体としての再生方法

(2) 組換え栽培系統に関する事項（系統の考え方に基づいた記述、育成図）

育種過程を示す樹形図等により、安全性の評価を受けようとしている世代や系統の範囲が特定されていること。

(3) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項

DNAシーケンシング等により、既存品種に導入された遺伝子の塩基配列、構造、コピー数、大きさ及び由来（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。

なお、既存品種のゲノムに挿入されたDNAの近傍のDNA配列が明らかにされるとともに、その挿入によって既存品種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されていること。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が明らかであること。

(4) 組換え栽培系統における導入遺伝子の安定性に関する事項

(ア) 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、DNAシーケンシング、サザンブロッティング、ウェスタンブロッティング等により、導入された遺伝子の構造、発現部位及び発現量に変化しないことをもって、導入遺伝子の安定性を確認できること。

(イ) なお、この場合、育種過程のどの系統の何世代目の遺伝子組換え植物についてこれらの試験を行ったかが明らかであること。

(ウ) 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を観察されており、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。

(5) ORFの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

(ア) 原則として、コンストラクト及び既存品種に導入された遺伝子又はDNA（既存品種のゲノムに挿入されたDNAの近傍のDNA配列を含む。）において、ORFの確認が行われ、目的以外のたん白質を発現するORF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、欠失又はリアレンジメントが生じた場合には、それによってO

R F がどのように変化したかが塩基配列によって明らかにされていること。なお、O R F の確認に当たっては、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 D N A シーケンシング、ノーザンブロッティング、R T - P C R 等を用いて確認できていること。

(イ) 仮に、目的以外のたん白質を発現する可能性のある O R F が含まれている場合は、当該 O R F 及びその O R F が発現するたん白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栽培系統における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項

導入された遺伝子（組換え体の選抜に関わる遺伝子を含む。）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 遺伝子産物のたん白質摂取量に関する事項

抗生物質耐性マーカー遺伝子を用いている場合には、その発現たん白質（抗生物質代謝酵素）の摂取量、さらに、人工胃液・腸液による分解、加熱等の加工過程における分解量及び抗生物質の使用状況等から、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（たん白質）の物理化学的処理に対する感受性に関する事項（組換え体の選抜に関わる遺伝子を用いている場合にはその遺伝子産物についても評価すること。）

次の（ア）から（ウ）の処理によって、遺伝子産物（たん白質）の分子量、酵素活性、免疫反応性等が変化するかどうか明らかにされ、遺伝子産物（たん白質）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。感受性が高いことが認められない場合は、安全性に問題ないことを示す合理的な理由があること。分子量は SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動等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（たん白質）に対する特異的抗体を用いてウェスタンブロッティング法、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。

（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

なお、物理化学的処理は省略可能であると判断する場合、その判断の根拠について合理的な理由が示されていること。（例えば、農林水

産大臣により既に安全性が確認されている遺伝子産物と同一であることが明らかである場合が該当する。)

- 5 組換え栽培系統の代謝経路への影響に関する事項（既存品種、在来品種及びその近縁種に含まれる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たん白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が提示されていること。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。

- 6 既存品種との差異に関する事項

- (1) 栄養素及び有害生理活性物質等に関する事項

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、既存品種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。

- (2) 改変された栄養成分の構成又は代謝系に関する事項

栄養成分の構成又は代謝系の改変を目的としている場合には、意図した成分等について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。

また、意図したもの以外について、原則として、既存品種と比べ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。

- (3) 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、既存品種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。

- (4) 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、既存品種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。

- (5) 不活化法に関する事項

不活化法について、既存品種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 諸外国における認可、飼料用等に関する事項

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、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。

第 6 第 2 から第 5 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、水産庁長官通知）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 発がん性試験
- 6 変異原性試験
- 7 発生毒性試験
- 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 G L P（以下「G L P」という。）に適合する施設で 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 2 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飼料の安全性確認基準

I 組換え DNA 技術を応用して得られた非病原性の微生物（組換え体）に関する安全性確認

第 1 安全性確認において比較対象として用いる宿主の性質及び組換え体との相違

次の 1 から 5 までの事項の概略を示し、組換え体の安全性確認を行う上で必要とされる比較対象として、既存の宿主が存在すること、また、宿主の性質が明らかであること、並びに、組換え体と宿主の相違点が明確であることを示す。

1 宿主及び導入 DNA

- (1) 宿主の種名（学名）、株名等及び由来
- (2) DNA 供与体の種名、株名又は系統名等及び由来
- (3) 挿入 DNA の性質及び導入方法

2 宿主の家畜等への安全な飼養経験に関する資料

3 宿主の構成成分等に関する資料

宿主に含まれる有害生理活性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・吸収等を阻害する物質）等がある場合は、その種類及び量の概要

4 宿主と組換え体との飼料への利用方法及びその相違に関する資料

- (1) 製造方法と貯蔵方法
- (2) 用途及び使用形態
- (3) 家畜等の摂取量
- (4) 調製及び加工方法

5 安全性確認において検討が必要とされる組換え体と宿主の相違点

当該組換え体と比較対象となり得る宿主との比較において、第 2 以下の各事項に掲げられた項目に沿って審査を行う。

第 2 宿主に関する事項

1 分類学上の位置付け（種名（学名）・株名等）等に関する事項

学名、株名等が明らかであり、その宿主が飼料に利用されてきた歴史又は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。

2 病原性及び有害生理活性物質等の生産に関する事項

宿主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

宿主が、家畜等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宿主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 宿主の近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

宿主の近縁株において、病原性がある場合や有害生理活性物質を生産するものがある場合、組換え体を利用して製造された飼料の製造に用いた当該微生物においては、同様の病原性や有害生理活性物質の産生等の有無について明らかであること。なお、有害生理活性物質等の産生が認められる場合には、当該微生物を用いた製造に安全性上の問題がないと判断できる合理的な理由があること。

第 3 ベクターに関する事項

1 名称及び由来に関する事項

遺伝子導入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。また、家畜等に対する有害性が知られていないこと。宿主に直接 DNA 断片が導入され、目的遺伝子が相同組換え等により宿主ゲノムに挿入された場合は、その旨を記し、用いた DNA 断片に関する情報（次項第 4 に記載のものを除く）を示す。

2 性質に関する事項

（1）DNA の塩基数及びその塩基配列を示す事項

DNA の塩基数、塩基配列が明らかであること。さらにその塩基配列が公開されている場合には、公開データベースにおける登録番号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

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、用いた制限酵素の名称の他、断片の数、サイズなど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

既知の有害なタンパク質を生産する塩基配列が含まれていないこと。

（4）薬剤耐性に関する事項

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。

（5）伝達性に関する事項

原則として、伝達性（ベクターが宿主となる微生物から他の菌株へ自ら移動（水平伝播）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。

（6）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。

第 4 挿入 DNA、遺伝子産物、並びにコンストラクト又は導入用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

(ア) 挿入 DNA の供与体は、家畜等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 (*Escherichia 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。

(イ) 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 由来のたん白質に病原性がないことが明らかであること。

(ウ) 挿入遺伝子の供与体に関して、家畜等の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、断片の数や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と判断できる合理的な理由があること。特に、当該遺伝子産物（たん白質）がアミノ酸置換等を伴う場合には、当該遺伝子産物（たん白質）が安全性上問題ないと判断できる合理的な理由があること。

3 挿入遺伝子及び抗生物質耐性マーカー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、

- (1) 宿主へ導入する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。
- (2) 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（以下「ORF」という。）、ターミネーター、並びに抗生物質耐性マーカー遺伝子を導入した順序及び方法が明らかであること。

5 コンストラクト又は導入用ベクターに関する事項

(ア) 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。

(イ) 原則として、最終的に構築されたベクターには、目的以外のたん白質を組換え体内で発現するORFが含まれていないこと。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と判断できる合理的な理由があること。

(ウ) 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ベクター上で明らかであること。

(エ) 導入しようとするベクターは、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に関する事項

挿入DNAの宿主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（相同組換えなどの技術を利用することにより、必要とされるDNAのみを残し、組換え体から最終的にベクターを排除する場合は、その方法）
- ・選抜方法（DNAが導入された宿主を選抜する方法）が明らかであること。

第 5 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

DNAシーケンシング等により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) ORF 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、目的以外のたん白質を発現する ORF 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 ORF 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 DNA シーケンシング、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、目的以外のたん白質を発現する可能性のある ORF 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、発現量が明らかであること。

組換え体内における発現量の変化など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 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が導入されている場合は、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。必要に応じ、基質特異性が明らかであること。

また、飼料の製造工程において当該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、次の事項に関する考察も含め、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が確認されること。

・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と判断できる合理的な理由があること。

- ・耐性の対象となりうる他の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。
- ・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。

- ・家畜等における抗生物質耐性マーカー遺伝子の遺伝子産物（たん白質）の摂取量、調製過程及び消化管内環境（人工胃液及び人工腸液）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 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りる複数の継代培養の後、DNAシーケンシング、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と導入箇所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。導入された遺伝子により微生物に導入された形質が、継代を重ねるとともに変化しないかどうかを観察されていること。

5 遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項

導入した遺伝子から生産されるたん白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、遺伝子産物が酵素等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、安全性に問題がないと認める合理的な理由があること。

6 宿主との差異に関する事項

組換え体と宿主等を比較したデータにより、非病原性及び有害生理活性物質の生産に関して、有意な差があるかどうか明らかにされており、有意な差がある場合には、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。

7 組換え体の不活化に関する事項

組換え体を不活化する方法、または完全に死滅させる条件について示すこと。

8 組換え体の取扱、保存及び管理方法に関する事項

組換え体の取扱、保存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。組換え前の微生物（宿主）株と組換え後の微生物（組換え体）株は安全性審査に関して要請がある場合は提出すること。

II 組換え体を利用して製造された飼料の安全性確認

組換え体を利用して製造された飼料の安全性確認にあたっては、Ⅰにおける組換え体を対象とした安全性確認を行った上で、Ⅱの確認項目に沿って、製造された飼料等に応じた安全性確認を行う。なお、組換え体を利用して製造された飼料は、その製造工程で、組換え体を加熱処理等により不活化することを前提としており、生きた組換え体を含む遺伝子組換え飼料の安全性確認は行わない。また、飼料の製造方法（原材料及び製造工程等）に応じた安全性確認の考え方は、必要に応じて、別途定めるものとする。

なお、組換え体としての安全性確認が既に行われている当該組換え体を利用して製造された飼料に関しては、Ⅱに係る安全性確認のみ行うこととする。

第 1 生きた組換え体が含まれないことの確認に関する事項

（ア）組換え体の増殖に適する培地に最終製品の一部を接種し、増殖に適する温度で培養した時、当該組換え体の増殖が認められないこと。

（イ）組換え体が飼料の製造工程において不活化されると判断できる工程があること。

第 2 組換え体を利用して製造された飼料の安全性確認において、比較対象となる従来飼料（従来飼料）に関する事項

（ア）比較対象となる従来飼料（従来飼料）の利用の歴史又は産業上の製造経験等が明らかであること。

（イ）従来飼料の製造方法（原材料及び製造工程等）が明らかであること。

（ウ）従来飼料が有害生理活性物質を含有する場合、その種類、作用及び含量が明らかであること。

第 3 組換え体を利用して製造された飼料に関する事項

1 製造方法に関する事項

製造方法が従来飼料と異なる場合、その相違が明らかであること。その場合、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。

2 主要栄養素に関する事項

組換え体を利用して製造された飼料が飼料として供給されることによって栄養摂取量の変化がもたらされる可能性があるか否かを評価するため、主要栄養素（たん白質、脂質等）の組成の変化が明らかにされていること。

3 製造に由来する成分の安全性に関する事項

製造に由来する主要な成分及び有害性が示唆される成分の含有量が、従来飼料に比べ有意に変化しておらず、かつ、従来飼料には含まれない有害性が示唆される成分を含有しないこと。それ以外の場合においては、当該成分の含有及び従来背の成分の増減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。

4 製造工程で共存する他の微生物への影響に関する事項

製造工程で、組換え体が他の微生物と共存する条件で使用される場合は、組換え体が他の微生物に及ぼす影響及び組換え体から他の微生物への遺伝子伝達について、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。

5 諸外国における認可、飼料用等に関する事項

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、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。

第 4 I 及び II 第 2 から第 3 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事項

次のうち、必要と考えられる試験成績に基づき、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、水産庁長官通知）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 発がん性試験
- 6 変異原性試験
- 7 発生毒性試験
- 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、G L P に適合する施設で 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飼料添加物の安全性確認基準

第 1 確認対象品目の概要

確認対象品目に関する開発の経緯及び次の第 2 から第 7 までの概要が説明されていること。

第 2 安全性確認において比較対象として用いる飼料添加物、宿主等の性質並びに組換え飼料添加物及び組換え体との相違に関する事項

次の 1 から 5 までの事項の概略を示され、その中で、次の（ア）から（ウ）までの事項が明確であること。

（ア）組換え DNA 技術を応用して得られた非病原性の微生物により製造された飼料添加物の安全性確認を行う上で必要とされる比較対象として、既存の飼料添加物が存在すること。なお、酵素においては、比較対象となる酵素と類似の反応を触媒することが明らかであること。

（イ）製造に用いられる組換え体の由来となる宿主の性質が明らかであること。

（ウ）組換え飼料添加物と既存の飼料添加物及び組換え体と宿主等の相違点が明確であること。

1 従来の飼料添加物の性質、用途等に関する事項

（1）名称、基原及び有効成分

（2）製造方法

（3）用途及び使用形態

2 宿主に関する事項

（1）宿主の種名（学名）、株名等及び由来

（2）宿主の飼料添加物製造への利用経験又は飼料に利用された歴史に関する事項

宿主の飼料添加物製造への利用経験又は飼料に利用された歴史が明らかであること。安全に消費されてきた歴史が短く利用経験が乏しい場合、さらに、次の（ア）から（ウ）の各項目に関する考察も含め、総合的に判断して宿主の安全性に問題がないと判断できること。

（ア）寄生性及び定着性に関する事項

宿主が、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。

（イ）家畜等に悪い影響を及ぼす外来因子に関する事項

当該組換え体の開発に用いた宿主が外来因子に汚染されることが知られている場合は、当該外来因子は家畜等に悪い影響を及ぼすおそれがないことが知られていること。

(ウ) 宿主の近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

宿主の近縁株において、病原性がある場合又は有害生理活性物質を産生するものがある場合、組換え飼料添加物の製造に用いた当該微生物においては、同様の病原性や有害生理活性物質の産生の有無について明らかであること。なお、有害生理活性物質の産生が認められる場合には、当該微生物を用いた製造に安全性上の問題がないと判断できる合理的な理由があること。

(3) 宿主の構成成分等に関する事項

宿主は、非病原性であること。また、宿主が有害生理活性物質及び栄養阻害物質等を生産又は含有する場合は、その種類、作用及び量が明らかであること。

3 挿入DNAに関する事項

(1) 挿入DNAの供与体の種名、株名又は系統名等及び由来

(2) 挿入DNAの性質及び導入方法

4 組換え飼料添加物の性質、用途等に関する事項

(1) 製品名及び有効成分

(2) 製造方法

(3) 用途及び使用形態

(4) 有効成分の性質及び推定摂取量に関する従来の飼料添加物との比較

5 安全性確認において検討が必要とされる組換え飼料添加物と既存の飼料添加物及び組換え体と宿主等の相違点に関する事項

確認対象となる組換え飼料添加物及び組換え体と比較対象となり得る既存の飼料添加物・宿主等があると判断されれば、安全性確認を行う。

第 3 挿入DNA、遺伝子産物及びコンストラクトの構築に関する事項

1 ベクターの名称及び由来に関する事項

遺伝子導入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。また、家畜等に対する有害性が知られていないこと。

2 ベクターの性質に関する事項

(1) ベクターの塩基数及びその塩基配列を示す事項

ベクターの塩基数及び塩基配列が明らかであること。さらにその塩基配列が公開されている場合には、ベクターバックボーンに該当する領域の構成要素及び公開データベースにおける登録番号が明らかであること。また、サザンブロット解析を行った場合には、ベク

ターの切断地図が明らかであること。この場合、用いた制限酵素の名称の他、断片の数、サイズなどが明らかであること。

(2) 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。

(3) 組換え体の選抜に関わる遺伝子に関する事項

ベクター中に、組換え体の選抜に関わる遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む。以下同じ。）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

原則として、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（水平伝播）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。

3 挿入DNAの供与体に関する事項

挿入DNAの供与体は、家畜等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は、病原性がない株に由来することが明らかであること。

さらに、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由来のたん白質に病原性がないことが明らかであること。

また、挿入DNAの供与体に関して、安全な摂取の経験の有無が明らかであること。

4 導入遺伝子（組換え体の選抜に関わる遺伝子を含む。）及びその遺伝子産物の性質に関する事項

導入遺伝子の機能及び導入遺伝子から産生される遺伝子産物（RNA及びたん白質）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と判断できる合理的な理由があること。

特に、当該遺伝子産物（たん白質）がアミノ酸置換等を伴い、酵素としてそのまま使用されるような場合には、必要に応じ、飼料製造工程での使用形態や最終製品における推定残存量等を考慮した上で、当該遺伝子産物（たん白質）の毒性について安全性上の問題がないと判断できる合理的な理由があること。

5 導入遺伝子及び組換え体の選抜に関わる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) その他の事項

導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、その由来及び性質等が明らかであること。

6 ベクターへの挿入DNAの組込方法等に関する事項

挿入DNAのクローニング又は合成方法が明らかであること。また、ベクターへの挿入DNAの組込方法について以下の内容が明らかであること。

(ア) 宿主へ導入するコンストラクトの作製方法。特に複数の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されていること。

(イ) 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（以下「ORF」という。）、ターミネーター及び組換え体の選抜に関わる遺伝子を導入した順序及び方法が明らかであること。

7 コンストラクトに関する事項

(1) 塩基数及び塩基配列並びに制限酵素による切断地図に関する事項
コンストラクト及び既存品種に挿入しようとするDNA断片について、挿入DNAの塩基数及び塩基配列が明らかであること。

(2) 挿入領域に関する事項

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コンストラクト上で明らかであること。

(3) 純度に関する事項

導入しようとするコンストラクトは、目的外の遺伝子が混入しないよう純化されていること。

第 4 組換え体に関する事項

1 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。

2 宿主との差異に関する事項

組換え体と宿主等を比較したデータにより、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。

3 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

DNAシーケンシング、サザンブロットィング、PCR解析等により、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。

また、宿主に導入された遺伝子の構造とコピー数（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。

なお、宿主に挿入された DNA の近傍の DNA 配列が明らかであるとともに、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が明らかであること。

(2) ORF の有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

(ア) 原則として、コンストラクト及び宿主に導入された遺伝子又は挿入された DNA (宿主のゲノムに挿入された DNA の近傍配列を含む。) において、ORF の確認が行われ、目的以外のたん白質を組換え体内で発現する ORF 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には、それによって ORF がどのように変化したかが塩基配列によって明らかであること。なお、ORF の確認に当たっては、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、DNA シーケンシング、ノーザンブロットイング、RT-PCR 等を用いて確認できていること。

(イ) 仮に、目的以外のたん白質を発現する可能性のある ORF が含まれている場合は、当該 ORF 及びその ORF が発現するたん白質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 組換え体の選抜に関わる遺伝子の安全性に関する事項

組換え体の選抜に関わる遺伝子が導入されている場合は、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。必要に応じて基質特異性が明らかであること。

また、抗生物質耐性マーカー遺伝子を用いており、かつ飼料添加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なでない場合は、耐性発現の機序、使用方法及び関連代謝産物等について次の (ア) から (オ) に関する考察も含め総合的に判断して、組換え体の選抜に関わる遺伝子の安全性が確認できていること。

(ア) 耐性の対象となる抗生物質の使用法 (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。

(イ) 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) 導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。
- (エ) 抗生物質耐性マーカー遺伝子の遺伝子産物（たん白質）の摂取量、飼料の製造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と判断できる合理的な理由があること。
- (オ) 遺伝子産物（たん白質）の物理化学的処理に対する感受性について、以下の①から③の処理によって、遺伝子産物（たん白質）の分子量、酵素活性、免疫反応性等が変化するかどうかことが明らかであること。分子量をSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動等によって示していること。免疫反応性は処理前の遺伝子産物（たん白質）に対する特異的抗体を用いてウェスタンブロットティング及び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
- なお、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。また、物理化学的処理による感受性の試験は省略可能であるとする場合、その判断の根拠について合理的な理由が示されていること。（例えば、酵素について *in silico* 解析によりペプシン及びトリプシンの切断部位が示された場合や、農林水産大臣により既に安全性が確認されている遺伝子産物と同一であることが明らかである場合が該当する。）

第 5 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する事項

- (ア) 飼料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。
- (イ) 飼料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。
- (ウ) (ア) 及び (イ) 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。

第 6 組換え飼料添加物に関する事項

1 諸外国における認可、使用等に関する事項

諸外国における認可状況に関する情報が明らかであること。また、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であること。

2 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ブロットハイブリダイゼーション法等の適切な試験により否定されること。

3 製造に由来する非有効成分の安全性に関する事項

製造に由来する非有効成分の含有量が既存の飼料添加物に比べ有意に増加しておらず、かつ、既存の飼料添加物には存在しない非有効成分を含有しないこと。それ以外の場合においては、非有効成分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。

4 精製方法及びその効果に関する事項

飼料添加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、安全性上問題がないと判断できる合理的な理由があること。

5 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、既存の飼料添加物と同等であること。仮に変動があつても、安全性上問題がないと判断できる合理的な理由があること。

第 7 第 2 から第 6 までの資料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、水産庁長官通知）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 発がん性試験
- 6 変異原性試験
- 7 発生毒性試験
- 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、G L P に適合する施設で 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。