

遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準

2008年6月

食品安全委員会

目 次

○ 検討の経緯	1
○ 食品安全委員会委員名簿	1
○ 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿	2
○ 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会起草委員名簿	2
 遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準	3
 第1章 総則	3
第1 評価基準作成に至る背景	3
第2 定義	3
第3 対象となる食品及び目的	4
第4 遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価の原則と基本的な考え方	4
第2章 遺伝子組換え微生物（組換え体）に関する安全性評価	7
第1 安全性評価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	7
第2 宿主に関する事項	7
第3 ベクターに関する事項	8
第4 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクター又は導入用ベクターの構築に関する 事項	9
第5 組換え体に関する事項	10
第3章 遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価	14
I. 生きた組換え体を含まない遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価	14
第1 生きた組換え体を含まない遺伝子組換え食品（微生物）として扱う根拠に関する事 項	14
第2 遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価において、比較対象となる従来の食品（従 来食品）に関する事項	14
第3 遺伝子組換え食品（微生物）に関する事項	14
第4 第2章および第3章I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	15
II. 生きた組換え体を含む遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価	15
第1 生きた組換え体を含む遺伝子組換え食品（微生物）として扱う根拠に関する事項	15
第2 遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価において、比較対象となる従来の食品（従 来食品）に関する事項	16
第3 遺伝子組換え食品（微生物）に関する事項	16
第4 第2章および第3章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	17

<検討の経緯>

2005 年 3 月 31 日	第 88 回食品安全委員会で決定された「平成 17 年度食品安全委員会運営計画」において、遺伝子組換え食品（微生物）安全性評価基準の策定を計画的に進めることとされた。
2006 年 1 月 18 日	第 36 回遺伝子組換え食品等専門調査会で、起草委員において遺伝子組換え食品（微生物）安全性評価基準を策定することを了承
2008 年 2 月 18 日	第 57 回遺伝子組換え食品等専門調査会で審議
2008 年 3 月 17 日	第 59 回遺伝子組換え食品等専門調査会で審議
2008 年 4 月 24 日	第 235 回食品安全委員会（報告）
2008 年 4 月 24 日～5 月 23 日	国民からの御意見・情報の募集
2008 年 5 月 20 日	意見交換会の実施
2008 年 6 月 20 日	第 62 回遺伝子組換え食品等専門調査会で審議
2008 年 6 月 24 日	遺伝子組換え食品等専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2008 年 6 月 26 日	第 244 回食品安全委員会（報告） 「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」として決定、公表
(起草会合の開催実績)	
2006 年 1 月 20 日	第 1 回起草会合
2006 年 5 月 19 日	第 2 回起草会合
2006 年 7 月 26 日	第 3 回起草会合
2006 年 8 月 17 日	第 4 回起草会合
2006 年 9 月 20 日	第 5 回起草会合
2006 年 10 月 24 日	第 6 回起草会合

<食品安全委員会委員名簿>

(2006 年 6 月 30 日まで)	(2006 年 12 月 20 日まで)	(2006 年 12 月 21 日から)
寺田雅昭（委員長）	寺田雅昭（委員長）	見上 彪（委員長）
寺尾允男（委員長代理）	見上 彪（委員長代理）	小泉直子（委員長代理*）
小泉直子	小泉直子	長尾 拓
坂本元子	長尾 拓	野村一正
中村靖彦	野村一正	畑江敬子
本間清一	畑江敬子	廣瀬雅雄**
見上 彪	本間清一	本間清一

*：2007 年 2 月 1 日から

**：2007 年 4 月 1 日から

＜食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿＞

(2007 年 9 月 30 日まで)

早川堯夫 (座長)

澤田純一 (座長代理)

五十君静信

手島玲子

池上幸江

丹生谷博

今井田克己

日野明寛*

宇理須厚雄

室伏きみ子

小関良宏

山川 隆

橘田和美**

山崎 壮

澁谷直人

渡邊雄一郎

* : 2006 年 7 月 31 日まで

** : 2006 年 10 月 1 日から

(2007 年 10 月 1 日から)

澤田純一 (座長)

鎌田 博 (座長代理)

五十君静信

丹生谷博

石見佳子

飯 哲夫

宇理須厚雄

山川 隆

小関良宏

山崎 壮

橘田和美

和久井信

澁谷直人

渡邊雄一郎

手島玲子

＜食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会起草委員名簿＞

五十君静信

小関良宏

澤田純一

山川 隆

山崎 壮

遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準

第1章 総則

第1 評価基準作成に至る背景

平成6年に厚生省（当時）の「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針」に基づき、初めて遺伝子組換え技術を利用して作製された食品添加物の安全性の確認がなされ、平成8年には、種子植物に由来する遺伝子組換え食品の安全性の確認がなされた。以来、多くの遺伝子組換え食品及び食品添加物の安全性確認が行われてきた。さらに、食品衛生法の規定に基づく食品、食品添加物の規格基準の改正により、平成13年4月より、遺伝子組換え食品等の安全性審査が法的に義務付けられることとなった。一方、国際的にも、コーデックス委員会において遺伝子組換え食品の安全性評価のガイドライン等が作成されるに至った。平成15年7月、食品安全委員会の新設とともに、遺伝子組換え食品及び食品添加物の安全性評価が、厚生労働省の意見の求めに応じて、食品安全委員会においてなされることとなった。

本基準は、食品安全委員会における遺伝子組換え食品（微生物）の安全性を評価するために必要とされる原則等を国内外のガイドラインなどを基本に、評価基準としてまとめたものである。

第2 定義

1 組換えDNA技術

酵素等を用いた切断及び再結合の操作によって、DNAをつなぎ合わせた組換えDNA分子を作製し、それを生細胞に移入し、かつ、増殖させる技術（自然界における生理学上の生殖又は組換えの障壁を克服する技術であって伝統的な育種及び選抜において用いられない技術に限る。）

2 宿主

組換えDNA技術において、DNAが移入される生細胞及び個体

3 ベクター

目的とする遺伝子又はDNAを宿主に移入し、増殖させ、又は発現させるため当該遺伝子を運搬するDNA

4 挿入遺伝子

ベクター又は宿主ゲノムに挿入される遺伝子

5 挿入DNA

ベクター又は宿主ゲノムに挿入されるDNA

6 供与体

挿入DNAを提供する微生物又は動植物等

7 発現ベクター（又は導入用ベクター）

新たな性質を賦与させるために構築された挿入遺伝子又はDNAを含むベクター

8 組換え体

組換えDNAを含む宿主

9 遺伝子産物

挿入遺伝子の塩基配列から予想されるRNA又はタンパク質

10 遺伝子組換え微生物

組換えDNA技術を応用して得られた微生物（細菌、酵母、糸状菌）

11 遺伝子組換え食品（微生物）

遺伝子組換え微生物を利用して製造された食品

第3 対象となる食品及び目的

本基準は、遺伝子組換え食品（微生物）を対象とし、当該食品の安全性評価を行うに当たって必要とされる評価の基準を定めることを目的とする。遺伝子組換え食品（微生物）とは、組換えDNA技術を応用して得られた微生物を利用して製造された食品をいう。

本基準において対象とする遺伝子組換え食品（微生物）は、原則として、「組換えDNA技術によって最終的に宿主に導入されたDNAが、当該微生物と分類学上の同一の種に属する微生物のDNAのみである場合」、又は「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」に該当する微生物を利用して製造されたものは含めないものとする。但し、当該遺伝子組換え食品（微生物）のヒトの健康に及ぼす影響の内容及び程度が明らかでないと判断された場合には、必要に応じて、その影響を検討することとする。また、本基準は遺伝子組換え食品（微生物）の研究開発・製造及び上市における環境、倫理、道徳、社会経済に係る事項の審査を目的とするものではない。

本委員会では、遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物については、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」に従って安全性評価を行っているが、その適用範囲は、遺伝子組換え微生物（組換え体）が除去されている場合に限られている。製造に用いられた組換え体が残存する添加物については、本基準第2章及び第3章を準用して安全性評価を行うものとする。

第4 遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価の原則と基本的な考え方

遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価に当たっては、その食品がヒトの健康に及ぼす直接的な有害性の他に、その食品を長期摂取した場合の栄養学的な悪影響も考慮する必要がある。一方、微生物を利用して製造される食品の殆どは古来より使用されてきた株に由来し、科学的な安全性評価が行われる以前から安全な利用がなされてきた歴史がある。一般に、従来技術による遺伝的改変により得られ、食品製造に利用されてきた微生物においては、上市前の体系的な安全性評価が実施されることはなかった。即ち、有益な形質に基づいて、細菌、酵母、糸状菌等の新しい菌株が評価・選抜され、食品製造に利用されてきた。

一般に、食品の安全性を食品そのままの形で、従来の動物を用いる毒性試験によって評価することには技術的困難が伴い、通常は用いられない。また、当該食品の個別の構成成分の全てに関して、安全性が科学的に証明されているものではない。即ち、これらの食品の多くは、食品の個々の構成成分としてではなく、食品全体として、経験的にその安全性が確認されたもの

であるか、重大な健康被害を及ぼさないことが経験的に知られたものである。

遺伝子組換え微生物を用いて製造した食品をそのままの形で、従来の動物を用いる毒性試験によって評価することには技術的な制約が大きいと、遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価にはより適切なリスク評価手法が用いられるべきである。即ち、遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価においても、他の遺伝子組換え食品と同様に、安全な食経験のある既存の対応物との比較により安全性を評価するという原則に基づくべきであると考えられる。

また、意図的な影響と非意図的な影響の両者を考慮に入れた安全性評価が必要とされることは、いうまでもないが、微生物由来の食品の安全性を考える際に、他の遺伝子組換え食品の安全性評価項目に加えて特に慎重に考慮すべき点は、遺伝的安定性、遺伝子伝達の可能性、遺伝子組換え微生物のヒト消化管での定着性、遺伝子組換え微生物とヒト腸内フローラとの相互作用、遺伝子組換え微生物のヒト腸管系及び免疫系への影響、遺伝子組換え微生物を利用した個別の食品製造に特有な問題等である。

安全性評価は、遺伝子組換え微生物にもたらされた性質の変化が、導入されたDNA（遺伝子）の性質又はそれが挿入されたゲノムの変化に基づき、科学的に十分に予測することが可能であり、新たな遺伝子を導入する前の微生物（宿主）等と導入後の微生物（組換え体）の相違を十分に比較しうる時に、初めて可能となるものである。従って、遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価では、先ず組換え体である微生物を対象とした安全性評価を行い、次いで最終製品である食品について安全性評価を行う。

遺伝子組換え食品（微生物）は、その性質、用途、製法等の点において、極めて多岐に亘っているものである。遺伝子組換え食品（微生物）では、生存している、または不活化された組換え体を食する場合がある一方、組換え体が食品の製造過程で最終的に除去されることも多い。このため、遺伝子組換え食品（微生物）に関しては、生きた組換え体の残存の有無に応じた安全性評価を行うことが合理的と考えられる。また、組換え体及び宿主に由来する成分の種類や含量の相違の有無が明らかにされ、安全性上の問題がないことが示される必要がある。しかし、多岐に亘る遺伝子組換え食品（微生物）を一律の基準で評価することが困難である場合もあり、食品の製法及び性状等に応じて個別に追加された「安全性評価の考え方」に基づき安全性評価を行うことも必要とされる。

以上のような原則に立って、以下の基本的な考え方に従って、安全性の評価を行う。

- 1 遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価が可能とされる範囲は、原則として、食経験のある宿主（従来菌株）並びに食品（従来食品）との比較が可能である場合とする。その理由は、組換え体において新たに变化した性質以外の性質については、既にその安全性が広く受け入れられており、改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。
- 2 安全性評価に当たって考慮されるべき最も主要な点は、組換えDNA技術の応用に伴い、新たに意図的に付加・改変・欠失された形質、新たに生じ得る有害成分の増大などのリスク及び主要栄養成分などの変化が及ぼすヒトへの健康影響である。さらに、組換えDNA技術によって栄養素、機能性成分、あるいは有害成分の含量変化を意図して作出された組換え体

においては、これらの栄養素等のその他の食品における含量と摂取量を勘案し、ヒトの健康に安全性面での問題がないことを評価する必要がある。

- 3 組換え体の安全性に関しては、組換えDNA技術によって微生物に付加されることが予想される全ての性質の変化について、その可能性を含めて安全性評価を行う。例えば、DNA配列の挿入により微生物に特定の形質（意図的な影響）が賦与されると同時に、余分な形質が賦与されたり、既存の形質が失われたり、又は修飾される場合がありうる（非意図的な影響）。非意図的な影響は、微生物の健全性又は微生物由来食品の安全性にとって、有害であったり、有益であったり、又はどちらでもない可能性があるが、意図的及び非意図的な形質の賦与又は変化によってもたらされる事象に関して、毒性学的及び栄養学的観点から個別に評価し、さらに、食品製造への利用における安全性を総合的に判断することが必要とされる。このような安全性評価に当たっては、組換え体がヒトの健康を予期せず損なう恐れがないことを示すための十分なデータ又は情報が必要とされる。
- 4 食品製造に用いる組換え体の安全性評価を行う際、組換え体と食品基質や食品の細菌叢との相互作用、生きた組換え体が食品に残存する場合にはさらに、組換え体とヒト腸内フローラとの相互作用について十分な検討がなされる必要がある。また、ヒト免疫系や腸管系への影響も十分に考慮する必要がある。
- 5 遺伝子組換え食品（微生物）については、発酵条件の変化に基づく影響、発酵過程における組換え体と食品基質や共存する他の微生物との相互作用、またそれらの結果もたらされる食品成分の変化等も考慮する必要がある。例えば、ヨーグルトの場合、当該微生物の発酵条件に関する情報が必要である。
- 6 また、家庭での調理を含め、発酵後の加工の影響も考慮すべきである。例えば、加工後に内因性毒素の熱安定性や重要な栄養素等の生体利用率に変化が起きる可能性もある。従って、製造における加工条件及び食品成分の変化を示す情報も提供される必要がある。
- 7 組換え体が、毒性代謝産物、汚染物質、その他ヒトの健康に影響を与えるおそれのある物質を間接的に蓄積させる可能性を生じる形質（抗生物質耐性など）を示す場合もありうる。安全性評価ではこのような可能性も考慮すべきである。
- 8 安全性評価のために行う試験は、科学的に信頼できる概念と原則に従うと共に、必要に応じGLPに従って計画・実施されるべきである。また、原データは要求に応じて提出されるべきである。安全性評価に必要とされるデータ又は情報としては、開発者等が作成する実験データの他に、既に公開された科学論文や、第三者からの情報等があるが、それらのデータは科学的に信頼できる方法を用いて入手し、適切な統計学的手法を用いて解析されている必要がある。また、分析方法には可能な限り定量下限値が示されるべきである。
- 9 安全性評価では、組換え体に新たに発現される物質の試験に際し、その物質の製法又は起源が異なるものの利用が必要となる場合もある。その際は、試験に用いられる物質が、生化学的、構造的及び機能的に組換え体で生成されたものと同等であることが示されるべきである。
- 10 現在、抗生物質耐性マーカーとして使われているカナマイシン耐性遺伝子等は、適切に安全性の評価がなされたものであり、直ちに安全性上問題となるものではない。なお、今後の遺

伝子組換え微生物の開発においては、安全性が十分に評価され、かつ抗生物質耐性マーカー遺伝子を用いない形質転換技術を容易に利用できる場合には、その技術を用いることも考慮されるべきである。

- 11 組換えDNA技術については、日々進歩しているものであり、本安全性評価基準に関しても、技術の進歩に伴って、必要に応じた見直しを行っていく必要がある。

第2章 遺伝子組換え微生物（組換え体）に関する安全性評価

第1 安全性評価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、遺伝子組換え微生物（組換え体）の安全性評価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 宿主の食品製造への利用経験又は食経験に関する資料

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食品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) 摂取量
- (4) 調理及び加工方法

5 安全性評価において検討が必要とされる組換え体と宿主の相違点

当該遺伝子組換え微生物（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（微生物）が食用に利用されてきた歴史（食文化）又は産業上の使用経験等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 アレルギー誘発性に関する事項

宿主のアレルギー誘発性に関する知見が明らかであること。

4 寄生性及び定着性に関する事項

宿主が、ヒト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、ヒト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。

5 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。

6 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産生するものがある場合、遺伝子組換え食品（微生物）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、ヒト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産生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、他の微生物又はヒトでは増えないこと。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、並びに発現ベクター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

- ・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 (*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。
- ・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。特に、当該遺伝子産物（タンパク質）がアミノ酸置換等を伴う場合には、当該遺伝子産物（タンパク質）が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。

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、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 構築された発現ベクター又は導入用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、最終的に構築されたベクターには、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ベクター上で明らかであること。
- (4) 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

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 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

当該組換え体を用いて製造された食品を摂取した場合に、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。

4 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、食品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、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。

・ 抗生物質耐性マーカー遺伝子の遺伝子産物（タンパク質）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

題がないと判断できる合理的な理由があること。

- 5 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（抗生物質代謝酵素等）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。

6 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継代培養の後、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。

7 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变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。その基質特異性に变化が生じた場合、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、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。

8 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。

9 組換え体の不活化に関する事項

組換え微生物を不活化する方法、または完全に死滅させる条件について示すこと

10 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

え後の微生物（組換え体）株は安全性評価に関して要請がある場合は提出すること。

第3章 遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価

遺伝子組換え食品（微生物）の製品としての安全性評価にあたっては、第2章における遺伝子組換え微生物（組換え体）を対象とした安全性評価を行った上で、遺伝子組換え食品を、最終的に、Ⅰ．生きた組換え体を含まない遺伝子組換え食品（微生物）、Ⅱ．生きた組換え体を含む遺伝子組換え食品（微生物）、の2つのカテゴリーに分類し、それぞれの評価項目に沿って、食品の製造法と製造された食品等に応じた安全性評価を、製品毎に行う。なお、食品の製法及び性状等に応じた安全性評価の考え方は、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評価が既に行われている遺伝子組換え食品（微生物）に関しては、第3章に係る安全性評価のみ行うこととする。

Ⅰ．生きた組換え体を含まない遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価

第1 生きた組換え体を含まない遺伝子組換え食品（微生物）として扱う根拠に関する事項

1 最終製品に生きた組換え体が含まれないことの確認に関する事項

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。

第2 遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価において、比較対象となる従来食品（従来食品）に関する事項

- 1 比較対象となる従来食品（従来食品）の利用の歴史（食文化）又は産業上の製造経験等が明らかであること。
- 2 従来食品の製造方法（原材料及び製造工程等）が明らかであること。
- 3 従来食品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。また、当該食品のアレルギー誘発性に関する知見が明らかであること。

第3 遺伝子組換え食品（微生物）に関する事項

1 製造方法に関する事項

最終製品に至る製造方法が従来食品と異なる場合、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

遺伝子組換え食品（微生物）が食品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（タンパク質、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

製造に由来する成分の含有量が、従来食品に比べ有意に変化しておらず、かつ、意図して発現生産させた成分を除き、従来食品には存在しない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。特に、組換え体を用いて製造された食品においては、従来食品に比べはるかに高いレベルの代謝産物が生ずる可能性がある。有害性が示唆される成分については、その含量の変動が、従来食品のそれと同等であるか、仮に相違があっても、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。製造過程で、新たなアレルギー誘発物質が生成するおそれがある場合には、当該物質について安全性評価が行われていること。

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の有無を示すこと。また、組換え体から他の微生物への遺伝子伝達に関し、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 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、食品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 第2章および第3章I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）

II. 生きた組換え体を含む遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価

第1 生きた組換え体を含む遺伝子組換え食品（微生物）として扱う根拠に関する事項

1 最終製品における組換え体の生存等に関する事項

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ること、または生死の確認を行うことが不可能な場合は生存しているものとして評価を行う。

第2 遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価において、比較対象となる従来の食品（従来食品）に関する事項

- 1 比較対象となる従来の食品（従来食品）の利用の歴史（食文化）又は産業上の製造経験等が明らかであること。
- 2 従来食品の製造方法が明らかであること。
- 3 従来食品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。また、当該食品のアレルギー誘発性に関する知見が明らかであること。

第3 遺伝子組換え食品（微生物）に関する事項

1 製造方法に関する事項

最終製品に至る製造方法が従来食品と異なる場合、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

遺伝子組換え食品（微生物）が食品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（タンパク質、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

製造に由来する成分の含有量が、従来食品に比べ有意に変化しておらず、かつ、意図して発現生産させた成分を除き、従来食品には存在しない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。特に、組換え体を用いて製造された食品においては、従来食品に比べはるかに高いレベルの代謝産物が生ずる可能性がある。有害性が示唆される成分については、その含量の変動が、従来食品のそれと同等であるか、仮に相違があっても、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。製造過程で、新たなアレルギー誘発物質が生成するおそれがある場合には、当該物質について安全性評価が行われていること。

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の有無を示すこと。

5 ヒトの消化管における組換え体の生存能力と定着に関する事項

ヒトの消化管における組換え体の生存能力と定着に関し、安全性の上で問題がないと判断できる合理的な理由があること。

6 遺伝子伝達に関する事項

組換え体から腸内棲息菌を含む他の微生物及び消化管上皮細胞等への遺伝子伝達に関し、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。

7 腸内フローラへの影響に関する事項

組換え体のヒト腸内フローラへの影響に関し、安全性の上で問題がないと判断できる合理的な理由があること。

8 腸管系及び免疫系への影響に関する事項

組換え体のヒト腸管系及び免疫系への影響に関し、安全性の上で問題がないと判断できる合理的な理由があること。

9 感染の可能性に関する事項

組換え体のヒトや動物への感染の可能性に関し、安全性の上で問題がないと判断できる合理的な理由があること。

10 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、食品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 第2章および第3章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）