

7 消安第 4870 号
令和 8 年 1 月 22 日

登録検査機関の長 殿

農林水産省消費・安全局長

「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に基づく、栽培用の種苗に係る生物検査の実施要領」の一部改正について

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（平成 15 年法律第 97 号）第 17 条の規定に基づく生物検査において、パパイヤの検査方法の作業工数、検査結果の判定等に課題があるところです。これを踏まえ、検査方法等の見直しのため、「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に基づく、栽培用の種苗に係る生物検査の実施要領」（平成 30 年 3 月 22 日付け 29 消安第 6260 号農林水産省消費・安全局長通知）の一部を下記のとおり改正することとしましたので、お知らせします。御了知の上、御対応方よろしくお願いいたします。

記

「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に基づく、栽培用の種苗に係る生物検査の実施要領」（平成 30 年 3 月 22 日付け 29 消安第 6260 号農林水産省消費・安全局長通知）の一部を別紙の新旧対照表のとおり改正する。

(別紙)

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に基づく、栽培用の種苗に係る生物検査の実施要領

(平成 30 年 3 月 22 日付け 29 消安第 6260 号農林水産省消費・安全局長通知)

新旧対照表

(傍線部分は改正部分)

改正後	改正前
<p>第 3 生物検査</p> <p>1 生物検査命令</p> <p>農林水産大臣は、輸入の届出がなされた荷口に、第 2 の 2 に規定する検査証明書が添付されていない場合には、法第 17 条第 1 項の規定に基づき、法第 18 条第 3 項の規定に基づき農林水産大臣が登録した者（以下「登録検査機関」という。）<u>による</u>法第 17 条第 1 項に規定する生物検査（以下「生物検査」という。）を受けるべきことを命ずるとともに、法第 17 条第 3 項の規定に基づき、当該生物検査の結果の通知を受けるまでの間の検査対象生物の使用等の条件（特定の場所での保管等）を指定することとする。</p> <p>なお、消費・安全局長は、届出書とともに第 2 の 2 に規定する検査証明書が提出され、生物検査が不要であることを確認した場合は、その旨を届出者に通知する。</p> <p>2 (略)</p> <p>3 生物検査の実施</p> <p>(1) (略)</p>	<p>第 3 生物検査</p> <p>1 生物検査命令</p> <p>農林水産大臣は、輸入の届出がなされた荷口に、第 2 の 2 に規定する検査証明書が添付されていない場合には、法第 17 条第 1 項の規定に基づき、法第 18 条第 3 項の規定に基づき農林水産大臣が登録した者（以下「登録検査機関」という。）<u>から</u>法第 17 条第 1 項に規定する生物検査（以下「生物検査」という。）を受けるべきことを命ずるとともに、法第 17 条第 3 項の規定に基づき、当該生物検査の結果の通知を受けるまでの間の検査対象生物の使用等の条件（特定の場所での保管等）を指定することとする。<u>また、併せて、農林水産省接受印が押印された届出書の写しを届出者に送付することとする。</u></p> <p>なお、消費・安全局長は、届出書とともに第 2 の 2 に規定する検査証明書が提出され、生物検査が不要であることを確認した場合は、その旨を届出者に通知する。</p> <p>2 (略)</p> <p>3 生物検査の実施</p> <p>(1) (略)</p>

<p>(2) 検査方法</p> <p>登録検査機関は、パパイヤにあっては別紙2「遺伝子組換えパパイヤの検査方法」、ワタにあっては別紙3「未承認遺伝子組換えワタの種子の検査方法」に規定する方法により、検査を実施する。</p> <p><u>なお、DNA 抽出精製方法等について、別紙2及び別紙3の検査方法に記載のものと同等のものに変更しようとする場合は、別紙4「検査方法の同等性確認方法」を参照する。</u></p> <p>(3) (略)</p> <p>(別紙2)</p> <p style="text-align: center;">遺伝子組換えパパイヤの検査方法</p> <p>I. 種子の検査方法</p> <p>(略)</p> <p>1 種子由来 DNA の抽出・精製</p> <p>1.1 種子の粉砕</p> <p>採取したパパイヤ種子から、破砕粒や他の混入物を取り除き、表面にゼリー状の皮膜等の付着物がないことを確認した後、無作為に 500 粒の種子を採取し、1 %SDS 溶液で 10 回洗浄後、滅菌蒸留水で3回リンスし、65℃で2時間乾燥させる。種子が十分に乾燥していない場合は、更に 65℃で乾燥させる。余った種子は、生物検査完了までの間、冷蔵保管する。</p>	<p>(2) 検査方法</p> <p>登録検査機関は、パパイヤにあっては別紙2「<u>未承認</u>遺伝子組換えパパイヤの検査方法」、ワタにあっては別紙3「未承認遺伝子組換えワタの種子の検査方法」に規定する方法により、検査を実施する。</p> <p>(3) (略)</p> <p>(別紙2)</p> <p style="text-align: center;"><u>未承認</u>遺伝子組換えパパイヤの検査方法</p> <p>I. 種子の検査方法</p> <p>(略)</p> <p>1 種子由来 DNA の抽出・精製</p> <p>1.1 種子の粉砕</p> <p>採取したパパイヤ種子から、破砕粒や他の混入物を取り除き、表面にゼリー状の皮膜等の付着物がないことを確認した後、無作為に 500 粒の種子を採取し、1 %SDS 溶液で 10 回洗浄後、滅菌蒸留水で3回リンスし、65℃で2時間乾燥させる。種子が十分に乾燥していない場合は、更に 65℃で乾燥させる。余った種子は、生物検査完了までの間、冷蔵保管する。</p>
---	--

乾燥した種子は、滅菌したピンセットを用い、ステンレスビーズ等とともに、100粒ずつ50 mL容チューブに入れ、シェイクマスター（BMS社）*1等を用い、粉碎する。ビーズを取り除いた後、滅菌済の薬さじで壁面についた種子粉碎物を底に集め、ボルテックスミキサーでよく攪拌する。得られた種子粉碎物5点を混合したうえで、DNA抽出・精製に供する。

なお、試料間のコンタミネーションを避けるため、粉碎時の環境や使用器具の取扱いには十分に配慮すること。コンタミネーションを防止するための対策については、独立行政法人農林水産消費技術センター（現・独立行政法人農林水産消費安全技術センター）作成の「JAS 分析試験ハンドブック 遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル（改訂第3版）コンタミネーション防止編」を参考にすること。

*1 （略）

1.2 種子粉碎物からの DNA 抽出・精製

種子粉碎物 1 点につき 2 点の DNA 抽出物を得る。

種子粉碎物 100 mg を 1.5 mL 容チューブに量り採り、GE1 緩衝液 *1800 μ L、RNase A *110 μ L、Proteinase K *120 μ L を加え、ボルテックスミキサーで 30 秒間混合した後、65℃で 15 分間静置する。

GE2-K 緩衝液 *1100 μ L を加え、ボルテックスミキサーで混合する。

13,000×g 以上、4℃の条件で 10 分間遠心分離する。上清 550 μ L を新たな 1.5 mL 容チューブに移し、13,000×g 以上、4℃の条件で 10 分間遠心分離する。

上清を新たな 1.5 mL 容チューブに移し、GB3 緩衝液 *1200 μ L 及び イソプロパノール 200 μ L を添加した後、10～12 回転倒混和する。

乾燥した種子は、滅菌したピンセットを用い、ステンレスビーズ等とともに、100粒ずつ50 mL容チューブに入れ、シェイクマスター（BMS社）*1等を用い、粉碎する。ビーズを取り除いた後、滅菌済の薬さじで壁面についた種子粉碎物を底に集め、ボルテックスミキサーでよく攪拌し得られた種子粉碎物5点をDNA抽出・精製に供する。

なお、試料間のコンタミネーションを避けるため、粉碎時の環境や使用器具の取扱いには十分に配慮すること。コンタミネーションを防止するための対策については、独立行政法人農林水産消費技術センター（現・独立行政法人農林水産消費安全技術センター）作成の「JAS 分析試験ハンドブック 遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル（改訂第3版）コンタミネーション防止編」を参考にすること。

*1 （略）

1.2 種子粉碎物からの DNA 抽出・精製

種子粉碎物 1 点につき 2 点の DNA 抽出物を得る。

種子粉碎物 100 mg を 1.5 mL 容チューブに量り採り、GE1 緩衝液 800 μ L、RNase A (100 mg/mL) 10 μ L、Proteinase K (20 mg/mL) 20 μ L を加え、ボルテックスミキサーで 30 秒間混合した後、65℃で 15 分間静置する。GE2-K 緩衝液 100 μ L を加え、ボルテックスミキサーで混合する。13,000×g 以上、4℃の条件で 10 分間遠心分離する。上清 550 μ L を新たな 1.5 mL 容チューブに移し、13,000×g 以上、4℃の条件で 10 分間遠心分離する。上清を新たな 1.5 mL 容チューブに移し、GB3 緩衝液 200 μ L 及び エタノール (100%) 200 μ L を添加した後、10～12 回転倒混和する。混合液 650 μ L を Spin column に負荷した

<p>混合液 650 μL を <u>Spin column^{*1}</u> に負荷した後、13,000$\times g$ 以上、4$^{\circ}\text{C}$ の条件で 30 秒間遠心分離し、溶出液を捨てる。混合液全量を負荷するまでこの操作を繰り返す。</p> <p>次いで <u>GW 緩衝液^{*1}650 μL</u> を負荷し、13,000$\times g$ 以上、4$^{\circ}\text{C}$ の条件で 1 分間遠心分離し、溶出液を捨てる。</p> <p><u>Spin column^{*1}</u> を新たな 1.5 mL 容チューブに移し、滅菌蒸留水 50 μL を加え室温で 3 分間静置した後、13,000$\times g$ 以上、室温で 1 分間遠心分離し、得られた溶出液を DNA 試料原液とする。</p> <p><u>*1 GE1 緩衝液、RNase A、Proteinase K、GE2-K 緩衝液、GB3 緩衝液、Spin column 及び GW 緩衝液は、GM quicker2（ニッポンジー</u> <u>ン社）に付属のもの又は同等の効力を持つものを用いる。</u></p>	<p>後、13,000$\times g$ 以上、4$^{\circ}\text{C}$ の条件で 30 秒間遠心分離し、溶出液を捨てる。混合液全量を負荷するまでこの操作を繰り返す。次いで <u>GW 緩衝液 650 μL</u> を負荷し、13,000$\times g$ 以上、4$^{\circ}\text{C}$ の条件で 1 分間遠心分離し、溶出液を捨てる。<u>Spin column</u> を新たな 1.5 mL 容チューブに移し、滅菌蒸留水 50 μL を加え室温で 3 分間静置した後、13,000$\times g$ 以上、室温で 1 分間遠心分離し、得られた溶出液を DNA 試料原液とする。</p>
<p>2 DNA 試料原液中の DNA の純度の確認並びに DNA 試料液の調製及び保存</p>	<p>2 DNA 試料原液中の DNA の純度の確認並びに DNA 試料液の調製及び保存</p>
<p>2.1 （略）</p>	<p>2.1 （略）</p>
<p>2.2 DNA 試料液の調製及び保存</p> <p>純度を確認した DNA 試料原液を滅菌蒸留水で希釈して <u>20 ng/μL</u> に調製し、DNA 試料液とする。DNA 試料液は 20 μL ごとにマイクロ試料管に分注後、−20$^{\circ}\text{C}$ 以下で冷凍保存する。分注した DNA 試料液は、融解後直ちに使用し、容器内に残った溶液は保存せず廃棄する。なお、DNA 試料原液の濃度が <u>20 ng/μL</u> に達しないときは、そのまま DNA 試料液として用いる。</p>	<p>2.2 DNA 試料液の調整及び保存</p> <p>純度を確認した DNA 試料原液を滅菌蒸留水で希釈して <u>10 ng/μL</u> に調製し、DNA 試料液とする。DNA 試料液は 20 μL ごとにマイクロ試料管に分注後、−20$^{\circ}\text{C}$ 以下で冷凍保存する。分注した DNA 試料液は、融解後直ちに使用し、容器内に残った溶液は保存せず廃棄する。なお、DNA 試料原液の濃度が <u>10 ng/μL</u> に達しないときは、そのまま DNA 試料液として用いる。</p>
<p>3 リアルタイム PCR（Applied Biosystems 7900HT^{*1}）を用いた定性 PCR 法</p>	<p>3 リアルタイム PCR（Applied Biosystems 7900HT^{*1}）を用いた定性 PCR 法</p>

組換え遺伝子検知用及び内在性遺伝子検知用とも、DNA 試料液 1 点につき 2 ウェル並行で実施する。

*1 ABI PRISM™ 7900HT と同等の性能を有する他の機種を用いてもよい。

組換え遺伝子（55-1 及び CaM）検知用として、パパイヤゲノム配列と遺伝子組換えパパイヤ 55-1 に導入された遺伝子発現用プラスミド・ベクターの境界領域を検知するプライマー対・プローブ「55-1」及び CaMV 35SP を検知するプライマー対・プローブ「CaM」を用いる。

また、内在性遺伝子検知用として、Chymopapain (Chy) 遺伝子配列を検知するプライマー対・プローブ「Chy」を用いる。

プライマー対・プローブの塩基配列は以下のとおりである。

（1）遺伝子組換えパパイヤ(55-1)検知用プライマー対・プローブ「PRSV-cp」

PRSV-cp F: 5'-CAG CCT TAG ATG CTT CAA GAA AAG A-3'

PRSV-cp R: 5'-TCC GCC TCC ATC CAG TCT ATT-3'

PRSV-cp P: 5'-FAM-TCT TCT AGC TTC CCG GCA ACA AT-TAMRA-3'

（2）組換え遺伝子（CaM）検知用プライマー対・プローブ「CaM」

35S-F : 5'-GCC TCT GCC GAC AGT GGT -3'

35S-R : 5'-AAG ACG TGG TTG GAA CGT CTT C-3'

35S-P : 5'-FAM- CAA AGA TGG ACC CCC ACC CAC G-TAMRA-3'

（3）内在性遺伝子検知用プライマー対・プローブ「Chy」

組換え遺伝子検知用及び内在性遺伝子検知用とも、DNA 試料液 1 点につき 2 ウェル並行で実施する。

*1 ABI PRISM™ 7900HT と同等の性能を有することを農産安全管理課が確認した他の機種を用いてもよい。

（1）採取したパパイヤ種子が台湾産の場合

組換え遺伝子（PRSV-YK 及び CaM）検知用として、カリフラワーモザイクウイルス 35S プロモーター遺伝子配列（以下「CaMV 35SP」という。）と YK 株の *Papaya Ringspot Virus coat protein*（以下「PRSV-cp」という。）遺伝子配列の境界領域を検知するプライマー対・プローブ「YK-1」及び「YK-2」並びに CaMV 35SP を検知するプライマー対・プローブ「CaM」を用いる。

また、内在性遺伝子検知用として、Chymopapain (Chy) 遺伝子配列を検知するプライマー対・プローブ「Chy」を用いる。

プライマー対・プローブの塩基配列は以下のとおりである。

1) 組換え遺伝子(PRSV-YK)検知用プライマー対・プローブ

① 「YK-1」

YK-1F : 5'-GAT CCC CGG GTG GTC AGT -3'

YK-1R : 5'-CCG GTA TCC ACA GCT TCA TTT T -3'

YK-P : 5'-FAM- AGA CGC CAT GGA AGG-MGB-3'

② 「YK-2」

YK-2F : 5' -ACA CGG GGG ACT CTA GAG -3'

YK-2R : 5'-ACC GGT ATC CAC AGC TTC -3'

YK-2P : 5'-FAM- TCC CTT CCA TGG CGT C- TAMRA-3'

<p>(削る)</p> <p><u>Q-Chy-1F2 : 5'-CCA TGC GAT CCT CCC A-3'</u></p> <p><u>Q-Chy-2R : 5'-CAT CGT AGC CAT TGT AAC ACT AGC TAA-3'</u></p> <p><u>Q-Chy-P(new) : 5'-FAM-TTC CCT TCA TCC ATT CCC ACT CTT</u> <u>GAG A-TAMRA-3'</u></p>	<p><u>2) 組換え遺伝子 (CaM) 検知用プライマー対・プローブ「CaM」</u></p> <p><u>35S-F : 5'-GCC TCT GCC GAC AGT GGT -3'</u></p> <p><u>35S-R : 5'-AAG ACG TGG TTG GAA CGT CTT C-3'</u></p> <p><u>35S-P : 5'-FAM- CAA AGA TGG ACC CCC ACC CAC G-TAMRA-3</u></p> <p><u>3) 内在性遺伝子検知用プライマー対・プローブ「Chy」</u></p> <p><u>Q-Chy-1F2 : 5'-CCA TGC GAT CCT CCC A-3'</u></p> <p><u>Q-Chy-2R : 5'-CAT CGT AGC CAT TGT AAC ACT AGC TAA-3'</u></p> <p><u>Q-Chy-P(new) : 5'-FAM-TTC CCT TCA TCC ATT CCC ACT CTT</u> <u>GAG A-TAMRA-3'</u></p> <p><u>(2) 採取したパパイヤ種子がタイ産の場合</u></p> <p><u>組換え遺伝子 (PRSV-SC 及び CaM) 検知用として、CaMV 35SP と SC 株の PRSV-cp 遺伝子配列の境界領域を検知するプライマー対・プローブ「SC」及び CaMV 35SP を検知するプライマー対・プローブ「CaM」を用いる。</u></p> <p><u>また、内在性遺伝子検知用として、Chymopapain (Chy) 遺伝子配列を検知するプライマー対・プローブ「Chy」を用いる。</u></p> <p><u>プライマー対・プローブの塩基配列は以下のとおりである。</u></p> <p><u>1) 組換え遺伝子 (PRSV-SC) 検知用プライマー対・プローブ「SC」</u></p> <p><u>SC-F : 5'-CAT TTC ATT TGG AGA GAA CAC G -3'</u></p> <p><u>SC-R : 5'-ACC AGC ATC CAC AGC TTC -3'</u></p> <p><u>SC-P : 5'-FAM- ACT CTA GAG GAT CCA TGT CCA A-TAMRA-</u> <u>3'</u></p> <p><u>2) 組換え遺伝子 (CaM) 検知用プライマー対・プローブ「CaM」</u></p>
--	--

<p>3.1 PCR 用反応液の調製</p> <p>PCR用反応液は 25 μL/ウェルになるように調製する。</p> <p><u>1 ウェル当たりの試薬の分量は、TaqMan Gene Expression Master Mix^{*1} 12.5 μL、対象プライマー対溶液（各プライマー、50 μmol/L）各 0.4 μL、対象プローブ溶液（10 μmol/L）0.25 μL、滅菌蒸留水 8.95 μLとする。</u></p> <p>これらを試験点数に応じ必要量混合し、PCR用のPre-mix溶液を作成して、各ウェルに 22.5 μLずつ分注した後、各DNA試料液 2.5 μLを添加する。PCRのブランク反応液としてDNA試料液の代わりに滅菌蒸留水をウェルに 2.5 μL添加したのも同時に調製する^{*2}。また、PCRの陽性対照反応液として陽性コントロールプラスミド^{*3}を加えたものを同時に調製する。</p> <p>操作終了後、真上からシール^{*4}し、完全にウェルを密閉する。このとき、しわが寄らないよう、専用のシーリング用アプリケーションャーを用い、注意深く行う。最後にウェルの底を観察し、底に気泡がある場合は、ブ</p>	<p><u>35S-F : 5'-GCC TCT GCC GAC AGT GGT -3'</u></p> <p><u>35S-R : 5'-AAG ACG TGG TTG GAA CGT CTT C-3'</u></p> <p><u>35S-P : 5'-FAM- CAAAGA TGG ACC CCC ACC CAC G-TAMRA-</u> <u>3</u></p> <p>3) 内在性遺伝子検知用プライマー対・プローブ「Chy」</p> <p><u>Q-Chy-1F2 : 5'-CCA TGC GAT CCT CCC A-3'</u></p> <p><u>Q-Chy-2R : 5'-CAT CGT AGC CAT TGT AAC ACT AGC TAA-3'</u></p> <p><u>Q-Chy-P(new) : 5'-FAM-TTC CCT TCA TCC ATT CCC ACT CTT</u> <u>GAG A-TAMRA-3</u></p> <p>3.1 PCR 用反応液の調製</p> <p>PCR用反応液は 25 μL/ウェルになるように調製する。<u>1 ウェル当たりの試薬の分量は次のとおりである。TaqMan Gene Expression Master Mix^{*1} 12.5 μL、対象プライマー対溶液（各プライマー、50 μmol/L）各 0.4 μL、対象プローブ溶液（10 μmol/L）0.25 μL、滅菌蒸留水 8.95 μL。</u>これらを試験点数に応じ必要量混合し、PCR用のPre-mix溶液を作成して、各ウェルに 22.5 μLずつ分注した後、各DNA試料液 2.5 μLを添加する。PCRのブランク反応液としてDNA試料液を加えないものも同時に調製する^{*2}。また、PCRの陽性対照反応液として陽性コントロールプラスミド^{*3}を加えたものを同時に調整する。操作終了後、真上からシール^{*4}し、完全にウェルを密閉する。このとき、しわが寄らないよう、専用のシーリング用アプリケーションャーを用い、注意深く行う。最後にウェルの底を観察し、底に気泡がある場合は、プレートの縁を軽く叩いて気泡を抜いておく。プレートの確認後、ABI PRISM Optical Cover Compression Pad^{*5}を茶色の面が上になるよう、プレートの上面にセットする。</p>
--	--

プレートの縁を軽く叩いて気泡を抜いておく。プレートの確認後、ABI PRISM Optical Cover Compression Pad*5を茶色の面が上になるよう、プレートの上面にセットする。

*1 (略)

*2 Non-Template Control (NTC)

*3 GM パパイヤ系統別 DNA PRSV HN 陽性コントロールプラスミド (ニッポンジーン社)、GM パパイヤ系統別 DNA 55-1 陽性コントロールプラスミド 2 (ニッポンジーン社) 等を使用する。

*4 (略)

*5 ABI PRISM Optical Cover Compression Pad

ABI PRISM Optical Cover Compression Pad (Life Technologies 社) を使用する。Applied Biosystems 7500、QuantStudio 5 では使用しない。

3.2 プレート情報の設定

反応に際しては、プレート情報の設定を行わなければならない。設定を行う項目は、検体の配置や種類及びプローブ特性である。具体的には新規シート上で、調製したプレートの配置に対応するように気を付けながら、検体の種類 (「NTC」: Non-Template Control、「UNKN」: DNA 試料液) の設定を行う。またプローブ特性に関しては、「Reporter」を「FAM」に設定する。「Quencher」については「TAMRA」に設定する。また、「Passive Reference」は「ROX」に設定する。ランモードの設定は 9600 emulation モードを選択する*。「Sample Volume」は 25 μ L に設定する。

* QuantStudio 5 では、9600 emulation モードがないため、設定しな

*1 (略)

*2 Non-Template Control (NTC)

DNA 試料液の添加の際、NTC には DNA 試料液の代わりに滅菌蒸留水をウェルに 2.5 μ L 添加する。

*3 GM パパイヤ系統別 DNA PRSV HN 陽性コントロールプラスミド (ニッポンジーン社) 等を使用する。

*4 (略)

*5 ABI PRISM Optical Cover Compression Pad

ABI PRISM Optical Cover Compression Pad (Life Technologies 社) を使用する。Applied Biosystems 7500 では使用しない。

3.2 プレート情報の設定

反応に際しては、プレート情報の設定を行わなければならない。設定を行う項目は、検体の配置や種類及びプローブ特性である。具体的には新規シート上で、調製したプレートの配置に対応するように気を付けながら、検体の種類 (「NTC」: Non-Template Control、「UNKN」: DNA 試料液) の設定を行う。またプローブ特性に関しては、「Reporter」を「FAM」に設定する。「Quencher」については、「YK-1」が「None」、その他のプローブは「TAMRA」に設定する。また、「Passive Reference」は「ROX」に設定する。ランモードの設定は 9600 emulation モードを選択する。「Sample Volume」は 25 μ L に設定する。

い。

3.3 (略)

4 結果の解析と判定

組換え遺伝子検知試験及び内在性遺伝子検知試験のいずれについても、結果の判定は Amplification plot 上で指数関数的な増幅曲線と Ct 値の確認及び multicomponent 上での対象色素由来の蛍光強度 (FAM) の指数関数的な明確な増加の確認をもって行う。

まず、組換え遺伝子検知試験について、目視により Amplification plot 上に指数関数的な増幅曲線が確認された場合には、遺伝子組換え体陽性を疑う。次いで、ベースラインを 3 サイクルから 15 サイクルに設定し、 ΔR_n のノイズ幅の最大値の上側で、安定した指数関数的な増幅曲線上で交わる Threshold line (Th. line) を選択する^{*1}。選択した Th. line がノイズや指数関数的でない増幅曲線と交わる場合、それらと交わらないよう Th. line を適宜変更する。その Th. line から Ct 値が得られるか否かを解析する。

結果の判定には、1 検体から得られた 2 点 の DNA 試料液について、1 点につき 2 ウェル並行で実施した内在性遺伝子検知試験及び組換え遺伝子検知試験の結果を用いる。

*1 個々の機種の状態によって Amplification plot 上の ΔR_n が変動することから、普遍的な Th. line の設定の数値を示すことが困難である。特段の問題がない限り、Th. line は 0.2 を指定し、必要に応じて変更する。

判定の手順は以下のとおり。

3.3 (略)

4. 結果の解析と判定

組換え遺伝子検知試験及び内在性遺伝子検知試験のいずれについても、結果の判定は Amplification plot 上で指数関数的な増幅曲線と Ct 値の確認及び multicomponent 上での対象色素由来の蛍光強度 (FAM) の指数関数的な明確な増加の確認をもって行う。

まず、組換え遺伝子検知試験について、目視により Amplification plot 上に指数関数的な増幅曲線が確認された場合には、遺伝子組換え体陽性を疑う。次いで、ベースラインを 3 サイクルから 15 サイクルに設定し、 ΔR_n のノイズ幅の最大値の上側で、安定した指数関数的な増幅曲線上で交わる Threshold line (Th. line) を選択する (通常、「0.2」に設定)。選択した Th. line がノイズや指数関数的でない増幅曲線と交わる場合、それらと交わらないよう Th. line を適宜変更する。その Th. line から Ct 値が得られるか否かを解析する。

結果の判定には、1 検体から得られた 10 点 の DNA 試料液について、1 点につき 2 ウェル並行で実施した内在性遺伝子検知試験及び組換え遺伝子検知試験の結果を用いる。

判定の手順は以下のとおり。

(1) 内在性遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子検知試験の全てのウェルで一致した結果が得られた場合には、下表により当該試料の判定を行う。

表：組換え遺伝子検知試験の結果による判定基準

検知試験結果		判定
55-1	CaM	
+	+	55-1 陽性
-	+	未承認 GM 陽性
+	-	再試験
-	-	陰性

+: Ct 値 43 未満

-: Ct 値 43 以上

55-1 陽性：遺伝子組換えパパイヤ（55-1）陽性

未承認 GM 陽性：未承認遺伝子組換えパパイヤ陽性

再試験：再度、検体からの「1 種子由来 DNA の抽出・精製」以降の操作を行う。

陰性：遺伝子組換えパパイヤ陰性

(1) 採取したパパイヤ種子が台湾産の場合

1) 内在性遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子検知試験の「PRSV-YK」及び「CaM」について実施した全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られた場合、当該試料は遺伝子組換えパパイヤ（PRSV-YK）陽性と判定する。

2) 内在性遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合、当該試料は遺伝子組換えパパイヤ陰性と判定する。

3) 内在性遺伝子検知試験及び組換え遺伝子（CaM）検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子（PRSV-YK）検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合、当該試料は遺伝子組換えパパイヤ（PRSV-YK）以外の遺伝子組換えパパイヤ陽性と判定する。

4) 内在性遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子検知試験の「PRSV-YK」及び「CaM」の何れか、若しくは双方について実施した全てのウェルで一致した結果が得られない場合であって、

① 個々の種子粉砕物から得た全ての DNA 試料液について一致した PCR 結果が得られた場合、遺伝子組換えパパイヤを含む種子粉砕物と含まない種子粉砕物があったため PCR 結果が一致しなかったと判断し、組換え遺伝子検知試験の「PRSV-YK」及び「CaM」について Ct 値が得られた試料は遺伝子組換えパパイヤ（PRSV-YK）陽性、組換え遺伝子検知試験のうち「CaM」についてのみ Ct 値が得られた試料は遺伝子組換えパパイヤ（PRSV-YK）

<p><u>(2) 内在性遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子検知試験の「CaM」若しくは「55-1」のいずれか又は双方について実施した全てのウェルで一致した結果が得られない場合、再度、検体からの「1. 種子由来 DNA の抽出・精製」以降の操作を行い判定する。なお、再度抽出・精製を行った DNA 試料液においても遺伝子組換え体陽性の判定が得られない場合、当該試料からの本試験法による遺伝子組換えパパイアの検知は不能とする。</u></p>	<p><u>以外の遺伝子組換えパパイア陽性と判定する。</u></p> <p><u>② 個々の種子粉碎物から得た全ての DNA 試料液について一致した PCR 結果が得られない場合、再度、検体からの「1. 種子由来 DNA の抽出・精製」以降の操作を行い判定する。なお、再度抽出・精製を行った DNA 試料液においても遺伝子組換え体陽性の判定が得られない場合、当該試料からの本試験法による遺伝子組換えパパイアの検知は不能とする。</u></p> <p><u>5) 内在性遺伝子検知試験について、リアルタイム PCR を用いた定性 PCR に複数回供した場合であっても全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合は、再度、検体からの「1. 種子由来 DNA の抽出・精製」以降の操作を行い判定する。再度抽出・精製を行った DNA 試料液においても全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合、当該試料からの本試験法による遺伝子組換えパパイアの検知は不能とする。</u></p> <p><u>(2) 採取したパパイア種子がタイ産の場合</u></p> <p><u>1) 内在性遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子検知試験の「PRSV-SC」及び「CaM」について実施した全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られた場合、当該試料は遺伝子組換えパパイア (PRSV-SC) 陽性と判定する。</u></p> <p><u>2) 内在性遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合、当該試料は遺伝子組換えパパイア陰性と判定する。</u></p> <p><u>3) 内在性遺伝子検知試験及び組換え遺伝子 (CaM) 検知試験の全て</u></p>
--	---

	<p><u>のウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子 (PRSV-SC) 検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合、当該試料は遺伝子組換えパパイヤ (PRSV-SC) 以外の遺伝子組換えパパイヤ陽性と判定する。</u></p> <p><u>4) 内在性遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子検知試験の「PRSV-SC」及び「CaM」の何れか、若しくは双方について実施した全てのウェルで一致した結果が得られない場合であって、</u></p> <p>① <u>個々の種子粉砕物から得た全ての DNA 試料液について一致した PCR 結果が得られた場合、遺伝子組換えパパイヤを含む種子粉砕物と含まない種子粉砕物があつたため PCR 結果が一致しなかったと判断し、組換え遺伝子検知試験の「PRSV-SC」及び「CaM」について Ct 値が得られた試料は遺伝子組換えパパイヤ (PRSV-SC) 陽性、組換え遺伝子検知試験のうち「CaM」についてのみ Ct 値が得られた試料は遺伝子組換えパパイヤ (PRSV-SC) 以外の遺伝子組換えパパイヤ陽性と判定する。</u></p> <p>② <u>個々の種子粉砕物から得た全ての DNA 試料液について一致した PCR 結果が得られない場合、再度、検体からの「1. 種子由来 DNA の抽出・精製」以降の操作を行い判定する。なお、再度抽出・精製を行った DNA 試料液においても遺伝子組換え体陽性の判定が得られない場合、当該試料からの本試験法による遺伝子組換えパパイヤの検知は不能とする。</u></p> <p><u>5) 内在性遺伝子検知試験について、リアルタイム PCR を用いた定性 PCR に複数回供した場合であっても全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合は、再度、検体からの「1. 種子由来 DNA の</u></p>
--	---

<p><u>(3) 内在性遺伝子検知試験について、リアルタイム PCR を用いた定性 PCR に複数回供した場合であっても全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合は、再度、検体からの「1 種子由来 DNA の抽出・精製」以降の操作を行い判定する。再度抽出・精製を行った DNA 試料液においても全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合、当該試料からの本試験法による遺伝子組換えパパイアの検知は不能とする。</u></p> <p>(別紙 3)</p> <p>未承認遺伝子組換えワタの種子の検査方法</p> <p>(略)</p> <p>1 種子由来 DNA の抽出・精製</p> <p>1.1 (略)</p> <p>1.2 種子粉砕物からの DNA 抽出・精製</p> <p>種子粉砕物 1 点につき 2 点の DNA 抽出物を得る。</p> <p>種子粉砕物 1 g を 50 mL 容チューブに量り採り、<u>GE1 緩衝液</u>^{*1} 4 mL、</p>	<p><u>抽出・精製」以降の操作を行い判定する。再度抽出・精製を行った DNA 試料液においても全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合、当該試料からの本試験法による遺伝子組換えパパイアの検知は不能とする。</u></p> <p>(新設)</p> <p>(別紙 3)</p> <p>未承認遺伝子組換えワタの種子の検査方法</p> <p>(略)</p> <p>1. 種子由来 DNA の抽出・精製</p> <p>1.1 (略)</p> <p>1.2 種子粉砕物からの DNA 抽出・精製</p> <p>種子粉砕物 1 点につき 2 点の DNA 抽出物を得る。</p> <p>種子粉砕物 1 g を 50 mL 容チューブに量り採り、<u>GE 1 緩衝液</u> 4</p>
---	---

<p><u>RNase A</u>*1 20 µL、<u>Proteinase K</u>*1 20 µLを加え、ボルテックスミキサーで30秒間混合した後、65℃で15分間静置する。<u>GE2-K 緩衝液</u>*1 500 µLを加え、ボルテックスミキサーで30秒間混合する。4,000×g、室温で10分間遠心分離する。上清 1 mLを1.5 mL容チューブに分取し、13,000×g以上、室温で5分間遠心分離する。上清400 µLを新たな1.5 mL容チューブに分取し、<u>GB3緩衝液</u>*1 150 µL及びイソプロピルアルコール150 µLを添加した後、10～12回転倒混和する。混合液全量を<u>Spin column</u>*1に負荷した後、13,000×g以上、室温で1分間遠心分離し、溶出液を捨てる。<u>Spin column</u>*1に<u>GW緩衝液</u>*1 650 µLを負荷し、13,000×g以上、室温で1分間遠心分離する。<u>Spin column</u>*1を新たな1.5 mL容チューブに移し、滅菌蒸留水50 µLを加え、室温で3分間静置した後、13,000×g以上、室温で1分間遠心分離し、得られた溶出液を<u>DNA試料原液とする</u>。DNA試料原液は－20℃以下で冷凍保存する。</p> <p><u>*1 GE1 緩衝液、RNase A、Proteinase K、GE2-K 緩衝液、GB3 緩衝液、Spin column 及び GW 緩衝液は、GM quicker2（ニッポンジーン社）に付属のもの又は同等の効力を持つものを用いる。</u></p> <p>2 DNA 試料原液中の DNA の純度の確認並びに DNA 試料液の調製及び保存</p> <p>2.1 (略)</p> <p>2.2 DNA 試料液の<u>調製</u>及び保存 (略)</p> <p>3 リアルタイムPCR (ABI PRISM™ 7900HT*1) を用いた定性PCR法</p>	<p>mL、<u>RNase A (100 mg/mL)</u> 20 µL、<u>Proteinase K (20 mg/mL)</u> 20 µLを加え、ボルテックスミキサーで30秒間混合した後、65℃で15分間静置する。<u>GE 2-K 緩衝液</u> 500 µLを加え、ボルテックスミキサーで30秒間混合する。4,000×g、室温で10分間遠心分離する。上清 1 mLを1.5 mL容チューブに分取し、13,000×g以上、室温で5分間遠心分離する。上清400 µLを新たな1.5 mL容チューブに分取し、<u>GB 3 緩衝液</u> 150 µL及びイソプロピルアルコール 150 µLを添加した後、10～12回転倒混和する。混合液全量を<u>Spin column</u>に負荷した後、13,000×g以上、室温で1分間遠心分離し、溶出液を捨てる。<u>Spin column</u> に<u>GW緩衝液</u> 650 µLを負荷し、13,000×g以上、室温で1分間遠心分離する。<u>Spin column</u> を新たな1.5 mL容チューブに移し、滅菌蒸留水50 µLを加え、室温で3分間静置した後、13,000×g以上、室温で1分間遠心分離し、得られた溶出液を<u>DNA 試料原液 とする</u>。DNA試料原液は－20℃以下で冷凍保存する。</p> <p>2. DNA 試料原液中の DNA の純度の確認並びにDNA試料液の調製及び保存</p> <p>2.1 (略)</p> <p>2.2 DNA 試料液の<u>調整</u>及び保存 (略)</p> <p>3. リアルタイムPCR (ABI PRISM™ 7900HT*1) を用いた定性PCR法</p>
---	---

組換え遺伝子検知用及び内在性遺伝子検知用とも、DNA試料液 1 点につき 2 ウェル並行で実施する。

組換え遺伝子検知用として、カリフラワーモザイクウイルス35Sプロモーター遺伝子配列を検知するプライマー対・プローブ「P35S」及びアグロバクテリウム・Ti プラスミドNOSターミネーター遺伝子配列を検知するプライマー対・プローブ「NOS ter」を用いる。

また、内在性遺伝子検知用として、ワタの*IVS of the putative Sinapis Arabidopsis Homolog 7 protein* (SAH7)遺伝子配列を検知するプライマー対・プローブ「Sah7」を用いる。

プライマー対・プローブの塩基配列は以下のとおりである。

*1 ABI PRISM™ 7900HTと同等の性能を有する他の機種を用いてもよい。

①～④ (略)

3.1 PCR用反応液の調製

PCR用反応液は、次の手順により、25 μ L/ウェルとなるように調製する。

1 ウェル当たりの試薬の分量は、TaqMan Universal PCR Master Mix*¹12.5 μ L、対象プライマー対溶液（各プライマー、25 μ mol/L）各0.5 μ L、対象プローブ溶液（10 μ mol/L）0.5 μ L、滅菌蒸留水8.5 μ Lとする。これらを試験点数に応じ必要量混合し、PCR用のPre-mix溶液を作成して、各ウェルに22.5 μ Lずつ分注した後、各DNA試料液2.5 μ Lを添加する。PCRのブランク反応液としてDNA試料液の代わりに滅菌蒸留水をウェルに2.5 μ L添加したものも同時に調製する*²。また、PCRの陽性対照反

組換え遺伝子検知用及び内在性遺伝子検知用とも、DNA試料液 1 点につき 2 ウェル並行で実施する。

組換え遺伝子検知用として、カリフラワーモザイクウイルス35Sプロモーター遺伝子配列を検知するプライマー対・プローブ「P35S」及びアグロバクテリウム・Ti プラスミドNOSターミネーター遺伝子配列を検知するプライマー対・プローブ「NOS ter」を用いる。

また、内在性遺伝子検知用として、ワタの*IVS of the putative Sinapis Arabidopsis Homolog 7 protein* (SAH7)遺伝子配列を検知するプライマー対・プローブ「Sah7」を用いる。

プライマー対・プローブの塩基配列は以下のとおりである。

*1 ABI PRISM™ 7900HTと同等の性能を有することを農産安全管理課が確認した他の機種を用いてもよい。

①～④ (略)

3.1 PCR用反応液の調製

PCR用反応液は、次の手順により、25 μ L/ウェルとなるように調製する。

1 ウェル当たりの試薬の分量は、TaqMan Universal PCR Master Mix*¹12.5 μ L、対象プライマー対溶液（各プライマー、25 μ mol/L）各0.5 μ L、対象プローブ溶液（10 μ mol/L）0.5 μ L、滅菌蒸留水8.5 μ Lとする。これらを試験点数に応じ必要量混合し、PCR用のPre-mix溶液を作成して、各ウェルに22.5 μ Lずつ分注した後、各DNA試料液2.5 μ Lを添加する。PCRのブランク反応液としてDNA試料液を加えないものも同時に調製する*²。また、PCRの陽性対照反応液として認証標準物質*³から抽出

応液として認証標準物質^{*3}から抽出したDNA試料液を加えたものを同時に調製する。操作終了後、真上からシール^{*4}し、完全にウェルを密閉する。このとき、しわが寄らないよう、専用のシーリング用アプリケーションを用い、注意深く行う。最後にウェルの底を観察し、底に気泡がある場合は、プレートの縁を軽く叩いて気泡を抜いておく。プレートの確認後、ABI PRISM Optical Cover Compression Pad^{*5}を茶色の面が上になるよう、プレートの上面にセットする。

*1 (略)

*2 Non-Template Control (NTC)

*3 (略)

*4 (略)

*5 ABI PRISM Optical Cover Compression Pad

ABI PRISM Optical Cover Compression Pad (Life Technologies 社) を使用する。Applied Biosystems 7500、QuantStudio 5 では使用しない。

3.2 プレート情報の設定

反応に際しては、プレート情報の設定を行わなければならない。設定を行う項目は、検体の配置や種類及びプローブ特性である。具体的には新規シート上で、調製したプレートの配置に対応するように気を付けながら、検体の種類 (「NTC」 : Non-Template Control、 「UNKN」 : DNA 試料液) の設定を行う。またプローブ特性に関しては、「Reporter」を「FAM」に、「Quencher」を「TAMRA」に設定する。また、「Passive Reference」は「ROX」に設定する。ランモードの設定は 9600 emulation^{*1}モードを選

したDNA試料液を加えたものを同時に調整する。操作終了後、真上からシール^{*4}し、完全にウェルを密閉する。このとき、しわが寄らないよう、専用のシーリング用アプリケーションを用い、注意深く行う。最後にウェルの底を観察し、底に気泡がある場合は、プレートの縁を軽く叩いて気泡を抜いておく。プレートの確認後、ABI PRISM Optical Cover Compression Pad^{*5}を茶色の面が上になるよう、プレートの上面にセットする。

*1 (略)

*2 Non-Template Control (NTC)

DNA 試料液の添加の際、NTC には DNA 試料液の代わりに滅菌蒸留水をウェルに 2.5μL 添加する。

*3 (略)

*4 (略)

*5 ABI PRISM Optical Cover Compression Pad

ABI PRISM Optical Cover Compression Pad (Life Technologies 社) を使用する。Applied Biosystems 7500 では使用しない。

3.2 プレート情報の設定

反応に際しては、プレート情報の設定を行わなければならない。設定を行う項目は、検体の配置や種類及びプローブ特性である。具体的には新規シート上で、調製したプレートの配置に対応するように気を付けながら、検体の種類 (「NTC」 : Non-Template Control、 「UNKN」 : DNA 試料液) の設定を行う。またプローブ特性に関しては、「Reporter」を「FAM」に、「Quencher」を「TAMRA」に設定する。また、「Passive Reference」は「ROX」に設定する。ランモードの設定は 9600 emulation モードを選

択する。「Sample Volume」は 25 μ L に設定する。

*1 QuantStudio 5 では、9600 emulation モードがないため、設定しない。

3.3 (略)

4 結果の解析と判定

組換え遺伝子検知試験及び内在性遺伝子検知試験のいずれについても、結果の判定は Amplification plot 上で指数関数的な増幅曲線と Ct 値の確認及び multicomponent 上での対象蛍光色素由来の蛍光強度 (FAM) の指数関数的な増幅曲線の確認をもって行う。

まず、組換え遺伝子検知試験の「P35S」又は「NOS ter」について、目視により Amplification plot 上に指数関数的な増幅曲線が確認された場合には、遺伝子組換え体陽性を疑う。次いで、ベースラインを 3 サイクルから 15 サイクルに設定し、 ΔR_n のノイズ幅の最大値の上側で、安定した指数関数的な増幅曲線上で交わる Threshold line (Th. line) を選択する^{*1}。選択した Th. line がノイズや指数関数的でない増幅曲線と交わる場合、それらと交わらないよう Th. line を適宜変更する。その Th. line から Ct 値が得られるか否かを解析する。

結果の判定には、1 検体から得られた 2 点の DNA 試料液について、1 点につき 2 ウェル並行で実施した内在性遺伝子検知試験及び組換え遺伝子検知試験の結果を用いる。

*1 個々の機種の状態によって Amplification plot 上の ΔR_n が変動することから、普遍的な Th. line の設定の数値を示すことが困難である。
特段の問題がない限り、Th. line は 0.2 を指定し、必要に応じて変更す

択する。「Sample Volume」は 25 μ L に設定する。

3.3 (略)

4. 結果の解析と判定

組換え遺伝子検知試験及び内在性遺伝子検知試験のいずれについても、結果の判定は Amplification plot 上で指数関数的な増幅曲線と Ct 値の確認及び multicomponent 上での対象蛍光色素由来の蛍光強度 (FAM) の指数関数的な増幅曲線の確認をもって行う。

まず、組換え遺伝子検知試験の「P35S」又は「NOS ter」について、目視により Amplification plot 上に指数関数的な増幅曲線が確認された場合には、遺伝子組換え体陽性を疑う。次いで、ベースラインを 3 サイクルから 15 サイクルに設定し、 ΔR_n のノイズ幅の最大値の上側で、安定した指数関数的な増幅曲線上で交わる Threshold line (Th. line) を選択する (通常、「0.2」に設定)。選択した Th. line がノイズや指数関数的でない増幅曲線と交わる場合、それらと交わらないよう Th. line を適宜変更する。その Th. line から Ct 値が得られるか否かを解析する。

結果の判定には、1 検体から得られた 2 点の DNA 試料液について、1 点につき 2 ウェル並行で実施した内在性遺伝子検知試験及び組換え遺伝子検知試験の結果を用いる。

る。

判定の手順は以下のとおり。

- (1) 内在性遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子検知試験の「P35S」若しくは「NOS ter」のいずれか又は双方について実施した全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られた場合、当該試料は遺伝子組換え体陽性と判定する。
- (2) (略)
- (3) 内在性遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子検知試験の「P35S」若しくは「NOS ter」のいずれか又は双方について実施した全てのウェルで一致した結果が得られない場合、再度、検体からの「1 種子由来 DNA の抽出・精製」以降の操作を行い判定する。なお、再度抽出・精製を行った DNA 試料液においても遺伝子組換え体陽性の判定が得られない場合には、当該試料からの本試験法による遺伝子組換えワタの検知は不能とする。
- (4) 内在性遺伝子検知試験について、リアルタイム PCR を用いた定性 PCR に複数回供した場合であっても全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合は、再度、検体からの「1 種子由来 DNA の抽出・精製」以降の操作を行い判定する。再度抽出・精製を行った DNA 試料液においても全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合は、当該試料からの本試験法による遺伝子組換えワタの検知は不能とする。

(別紙 4)

検査方法の同等性確認方法

判定の手順は以下のとおり。

- (1) 内在性遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子検知試験の「P35S」及び「NOS ter」の何れか、若しくは双方について実施した全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られた場合、当該試料は遺伝子組換え体陽性と判定する。
- (2) (略)
- (3) 内在性遺伝子検知試験の全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られ、かつ、組換え遺伝子検知試験の「P35S」及び「NOS ter」の何れか、若しくは双方について実施した全てのウェルで一致した結果が得られない場合、再度、検体からの「1 種子由来 DNA の抽出・精製」以降の操作を行い判定する。なお、再度抽出・精製を行った DNA 試料液においても遺伝子組換え体陽性の判定が得られない場合には、当該試料からの本試験法による遺伝子組換えワタの検知は不能とする。
- (4) 内在性遺伝子検知試験について、リアルタイム PCR を用いた定性 PCR に複数回供した場合であっても全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合は、再度、検体からの「1 種子由来 DNA の抽出・精製」以降の操作を行い判定する。再度抽出・精製を行った DNA 試料液においても全てのウェルで 43 未満の Ct 値が得られない場合は、当該試料からの本試験法による遺伝子組換えワタの検知は不能とする。

(新設)

<p><u>DNA 抽出精製方法、リアルタイム PCR 装置及びマスターミックスについて、別紙 2 及び別紙 3 の検査方法に記載のものと同等のものに変更しようとする場合は、「食品表示基準について（平成 27 年 3 月 30 日消食表第 139 号）」の「別添 安全性審査済みの遺伝子組換え食品の検査方法」中「検査方法の同等性確認方法」を参照し、必要な確認を行うこと。</u></p>	
---	--

附 則

この通知は、令和 8 年 3 月 1 日から施行する。