

# 遺伝子組換え飼料添加物の 概説書作成のための 留意点及び記載例

この文書は、遺伝子組換え飼料添加物の概説書作成に当たり参考としてご活用いただくため、留意点及び記載例を記したものです。

概説書に必要なデータ等は、申請品によって異なりますので、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令等の施行について(平成15年4月1日付け14生畜第8598号)の別添2の第2の組換え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及び飼料添加物の安全性審査基準等を確認いただく必要があることに御留意ください。

# 概説書作成のための留意点及び記載例

※必要なデータ等は申請品によって異なりますので、参考としてご活用ください。

xxx (菌名) xxx 株を利用して

生産された aaa (飼料添加物名)

安全性審査資料

申請者

xxx 会社

開発者

xxx 会社

20xx 年 xx 月 xx 日

目次

	頁
1 生産物の既存のものとの同等性に関する資料 .....	1
2 組換え体等に関する資料.....	2
2 - (1) GILSP (Good Industrial Large-Scale Practice) 組換え体又はカテゴリー 1 組換え体を安全に取り扱うことができる作業レベルでの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資料.....	2
2 - (2) 組換え体の利用目的及び利用方法に関する資料.....	3
2 - (3) 宿主に関する資料.....	3
2 - (3) - ア 学名、株名等の分類学上の位置付けに関する資料 .....	3
2 - (3) - イ 病原性及び有害生理活性物質の生産に関する資料 .....	4
2 - (3) - ウ 寄生性及び定着性に関する資料.....	4
2 - (3) - エ ウイルス等の病原性の外来因子に汚染されていないことに関する資料 .....	4
2 - (3) - オ 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資料 .....	4
2 - (3) - カ 有性又は無性生殖周期及び交雑性に関する資料.....	4
2 - (3) - キ 飼料に利用された歴史に関する資料 .....	5
2 - (3) - ク 生存及び増殖能力を制限する条件に関する資料.....	5
2 - (3) - ケ 類縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する資料.....	5
2 - (4) ベクターに関する資料.....	5
2 - (4) - ア 名称及び由来に関する資料.....	5
2 - (4) - イ 性質に関する資料.....	6

2 - (4) - イ - (ア) DNA の分子量を示す資料.....	6
2 - (4) - イ - (イ) 制限酵素による切断地図に関する資料.....	6
2 - (4) - イ - (ウ) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する資料.....	6
2 - (4) - ウ 薬剤耐性に関する資料.....	6
2 - (4) - エ 伝達性に関する資料.....	7
2 - (4) - オ 宿主依存性に関する資料.....	7
2 - (4) - カ 発現ベクターの作成方法に関する資料.....	7
2 - (4) - キ 発現ベクターの宿主への挿入方法及び位置に関する資料.....	7
2 - (5) 挿入遺伝子及びその遺伝子産物に関する資料.....	7
2 - (5) - ア 供与体の名称, 由来及び分類に関する資料.....	8
2 - (5) - イ 遺伝子の挿入方法に関する資料.....	8
2 - (5) - イ - (ア) ベクターへの挿入遺伝子の組込方法に関する資料.....	8
2 - (5) - イ - (イ) 挿入遺伝子の宿主への導入方法に関する資料.....	8
2 - (5) - ウ 構造に関する資料.....	9
2 - (5) - ウ - (ア) プロモーターに関する資料.....	9
2 - (5) - ウ - (イ) ターミネーターに関する資料.....	9
2 - (5) - ウ - (ウ) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する資料.....	9
2 - (5) - エ 性質に関する資料.....	9
2 - (5) - エ - (ア) 挿入 DNA の機能に関する資料.....	9
2 - (5) - エ - (イ) DNA の分子量を示す資料.....	9
2 - (5) - エ - (ウ) 制限酵素による切断地図に関する資料.....	9
2 - (5) - オ 純度に関する資料.....	9
2 - (5) - カ 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する資料.....	10

2 - (5) - キ	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資料	10
2 - (6)	組換え体に関する資料	10
2 - (6) - ア	組換え DNA 操作により新たに獲得された性質に関する資料	10
2 - (6) - イ	宿主との差異に関する資料	10
2 - (6) - ウ	外界における生存性及び増殖性に関する資料	10
2 - (6) - エ	生存及び増殖能力の制限に関する資料	11
2 - (6) - オ	不活化法に関する資料	11
3.	組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する資料	11
3 - (1)	飼料又は飼料添加物の製造原料としての使用実績及び安全性に関する資料	11
3 - (2)	飼料又は飼料添加物の製造器材としての使用実績及び安全性に関する資料	11
4.	生産物に関する資料	11
4 - (1)	組換え体の混入を否定する資料	11
4 - (2)	製造に由来する不純物の安全性に関する資料	12
4 - (3)	精製方法及びその効果に関する資料	12
4 - (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資料	13
4 - (5)	組換え体によって製造された生産物の外国における認可及び使用等の状況に関する資料	13
5.	2 から 4 までにより安全性に知見が得られていない場合は次のうち必要な試験の成績に関する事項	13
	参考文献	13
	添付資料	14

- ・一般的な飼料添加物としての機能や家畜への給与について
- ・申請する飼料添加物の宿主菌株や生産菌株、製造方法
- ・既存のものと比較した結果

を記載すること。

## 1. 生産物の既存のものとの同等性に関する資料

一般的に aaa は、飼料添加物として・・・の機能を持つ。家畜への給与は・・・を想定している。

5 本申請品目は、xxx（微生物種名）☆☆株を宿主として、○○由来の遺伝子を導入した◇◇株（生産菌株名）により生産される aaa（飼料添加物名）（以下、AAA）である。

AAA の製造方法の概要は図○のとおりである。

10



15

図○ 製造フロー図

培養方法、精製方法などが理解できるように具体的に記述すること。  
（製品への製造菌体の混入の可能性などの判断材料となるため。）

20

比較対象として、既に我が国において飼料添加物としての成分規格が設定されている BBB（「○○株を利用して生産された○○」、官報掲載：○年○月○日）が挙げられる。AAA と BBB の成分規格やアミノ酸配列を表○、図○に示した。

5



図〇 AAA と BBB の比較

10 アミノ酸配列の相同性や触媒部位、立体構造を比較した結果、AAA と BBB の構造はほぼ同じであった。

以上のことから、総合的に判断して BBB を既存の比較対象とするのは適切であり、AAA が既存のものと同等性を失っていないことが示された。

15

既存のものとの同等性は、成分規格の比較、アミノ酸配列の相同性、触媒部位及び立体構造の比較など、総合的に判断する。概説書には比較の結果を記載してください。

## 2. 組換え体等に関する資料

### 2 – (1) GILSP (Good Industrial Large-Scale Practice) 組換え体又はカテゴリー 1 組換え

20 体を安全に取り扱うことができる作業レベルでの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資料

宿主として用いた☆☆株（宿主株名）は、〇〇株が親株であり、☆☆株（宿主株名）は、分子生物学の研究分野で広く使用され、全ゲノム配列が明らかとなっている。☆☆株（宿主株名）（または、xxx（微生物種名））は、優良工業製造規範（GILSP）に準拠する

ことも認められている。非病原性であり、ウイルス等の病原性に関係のある外来因子により汚染されず、長期にわたり工業的利用が安全になされている。(または、工業的利用の場で最適の増殖が可能であり、外界においては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。)

5

ベクター及び挿入遺伝子については、分子量及び制限酵素による切断地図等が明らかにされており、既知の有害な塩基配列は含まれていない。また遺伝子の伝達性は乏しく、組換え体の外界での安定性が增大するようなものではない。

10 以上のことから、◇◇株(生産菌株名)は非病原性であり、工業的利用の場において宿主☆☆株(宿主株名)と同程度に安全であると考えられ、GILSP組換え体に相当すると考えられる。

## 2 - (2) 組換え体の利用目的及び利用方法に関する資料

15 ◇◇株(生産菌株名)は、既存のaaaの生産菌と同様に、・・・の目的で利用している。◇◇株(生産菌株名)から生産されるaaaは、☆☆株(宿主株名)と比較して・・・。  
すなわち、◇◇株(生産菌株名)の組換えの目的は・・・である。利用方法は・・・。  
添加量は○○である。

## 20 2 - (3) 宿主に関する資料

### 2 - (3) - ア 学名、株名等の分類学上の位置付けに関する資料

宿主は☆☆株(宿主株名)で、○○科○○属○○(種)である。

なお使用した宿主は一部遺伝子を欠失させている。・・・(欠失の詳細を記載)・・・。

宿主の遺伝子を欠失させた場合に記載すること。



*Aspergillus fumigatus*など、日和見感染や特定の株での病原性などがある場合はその条件を提示すること。

2 - (3) - イ 病原性及び有害生理活性物質の生産に関する資料

☆☆株（宿主株名または微生物名）が人や家畜の疾病の原因になるという報告はない。また有害生理活性物質を生産するという報告はない。

マイコトキシンの産生については、・・・・・・である。宿主が真菌の場合に記載すること。

また、国立感染症研究所の病原体等安全管理規程におけるバイオセーフティレベル (BSL) 2 あるいは BSL 3 に相当する病原体等のリストには含まれていない。(または、BSL1 に規定されている。)

2 - (3) - ウ 寄生性及び定着性に関する資料

○○（組換えに用いた微生物）は・・・・・・ということが報告されているため、哺乳動物に対して寄生性及び定着性を持つとの報告はない。

2 - (3) - エ ウイルス等の病原性の外来因子に汚染されていないことに関する資料

☆☆株（宿主株名）は BSL 1 微生物のみを取り扱う工場内で閉鎖的に管理されており、ウイルス等の病原性の外来因子に汚染されることはない。

2 - (3) - オ 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資料

宿主として用いた○○（組換えに用いた微生物）は、・・・・・・の条件で生育する。そのため、自然環境を反映する実験条件下で生存及び増殖能力を有する。(または、しない。)

2 - (3) - カ 有性又は無性生殖周期及び交雑性に関する資料

通常の培養条件では、遺伝子の伝播や交雑も起こらないため、交雑性はない。芽胞形成能は・・・である。

## 2－(3)－キ 飼料に利用された歴史に関する資料

5 ☆☆株（宿主株名）を宿主として aaa を産出するよう遺伝子組換えされた◇◇株（生産菌株名）は、○○リストに掲載されている。

○○（組換えに用いた微生物）を用いて生産された飼料添加物としては、AAA の他に、○○（地域名）において承認されている。

10 ○○（組換えに用いた微生物）は食品（または飼料）添加物として使用されている  
○○の生産菌株の宿主として使用されている。

## 2－(3)－ク 生存及び増殖能力を制限する条件に関する資料

☆☆株（宿主株名）は、・・・の条件下のみで増殖するため、自然界では増殖することは考えにくい。

15

## 2－(3)－ケ 類縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する資料

○○（組換えに用いた微生物）には、病原性及び有害生理活性物質を産生するとの報告はない。

20 ○○の近縁種には○○の原因菌となることが知られているが、開発に用いた微生物においては、病原性はなく、有害生理活性物質は産生されない。

## 2－(4) ベクターに関する資料

実際に導入に使用した導入用プラスミドを記載すること。  
(適宜必要であれば、導入用プラスミドの基になったベクターについても記載すること。)

## 2－(4)－ア 名称及び由来に関する資料

AAA の生産に用いた導入用プラスミド C は・・・・・・を基に作成した。

2 - (4) - イ 性質に関する資料

2 - (4) - イ - (ア) DNA の分子量を示す資料

5 C の分子量 (または塩基数) は〇〇bp である。

2 - (4) - イ - (イ) 制限酵素による切断地図に関する資料

C の制限酵素による切断地図は、図〇に示した通りである。

10



15

図〇 導入用プラスミド C の制限酵素切断地図 (プラスミドマップ)

2 - (4) - イ - (ウ) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する資料

20

2 - (5) - ウ - (ウ) により、C には既知の有害なたん白質を産生する塩基配列は含まれていない。

2 - (4) - ウ 薬剤耐性に関する資料

C には、〇〇耐性を付与する〇〇遺伝子が組み込まれている。〇〇遺伝子は〇〇由

来であり、この遺伝子によって〇〇耐性が付与される。この耐性遺伝子は選抜マーカーとして用いられている。

なお、〇〇遺伝子は C を作成する際に除去されるため、生産菌株に含まれることはない。

5

## 2 - (4) - エ 伝達性に関する資料

C には、伝達を可能とする塩基配列は含まれていない。

## 2 - (4) - オ 宿主依存性に関する資料

10

C は、〇〇（微生物名）以外の他の微生物又は家畜等では複製されない。

## 2 - (4) - カ 発現ベクターの作成方法に関する資料

C は、〇〇法によって構築した。まず、・・・(作成方法の説明)・・・。

各遺伝子の挿入方法は 2 - (5) - イ - (ア) (〇ページ) に記載した。

15

## 2 - (4) - キ 発現ベクターの宿主への挿入方法及び位置に関する資料

C は、・・・の方法により宿主へ挿入した。まず・・・(挿入方法の説明)・・・。

挿入位置は・・・解析により、明らかにした。その結果、◇◇株（生産菌株名）

には、〇コピーの発現カセットが挿入されており、その位置は〇〇である。その

20

他、・・・(欠失の説明など)・・・が生じていた。解析の結果は表（または図）

〇に示すとおりである。

## 2 - (5) 挿入遺伝子及びその遺伝子産物に関する資料

2 – (5) – ア 供与体の名称, 由来及び分類に関する資料

AAA を発現する〇〇遺伝子の供与体は〇〇で、・・・・・・の性質や機能をもつ。  
 その他の挿入遺伝子の名称、供与体の由来及び性質・機能等は表〇に示したとおりである。

5

欠失に用いたプラスミドの DNA 断片が挿入された場合もこの表に記載すること。

表〇 挿入遺伝子一覧

挿入 DNA 断片	供与体の由来	サイズ (bp)	性質・機能

2 – (5) – イ 遺伝子の挿入方法に関する資料

2 – (5) – イ – (ア) ベクターへの挿入遺伝子の組込方法に関する資料

10

・・・・・・によって、挿入遺伝子をベクターへ組み込んだ。  
 まず、・・・・・・ (挿入遺伝子の組込方法)・・・・・・。

2 – (5) – イ – (イ) 挿入遺伝子の宿主への導入方法に関する資料

15

・・・・・・によって作成した導入用プラスミド C を用いて宿主へ挿入遺伝子を導入した。  
 ・・・・・・によって◇◇株 (生産菌株名) を選抜した。

2 - (5) - ウ 構造に関する資料

2 - (5) - ウー (ア) プロモーターに関する資料

○○由来の○○プロモーターを用いた。これらの性質は○○である。

5 2 - (5) - ウー (イ) ターミネーターに関する資料

○○由来の○○ターミネーターを用いた。これらの性質は○○である

2 - (5) - ウー (ウ) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する資料

10

宿主の挿入される遺伝子の全塩基配列は明らかとなっており、既知の有害塩基配列を含まないことを確認している。

2 - (5) - エ 性質に関する資料

2 - (5) - エー (ア) 挿入 DNA の機能に関する資料

15

○○ (挿入 DNA) によって AAA が産生される。家畜や家禽に対して有害性を持つことはなく、機能は明らかになっている。

2 - (5) - エー (イ) DNA の分子量を示す資料

○○ (挿入 DNA) の分子量 (または塩基数) は○○bp である。

20

2 - (5) - エー (ウ) 制限酵素による切断地図に関する資料

制限酵素による切断地図は図○に示したとおりである。

2 - (5) - オ 純度に関する資料

各挿入遺伝子の塩基配列、分子量及び由来は明らかとなっており、○○(挿入 DNA)は・・・によって精製され、目的外の遺伝子の混入はない。

## 2－(5)－カ 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する資料

5 ◇◇株(生産菌株名)には抗生物質耐性マーカー遺伝子が含まれていないことを確認している。

## 2－(5)－キ 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資料

10 導入遺伝子とその近傍配列について、ORF 検索を行った。・・・(方法や結果、考察を記載)・・・。

ORF 解析の方法と結果、考察を記載してください。

## 2－(6) 組換え体に関する資料

### 15 2－(6)－ア 組換え DNA 操作により新たに獲得された性質に関する資料

組換え DNA 操作により、◇◇株(生産菌株名)に aaa の産生能やその他○○の機能を付与したが、病原性や毒素産生能を付与するものではない。

## 2－(6)－イ 宿主との差異に関する資料

20 ◇◇株(生産菌株名)は宿主の☆☆株と比較して、・・・以外に差異はなく、安全性に問題はない。

## 2－(6)－ウ 外界における生存性及び増殖性に関する資料

◇◇株（生産菌株名）が属する○○は・・・・以外に相違はなく、宿主と生産菌との間で生存性及び増殖性に相違はない。

## 2－（6）－エ 生存及び増殖能力の制限に関する資料

5 「2－（6）－ウ 外界における生存性及び増殖性に関する資料」に記載したとおり。

## 2－（6）－オ 不活化法に関する資料

◇◇株（生産菌株名）は、・・・・の方法で不活化される。この方法は非遺伝子組換えの生産菌の不活化法と同様である。

10

## 3. 組換え体以外の製造原料及び製造器材に関する資料

### 3－（1）飼料又は飼料添加物の製造原料としての使用実績及び安全性に関する資料

AAA の製造用原体及び製剤の製造には、長年の安全な使用実績がある原料を使用され、いずれも食品にも使用される品質のものである。

15

### 3－（2）飼料又は飼料添加物の製造器材としての使用実績及び安全性に関する資料

AAA は、飼料添加物の製造で長年の使用実績がある製造器材を用いて製造している。製造工程は、・・・・の認可を受けている。

20

## 4. 生産物に関する資料

### 4－（1）組換え体の混入を否定する資料

◇◇株（生産菌株名）から分泌された AAA は、組換え DNA が混入していないものを製造用原体としている。



AAA の製造原体中に組換え体由来の DNA が残存しないことを〇〇法により確認した。・・・(方法や結果、考察などを記載)・・・。

以上から、◇◇株に組換え DNA が混入していないことが確認された。

組換え体の混入の確認方法、結果及び考察を記載してください。

5

#### 4 – (2) 製造に由来する不純物の安全性に関する資料

AAA の製造用原体や製剤について重金属 (カドミウム、鉛、ヒ素及び水銀)、サルモネラ、カビ毒 (アフラトキシン B1) 及びダイオキシン類を分析した結果を表〇に示した。いずれの項目やロットにおいても飼料添加物の成分規格等取載書の基準値を満たし、安全性には問題ない。

10

表〇 有害物質分析結果

有害物質名	測定結果			規格や既存の分析値
	ロット①	ロット②	ロット③	
鉛	・・・	・・・	・・・	・・・
カドミウム	・・・	・・・	・・・	・・・
ヒ素	・・・	・・・	・・・	・・・
水銀	・・・	・・・	・・・	・・・
・・・	・・・	・・・	・・・	・・・
・・・	・・・	・・・	・・・	・・・

#### 4 – (3) 精製方法及びその効果に関する資料

AAA の精製方法は、・・・・・・・・・・・・・・・・・・。

15

このような精製方法の効果を評価するため、AAA の純度を〇〇法により確認した。・・・・・・(方法や結果、考察などを記載)・・・・・・。

SDS-PAGE の結果などを用いて、申請品の純度について記載してください。

5 4－(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資料

AAA の製造用原体、製剤の成分組成について分析を実施して確認している。結果を表〇に示した。また、常成分の変動範囲も従来の飼料添加物と同等であるものと考えられる。なお、これまでも有害性が示唆される常成分の変動の報告はない。

10 4－(5) 組換え体によって製造された生産物の外国における認可及び使用等の状況に関する資料

AAA は、表〇に示したとおり、〇〇年〇〇月現在、〇〇か国で承認されている。

15 5. 2 から 4 までにより安全性に知見が得られていない場合は次のうち必要な試験の成績に関する事項

該当なし。

参考文献

(公開の論文等の引用資料)

- 20 1.  
2.  
3.

## 添付資料

(社外秘の資料 (解析結果等) )

- 1.
- 2.
- 5 3.