

第二種使用等（鉱工業等）申請書 の記載方法について

2021年1月22日

独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）
バイオテクノロジーセンター 生物多様性支援課

- 第二種使用等の大臣確認申請の手続の流れ
- 申請書作成時の記載方法と注意点など
- その他（参考情報）

○詳細については、「カルタヘナ法の解説（申請マニュアル）」※でご確認ください。
法令の概要やその解釈、申請書の記載要領・記入例、申請フロー、Q&A等を申請者向けにまとめたものとなっています。
※経済産業省のWEBサイトから入手できます。
https://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/mono/bio/cartagena/anzen-shinsa2.html

第二種使用等の大臣確認申請手続きの流れ

まずは大臣確認申請が必要か判断を！

カルタヘナ法の解説（申請マニュアル）最新版*の入手
経済産業省および厚生労働省のG I L S Pリスト（最新版）**の入手
宿主に即した申請書様式の入手

- 1 : 宿主およびそのベクターが共にG I L S Pリストに記載 : ○ or ×
2 : 挿入DNA（由来生物限定）がG I L S Pリストに記載 : ○ or ×

1つでも×

1, 2共に○

大臣確認申請は不要

申請マニュアルに沿って申請書を作成

必要があればN I T Eに相談（事前相談）

N I T Eに申請書案を提出
（審査を円滑に行うためにNITEから修正を依頼する場合があります）

ただし、厚労省と経産省のリストを掛け合わせて使用することはできません。

* カルタヘナ法の解説（第四版）（申請マニュアル）

https://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/mono/bio/cartagena/manual.pdf

** GILSPリスト

https://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/mono/bio/cartagena/detailed_info/gilsp-list.html

第二種使用等の大臣確認申請の種類

遺伝子組換え生物等の第二種使用等において、法第13条の規定による経済産業大臣への拡散防止措置の確認では、次のいずれかの制度に基づく大臣確認申請が可能です。

➤ 個別申請

遺伝子組換え生物（宿主、ベクター、供与核酸）毎に個別の名称を記載した申請（**個別申請**）に対して拡散防止措置の確認を行う。

※同時に複数の申請を行う場合、必要となる図表（例えば作業区域等）を共通の資料として添付することとした申請も可能となっています。

合併申請：使用区分が同じであれば、共通の図表や別添を使用する申請書を複数提出する際に、共通の資料を一部にまとめて提出することが可能。

一括申請：アミノ酸変異など挿入DNAのみが異なる申請書を複数提出する際に、1つの申請書としてまとめて提出することが可能。

（供与核酸に係る情報を1つの申請書にまとめて記載）

➤ 包括申請

一定の範囲の遺伝子組換え微生物の包括的な申請（**包括申請**）に対して拡散防止措置の確認を行う。

包括確認を受けた宿主・ベクターおよび拡散防止措置の範囲の中であれば、経済産業省大臣官房商務・サービス審議官通知（20201125商局第2号）※により定める供与核酸を導入した遺伝子組換え生物等を、事業者の判断により鉱工業利用を目的とした使用等ができるものとなります。

※包括確認申請手続による拡散防止措置の確認について（通知）（令和3年1月22日）

https://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/mono/bio/cartagena/houkatsu_tsuti2.pdf

個別申請と包括申請の違い

個別申請

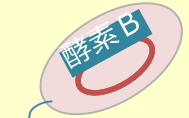
宿主・ベクター・使用する施設が同じでも、挿入遺伝子の種類ごとに申請が必要

遺伝子組換え生物

施設

個別に申請

経済産業大臣



包括申請

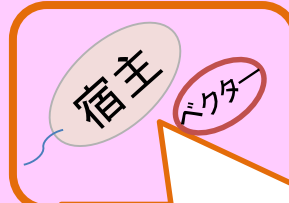
あらかじめ宿主・ベクター・使用する施設について大臣確認を受けていれば、挿入遺伝子は事前の申請不要

遺伝子組換え生物

施設

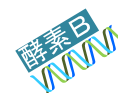
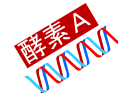
包括申請

経済産業大臣



※挿入遺伝子は、

- ・備考17aに定めるGILSPの基準を満たすと安全委員会が予め判定したもののみを使用すること。
- ・申請事業者の自主管理の下で使用可



…etc.

包括確認申請手続の申請者要件

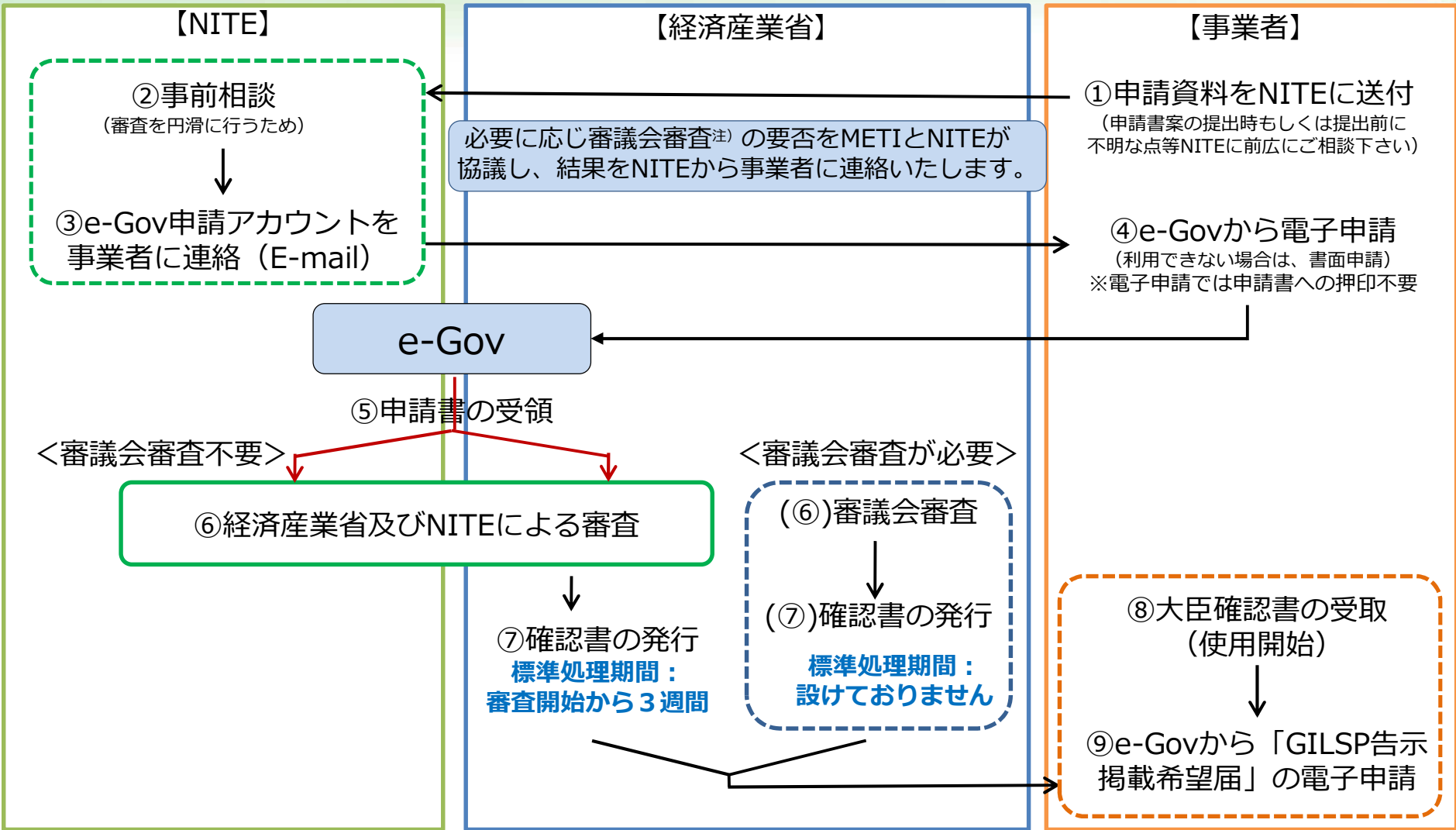
(1) 包括申請ができる事業者

申請の日以前**3件以上**（他省庁所管分野を含む）個別に第二種使用等の大臣確認を受け、適切に使用した実績を有する者又は包括確認を受けた者であること。

(2) 安全管理体制の整備の義務化

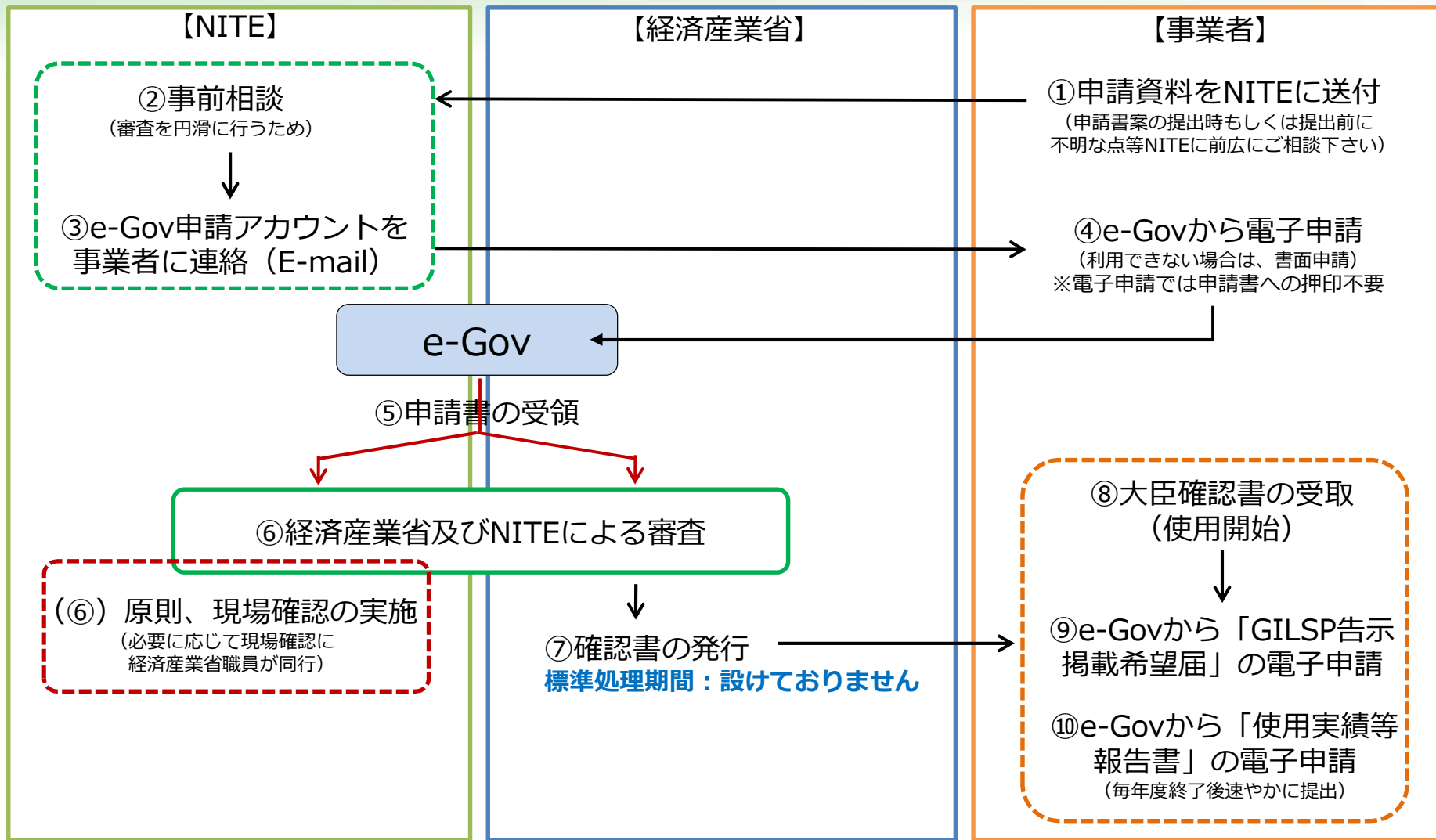
安全委員会において、遺伝子組換え微生物の取扱い業務その他これに類する業務に**3年以上**従事した経験を有する者を**2名以上配置**（外部有識者も含めることが可能）

【個別申請】大臣確認申請の手続きの流れ（詳細フロー）



注) 審議会審査は、カテゴリー1の場合、宿主及びベクター並びに拡散防止措置が「過去に大臣確認された申請と同一で挿入DNAのみが異なる場合」を除き対象となります。GILSP微生物の場合は、原則として審議会審査の対象となりません。遺伝子組換え動物の場合「遺伝子組換えカイコで病原性がない場合」又は「宿主及びベクター並びに拡散防止措置が過去に大臣確認された申請と同一で挿入DNAのみが異なる場合」を除き、原則審議会審査の対象となります。この他、経済産業省とNITEの協議の上で必要性を判断しています。

【包括申請】大臣確認申請の手続きの流れ（詳細フロー）



※審査前の書類確認に係る期間短縮のため、書類提出の際は、チェックリストをご確認いただき記入漏れや誤字脱字などがありませんようお願いいたします。（経産省チェックリストは下記URL参照）

https://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/mono/bio/cartagena/checklist_2_attach.pdf

- 第二種使用等の大臣確認申請の手続の流れ
- 申請書作成時の記載方法と注意点など
- その他（参考情報）

- 記載例の内容については、**個別申請**による例示となります。
- 以降の記載のうち、青色の吹き出しは各申請で共通する解説、橙色の吹き出しは包括申請についての解説、緑色の吹き出しはカイコ申請における解説となります。

各申請共通

包括申請

カイコ申請

申請書作成時の記載方法と注意点

本文・表紙

第二種使用等申請書（様式第一）での申請書案の記載例とその注意事項

様式第一（第7条関係）

第二種使用等拡散防止措置確認申請書

平成××年××月××日

経済産業大臣 殿

「主務大臣」を変更

申請者

氏名 株式会社○○○○○○○
代表取締役社長 □□ □□
住所 △△△△△△△△△

印

- ・事前相談時は不要
- ・電子申請を利用する場合、申請書への押印は不要

遺伝子組換え生物等（遺伝子組換え微生物）の第二種使用等をする間に執る拡散防止措置の確認を受けたいので、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第13条第1項の規定により、次のとおり申請します。

- ・各様式の『～次のとおり申請します。』までを、表紙として使用（改ページする）。

本文・様式（名称・使用場所・概要）

遺伝子組換え生物等の種類の名称		<i>Bacillus subtilis</i> 由来のリパーゼ産生用lipA遺伝子を移入した遺伝子組換え <i>Escherichia coli</i> JM109 (pKK223-3/lipA)
使用等をしようとする場所	名称	工場名、事業所名を記入 株式会社〇〇〇〇 △△工場
	所在地	工場、事業所の所在地を記入 〇〇県〇〇市〇〇町〇番地
第二種使用等の目的及び概要		<p>I. 第二種使用等の目的</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 当該遺伝子組換え微生物は、産業用酵素の生産工程中で使用され、培養し発現させた酵素を取り出して生産する目的で使用する。 2. 遺伝子組換え生物等の概要として、<i>Bacillus subtilis</i> 168株由来のリパーゼ遺伝子をpKK223-3のプロモーターの下流に挿入する。これを宿主<i>Escherichia coli</i> JM109株に導入して遺伝子組換え微生物<i>Escherichia coli</i> JM109 (pKK223-3/lipA)を作成する。これを培養することによりリパーゼを菌体内に大量発現させる。 <p>II. 第二種使用等の概要</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 製品（リパーゼ）の種類は、工業用酵素であり、その利用形態は主に油脂を原料とした脂肪酸の生産に用いられる。 2. 製品の利用形態は、最終的には研究用試薬用原料に使用。反応工程終了後は、遺伝子組換え微生物は死滅。 3. 生産規模 容量1m³のタンクを用いた培養を行い、1回の生産あたり100kgの菌体から約1gのリパーゼを得る。一年間におよそ12回の生産を行う。年間に生産されるリパーゼの量はおよそ12gである。

• 遺伝子組換え生物等の特性等の情報を含めた名称とする。

• 名称の最後に括弧付で**包括申請である旨**を記載（例：（包括））する。

• 生産物の使用用途
• 遺伝子組換え体の概要
• 菌体内発現 or 分泌発現 or 生体触媒
• 生産規模
• 不活化方法
• 年間の使用予定回数や生産予定量などの概要を記載。

• 包括申請の場合は、作成の手法などの記載が難しい場合は、必要に応じて省略できる。

本文・様式（宿主関係）

遺伝子組換え生物等の特性	宿主又は宿主の属する分類学上種	<p>分類学上の位置及び自然環境における分布状況</p> <ul style="list-style-type: none"> 学名：<i>Escherichia coli</i> JM109株 〇〇株式会社より市販されている株を購入して用いる。 <i>Escherichia coli</i> K12及びその由来株として、経済産業大臣が定めるG I L S P 遺伝子組換え微生物（経済産業省告示〇〇号）に掲載されている。
	使用の歴史及び現状	<ul style="list-style-type: none"> 同上。 <p><GILSPリストに掲載されていない宿主の場合の記載例></p> <ul style="list-style-type: none"> 〇〇〇株は弊社において組換え微生物による工業用酵素生産用宿主としておおむね10年以上の継続的利用実績がある。（大臣確認番号〇〇〇）。また、弊社実験室では研究用として更に20年以上の使用履歴がある。
	繁殖又は増殖の様式	<ul style="list-style-type: none"> 同上。 <p><GILSPリストに掲載されていない宿主の場合の記載例></p> <ul style="list-style-type: none"> 遺伝子型は以下の通りである。 recA1, endA1, . . . 増殖温度域は約10～50℃であり、至適温度域に . . .
	病原性	<ul style="list-style-type: none"> 同上。 <p><GILSPリストに掲載されていない宿主の場合の記載例></p> <ul style="list-style-type: none"> 日本細菌学会が公開する「病原細菌のバイオセーフティレベル」によると、<i>Escherichia coli</i> B及びその由来株はレ

・使用する可能性のある株名を複数列記することが可能。

※なお、包括申請では病原性がないことや長期の利用実績から安全性が高いと判断される大腸菌B株及びK12株については「由来株」として記載可能。
※宿主がGILSP告示註釈3に該当する微生物であれば、株レベルの特定をせず記載できる。

・自社での宿主の使用歴(研究開発での使用も可)を記載(自社の使用歴がなければ一般的な事例を参考として記載してもよい)
・GILSP告示に掲載される宿主の場合、以降の欄は「同上」として説明の省略が可能。

・様式第二（第7条関係）「遺伝子組換え動物」による申請で、宿主がカイコの場合は、目的の遺伝子組換えカイコを作出するに当たって使用した、全ての系統（日本種、中国種、欧州種等）及び品種を記載する。また、同一の宿主に係る過去の大臣確認の有無についても合わせて記載する。

本文・様式（供与核酸）

遺伝子組換え生物等の特性	供与核酸	構成及び構成要素の由来	<ul style="list-style-type: none"> ・ <i>Bacillus subtilis</i>由来のリパーゼ遺伝子(lipA)は639塩基であり、212残基、分子量23,000のリパーゼをコードする。 ・ 図1に供与核酸の塩基配列、それにコードされるアミノ酸配列を図示する。 ・ lipA遺伝子はPCR法によって<i>Bacillus subtilis</i>染色体よりクローニングされた。開始コドンの上流に9塩基からなるリボソーム結合配列(rrb)が付加されている。ベクターの制限酵素部位に挿入させるために5'末端側と3'側にそれぞれ3塩基ずつの配列が付加されている。供与核酸についてORF検索を行ったところ、目的遺伝子であるlipA以外のORFと相同性を示す全てのタンパク質に毒性若しくは病原性を示すものは認められなかった。その結果を図2（確認日：○年○月○日）に示す。 ・ <i>Bacillus subtilis</i>は、独立行政法人製品評価技術基盤機構 微生物有害情報リスト及び、日本細菌学会が公開する「病原細菌のバイオセーフティレベル」によると、レベル1（個体及び地域社会に対する低危険度）に分類される。
		構成要素の機能	<ul style="list-style-type: none"> ・ トリアシルグリセロール（脂質）を加水分解して、グリセリンと脂肪酸を生成する反応を触媒する。 ・ EC番号は3.1.1.3である。 ・ この機能を利用して、脂質を原材料として脂肪酸を生産するための工業用酵素として用いる。概要を別紙○に示す。

- ・ 包括申請は審議官通知に記載されている**内容**を引用する。
- ・ 供与核酸及び遺伝子組換え微生物に関する情報及び安全委員会での審議記録等を保管すること。

※包括申請での記載例
「包括確認申請手続による拡散防止措置の確認について（通知）（20201125商局第2号）」第1に記載される「備考17aに定めるGILSPの基準」（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）を満たすと安全委員会が予め判定した供与核酸のみとする。

<「構成及び構成要素の由来」欄>

- ・ 導入する遺伝子の説明を記載（名称、塩基数、由来生物、由来生物の病原性、遺伝子等の病原性・毒性、ORF検索結果など）
- ・ アミノ酸配列の改変を行った場合は、変異部位とその目的を記載。

<「構成要素の機能」欄>

- ・ 導入する遺伝子の機能（反応式等）を記載。
- ・ 酵素番号を記載。

本文・様式 (ベクター)

ベクター	名称及び由来	<ul style="list-style-type: none"> 名称：pKK223-3 pKK223-3はpBR322に由来する大腸菌の発現用ベクターである。(参考文献；Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1984) 81, 6929-) 宿主用のベクターとして、最新のGILSPリストに記載されている。
	特性	<ul style="list-style-type: none"> 同上。 <p><GILSPリストに掲載されていないベクターの場合の記載例></p> <ul style="list-style-type: none"> ○○○は4586塩基からなり、tacプロモーターの下流にマルチクロニングサイトが存在し、その下流にはrrnBターミネーターが存在する。また、マーカー遺伝子としてアンピシリン耐性遺伝子を有し、その他pBR322のoriを有する。 ○○○に存在する主要な制限酵素部位及び遺伝子の構成図を図○に示す。 動植物に対する伝染性、病原性、及び他の微生物への伝達性は知られていない。

- 使用するベクター**全**ての名称を列記すると共に、詳細情報を記載する。
- GILSP微生物リストに掲載されている場合には、代表するベクター以外は説明を省略できる。
- **市販されているベクター等**については、製品のカタログや取扱説明書等を別紙として添付する説明を省略できる。

• **宿主がカイコの場合**は、同一のベクターに係る過去の大臣確認の有無についても合わせて記載する。

- ベクターの名称及び元となったベクターの名称、由来、特性などを記載。
- GILSP告示に掲載のベクターの場合、「**同上**」として説明の省略が可能。

本文・様式（遺伝子組換え微生物）

<p>遺伝子組換え微生物</p>	<p>調製方法</p>	<ul style="list-style-type: none"> 挿入遺伝子のクローニングと構築方法のフロー図及び最終構築図は別添図○のとおりである。 形質転換は塩化カルシウム法によって行い、アンピシリンを含む培地を用いた培養を行うことによって形質転換体の選択を行った。
	<p>細胞内に移入した核酸の存在状態及び発現の安定性</p>	<ul style="list-style-type: none"> 細胞内に移入した核酸は大腸菌の細胞質内に存在する。 継代を繰り返した組換え大腸菌内のプラスミドの存在量及びリパーゼ発現量を測定したところ、継代による減少は認められなかった。したがって細胞内に移入した核酸の脱落はなく、安定的に存在していると考えられる。
	<p>宿主又は宿主の属する生物種との相違</p>	<ul style="list-style-type: none"> <i>Escherichia coli</i> JM109 (pKK223-3/lipA) は宿主 <i>Escherichia coli</i> JM109株に新たに <i>Bacillus subtilis</i> リパーゼを生産する能力とアンピシリンに対する耐性が付与された以外の性質は同一である。 ・宿主 <i>Escherichia coli</i> JM109株に病原性はなく、挿入遺伝子である <i>Bacillus subtilis</i> リパーゼにも有害性はない。したがって遺伝子組換え微生物遺伝子組換え微生物 <i>Escherichia coli</i> JM109 (pKK223-3/lipA) は新たに病原性を持つものではなく、宿主 <i>Escherichia coli</i> JM109株と同等の安全性を有する。

• 構築する遺伝子組換え微生物の代表例を示し、各項目については、実際に使用する**可能性のある手法を全て列記**して記載する。

• 使用する全ての宿主・ベクターにおいて、想定される核酸の存在状態について記載する。
 • 安全性については、**使用前に社内の安全委員会で確認**することを記載する。

• 供与核酸の存在状態として、「細胞質（プラスミドとして）」or「染色体上」等を記載する。

• 使用する全ての宿主・ベクターにおいて、想定される分類学上の相違について**推定し記載**する。

• **宿主がカイコの場合**、遺伝子組換えカイコを非休眠の実験室系統などを用いて作出してから、生産能力の向上等のために実用品種との戻し交雑を行う場合は、その方法等も合わせて記入する。また、遺伝子組換えカイコの選抜方法、作出された系統の維持方法を記載する。

• 目的遺伝子の挿入に用いたトランスポゼース遺伝子（ヘルパーベクターなど）が、遺伝子組換えカイコの体内に残存していないことをPCR等により確認する。

本文・様式（拡散防止措置）

拡散防止措置	使用区分		<ul style="list-style-type: none"> 以上の判断により、本申請で使用する遺伝子組換え微生物 <i>Escherichia coli</i> JM109 (pKK223-3/lipA) の拡散防止措置の区分はG I L S Pであると判断した。
	作業区域の位置		<ul style="list-style-type: none"> 図〇を参照のこと
	設備	配置	<ul style="list-style-type: none"> 各設備等の配置は、図〇のとおり。 本申請で使用する遺伝子組換え微生物と非組換え体の識別をするための分析機器としてPCR装置、アガロースゲル電気泳動装置、DNAシーケンサーを作業区域内に備えている。設置場所及びその設備等は図6のとおり。 本申請で使用する遺伝子組換え大腸菌 (<i>Escherichia coli</i> JM109 (pKK223-3/lipA)) のグリセロールストックは、図6のとおり、ディープフリーザーの限定されたスペースに保管されており、非組換え体及び他の遺伝子組換え大腸菌とは隔離している。
		構造	<ul style="list-style-type: none"> 図〇を参照のこと。

- 包括申請の場合、使用区分がGILSP区分のみが対象となる。
- 供与核酸及び遺伝子組換え微生物に関する情報及び安全委員会での審議記録等を保管すること。(再掲)

- 社内で判断した区分を記載（社内の安全委員会等で議論して決定する）。

- 使用する可能性のある設備と生産工程を複数併記することが可能。
- 遺伝子組換え微生物の不活化方法については、条件が複数ある場合は例示すると共に、実際の**不活化条件に関する科学的根拠（エビデンス）を残す**こと。

- **宿主がカイコの場合**は、研究開発二省令の別表第四の上欄に掲げる区分に対応した拡散防止措置を実施する旨を記載すること。
 - 作業者の入退室経路、遺伝子組換え動物の搬入・搬出経路の動線を矢印などで書き込んだ図を添付するとともに、使用する設備の形状、設置状況、表示状況の確認が可能な写真や資料を添付することが望ましい。
- ※なお、様式第二には「生産工程」の欄がないが、別紙として生産フロー等を添付し、同一の拡散防止措置に係る過去の大臣確認の有無についても合わせて記載すること。

本文・様式（その他）

その他

- 拡散防止措置は、○年○月○日、確認番号○○○で確認済みのものと同一である。
- 弊社では事業所ごとに遺伝子組換え微生物を含む微生物の使用に関する業務安全委員会を組織し、生産に関わる業務を管理している。業務安全委員会委員の氏名、役職、専門分野と従事経験の有無は図10のとおり。
- 事故時の緊急時における対処方法を示す（別紙○のとおり）。
- 責任者氏名及び連絡先：○○ ○○（電話番号・E-mail）
担当者氏名及び連絡先：○○ ○○（電話番号・E-mail）

- 拡散防止措置が確認済みのものと同一の場合、その確認番号等を記載。
- 貸しラボの場合はその旨を記載(使用等する場所に記載するのも可)。
※貸しラボの場合、契約期間、責任の所在のわかる賃貸契約書等を添付する。

- 遺伝子組換え生物等を譲渡する場合は、情報提供を行うことについて記載。
- 作業区域外での運搬がある場合はその方法を記載(フロー図等に記載するのも可)。
- 「責任者」は使用等を行う事業所の長等を指します。

- 合併申請の場合は、遺伝子組換え生物等の種類ごとに申請様式を作成し、「その他」欄の最後に「合併申請 No. 1」のように番号を付してください。また、下図のような別表の添付が必要となります。

※（参考）合併申請の場合のみ作成

申請する遺伝子組換え生物等の一覧（※申請書様式の最後に添付）

番号	遺伝子組換え生物等の種類の名称	宿主		ベクター (複数ある場合は列記)	供与核酸 (複数ある場合は列記)	
		種名	株名		挿入DNA	由来生物
1	<i>Bacillus subtilis</i> 由来のリパーゼ産生用 <i>lipA</i> 遺伝子を移入した遺伝子組換え <i>Escherichia coli</i> JM109 (pKK223-3/ <i>lipA</i>)	<i>Escherichia coli</i>	JM109	pKK223-3	リパーゼ遺伝子 (<i>lipA</i>)	<i>Bacillus subtilis</i> 168
2	○○○					

本文・様式（その他）

その他

- 拡散防止措置は、○年○月○日、確認番号○○○で確認済みのものと同一である。
- 弊社では、過去に○○件の遺伝子組換え生物等の産業利用を目的とした第二種使用申請の大臣確認を受けた実績がある。最新のものから3件は以下のとおり。
 - 年○月○日、確認番号○○○
 - 年○月○日、確認番号○○○
 - 年○月○日、確認番号○○○
- 本申請において遺伝子組換え微生物を産業利用する際には、「包括確認申請手続による拡散防止措置の確認について（通知）」（20201125商第2号）に従うものとする。
- 弊社では遺伝子組換え生物の使用に関して、安全かつ適正な実施を図ることを目的とする安全管理規程を定めている。また、弊社では同規定に基づき、事業所ごとに遺伝子組換え微生物を含む微生物の使用に関する業務安全委員会を組織し、生産に関わる業務を管理している。安全委員会委員の氏名、役職、専門分野と遺伝子組換え微生物の取扱い業務その他これに類する業務への従事経験年数を別添図○に示す。
- 責任者氏名及び連絡先：○○ ○○（電話番号・E-mail）
担当者氏名及び連絡先：○○ ○○（電話番号・E-mail）

- 申請者（法人の場合は法人単位）において**3件以上（他省庁所管分野を含む）個別に第二種使用等の大臣確認番号**、もしくは包括申請における大臣確認番号。
※大臣確認件数ではなく申請した遺伝子組換え生物等の種類の件数となる。
例）一括申請で3株の確認を受けていれば、3件の実績となる。
- **審議官通知に従う**旨の記載をする。

- 拡散防止措置が確認済みのものと同一の場合、その確認番号等を記載。
- 賃貸施設の場合はその旨を記載(使用等する場所に記載するの也可)。
※賃貸施設の場合、契約期間、責任の所在のわかる賃貸契約書等を添付する。
- 遺伝子組換え生物等を譲渡する場合は、情報提供を行うことについて記載。
- 作業区域外での運搬がある場合はその方法を記載(フロー図等に記載するの也可)。

本文・添付資料（塩基配列等）

図〇 塩基配列及びアミノ酸配列

```

0001 TCTAGACCAG CCAGGACAGA AATGCCTCGA CTTCGCTGCT ACCCAAGGTT ↵
      ↳ プロモーター ↵
0051 GCCGGGTGAC GCACACCGTG GAAACGGATG AAGGCACGAA CCCAGTGGAC ↵
0101 ATAAGCCTGT TCGGTTCTGA AGCTGTAATG CAAGTAGCGT ATGCGCTCAC ↵
      ↳                               ↵
0151 GCAACTGGTC CAGAACCTTG ACCGAACGCA GCGGTGGTAA CGGCGCAGTG ↵
      挿入 DNA (XXX) ↵
0201 GCGGTTITCA TGGCTTGTTA TGA CTGTTTT TTGGGGTAC AGTCTATGCC ↵
0251 TCGGGCATCC AAGCAGCAAG CGCGTTACGC CGTGGGTCGA TGTTTGATGT ↵
0301 TATGGAGCAG CAACGATGTT ACGCAGCAGG GCAGTCGCCC TAAACAAAG ↵
0351 ITAAACAITA TGAGGGAAGC GGTGATCGCC GAAGTATCGA CTCAACTATC ↵
0401 AGAGGTAGTI GCGTCATCG AGCGCCATCT CGAACCGACG TTGCTGGCCG ↵
0451 TACATTIGTA CGGCTCCGCA GTGGATGGCG GCCTGAAGCC ACACAGTGAT ↵
0501 ATTGATTITG TGGTTACGGT GACCGTAAGG CTIGATGAAA CAACGCGGCG ↵
  
```

※挿入遺伝子 (XXX) のアミノ酸配列 ↵

```

MRSRNWSRTLTERSGNGAVAVFMACYDCFFGVQSMPRASKQQARYAVGRCLMLWSSNDVTQQ
EVSTQLSEVVGVIERHLEPTLLAVHLYGSAVDGGLKPHSDIDLLVTVTVRLDETTRRALINDLL
VTIVVHDDIIPWRYPAKRELQFGEWQRNDILAGIFEPATIDIDLAILLTKAREHSVALVGPAAE
  
```

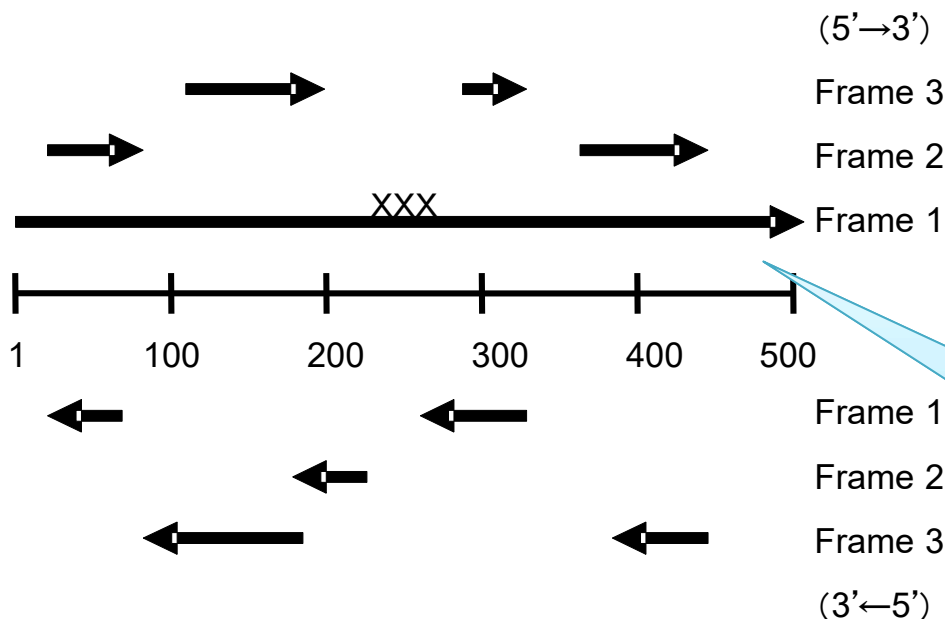
• 包括申請の場合、供与核酸及び遺伝子組換え微生物に関する情報及び安全委員会での審議記録等を保管すること。(再掲)

• 挿入DNAの塩基配列に加え、遺伝子のアミノ酸配列、プロモーター、ターミネーター等の位置を記載。

※自社開発したベクター等を用いる場合はベクターの塩基配列も記載する。

本文・添付資料（相同性検索）

図〇 xxx遺伝子におけるORF検索(例)



No.	Frame	Start	Stop	NA size	AA size	検索結果
1	1	1	501	501	167	*1
2	x	x	x	x	x	ヒットせず
3	y					
.						
.						

検索対象: 供与核酸全長内に存在する40AA以上のORFを対象とした。
 (なお、終止コドンが同一のものについては最も長いもののみを検索対象とした)
 検索方法: 上記条件にあてはまる全てのORFについて、NCBI blastpデフォルト設定条件にて検索を行った。
 検索結果:
 ・「ヒットせず」: 上記条件で相同性を示す蛋白質はなかった。
 ・「*1」: Top10に毒性への関与を疑われる蛋白質は認められなかった。

・**包括申請の場合**、供与核酸及び遺伝子組換え微生物に関する情報及び安全委員会での審議記録等を保管すること。(再掲)

・公開されている検索ツール等による検索結果図を引用して作成することも可能。
 ・この場合は、利用した検索ツール等の名称も併せて掲載すること。

・目的遺伝子のフレームが分かるように図示する。

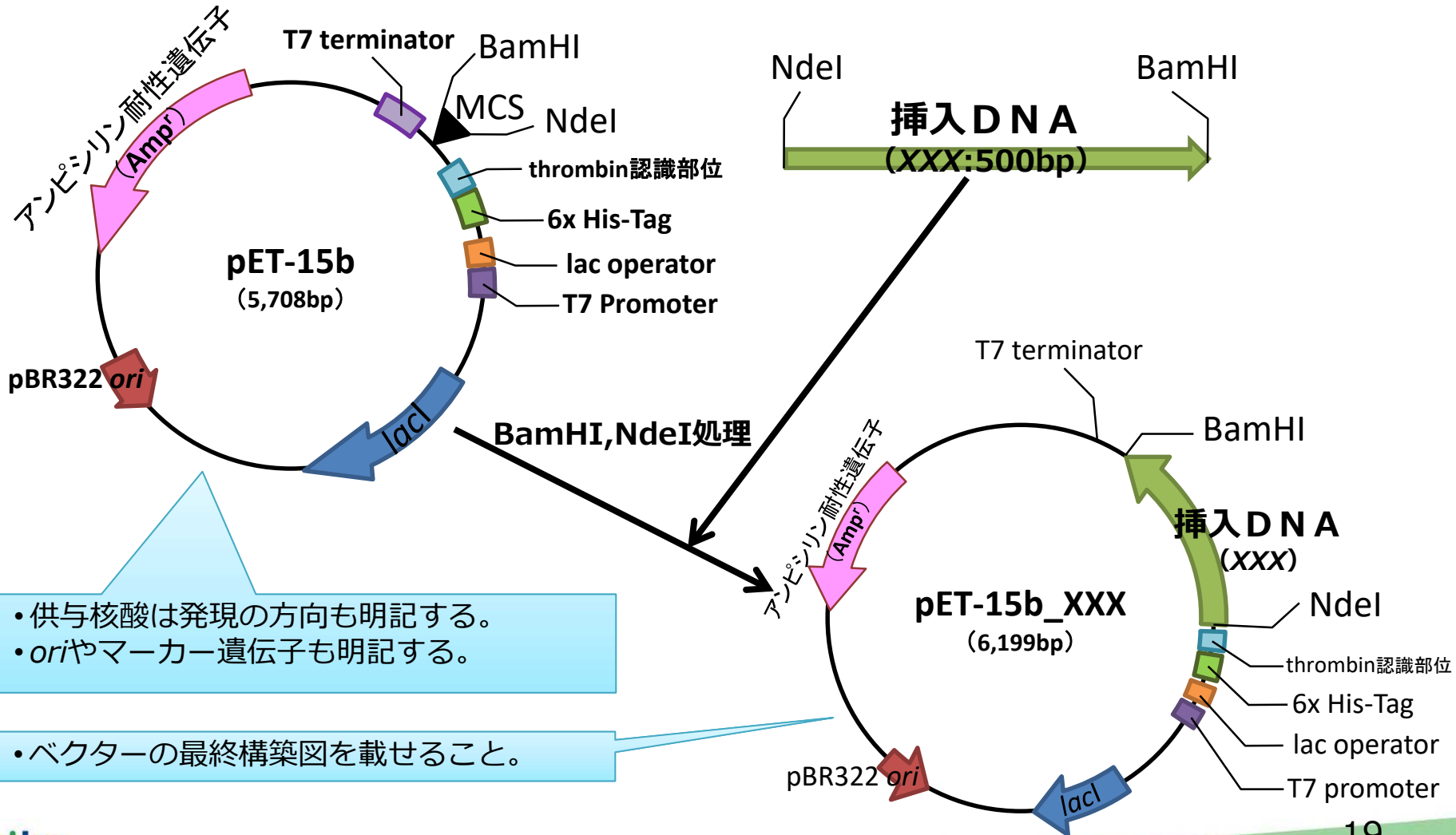
・毒性、病原性などに関する情報以外は詳細なデータは不要。(考察結果のみ記載)

※別途情報を求める場合があります。

本文・添付資料 (ベクター構築方法)

図〇 ベクター構築図

• 包括の場合は同系統のベクターが複数ある場合は代表例のみの記載でも良い

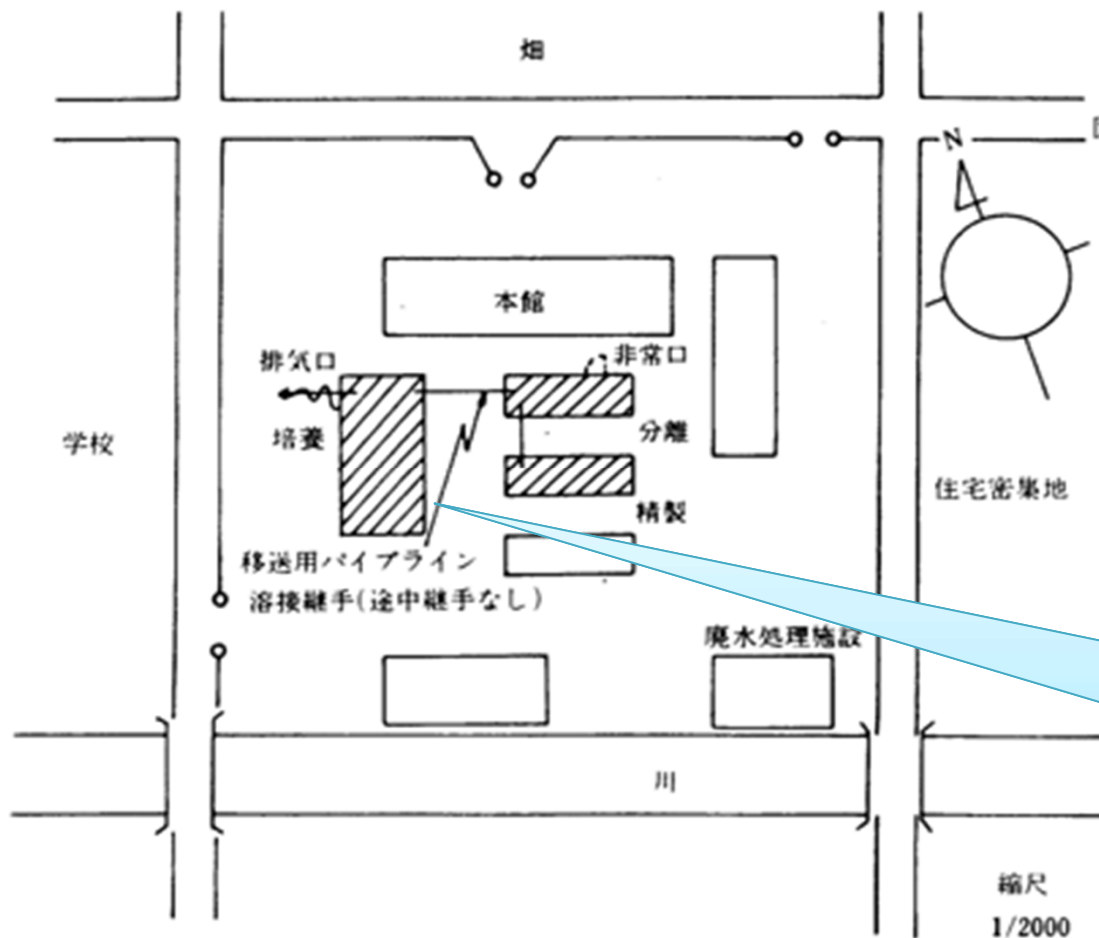


• 供与核酸は発現の方向も明記する。
• oriやマーカー遺伝子も明記する。

• ベクターの最終構築図を載せること。

本文・添付資料（作業区域の位置）

図〇 設備等の位置及び名称の平面図



• 生産に使用する可能性のある全ての設備・装置を記載する。

図示されている事が望ましい事項

- 周囲の状況
- 非常口の位置
- 作業区域からの排気口の位置

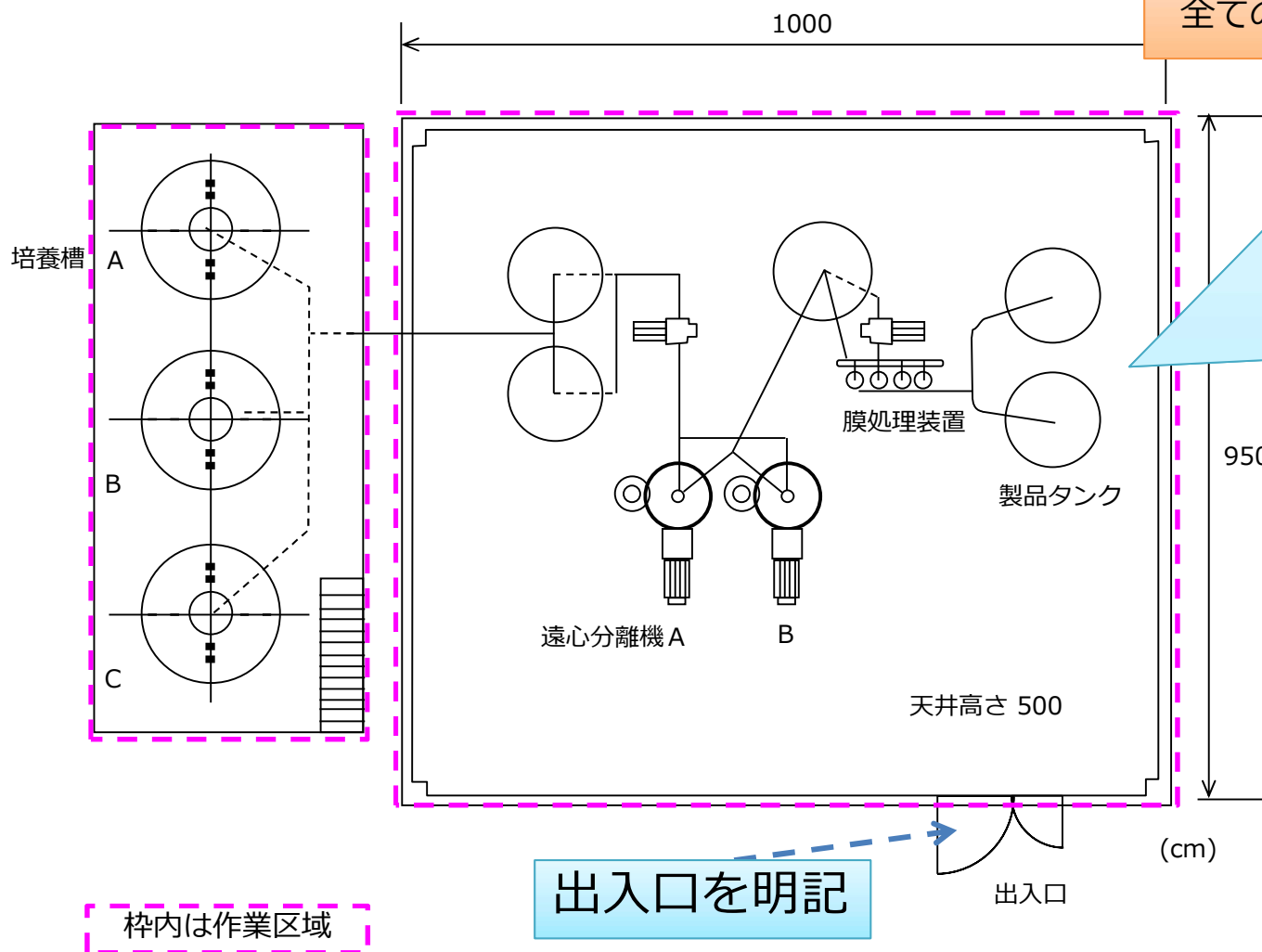
• 敷地周辺、敷地内の建築物を記載する。

※建物内での作業区域の位置などがわかる図面（地図）等も添付すると良い。

• 移送システムが作業区域外を通る際には、継手の有無等を記載する。
※継手がある場合は、万一の際の漏洩防止対策についても記載。

本文・添付資料（設備等の位置①）

図〇 設備等の位置及び名称の平面図



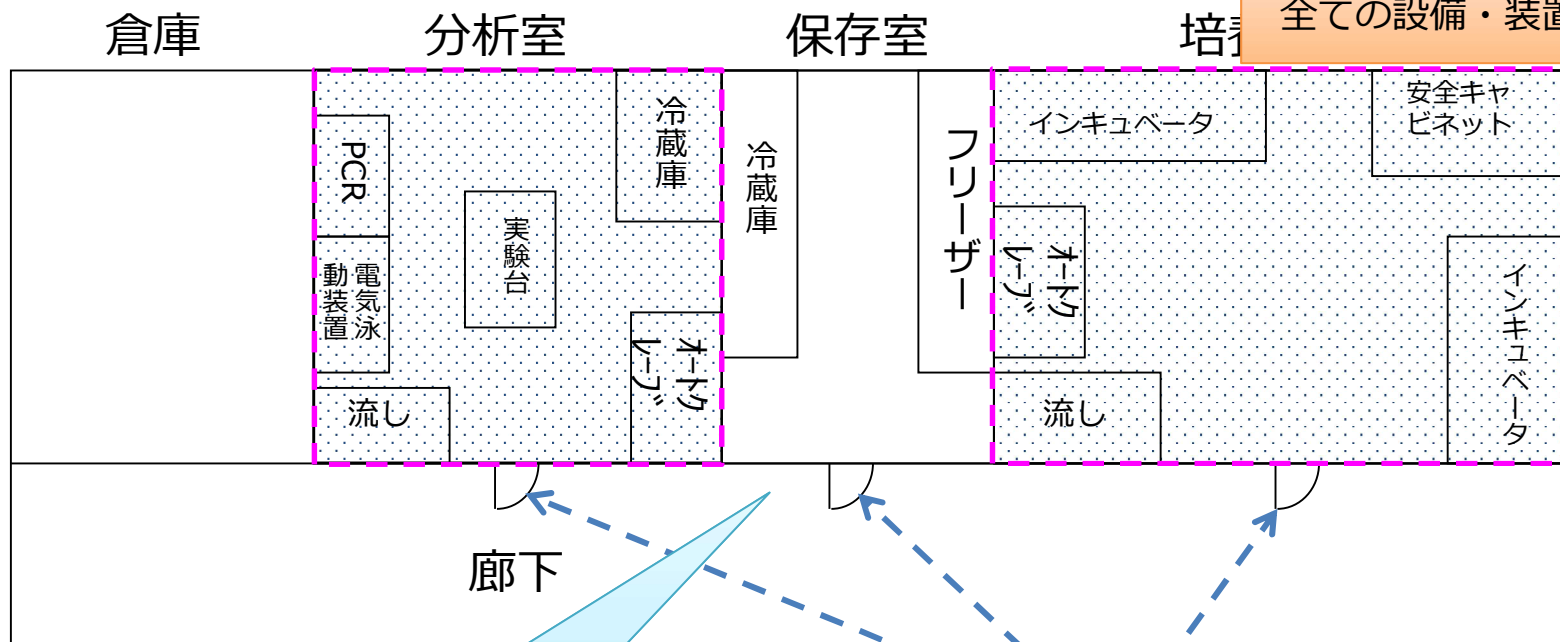
・生産に使用する可能性のある全ての設備・装置を記載する。

・培養・発酵装置、不活化装置など、生産に使用する設備を記載する。
・屋外設備などの場合は、防液堤や関係者以外の立入り禁止区域などについても記載する。

※作業区域がラボの場合も同様に記載する。
※作業区域を明記する。

本文・添付資料（設備等の位置②）

図〇 試験検査設備等配置図



・生産に使用する可能性のある全ての設備・装置を記載する。

・生物学的性状試験検査設備：PCR装置、電気泳動装置等
 ・保管設備：フリーザー等

※これらの設備は作業区域外でも良いが、作業区域内に含まれる場合は記載する。

出入口を明記すると共に、拡散防止措置の区分に合わせた表示の場所、逃亡防止策などについて記載する。
 （「カテゴリー1取扱い中」、「組換え動物等飼育中」など）
 ※カテゴリー1の場合は空調設備等についても記載する。

本文・添付資料（設備・装置の仕様書）

図○ 設備・装置の仕様書（GILSP）

1) 作業区域

非作業区域との区画状況		他とは明確に区別されている。	
びの作 設業 備造 区 及域	の 主 要 種 類 構 造	培養室	鉄筋コンクリート造りで十分に密閉されている。
		分離・精製室	

・生産に使用する可能性のある全ての設備・装置を記載する。

・種培養・前培養等からもサンプル生産する場合は、その工程も含め全てを記載すること。ただし、生菌を直接取り扱わない工程は適宜省いて良い。（原料作成工程など）

2) 生産に用いる設備・装置

	用途	管理番号	容量 (L, m ³)	形式	設置場所	密閉型又は開放型	洗浄方法 (薬剤等)	殺菌方法 (温度、時間)	備考
装置 発 酵 培 養	種菌槽	1		小型ジャーフェンター	培養室 1	密閉型	アルカリ洗浄 (0.5%)	蒸気殺菌	
	本培養槽	2		通気攪拌槽 静置発酵槽	培養室 2	密閉型	アルカリ洗浄 (0.5%)		
装置 分 離 精 製	分離・集菌・菌体破碎等	3		高速連続遠心分離器・蒸気滅菌型・フィルタープレス	分離・精製室	密閉型	アルカリ洗浄 (0.5%NaOH)	蒸気殺菌 (120℃ 30分)	
		4		コンテナ	培養室 1、 培養室 2	密閉型	アルカリ洗浄 (0.5%NaOH)	蒸気殺菌 (120℃ 30分)	移動して使用する
移送システム	バルブの種類	ダイヤフラム、ボールバルブ、チャッキバルブ、							
	継手の種類	ヘルールフランジ、ニップル、カプラ、エルボ、レジャーサ							
	ポンプ等のシール方法	グランドシール、メカニカルシール							
	配管の種類	SUS304、SUS316、PP、軟質PVC、シリコーン							

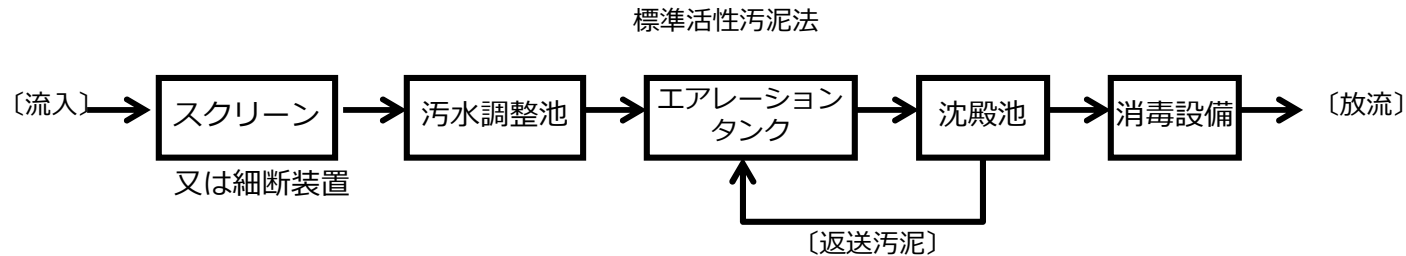
・設備の名称や管理番号が、設備の配置図や生産工程図と連動していると分かりやすい。

・遺伝子組換え生物の使用の開始から不活化までの全ての移送システムについて列挙して記載する。

本文・添付資料（排水処理系等）

図〇 排水系統図（G I L S P）

標準活性汚泥法のフローシート



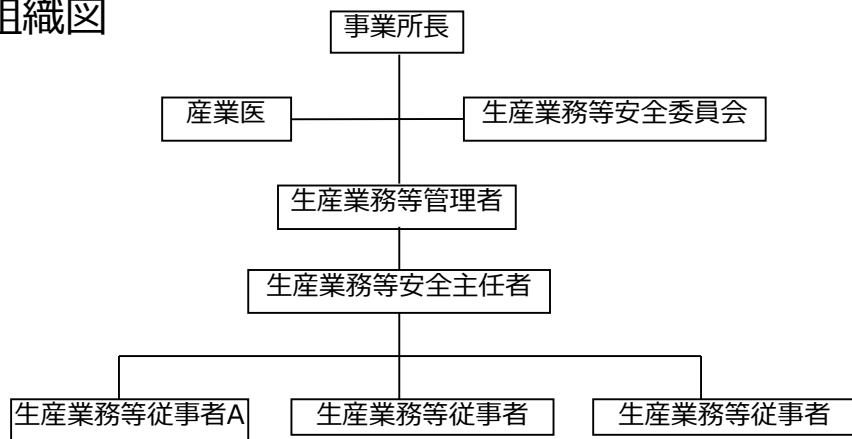
・ラボスケールなどの場合も記載する。

※一般排水処理や産業廃棄物処分業者への依頼なども記載。
(廃酸・廃アルカリなど)

本文・添付資料（安全管理体制）

図〇 安全管理体制

〇組織図



・遺伝子組換え微生物の取扱い業務その他これに類する業務に**3年以上**従事した経験を有する者を**2名以上**含めること。

※申請時点の構成委員の実務経験年数を記載
※外部人材の登用も可能

〇生産業務等安全委員会構成

担当	職名	氏名	専門分野	遺伝子組換え微生物取扱い経験者の実務経験年数（申請時点）
生産業務等安全委員会委員長	工場長	〇〇 〇〇	化学	
生産業務等管理者	副工場長	〇〇 〇〇	発酵	15年
生産業務等安全主任者	研究所長	〇〇 〇〇	微生物	3年
委員	研究員	〇〇 〇〇	動物	
委員		〇〇 〇〇	微生物	1年

・個別申請の場合は、「経験年数」ではなく「経験の有無」のみを記載する。

申請資料の作成（形式・NITEへの提出方法）

- A4サイズ
- 内容が判別できる図および表（カラーでの作成も可）
 - ※使用する設備が貸しラボの場合は契約期間・責任の所在（遺伝子組換え生物等の使用者に責任があること）のわかる賃貸契約書等の写しを添付して下さい。
 - ※申請内容に応じ、論文等の添付や、社内の安全管理規程、使用時の標準作業手順書（SOP）等を求める場合があります。
- 資料の提出は電子メールにより行う。
- 添付するファイルは1メールにつき10MBまで
- 電子データはMS Word、Excel、PowerPointまたはpdf形式（pdfファイルを推奨）
- ファイルにパスワードを付けることを推奨
- 送付先は「nite-cartagena@nite.go.jp」（「カルタヘナ法受付担当」宛て）

申請時の注意（形式・経産省への提出方法）

- e-Govから電子申請を利用して提出※
- 日本工業規格 A 4 サイズ（カラー可）
- 日付の記入（申請日）
- 電子申請の利用では、申請者の押印は不要

* e-Gov電子申請：<https://shinsei.e-gov.go.jp/>

* e-Gov電子申請の利用にあたっては、e-Govアカウント（GbizIDや他認証サービスはご利用いただけません）を作成し、専用のソフトウェアをダウンロード・インストールする必要がありますのでご注意ください。

* e-Gov電子申請の利用手順については、以下で紹介しています。
<https://www.nite.go.jp/data/000118849.pdf>

※電信申請が利用できない場合は、書面で郵送

- 正本 1 部と副本 1 部（コピー可）を提出
- 日本工業規格 A 4 サイズで印刷（カラー可）
- 日付のほか、申請者の押印が必要

- 第二種使用等の大臣確認申請の手続の流れ
- 申請書作成時の記載方法と注意点など
- その他（参考情報など）

(参考) 包括申請における使用実績等の報告について

使用実績等に係る報告（様式）での記載例（表紙）とその注意事項

様式

包括確認申請手続の利用に係る遺伝子組換え生物等の使用実績等報告書

年 月 日

経済産業省大臣官房商務・サービス審議官 殿

(申請者)
法人の名称 ****
代表者氏名 ****
住所 ****

(届出者)
所属・役職 ****
氏名 ****
住所 ****

包括確認申請手続を利用して経済産業大臣の確認を受けた拡散防止措置に係る遺伝子組換え生物等の使用実績等について、次のとおり報告します。

- 電子申請※を利用する場合、申請書への押印は不要。
- 「届出者」については、申請の際に申請書に記載した「責任者」名を記載。

- 使用実績について報告する包括申請が複数ある場合は、文書番号等を列記することで、表紙を1枚として、まとめて提出することができる。

* 使用実績報告書の提出について
https://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/mono/bio/cartagena/anzen-shinsa2.html#houkatsu_jisseki

(参考) 包括申請における使用実績等の報告について

使用実績等に係る報告（様式）での記載例（複数の場合）とその注意事項

大臣確認日	○年○月○日
文書番号	○○○○○○○商第○号
遺伝子組換え生物等の種類の名称	遺伝子組換え大腸菌 (<i>Escherichia coli</i> B及び由来株/pET-15b等) (包括)
使用年度	○年度
担当者氏名及び連絡先	○○ ○○ (xx-xxxx-xxxx、xxxxx@xxxx.co.jp)

- 大臣確認を受けた包括申請毎に報告書を作成する。
- 報告は生産の有無にかかわらず毎年度末ごとに行う。(※)

遺伝子組換え微生物の情報	遺伝子組換え微生物の菌株名	別表参照	
	宿主の名称(学名)及び株名	別表参照	
	ベクターの名称	別表参照	
	供与核酸	名称	別表参照
		由来生物	別表参照
		供与核酸の機能	別表参照
	安全委員会の承認日	年 月 日 別表参照	
	生産期間	別表参照	
その他	別表参照		

- 生産した遺伝子組換え微生物が複数ある場合は、別紙を添付し、全ての遺伝子組換え微生物について報告する。

※使用実績の無い場合でも報告が必要です。提出方法等は申請書作成マニュアルにてご確認ください。

(参考) 包括申請における使用実績等の報告について

使用実績等に係る報告（様式）での記載例（複数の場合）とその注意事項

番号	遺伝子組換え微生物の菌株名	宿主の名称 (学名) 及び株名	ベクターの 名称	供与核酸			安全委員会の 承認日	生産期間	その他
				名称	由来生物	供与核酸の機能			
1	<i>Bacillus subtilis</i> 由来のリパーゼ産生用 lipA 遺伝子を導入した遺伝子組換え	<i>Escherichia coli</i> JM109	pUC18	リパーゼ遺伝子 (<i>lipA</i>)	<i>Bacillus subtilis</i>	トリアシルグリセロール（脂質）を加水分解して、グリセリンと脂肪酸を生成する反応を触媒する。 (EC 3. 1. 1. 3)	平成30年3月10日	平成30年3月15日～平成30年8月30日	
2	<i>Bacillus subtilis</i> 由来のリパーゼ産生用 lipA2 遺伝子を導入した遺伝子組換え	同上	pKK223-3	リパーゼ遺伝子 (<i>lipA2</i>)	同上	同上	平成30年7月10日	平成30年7月13日～12月20日	生産能力向上のため、ベクターを変更してアミノ酸変異を追加
3	<i>Bacillus subtilis</i> 由来のリパーゼ産生用 lipA3 遺伝子を導入した遺伝子組換え	同上	pKK223-3	リパーゼ遺伝子 (<i>lipA3</i>)	同上	同上	平成30年11月1日	平成30年12月1日～平成31年3月 (継続中)	酵素の安定性向上のため、アミノ酸変異を追加
4	○○○○○○○・・・	宿主の名称 (学名) 及び株名	・・・	・・・	・・・	・・・			

• 使用した宿主微生物が複数株ある場合は、株毎に記載する。

• 生産期間が年度を超える場合は、その旨が分かるように記載すること。

大臣確認後の変更について

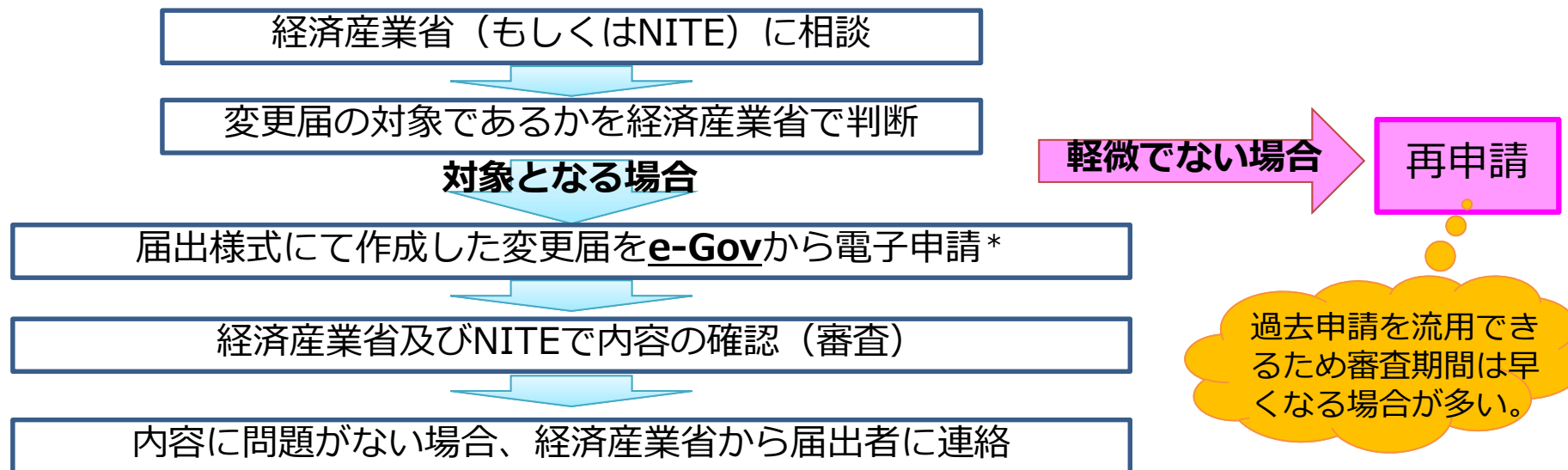
- 組織名や代表者等の変更及び拡散防止措置にかかる変更については、新たな申請を行うことなく、変更届で済む場合もあります。このような場合、事前に経済産業省（もしくはNITE）にご相談ください。

※特に拡散防止措置にかかる変更については、ケースバイケースでの対応となりますので、早めにご相談ください。

※なお、変更届の提出時期は、対象となる内容で**次の使用を開始する前まで**に行う必要があります。

※詳細については、「カルタヘナ法の解説」（申請マニュアル）第3章第5節にてご確認ください。

【変更届提出の流れ】



* 拡散防止措置等の変更に係る届出又は再申請について

https://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/mono/bio/cartagena/anzen-shinsa2.html#henkou

その他・お問合せ先など

- 参考資料は最新版をご確認ください。
 - 経済産業大臣が定めるG I L S Pリスト
https://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/mono/bio/cartagena/anzen-shinsa2.html
 - 日本版バイオセーフティクリアリングハウス (J-BCH)
<https://www.biodic.go.jp/bch/>
 - 研究開発等に係る省令に基づく告示
<https://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/kankeihourei.html>
 - 国立感染症研究所病原体等安全管理規程
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/byougen-kanri.html>
 - 日本細菌学会のバイオセーフティ委員会が定める病原細菌のB S L
http://www.jsbac.org/infectious_disease/bsl_level.pdf
- このほか、ご不明な点がありましたらお問い合わせください。

独立行政法人製品評価技術基盤機構 (N I T E)
バイオテクノロジーセンター生物多様性支援課
E-mail: nite-cartagena@nite.go.jp