

22消安第2397号
平成22年6月23日

各植物防疫(事務)所長 殿

消費・安全局長

平成22年度における遺伝子組換え生物等に係る立入検査等の実施について

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。以下「法」という。)に基づく承認が得られていない遺伝子組換え生物等について、わが国に輸入される農作物に対する混入実態を把握し、わが国への流入を防止するため、当該遺伝子組換え生物等に関し法第31条第1項に基づく立入検査等を実施してきたところである。

平成22年度も引き続き立入検査等を適切に実施するため、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係る検査等規則(平成16年農林水産省訓令第12号)第3条第2項及び第9条に基づき、別紙のとおり「平成22年度における遺伝子組換えアマに係る立入検査等実施要領」を定めたので、御了知の上、適切な検査の実施方よろしく願います。

(別紙)

平成22年度における遺伝子組換えアマに係る立入検査等実施要領

1. 実施期間

平成22年7月1日から平成23年3月31日まで

2. 対象及び実施件数等

(1) 検査対象

栽培の用に供するアマニ(アマ種子)を立入検査等の対象(以下「検査対象」という。)とし、当該検査対象がスルフォニル系除草剤耐性アマFP967(以下「分析対象」という。)を含有するかどうかについて分析検査を実施すること。

(2) 検査件数

- ① 原則として100件までは全件数の検体を収去すること。
- ② 収去到当っては、当該検査対象の輸入実態等を勘案し、以下の点に留意すること。
 - ア 分析対象の生産国であるカナダ及びFP967を認可しているアメリカ合衆国からの輸入物の検査を行うこと。
 - イ 収去を行う際は、概ね1kg以上の荷口を対象とすること。
 - ウ 収去する対象を選定するに当たっては、ア、イの事項に留意した上で、期間別及び各検査機関管内における輸入実態を反映した収去数とすること。

(3) 実施機関

横浜植物防疫所、名古屋植物防疫所、神戸植物防疫所、門司植物防疫所及び那覇植物防疫事務所(支所及び出張所を含む。以下「検査機関」という。)が立入検査等において検体の収去を実施し、収去した検体は、3.(7)①に定める適切な方法により運搬又は送付の上、横浜植物防疫所(以下「分析機関」という。)において分析検査を実施すること。

3. 検体の検査

(1) 検体の収去到当っては、以下の手順により、分析検査に必要な量の検体を採取すること。なお、この検査においては、1回の検査につき46,000粒の種子を使用するため、再検査に使用する分及び夾雑物の除去等により発生するロスを見込み、1検体につき500g以上(100,000粒以上)の種子を収去すること。品種により500gで100,000粒に満たない場合は、100,000粒を確保できる量を収去すること。

- ① 荷口全体の中から、荷姿、品種、その他関係書類等で確認できる均一な一定量を単位として、検査の対象とするロットを設定すること。
- ② 袋積み又は少量ずつ小分けになっている荷口の場合は、設定したロットの大きさに応じ、以下の表に従い(抽出した梱から検査に必要な量の試料を採取できないときは、適宜追加抽出を行う)当該ロットから一定数の袋を無作為に抽出すること。

ロットの大きさ		開梱数
1	～ 2	全数
3	～ 27	3以上
28	～ 64	4以上
65	～ 125	5以上
126	～ 216	6以上
217	～	7以上

* 表の抽出数は、輸入種苗検疫要綱(昭和53年9月30日付け53農蚕第6963号農蚕園芸局長通達)第8の2に規定する栽培用種子に関する1次検査の方法に準拠するものである。

- ③ 設定したロット全体又は抽出した袋から当該ロット全体を代表する検体となるよう一定量を採取すること。採取物の全量を1検体として収去すること。
- (2) 検体の採取に当たっては、以下の点に留意すること。
 - ① 遺伝子組換え生物が不均一に分布しているということを前提として、ロットを代表するような検体採取を行うため、対象となるロットの大きさ、荷姿、包装形態に応じて検体採取を行うこと。
 - ② 検体採取に際しては、他ロットの種子が混入しないよう十分配慮し、使用する器具・容器包装等は使い捨てのものを使用するか、その都度、十分に洗浄等を行い使用すること。
- (3) 検査職員は、立入検査等に当たっては、その内容等をとりまとめた別記様式第1による立入検査等記録書を作成し、被検査者又は被検査者の委任を受けた者であって当該検査に立会う者(以下「立会人等」という。)に閲覧させること。
- (4) 検査職員は、立会人等の求めに応じて、別記様式第2により見本採取票を発行することができる。
- (5) 収去した検体は、当該検査についての立入検査等記録書の写しとともに分析機関に送付し、速やかに分析検査に供すること(検査機関と分析機関が同一の機関の場合は、速やかに分析検査に供すること。)
- (6) 分析検査に際しては、別添1により、正確かつ迅速に実施すること。
- (7) その他
 - ① 検査機関及び分析機関は、検体の取扱い、試薬等の管理、機械器具の保守管理、検査の実施に当たっては、ここに定める事項のほか、JIS Q 17025「試験所及び校正機関の能力に関する一般的要求事項」、又は別添2に基づき、作業の管理を行うこと。また、各検査機関における作業の細部について記載した作業書等を作成の上作業を実施し、各作業ごとに詳細な記録を残すことにより、検査の精度及び信頼性の確保を図ること。
 - ② 分析検査に供した検体及び粉碎物の残り並びに検査過程で得られた標本については、疑義が生じた場合等の再検査等に備え、原則として最低3ヶ月間は良好な条件の下で保管すること。

4. 検査結果の報告

- (1) 分析機関は、分析検査の結果、検体から分析対象である遺伝子組換え生物等が検出された場合には、直ちに別記様式第3により植物防疫課を経由して農産安全管理課に報告するとともに、当該検体の収去を実施した検査機関にその旨連絡し、別途消費・安全局長の指示に従うこと。
- (2) 分析機関の長は、分析検査を実施したときは、遅滞なく別記様式第4により、当該検体の収去を実施した検査機関の長に連絡すること。
- (3) 検査機関の長は、当該検体の分析検査の結果を被検査者の求めに応じ、別記様式第5により通知することができる。
- (4) 分析機関は、毎月の検査の結果を取りまとめ、別記様式第6により四半期毎に当該四半期が終了した翌月の15日までに植物防疫課を経由して農産安全管理課に報告すること。

5. その他

- (1) 当該検査は、輸入貨物に対して無作為に抽出を行い実施するものであり、特定の輸入者等に偏ることのないよう行うとともに、輸入者の申出により省略するものではないことに留意すること。
- (2) 当該検査は、あらかじめ被検査者に通告しないで行うものとする。ただし、円滑な立入検査を実施するため必要と判断される場合で、通告しても適切な立入検査の実施に支障が生じない場合は、この限りでない。

整理番号 _____

立 入 検 査 等 記 録 書

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31条第1項の規定に基づき、本職は下記のとおり、遺伝子組換え生物等の使用等をしている者、又はした者、遺伝子組換え生物等を譲渡し、又は提供した者、国内管理人、遺伝子組換え生物等を輸出した者その関係者に対する立入検査等を実施し、立入検査等記録書を作成した。

この立入検査等記録書を被検査者又は被検査者の委任を受け当該検査に立ち会う者(以下「立会人等」という。)に閲覧させたところ、記載内容が事実と相違ない旨の申し出があったので、共に記名押印(氏名を自署する場合にあっては押印を省略できるものとする。)した。

平成 年 月 日

検 査 職 員

検査機関名及び役職

検査職員氏名

印

立 会 人 等

所属及び役職

氏 名

印

被検査者の氏名 (法人の場合は法人の名称 及び代表者の氏名)	
被検査者の住所 (法人の場合は主たる事務 所の所在地)	
被検査者の連絡先 (担当者の電話番号等)	
立入検査等を行った日	平成 年 月 日
立入検査等を行った場所	

備考

「被検査者の氏名」及び「被検査者の住所」については、被検査者と立会人が同一の場合は記載を省略できる。

検 査 検 体 の 収 去
収去した検体について
1. 種類の名称及び用途
2. 生産、輸出入及び流通の状況 (輸入日、生産日、輸入者、輸出者、生産者、原産国、生産地、集荷地、輸出港、その他インボイスまたは船荷証券番号等当該荷口(ロット)を特定することができる情報を記載。)
3. 荷姿・包装形態・在庫量・陸揚げ後の荷口の保管場所等
4. 収去した量及び収去の対象としたロットの量
5. 収去方法
6. 備考
業務に関する帳簿書類その他の検査
その他検査に関し参考となる事項

別記様式第2(日本工業規格A4)

整理番号
平成 年 月 日

見本採取票

殿

所属官署
(機関)
氏名 印

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31条第1項の規定に基づき、検査のため収去したので通知する。

収去した貨物	品名・銘柄	数量
積載船(機)名		入港年月日
蔵置場所		収去年月日
B/L No.		申告番号
採取職員所属氏名	印	
見本処理区分	<input type="checkbox"/> 返却 <input type="checkbox"/> 保存 <input type="checkbox"/> 分析	
返却欄	申告者受取印	受取年月日
備考		

(注) 1. 太線枠内は、税関以外の公務員が見本採取したときは記入を要しない。
2. 本様式は、3片を1組とし、第1片を原本、第2片を通知用、第3片を倉主等用とする。

整理番号 _____	
違反連絡票	
収去した生物の種類の名称	
収去した生物の用途	
品種、ロット番号	
収去した生物の輸出国又は地域(生産地)	
ロット数量	
輸入(生産)年月日	
輸出者	
被検査者の氏名及び住所	
収去日	
収去場所	
分析検査の結果	
分析検査日	
分析者	
<p>平成 年 月 日、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31条第1項の規定に基づき収去した上記の生物等について、違反が認められましたので連絡します。</p> <p>平成 年 月 日</p> <p style="text-align: right;">分析検査実施機関名</p>	

備考

1. 被検査者の氏名及び住所の欄には、担当者の電話番号等を併せて記入すること。
2. 以下の書類の写しを添付すること。
 - ① 当該立入検査等に係る記録書
 - ② 当該分析試験に係る実験記録、データ等(再試験等も含めたもの)

整理番号 _____

分析検査結果連絡書

平成 年 月 日

検査機関の長 殿

分析機関の長

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第31条第1項の規定に基づき収去した生物等について、分析検査の結果を次のとおりお知らせします。

収去した生物の種類の名称	
収去した生物の用途	
品種、ロット番号	
収去した生物の輸出国又は地域(生産地)	
輸出者	
被検査者の氏名及び住所	
収去日	
収去場所	
分析検査の結果	
分析検査日	
分析者	

整理番号 _____

分析検査結果通知書

平成 年 月 日

被検査者 殿

検査機関の長 印

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31条第1項の規定に基づき収去した生物等について、検査の結果を次のとおりお知らせします。

収去した生物の種類の名称	
収去した生物の用途	
品種、ロット番号	
収去した生物の輸出国又は地域(生産地)	
輸出者	
収去日	
収去場所	
分析検査の結果	

立入検査等結果報告書

平成 年 月 日

消費・安全局長 殿

分析機関の長

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第31条第1項の規定に基づき立入検査等を実施したので、その結果を別添のとおり報告します。

年 月 ~	年 月	検査実施分
立入検査等実施件数 (うち違反件数)		件(件)

備考

別添として、別記様式第6-2により月別の一覧を添付すること。

別記様式第6-2(日本工業規格A4)

平成 年 月分 (分析機関名:)

整理番号	検査日	検査場所	被検査者	収去した生物の種類 の名称及び用途	輸出国又は地 域(生産地)	分析検査の項目	分析検査の 結果	その他

備考

- 1 収去した検体ごとに一覧を作成すること。
- 2 「分析検査の項目」の欄には、分析の対象とした遺伝子組換え生物の名称を記載すること。
- 3 「分析検査の結果」の欄には、分析の対象とした遺伝子組換え生物の検出の有無または定量結果を記載すること。

(別添1)

栽培用種子における遺伝子組換えアマ(FP967)の暫定検査法について

本検査法ではアマ穀粒を検査対象とし、DNA抽出精製は、以下の陰イオン交換樹脂タイプキット法(QIAGEN社製Genomic-tip 20/G)を用いる。1検体から2並行でDNAを抽出し、各抽出DNA試料液を用いてリアルタイムPCRを用いた定性PCR法を実施する。

1. 試料の準備

検査に用いるアマニは、破碎粒や他の混入物を取り除いた完全粒とし、表面に他の付着物がないことを確認すること。当該アマニから無作為に完全粒で46,000粒を採取し、粉碎機で粉碎したものを使用する。

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は十分に配慮すること。コンタミネーション対策は、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2版)コンタミネーション防止編」を参考にすること。

2. アマ穀粒からのDNA の抽出精製

粉碎試料0.5 g をポリプロピレン製遠沈管(50mL 容)に量り採り、イオン交換樹脂タイプのDNA 抽出精製キット(QIAGEN Genomic-tip)を用い以下のようにDNA を抽出精製する。

試料に、G2緩衝液^{*1}7.5 mL と α -amylase^{*2}20 μ Lを加えて、ボルテックスミキサー等で激しく混合し、37°Cで1 時間保温する。さらにG2 緩衝液7.5 mL、Proteinase K^{*3}200 μ L、及び、RNaseA^{*4}20 μ L を加え、サンプルがチューブの底に残らなくなるまで攪拌し、50°Cで1時間保温する。その間2~3回遠沈管を反転させて試料を転倒混和する。次いで、5,000 x g、4°Cで15 分間遠心分離し、得られた上清を2 mL ずつ2 mL 容チューブ5 本(計10 mL)に移し^{*5}、20,000 x g、4°Cで15 分間遠心分離する。あらかじめQBT 緩衝液^{*1}1 mL で平衡化したQIAGEN Genomic-tip 20/G に、各2 mL 容チューブから上清を1 mLずつ採取し^{*5} 負荷する(計5 mL)。次いで、チップをQC 緩衝液^{*1} で2 mL ずつ3回洗浄した後、チップを新しい遠沈管に移し、あらかじめ50°Cに加温したQF 緩衝液^{*1}500 μ L を負荷し、DNA を溶出する(溶出1)。チップを新しい遠沈管に移し、さらにQF 緩衝液^{*1} 500 μ L でDNA を溶出する(溶出2)。次いで、溶出液と等量のイソプロパノールを溶出1と溶出2にそれぞれ添加し、ゆっくり10回転倒混和した後、5 分間室温で静置する。12,000 x g、4°Cで15 分間遠心し、上清を廃棄した後70%エタノール500 μ Lを添加し、10回転倒混和する。12,000 x g、4°Cで3 分間遠心した後、上清を破棄し、残った沈殿を適度に乾燥させる。溶出2の遠沈管にあらかじめ60°Cに加温した水50 μ Lを加えて沈殿物を溶解させ、その溶解液全量を溶出1の遠沈管に移し入れ、よく混合し^{*6}、抽出DNA 試料液とする。抽出DNA 試料液は分光光度計を用いてDNA 濃度測定を

行う。

*1 G2緩衝液、QBT緩衝液、QC緩衝液、及び、QF緩衝液はキットに付属しているが、足りない場合にはキットの説明書に従って調製可能である。

*2 α -amylase（高濃度品）はNippon Gene社製のもの、又は、同等の活性を持つものを用いる。

*3 Proteinase KはQiagen社製（20 mg/mL）または同等の効力をもつものを用いる。

*4 RNaseAはQiagen社製（100 mg/mL）または同等の効力をもつものを用いる。

*5 沈殿物や上層の膜状の部位を取らないように注意する。

*6 沈殿物（DNA）が溶解しない場合は、65°Cで15分間振とう溶解する。それでも完全に溶解できず、不溶物が認められる場合は、12,000 x g、4°Cで3分間遠心して得られた上清を新しい遠沈管に移し、これを抽出DNA試料液とする。

3. リアルタイムPCRを用いた定性PCR法

FP967 の検出はGM アマ検知用のプライマー、プローブを用いたリアルタイムPCR とアマ陽性対照用のプライマー、プローブを用いたリアルタイムPCR の2 試験を行い判定する。

GM アマ検知用として、NOS ターミネーターとスペクチノマイシン耐性遺伝子の境界領域を検知するプライマー、プローブを用いる。また、アマ陽性対照用としてstearoyl-acyl carrier protein desaturase 2(SAD) 遺伝子配列を検知するプライマー、プローブを用いる。各プライマーは水に溶解する。プライマー、プローブの塩基配列は以下のとおりである。

GMアマ検知用プライマー対、及び、プローブ

NOST-Spec F: 5' - AGC GCG CAA ACT AGG ATA AA-3'

NOST-Spec R: 5' - ACC TTC CGG CTC GAT GTC TA-3'

NOST-Spec probe: 5' -FAM- CGC GCG CGG TGT CAT CTA TG-BHQ1-3'

アマ陽性対照用プライマー対、及び、プローブ

SAD F: 5' - GCT CAA CCC AGT CAC CAC CT -3'

SAD R: 5' - TGC GAG GAG ATC TGG AGG AG -3'

SAD probe: 5' -FAM- TGT TGA GGG AGC GTG TTG AAG GGA-BHQ1-3'

3.1 リアルタイムPCRを用いた定性PCR法 (ABI PRISM™ 7900)

3.1.1 PCR用反応液の調製

PCR 用反応液は25 μ L/well として調製する。組成は以下のとおりである。Universal PCR Master Mix^{*1} 12.5 μ L、対象プライマー対溶液 (各プライマー、50 μ mol/L) 各0.4 μ L、対象プローブ溶液 (10 μ mol/L) 0.25 μ Lを混合し、水で全量22.5 μ Lに調製後、50ng/ μ L DNA試料液 2.5 μ L (125ng)を添加する。PCR のブランク反応液として、必ずDNA試料液を加えないものについても同時に調製する^{*2}。分注操作終了後、真上からシール^{*3}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注意し、専用のシーリング用アプリケーションャーを用いて行う。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^{*4}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。各DNA 試料液あたりGM アマ検知用リアルタイムPCR とアマ陽性対照用リアルタイムPCR をそれぞれ2 ウェル並行して行うものとする。

*¹ Universal PCR Master Mix

本試薬は粘性が高いため、混合操作を行う際には、混合が確実に行われるように注意する。不十分な場合には、PCRがうまくいかない場合がある。使う直前には必ずボルテックスミキサーを用いて3 秒程度混合した後、軽く遠心し、溶液を試料管の底に集めておいてから使用する。また、ウェルに分注する際は、以後攪拌、遠心が困難なことを考慮し、ウェルの底に確実に入れる。

*² Non-Template Control (NTC)

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

*³ 96 ウェルプレート、シール、及び、シーリングアプリケーションャー

MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate (Applied Biosystems 社)、及び、ABI PRISM Optical Adhesive Cover (Applied Biosystems 社)を使用する。シーリングの詳細については製品付属のマニュアルを参考のこと。

*⁴ ABI PRISM Optical Cover Compression Pad

ABI PRISM Optical Cover Compression Pad (Applied Biosystems社)を使用する。なお、20回以上の繰り返し使用は、測定結果に影響を及ぼす可能性があるため避けること。

3.1.2 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、検体の配置と種類、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、NOST-Spec、SADともにReporterが「FAM」、Quencherが「Non Fluorescent」となるように設定する。また、Passive Reference は「ROX」に設定する。なお、ランモードの設定は9600 emulation モードを選択する。

3.1.3 PCR 増幅

装置にプレートを設定し、反応とデータの取り込みを開始する。反応条件は以下のとおりである。50°C、2分間の条件で保持した後、95°Cで10分間加温し、ホットスタート法で反応を開始する。その後、95°C15秒間、60°C1分間を1サイクルとして、45サイクルの増幅反応を行う。Remaining timeが0分となっていることを確認し、反応を終了させた後、測定結果の解析を行う。

3.2. リアルタイムPCRを用いた定性PCR法(ABI PRISM™ 7500)

3.2.1 PCR用反応液の調製

PCR 用反応液は25 μ L/well として調製する。組成は以下のとおりである。Universal PCR Master Mix^{*1} 12.5 μ L、対象プライマー対溶液(各プライマー、50 μ mol/L)各0.4 μ L、対象プローブ溶液(10 μ mol/L)0.25 μ Lを混合し、水で全量22.5 μ Lに調製後、50 ng/ μ L DNA試料液2.5 μ L(125ng)を添加する。PCRのブランク反応液として、必ずDNA 試料液を加えないものについても同時に調製する^{*2}。分注操作終了後、真上からシール^{*3}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注意し、専用のシーリング用アプリケーションャーを用いて行う。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。各DNA試料液あたりGM アマ検知用リアルタイムPCRとアマ陽性対照用リアルタイムPCRをそれぞれ2 ウェル並行して行うものとする。

*1 Universal PCR Master Mix

本試薬は粘性が高いため、混合操作を行う際には、混合が確実に行われるように注意する。不十分な場合には、PCRがうまくいかない場合がある。使う直前には必ずボルテックスミキサーを用いて3 秒程度混合した後、軽く遠心し、溶液を試料管の底に集めておいてから使用する。また、ウェルに分注する際は、以後攪拌、遠心が困難なことを考慮し、ウェルの底に確実に入れる。

*2 Non-Template Control(NTC)

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

*3 96 ウェルプレート、シール、及び、シーリングアプリケーションャー

MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate (Applied Biosystems 社)、及び、ABI PRISM Optical Adhesive Cover (Applied Biosystems社)を使用する。シーリングの詳細については製品付属のマニュアルを参考のこと。

3.2.2 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、検体の配置と種類、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、NOST-Spec、SADともにReporterが「FAM」、Quencherが「Non Fluorescent」となるように設定する。また、Passive Reference は「ROX」に設定する。なおランモードの設定は9600 emulation モードを選択する。

3.2.3 PCR 増幅

装置にプレートをセットし、反応とデータの取り込みを開始する。反応条件は以下のとおりで

ある。50℃、2分間の条件で保持した後、95℃で10分間加温し、ホットスタート法で反応を開始する。その後、95℃15秒間、60℃1分間を1サイクルとして、45サイクルの増幅反応を行う。Remaining timeが0分となっていることを確認し、反応を終了させた後、測定結果の解析を行う。

4. 結果の解析と判定

GMアマ検知用試験およびアマ陽性対照用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。

まず目視でAmplification plot上にNOST-Specの指数関数的な増幅曲線が確認された場合には、FP967陽性を疑う。次いで、ベースライン(3サイクルから15サイクル)の ΔRn 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*。そのTh. lineからCt値が得られるか否かを解析する。各DNA試料液においてアマ陽性対照用試験で43未満のCt値が得られ、かつGMアマ検知用試験で43未満のCt値が得られたウェルがある場合に、FP967陽性と判定する。アマ陽性対照用試験で43未満のCt値が得られ、GMアマ検知用試験で43未満のCt値が得られない場合は、FP967陰性と判定する。なお、2つのDNA試料液での結果が異なった場合は陽性と判定する。なお上記判定によりFP967陽性が判定された結果についてmulticomponentを解析し、目視でFAMの蛍光強度の指数関数的な増加が観察でき、ROXの蛍光強度の明確な下降やFAMの蛍光強度の緩やかな上昇がないことを確認する。

また、アマ陽性対照用試験で43未満のCt値が得られないDNA試料液については、再度、リアルタイムPCRを用いた定性PCR法以降の操作を行い、それでも43未満のCt値が得られない場合には、そのDNA試料液の測定結果を無効とし、43未満のCt値が得られたDNA試料液の結果だけで判定する。2つのDNA試料液ともにアマ陽性対照用試験で43未満のCt値が得られない場合には、改めて3回目のDNA抽出精製を行い、さらにリアルタイムPCRを用いた定性PCR法以降の操作を実施して、判定を行う。3回目のDNA試料液を用いた場合でもアマ陽性対照用試験で43未満のCt値が得られない場合には、本試料からの検知は不能とする。この場合は、実施要領の3.の(1)における再検査用試料を用いて、1.の「試料の準備」から再検査を実施する。

* 個々の機種の状態によってAmplification plot上の ΔRn 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。従ってAmplification plot上でベースライン(3サイクルから15サイクル)の ΔRn のノイズ幅の最大値をより上側で、安定した指数関数的な増幅曲線上で交わるTh. lineを選択する。参考としてABI PRISM™ 7900、及び、ABI PRISM™ 7500ともに0.2-0.5の範囲であると考えられる。

(別添2)

立入検査等に係る作業管理等要領

1 目的

この要領は、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。以下「法」という。)第31条第1項及び第32条第1項の規定に基づく立入検査等(以下「検査等」という。)を実施する機関における検査等に係る作業の管理等について細則を定め、検査等の信頼性を確保することを目的とする。

2 組織

- (1) 検査機関(支所及び出張所を含まない。)及び分析機関の長は、立入検査等に係る作業書の作成及び管理、検査業務全般の管理を行う者(以下「検査責任者」という。)をあらかじめ指名し、当該業務を行わせること。
- (2) 検査機関(支所及び出張所を含まない。)及び分析機関の長は、検査責任者の業務が適切に遂行されているかを確認すること。

3 機械器具の管理

- (1) 検査責任者は、機械器具の管理に当たっては、別表に定める項目につき、別に農産安全管理課長が定めるところにより機械器具保守管理標準作業書を作成の上、適切な管理を実施すること。なお、機械器具保守管理標準作業書の作成又は改定については、別添の1及び2に留意すること。
- (2) 検査責任者は、機械器具保守管理標準作業書に従い、個別の機械器具について管理を担当する検査員を定め、次の事項の確認を行うこと。
 - ① 機械器具について、常時行うべき保守点検(計器にあつては、校正を含む。)及び定期的な保守点検を実施し、不備を発見した場合にあつては、必要な整備又は修理を行い、その記録を作成し保存すること。
 - ② 機械器具について、検査の方法に最も適したものを使用し、使用後は直ちに洗浄、消毒、滅菌、清掃等を行い、適切に乾燥、保管、廃棄等を行うこと。

4 試薬等の管理

- (1) 検査責任者は、試薬、試液、標準品、標準液等(以下「試薬等」という。)の管理に当たっては、別表に定める項目につき、別に農産安全管理課長が定めるところにより試薬等管理標準作業書を作成の上、適切な管理を実施すること。なお、試薬等管理標準作業書の作成及び改定については、別添の1及び3に留意すること。
- (2) 検査責任者は、試薬等管理標準作業書に従い、試薬等について管理を担当する検査員を定め、次の事項の確認を行うこと。
 - ① 試薬、試液及び標準液については、その容器に名称、純度又は濃度、保存方法、調製年月日、使用期限等を表示し、適切に保存すること。
また、変質したもの、使用期限を経過したものを使用しないこと。

- ② 標準品については、その容器に名称、純度又は濃度、保存方法、入手源、入手年月日、使用期限のほか、必要に応じ製造年月日等を表示すること。
また、変質を防止するために適切な条件下に保存し、適切なものを検査に使用すること。
- ③ 試薬等を調製した場合は、その記録を作成し保存すること。

5 有毒な又は有害な物質及び危険物の管理

- (1) 検査責任者は、毒物、劇物、高圧ガスその他の有毒、有害物質及び危険物の保管、設置等について関係法令を遵守して適切に管理すること。
- (2) 検査責任者は、検体、試薬、試液等検査に用いられる全てのものに係る廃棄物について安全かつ衛生的に管理すること。

6 検体の取扱いの管理

- (1) 検査責任者は、検体の取扱いの管理に当たっては、別表に定める項目につき、別に農産安全管理課長が定めるところにより検体取扱標準作業書を作成の上、適切な管理を実施すること。なお、検体取扱標準作業書の作成及び改定については、別添の1及び4に留意すること。
- (2) 検体を採取する検査員は、次の事項を遵守すること。
 - ① 検査対象生物等を代表するよう採取すること。
 - ② ロットによる区分けが必要な場合は、ロットを混同しないよう採取すること。
 - ③ 他物の混入及び汚染がないよう採取すること。
 - ④ 採取量、採取目的、採取年月日、採取者等その他必要な事項の記録を保存すること。
 - ⑤ 検体を入れる容器は、検体の種類、形状及び検査の目的に適したものであって、搬送、洗浄及び滅菌が容易なものをを用いること。
- (3) 検体を搬送する者は、次の事項を遵守すること。
 - ① 他物の混入及び汚染がないよう搬送すること。
 - ② 検査に支障を及ぼさないように保存すること。
 - ③ 検体の搬送条件及び保存条件を適切な方法を用いて確認すること。
 - ④ 運搬業者等に検体の搬送を委託する場合は、上記①～③の条件に合う方法で搬送されることを確認するとともに、搬送中に開梱等が行われないように封印等を用いて梱包を行うこと。
- (4) 検体を受領する者は、次の事項を確認するとともに、その記録を作成し保存すること。
 - ① 検査記録書等の関連書類の記載事項と検体に同一性があること。
 - ② 検体の状態が検査の目的に適切であること。
 - ③ 検体の量が検査に十分な量であること。
 - ④ 検体の搬送が(3)の要件を満たす形で適正に行われていること。
- (5) 検査責任者は、検体の取扱いについて次の事項が遵守されていることを確認すること。
 - ① 検体の保管に当たっては、検体を保管する容器ごとに検体番号(検体の識別に用いる記号又は番号をいう。以下同じ。)等を表示するとともに、期限表示がされているものについてはその年月日、特定の保存条件が必要なものについてはその条件をそれぞれ表示

すること。

- ② 検体が温度、湿度、害虫等により変質しないように適切な設備に保存すること。
- ③ 検体の分割及び検査機関の事業所内の検体の移動に当たっては、汚染や品質低下のおそれがない方法で行い、検体番号等必要な表示を行うとともに、検体の分割又は移動の年月日その他必要な事項を検体ごとに記録し保存すること。
- ④ 検体の輸送、運搬及び保管に当たって、検体の取り違え、紛失等を防ぐため、必要に応じて関連書類との照合、関連書類の確認等を行うこと。

7 検査の操作等の管理

- (1) 検査の方法は、当該検査項目に関する関係通知等で定められた方法とすること。
- (2) 検査責任者は、検査の実施に当たっては、別表に定める項目につき、別に農産安全課長が定めるところにより検査実施標準作業書を作成の上、適切な管理を実施すること。なお、検査実施標準作業書の作成及び改定については、別添の1及び5に留意するとともに、具体的な操作の手順の設定に当たっては、最新の知見を踏まえて行うこと。

また、同一の検査項目であっても、検体の種類ごとに操作手順等が異なる場合には、当該検体の種類ごとに作成すること。

8 検査の結果の処理

- (1) 検査員は、検査終了後、その内容が検査の目的を十分に満たしたものであることを点検の上、必要な事項を検査結果表(以下「結果表」という。)に記入すること。
- (2) 検査員は、結果表にデータ、標本等を添えて、検査責任者に提出すること。
- (3) 検査責任者は、結果表等の提出を受け、次の事項を確認すること。
 - ① 検査員の氏名
 - ② 検査の実施の方法
 - ③ データ
 - ④ 結果を算出した根拠(結果を算出するための計算方法を含む。)
 - ⑤ 検出限界又は定量限界
 - ⑥ 標準作業書からの逸脱とその検査結果への影響
 - ⑦ 過去に実施された類似の検査結果との関係
 - ⑧ 検査中の予期し得なかった事項とその検査結果への影響
 - ⑨ その他の必要な事項
- (4) 検査責任者は、確認終了後、検査の結果に疑義がないと認める場合には、結果表に検査が完了した旨とともに検査終了年月日及び検査の結果を確認した旨を記入し、検査結果通知書を作成する者に回付すること。
- (5) 検査責任者は、確認終了後、検査の結果に疑義があると認める場合には、他の検査員に再検査を行わせる等必要な措置を講じること。この場合において、検査責任者は、その経過を詳細に記録し保存すること。
- (6) 検査責任者は、検査の信頼性に悪影響を及ぼす疑いのある事態について、その内容及び講じられた改善措置を記録し保存すること。
- (7) 検査責任者は、検査の過程で得られた標本を保存すること。

ただし、その状態を維持することが困難な場合には、この限りでない。

9 検査結果通知書

(1) 検査結果通知書は、別途定めている場合を除き、次の事項を記載し、検体ごとに作成すること。

- ① 検査年月日(検体を採取した日と分析試験を行った日が異なる場合はその両方を記載する。)
- ② 被検査者の氏名及び住所(法人にあっては、その氏名及び主たる事務所の所在地。)
- ③ 検査命令書の発行年月日及び番号(法第17条第1項の生物検査の場合に限る。)
- ④ 検査対象生物等の名称並びに数量及び重量
- ⑤ 検査対象生物等の生産地
- ⑥ 検査対象生物等の輸入届出年月日(法第17条第1項の生物検査の場合に限る。)
- ⑦ 検査対象生物等の本邦への到着年月日(検査対象生物等が本邦へ輸入されるものである場合に限る。)
- ⑧ 検体の数量及び重量
- ⑨ 検査項目
- ⑩ 検査の方法(出典及び根拠を含む。)
- ⑪ 検査結果(検出限界又は定量下限の記載を含む。)
- ⑫ 検査結果通知書の作成又は発行年月日並びに番号
- ⑬ 検査実施施設の名称及び所在地
- ⑭ 本通知書に関する連絡担当者の氏名
- ⑮ その他

(2) 分析機関の長は、検査結果通知書が適正に作成されていることを確認し、発行について承認すること。

10 検体の保存

検査に用いた検体については、その一部を当該検査に係る検査結果通知書の発行後少なくとも3か月間(可能な場合は1年間)、適切な条件の下に保存すること。ただし、その状態を維持することが困難な場合にあってはこの限りでない。

11 内部点検

(1) 検査責任者は、検査の業務の管理に関する内部点検の方法を記載した文書に基づき内部点検を行い、又はあらかじめ指定した者に行わせ、次の事項を含む記録を作成し保存すること。

- ① 点検を行った年月日
- ② 点検項目
- ③ 点検結果
- ④ 必要な改善措置又は指導の内容
- ⑤ 確認を行った改善措置又は指導の内容及びその年月日

12 精度管理

- (1) 検査責任者は、検査員の技能について、次の事項の評価を定期的に行うこと。
 - ① 通常の検体を用いて、定められた方法により検査結果の再現性を維持できる技能
 - ② 添加量が明らかな検体を用いて、定められた方法により検査する技能
 - ③ 真値を伏せた特別な検体を用いて、定められた方法により検査する技能
- (2) (1)を行うに当たって、検査責任者は、①から③の評価及び必要に応じこれに基づく改善措置を記録すること。
- (3) 検査機関の長及び分析機関の長は、精度管理が適切に行われているか確認するとともに、必要に応じて検査責任者に対し改善等を指示すること。

13 外部精度管理調査

- (1) 検査責任者は、外部精度管理調査について、外部機関が実施している精度管理プログラム等(GIPSA、CSL、ISTA等)を活用し、その定期的な参加計画を作成すること。
- (2) 検査責任者は、外部精度管理調査の結果をとりまとめ、改善措置が必要な場合には、その内容を記録し保存すること。
- (3) 分析機関の長は、外部精度管理調査が適切に行われているか確認するとともに、必要に応じて検査責任者に対し改善等を指示すること。

14 データの作成

- (1) 検査中に得られるデータの作成は、次により行うこと。
 - ① 読み易く、かつ、容易に消すことのできない方法で作成すること。
 - ② 作成の年月日を記載し、検査員等の署名又は捺印を行うこと。
- (2) データの内容を変更する場合にあっては、変更前の内容を不明瞭にしない方法で行うとともに、変更の理由及び年月日を記入し、変更者の署名又は捺印を行うこと。
- (3) コンピュータ等により直接データの作成を行い、保存する場合にあっては、次の事項を確認すること。
 - ① 作成されたデータの保存、管理の方法が規定されていること。
 - ② データの処理、記録、伝送、保存等の完全性並びに機密保持等に関して、データ保護のための手順が確立されていること。
 - ③ 使用するソフトウェアが十分な信頼性を有すること。
 - ④ コンピュータその他の設備が適切な方法で保守管理されていること。
 - ⑤ 電磁的記録のバックアップ及び保護の手順並びに記録への無許可のアクセス又は修正を防止する手順が確立されていること。
 - ⑥ データの内容を変更する場合にあっては、変更前のデータを残すとともに、変更者の氏名、年月日、変更理由を明確にすること。

15 検体、データ等の保存

- (1) 検体及びデータ、記録、報告書の控え等(以下「データ等」という。)は、適切な設備に保存すること。
なお、検体、データ等を別々の施設に保存する場合は、データ等を保存する施設におい

て、検体、データ等の保存場所を確認可能とすること。

(2) 検査責任者は、データ等の保存に際し担当者を定め、索引を付ける等、検索に便利な方法で整理するとともに、データ等の損傷又は品質の変化を最小限にとどめるよう適切に措置すること。

(3) データ等の保存期間は、次表のとおりとすること。

事項	保存期間
洗剤、害虫駆除及び消毒剤の使用に関する記録 機械器具の保守管理に関する記録 試薬等の管理に関する記録 検体の管理に関する記録 検査に関する記録 検査結果表 検査結果に疑義のある場合に講じられた措置の記録 検査の信頼性に悪影響を及ぼす疑いのある事態の内容とその改善措置に関する記録 内部点検の内容、結果及び指導とそれに対して講じられた改善措置に関する記録 精度管理の内容及び結果並びにこれに基づく改善措置に関する記録 外部精度管理調査の内容及び結果並びにこれに基づく改善措置に関する記録	3年間

別表

作成すべき標準作業書の種類	記載すべき事項
機械器具保守管理標準作業書	<ol style="list-style-type: none"> 1 機械器具の名称 2 常時行うべき保守点検(計器にあつては、校正を含む。)の方法 3 定期的な保守点検に関する計画 4 故障が起こった場合の対応(測定中に故障が起こった場合にあつては、検体の取扱いを含む。)の方法 5 機械器具の保守管理に関する記録の作成要領 6 作成及び改定年月日
試薬等管理標準作業書	<ol style="list-style-type: none"> 1 試薬、試液、標準品及び標準液(以下「試薬等」という。)の容器にすべき表示の方法 2 試薬等の管理に関する注意事項 3 試薬等の管理に関する記録の作成要領 4 作成及び改定年月日
検体取扱標準作業書	<ol style="list-style-type: none"> 1 検体の採取、搬送及び受領に当たつての注意事項 2 検体の管理の方法 3 検体の管理に関する記録の作成要領 4 作成及び改定年月日
検査実施標準作業書	<ol style="list-style-type: none"> 1 検体の種類 2 検査の実施の方法(検査法の名称、検査の具体的な手順等) 3 試薬等の選択及び調製の方法 4 試料の調製の方法 5 検査に用いる機械器具の操作の方法(機械器具の選択または使用に関する注意事項、機械器具の洗浄の方法を含む) 6 検査に当たつての注意事項(試料等の処理または反応条件、試料採取後の検体又は試料溶液残部の保存方法等) 7 検査によって得られた値の処理の方法 8 検査に関する記録の作成要領 9 作成及び改定年月日

(別添)

標準作業書の作成又は改定に当たり留意する事項

1 一般的事項

- (1) 標準作業書の作成に当たっては、それが実行可能であることを確認し、その記録を保存すること。
- (2) 標準作業書は、使用者に周知され、いつでも使用できるようそれぞれ適切な場所に備え付けられていること。
- (3) 検査に対しての継続的な適切さと適合性を確実にするため、標準作業書の定期的な見直しを行い、必要に応じて改定すること。
- (4) 標準作業書の作成及び改定ごとにその年月日及び理由を明記すること。また、これを管理するためのリスト(改廃履歴)を作成すること。
- (5) 標準作業書の改定が行われた場合には、旧文書の誤使用を防止するため、旧文書を速やかに撤去する等の措置を講じること。

2 機械器具保守管理標準作業書の作成に当たっては、次の点に留意すること。

- (1) 「常時行うべき保守点検(計器にあつては、校正を含む。)の方法」として、次の事項が含まれていること。
 - ① 計器の校正方法、校正頻度及び校正項目
 - ② 機械器具の使用開始時及び使用時の保守点検の方法
 - ③ 機械器具の使用終了後の保守点検(洗浄、乾燥、滅菌、保管、廃棄等)の方法
- (2) 「定期的な保守点検に関する計画」として、各機器ごとに保守点検の日時、保守点検を行う者の氏名等を記載した計画表が作成されていること。
- (3) 「故障が起こった場合の対応(測定中に故障が起こった場合にあつては、検体の取扱いを含む。)の方法」として、次の事項が含まれていること。
 - ① 機械器具に故障が起こった場合の修理の方法及び修理業者の連絡先
 - ② 故障時において検査していた検体の取扱いの方法
- (4) 「機械器具の保守管理に関する記録の作成要領」として、帳簿への次の記載事項が含まれていること。
 - ① 機械器具の名称
 - ② 保守点検の日時
 - ③ 保守点検を行った者(修理を行う業者等を含む。)の氏名
 - ④ 保守点検の結果
 - ⑤ 整備、修理等の日時、実施者及びその内容

3 試薬等管理標準作業書の作成に当たっては、次に留意すること。

- (1) 「試薬、試液、標準品及び標準液(以下「試薬等」という。)の容器にすべき表示の方法」として、次の事項を適切に表示できる方法が含まれていること。
 - ① 入手年月日、調製年月日又は開封年月日

- ② 入手源
 - ③ 調製を行った者の氏名
 - ④ 名称
 - ⑤ ロット番号(ロットを構成しない試薬等については、製造番号)
 - ⑥ 純度又は濃度
 - ⑦ 保存方法(常温、冷蔵及び冷凍の別等)
 - ⑧ 使用期限
- (2) 「試薬等の管理に関する注意事項」として、試薬等の保存の方法その他試薬等の管理を行う上で注意すべき具体的事項が含まれていること。
- (3) 「試薬等の管理に関する記録の作成要領」には、次の帳簿への記載事項のうち必要なものが含まれていること。
- ① 入手年月日及び調製年月日
 - ② 入手源
 - ③ 名称
 - ④ ロット番号
 - ⑤ 純度又は濃度
 - ⑥ 保存方法
 - ⑦ 試薬等の調製の記録
 - ⑧ 試薬等を使用した量、年月日、検査員の氏名

4 検体取扱標準作業書の作成に当たっては、次の事項に留意すること。

- (1) 「検体の採取、搬送及び受領に当たっての注意事項」として、次の事項が含まれていること。
- ① 検体の採取に際し輸入届出書等に基づき確認すべき事項
 - ア 検査対象生物等の名称
 - イ 検査対象生物等の数量及びロット
 - ウ 検体の採取、保存及び搬送の方法について必要な事項
 - エ 検体の採取量
 - オ 検体の採取日又は予定日
 - カ 検査の目的
 - キ 検査方法
 - ク 被検査者の名称、所在地等
 - ケ その他検査の実施に必要な事項
 - ② 検体の採取に際し留意すべき事項
 - ③ 検体の容器の条件について必要な事項
 - ④ 検体の搬送に際し留意すべき事項
 - ⑤ 検体の受領に際し確認すべき事項
 - ア 輸入生物等に関する記載事項と検体の同一性があること。
 - イ 検体の状態が検査の目的に適切であること。
 - ウ 検体の量が検査に十分な量であること。

エ 検体の搬送が前記④の事項について適正に取り扱われていること。

(2) 「検体の管理の方法」としては、次の事項が含まれていること。

- ① 受領した検体の表示の方法
- ② 検体の保存の方法及び期間
- ③ 検体の分割の方法
- ④ 検査機関又は施設内における検体の移動及び確認の方法

(3) 「検体の管理に関する記録の作成要領」には、次の帳簿への記載事項が含まれていること。

① 検体の採取の記録

- ア 採取量
- イ 採取年月日
- ウ 採取を行った者の氏名
- エ 検体の外観における異常の有無
- オ 検体の包装における表示事項
- カ 採取の方法
- キ 検体の保存の状態

② 検体の受領の記録

- ア 輸入届出書等の記載事項と検体が合致している旨の確認
- イ 検体の状態が検査の目的に相当である旨の確認
- ウ 検体の量が検査に十分なものである旨の確認
- エ 上記アからウに定めるほか、検体の採取及び搬送に際し留意すべき事項が遵守されている旨の確認
- オ 受領年月日及び検体番号

③ その他の検体の管理の記録

- ア 検体の保存の記録
- イ 検体の分割の記録
- ウ 検査機関又は施設内における移動の記録

5 検査実施標準作業書の作成に当たっては、次に留意すること。

(1) 次の事項に関する記載が含まれていること。

- ① 検体の種類
- ② 検査の実施の方法(検査法の名称、検査の具体的な手順等)
- ③ 試薬等の選択及び調製の方法
 - ア 試薬及び試液の調製の方法
 - イ 標準品の選択及び標準液の調製の方法
 - ウ その他試薬等の選択又は使用に関する注意事項
- ④ 試料の調製の方法
 - ア 試料採取の方法(採取量を含む。)
 - イ 前処理の方法
 - ウ 試料溶液の調製の方法

- ⑤ 検査に用いる機械器具の操作の方法(機械器具の選択又は使用に関する注意事項、機械器具の洗浄の方法等を含む。)
- ⑥ 検査に当たっての注意事項(試料等の処理又は反応条件、試料採取後の試験品又は試料溶液残部の保存方法等)
- ⑦ 検査によって得られた値の処理の方法
 - ア 結果を算出するための計算方法(回収率を算出するための計算方法を含む。)
 - イ 結果の評価方法(検出限界又は定量限界等の設定、空試験又は対照試験との関係を含む。)

(2) 「検査に関する記録の作成要領」には、次の帳簿への記載事項が含まれていること。

ただし、⑧から⑰までの事項については、帳簿とは別にデータ等としてその記録を保存する場合には内容を確認した旨の記載で差し支えないこと。

- ① 検査を受けた者の氏名及び住所(法人の場合は、その名称及び所在地)
- ② 検査を行った年月日
- ③ 検査を行った生物等の名称
- ④ 検査を行った検体の数量
- ⑤ 検査を実施した検査員の氏名
- ⑥ 検体番号
- ⑦ 検査の方法の名称、具体的な手順等
- ⑧ 試薬等の選択又は使用の記録
- ⑨ 標準品の選択及び標準液の調製の記録
- ⑩ 試料採取の記録
- ⑪ 前処理の記録
- ⑫ 試料溶液の調製の記録
- ⑬ 機械器具の選択、使用、洗浄等の記録
- ⑭ 結果を算出するための計算の記録
- ⑮ 結果の評価の記録
- ⑯ 検査実施中の異常及びその対応に関する記録(データの記録及び保管を含む。)
- ⑰ 検査の結果