

# 久留米大学における遺伝子組換え実験について

久留米大学遺伝子組換え安全主任  
濱田信之  
(感染医学講座臨床感染医学部門 (旧ウイルス学))

# 遺伝子組み換え マウス逃げ出す 成田空港・すぐに捕獲

輸出のため成田空港に運び込まれた遺伝子組み換えマウス1匹が今年1月、保管中に逃げ出していたことがわかった。文部科学省が2日発表し

た。遺伝子組み換え生物は、環境に出ると生態系に悪影響を与えるおそれがあるため、法律で厳重な閉じ込めが義務づけられている。すぐに回収されたが、文科省は、マウスを作製・搬入した実験動物中央研究所(川崎市)に厳重注意した。

文科省によると、マウスは人間の白血病の研究などに使われるもので、輸出するため同研究所が1月23日、40匹を5匹ずつ箱に入れて成田空港の動物室に搬入した。

翌日、飛行機に積み込もうとしたところ、作業員が輸送箱から逃げ出したマウス1匹を動物室内で見つけ、捕まえた。箱の一つに穴が開いており、マウスが箱を食い破って出たらしい。

動物室には40匹のほか、マウスはおらず、逃亡中に交尾した可能性は考えられないという。

同研究所はマウスを逃がさないよう箱の内側に金網をつけることにしているが、今回の箱にはついていなかった。

# 文部科学省による嚴重注意処分例

(第1回研修会(2007年3月)以後)

施設	日付	違反内容	原因
1 千葉県がんセンター	5月18日	組換えアデノウイルス無断使用	審査担当者
2 タカラバイオ株式会社	9月7日	組換えレトロウイルス流しに廃棄	実験責任者
3 国立大学法人千葉大学	10月18日	組換えワクシニアウイルス無断使用	審査担当者
4 学校法人兵庫医科大学	10月18日	組換えマウス実験室入口掲示なし	実験責任者

## 内容

事例1 増殖型アデノウイルスの使用(大臣確認)

類似の事例で、制限増殖型アデノウイルスによる癌治療(大臣確認)

事例2 遺伝子組換え生物を環境に拡散させた。30 $\mu$ l, 500  $\mu$ l

事例3 組換えワクシニア $\rightarrow$ T7RNA polymeraseの供給によく使われていた。  
多分、惰性で使い続けたのだろう(大臣確認)。

事例4 掲示が風で飛んだ?

## 2機関における遺伝子組換え生物等の不適切な使用等の具体的内容

機関名	使用した遺伝子組換え生物等	経緯	原因	再発防止策
千葉大学 (千葉県千葉市)	遺伝子組換えワクチンウイルス	<ul style="list-style-type: none"> <li>平成19年3月現在で進行中の遺伝子組換え実験について機関内で自主点検を行った結果、必要とされる大臣確認を受けないまま機関内での承認のみで実施していた実験(平成17年1月～平成19年3月に実施)が発覚。</li> <li>実験終了時点で、使用した遺伝子組換えウイルスは適切に処分されている。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>審査担当者等の法令に対する不十分な理解</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>教育訓練の充実</li> <li>機関内審査体制の強化</li> <li>実験計画書様式の変更</li> </ul>
兵庫医科大学 (兵庫県西宮市)	遺伝子組換えマウス	<ul style="list-style-type: none"> <li>平成19年7月、機関内における自主点検の見回りの際、<u>執るべき拡散防止措置を執らないまま(実験室の入口に必要な表示をしていないまま)実施している実験が発覚。直ちに実験を停止。</u></li> <li><u>事態発覚後直ちに、使用した遺伝子組換えマウスは適切に処分されている。</u></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>実験担当者等の法令に対する不十分な理解、自覚</li> <li>実験責任者等の指導・監督不足</li> <li>教育訓練の不足</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>教育訓練の充実</li> <li>内部監査の実施</li> <li>機関内安全委員会の状況把握体制の強化</li> </ul>

規 制

明治製菓が組み換え微生物流出事故で嚴重注意

# 「知らなかった」は通用せず カルタヘナ法の順守徹底を

明治製菓の研究所で組み換え微生物が屋外に流出。文科省は社名を公表し嚴重注意した。しかし、違法事例はほかにも多数ある。文科省は悪質な例には刑事告発も辞さない構えだ。

## カルタヘナ議定書担保法違反で、文部科学省が嚴重注意を行った機関

### 機関名

国立大学法人 など	北海道大学、山形大学、東北大学、筑波大学、群馬大学、東京大学、東京医科歯科大学、浜松医科大学、名古屋大学、三重大学、京都大学、神戸大学、徳島大学、 <u>広島大学</u> 、九州大学、長崎大学、自然科学研究機構
公立、私立大学	福島県立医科大学、横浜市立大学、北里大学、慶応義塾大学、順天堂大学、東京理科大学、東海大学
試験研究機関、 独立行政法人など	国立医薬品食品衛生研究所、国立成育医療センター、国立がんセンター、国立精神・神経センター、国立長寿医療センター、近畿中央胸部疾患センター、農業生物資源研究所、東京都医学研究機構、大阪府立母子保健総合医療センター、国立感染症研究所、国立国際医療センター
民間企業など	万有製薬、オリエンタル酵母工業、ケー・エー・シー、大正製薬、ナルク、三協ラボサービス、日本医科学動物資材研究所、ラボプロダクツ、大阪バイオサイエンス研究所、ひろしま産業振興機構、 <u>実験動物中央研究所</u> 、日本エスエルシー、明治製菓、ゲン・コーポレーション

文部科学省の発表資料や取材内容を元にして、編集部で作成(05年11月1日現在)

(様式 1-1)

計画申請番号	
--------	--

第二種使用等遺伝子組換え実験計画申請書 【 新規・変更 】

年 月 日

久留米大学学長 殿

氏名  
申請者  
所属  
印

第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置が定められている実験の 実施 を、次のとおり申請します。  
計画変更

変更事項は 【 実験責任者 実験従事者 宿主・ベクターの変更 その他 】 である。

- (注)・変更事項を○で囲み、以下に第二種使用等の名称と変更事項のみを記入してください。
- ・宿主・ベクターの変更の場合は大臣確認実験の有無、大臣確認実験の有無を記入してください。
  - ・その他の場合は別紙に変更事項を具体的に記入してください。

		電話番号				
	大臣確認実験の有無	有 ・ 無				
	PIB1実験以外の遺伝子組換え実験予定の有無	有 ・ 無				
事務連絡先	実験責任者	所属名及び職名				
		氏名				
		連絡先				
		電子メールアドレス				
	実験従事者 (実験責任者を含む)	氏名	所属名・職名	教育訓練受講の有無 (有りの場合は受講終了番号)	病原微生物取扱経験(1年以上)の有無	遺伝子組換え実験経験(1年以上)の有無

# 本日の話しの内容

遺伝子組換え実験規制の歴史

久留米大学における遺伝子組換え実験規制

遺伝子組換え実験概説

# 遺伝子組換え実験規制の歴史

# 日本における遺伝子組換え研究の規制

1979年8月初版 **組換えDNA実験指針**の告示

1981年全面改定

2002年全面改定

2004年2月19日廃止、  
同時に

「**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**」、通称「**カルタヘナ法**」告示

2006年2月認定宿主ベクター系の一部を改正する告示  
ファージの使用が大臣確認実験から除外される

10回の改定

# 遺伝子組換え生物規制法の成立とその背景

蛋白質核酸酵素 VOL. 49 (NO. 4), 2004 依田次平

「遺伝子組換え生物」が問題となった例

1. 組換え**ジャガイモ** ラットの免疫低下  
Lancet 1999、発表者 研究所解雇
2. Bt導入**トウモロコシ**の花粉のついたトウワタの葉  
オオカバマダラ幼虫の成長障害  
Nature (1999)、誇大データと発表者認める
3. 組換え**トウモロコシ**塩基配列がメキシコトウモロコシ  
原産種から検出  
Nature (2002)

**本来、野外利用のみ法制化すればよかった。**

**(農水省、経済産業省)**

「ヒトの健康に対するリスクも考慮し」

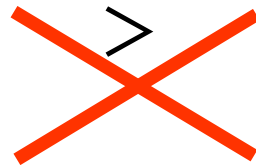
**(文部科学省、厚生労働省)**

# 久留米大学における遺伝子組換え実験規制

# 久留米大学遺伝子組換え実験安全管理規程 久留米大学遺伝子組換え実験指針

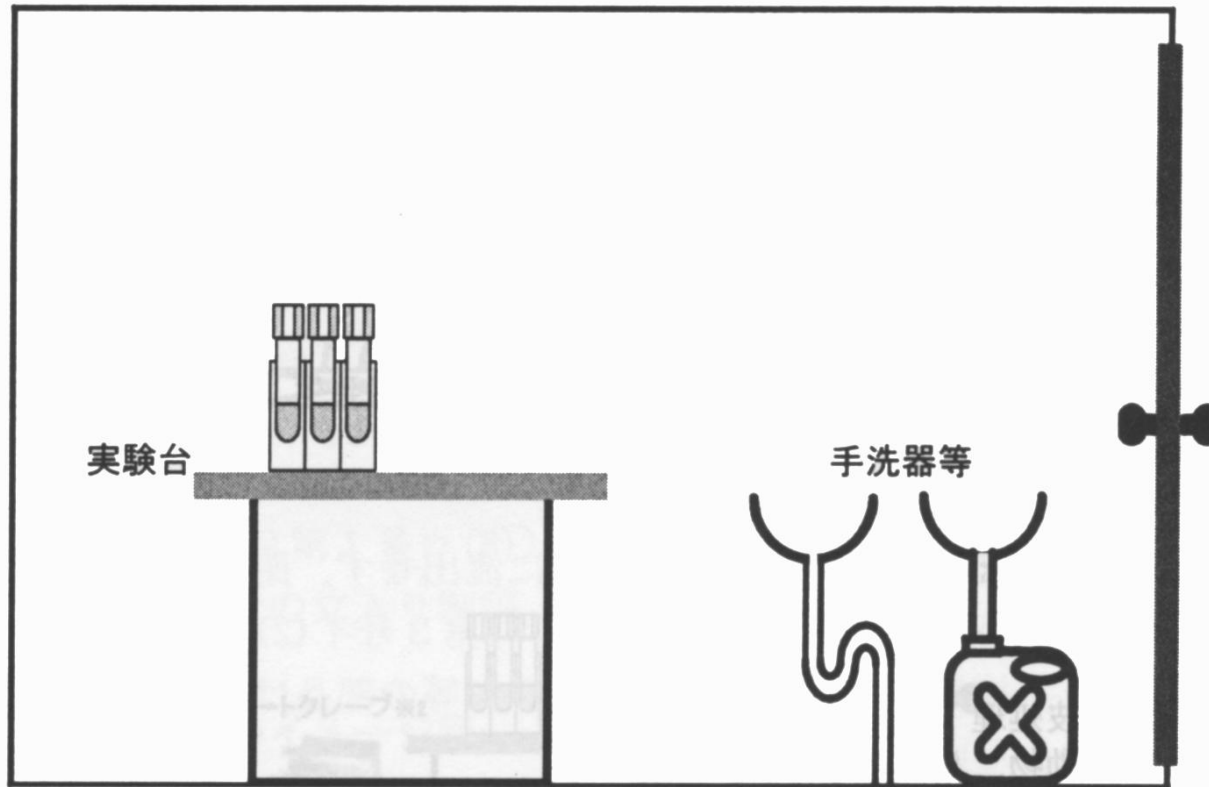
カルタヘナ法等に基づいて2004年4月改定  
2006年秋改定

規制の強さ



# 誤解を招くP1実験施設のイメージ図

図1 P1レベルの実験室のイメージ図



- ・ 通常の生物の実験室
- ・ 窓の閉鎖、扉の開放厳禁
- ・ 入室制限 等

# 久留米大学で簡単に起こりうる事例(仮想)

認定系の大腸菌に毒性にかかわらないヒトの遺伝子-pUC119を導入し、一晚増殖させた(培養液20000.0 ml)。

申請-承認(届出)がなければ

不正におこなわれた  
遺伝子組換え実験として、**学内処分**

実験従事者が培養液に異臭がするとして、コンタミを疑い、全てを下水に流した。

P1レベル  
拡散防止措置  
がとられなかった。

法第15条 事故時の措置(生物の多様性を確保.....)

応急措置

事故の状況、経過を大臣に届け出義務(報告徴収)

**措置命令**

**刑事罰による処罰**

責任者 罰金刑、懲役1年以下

学長 罰金刑

**現在  
嚴重注意処分**

# 遺伝子組換え実験の指針及び管理規程の趣旨

○遺伝子組換え生物を環境に拡散させない。

健康被害防止(注:この部分ないに等しい)

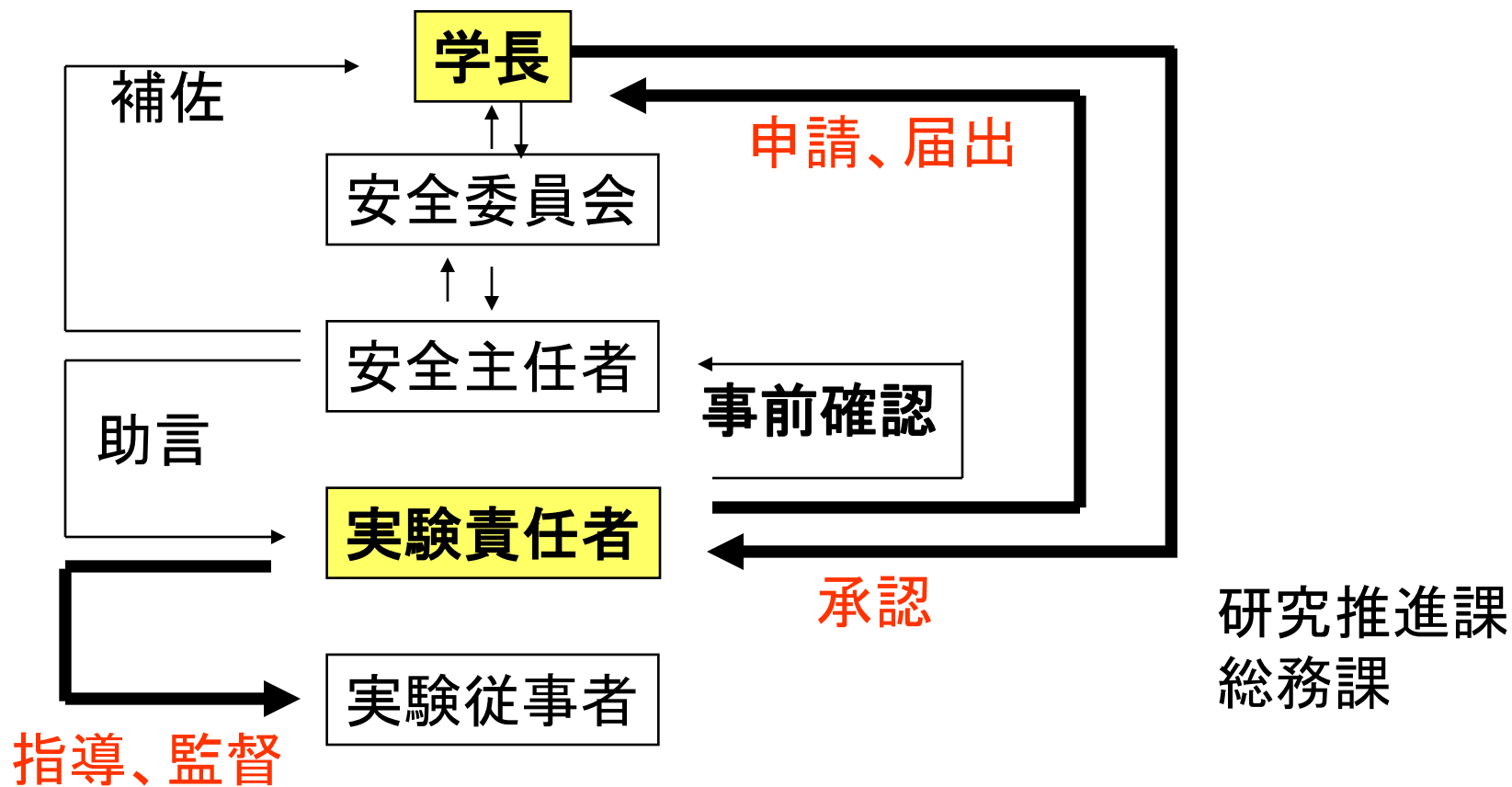
○学内における法の遵守の徹底

関係する  
メンバー

学長、総務課  
研究推進課  
安全委員会(委員長)  
安全主任

所属長  
実験責任者  
実験従事者

# 実験の安全を確保するための組織



# 遺伝子組換え実験概説

# 第二種使用とは

(第一種使用はすべて大臣承認実験)

- 実験** 1) 拡散防止措置が定められているもの  
          **機関承認実験**  
          **機関届出実験**
- 2) 拡散防止措置が定められていないもの  
          **大臣確認実験**(文部科学大臣)
- 保管** 拡散防止措置が定められている。
- 運搬** 拡散防止措置が定められている。(譲渡における注意)

# 遺伝子組換え実験の種類

## 具体例

微生物使用実験 大腸菌を使ったプラスミドの増殖

## 動物使用実験

動物作成実験 ノックアウト、トランスジェニックマウスの使用

動物接種実験 ウイルスベクターの動物への接種

# 遺伝子組換え実験とは？

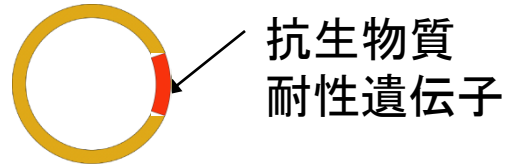
核酸供与体

ヒト

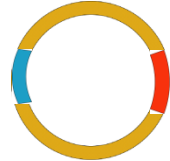
供与核酸

グロビンcDNA

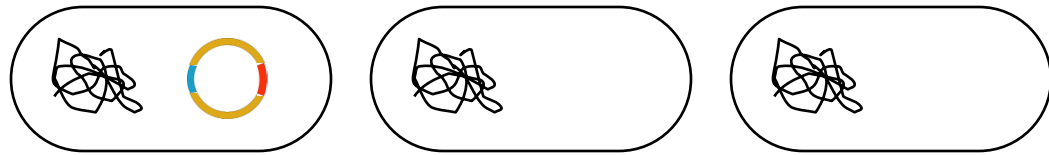
ベクター



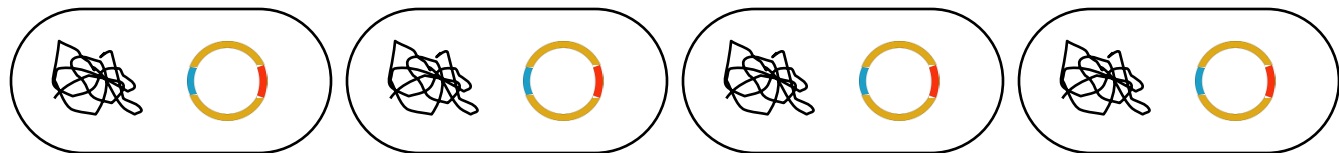
組換え核酸



宿主



遺伝子組換え生物



申請書の記入に際しての疑問点？

「ウイルスをベクターとして使っても宿主の項目に入れる」

カルタヘナ法ではウイルスは生物と規定。  
従って、ウイルスベクターに目的の遺伝子を  
挿入する実験は、**遺伝子組換え生物をつくる  
実験**となる。

# 事前確認時、チェックをしている重要な事項

申請者の認識の程度（規程第8条第2項主任者の義務）

## 核酸供与体

毒素遺伝子

病原体のリセプター遺伝子

## ベクター

当該遺伝子の前後に挿入される  
異種の遺伝子で、かつORFの一部

## ノックアウト、トランスジェニックマウス使用

目的の遺伝子以外に使用した遺伝子

マップの添付  
を必須としている。

# 安全確保の方法

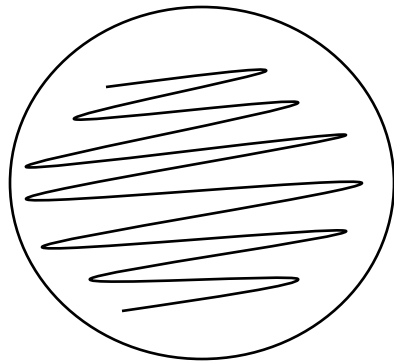
## 1. 物理的封じ込め ＝拡散防止措置

P2安全キャビネット、オートクレーブの設置  
動物実験—マウス返しの設置

## 2. 生物学的封じ込め 安全な宿主—ベクター系を用いる

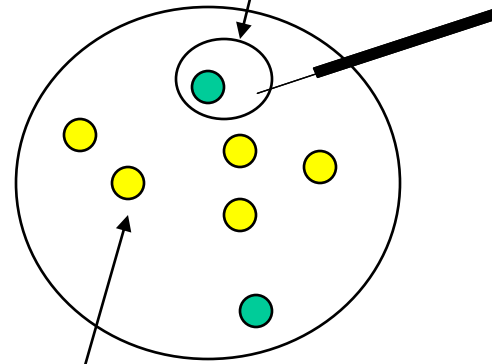
P1B1, P1B2のみ(当研修会受講により届出のみで実施可能)

微生物の取り扱いに習熟していなければならない。  
(管理規程第10条) 担保する資格審査なし。



認定系大腸菌？  
(研究者から分与)

認定系以外の細菌の混入



認定系大腸菌

# 拡散防止措置

## 微生物使用実験

P1 (P1B1, P1B2)

P2 (**安全キャビネット**、P2レベル実験中の掲示)

P3 (2008年医学部基礎一号館6階稼動予定)

動物使用実験 **ネズミ返し(45 cm)設置**を義務付け

P1A

P2A

(P3A)

# 安全度評価及び拡散防止措置の基準

1. 省令の文部科学大臣が定める微生物は**告示の別表2** (2006年2月に改定)の分類に従って安全度評価をおこなう。この表で宿主、ベクター、核酸供与体などの評価をおこなう
2. 拡散防止措置は宿主、ベクター、核酸供与体などの組み合わせのうちもっとも高いレベルの安全度評価に従う。
3. 認定系、特定認定系は同告示別表1
4. ウィルス及びウイロイドは**同告示別表3**

# 安全度評価の分類

クラス1

クラス2

クラス3

クラス4

# クラス1

大腸菌 K12株

パルボウイルス

ファージ

魚ウイルス、昆虫ウイルス(バキュロはここ)、植物ウイルス

## クラス2

猫引っかき病の病原体 (*Bartonella henselae*)

百日咳菌

オウム病クラミドフィラ

ボツリヌス菌

緑膿菌

コレラ菌

アデノウイルス

単純ヘルペスウイルス

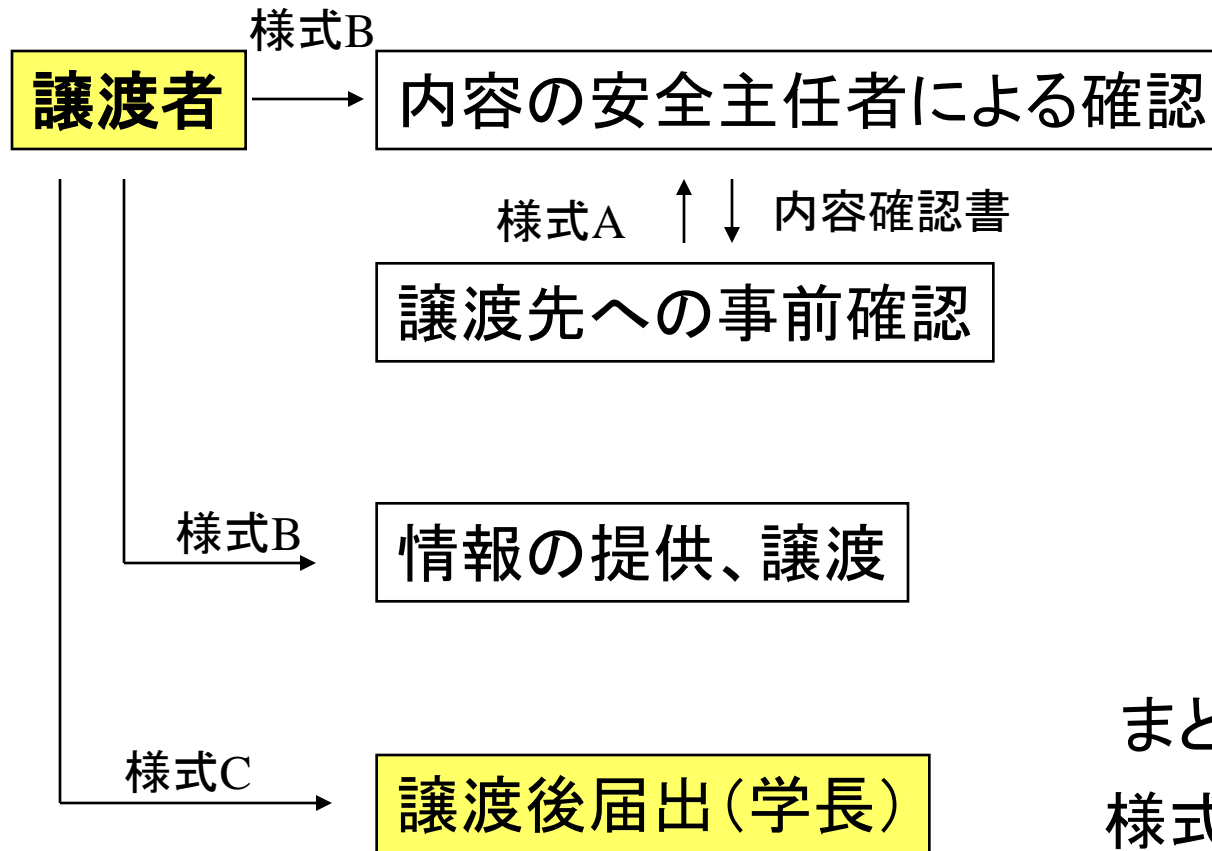
哺乳類のレトロウイルス

ヒト免疫不全ウイルス(増殖力欠損株)

C型肝炎ウイルス

トリパノソーマ全種

# 遺伝子組換え生物等の譲渡



まとめると

様式C 正本提出

様式A, B コピー提出

なぜこんなめんどくさいことやらなくてはならぬ？ RIとの違い

# なぜ購入したもののまでチェックを要したのか (商品だから事前に監督官庁の役人がチェックしているだろう?)

安全主任であることは明かさず質問してみた。  
「非増殖型アデノウイルスの実験の拡散防止措置？」

質問の意図はいじめるためではなく、当該アデノウイルスの型を知りたかったため

〇〇ジェン(株)の担当者さえ法律を理解していなく、無責任な回答をした(2004年)、一週ほどして丁重な訂正のメールがきた。

論文に発表しているものまでなぜ詳細なチェックを要したか？  
なぜメジャーな大学の意見まで疑い出したか。

ほとんどのメジャーな大学が文部科学省より  
嚴重注意処分を受けた。

米国はカルタヘナ法に調印していない。

↓  
主任者の仕事を軽減、実験者責任者の役割を  
明確にするため。全ての申請書に次の項目をいれる。

大臣確認実験ですか。

申請書に書かれた事項を遵守します。

# ファージの実験を大臣の確認をせずにおこなっていた可能性があった(久留米大学)

主任者の考え方(どれほど深刻に考えたか)

処分対象者

○法成立後は大臣確認、以前も大臣確認→  
学長  
所属長  
実験責任者

○論文を出していたら、取り下げ申請  
(ゲラなら取り下げ)  
学会発表(地方会含む)の取り下げ

○企業との関係あれば、特許など含めてすべて取り下げ

**不法におこなわれた遺伝子組換え実験**

決められた拡散防止措置の徹底をお願いします。

# 平成20年度 更新用課題

【修了証番号                      所属                      氏名                      】

課題1 P1の遺伝子組換え実験を行なうに当たり、学内規程及びカルタヘナ法にてらして留意すべき点を、具体的に箇条書きで述べてください。

課題2 遺伝子組換え実験の規制について、文部科学省からはポジションペーパー（研究開発二種省令に規定された語句などの範囲を明確にしたもの）が不定期に出されます。たとえば「[C型肝炎ウイルス等の大臣確認申請に係る考え方（平成19年3月12日）](#)」などがあります。[第1回研修会以降に発表されたポジションペーパーの一つに、「研究開発二種省令別表第一第一号へに該当しないウイルス及びウイロイドに係る考え方（平成19年5月14日）」](#)があります（添付PDF）。この文書を読んで、大臣確認実験となる、制限増殖型ウイルスを使用する実験について概説してください。

# 久留米大学遺伝子組換え実験安全委員会HP

<http://www.med.kurume-u.ac.jp/med/joint/kumikae/index.htm>

このホームページは久留米大学での遺伝子組換え実験についての申請手続や遵守すべき事項について説明しております(様式ダウンロード可)。

久留米大学トップページ → 学内向けページ → 遺伝子組換え実験安全委員会  
<http://www.kurume-u.ac.jp/>

旭町ネットワーク管理室 → 遺伝子組換え実験安全委員会  
<http://inwww.med.kurume-u.ac.jp/>

## 参考図書

### 「よくわかる！研究者のためのカルタヘナ法解説」 — 遺伝子組み換え実験の前に知るべき基本ルール —

監修 国立感染症研究所 前所長 吉倉 廣  
編著 遺伝子組み換え実験安全対策研究会

貸出しをしておりますので、興味のある方は  
研究推進課(内線2262 本部3階北側)へお問い合わせください。