

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))

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。

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匹のほかにマウスはおらず、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。

久留米大学で
もし起こったとすると、

1. 探す
2. 嚴重注意処分
学長など
3. 再発防止策の策定
及び報告

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 μ l, 500 μ 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?

最近の処分で特に有名になったもの（2008年6月）

遺伝子組換え生物等の不適切な使用等についての嚴重注意について

平成20年6月20日

文部科学省

この度、**国立大学法人神戸大学**、国立大学法人東北大学、学校法人日本大学及び学校法人近畿大学において、-----**嚴重に注意**しましたので、お知らせします。

文部科学省は、「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。)に基づく適切な措置を執らずに遺伝子組換え生物等の使用等を行っていた-----

(1) 神戸大学について

ア 遺伝子組換え**大腸菌等を不活化処理しないまま廃棄する等**-----

イ -----

ウ -----**再発防止のための**-----**今後一**
定期間、拡散防止措置が適切に執られているかについて報告させることとしてい
ます。

神戸大学より提出された経緯、原因及び再発防止策の概要

1. 経緯

当省よりの連絡を受け、平成20年3月18日及び21日、遺伝子組換え実験安全委員会委員等により、関係する研究室に対する実地調査を行った。その後、28日には安全委員会を開催し、安全委員会として本格的な調査を開始することとし、当該研究室大学院生等への聞き取り調査を行うとともに、研究室内実験台や医学研究科構内の下水における遺伝子組換え大腸菌及び同分裂酵母の残存の有無を確認する同定検査を実施。

一連の調査の結果、当該研究室では、過去6年にわたり、廊下に設置した培養器内で遺伝子組換え大腸菌及び同分裂酵母を培養していたこと、これらを含む寒天培地や培養液を不活化処理せずに廃棄していたことが判明した。

2. 原因

- (1) 実験責任者の遺伝子組換え大腸菌等は人体への病害性がないものであるという確信によって、生物多様性の確保という法の趣旨に対する理解が不十分であった。
- (2) 大学院生等の実験従事者に対する適切な指導・監督を実験責任者が怠ったため、遺伝子組換え大腸菌等を不活化処理しないまま廃棄する等不適切な使用が常態化した。

3. 再発防止策

- (1) 法令等の周知及び実験責任者・従事者の教育・訓練並びに安全・科学技術倫理等の徹底を図るため、安全講習会等を定期的に実施する。
- (2) 実験施設等の点検、執られている拡散防止措置の検証等を定期的に実施し、遺伝子組換え生物の不適切な使用が常態化することを防止するシステムの確立を図る。
- (3) バイオ実験に係わる安全性を統括管理することを目的とするバイオセーフティ統括管理委員会を外部委員を加えて設置し、法令遵守の状況を専門的観点から調査・検討するとともに、大学の自主的な取り組みにより社会の信頼を深めて行くという考え方(レスポンス・ケア)の周知・徹底を図る。

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**

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

カルタヘナ法違反による罰則

刑事罰です

1年以下の懲役
100万円以下の罰金

本日の話しの内容

1. 遺伝子組換え実験規制の歴史
2. 久留米大学における遺伝子組換え実験規制
3. 遺伝子組換え実験概説
4. 申請の実際

1. 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

2008年11月認定宿主ベクター系の一部を改正する告示
多くの寄生虫の実験が大臣確認から除外される

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 研究所を解雇
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」

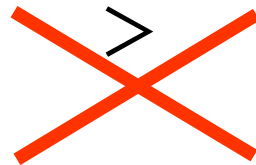
(文部科学省、厚生労働省)

2. 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(届出実験創設、研修会受講者の特典創設など)

規制の強さ



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

研究推進課

安全委員会(委員
長)

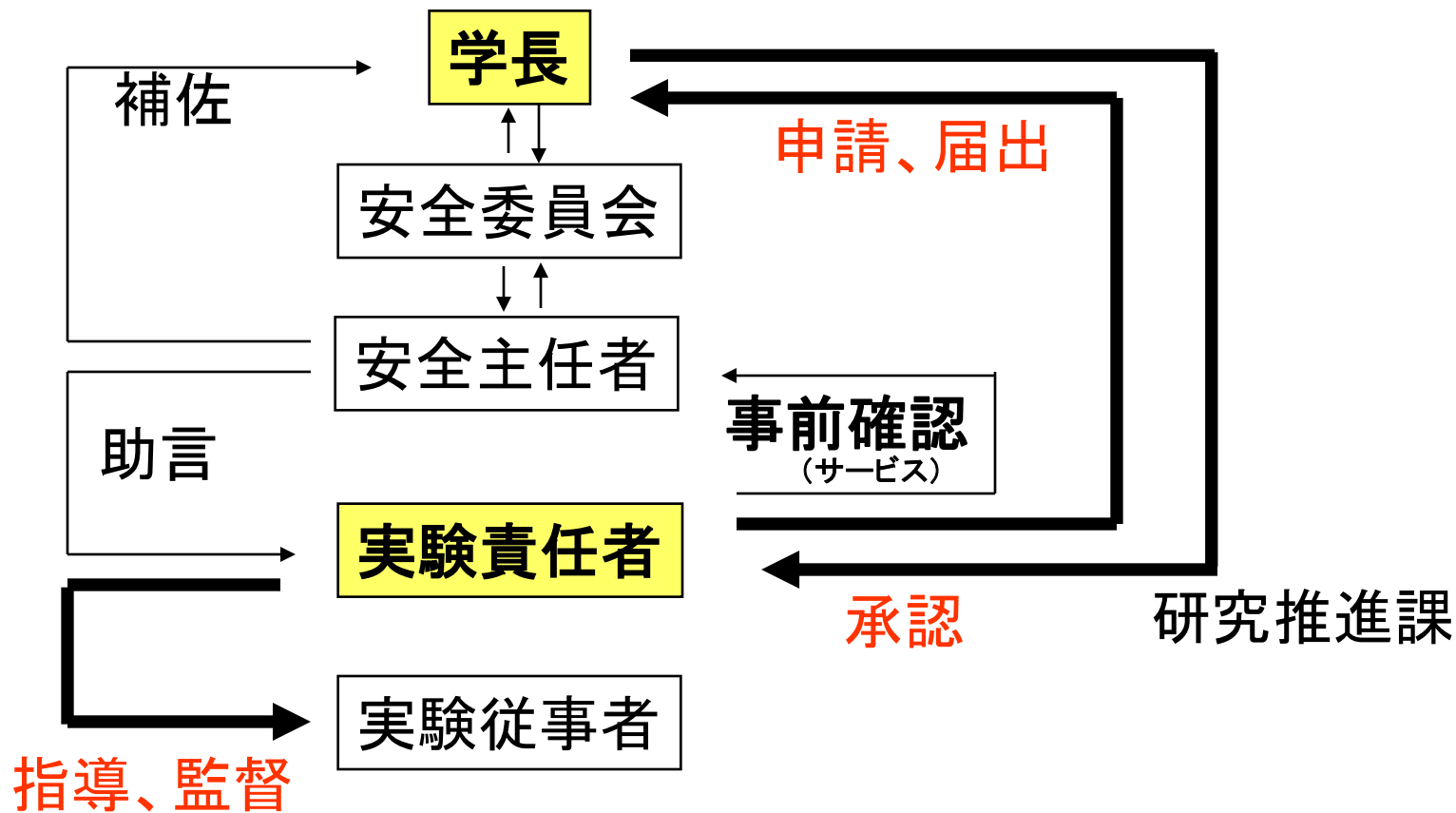
安全主任

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



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(研修会受講、P1B1&P1B2)
- 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)

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－ネズミ返しの設置

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)

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 (2009年医学部基礎一号館6階稼動中)

動物使用実験 **ネズミ返し(45 cm)設置**を義務付け

P1A

P2A

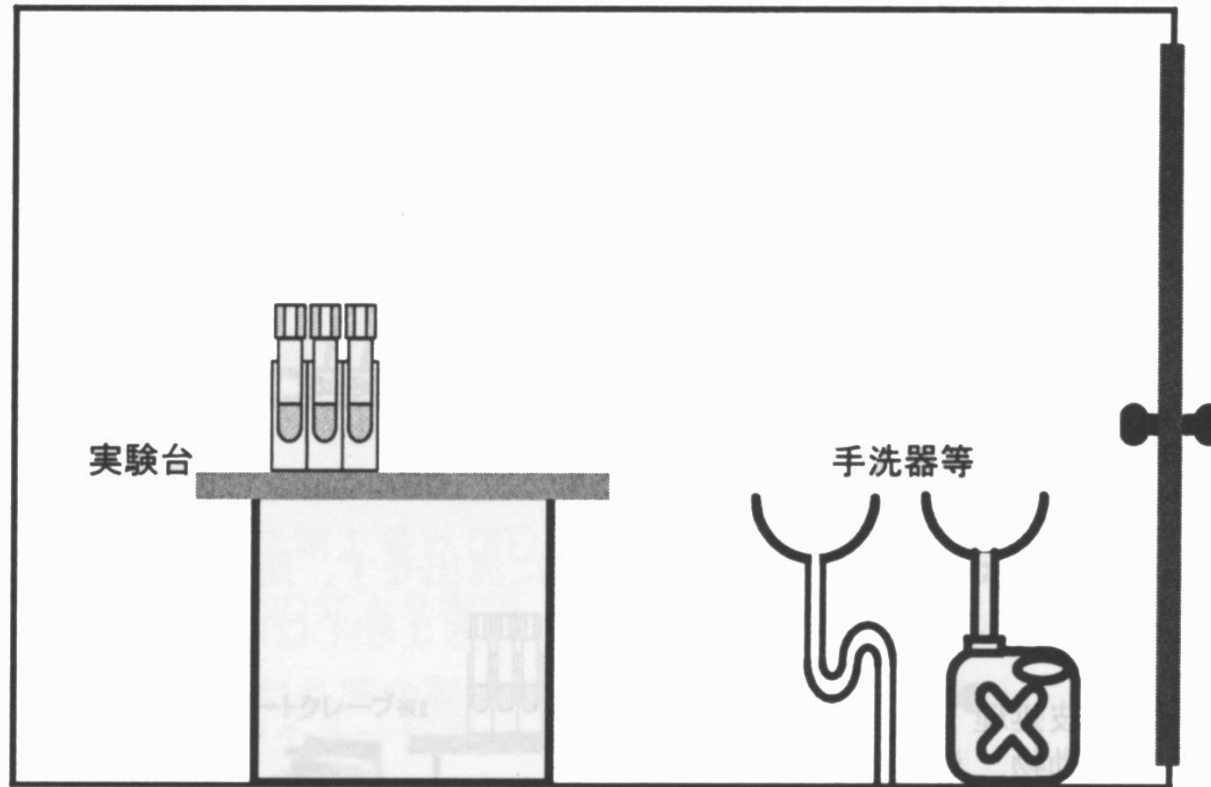
(P3A)

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** (2008年11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. ウイルス及びウイロイドは**同告示別表3**

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

~~培養器はスペースの関係で廊下に置こう~~

通常の心ある普通の研究者が誤解しがちなこと

カルタヘナ法は「遺伝子を自由に操作することで、強毒の微生物などが産生され、人間に危害を加えるのを心配して、規制しようとしたもの」



そういうものを含むが、どちらかというと
健康被害にはあまり関心がない

3. 遺伝子組換え実験概説

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？

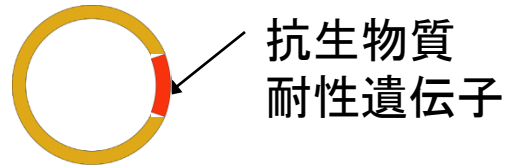
核酸供与体

ヒト

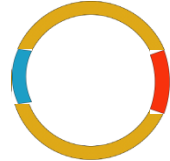
供与核酸

グロビンcDNA

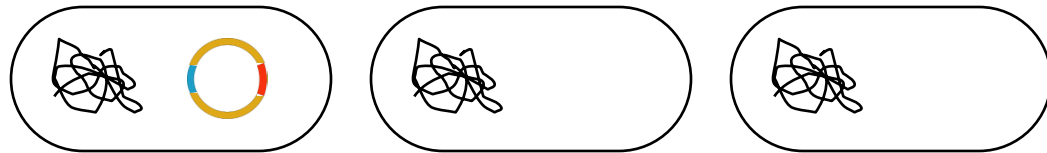
ベクター



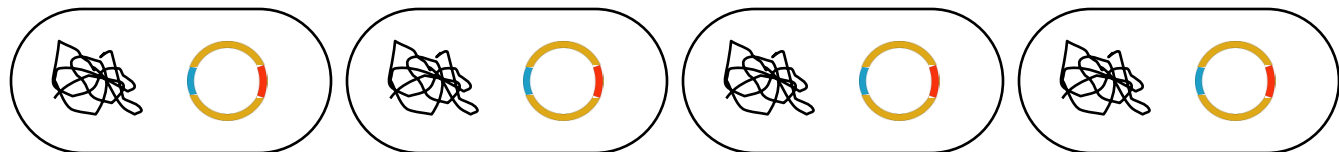
組換え核酸



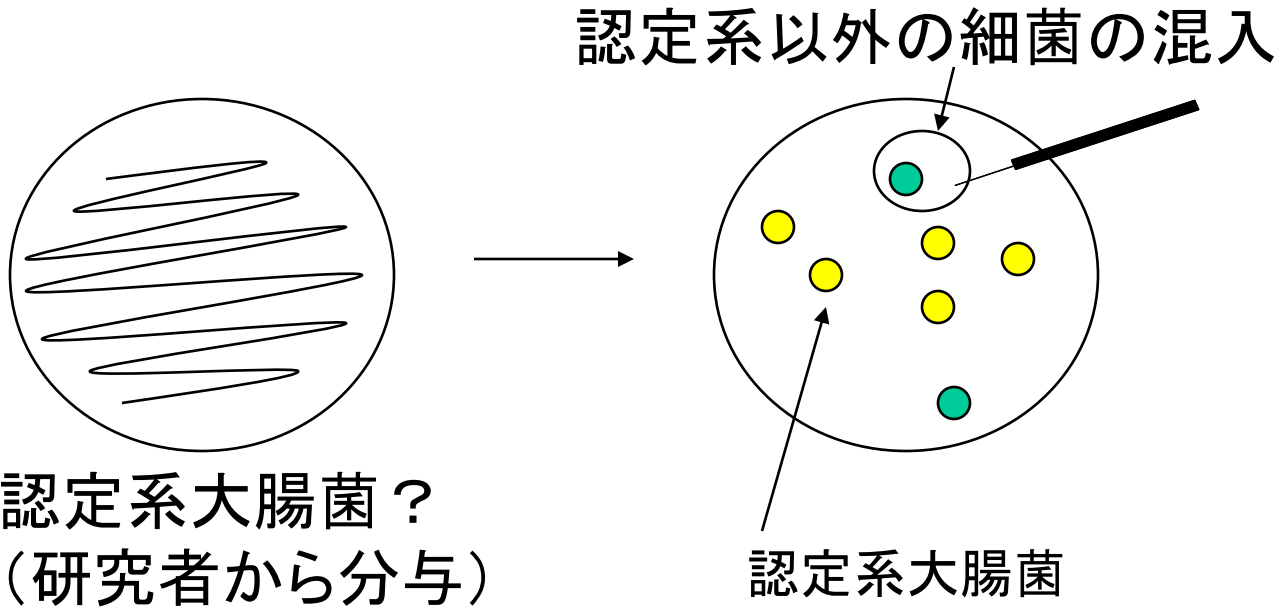
宿主



遺伝子組換え生物



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。**



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

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。

4. 申請の実際

久留米大学遺伝子組換え実験申請書

(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			
	PIBI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



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

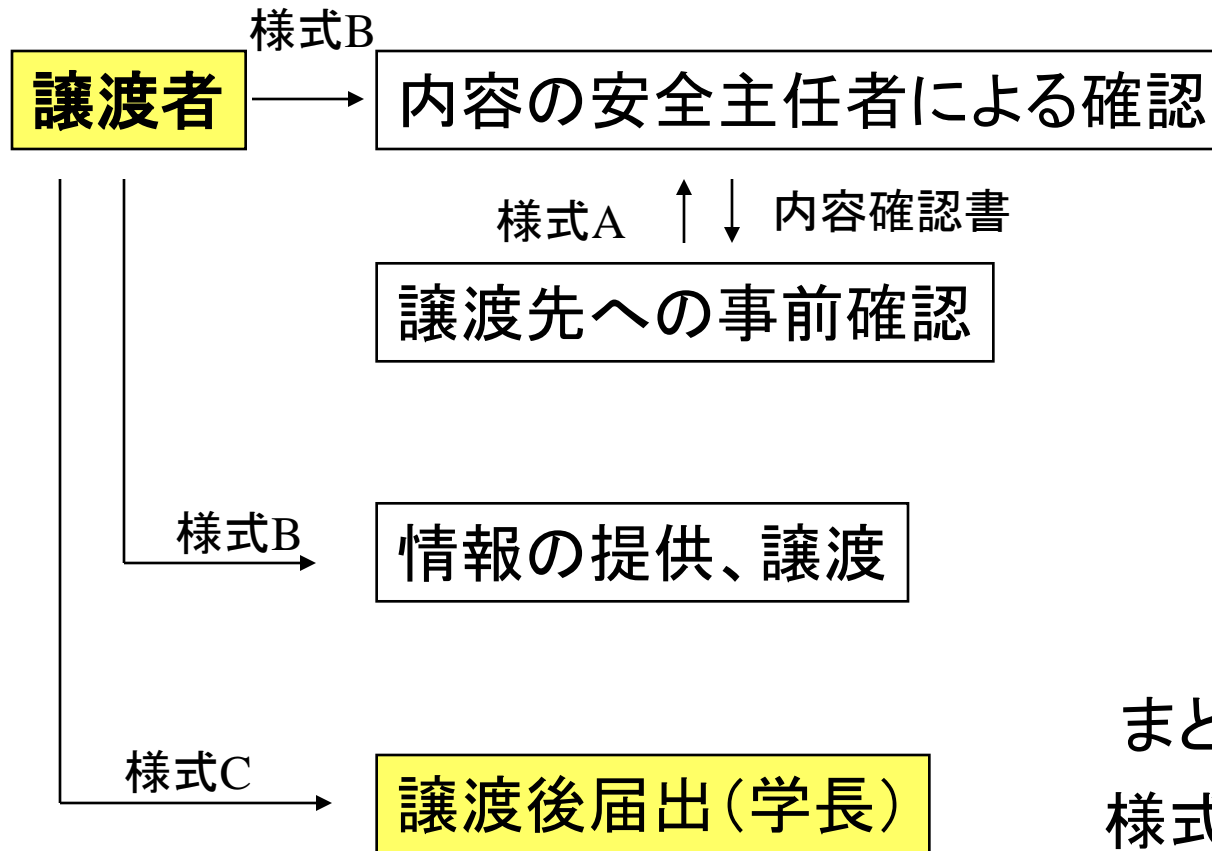
当該遺伝子の前後に挿入される
異種の遺伝子で、かつORFの一部

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。

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

最後に、

遺伝子組換え実験はテーマごとの個別の規制です。
今後、更新用の課題で規制の現状を紹介していきます。

決められた拡散防止措置の徹底をお願いします。

平成21年度の教育訓練

久留米大学遺伝子組換え実験安全管理規程第20条の規定に基づき、**教育訓練を実施いたします。なおこの訓練は平成20年度の教育訓練修了者のみを対象**としており、指定期間内での適切なお答えの返送によって、訓練修了とみなし、修了証の更新が認められます。

以下の課題についてお答えになり、メールアドレス _____ に、平成21年3月31日までに返送してください。

お答えの内容によっては、更新が認められない場合があるので、ご留意ください。

修了証番号	所属	氏名
-------	----	----

課題1 わが国において、カルタヘナ法が制定されすでに5年が経過していますが、研究者の自主性に任せられていた「古き良き指針の時代」の感覚から抜け切らない研究者がいまだに存在し、法律違反が頻発している。2008年に2回の嚴重注意処分を受けた神戸大学の事例の詳細が添付文書にあるが、それを読んで、組換え微生物の *Citrobacter rodentium* をマウスに接種する実験に関して、なにが法律違反であり、どうすれば法律違反が防げたのかを具体的に記述してください。

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。

添付の平成20年7月31日に出された、蛋白質毒素に関するものを読んで、大臣確認が不要かつ機関実験で実施可能な、遺伝子組換え毒素研究が備えるべき条件を箇条書きにまとめてください。

久留米大学遺伝子組換え実験委員会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き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
<http://www.kurume-u.ac.jp/>

→ 学内向けページ → 遺伝子組換え実験安全委員会

旭町ネットワーク管理室
<http://inwww.med.kurume-u.ac.jp/>

→ 遺伝子組換え実験安全委員会

参考図書

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

監修 国立感染症研究所 前所長 吉倉 廣

編者 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 本館3階北側)へお問い合わせください。