

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))

持田製薬株式会社、日本化薬株式会社及び**国立大学法人東北大学**において、遺伝子組換え生物等の不適切な使用等があり、本日、文部科学省としてこれらの研究所及び大学に対し、**嚴重に注意しました**のでお知らせします。



国立大学法人東北大学における遺伝子組換え生物等の不適切な使用等について

(1) 本年10月26日、国立大学法人東北大学(宮城県仙台市)より文部科学省に対し、同大学医学部動物実験室で飼育していた**遺伝子組換えマウスを誤って廃棄し、翌日 回収**したとの連絡があった。

(2) 文部科学省は、10月27日に現地調査を実施するとともに、同大学に対して、原因究明と再発防止策を講じることを指導した。詳細な状況は、以下の通り。

① 本年10月20日、同大学の医学部1号館動物実験室において、実験実施者が遺伝子組換えの新生仔マウス5匹を安楽死させた。この際もう1匹の仔マウスがいることに気付かず、作業を終了した。その後、飼育ケージ内の木質チップ床敷きを交換する際に、当該床敷きとともに仔マウス1匹を誤って廃棄した。廃棄物は一般ごみとして袋に入れ、同じ建物内の廊下に留置した。

② 翌21日、関係者が、廊下に**留置された袋の中に仔マウスがいることに気付き、回収して分析を行ったところ、遺伝子組換えマウスである**ことが判明した。

ご質問1

「BSL区分と遵守事項、滅菌・廃棄のルール」

ご質問2

「遺伝子改変マウスの取扱い上の注意を具体的に」



拡散防止措置 大腸菌もマウスも逃がすな！

第二種使用とは

(第一種使用(実験室外での使用など)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)

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年より医学部基礎一号館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

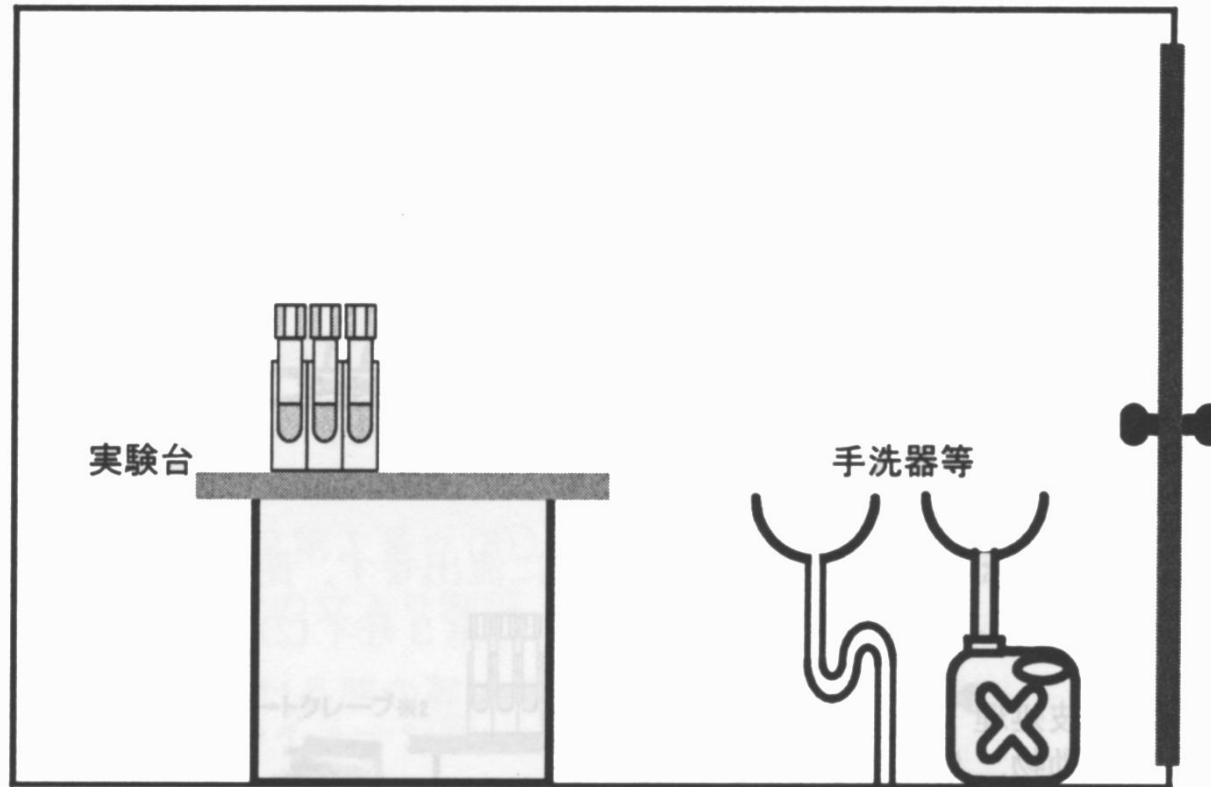
P1A

P2A

(P3A)

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~~

本日のお話

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

・・法律違反の例・・

法12条・・・拡散防止措置が不適切な例
法13条・・・大臣確認申請を怠った例
法26条・・・情報提供を怠った例

<http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/anzen.html#kumikae>

法令違反による嚴重注意処分は平成20年10月末現在でのべ68件

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

文部科学省（平成20年6月20日）

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**

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

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

2. 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

2010年3月1日認定宿主ベクター系の一部を改正する告示
レベル1がポジティブリストからネガティブリストへ
多くの細菌、ウイルス、寄生虫がリストに追加



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」

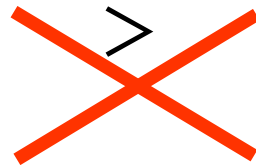
(文部科学省、厚生労働省)

3. 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)

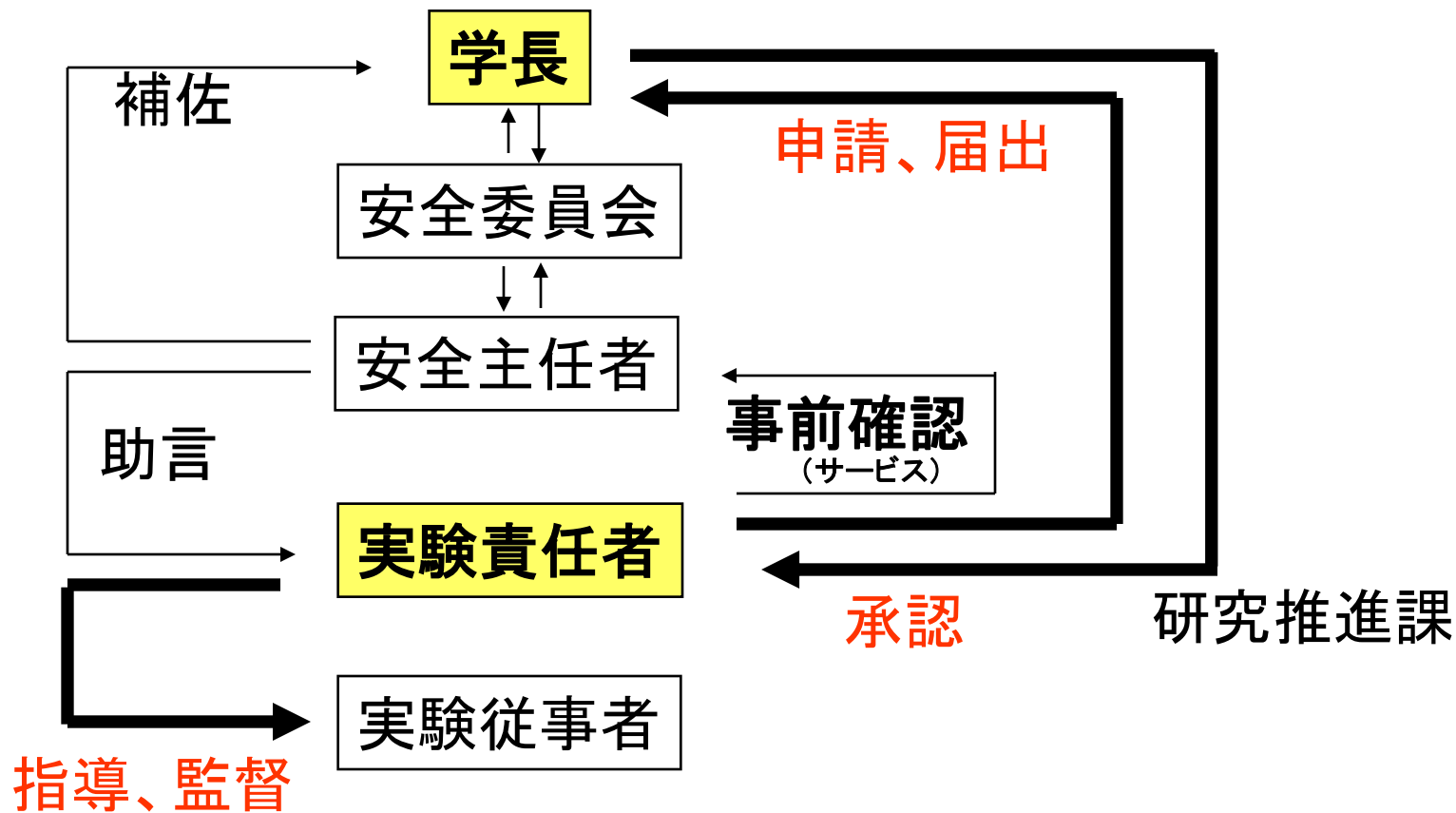
規制の強さ



久留米大学における遺伝子組換え実験の
規制はテーマごとに行われています。

つまりひとつのプロジェクトに1部の申請書
が必要です。

実験の安全を確保するための組織



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

第二種使用とは

(第一種使用(実験室外での使用など)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

実験室の見取り図を義務付けている理由

P1 (P1B1, P1B2)

P2 (**安全キャビネット**、オートクレーブ、P2レベル実験
中の掲示、保存機器に遺伝子組換え体保管中の掲示)

P3 (2009年より医学部基礎一号館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

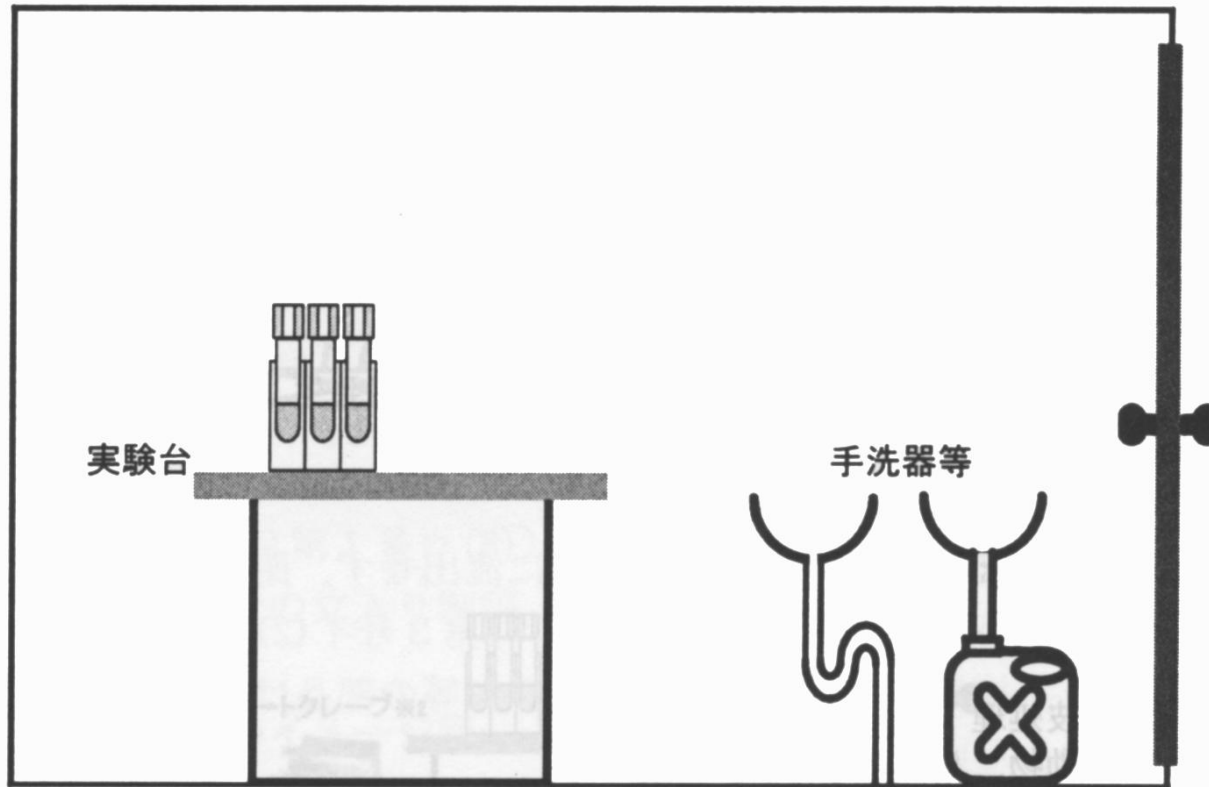
P1A

P2A

(P3A)

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

組換え実験 ヒヤリ・ハット集

遺伝子組換え生物の二種使用に当たっては、

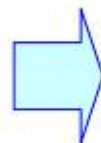
「**拡散防止措置**」を執る = 組換え生物を外部に拡散させない
ことが重要です。

省令に定められた拡散防止措置を執りつつ、

このヒヤリ・ハット集も参考に、事故を未然に防ぎましょう。

例えば・・・

- 実験室の扉を開けたまま実験した
- 拡散防止措置を執らずにマウスを運搬した
- 遺伝子組換え生物等を不活化せずに廃棄した
- 動物実験室に逃亡防止措置を設置していない
- 動物実験室に「組換え動物飼育中」の表示がない



外部へ組換え体が
拡散するおそれ

4. 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？

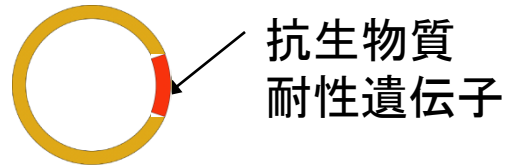
核酸供与体

ヒト

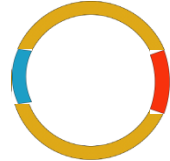
供与核酸

グロビンcDNA

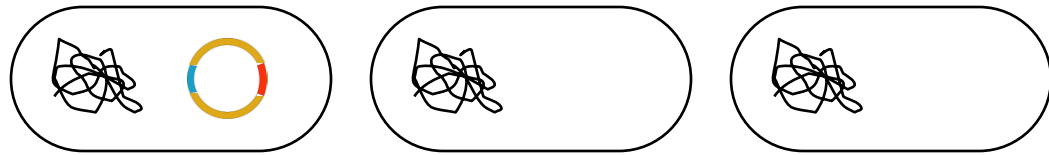
ベクター



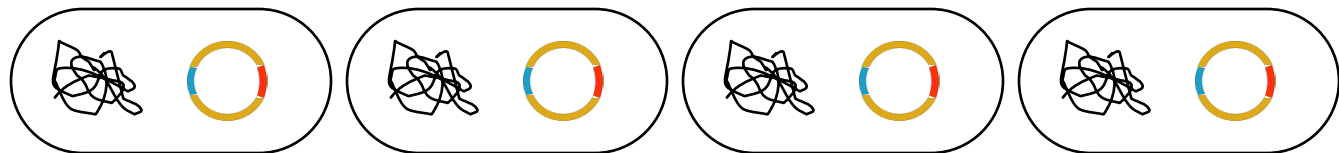
組換え核酸



宿主



遺伝子組換え生物



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。

5. 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

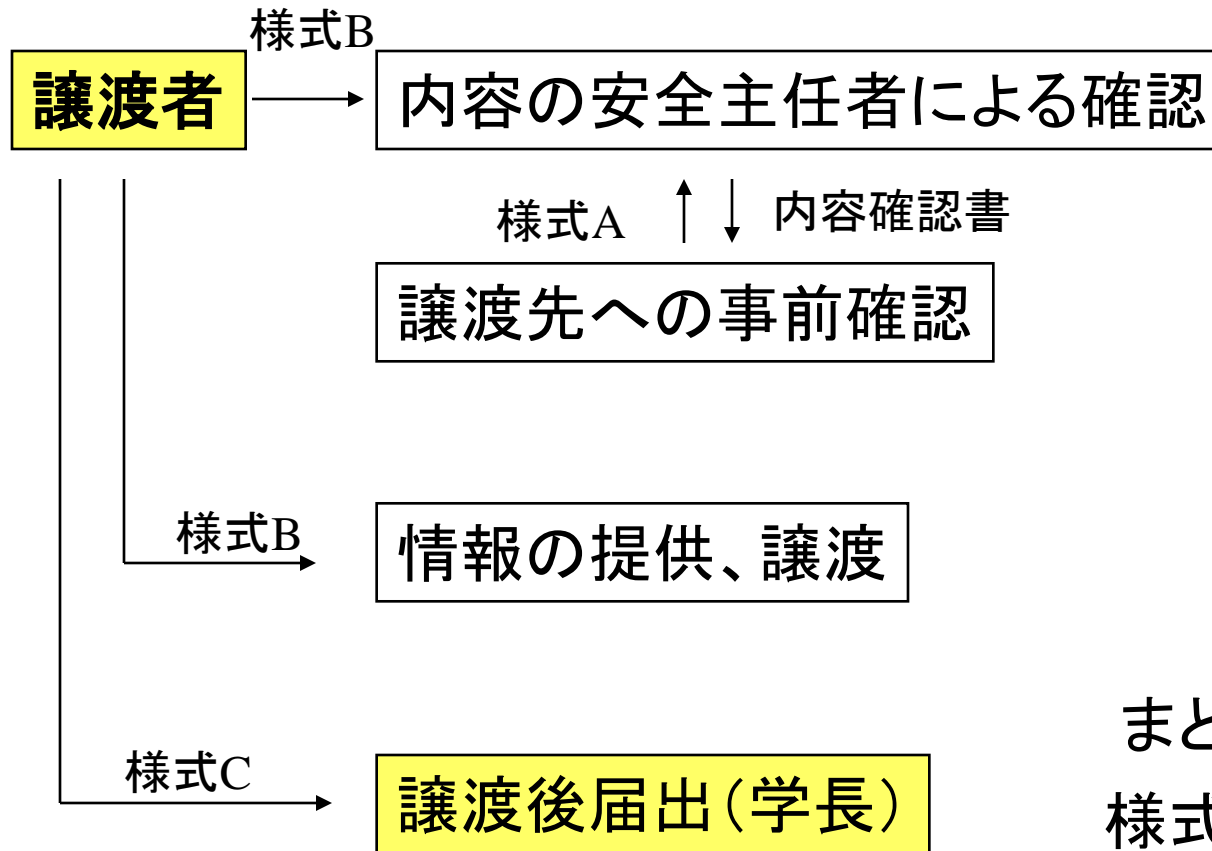
当該遺伝子の前後に挿入される
異種の遺伝子で、かつORFの一部

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。
申請書の書き方は大学の例規集にあるHPに掲載しています。
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。