

久留米大学における 遺伝子組換え実験について

遺伝子組換え実験安全委員会
安全主任 齋藤成昭 (分子生命 細胞工学)

組換え生物の取扱いにかかわる主な法令・規則

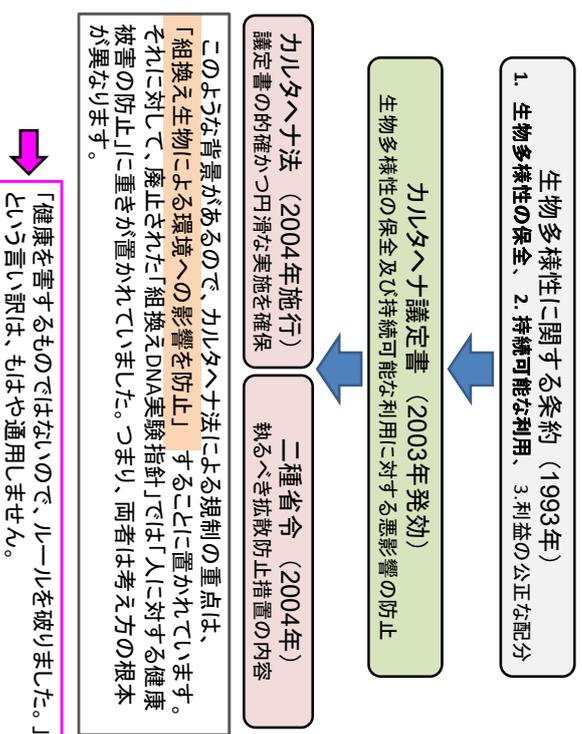
- ★ 遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律 (カルタヘナ法)
(法律違反者には担当大臣から命令が下され、その命令に従わない場合には罰則が科せられます)
- ★ 研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき
拡散防止措置等を定める省令 (研究開発二種省令)
(組換え実験を行う場合には、この省令で定められた拡散防止措置を執らなければなりません)
- ★ 久留米大学 遺伝子組換え実験指針
- ★ 久留米大学 遺伝子組換え実験安全管理規程
(上記の法令を守りつつ、安全に遺伝子組換え実験を行うために定められた久留米大学の内規です)

<http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/kankeihourei.html>
<http://www.med.kurume-u.ac.jp/med/joint/kumikaie/index.htm>
に、上記規則および関連情報が記載されています。ご一読ください。

topics

- ・ カルタヘナ法とは？
- ・ 「遺伝子組換え実験」とは？
- ・ ルールを守って安全に組換え実験を行うには？

カルタヘナ法成立の歴史的背景



たとえ組換え生物に病害性が無くても、「執るべき拡散防止措置」を執らなければなりません。

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。--(中略)--
 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) --(後略)--

文科省 報道発表(2008.6.20)より抜粋

遺伝子組換え実験を行う際には、

「組換え生物の拡散を防ぐため」の適切な措置を執ることが義務付けられています。

“執るべき拡散防止措置”

「遺伝子組換え生物」の定義

(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) 第二条 この法律において「生物」とは、一の細胞(細胞群を構成しているものを除く。)又は細胞群であって核酸を移植し又は複製する能力を有するものとして主務省令で定めるもの、ウイルス及びプラズミドをいう。

2 この法律において「遺伝子組換え生物等」とは、次に掲げる技術の利用により得られた核酸又はその複製物を有する生物をいう。
 一 細胞外において核酸を加工する技術であって主務省令で定めるもの
 二 異なる分類学上の科に属する生物の細胞を融合する技術であって主務省令で定めるもの
 ……

具体的には、人工的組換えプラスミドなどを保有する単細胞生物(大腸菌など)、トランスジェニック・ソックアラウトウイルス、組換えDNAを含むウイルスなどです。

培養細胞は「生物」とみなされない(施行規則 第一条)、この法律の規制をうけません。同様に、ソックアラウトウイルスなどから抽出した臓器を取り扱う実験も規制の対象となりません。

規制の対象となる

「遺伝子組換え実験」とは何か？

遺伝子組換え生物を使用して行う「実験」が、「遺伝子組換え実験」です。

組換え生物の作成、飼育(培養)、保管、運搬も規制の対象です。

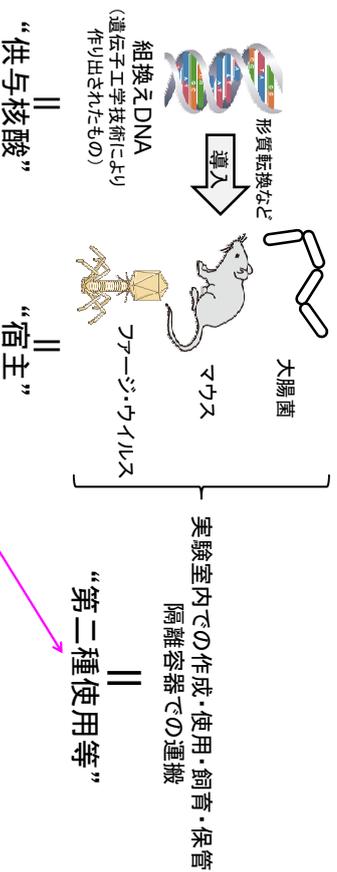
遺伝子組換え生物の使用には、
拡散防止措置を講じつつ施設内で使用する「第二種使用等」と、
防止措置を講じずに用いる「第一種使用等」の2種類があります。

第二条 (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)

5 この法律において「第一種使用等」とは、次に規定する措置を執らないで行う使用等を用いる。

6 この法律において「第二種使用等」とは、施設、設備その他の構造物(以下「施設等」という。)の外の大气、水又は土壌中への遺伝子組換え生物等の拡散を防止する意図をもって行う使用等であつて、そのことを明示する措置その他の主務省令で定める措置を執つて行うものをいう。……………

本学研究室内で実施する遺伝子組換え実験は、「第二種使用等」です。
「第一種使用等」を行うには、文部科学大臣および環境大臣の承認が必要です。



法令(カルタヘナ法、二種省令など)に定められた、もしくは文部科学大臣による確認を受けた拡散防止措置を執らなければなりません。

本学では、あらかじめ計画申請が必要です。

第二種使用等

大臣確認実験

「執るべき拡散防止措置」について、あらかじめ文部科学大臣の確認を受ける必要がある。

機関実験

「執るべき拡散防止措置」が法令で定められており、大臣の確認を受ける必要はない。

(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)
第十二条 遺伝子組換え生物等の第二種使用等をする者は、当該第二種使用等に当たつて執るべき拡散防止措置が主務省令により定められている場合には、その使用等をする間、当該拡散防止措置を執らなければならない。
第十三条 遺伝子組換え生物等の第二種使用等をする者は、前条の主務省令により当該第二種使用等に当たつて執るべき拡散防止措置が定められていない場合(特定遺伝子組換え生物等の第二種使用等をする場合その他主務省令で定める場合を除く。)には、その使用等をする間、あらかじめ主務大臣の確認を受けた拡散防止措置を執らなければならない。……………

本学で実施中の遺伝子組換え実験の大半は、「機関実験」です。

本学では、「機関実験」をさらに、「機関承認実験」と「機関届出実験」に分けています。

承認実験 学長の承認が必要。

届出実験 学長への届出が必要。

いずれも、計画申請書の提出が必要です。

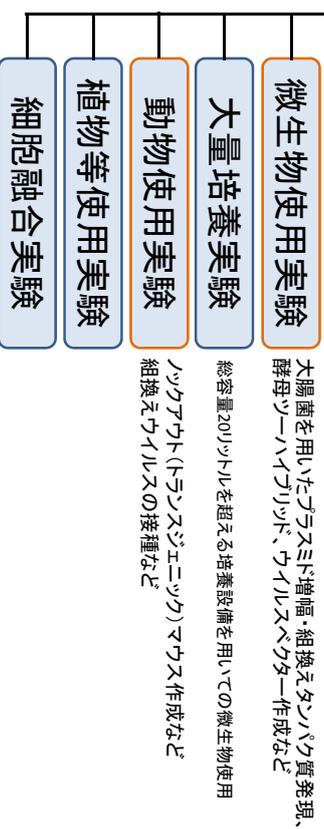
ルールを守って安全に組換え実験を行うには、

1. 二種省令にしたがって実験の「レベル」を決定し、
2. そのレベルに応じた「拡散防止措置」を執る必要があります。

執るべき拡散防止措置のレベルは、「実験の種類」と「組換え生物の特性」によって決まります。

実験の種類(カルタヘナ法 第二条)

遺伝子組換え実験



「生物」は、その鳥類・哺乳類に対する病原性等の程度に応じて4段階に分類されています。

<平成16年文部科学省告示7号(二種告示)別表第2>
http://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/n648_01.pdf

- クラス1** ヒト、ウサギ、マウス、オウソククラゲ、シオウジョウハエ、酵母、大腸菌、アデノ随伴ウイルスなど
- クラス2** アデノウイルス、レンチウイルス(自律増殖能欠損株)、緑膿菌など
- クラス3** 宿主として用いる場合、大臣確認実験となります。
- クラス4** 供与体、宿主のいずれれとして用いても大臣確認実験となります。

「組換え生物の特性」は、「宿主」と「供与核酸」の性質から推定します。

「組換え生物の特性」＝哺乳動物などへの病原性等、環境に対する影響の程度。影響の程度が高いほど、より高いレベルの拡散防止措置が必要となります。

宿主の性質 — その生物種がどの「クラス」に属するか

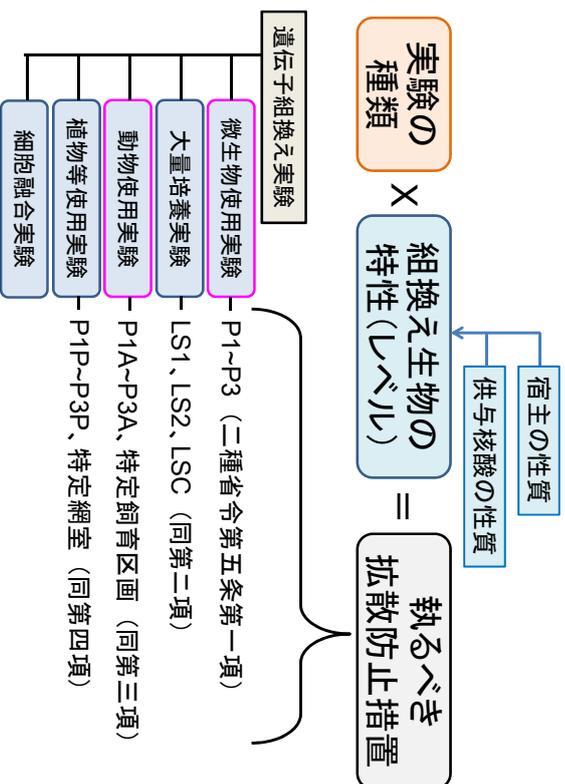
「生物」は、その影響力に応じて、4つの「クラス」に分類されています。

供与核酸の性質

核酸供与体(=供与核酸が由来する生物)のクラス

- 核酸の特性
 - 同定済みか否か (＝配列が分かっている機能が推定できるか)
 - 蛋白性毒素を作り出すかどうか
 - 宿主の病原性・伝染性を高めるか否か

例えば、あるウイルスの病原性・伝染性にかかわるエンベロープタンパク質の遺伝子を含むプラスミドを大腸菌に導入する場合は、宿主の病原性・伝染性を高めるか否か、また一般にウイルスのエンベロープタンパク質が大腸菌に病原性・伝染性を付与する科学的知見も得られていない。したがって、「このプラスミドDNAは、宿主の病原性・伝染性を高めないと判断する。」



☆二種省令で防止措置が規定されていない実験は、大臣確認実験となります。

拡散防止措置レベルの決定ルール (二種省令 第五条)

微生物使用実験 (宿主のクラスが3以上の場合は大臣確認実験)

供与核酸が同定済みで、かつ宿主の病原性・伝染性を高めない場合：

拡散防止レベル = 宿主のクラス (たとえばクラス2なら、防止措置レベルはP2)

供与核酸が同定済みで、宿主の病原性・伝染性を高める場合：

宿主がB1認定系ならば、拡散防止レベル = 核酸供与体のクラス^{*1}

宿主がB2認定系ならば、拡散防止レベル = 核酸供与体のクラス-1^{*2}

それ以外の場合、拡散防止レベル = 宿主と供与体のクラスの大きい方+1^{*1}

供与核酸が同定済みでない場合：

宿主がB2認定系ならば、拡散防止レベル = 核酸供与体のクラス-1^{*2}

それ以外の場合、拡散防止レベル = 宿主と供与体のクラスの大きい方^{*1}

^{*1}4以上になるときは大臣確認実験。^{*2}クラス1の場合P1。

動物使用実験

生きたノックアウトマウスを使用する実験は、原則的にP1A

同定済み核酸には、「塩基配列に基づき、生成物(RNA、タンパク質)の機能が科学的知見に照らして推定されるもの」などが含まれます。(二種省令第二条)

認定宿主—ベクター系

二種告示別表第1に挙げられている「認定宿主—ベクター系」は、実験室環境外での生存・増殖能力が低い「宿主—ベクター」として認定された系です。

B1系と、より生存力の弱いB2系(特定認定宿主ベクター系)の2種類があります。

認定系を利用することで、拡散防止措置レベルが下がる場合があります。

B1認定系の例

B1 (1) : E. coli K12株に由来する菌株(DH5αなど)とそのベクター—

B1 (2) : 出芽酵母とそのベクター(プラスミド、ミニ染色体由来)

B1 (10) : 分裂酵母とそのベクター—

B1 (11) : E. coli B株 及び誘導体(BL21など)とそのベクター—

認定系の使用 = “生物学的封じ込め”

二種告示は、http://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/n648_01.pdf から入手できます

拡散防止措置レベルの例

執るべき拡散防止措置のレベルは、二種省令第五条の規定に従って決まります。レベルの決め方をステップバイステップで示した手引書が文科省のホームページより入手できますので、ご参照ください。

http://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/n815_01.pdf

例1: マウス由来の遺伝子をPCRで増幅し、増幅産物をエビニューム型プラスミドpUC18に連結する。この組換えプラスミドを大腸菌DH5α株に形質転換法により導入して、増幅・コロニー化する。……P1

例1': 上記の実験で、クラス2生物の遺伝子(未同定)を増幅・コロニー化する。……P2

例1'': 上記の実験で、クラス2生物の遺伝子(病原性等に関わらない)を増幅・コロニー化する。……P1

例2: マウス由来の遺伝子を非増殖型アデノウイルスベクターに組み込み、ヒト培養細胞に感染させる。……アデノウイルスベクターを作成し、取り扱うのでP2

例3: 外部より供与を受けたノックアウトマウスを飼育する。……P1A

例3': ノックアウトマウスより取り出した臓器を解析する。……組換え実験ではない

例4: 市販のshRNA発現プラスミドDNAを購入し、HeLa細胞にトランスフェクトする。……組換え実験ではない

拡散防止措置（実験実施中）

実験実施中に執るべき拡散防止措置の内容は、二種省令第4条および別表に規定されています。拡散防止措置をチェックリストにまとめたものが文科省ホームページより入手できますので、ご参照ください（配布の参考資料に一部抜粋）。

<http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/kakusan.html>

P1レベル	
施設等について施すべき事項	拡散防止措置の内容
1 実験室が、通常の生物の実験室としての構造及び設備を有すること。	✓
拡散防止措置の内容	
1 遺伝子組換え生物を含む遺伝子組換え生物等を含む遺伝子組換え生物等（伝染性）については、複製可能な遺伝子組換え生物等を含む遺伝子組換え生物等が付属した設備（複製機）の別に遺伝子組換え生物等を保持するための措置を講ずること。	✓
2 複製機については、複製機本体に付ける複製物の終了後、及び遺伝子組換え生物等が付属したときは直ちに、遺伝子組換え生物等を不活性化するための措置を講ずること。	
3 複製物の廃棄については、閉じておくこと（実験室に出入りするべきを除去し、）。	
4 複製物の廃棄については、廃棄物の搬入を防ぐため、閉じておく等の必要な措置を講ずること。	
5 すべて材料において、エタノールの発生を最小限にとどめること。	
6 実験室以外の場所では遺伝子組換え生物等を不活性化するための措置を講じ、かつすべての生物等の排出し、複製機に付いた遺伝子組換え生物等を実験室から持ち出すときは、遺伝子組換え生物等を不活性化し、複製機に付いた遺伝子組換え生物等を不活性化すること。	
7 複製機に付いた遺伝子組換え生物等を不活性化し、かつ発生防止するため、遺伝子組換え生物等の回収・廃棄を行う旨を表示すること。	
8 回収・廃棄を行う旨の表示は、複製機に付いた遺伝子組換え生物等に付すること。	
9 実験の内容を知らない者が、かたがたに実験室に立ち入らないための措置を講ずること。	

21

拡散防止措置の具体的な内容は、二種省令第4条および別表第二～五の規定に従います。

実験実施中・保管・運搬の各ステップについて、それぞれ執るべき防止措置が定められています。

拡散防止措置（保管＜二種省令第6条＞）

- 組換え生物が漏出、逃亡など拡散しない構造の容器に入れる。
- 容器の見やすい場所に組換え生物である旨を表示。
- 所定の場所に保管。
- 冷蔵庫等の設備に保管する場合は、その設備にも組換え生物を保管している旨を表示。

拡散防止措置（運搬＜二種省令第7条＞）

- 組換え生物が漏出、逃亡など拡散しない構造の容器に入れる。
- P3、P3A、P3P、LS2レベル以上の場合には二重容器にする。
- 一番外側の容器に「取扱注意」と表示。

実験の過程での一時的な保管、移動は上記の「保管」「運搬」に該当しません。組換え動物の飼育は、「保管」に該当しません。いずれも、実験実施中と同じ扱いです。

23

拡散防止措置（実験実施中）

実験実施中に執るべき拡散防止措置の内容は、二種省令第4条および別表に規定されています。拡散防止措置をチェックリストにまとめたものが文科省ホームページより入手できますので、ご参照ください（配布の参考資料に一部抜粋）。

<http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/kakusan.html>

P1レベル	
施設等について施すべき事項	拡散防止措置の内容
1 実験室が、通常の生物の実験室としての構造及び設備を有すること。	✓
拡散防止措置の内容	
1 遺伝子組換え生物を含む遺伝子組換え生物等を含む遺伝子組換え生物等（伝染性）については、複製可能な遺伝子組換え生物等を含む遺伝子組換え生物等が付属した設備（複製機）の別に遺伝子組換え生物等を保持するための措置を講ずること。	✓
2 複製機については、複製機本体に付ける複製物の終了後、及び遺伝子組換え生物等が付属したときは直ちに、遺伝子組換え生物等を不活性化するための措置を講ずること。	
3 複製物の廃棄については、閉じておくこと（実験室に出入りするべきを除去し、）。	
4 複製物の廃棄については、廃棄物の搬入を防ぐため、閉じておく等の必要な措置を講ずること。	
5 すべて材料において、エタノールの発生を最小限にとどめること。	
6 実験室以外の場所では遺伝子組換え生物等を不活性化するための措置を講じ、かつすべての生物等の排出し、複製機に付いた遺伝子組換え生物等を実験室から持ち出すときは、遺伝子組換え生物等を不活性化し、複製機に付いた遺伝子組換え生物等を不活性化すること。	
7 複製機に付いた遺伝子組換え生物等を不活性化し、かつ発生防止のため、遺伝子組換え生物等の回収・廃棄を行う旨を表示すること。	
8 回収・廃棄を行う旨の表示は、複製機に付いた遺伝子組換え生物等に付すること。	
9 実験の内容を知らない者が、かたがたに実験室に立ち入らないための措置を講ずること。	

22

不活性化処理などの実際（私たちの研究室の場合）

分子生命・細胞工学では、大腸菌および分裂酵母（いずれもB1認定系）をもちいてP1レベルの微生物使用実験を行っています。

廃棄物

溶液性廃棄物（培養液、菌体に触れた緩衝液など）
ポリタンクに一時的貯蔵し、オートクレーブ滅菌後に一般廃液として廃棄。

固形廃棄物（菌体を含む固形培地、菌体に触れたグラスチップピペット等）
滅菌用のプラスチックバッグに一時的貯蔵し、オートクレーブ後に実験ゴミとして廃棄。

再利用する実験器具（ガラス器具など）

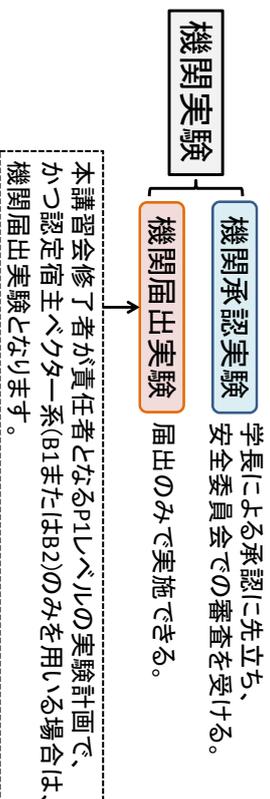
塩化ベンゼンアルコール液（オスミン液）、次亜塩素酸ナトリウム液（漂白剤）もしくは70%エタノールに浸漬して組換え生物を不活性化した後、洗浄・滅菌して再利用。

組換え生物の保管

菌株保存液を含むグラスチップチューブを専用の箱に入れて冷凍保存。
ページメーカーなどのソフトウェアを用いてデータベースを作成して管理。

24

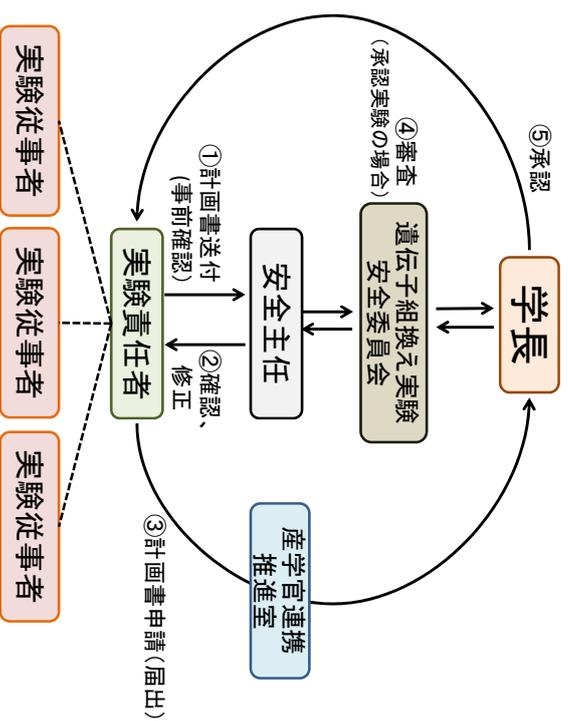
本学で遺伝子組換え実験を行う際には、事前に計画申請書を提出する必要があります。(管理規程第12、13条)



申請が承認されるまで(届出が受理されるまで)計画を実施することはできません。

※申請書の記入例を参考資料に添付しています。

承認までのプロセス



免責事項(?)

安全主任による計画書の事前確認では、

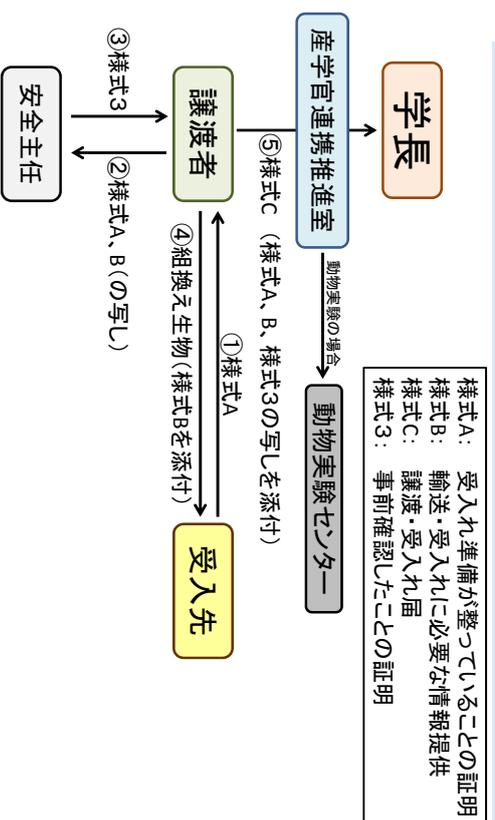
- 1) 書類上の不備はないか?
 - 2) 記載内容に不明瞭な点はないか?
 - 3) 拡散防止措置の区分は正しいか?
- に重点を置いて確認しています。

内容の正確性については、申請者を100%信頼しています。

- 宿主や供与核酸の性質について間違いがないか、
- 必要な設備等が実施場所に備わっているか、
- 特にご注意ください。

計画の承認は保証できません。悪しからずご了承ください。

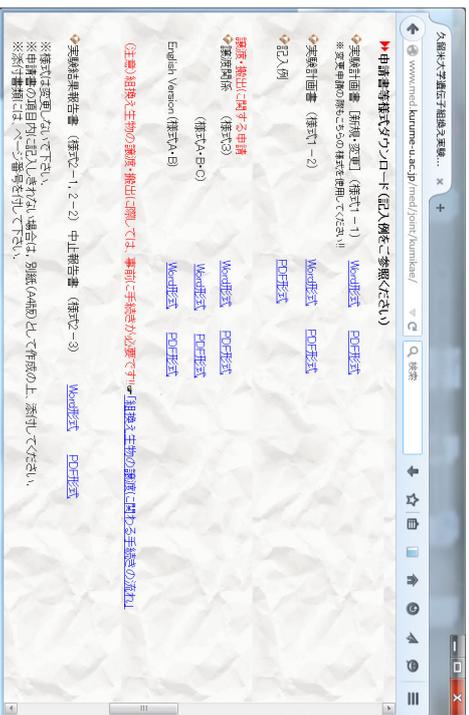
組換え生物を譲渡する場合には、事前に届出が必要です。(管理規程第21条)



※組換え生物の譲渡を受けた場合は、事後に様式Cを提出してください。

申請などに必要な書類は、組換え実験安全委員会のホームページよりダウンロードできます。

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

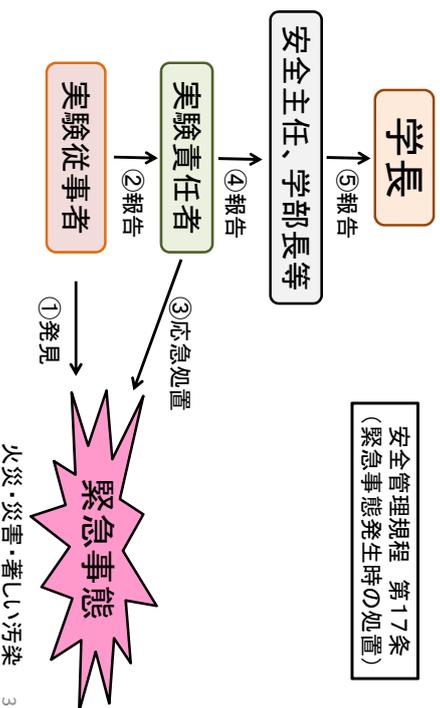


29

事故が起こった場合は、

1. 応急の措置を執る
2. 主務大臣に届け出る

ことがカルタヘナ法で義務付けられています(第十五条)



31

事故が起きた時には？

施設が破損、あるいは組換え生物が実験室外に漏出・逃亡するなどして、適切な拡散防止措置を執れなくなった状態が「事故」です。「培養液を実験室の床にこぼした」程度ならば、まだ管理区域内に収まっていますので「事故」とはなりません(ただちに除染する必要があります)。

30

事故を起こすと、詳しい調査の上、嚴重注意などの処分が下されます。

また、文部科学大臣より改善を命じられることもあり、命令に従わない場合は、罰則が科せられます。

事故・違反のないように充分なご注意をお願いします。

組換え生物実験に関して、不明な点などありましたら、

- 産学官連携推進室
 - 遺伝子組換え実験安全委員会(委員長 児島将康教授)
 - 遺伝子組換え実験安全主任(分子生命研 齋藤成昭)
- までご相談・お問い合わせください。

32

拡散防止措置チェックリスト

P 1 レベル

施設等について満たすべき事項

拡散防止措置の内容		✓
1	実験室が、通常の生物の実験室としての構造及び設備を有すること。	

遺伝子組換え実験の実施に当たり遵守すべき事項

拡散防止措置の内容		✓
1	遺伝子組換え生物等を含む廃棄物（廃液を含む。）については、廃棄の前に遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
2	遺伝子組換え生物等が付着した設備、機器及び器具については、廃棄又は再使用（あらかじめ洗浄を行う場合にあつては、当該洗浄。）の前に遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
3	実験台については、実験を行った日における実験の終了後、及び遺伝子組換え生物等が付着したときは直ちに、遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
4	実験室の扉については、閉じておくこと（実験室に出入りするときに除く。）。	
5	実験室の窓等については、昆虫等の侵入を防ぐため、閉じておく等の必要な措置を講ずること。	
6	すべての操作において、エアロゾルの発生を最小限にとどめること。	
7	実験室以外の場所で遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講じようとするときなど、実験の過程において遺伝子組換え生物等を実験室から持ち出すときは、遺伝子組換え生物等の漏出や、拡散が起こらない構造の容器に入れること。	
8	遺伝子組換え生物等が付着し、又は感染することを防止するため、遺伝子組換え生物等の取扱い後における手洗い等必要な措置を講ずること。	
9	実験の内容を知らない者が、みだりに実験室に立ち入らないための措置を講ずること。	

P 2 レベル

施設等について満たすべき事項

拡散防止措置の内容		✓
1	実験室が、通常の生物の実験室としての構造及び設備を有すること。	
2	実験室に研究用安全キャビネットが設けられていること（エアロゾルが生じやすい操作をする場合に限る。）。	
3	遺伝子組換え生物等を不活化するために高圧滅菌器を用いる場合には、実験室のある建物内に高圧滅菌器が設けられていること。	

遺伝子組換え実験の実施に当たり遵守すべき事項

拡散防止措置の内容		✓
1	遺伝子組換え生物等を含む廃棄物（廃液を含む。）については、廃棄の前に遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
2	遺伝子組換え生物等が付着した設備、機器及び器具については、廃棄又は再使用（あらかじめ洗浄を行う場合にあつては、当該洗浄。）の前に遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
3	実験台については、実験を行った日における実験の終了後、及び遺伝子組換え生物等が付着したときは直ちに、遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
4	実験室の扉については、閉じておくこと（実験室に出入りするときに除く。）。	
5	実験室の窓等については、昆虫等の侵入を防ぐため、閉じておく等の必要な措置を講ずること。	
6	すべての操作において、エアロゾルの発生を最小限にとどめること。	
7	実験室以外の場所で遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講じようとするときなど、実験の過程において遺伝子組換え生物等を実験室から持ち出すときは、遺伝子組換え生物等の漏出や、拡散が起こらない構造の容器に入れること。	
8	遺伝子組換え生物等が付着し、又は感染することを防止するため、遺伝子組換え生物等の取扱い後における手洗い等必要な措置を講ずること。	
9	実験の内容を知らない者が、みだりに実験室に立ち入らないための措置を講ずること。	
10	エアロゾルが生じやすい操作をするときは、研究用安全キャビネットを用いることとし、当該研究用安全キャビネットについては、実験を行った日における実験の終了後に、及び遺伝子組換え生物等が付着したときは直ちに、遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
11	実験室の入口及び遺伝子組換え生物等を実験の過程において保管する設備に、「P 2 レベル実験中」と表示すること。	
12	執るべき拡散防止措置がP 1 レベル、P 1 A レベル又はP 1 P レベルである実験を同じ実験室で同時に行うときは、これらの実験の区域を明確に設定すること、又はそれぞれP 2 レベル、P 2 A レベル若しくはP 2 P レベルの拡散防止措置を執ること。	

P1Aレベル

施設等について満たすべき事項

拡散防止措置の内容		✓
1	通常の動物の飼育室としての構造及び設備を有すること。	
2	実験室の出入口、窓その他の動物である遺伝子組換え生物等及び遺伝子組換え生物等を保有している動物（以下「組換え動物等」という。）の逃亡の経路となる箇所に、当該組換え動物等の習性に応じた逃亡の防止のための設備、機器又は器具が設けられていること。	
3	組換え動物等のふん尿等の中に遺伝子組換え生物等が含まれる場合には、当該ふん尿等を回収するために必要な設備、機器若しくは器具が設けられていること、又は実験室の床が当該ふん尿等を回収することができる構造であること。	

遺伝子組換え実験の実施に当たり遵守すべき事項

拡散防止措置の内容		✓
1	遺伝子組換え生物等を含む廃棄物（廃液を含む。）については、廃棄の前に遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
2	遺伝子組換え生物等が付着した設備、機器及び器具については、廃棄又は再使用（あらかじめ洗浄を行う場合にあつては、当該洗浄。）の前に遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
3	実験台については、実験を行った日における実験の終了後、及び遺伝子組換え生物等が付着したときは直ちに、遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
4	実験室の扉については、閉じておくこと（実験室に出入りするときに除く。）。	
5	実験室の窓等については、昆虫等の侵入を防ぐため、閉じておく等の必要な措置を講ずること。	
6	すべての操作において、エアロゾルの発生を最小限にとどめること。	
7	遺伝子組換え生物等が付着し、又は感染することを防止するため、遺伝子組換え生物等の取扱い後における手洗い等必要な措置を講ずること。	
8	実験の内容を知らない者が、みだりに実験室に立ち入らないための措置を講ずること。	
9	実験室以外の場所で遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講じようとするときなど、実験の過程において組換え動物等を実験室から持ち出すときは、遺伝子組換え生物等の逃亡や、拡散が起こらない構造の容器に入れること。	
10	組換え動物等を、移入した組換え核酸の種類又は保有している遺伝子組換え生物等の種類ごとに識別することができる措置を講ずること。	
11	実験室の入口に、「組換え動物等飼育中」と表示すること。	

P 2 A レベル

施設等について満たすべき事項

拡散防止措置の内容		✓
1	実験室に研究用安全キャビネットが設けられていること（エアロゾルが生じやすい操作をする場合に限る。）	
2	遺伝子組換え生物等を不活化するために高圧滅菌器を用いる場合には、実験室のある建物内に高圧滅菌器が設けられていること。	
3	通常の動物の飼育室としての構造及び設備を有すること。	
4	実験室の出入口、窓その他の動物である遺伝子組換え生物等及び遺伝子組換え生物等を保有している動物（以下「組換え動物等」という。）の逃亡の経路となる箇所に、当該組換え動物等の習性に応じた逃亡の防止のための設備、機器又は器具が設けられていること。	
5	組換え動物等のふん尿等の中に遺伝子組換え生物等が含まれる場合には、当該ふん尿等を回収するために必要な設備、機器若しくは器具が設けられていること、又は実験室の床が当該ふん尿等を回収することができる構造であること。	

遺伝子組換え実験の実施に当たり遵守すべき事項

拡散防止措置の内容		✓
1	遺伝子組換え生物等を含む廃棄物（廃液を含む。）については、廃棄の前に遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
2	遺伝子組換え生物等が付着した設備、機器及び器具については、廃棄又は再使用（あらかじめ洗浄を行う場合にあつては、当該洗浄。）の前に遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
3	実験台については、実験を行った日における実験の終了後、及び遺伝子組換え生物等が付着したときは直ちに、遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
4	実験室の扉については、閉じておくこと（実験室に出入りするときに除く。）。	
5	実験室の窓等については、昆虫等の侵入を防ぐため、閉じておく等の必要な措置を講ずること。	
6	すべての操作において、エアロゾルの発生を最小限にとどめること。	
7	遺伝子組換え生物等が付着し、又は感染することを防止するため、遺伝子組換え生物等の取扱い後における手洗い等必要な措置を講ずること。	
8	実験の内容を知らない者が、みだりに実験室に立ち入らないための措置を講ずること。	
9	エアロゾルが生じやすい操作をするときは、研究用安全キャビネットを用いることとし、当該研究用安全キャビネットについては、実験を行った日における実験の終了後に、及び遺伝子組換え生物等が付着したときは直ちに、遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
10	執るべき拡散防止措置がP 1 レベル、P 1 A レベル又はP 1 P レベルである実験を同じ実験室で同時に行うときは、これらの実験の区域を明確に設定すること、又はそれぞれP 2 レベル、P 2 A レベル若しくはP 2 P レベルの拡散防止措置を執ること。	
11	実験室以外の場所で遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講じようとするときなど、実験の過程において組換え動物等を実験室から持ち出すときは、遺伝子組換え生物等の逃亡や、拡散が起こらない構造の容器に入れること。	
12	組換え動物等を、移入した組換え核酸の種類又は保有している遺伝子組換え生物等の種類ごとに識別することができる措置を講ずること。	
13	実験室の入口に、「組換え動物等飼育中（P 2）」と表示すること。	

計画申請書（様式1-1）記入例

(様式1-1) 記入例 (微生物)

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】

20XX年00月00日

久留米大学学長 殿

氏名 齋藤 成昭 印
申請者
所属 分子生命科学研究所 細胞工学研究部門

コメント [SS1]: 申請者と実験責任者は同じにしてください。

実施

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計画変更を、次のとおり申請します。

変更事項は【実験責任者 実験従事者 宿主・ベクターの変更 実施期間の延長 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。

第二種使用等の名称		XXXXXに必要な遺伝子群の機能解析				
実験実施期間		平成XX年 X月から平成XX年 X月まで				
第二種使用等をする場所	名称	久留米大学 分子生命科学研究所 細胞工学研究部門 実験室				
	所在地	郵便番号 (839-0864) 久留米市百年公園 1-1 久留米リサーチセンタービル B棟 3F 電話番号 0942-37-6317				
	大臣確認実験の有無	有 ・ (無)				
P1B1及びP1B2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	分子生命科学研究所 細胞工学研究部門 教授			
		氏名	齋藤 成昭			
		連絡先	0942-37-6317 電子メールアドレス saitou_shigeaki@kurume-u.ac.jp			
	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
		齋藤成昭 XXXXXXXX	分子生命・教授 分子生命・XXXXXX	有り (XX-XXX) 無し	無し 無し	有り 有り

第二種使用等の 目的及び概要	種類	<ol style="list-style-type: none"> 1. 微生物使用実験 2. 大量培養実験 3. 動物使用実験 <ol style="list-style-type: none"> (1) 動物作成実験 (2) 動物接種実験 4. 植物等使用実験 <ol style="list-style-type: none"> (1) 植物作成実験 (2) 植物接種実験 (3) きのご作成実験 5. 細胞融合実験 該当するものに○を付けて下さい。
	目的	分裂酵母において、XXXXXに関わる遺伝子(群)の機能を解析する。
	概要	上述遺伝子を、分裂酵母ゲノム上で破壊・改変し、あるいはエピソーム型ベクターにて酵母細胞に多コピー導入して、遺伝子産物の機能・性質などを解析する。
遺伝子組換え生物等の特性	核酸供与体の特性	分裂酵母(<i>Schizosaccharomyces pombe</i>)、オワンクラゲ(<i>Aequorea victoria</i>)。 (酵母全ゲノム配列はpombase(www.pombase.org)に登録されている)
	供与核酸の特性	分裂酵母 ゲノム核酸および相補的デオキシリボ核酸。 オワンクラゲGFP遺伝子cDNA(genbank acc#L29345)を含む遺伝子断片。
	ベクター等の特性	pFA6a-kanMX6 (大腸菌を宿主とするプラスミドで、アンピシリン耐性、カナマイシン耐性マーカーを含む)。pREP1(分裂酵母を宿主とするエピソーム型プラスミドで、出芽酵母LEU2遺伝子を含む)。
	宿主等の特性	大腸菌DH5α (K12株由来、認定系B1(1))、分裂酵母(認定系B1(10))。いずれも分子生物学研究で長年広く使われており、病原性・伝染性などの危険性は報告されていない。実験室環境外での増殖能は限られている。
	遺伝子組換え生物等の特性(宿主等との相違を含む。)	導入されるDNA断片は、クラス1生物由来、もしくは同定済み核酸であり、組換え体が新たな病原性・伝染性・増殖能などを獲得するとは考えられない。
遺伝子組換え生物等を保有している動物、植物又は細胞等の特性	無し	
拡散防止措置	区分及び選択理由	P1B1 (認定宿主ベクター系を用いる研究であり、供与核酸も同定済みもしくはクラス1由来であるので、第2種省令第五条第一号イ、ハの規定に従う)
	施設等の概要	分子生命科学研究所細胞工学研究部門 実験室。オートクレーブ、手洗い用流しなどを備える。組換え体を保存する冷凍・冷蔵庫には「遺伝子組換え体保管中」と掲示する。
	遺伝子組換え生物等を不活性化するための措置	組換え生物、および、組換え生物を含む廃棄物は、オートクレーブもしくは薬剤(水酸化ナトリウム、次亜塩素酸、塩化ベンザルコニウム)により完全不活化処理を行う。
その他	久留米大学遺伝子組換え実験安全委員会 (委員長 分子生命科学研究所・教授・児島 将康)	

コメント [SS2]: KO/Tg マウスを使用する場合など

コメント [SS3]: 組換えウイルスなどを動物に接種する場合など

コメント [SS4]: 実際に行う遺伝子操作の概要

コメント [SS5]: 供与核酸(下記)が由来する生物種についての情報(毒物産生や病原性等の特記事項がある場合はそれも)

コメント [SS6]: 遺伝子名(特定できる場合)、データベースアクセス番号、ゲノムDNA/cDNAの種別など。

コメント [SS7]: ベクター名称、宿主、マーカー、組み込み型/エピソーム型の種別など。ベクターを使わない場合(相同組換えで供与核酸をゲノムに組み込む場合など)は、その旨を記載。

コメント [SS8]: 遺伝子組換えによって新たに、宿主に病原性や伝染性などが付与される場合は、その旨を記載。

コメント [SS9]: 接種実験の場合、組換え生物が接種された動物などについての情報を記載。

コメント [SS10]: 選択理由(二種省令のどの項目に該当するか)を記載。

コメント [SS11]: 選択された拡散防止措置を執るにあたり必要な設備が備わっていることが分かるように記載。

コメント [SS12]: 様式1-1、1-2のほか、一般的でないベクターについてはプラスミドマップ等の情報をあわせて提供してください。また実験場所の概略図の添付もお願いします。

(様式1-1) 記入例(動物実験)

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

申請者 氏名 印
所属

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 実施期間の延長 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。

第二種使用等の名称					
実験実施期間		平成 年 月から平成 年 月まで			
第二種使用等をする場所	名称				
	所在地	郵便番号 ()			
		電話番号			
大臣確認実験の有無		有 ・ (無)			
P1B1及びP1B2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

コメント [SS1]: KOマウス等を使った動物実験はP1Aなので、有になります。

第二種使用等の 目的及び概要	種類	1. 微生物使用実験 2. 大量培養実験 3. 動物使用実験 (1) 動物作成実験 (2) 動物接種実験 4. 植物等使用実験 (1) 植物作成実験 (2) 植物接種実験 (3) きのこ作成実験 5. 細胞融合実験
	目的	該当するものに○を付けて下さい。
	概要	XXX遺伝子KOマウス、YYY遺伝子Tgマウスを用い、ZZZ病の発生機序を解析する。
遺伝子組換え生物等の特性	核酸供与体の特性	マウス、ヒト、サイトメガロウイルス(CMV HHV-5)、Simianウイルス(SV40)
	供与核酸の特性	マウスXXX遺伝子ゲノムDNA (第一エクソン周辺配列約0.0 kb、genbank acc#:0000)、ヒトY YY遺伝子cDNA (0.0kb、genbank acc#:0000)、CMVプロモーター(同定済み、0.0kb、genbank acc#:0000)、SV40ポリAシグナル(同定済み核酸、0.0kb、genbank acc#:0000)
	ベクター等の特性	XXX KOマウス(ベクターは使用しない。ただし、作成段階でターゲティングベクターpWW Wが使用された。相同組換えによってxxx遺伝子第一イントロンが大腸菌由来neoマーカーに置換されている。YYY Tgマウス(pBlueScriptベクター由来のプラスミドpVWV[添付図参照]が、random insertionによって、マウス染色体中に挿入されている)
	宿主等の特性	マウス(UUUU系統)
	遺伝子組換え生物等の特性(宿主等との相違を含む。)	導入された核酸はすべて同定済みであり、病害性や毒物産生には関与しない。科学的知見に照らし、当該遺伝子組み換えにより、宿主マウスの繁殖能や逃亡性が増すとは考えられない。
遺伝子組換え生物等を保有している動物、植物又は細胞等の特性	該当しない(※たとえば、組換えウイルスを動物に接種するような場合、接種された動物の特性を本欄に記入します)。	
拡散防止措置	区分及び選択理由	P1A(二種省令第五条第三号イの規定に従う)
	施設等の概要	入り口及び排水口に逃亡防止装置(ネズミ返し)を備える。「P1A実験実施中」の旨、入り口に掲示する。
	遺伝子組換え生物等を不活性化するための措置	遺伝子組換えマウスはすべて〜〜〜によって安楽死させた後、焼却処分する(※組換えマウスの場合、その死をもって不活性化されたとみなします。具体的な処分方法を簡潔に記載してください)。実験廃棄物などは、廃棄前にオートクレーブにかける。
その他	久留米大学遺伝子組換え実験安全委員会 (委員長 分子生命科学研究所・教授・児島 将康)	

コメント [SS2]: 遺伝子ノックアウトの概要が分かるような図を添付していただくと助かります。

コメント [SS3]: プラスミドの概要が分かる簡単な図を添付してください。骨格となるベクター、供与核酸、プロモーター、ターミネーター、マーカー遺伝子などが明らかになるような図をお願いします。

コメント [SS4]: 組換えマウス由来の細胞や臓器は、定義上、「組換え生物」とはみなしません。しかしながら、安全のため、廃棄前にはオートクレーブや薬品による不活性化処理を施していただく方が良いかと思えます。