**I. 遺伝子組換え実験を行う上で遵守すべき法令等**

現実的な問題として、**様々な法律の観点を満たす実験計画・管理が必要**であることがポイント**。**

**A. 安全管理の観点から**

**1. 生物の多様性の確保**

 「バイオセーフティに関するカルタヘナ議定書」

生物多様性条約特別締約国会議にて発案：1999年2月、カルタヘナ（コロンビア）

同会議にて採択：2000年1月、モントリオール（カナダ）

 「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」

別名：カルタヘナ法（文部科学省、財務省、厚生労働省、農林水産省、経済産業省、環境省）

「公立大学法人横浜市立大学医学部等遺伝子組換え実験安全管理規程」

**2. 病原体の拡散防止**（特定病原体等を用いる場合）

 感染症法（厚生労働省）

 家畜伝染病予防法（農林水産省）

 その他テロ防止関連の法令等

**B. 生命倫理の観点から**

**1. ヒト検体の使用・臨床研究**

 ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律

 特定胚の取扱いに関する指針

 ヒトES細胞の樹立及び使用に関する指針

 ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針

　 遺伝子治療臨床研究に関する指針（倫理、安全）

 公立大学法人横浜市立大学医学部等における研究等の倫理に関する規程

**2. 動物実験**

 研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針（文部科学省）

 その他動物愛護法（環境省）等

 福浦キャンパス動物実験の実施に関する規定（横浜市立大学動物実験委員会）

**[参考]**

文部科学省：生命倫理・安全に対する取組 (<http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/index.html>)

文部科学省：動物実験等の基本指針説明会資料 (<http://www.lifescience.mext.go.jp/policies/dobutsu.html>)

厚生労働省：感染症法に基づく特定病原体等の管理規制について

(<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou17/03.html>)

横浜市立大学先端医科学研究センター：研究倫理(<http://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/ethics/index.html>)

横浜市立大学 医学部等 遺伝子組換え実験安全委員会 (<http://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/ethics/ycu/>)

一般財団法人　バイオインダストリー協会（会長 大石道夫）

カルタヘナ法ガイドブック ([PDF](http://www.jba.or.jp/pc/archive/pdf/H18_8_karutahena.pdf), <http://www.jba.or.jp/pc/archive/pdf/H18_8_karutahena.pdf>)

実験室バイオセーフティ指針 [WHO 第3版] 、NPO法人バイオメディカルサイエンス研究会 北村敬・小松俊彦監修

([PDF](http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety3_j.pdf), <http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety3_j.pdf>)

**II. カルタヘナ法における用語の定義**

**A. 遺伝子組換え実験とは：**遺伝子組換え生物を作成或は使用する実験。

**B. 遺伝子組換え生物とは：** 細胞外において核酸を加工する技術（遺伝子工学）或は異なる科に属する生物の細胞を融合する技術により得られた核酸又はその複製物を、複製或は移転可能な状態で有する生物\*。

**\*生物：** 不稔性の生物、ウイルス、細菌、単細胞生物を含むが、多細胞生物由来の培養細胞で個体に発生し得ないものは含まない。哺乳類の場合、配偶子以外の培養細胞（がん細胞を含む）は生物と見なさない。

**C. 細胞外において核酸を加工する技術とは：**

[代表例]

* 制限酵素等のヌクレアーゼによるDNAの切断
* LigaseによるDNA断片の接合
* DNAポリメラーゼによるDNA伸長・増幅（PCR）、変異の導入
* 核酸の化学合成

**D. 複製或は移転可能な状態で有するとはどういう事か：**

[複製可能]

* 個体を形成する細胞のゲノムに組込まれている場合（例：ヒトの遺伝子を導入したトランスジェニックマウス）
* ゲノムと独立に複製可能な核酸に組込まれている場合（例：大腸菌の菌体内にあるマウス遺伝子を含むプラスミド）

[転移可能]

* 感染能を持つウイルスのゲノムに組込まれている場合（例：ヒト遺伝子を組込んだアデノウイルス）

**＝　遺伝子組換え実験の例　＝**

* トランスジェニックマウスの作成、或いは利用のための交配・繁殖。
* ノックアウトマウスの作成、或いは利用のための交配・繁殖。
* 大腸菌・酵母へのプラスミドDNA導入、培養に依る増幅と、菌体からのDNA精製。
* 大腸菌・酵母への発現ベクター導入、培養に依る目的タンパク質の発現と、菌体からのタンパク質精製。
* ウイルスベクターの作成やそれを用いた動物個体、培養細胞への遺伝子導入。

**III. カルタヘナ法に基づく規制の実際**

遺伝子組換え生物を扱う実験（使用等）の種類

* 第一種使用等：環境中への拡散を防止しないで行う場合（例：遺伝子組換え作物の屋外での栽培）
* **第二種使用等：環境中への拡散を防止しつつ行う場合（医学部で行われている研究のほとんどがこれに当る）**

**A. 拡散防止の方法** (物理的封じ込め：P1レベル〜P4レベル; バイオセーフティレベルBSL1〜BSL4レベル)

遺伝子組換え生物を扱うに当たって取るべき拡散防止措置の詳細は「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（二種省令）」に記されている。

1. まず、遺伝子を導入する生物=**宿主**と、導入する遺伝子の由来する生物=**核酸供与体**の、種類と実験分類（クラス1〜クラス4）を特定する。
* 文科省告示第7号「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の規定に基づき認定宿主ベクター系等を定める件」の表を参照。
http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/kankeihourei.html
1. どのレベルの拡散防止措置が必要となるかは、
2. 原則として、**宿主**の実験分類と**核酸供与体**の実験分類の高い方に従って定める。

宿主の例：分裂酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)【クラス１、Ｂ１認定系】

ベクターの例：宿主由来プラスミド

供与核酸の例：異種酵母【クラス２】の酵素遺伝子

🡪 BSL2/P2レベル

1. 供与核酸が同定済核酸であり、かつ、（宿主の）哺乳動物等に対する病原性等に関係しないことが科学的知見に照らし推定される遺伝子組換え生物等は、宿主の実験分類に従って定めることができる。

🡪 宿主の実験分類がクラス1及びクラス2である場合に、それぞれ文科省告示第7号 別表第二に掲げるP1レベル又はP2拡散防止措置とすること。

宿主の例：欠損型マウス白血病ウイルス【クラス２】

供与核酸の例：HIV【クラス３】の病原性等に関係しない遺伝子

パッケージング細胞を用いた増殖能欠損組換えマウス白血病ウイルス生成 🡪 P2/BSL2レベル

上記組換えウイルスをマウス個体に接種 🡪 P2A/ABSL2レベル

1. 上記の省令に記載のない生物を宿主とする際や、哺乳類の細胞中で自立的に増殖可能なウイルスを宿主とする際等には、事前に主務大臣（大学の場合は文部科学大臣）の確認を受ける。🡪 **大臣確認実験**

これらに当らない場合は各機関内で封じ込めレベル、実験施設を確認する。🡪 **機関実験**

**[重要！！]**

**遺伝子組換え実験申請書（第二種使用等拡散防止措置確認申請書）を医学部先端研課に提出。**

**（様式＝**[**http://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/ethics/ycu/index.html**](http://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/ethics/ycu/index.html)**）**

**B. 譲渡の際の情報提供**（法第２６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施行規則第３２条）

提供する情報の内容（規則第３３条）

* 遺伝子組換え生物等の第二種使用等をしている旨
* 宿主等の名称及び組換え核酸の名称（名称がないor不明であるときはその旨）
* 氏名及び住所（法人にあっては、その名称並びに担当責任者の氏名及び連絡先）等

**[重要！！]**

**搬出搬入報告書を医学部先端研課に提出。**

**(様式＝**[**http://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/ethics/ycu/index.html**](http://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/ethics/ycu/index.html)**)**

**IV. 遺伝子組換え生物取り扱いの実際**

**病原性と伝播性による生物のクラス分け**

クラス１：病原性無し クラス２：病原性が低い

クラス３：病原性が高く伝播性が低い クラス４：病原性が高く伝播性が高い

**遺伝子組換え実験で汎用される“生物”**

1. 大腸菌*Escherichia coli* K12株、B株、C株及びW株とこれらに由来の菌株（クラス１）
2. マウス*Mus musculus*（クラス１）
3. その他

ヒトアデノウイルス（クラス２）、HIV（１型の増殖力等欠損株：クラス２）、マウスレトロウイルス（クラス２）、酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae*（クラス１）、線虫 *Caenorhabditis elegans*（クラス１）、　ショウジョウバエ*Drosophila melanogaster*（クラス１）

* 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の規定に基づき認定宿主ベクター系等を定める件（平成１６年文部科学省告示第７号、平成２６年改正）、実験分類の区分ごとの微生物等一覧表（<http://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/n648_02.pdf>）

**微生物使用実験において留意すべき点（P1/BSL1, P2/BSL2レベル）**

* 法で定められた要件を満たす実験室（P1/BSL1〜P2/BSL2）内で実験を行う。
* 実験室の窓は閉じ、出入り口は開放しない（P2/BSL2レベルの実験を行っている部屋にはP2/BSL2レベル実験中の表示）。
* 保存、運搬の際は微生物の漏出しない容器に入れる。
* 全ての操作においてエアロゾルの発生を最小限に止める。
* 遺伝子組換え微生物を含む廃棄物、廃液は殺菌処理（殺菌剤処理、加圧滅菌）の後廃棄する。
* 使用済み実験器具は殺菌処理（殺菌剤処理、加圧滅菌）した後廃棄または再利用する。
* 実験台については実験終了後もしくは遺伝子組換え微生物が付着した際には直ちに殺菌のための措置（殺菌剤処理）を講じる。
* 手洗い等により感染の防止に努める。
* その他（必要に応じて）
* 安全キャビネットの使用（P2/BSL2レベル以上で、エアロゾルが生じ易い操作をする場合）
* 衣類の殺菌処理（紫外線照射、加圧滅菌、殺菌剤）
* 実験室の殺菌処理（紫外線照射、殺菌剤）
* ＜注意＞　殺菌剤については使用する微生物に対して有効な種類、処理方法を選ぶこと。

**動物（マウス）使用実験において留意すべき点（P1A/ABSL1, P2A/ABSL2レベル）**

* 法で定められた要件を満たす（逃亡防止措置を施した）飼育室／実験室（P1A/ABSL1〜P2A/ABSL2）内で実験を行う。
* 実験室の窓は閉じ、出入り口は開放しない（遺伝子組換え動物等飼育中の表示）。
* 運搬の際は動物が逃亡しない容器に入れる。
* 実験終了後遺伝子組換え動物の不活性化処理（安楽死による）を行う。
* その他（遺伝子組換え微生物を動物に接種した場合）
* 微生物使用実験と同様の点に留意する。
* 糞尿、死体の殺菌処理（加圧滅菌等：遺伝子組換え微生物が含まれる可能性がある場合）

**[参考]**

# 北海道大学HP、「遺伝子組換え実験等の実施について」 (<http://www.hokudai.ac.jp/research/ethics/gene/>)

* 島根大・西村さん報告文、「第5回 遺伝子組換え実験安全研修会」（平成25年7月20日、東京医科歯科大学）

（<http://shimane-u.org/download/sankaki/20130720.pdf>）