

遺伝子組換え生物と病原体の規制

濱端 崇

国立国際医療研究センター(NCGM)研究所
細菌感染研究室



営利目的でのご利用はご遠慮ください

バイオセーフティに関わる動物実験とは？

1. 病原体を動物に接種する実験  病原体取扱い実験
 2. 遺伝子組換え微生物を動物に接種する実験
 3. 遺伝子組換え細胞を動物に移植する実験
 4. 遺伝子組換え動物を作出、使用する実験
-  遺伝子組換え実験

病原体 と 遺伝子組換え生物 は、共に封じ込めが必要です

病原体に関する法的規制

危険性の高い病原体は、テロ等による人為的な流行発生を防止するため、所持、使用、移動等を法律で規制している

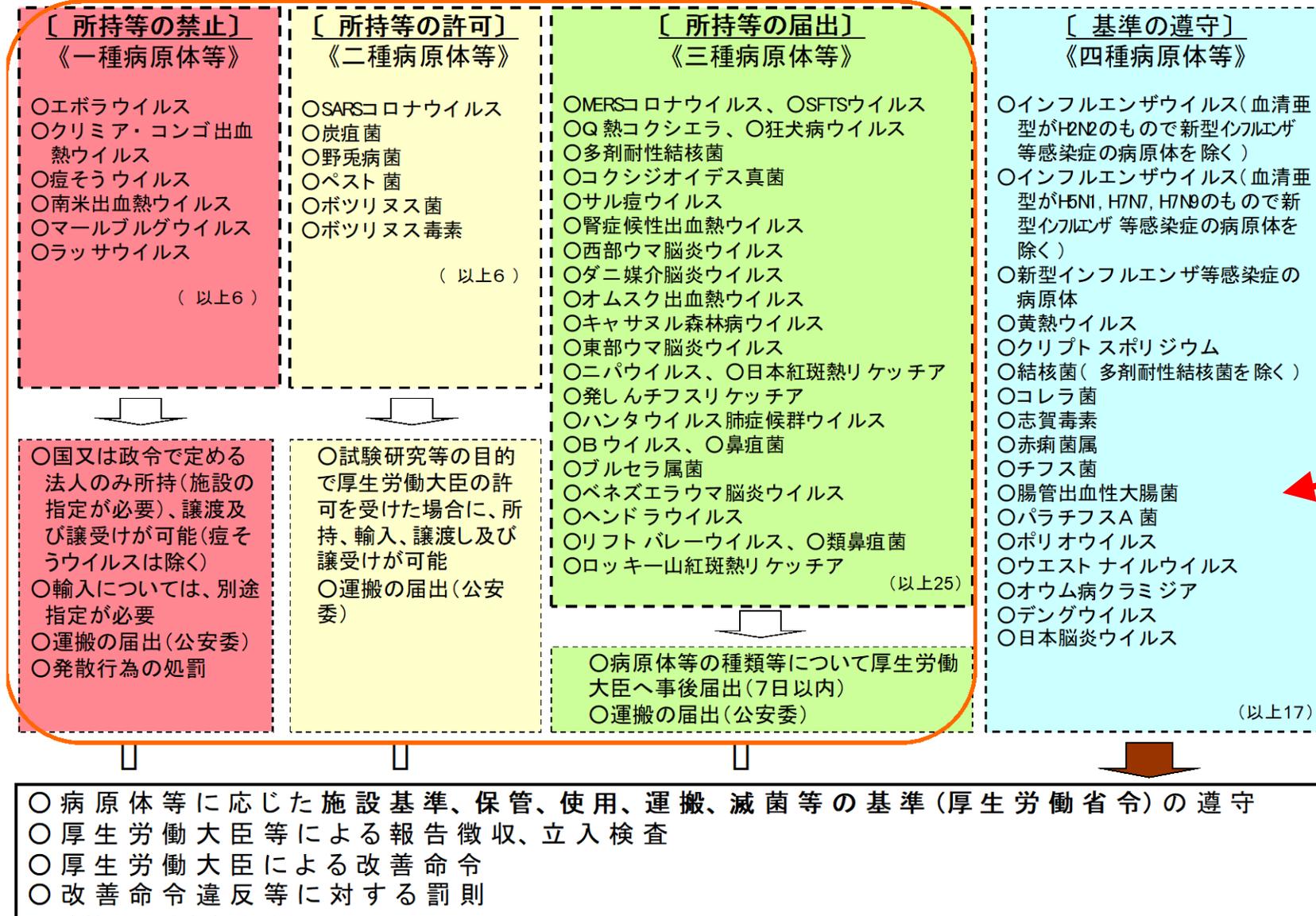
- ヒト → **特定病原体**（感染症法）
- 家畜 → **監視伝染病病原体**（家畜伝染病予防法、家伝法）

その他の病原体^(注)については法的な規制はない（WHOや各省庁・学会等のガイドラインに従って各施設が内規により運用する）

（注）大腸菌K12由来株や乳酸菌等、クラス1の非病原性微生物も、研究に使用する場合には「病原体」として扱います。

特定病原体と法定義務

国が所持を把握



新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)が新たに四種に加わりました

監視伝染病病原体の所持等に係る規制の対象疾病について

令和2年8月更新

監視伝染病の病原体（99疾病）

家畜伝染病病原体（10疾病） 【所持に関して大臣の許可が必要】

- ・急速にまん延し、我が国の畜産の振興上、甚大な悪影響を及ぼすおそれが高いもの（法第16条対象疾病及び海外伝染病であって発生時の我が国の畜産に与える影響が大きいもの）

（制度上の義務）

- ① 家畜伝染病発生予防規程の作成
- ② 病原体取扱い主任者の選任
- ③ 記帳義務
- ④ 施設及び保管の基準等
- ⑤ 災害時の応急措置

- 所持に関して特に重要な疾病(3疾病)
（重点管理家畜伝染病病原体）
牛疫（弱毒株以外）、口蹄疫、アフリカ豚熱
- 上記以外(8疾病)
（要管理家畜伝染病病原体）
牛疫（弱毒株）、牛肺疫、結核（ボービス）、アフリカ馬疫、小反芻獣疫、豚熱、高病原性鳥インフルエンザ、低病原性鳥インフルエンザ

※ 同一の疾病をその菌株やウイルス株等により規制の対象とするものと規制の対象外とするものに区分している場合があるため、疾病数の合計は監視伝染病数と一致しない。

届出伝染病等病原体（12疾病） 【所持に関して大臣への届出が必要】

- ・我が国の畜産の振興上、大きな悪影響を及ぼす可能性がある又は口蹄疫との鑑別上重要なもの

（制度上の義務）

- ① 記帳の義務
- ② 施設及び保管の基準等
- ③ 災害時の応急措置

- 家畜伝染病(9疾病)
水疱性口内炎、出血性敗血症、ブルセラ症、結核（カプレ）、馬伝染性貧血、豚水疱病、低病原性鳥インフルエンザ（弱毒ワクチン株）、ニューカッスル病、家きんサルモネラ症
- 届出伝染病(3疾病)
悪性カタル熱、馬インフルエンザ、豚水疱疹

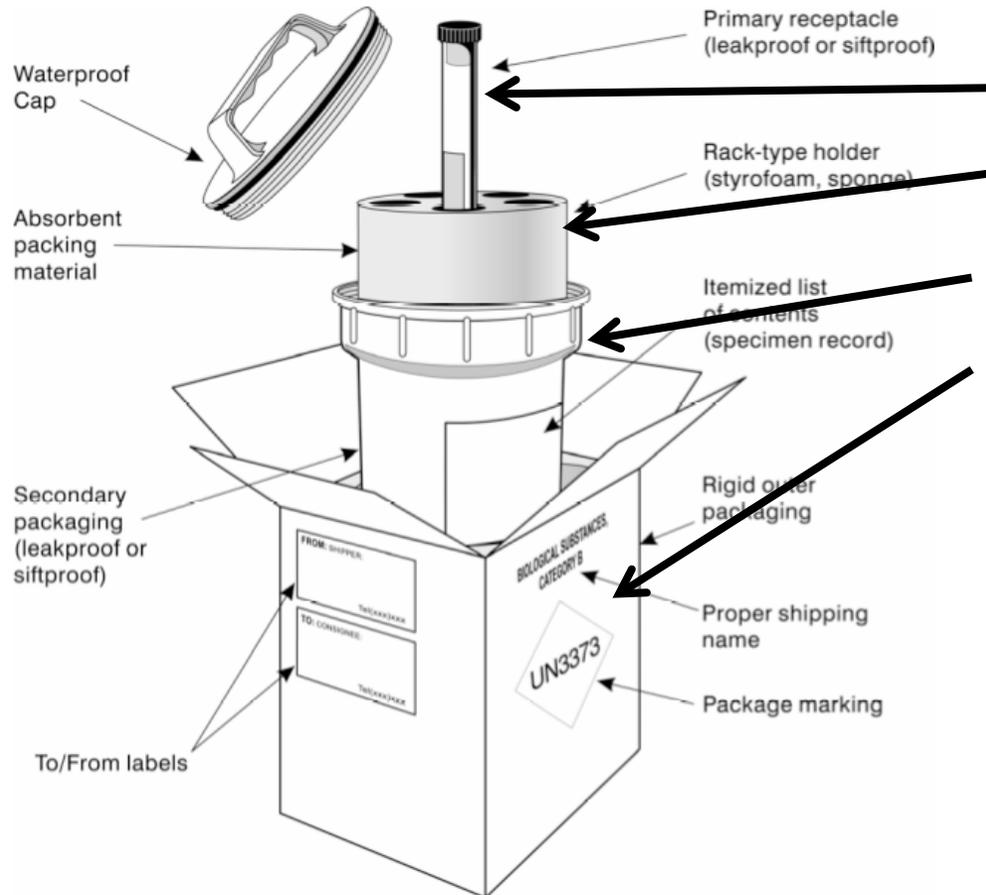
規制の対象外（79疾病）

- ・感染症予防法における規制
 - ・国内での野外感染状況、伝播力
 - ・輸入規制による管理での効果
- 等 を 考 慮

- ※ 家畜に接種する場合には、学術研究機関として指定
- ※ 一部のワクチン株や薬機法承認を受けた生物学的製剤に含まれる病原体等は規制対象から除外されている

病原体および組換え微生物の輸送

国際航空輸送協会 (IATA) のカテゴリ-A、カテゴリ-B 感染性物質梱包容器



1次容器: 密封試験管等

吸収・緩衝材

2次容器: 密封耐圧容器

3次容器: 一辺が10 cm以上の箱に
必要事項を表示

**2次容器内にドライアイスは絶対に
入れないで下さい！ 破裂します！**

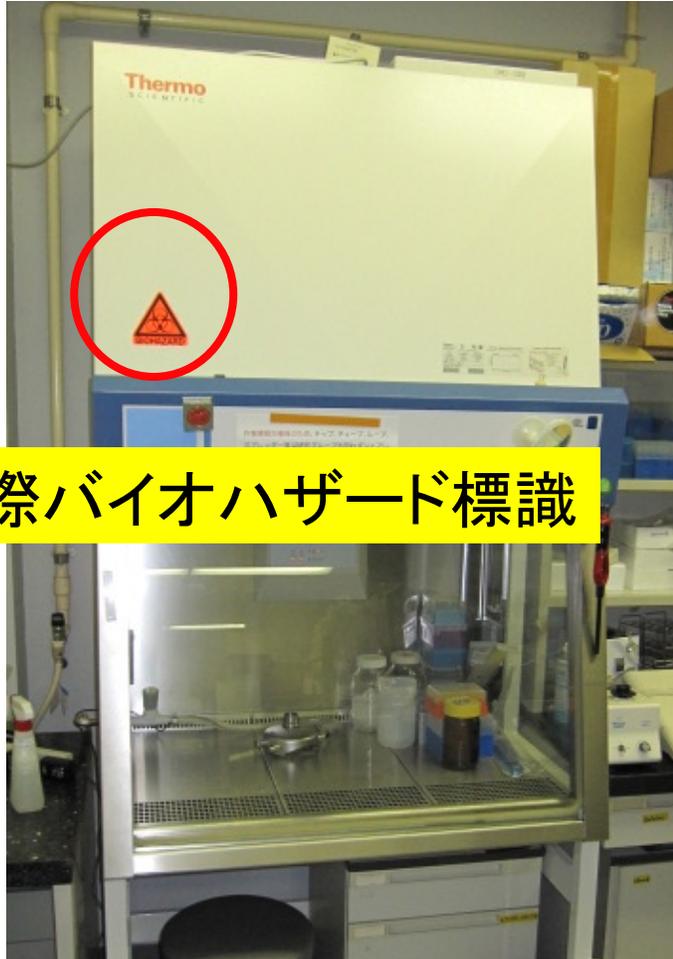
病原体・検体の輸送業者(例)

- **ワールドクーリア**: 国際輸送可能。高価。
- **フェデックス**: 国際輸送可能。高価。
- **日本通運(メディカル便)**: 国内(送り先により国際輸送も可能)。比較的安価。
- **日本郵便**: 国内、登録研究機関のみ。もっとも安価だが梱包責任者の届出、梱包のダブルチェック、書類(チェックリスト等)必要。

通常の宅急便では絶対に送らないで下さい！食品などを含む他の荷物と混載になります。

封じ込めに係る設備について

安全キャビネット



国際バイオハザード標識

クリーンベンチ



ケミカルドラフト



病原体の封じ込めができるのは安全キャビネットだけ

	国際バイオ ハザード標識	HEPAフィ ルター	チャンバー 内の圧	実験者の 安全	試料清浄 保持	環境汚染 防止
安全キャ ビネット	あり	あり	陰圧	○	○	○
クリーン ベンチ	なし	あり	陽圧	X	○	X
ケミカル ドラフト	なし	なし	—	○	X	X

安全キャビネットのメンテナンス

- HEPAフィルターの交換

使用頻度にもよりますが、5年程度での交換が理想的です。安全な運転ができているか、風量ゲージや運転前のセルフテストなどに常に注意して下さい。

特定病原体を使用する安全キャビネットは、定期点検が義務付けられています(三種以上は年1回、四種は任意で定期的に)。

- UVランプの定期的交換

- ガスホースの定期的交換

オートクレーブ

121°C(1気圧)、20分。高温高圧になります。
正しく、安全に使用してください！



蓋は確実に閉める



缶体内



水量の目視
確認



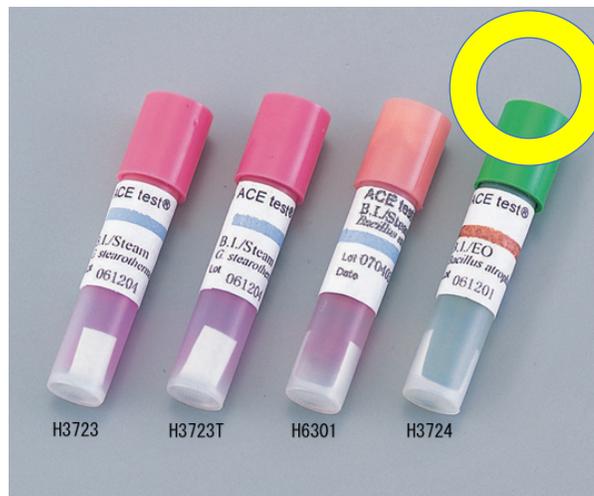
ドレイン
ボトル

オートクレーブによる滅菌は確実に！

- ・ 通常のプロア型オートクレーブなら液体は2Lごとに+4分(目安)
- ・ 滅菌状態の点検(滅菌インジケータを使用して定期的に)



オートクレーブテープは滅菌前か後かの判定は可能ですが、不活化の確認にはなりません



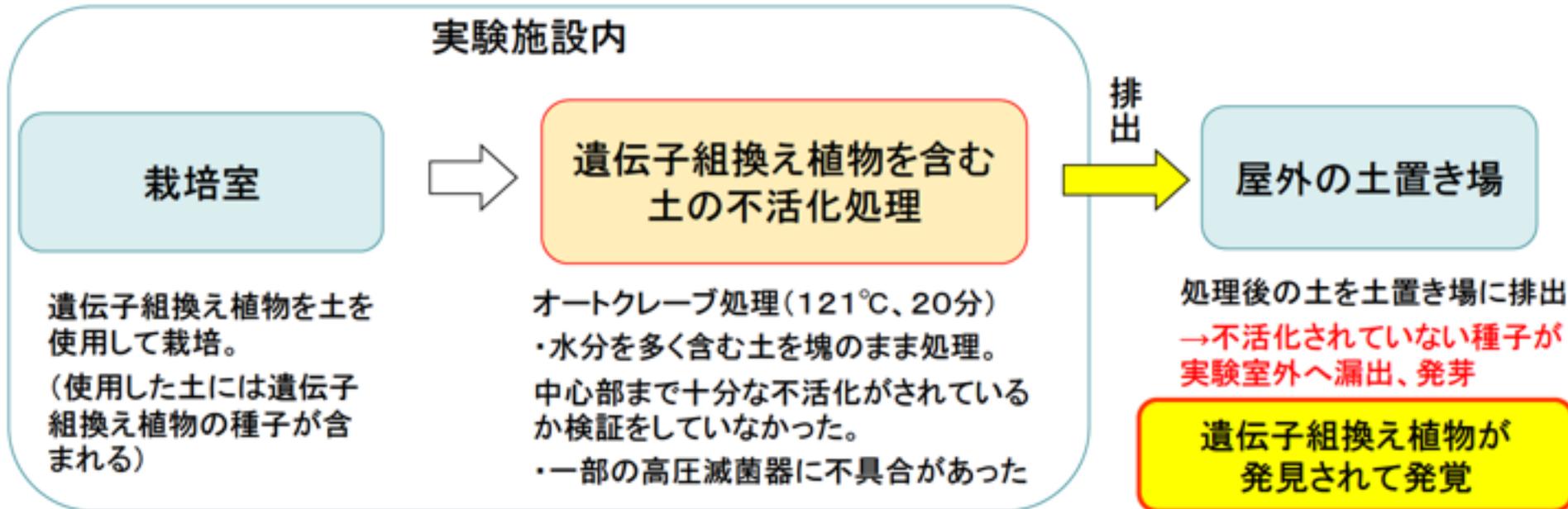
生物学的インジケータ



滅菌判定カード

- ・ 内容積21リットル以上のオートクレーブは労働安全衛生法に定める小型圧力容器に分類され、年1回以上の定期自主点検と3年間の点検記録保管義務があります

使用中の対応の不備等 事例②: 遺伝子組換え生物の不活化が適切に行われていなかった例①



■主な原因

- 不活化に関する条件の検討が行われていなかった
- 機器の管理が適切に行われていなかった

■組織として、取り得る対策

- 使用する生物・資材等に応じた不活化の条件検討を徹底する
- 不活化の実施状況の把握(機器の管理、不活化の記録 等)

生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書

遺伝子組換え生物等の使用による生物多様性への悪影響を防止することを目的として2000年1月に採択。2022年現在、アメリカ合衆国以外のほとんどの国が批准している

カルタヘナ議定書の日本での発効(2004年2月)に伴い、それまでの「組換えDNA実験指針」に代わって制定された国内法が「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)」です。

カルタヘナ法の規制対象

(1) 遺伝子組換え生物等について

次の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**

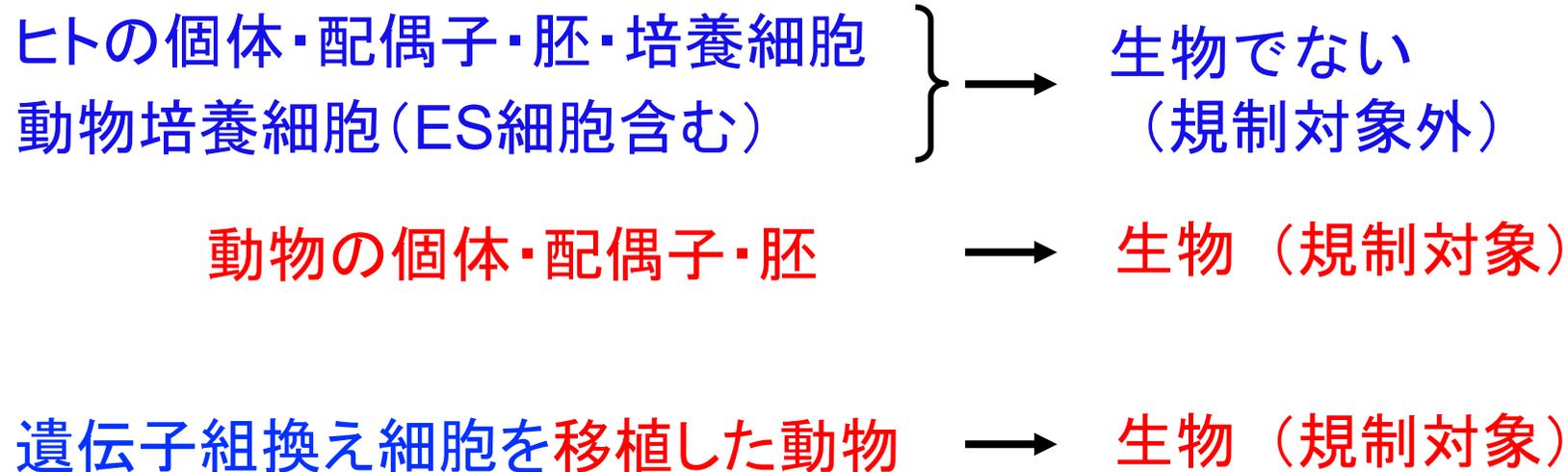
- i) 細胞外において核酸を加工する技術
- ii) 異なる科に属する生物の細胞を融合する技術

(2) 使用等について

- i) 食用、飼料用、実験材料用等に供する使用
- ii) 栽培、飼育、培養等の育成
- iii) 加工、保管、運搬、廃棄
- iv) これらに付随する行為

カルタヘナ法における「生物」とは

- * 核酸を移転し又は複製する能力のある細胞等、ウイルス又はウイロイド
- * ただし、ヒトの細胞等および分化能を有する又は分化した細胞等（個体及び配偶子を除く。）であって、自然状態で個体に生育しないものは除外する



遺伝子組換え生物等の使用等に関する措置

(1) 第一種使用等

環境中への遺伝子組換え生物等の**拡散を防止しない**で行う使用等

(2) 第二種使用等

環境中への遺伝子組換え生物等の**拡散を防止しつつ**行う使用等

通常、研究に用いる遺伝子組換え生物は拡散防止措置を執って使用するので「第二種使用等」になります。関連する要件は**二種省令**に規定されています。

第二種使用等に関する措置

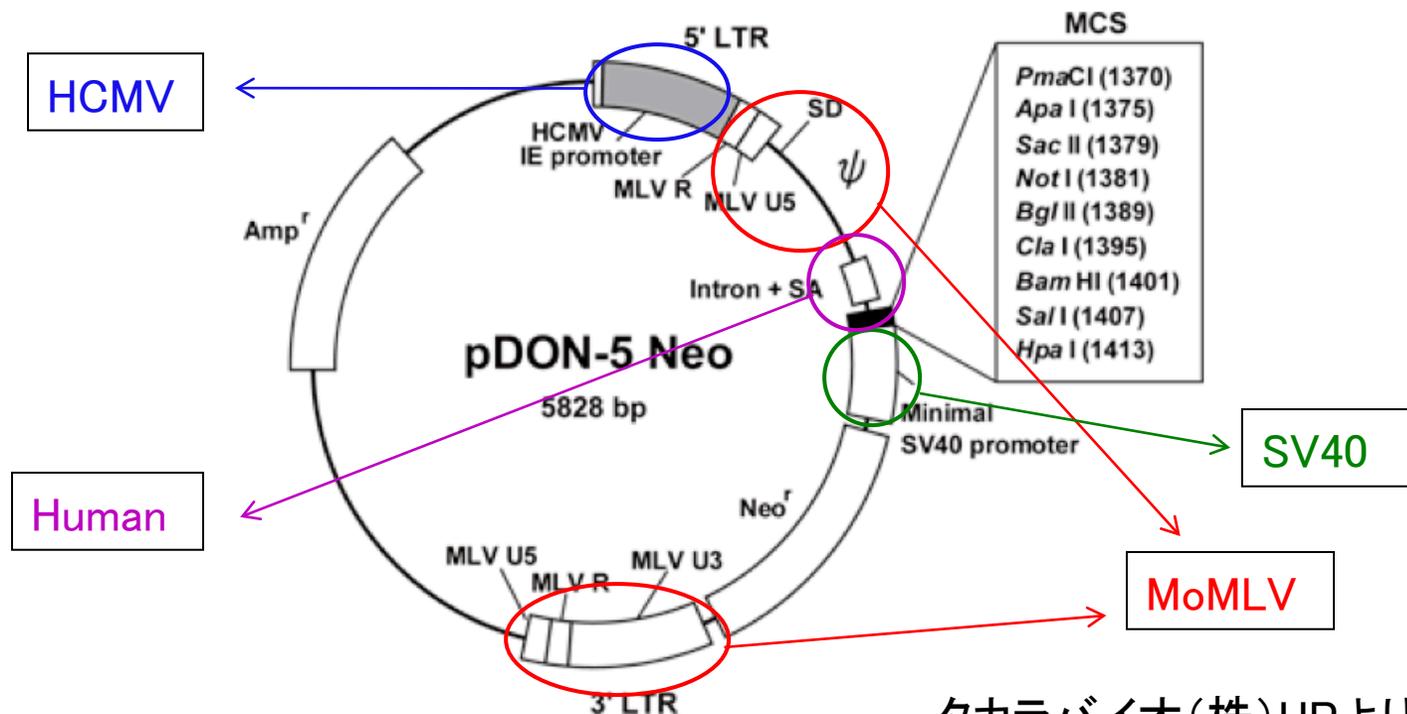
「二種省令」に、拡散防止措置が

- 定められている使用等（機関実験）
 - 定められた措置をとらなければならない
 - 研究機関が実験を承認できる
- 定められていない使用等（大臣確認実験）
 - 文部科学大臣の確認を受けなければならない

「拡散防止措置」を決定する要件

- **核酸供与体**: 供与核酸の由来する生物
- **供与核酸**: 外来遺伝子として他の生物種に導入される核酸
- **宿主**: 供与核酸を受け取り、組換え生物となる生物
- **ベクター**: 供与核酸を組み入れ宿主に導入するために必要な核酸

高機能ベクターには種々の**タグ配列**、**レポーター遺伝子**、**プロモーター**、**ターミネーター**等の機能配列が含まれており、これら全てが**供与核酸**、その由来する生物が**核酸供与体**となり得ます



実験分類(二種省令第三条) ～核酸供与体と宿主のレベル～

クラス1	微生物、きのこ類及び寄生虫のうち、哺乳動物等に対する病原性がないもの、並びに動物及び植物
クラス2	微生物、きのこ類及び寄生虫のうち、哺乳動物等に対する病原性が低いもの
クラス3	微生物及びきのこ類のうち、哺乳動物に対する病原性が高く、かつ伝播性が低いもの
クラス4	微生物のうち、哺乳動物に対する病原性が高く、かつ伝播性が高いもの

個別の分類については「二種告示別表第2」を参照して下さい

大臣確認実験の例

微生物使用実験

- 実験分類が未定で病原性を有する微生物の使用
- 宿主又は核酸供与体がクラス4
- 宿主がクラス3
- 宿主(ウイルス・ウイロイドを除く)がクラス2で供与核酸が薬剤耐性遺伝子
- 増殖力・感染力を保持したウイルス・ウイロイドで、使用等を通じて増殖する
- 供与核酸がLD50 100 µg/kg 体重以下の毒素遺伝子

動物使用実験

- 上記の微生物使用実験を含む実験
- 供与核酸が病原性微生物の感染受容体(本来宿主が有していないもの)

生物学的封じ込め

特殊な培養条件下以外では生存できない宿主と実験用でない他の生物への伝播性がないベクターを組み合わせた「宿主-ベクター系」を用いることにより、実験の安全性を確保しようとするもの

B1: EK1, SC1, BS1, *E. coli* B由来株 等

B2: EK2, SC2, BS2

その他:



これらを「認定宿主-ベクター系」と呼び、一定の安全性が確保されていると判断する基準になります

物理的封じ込め

病原体や遺伝子組換え生物等を施設及び設備内に閉じ込めることにより、実験従事者その他の者への伝播及び拡散を防止しようとするもの

P1, P2, P3 ← 施設及び設備

LS-C, LS-1, LS-2 ← 大量培養実験(20 L 以上)

P1A, P2A, P3A ← 動物(Animal)使用実験

P1P, P2P, P3P ← 植物(Plant)使用実験

物理的封じ込めの要件

P1

1. 通常の微生物学実験室等
2. 実験中の窓・ドア等の閉鎖
3. 関係者以外の入室制限
4. 遺伝子組換え生物等の不活化
5. エアロゾル発生を最小限に
6. 手洗い等

P2

- + 1. オートクレーブの設置(建物内)
- 2. エアロゾル発生しやすい実験は安全キャビネット内
- 3. 「P2レベル実験中」の表示

P3

- + 1. インターロック式前室
- 2. 実験室は水洗・燻蒸可能で密閉状態
- 3. オートクレーブの設置(実験室内)
- 4. エアロゾル発生しやすい実験中は出入りしない
- 5. 実験室の陰圧
- 6. 足や自動で操作可能な手洗い等
- 7. 排水の不活化
- 8. 専用作業着、防護具等の着用
- 9. 「P3レベル実験中」の表示

A措置

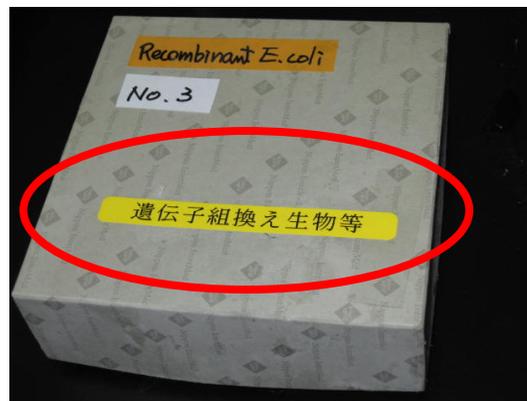
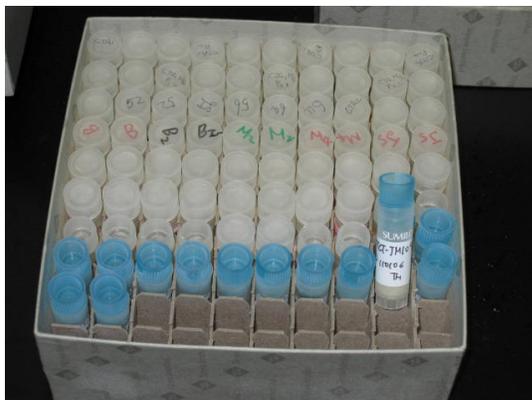
- + 1. 通常の動物の飼育室等
- 2. 逃亡防止の設備等
- 3. 糞尿等を回収する設備等
- 4. 個体識別ができる措置
- 5. 「組換え動物等飼育中(P2, P3)」の表示

実験中の表示



- ・P2レベル実験中
 - ・組換え動物等飼育中(P2)
- など、封じ込めレベルに即した表示が義務付けられています

保管中の表示義務

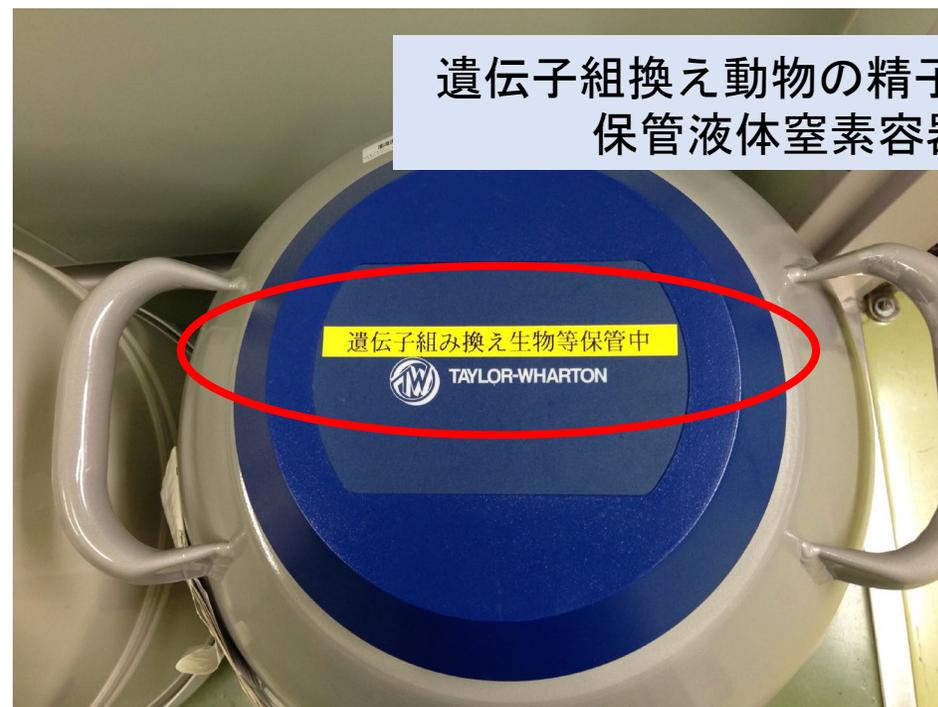


容器への表示



超低温冷凍庫

保管庫への表示



遺伝子組換え動物の精子/受精卵
保管液体窒素容器

遺伝子組換え生物等の移動の際の情報提供(国内)

1. 譲渡、提供、委託の都度、
 2. 遺伝子組換え生物等の第二種使用等である旨
宿主等の名称及び組換え核酸の名称
氏名及び住所 を
 3. 文書の交付
容器等への表示
FAX
電子メール
- のいずれかにより行う
(証拠資料として残すため)

遺伝子組換え生物等の移動の際の情報提供(国外)

1. まず下記の情報を事前に通告する
2. 梱包容器の一番外側に下記情報を表示する
 - 1) 遺伝子組換え生物等であること
 - 2) 安全な取扱い、保管、輸送及び利用に関する要件
 - 3) 追加的な情報
 - ・輸出者の氏名、住所、連絡先
 - ・輸入者の氏名、住所、連絡先

ただしこれはカルタヘナ議定書による取り決めであり、
議定書非締約国には適用されません

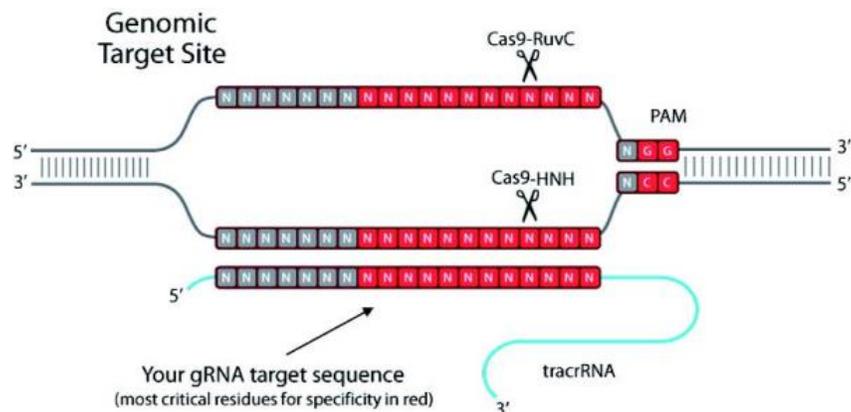
不適切な取扱いに対する措置等

1. 報告徴収
2. 立入検査等
3. 措置命令
4. 罰則

1) 措置命令違反 → 1年以内の懲役
100万円以内の罰金

- 2) 拡散防止措置の確認を受けない第二種使用等
- 3) 必要な情報提供をせずに譲渡等
- 4) 必要な通告や表示をせずに輸出
→ 50万円以下の罰金

ゲノム改変動物は「遺伝子組換え生物」か？

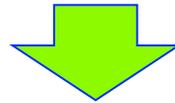


CRISPR/Cas9等のゲノム編集技術で作製された動物は、「**得られた生物に細胞外で加工した核酸が含まれないことが確認された場合は法の対象外**」となりました。ただし「使用等に先立ち、その生物の特徴及び生物多様性影響が生じる可能性の考察結果等について主務官庁に情報提供する」ために「**ゲノム編集技術の利用により得られた生物の使用等に係る実験計画報告書**」を提出することが求められます。

一方、最終的に得られた生物に細胞外で加工した核酸を含む場合、もしくは細胞外で加工した核酸の非存在を確認していない場合については、従前どおり法に基づく**遺伝子組換え生物等として取扱うことになり、上記実験計画報告書は不要**です(元受文科振第 100 号)。

事故の対応

- 病原体／遺伝子組換え生物に暴露した
- 病原体／遺伝子組換え生物に起因すると思われる身体的異常を認めた
- 病原体／遺伝子組換え生物が実験区域外に出た
- 実験区域の安全設備に重大な欠陥が発見された



- **遅滞なく、実験責任者、危害防止主任者等に通報して下さい。**

事故を起こさないことも大事ですが、事故の際に適切な対応ができるかどうかの方がより大切です