

「組換えDNA実験指針」の解説

<目次>

はじめに	1
第 部 総論	
第1章 総則	
第2章 封じ込めの方法	4
物理的封じ込め	4
生物学的封じ込め	9
安全度評価及び及び封じ込め方法の基準	13
第3章 組換え体の取扱い	14
第4章 教育訓練及び健康管理	16
第5章 実験の安全を確保するための組織	17
第 部 各論	
実験の区分	23
第6章 微生物及び培養細胞（個体形成を目的としないもの）を宿主とする実験	26
第7章 動物及び植物を用いる実験	31
第8章 教育目的組換えDNA実験	41
その他	
実験実施手続	43

はじめに

組換えDNA技術は、1972年に開発されて以来、生物の仕組みを明らかにする基礎的研究を始め、医薬品や酵素の効率的製造や農作物等の短期間での改良など幅広く用いられており、ライフサイエンスにおける基盤的技術となっています。このため、今後のライフサイエンスの発展を図るためには、組換えDNA技術を用いた研究を適切に推進することが必要です。

一方、組換えDNA技術は、それまで自然界に存在しなかった新しい遺伝子の組合せを生み出すものであり、開発当初に、十分な安全措置のないままに研究を進めた場合、人間及びその他の生物に危険をもたらす可能性がないとは断言できないとの考えが示されたところであります。

このようなことから、組換えDNA研究の推進に当たっては、その潜在的危険性を最大限に見積もり、これに対処するための万全の予防手段を講じることが重要です。このような考えに立ち、これまで、我が国を含む先進諸国において、組換えDNA実験の安全確保のための指針が作成・運用されてきています。

1 旧文部省、旧科学技術庁における取組

我が国においては、科学技術会議において、昭和51年9月以来、組換えDNA研究を含む遺伝子操作研究のあり方について検討が重ねられ、昭和52年5月に、諮問「長期的展望に立った総合的科学技術政策の基本について」に対する答申の中で、組換えDNA研究については安全を確保するための指針の作成等が必要である旨の指摘がなされました。

これに続き、旧文部省の学術審議会において、この分野における研究者の自主的意見を幅広くとり入れつつ、指針案の検討・作成が進められ、昭和53年11月に文部大臣に対する建議がなされました。これに基づき、旧文部省において、昭和54年8月に「大学等における組換えDNA実験指針」が告示されました。

他方、組換えDNA研究は、大学等だけでなく、公立研究機関や民間の研究機関等においても実施されることが想定されたため、科学技術会議において、国全体としてこの問題への対処が必要と考えられ、昭和52年11月に、同会議ライフサイエンス部会の総合分科会に、我が国として最適と考えられる組換えDNA研究の推進方策についての検討が依頼されました。総合分科会では、学術会議その他の関係機関、団体等の意見聴取が行われ、昭和53年12月に報告がとりまとめられ、ライフサイエンス部会に提出されました。この報告に基づいて、昭和54年8月に、科学技術会議から内閣総理大臣に対して、諮問「遺伝子組換え研究の推進方策の基本について」に対する答申が行われ、同月、大学等を除くすべての研究機関を対象とした「組換えDNA実験指針」が内閣総理大臣により決定されました。

これらの指針は、策定以後、研究の進展に伴う安全性確保に関する科学的知見の蓄積、国内外の動向等を踏まえ、順次改訂が行われ（旧文部大臣告示では9回、旧内閣総理大臣決定では10回）、最新の知見が反映されるよう努力がなされてきました。

2 文部科学省における取組

平成13年1月に、旧文部省と旧科学技術庁は、中央省庁再編により新たに文部科学省となりましたが、「組換えDNA実験指針」についても、平成14年1月に、これまでの2つの指針の統一化を図った新たな指針が策定されました。指針の策定に当たっては、科学技術・学術審議会生命倫理・安全部会組換えDNA技術等専門委員会において、検討が重ねられ、平成13年11月に生命倫理・安全部会に対して報告がなされました。この報告においては、現行の指針について、技術の進展等最新の状況を踏まえた内容の見直しを行うこと、すべての関係者に確実に理解され、実践されるよう統一すること、組換えDNA実験が高等学校の授業等に活用されるよう教育目的DNA実験を新設すること等の提言がなされました。この報告に基づき、新たな指針を平成14年1月に告示し、平成14年3月に施行しました（合わせて、旧指針及び旧指針に係る各通知は廃止しました）。なお、この指針の策定に当たっては、委員会に専門家による検討に加え、平成13年10月～11月にかけて行われた意見公募における意見の反映がなされています。

3 新指針の構成

指針は、本文については、指針の適用範囲や定義、封じ込め方法（組換えDNA実験の太宗を占める微生物等を扱う実験に係るもの）などが書かれた「総論」と実験区分毎の具体的な実験方法などが書かれた「各論」の二部構成になっています。また、本文のほかに、封じ込めに当たっての詳細な規定等が書かれた「附属資料」、生物の安全度評価分類等をまとめた「別表」が添付されています。さらに、指針の参考として、実験の区分ごとに実験の手続きの区分と物理的封じ込めの方法の基準を整理した「表」が示されています。

<指針の目次>

第I部 総論

第1章 総則

第2章 封じ込めの方法

第1節 物理的封じ込め

第2節 生物学的封じ込め

第3章 組換え体の取扱い

第4章 教育訓練及び健康管理

第5章 実験の安全を確保するための組織

第II部 各論

第6章 微生物及び培養細胞(個体形成を目的としないもの)を宿主とする実験

第7章 動物及び植物を用いる実験

第8章 教育目的組換えDNA実験

(参考)新指針と旧指針の主な変更点

1. 機関承認実験及び機関届出実験の範囲

これまでの2つの指針では、機関承認実験及び機関届出実験の範囲が一部異なっておりました。新たな指針においては、これまでの指針のいずれかにおいて機関承認実験又は機関届出実験とされている実験については、指針運用において、実験実施機関が指針に示された基準や考え方に沿うことにより安全の確保が可能であると判断された実験であることから、原則として機関承認実験又は機関届出実験として整理されています。ただし、以下のとおり、分類方法等について特に再考が必要と考えられる実験は、個別に検討してその取扱いが整理されています。

なお、旧文部省告示における大臣承認実験及び旧内閣総理大臣決定における基準外実験は、ともに実験計画の妥当性について国の確認を求めるなど国の指導の下で実施する実験であり、新指針において大臣承認実験と改称されました。

2. 認定宿主一ベクター系の範囲

これまでの指針のいずれかにおいて認定されている宿主一ベクター系については、指針運用において、当該宿主一ベクター系に分類することが適当と判断されたものであることから、新たな指針においては、原則として認定宿主一ベクター系として取り扱われています。ただし、旧文部省告示において認定宿主一ベクター系とされていた *Agrobacterium* 属 (*A. tumefaciens*, *A. rhizogenes* 及び *A. radiobacter*) を宿主とし、RK2 系をベクターに用いる宿主一ベクター系については、*Agrobacterium* 属が特定の条件において動物培養細胞に遺伝子を導入しうることを示す知見が出されたことを踏まえ、新指針においては、認定宿主一ベクター系から除外されています。(なお、その位置付けについては、実験実施状況等を考慮しつつ引き続き検討を行うこととされています。)

3. 生物の安全度評価分類表

新たな指針では、微生物、ウイルス等の生物としての安全度評価分類表を関係機関や学会等での最近の知見なども考慮して改訂されました。なお、旧内閣総理大臣決定に位置付けられていた原虫に関する安全度評価分類表については、内容を見直した上で引き続き整備されています。

4. 「組換え DNA 実験」等の定義の見直し

組換え DNA 技術の進展等に伴い、例えば RNA ウイルスを DNA 供与体とする場合など、従来の定義では指針の対象となるか否かが必ずしも明確でない実験が認められるようになってきていることから、指針の趣旨を踏まえた適切な定義となるよう表現を改められています。

5. 「未同定 DNA 実験」及び「同定済み DNA 実験」の新設

塩基配列等が明らかな DNA (同定済み DNA) を導入する実験を「同定済み DNA 実験」、「同定済み DNA 実験」に該当しない実験を「未同定 DNA 実験」とし、必要となる手続及び封じ込めの方法が整理されています。これらは、それぞれ、旧文部省告示に位置付けられていた「組換え体作製実験」、「組換え体増殖実験」の考え方を引き継ぐものです。「同定済み DNA 実験」については、実験に伴うリスクが十分に予測でき、実験実施機関が安全確保の方法を適切に判断しうる実験の範囲が大きいと判断されることから、未同定DNA実験と比べ、封じ込めの方法の明示及び手続の簡素化が図られています。

6. ウイルスを用いる実験の整理

旧内閣総理大臣決定では、ウイルスをベクターとして使用する場合及び感染性ウイルス粒子が生じる実験については、伝達性の観点から、これに該当しない実験に比べてより慎重な判断が必要との考え方に立ち、そのほとんどが基準外実験として扱われていました。

一方、旧文部省告示では、高度な物理的封じ込めレベルが必要とされるウイルスをベクターとする場合と、ヒトへの感染性・増殖性を維持しているウイルスをベクターとする場合に、物理的封じ込めレベルを1段階上げる原則の中で、物理的封じ込めレベルを上げずに行う場合等に限り、大臣承認実験として扱われていました。

パッケージング細胞に増殖能力を欠損させたウイルスベクターを導入させて感染性ウイルス粒子を得る実験など、一次的な感染性ウイルス粒子が産生される実験は現在広範に行われていますが、感染能力と増殖能力を維持した二次的な感染性ウイルス粒子が生じない限り、伝達性の観点に特別な配慮が必要とは認められません。

このため、新たな指針においては、ウイルスを用いる実験については、高度な物理的封じ込めレベルが必要とされるウイルスをベクター又は DNA 供与体とする実験、二次的な感染性ウイルス粒子が生じる蓋然性が高い実験等に限り、原則として大臣承認実験として整理されています。この整理により、ウイルス等を取り扱う場合とそうでない場合の封じ込めの基準に関する考え方や手続等に大きな相違点がなくなるため、これまでの旧内閣総理大臣決定における「ウイルス等実験」の区分は廃止されました。

7. 動植物に組換え体を接種する実験の取扱いの明確化

旧内閣総理大臣決定では、「組換え動物」及び「組換え植物」の定義において、組換え体が接種された動植物もこれに該当するとされていましたが、当該動植物の安全確保に関する考え方は、トランスジェニック動植物等の当該定義規定に該当するその他の動植物のそれとは必ずしも同一でないことから、組換え体が接種された動植物は当該定義規定には含まれないものとするとともに、動植物に組換え体を接種する実験については、接種された組換え体に応じた封じ込めを行うこととされました。

た。

8. 「教育目的組換え DNA 実験」の新設

高等学校等での教材として組換え DNA 実験を導入することは、組換え DNA 技術がもつ有用性とその社会的影響を学び取ってもらい、最近のライフサイエンス研究に対する正しい理解を促すために、極めて有用と考えられます。このため、特に安全性の高い実験を特定することにより、実験の安全のための組織に関する規定等を適用せずに行いうる「教育目的組換え DNA 実験」が新設されました。なお、指針では、実施施設の長等に同意を得て実施すること、実験の経験を有する者が指導に当たること等の要件が実験の実施に当たり求められています。

9. その他

封じ込めの方法、実験の安全確保のための手続き、健康管理及び安全管理のための組織等の諸規定のうち、実態に即さないと考えられるもの及び安全の確保上追加すべきと考えられるもの等について適宜加除・修正が行われています。

○ 第2章 封じ込めの方法

I 物理的封じ込め

指針では、組換えDNA実験を行う場合、組換え体などが実験区域外に漏出するのを防止するための物理的封じ込めを採用しています。

物理的封じ込めのレベルは、実験で取り扱う生物に応じて、微生物及び培養細胞を用いる実験では、実験の規模(培養規模)が20L以下の場合にはP1-P4の4レベルに、実験の培養規模が20Lより大きい大量培養実験の場合にはLS-C、LS-1及びLS-2の3レベルに区分されています。

また、作製された組換え動物及び組換え植物を飼育又は栽培管理する実験については、作製された組換え体の生物としての性質に応じて、逃亡防止や花粉等の飛散防止等の措置を講じる必要があり、指針では上記の物理的封じ込めとは異なる封じ込めを要するという意味で「その他」として取扱っています(実験計画書等の記載に注意してください)。

組換えDNA実験室を新たに設置しようとする場合、まず、行おうとする実験についてどのレベルの実験室が必要かを考える必要があります。また、動物及び植物を用いる実験を行う場合には、用いる動植物の種類に応じた実験室の設計が必要です(第7章参照)。

指針策定当初は、組換えDNA実験を行う場合には、かなり高度の封じ込めレベルの実験室が必要とされていました。しかしながら、実験の安全性に関する科学的知見の蓄積の結果、現在ではP3レベル以上の封じ込めを要する実験は一部の特殊な実験に限られ、研究機関で一般に実施される実験は、P1、P2レベルで行えるようになっていきましたので、現在の指針を理解してから実験室を設計することが適切です。

以下に、各物理的封じ込めレベルの実験室の概要を説明します。なお、具体的な物理的封じ込めの方法は、指針附属資料1及び2に記載されています。

1. P1レベル実験室

実験室には、通常の微生物学実験室と同程度の設備を備えることが要求されます。

実験中は実験室の窓や入口は全て閉じておく必要があります。

組換え体や実験に使用した生物に由来する廃棄物、実験用器材等を滅菌することとされていますので、実験室のある建物内に高圧滅菌器(オートクレーブ)や薬液消毒用の浸漬槽などを設置することが望まれます。

2. P2レベル実験室

P2レベルとP1レベルの実験室の最も大きな違いは、以下の2点です。

(1) 原則として安全キャビネットを設置すること。

遠心分離機、超音波細胞破碎装置、凍結乾燥機、ブレンダーなどエアロゾルが発生しやすい機器の操作は汚染エアロゾルが外部に漏出しないように工夫する、つまり、安全キャビネット内で行うことが望ましいとされています。また、すべての操作についてエアロゾルの発生を最小限にするよう注意を払うこととされており、培地への菌の移植や培地の交換など、組換え体を扱う場合には安全キャビネット内で行うことが望まれます。

ただし、HEPAフィルターを通じて排気を行う実験室(クリーンルーム等)において、エアロゾルの発生が想定されない場合には、安全キャビネットの設置は必要ではありません。

なお、安全キャビネット(クラスI、クラスII及びクラスIII)並びにHEPAフィルターの規格は指針附属資料3を参照して下さい。

(注) 安全キャビネットとクリーンベンチが混同されることがありますが、安全キャビネットは試料から実験従事者を保護するもの、クリーンベンチは外部から試料の汚染を防ぐものというように目的が全く異なります(ただし、クラスII以上の安全キャビネットにはクリーンベンチの機能も含まれます)。クリーンベンチで行う操作はエアロゾルが実験従事者に吹きかかる可能性があるため、使用を間違えるとむしろ危険になります。この点に注意して下さい。

(2) 汚染されたものや廃棄物を滅菌するために使用する高圧滅菌器を実験室のある建物内に設置すること。

3. P3レベル実験室

P3レベルの封じ込めが必要とされる実験に使用する可能性のある細菌やウイルスは、ヒトに対して病原性をもっているものがほとんどですので、P2レベルの実験室に比べ、さらに厳重な封じ込め設備が必要です。

特に、実験室の設計に当たっては、次の点に注意する必要があります。

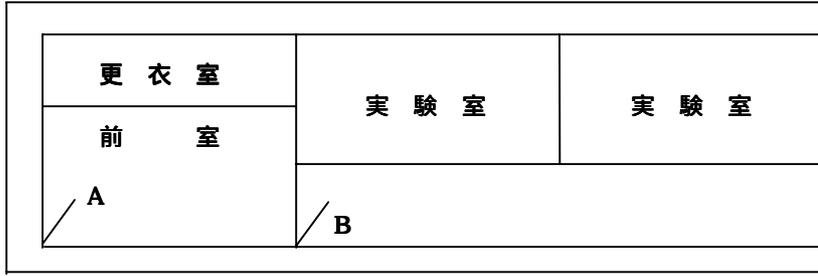
(1) 実験室に前室を設けること。

これは、組換え体や組換え体の作製に使用する微生物などが直接外部に漏れないよう、一種の緩衝地帯となるものです。下図に例を示します。

前室の前後のドア(下図のA、B)は、両方が同時に開かない機構とし、特に実験区域側のドア(下図のB)は開けた後に自動的に閉まる構造(バネ式開閉ドアなど)にして下さい。

また、前室には更衣室を設けて下さい。

図 P3 実験室の構造



(2) 空気の流れが、必ず前室から実験区域に向かうようにし、実験区域からの排気はろ過、その他の処理をした後排出すること。

これは、空気の流れを汚染度の低い方から高い方へ向かわせることによって、実験室内のエアロゾルなどが外部に広がらないようにするものです。

したがって、給気口からの空気は実験を行っている奥の方へ流れるように設定し、給気口の位置、排気口の位置に気を付けて下さい(給気口、排気口の位置が前室のそばにあると、前室に実験室内のエアロゾルなどが流れ込んでしまうおそれがあります)。実験区域が隣接する複数の実験室からなる場合は、空気が各室へ順次あるいは個別に確実に流れるよう設計する必要があります。

さらに、排気に当たっては、排気口や排気ダクトにHEPAフィルターを設けるなどして、実験室内の空気が直接外に出ないようにして下さい。HEPAフィルターは実験室排気口のできるだけ実験室に近いところに設置する必要があります(ダクトを通して屋外に排出する場合に、外壁近くにHEPAフィルターを設置するとダクト内の除染が困難になります)。

(3) 実験室、実験区域の主な出口には、足や肘で、または自動的に操作できる手洗い装置を設けること。

これは、蛇口を直接手で操作すると組換え体などが付着するおそれがあるので、それを防止することが目的です。

(4) 実験区域の床、壁、天井の表面は容易に洗浄やくん蒸か可能な材質とすること。

ロンリウム等の実験室用床材により滑らかな表面にすることが必要です。

(5) 実験区域の窓は密封状態とすること。

窓がある場合には、パテ埋め等により密封することが必要です。

(6) 安全キャビネットを設置すること。

安全キャビネットの設置に際しては、HEPAフィルターの交換、検査、安全キャビネットの消毒などを行う場合に、安全キャビネットを移動しなくてもこれらのことを実施できるよう配慮する必要があります。また、設置直後には性能試験を行うとともに、年1回以上定期検査を実施して性能維持に努めることが必要です。HEPAフィルター交換時及び検査時のホルマリン燻蒸等が安全キャビネットを移動しないで行えるよう配慮して下さい。

(7) 高圧滅菌器をP3実験区域内に設置すること。

4. P4レベル実験室

P4レベルの実験を行う場合には、P3レベルの実験室に比べさらに厳重な封じ込め設備が必要です。特に、実験室等の設計に当たっては、次の点に注意する必要があります。

(1) 室内を陰圧状態に保持できる構造とすること。

組換え体がエアロゾルとして外部に漏れないよう、施設及びその内部(実験室)が2段階の陰圧状態に保持されます。

さらに、実験室内の安全キャビネットの内部も陰圧状態になるため、3段階の陰圧状態(前室→実験室→安全キャビネット内部の順に常に圧が低くなるよう保持されます。)による封じ込めが施されています。

(2) 前室は同時には開かない扉を前後にもち、更衣室及びシャワー室を設けること。

実験区域への出入りは、エアロック機能を持つ前室を通じて行い、出入りに際してはシャワーを浴びて下さい。また、実験区域では下着を含め専用の実験着を着用し、実験区から出る時には、シャワー室に入る前にこれらを脱ぎ、収集箱に収めるようにして下さい。

(3) クラスⅢ安全キャビネット(グローブボックス)を使用すること。

安全キャビネットは密閉構造とし、高圧滅菌器及び浸漬槽またはくん蒸消毒室を備えている必要があります。また、キャビネット内部は、外部に対して陰圧状態を保持する必要があります。

P3レベルの場合と同様に設置直後には性能試験を行い、年1回以上定期検査を実施して性能を維持することが必要です。

(4) 実験区域専用の給排気装置を備えること。

(5) 実験区域に供給される水、ガス等の配管には逆流を防ぐ装置を備えること。

(6) 実験区域内に両面式の高圧滅菌器を備えること。

実験区域から搬出する物品を滅菌するために、両方が同時に開かない扉を前後にもつ通り抜け式(両面式)の高圧滅菌器を備える必要があります。

(7) 実験区域の床、壁及び天井は容易に洗浄及びくん蒸可能な材質とすること。

ロンリウム等の実験質用床材により滑らかな表面にすることが必要です。

(8) 実験中、当該実験室内では、封じ込めレベルがP3以下でよいとされる他の実験を同時に実施しないこと。

以上、P1-P4レベルの実験室について述べました。これを概略図で示すと次のようになります。

各々のレベルにおける実験室の設備、設計及び実験の実施上の注意(実験実施要項)は、指針の附属資料に記載されていますので、よく読んで下さい。

図 物理的封じ込めレベルの概略図

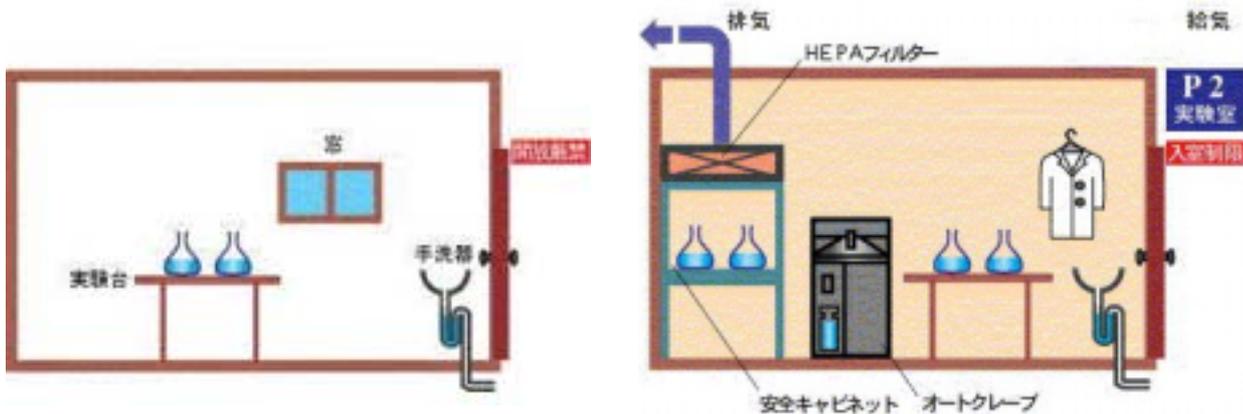
1. P1レベルの実験室

- ・通常の微生物学実験室と同程度

2. P2レベルの実験室

(P1レベルの仕様に加え)

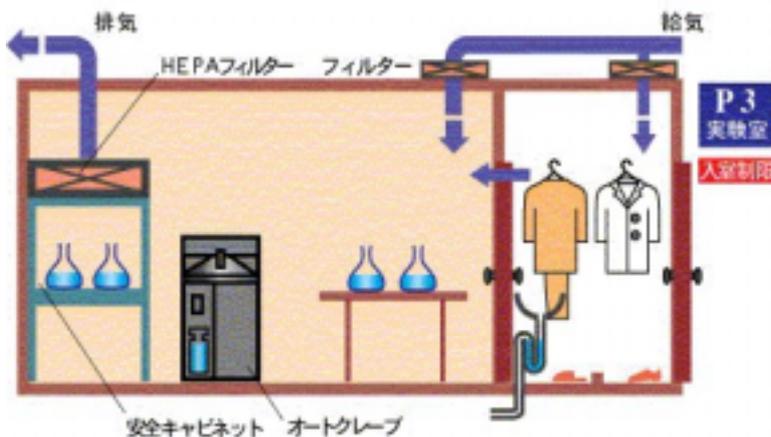
- ・実験中は、窓及び扉は閉める
- ・安全キャビネットの設置
- ・オートクレーブの設置
- ・実験室入口等に「P2レベル実験中」の表示



3. P3レベルの実験室

(P2レベルの仕様に加え)

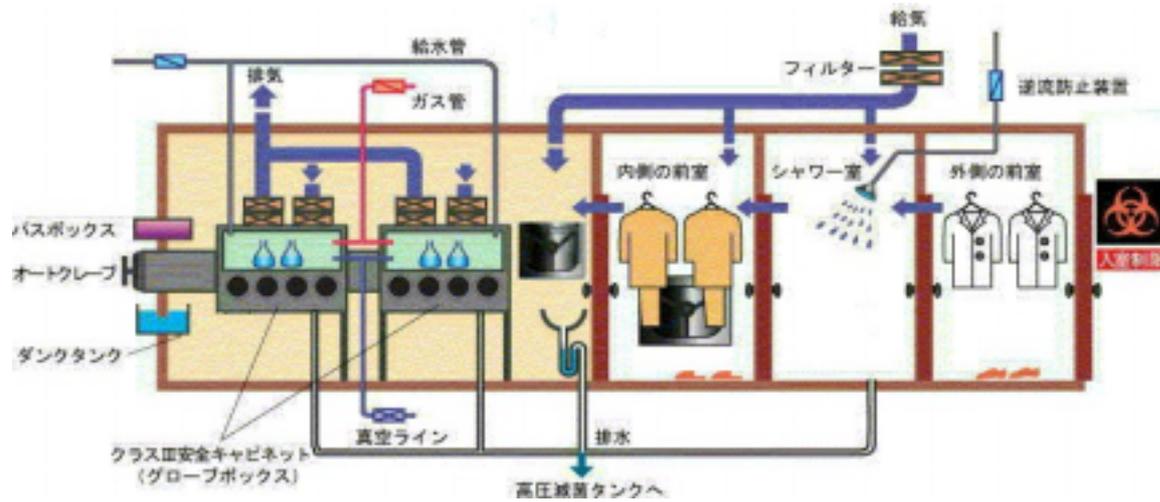
- ・更衣用の前室の設置、前室の前後の扉は同時に開かない構造
- ・空気が前室から実験区域へ流れるように設計された排気換気装置の設置
- ・出口に足等で操作できる手洗器の設置
- ・床、壁、天井の表面は容易に洗浄等ができる構造、材質



4. P4レベルの実験室

(P3レベルの仕様に加え)

- ・専用の建物又は他と明確に区画された実験区画
- ・クラスⅢ安全キャビネット(グローブボックス)の設置
- ・前室にシャワー室の設置
- ・両面式(同時に開かない)のオートクレープ等の設置
- ・実験区域専用の給排気装置(警報装置付き)の設置、陰圧の維持
- ・給水管等は逆流を防ぐ構造
- ・国際的に使用している「バイオハザード」の表示



5. 大量培養実験室(20Lより大きい規模で行う実験に係る実験室)

(1) 大量培養実験の物理的封じ込めレベル

培養規模(培養槽内の培養液量)が20Lを超える大量培養実験に係る物理的封じ込めについては、封じ込めの程度に応じて3つのレベル(LS-C、LS-1及びLS-2)が設けられています。LS-CからLS-1さらにLS-2に進むほど封じ込めのレベルは高くなります。なお、LSとはLarge Scaleの頭文字をとったものです。各々のレベルの内容は下表のとおりです。

表 大量培養実験における物理的封じ込めの3つのレベル

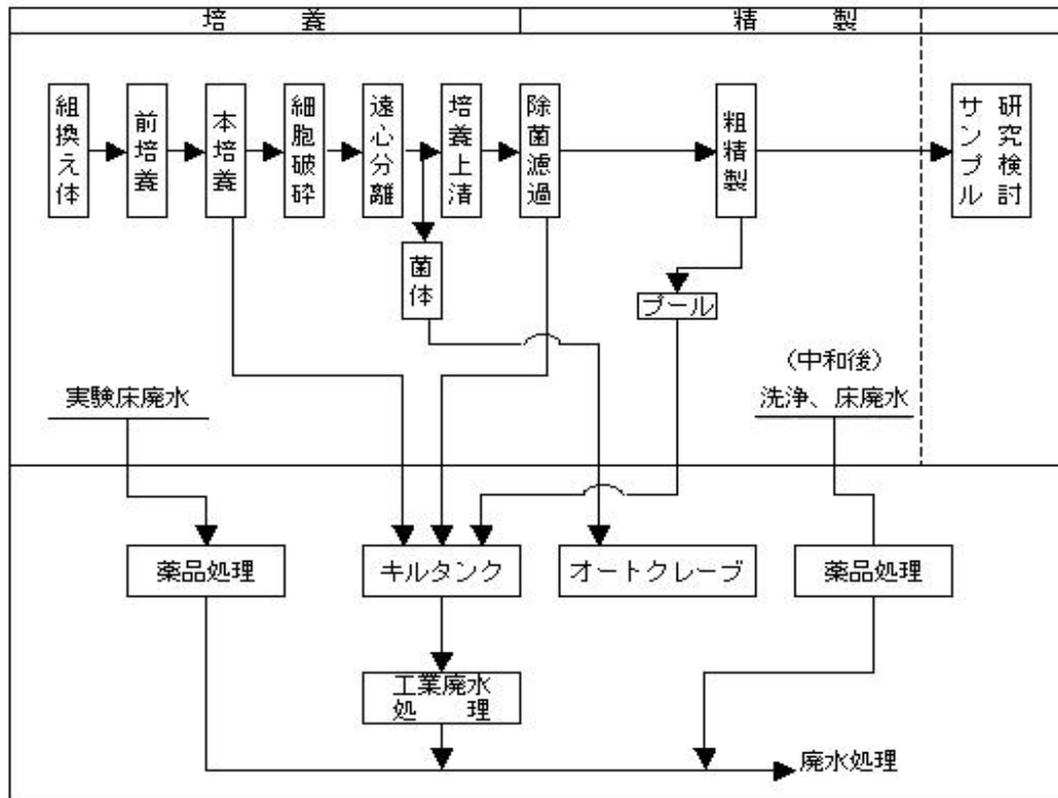
	構造	培養装置	培養装置からの排気のための装置	組換え体の処理(遠心分離、破碎など)を行う機器の収容
LS-C	よく整備された大規模な培養装置などを使用する施設と同程度の施設	よく整備された状態	組換え体の漏出を最小限にするような設計	—
LS-1	大規模な発酵装置を始めとする各種の密閉型装置を使用する整備された実験施設と同程度の施設	組換え体の外部への漏出が防止できるよう設計され、閉じた状態のまま内部の滅菌操作を行い得る装置	除菌用フィルターまたはそれに相当する効果を有する除菌用機器	安全キャビネットまたはそれに相当する封じ込め機能を有する装置
LS-2	同上	同上 特に、回転シール、配管弁その他の部品は組換え体の漏出防止に対し十分に配慮した設計	除菌効率がHEPAフィルターと同等以上の除菌用フィルターまたはそれに相当する効果を有する除菌用機器 大量培養実験中の密閉度を監視するための装置	クラスIIの安全キャビネットまたはそれに相当する封じ込め機能を有する装置

(2) 大量培養実験の実験実施に当たっての留意事項

各レベルにおける実施要領に記載されている事項のほか、特に留意すべき事項は次のとおりです。

- ① 培養装置を含むパイプラインの滅菌の手順及び方法を実験の実施前に確認しておく必要があります。
- ② LS-Cレベルの大量培養実験区域において、換気扇のある場合には、実験中は換気扇を止めておくことが望まれます。
- ③ LS-Cレベルの大量培養実験区域においても、培養装置の洗浄水や床排水等は、滅菌または殺菌処理をした後に排水することが必要です。

図 大量培養細胞実験の行程及び廃棄、廃水処理フローの例



II 生物学的封じ込め

I では、組換え体等が実験室外に漏出することを防ぐための物理的封じ込めについて説明しましたが、ここではもう1つの封じ込め方法である生物学的封じ込めについて説明します。

指針では組換えDNA実験を行うためには、実験の安全度評価に応じて物理的封じ込めと生物学的封じ込めの2つの封じ込め方法を適切に組み合わせることとされています。

生物学的封じ込めとは、特殊な培養条件下以外では生存しない宿主と実験用でない他の生細胞への伝達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、組換え体の環境への伝播・拡散を防止するか、または生物学的安全性が極めて高いものと認められた宿主-ベクター系を用いることにより、組換え体の生物学的安全性を保つことをいいます。例えば、E.coli K12株のように特殊な環境でしか生存しない宿主に、pBR322のように他の細胞には伝達しないベクターを組み合わせる場合などがこれに当たります。

組換え体を作製する過程で用いるDNA供与体、宿主-ベクター系のそれぞれについて、その生物学的性質を検査することにより生物学的封じ込めのレベルが評価され、これを踏まえて組換え体の物理的封じ込め方法の基準が決められます。

実験の生物学的封じ込めレベルが高い宿主-ベクター系は「認定宿主-ベクター系」といい、その生物学的安全性の程度に応じて、B1とB2の2つに分けられます。一般に、B2レベルの宿主-ベクター系を使用する場合には、B1レベルで組み合わせるべき物理的封じ込めレベルよりも1ランク物理的封じ込めレベルを下げた実験することが可能です。

なお、これらの認定宿主-ベクター系はすべて微生物又は培養細胞であり、「動物及び植物を用いる実験」において該当するものではありません。

1. B1レベルの認定宿主-ベクター系

自然条件下では生存能力が低い宿主と、宿主依存性が高く、他の細胞、微生物に移行しにくいベクターの組合せ、または遺伝学的、生理学的及び自然条件下での生態学的挙動に基づいて安全性が高いと認められる宿主-ベクター系がB1レベルとされており、次のものが該当します。(指針別表1の1)

(1) EK1

遺伝学的、生理学的に良く知られており、毒性がなく自然条件下での生存能力の低い大腸菌の一種E.coli K12株またはその誘導体を宿主とし、接合能力がなく他の菌に伝達されないプラスミドまたはバクテリオファージをベクターとする宿主-ベクター系(宿主は接合能力のあるプラスミドまたは一般導入バクテリオファージを持たないものに限る。)

これまでの組換えDNA技術は、E.coli(大腸菌)を用いて発展してきました。ここでいうE.coliは、下痢や腹痛を起こすような病原性をもっているものではなく(このような菌は、腸管病原性の全抗原型といい、指針では別に安全度評価がなされています。)、遺伝学的な解析も進められるとともに生理学的性質も解明され、古くから遺伝学の実験に用いられているK12株という系統及びそれらの誘導体(HB101、C600など)を指しています。

組換えDNA実験によく用いられるこれらの系統の自然条件下での生存能力は高くありません。ただ、これらは接合能力のあるプラスミドや一般導入バクテリオファージをもたないことを条件としています。その理由は、宿主に接合能力のあるプラスミド等があると、それを利用して宿主に導入したDNAがさらに他の細胞に伝播することがあるからです。したがって、このようなプラスミド等が入っている場合には、K12株であってもB1レベルの宿主-ベクター系とはなりませんので注意してください。

なお、pBR322、pUC19などはEK1系として使用できるベクターの代表例です。

(2) SC1

酵母菌*S.cerevisiae*を宿主とし、*S.cerevisiae*のプラスミド、ミニクロモソームまたはそれらの誘導体をベクターとする宿主-ベクター系。

HS-21、BH64、H42などのように*S.cerevisiae*であると明確に同定されているものを指します。

したがって、個々の実験実施機関で、食品、果実、土壌から分離してきたものについては、信頼のおける検査機関で*S.cerevisiae*と同定されたものでなければ、SC1系の宿主として扱うことはできません。

また、最近の知見により、*S. uvarum*、*S. oviformis*、*S. carlsbergiensis*など、*S.cerevisiae*と別の種名がついていても、生物学的に同一種(これをSynonymsといいます。)が存在することが明らかになりました。これらについては、SC1系の宿主として使用可能です。

(3) BS1

枯草菌*B.subtilis* Marburg 168株の誘導体でアミノ酸又は核酸塩基に対する複数の栄養要求性突然変異をもつ株又は孢子を形成しない株を宿主とし、枯草菌を宿主とするプラスミド(接合による伝達性のないものに限る)又はバクテリオファージをベクターとする宿主-ベクター系。

B.subtilis は納豆をつくる菌の仲間としてよく知られていますが、ここでいう*B.subtilis* は、Marburg 168株の誘導体で、複数のアミノ酸または核酸塩基に対して栄養要求性をもつことが条件となります。Marburg 168株自体はトリプトファン要求性しか持たないので、BS1系には該当しないので注意してください。

B.subtilis は通常孢子を形成する能力を有し、この孢子は死滅しにくいことから、このような条件を付すことにより、培養条件下以外では生存できないような株としています。

また、ベクターについてはEK1の項で述べたとおり、接合能力のあるプラスミドではないことが条件となります。

(4) 動植物培養細胞

昆虫培養細胞(個体形成を目的としないもの)を宿主とし、バキュロウイルスをベクターとする宿主-ベクター系

核多角体プロモーターの下流に外来遺伝子を組み込んだバキュロウイルスを昆虫培養細胞に感染させる実験は、認定宿主-ベクター系と認められています。

動物及び植物培養細胞(個体形成を目的としないもの)を宿主とする宿主-ベクター系(ただし、感染性ウイルス粒子が生じる蓋然性が高い場合及びベクターが宿主内で自立的に増殖する場合を除く。)

動植物培養細胞は、生存能力が非常に弱く、特殊な培養条件下以外ではすぐに死滅してしまいます。

ただし、内在性ウイルスが存在する場合もあるので、慎重に取り扱う必要はあります(これによって、組換えDNA実験を行った場合、感染性ウイルス粒子が生じる場合があるからです)。

感染性ウイルス粒子が生じる蓋然性が高い場合及びベクターが宿主内で自立的に増殖する場合には、B1レベルに該当しません。

具体的には、遺伝子の一部(*gag*, *pol*, *env*等ウイルス粒子の構築に関するもの)を欠失させた組換えレトロウイルスや組換えアデノウイルスを培養細胞に感染させる実験は、その結果得られる組換え体が感染性ウイルスを再生する蓋然性は低いと考えられるので、B1レベルの認定宿主-ベクター系になります。しかし、パッケージング細胞を用いてウイルス粒子を調製する実験は、感染性ウイルス粒子を産生することからB1レベルの認定宿主-ベクター系にはなりません。

また、個体にまで生育できるような受精卵や栄養培地以外の環境下でも生育できるような植物細胞(植物細胞から植物個体にまで再分化させる実験など)は、当然のことながらB1レベルの認定宿主-ベクター系から除外されます。

(5) *Thermus*属細菌

*Thermus*属細菌(*T. thermophilus*, *T. agnaticus*, *T. flavus*, *T. caldophilus*, *T. ruder*)を宿主とし、*Thermus*属細菌を宿主とするプラスミド又はその誘導体をベクターとする宿主-ベクター系

すでに多くの実験において使用され、その安全性が高いことが確認されていることから、B1レベルの認定宿主-ベクター系として認められています。

(6) その他

*Agrobacterium*属(*A. tumefaciens*, *A. rhizogenes*, *A. radiobacter*)を宿主とし、RK2系をベクターに用いる宿主-ベクター系については、*Agrobacterium*属が特定の条件において動物培養細胞に遺伝子を導入しうることを示す知見が得られており、認定宿主-ベクター系には含まれていません。(その位置付けについては、実験実施状況等を考慮しつつ引き続き検討を行うこととされています。)

2. B2レベルの認定宿主-ベクター系

B1レベルの条件を満たし、かつ自然条件下での生存能力が特に低い宿主と宿主依存性が特に高いベクターを組合わせた宿主-ベクター系であり、現在、指針では、下の表にあげるように*E. coli*の特殊な系統を宿主とするEK2系の宿主-ベクター系をB2レベルと定めています(指針別表1の2)。

EK2: EK1の条件を満たし、かつ遺伝的欠陥をもつため特殊な培養条件下以外での生存率が極めて低い次の表の左欄に掲げる宿主と、宿主依存性が高く、他の生細胞への伝達性が極めて低い同表の右欄に掲げるベクターを組合わけて用いることにより、特殊な培養条件下以外において、組換えDNA分子をもつ生細胞が24時間経過後1億分の1以下に減少するような宿主-ベクター系

宿主	ベクター
<p><i>κ</i> 1776</p>	<p>PSC101 pCR1 pMB9 pBR313 pBR322 pBR325 pBR327 pDH24 pGL101 YIp1 YEp2 YEp4 YIp5 YEp6 YRp7 YEp20 YEp21 YEp24 YIp26 YIp27 YIp28 YIp29 YIp30 YIp31 YIp32 YIp33 pKY2662 pKY2738 pKY2800</p>
<p>DP50supF</p>	<p>λ WES λ B λ gtALO λ B Charon21A</p>
<p>E.coliK12</p>	<p>λ gtvJZ-B</p>
<p>DP50 DP50supF</p>	<p>Charon3A Charon4A Charon16A Charon23A Charon24A</p>

3. 認定宿主-ベクター系に準ずる宿主-ベクター系

特定のDNA供与体を用いる場合に限り安全性が特に高いと確認された宿主-ベクター系に下表のものがあります(指針別表5)。特定のDNA供与体とは、指針別表2-(1)に該当するものをいいます。これは、P1レベルの物理的封じ込めを必要とする原核生物及び真菌です。なお、種名が同定されていない微生物については、病原性が無いことが科学的に推定されるもののみがこれに該当します。例えば、酒の醸造に用いる酵母菌などのような食品微生物については、種名が同定されていなくても病原性の無いことは明らかなので、これに当たります。なお、これらの宿主ベクター系及びDNA供与体を用いる場合、未同定DNA実験、あるいは大量培養実験であっても、機関承認実験とすることができます。

表 特定のDNA供与体を用いる場合に限り安全性が高いことが確認された宿主-ベクター系

宿主-ベクター系	DNA供与体
<p>以下の細菌を宿主とし、プラスミドまたはバクテリオファージをベクターとする宿主-ベクター系</p> <p><i>Acetobacter aceti</i> <i>Acetobacter liquefaciens</i> <i>Acetobacter pasteurianus</i> <i>Azorhizobium</i>属 <i>Bacillus circulans</i> <i>Bacillus firmus</i> <i>Bacillus amyloliquefacies</i> <i>Bacillus brevis</i> <i>Bacillus stearothermophilus</i> <i>Bacillus subtilis</i> (BS1以外のもの) <i>Bifidobacteria</i>属 <i>Bradyrhizobium</i>属</p> <p>○ <i>Brevibacterium flavum</i> ○ <i>Breuibacterium lactofermeletum</i> <i>Corynebacterium ammoniagenes</i> <i>Corynebacterium glutamicum</i> ○ <i>Corynebacterium herculis</i> <i>Escherichia coli</i> (B株) <i>Glucobacter oxydans</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> L137 <i>Propionibacterium freudenreihii</i> <i>Pseudomonas putida</i> <i>Rhizobium</i>属 <i>Streptococcus cremoris</i> <i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Streptomyces coelicolor</i> <i>Streptomyces griseus</i> ○ <i>Streptomyces kasugaensis</i> ○ <i>Streptomyces lividans</i> <i>Streptomyces parvullus</i></p>	<p>別表2 の(1)に掲げる微生物</p>
<p>以下の真菌を宿主とし、プラスミドまたはミニクロモソームをベクターとする宿主-ベクター系</p> <p><i>Acremonium chrysogenum</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus sojae</i> <i>Chlorella ellipsoidea</i> <i>Neurospora crassa</i> <i>Pichia angusta</i> <i>Pichia pastoris</i> <i>Saccharomyces lipolytica</i> <i>Schizosaccharomyces pombe</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Zygosaccharomyces rouxii</i></p>	<p>別表2 の(1)に掲げる微生物</p>

○印は、慣用的に用いられている名称

4. その他の宿主－ベクター系

認定宿主－ベクター系以外の宿主－ベクター系を用いる実験においては、用いるDNA供与体、宿主、ベクターの全てについて、次の①～⑨の生物学的性質を検討し、生物学的封じ込めの程度(生物学的安全性)を総合的に判断することになります。複数の生物種由来のDNA断片より構成された、いわゆる構築ベクターについては、その由来生物種ごとに安全度評価を行ってください。

- ① 病原性
- ② 毒素産生能
- ③ 寄生性及び定着性
- ④ 発がん性
- ⑤ 薬剤耐性
- ⑥ 代謝系及び免疫系への影響
- ⑦ 生態系への影響
- ⑧ 宿主依存性
- ⑨ 伝達性

伝達性については、株によりF因子を持つなど伝達性を持つことがあるとともに、宿主の生存能力については、株により生存能力の高いものがあるため、それぞれ文献調査や伝達能力試験・生存能力試験などの方法で、別途、確認してください。

(参考)標準的生存能力実験法

1. 土壌水の作成
土壌1g－蒸留水10mLの割合でけん濁し、30分後上澄をろ過したものを0.45 μ mのフィルターに通す。
2. 水道水、下水の作成
0.45 μ mのフィルターを通す。
3. 実験開始時の菌密度
10⁸程度
4. 培養温度
20℃及び37℃(実験に使用する菌の増殖最適温度が望ましい)
5. 観察日数 7日

Ⅲ 安全度評価及び封じ込め方法の基準

指針では、宿主、ベクター、DNA供与体として用いられる微生物等の安全度評価分類を表2～4にまとめています。原核生物及び真菌については別表2、ウイルス及びウイロイドは別表3、原虫は別表4となります。別表2-(2)と別表4-(2)は病原性の大腸菌、サルモネラ菌、マラリア原虫などP2レベルの物理的封じ込めを必要とされるもの、別表2-(3)はツツガムシ病の原因となるリケッチアなどP3レベルの物理的封じ込めを必要とされる病原性の強いもの(別表4-(3)は該当するものはありません)、別表2-(1)及び別表4-(1)はP1レベルの物理的封じ込めを必要とされるもので、(2)と(3)以外のすべての微生物のうち、病原性がないことが確認されたものと分類されています。なお、納豆菌やヨーグルトを作るのに利用される乳酸菌などの食品微生物は別表2-(1)に当たります。また、真核生物のウイルス及びウイロイドの安全度評価は別表3に示されており、別表3-(1)、(2)、(3)にはそれぞれP1、P2、P3レベルの物理的封じ込めを必要とされるものが分類されています。別表3-(1)～(3)に記載されないものは、個別に安全度評価を行うべきとし、すべて別表3-(4)に分類されます。ここには、エボラウイルス等の高度な物理的封じ込め(原則としてP4レベル)を必要とするものも含まれます。

このほか、DNA供与体を用いる動物及び植物の安全度評価は、それぞれ原則としてP2レベル、P1レベルの物理的封じ込めが必要とされています。

組換え体の安全度評価は、用いる宿主、ベクター、DNA供与体のうち、最も高い物理的封じ込めレベルを必要とするものの安全度評価に従うことを基準とします。ただし、特に安全性が高いと評価されるB2レベルの認定宿主－ベクター系を用いる場合には、この基準から物理的封じ込めレベルを1段下げることができます。

なお、各実験における物理的封じ込めレベルは、組換え体の安全度評価に応じて行われますが、具体的な考え方については、第Ⅱ部の各論に記載します。

○ 第3章 組換え体の取扱い

1. 組換え体の保管

(1) 組換え体の保管と保存

指針では、「組換え体の保管」と「組換え体の保存」は、次のとおり使い分けられています。まず、「保管」とは、実験実施中に組換え体を保持しておくことを指すのに対して、「保存」とは、実験終了後より当該組換え体を用いる別の実験を開始するまでの期間、一時的に組換え体を維持しておくことを指します。

(2) 組換え体の保管方法

組換え体を保管する場合には、組換え体であることを表示し、その保管場所は当該実験について定められた物理的封じ込めレベルの条件を満たす実験室又は実験区域に限られます。また、実験責任者が実験の一環としてその保管責任を負い、保管に係る記録を作成し、組換え体の保管中は当該記録も保管する必要があります。ただし、P2レベル以下の物理的封じ込めを必要とする組換え体の場合には、記録作成は別途行わず、実験記録をもって代えることができるとされています。

2. 組換え体の運搬

組換え体の運搬については、指針第Ⅰ部第3章第2「組換え体の運搬」に加え、動物や植物の場合には、指針第Ⅱ部第7章の組換え動植物の運搬に関する記述(第1節第2-2(3)⑦及び第2節第2-2(3)⑥)に従って行います。すなわち、P2レベル以下の物理的封じ込めを必要とする組換え体は、漏れない容器に入れて実験室で密閉(動物の場合、当然、呼吸穴があっても構いません。)して搬出する必要があります。また、P3レベル以上の物理的封じ込めを必要とする組換え体は、P2レベル以下の場合の条件に加え、容器が破損しても内容物が漏出しないようにして搬出することとされるとともに、容器又は包装物の表面の見やすいところに「取扱注意」と朱書することが求められ、さらに、運搬するものが組換え体であること及びその内容、運搬元、運搬先の機関及び責任者の連絡先を明確にし、必要に応じ事故時の対応方法を示した文書を添付することが求められています。

実験責任者は、運搬する組換え体の名称、数量並びに運搬先の機関名及び責任者名を記録し、保存する必要があります。ただし、P2レベル以下の物理的封じ込めを必要とする組換え体の記録は、実験記録をもって代えることができます。

大量培養実験については、LS-Cレベル又は特別な物理的封じ込めで用いる組換え体の場合は、P2レベル以下の物理的封じ込めを必要とする場合と同様に、そしてLS-1及びLS-2レベルで用いる組換え体の場合には、P3レベル以上の物理的封じ込めを必要とする場合と同様に取扱うものとされています。

組換え動物を運搬するときは動物が逃亡しないよう、また組換え植物を運搬するときは植物及び水や土壌等が漏出しないような容器に入れる必要があります。ただし、指針に記されている基準は、同一実験実施機関内など比較的近距离の組換え体の移動を想定して定められていますので、長距離輸送の場合にはより慎重な対応が必要です。特に組換え動植物の場合には、完全に密封した2重構造の容器等に入れて長時間輸送することは困難ですので、原則として研究者が付き添い、自動車などでダイレクトに輸送することが望まれます。その際、使用する容器等は、それぞれの生物種に応じたものとする必要がありますが、例えば、以下のような対応が考えられます。

① 小型動物(マウス等)

組換え体を入れたケージ等飼育容器を、ほぼ同じ大きさの段ボール箱に入れ、ガムテープ等でしっかりと梱包する。必要に応じ、空気穴を開ける。それを密閉できる大きい容器に入れる。

② 大型動物(豚等)

SPF動物輸送対応の専用トラックのような特殊な自動車運ぶ。

③ 魚類

堅牢な水槽を2重にして、その間に緩衝材を詰める。組換え体を入れる内側の水槽は密閉する。

④ 草本植物

一鉢毎にビニール袋で完全に包み、トレイを中に敷いた密閉容器に入れる。

⑤ 木本植物

枝が広がらないように幹に紐で縛った後、ビニール袋で覆い、冷凍トラックのような密閉できるトラックで輸送する。輸送後、トラック内を消毒する。

3. 組換え体の譲渡

実験において作製された又は用いられた組換え体は、個別の実験計画毎に承認された実験室又は実験区域から持ち出さないことが原則であり、他の実験実施機関に研究用として組換え体を譲渡する場合には、以下の手続を経ることが必要となります。

(1) 組換え体の譲渡の手続

組換え体の譲渡は、基本的には、受入機関の体制・手続に問題がなければ可能であり、譲渡しようとする者は、事前に受入機関の体制・手続を確認する必要があります。

受入機関において必要となる手続は、組換え体を作製した実験及び譲渡を受ける組換え体を用いて行う実験の区分により異なります。機関承認実験により作製された組換え体を用いる実験については、基本的には、受入機関側の安全委員会で機関承認実験として審議する必要があり、大臣確認実験により作製された組換え体を用いる実験、あるいは大量培養実験や非閉鎖系実験等異なる実験区分となること等により大臣確認実験となるものについては、受入機関から文部科学大臣への申請と確認が必要となります。これら手続を経て、最終的な実験実施機関の長の承認を得るまで、組換え体の受入れができません。これは、単に、実験が開始できないという意味ではなく、組換え体の搬入自体ができないという意味ですので、誤解のないようにして下さい。また、機関届出実験により作製された組換え体を同様の区分の実験で用いる場合には、実験実施機関の長への事前の届

出後に受入れが可能です。

なお、同一実験実施機関内での組換え体の移動は譲渡として扱われませんが、大臣確認実験であって、当初の実験計画に移動先の実験室が位置付けられていない場合には、実験室の追加等として実験計画の変更に係る大臣確認が必要となります。

また、同一企業等の異なる実験実施機関の間での組換え体の移動については、それぞれの実験実施機関が別個の安全委員会を擁している場合には、指針上、譲渡として取り扱われますので、外部に対して譲渡する場合と同じ手続が必要です。

(2) 組換え体の輸出入

輸入に関しては、組換え体の譲渡と同様に、国内で組換え体を作製または利用する場合の基準に照らして、それぞれ機関届出実験、機関承認実験又は大臣確認実験としての手続を完了した後に輸入することができます。また、指針における組換え体の取扱いに係る手続のほかに、検疫法、植物防疫法などの法的手続を要する場合がありますので、注意して下さい。

輸出に関しては、相手国側の規制をクリアしたものについて可能となります。但し、相手国側の規制が国により異なりますので、個別に相手国又は文部科学省に相談して下さい。なお、輸出に当たっては、組換え体の運搬時に必要な措置(包装、文書の添付等)を国内輸送と同様に講ずることが必要です。

4. 組換え体の実験終了後の取扱い

(1) 組換え体の不活化

実験が終了したときには、組換え体を完全に不活化し、実験室等を消毒します。ここでいう不活化とは、高圧・高温処理や薬剤処理等により組換え体等を完全に死滅させることを指します。高等動物の組換え体等の場合には、その動物を殺傷すれば生物体としての機能は失われますが、それに寄生している微生物等まで殺菌するため、必ずオートクレーブによる処理など有効性の確認されている方法で処理する必要があります。一方、実験の結果得られた組換え体をそれ以降の実験に用いるために、一時的に保存しておきたい場合があります。その場合には、保存の責任者を定めることにより当該組換え体を保存することができます。

(2) 組換え体の保存

実験終了後も組換え体を管理・維持しておくということが、ここでいう保存にあたりますが、組換え動物の飼育や組換え植物の栽培については、原則として実験として取り扱われます。したがって、組換え動植物の系統を飼育栽培により維持していくには、実験を切れ目なく連続して実施していく必要があります。組換え動植物の系統維持を保存として扱い得るのは、凍結受精卵の保存や種子の低温保存など飼育・栽培の管理を伴わない場合に限られます。

組換え体の保存に際しての管理は、指針第I部第3章第1“組換え体の保管”に準じて実施する必要があります。また、保存する組換え体は、その系統や個体数を可能な限りしぼって必要最小限にとどめるようにし、実験の結果得られた試料を、とりあえず全て保存しておくといったことがないようにして下さい。

(3) 保存の終了

組換え体の譲渡を受ける場合も同様ですが、実験を開始する手続が完了した後に、保存しておいた組換え体を実験に供することができます。

○ 第4章 教育訓練及び健康管理

組換えDNA実験の安全性は、実験者自身(実験従事者)の安全性と外部環境の安全性がありますが、どちらの安全性も、実験従事者が実験で扱う宿主-ベクター系及び供与DNAの安全度を認識し、これに基づいて適切な封じ込めの方法をとること等によって初めて確保されます。実験の安全確保について責任を負うのは実験実施機関の長ですが、実験が安全に行われるように実験従事者を教育訓練する責務は実験責任者にあります。実験従事者の教育訓練は、まず指針をよく読み、組換えDNA実験の安全確保のための基本的な考え方を理解することから始まります。これに基づき、一般的な知識として以下の項目を習得します。

- ① 危険度に応じた微生物安全取扱い技術
- ② 物理的封じ込めに関する知識及び技術
- ③ 生物学的封じ込めに関する知識及び技術

以上の一般的知識と技術を習得した上で、これから実施しようとする実験の危険度についての知識を習得します。このとき、扱う宿主とDNA供与体の生物としての特性に関する知識とベクターの伝達性等についての知識は必須事項となります。これにより、実験従事者が実験を安全に実施することが可能と考えられますが、予期せぬ事態により事故が発生する可能性が存在することから、事故発生の場合の措置に関する知識も習得する必要があります。特に大量培養実験を実施する場合には、大量の培養液が漏出した場合に化学処理によって殺菌を行う必要が生ずることから、これについての知識が必要となります。

また、万が一、ヒトへの病原性を有する組換え体を取り扱う実験が安全に実施されていない場合には、まず実験従事者の健康に影響が現れると考えられます。実験従事者の健康管理に責任を負う実験実施期間の長は、安全委員会と連携して、そのために必要な措置として、最低限、以下に記す事項を実施する必要があります。

- a 実験従事者がヒトに対する病原微生物を取り扱う場合には、実験開始前に予防治療の方策についてあらかじめ検討するとともに、必要に応じて抗生物質、ワクチン、血清等の準備をすること。この場合において、実験開始後6ヵ月を越えない期間ごとに1回特別健康診断を行うこと。
- b 実験室内または大量培養実験区域内における感染の恐れがある場合には、直ちに健康診断を行い、適切な措置をとること。
- c 上記a及びbの健康診断の結果を記録し、保存すること。
- d 実験従事者が誤って組換え体を飲み込み、又は吸い込んだ場合、実験従事者の皮膚が組換え体に汚染された場合、実験室、実験区域等が著しく汚染された時に、その場実験従事者が居合せた場合及び健康に変調を来したり、重症または長期にわたる病気にかかったとの報告を実験従事者から受けた場合には、直ちに調査を実施するとともに必要な措置を講ずること。

一方、実験従事者も自分自身及び他の実験従事者の健康に常日頃注意を払い、変調を来した場合には機関の長に報告することが求められています。

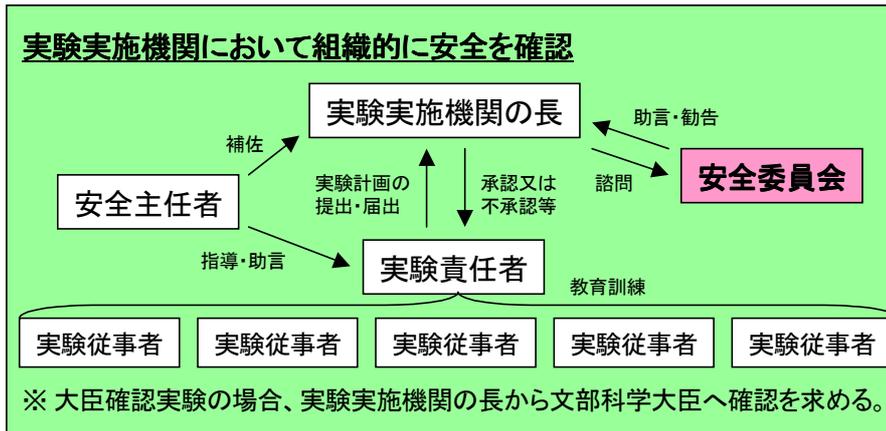
○ 第5章 実験の安全を確保するための組織

組換えDNA実験の開始に当たっては、まず初めに、実験実施機関の内部の組織や規則など、実験を実施できる体制を整える必要があります。組換えDNA実験は、後述するように、実施に当たり必要となる手続により機関届出実験、機関承認実験及び大臣確認実験に区分されますが、いずれの実験を実施する場合においても、体制整備が事前に必要となります。ただし、教育目的組換えDNA実験のみを行う機関はその限りではありません。

1. 実験の安全を確保するための組織

指針では、組換えDNA実験を行う際に、実験の安全を確保するための組織として、「実験従事者」のほか、「実験責任者」、「実験実施機関の長」、「安全委員会」及び「安全主任者」の役割を定めています。その関係は簡単を示すと下図のとおりです。

図 実験実施機関における体制



次に、実験実施機関における各々の役割について説明します。

(1) 実験従事者(指針第I部第5章第1)

組換えDNA実験を実際に実施するすべての者を実験従事者といいます。実験従事者は、実験の計画、実施に当たって安全確保について十分自覚を持つことが求められます。また、組換え体の作製に用いる宿主を扱う実験や組換えDNA実験の標準的な手法に精通していることも求められます。

(2) 実験責任者(指針第I部第5章第2)

実験責任者は、個々の組換えDNA実験を計画し、それを実施する際の責任者と位置付けられる者で、個々の実験毎に実験に携わる者(実験従事者)の中から選ばれます。実験責任者には、指針を熟知していること、生物災害の発生を防止するための知識及び技術(微生物の取扱いの知識や経験など)に習熟していることが求められます。

初めて組換えDNA実験を実施しようとするところでは、実験責任者に要求される知識を有し、また、技術に習熟している人がいない場合がありますが、このような場合には、大学や他の機関での研修に参加するなどして実験責任者として求められる知識及び技術を習得することで対応が可能となります。

実験責任者の具体的な役割は次のとおりです。

- ① 実験計画の立案及び実施に当たっては、指針及び内部規則を遵守し、常に指針と適合していることを確認するとともに、安全主任者と十分な連絡を取りつつ、実験全体の管理、監督に当たること。
- ② 実験従事者に対して、指針を熟知させ、微生物の安全取扱い技術、物理的封じ込めや生物学的封じ込めに関する知識及び技術、実施しようとする実験の危険度に関する知識、事故発生の場合の措置に関する知識について、教育・訓練を行うこと。
- ③ 大臣確認実験及び機関承認実験について、実験を開始する前に実験計画を実験実施機関の長に提出し、実験実施機関の長の承認を受けること(実験計画を変更する場合も同様)。
- ④ 機関届出実験について、実験を開始する前に、安全主任者を通じて実験実施機関の長に実験計画を届け出ること(実験計画を変更する場合も同様)。
- ⑤ 実験の安全確保に関連して予想外の知見が得られた場合、あるいは実験中や組換え体輸送中に事故等があった場合は、直ちに実験実施機関の長、安全委員会、安全主任者へ連絡すること。
- ⑥ その他、実験の安全確保に関して必要な事項を実施すること。

(3) 実験実施機関の長(指針第I部第5章第3)

実験実施機関の長とは、各々の実験実施機関の責任者(研究所長、試験場長、研究担当取締役など)で、その機関内で行う実験の安全確保について責任を負う者です。

実験実施機関の長の具体的な役割は次のとおりです。

- ① 安全委員会の委員及び安全主任者を任命すること。
- ② 安全委員会の審議を経て内部規則を制定すること。(これにより、実験の安全を確保するための組織や実験計画の審議、実験従事者に対する教育・訓練などの手続、方法を具体的に定めます。なお、組換えDNA実験に限らない一般的な実験安全管理規則を既に制定している実験実施機関では、組換えDNA実験に関する条項をその中に含める形式に改定することも可能であり、あるいは全く別個に制定してもかまいません。内部規則の制定に当たっては、本章末の例を参照して下さい。)
- ③ 初めて組換えDNA実験を実施する場合、又は1年程度あるいはそれ以上の期間にわたって休止した後に実験を再開する場合にその旨を文部科学大臣に連絡すること。
- ④ 安全委員会の助言を得て、実験従事者の健康管理に当たること。
- ⑤ 大量培養実験(培養規模が20L以上)を実施する場合には、その実験が指針に適合していることの確認の根拠となった資料、安全委員会の審議記録、実験に関する設備、方法、結果などの事項のうち安全の確保に関する資料について、実験計画承認日以後5年間は保存すること(国から当該資料の提出を求められた場合に提出すること。)
- ⑥ 大臣確認実験及び機関承認実験の実施について、安全委員会の審議を経て、承認を与え、または与えないこと(大臣確認実験については、安全委員会の審議を経た後で、文部科学大臣に確認を求めること。)
- ⑦ 機関届出実験の実験計画を受理すること。
- ⑧ 事故が起こった場合、安全委員会や安全主任者と連携して調査を行い、必要な処置、対策について指示すること。
- ⑨ 実験の安全性について予期せぬ知見が得られた場合、及び外部の環境等に悪影響を及ぼす恐れのある事故が発生した場合は、直ちにその旨を文部科学大臣に報告すること。
- ⑩ その他、実験の安全確保に関して必要な事項を実施すること。

(4) 安全委員会(指針第I部第5章第4)

安全委員会は、その機関で行われる組換えDNA実験の安全性について審議する場であり、実験実施機関の長の諮問機関と位置付けられます。安全委員会は、個々の実験計画が指針に適合しているかどうかについての確認はもちろんのこと、教育・訓練や健康管理の方法、事故発生の際の処理方法など安全性に関する幅広い審議を行う、非常に重要な委員会といえます。

したがって、そのような知識を有する専門家によって構成される必要があります。安全委員会の委員は実験実施機関の長が任命することとなっています。なお、組換えDNA実験を初めて行うところ等で、このような者がいない場合には、外部の専門家に委員を委嘱することも可能です。

以下に、安全委員会について、さらに詳しく説明します。

① 望ましい安全委員会の構成

a 組換えDNA実験についての専門家

組換えDNA実験に関する基礎的な手法(安全対策を含む)について習熟しており、また指針についても熟知している者の参加が必要です。

最近、大学や民間団体主催の研修会が数多く開催されていますので、機関内の者を積極的に参加させることも人材育成の有効な方法です。

b 個々の実験の性質に応じた専門家

最近の組換えDNA実験は、扱う生物が微生物ばかりでなく動物や植物へと広がっており、また大量培養実験においては実用化を前提とした培養規模が設定されるなどその種類・規模は多種多様となっていますので、実験実施機関によっては、1人の専門家があらゆる実験の安全性について判断することは極めて困難な状況となる場合もあります。このような場合には、例えば動物や植物を扱う組換えDNA実験の場合には、動物実験や植物実験の経験者(必ずしも組換えDNA実験の経験者を意味するものではありません)を任命するなどの配慮が必要です。

c 施設管理責任者

組換えDNA実験施設を含む施設全体の位置関係や設備の配置に熟知している者の参加が望まれます。例えば、「ここに安全キャビネットを設置すれば給排気の接続が適切に行われる」などの的確な指示を与えることができる者が望ましいです。

d 健康管理責任者

実験実施機関の長の項で説明しましたが、組換えDNA実験を行う場合には、実験従事者の健康診断を実施することが必要な場合があります。

この健康診断は、実験の種類、使用する生物の種類に応じたケースバイケースのものとする必要があります。

したがって、それを的確に判断できる者、例えば病原微生物の専門家や医師が望ましいと言えます。ただし、これらの者がいない場合には、実験の実施前に実験の性質を医師に連絡し、健康診断の時期などを適切に設定できる者とする方法もあります。

e その他

後述する安全主任者を安全委員会の委員に任命することも可能です。

② 安全委員会の設置上の注意

安全委員会は、原則として各々の実験実施機関毎に設置するものですが、複数の研究所を持つ企業等においては、必ずしもそれぞれの研究所毎に安全委員会を設置する必要はありません。

また、生物災害に対する安全委員会が設けている実験実施機関においては、前述した①のa～eまでに該当する者が含まれているのであれば、その委員会を組換えDNA実験安全委員会として差し支えありません。

③ 実験計画の審議

機関承認実験と大臣確認実験に該当するすべての実験計画について、安全委員会で審議する必要があります。その審議の際のポイントは以下のとおりです。

a 実験の安全性評価の手順

実験の安全性については、微生物学実験室等で一般に用いられる標準的な実験方法を基本とし、さらに適切なレベルの物理的封じ込めの方法と生物学的封じ込めの方法が組み合わされているかどうかを評価することが原則となります。

(ア) 生物学的封じ込めについては、宿主とそれに移入される組換えDNA分子または異種のDNAに関し、それらが由来する生物の性質を個々に検討するとともに、当該組換えDNA分子等の移入の結果、宿主にどのような性質が新たに付加されることとなるのかを検討することにより、実験の安全性を評価します。

(イ) この際、宿主-ベクター系及びDNA供与体として使用する個々の生物種の安全度評価は、下記の9項目を元に別表2～4としてまとめられていますが、生物の系統や株の違い等により安全度評価が異なってくる場合もありますので、実際に使用する系統・株について、以下の9項目の再評価を行います。

- (i) 病原性
- (ii) 毒素産生能
- (iii) 寄生性、定着性
- (iv) 発がん性
- (v) 薬剤耐性
- (vi) 代謝系及び免疫系への影響
- (vii) 生態系への影響
- (viii) 宿主依存性
- (ix) 伝達性

(ウ) 特に、伝達性については、宿主のF因子、R因子等の有無や、ベクターの性質をチェックして下さい。また、生存能力については、その宿主になる生物の自然環境下での生存能力を確認する必要があります。さらに、20L以上の大量培養実験の場合には、それ以下の規模の実験で既に作製されている組換え体自身の生存能力について生存能力試験を行います。

(エ) また、同定済みDNA実験については、安全委員会において、以下の4項目について問題のないことが確認できれば、実験の物理的封じ込めレベルを下げるができます。

- (i) 病原性
- (ii) 毒素産生能
- (iii) 発がん性
- (iv) 伝達性

このとき、使用する供与DNAの機能と構造が明らかでない場合や、シーケンスが決定されていても前述の4項目に問題があると判断された場合にはレベルダウンはできません。

(オ) 物理的封じ込めについては、初めに、使用する実験室・区画が指針の基準に適合しているかどうかを確認します。特に、組換え動物や組換え植物の飼育・栽培の管理を行う場合には、その動植物の特徴により、必要となる物理的封じ込め措置が大きく異なってきますので、それぞれの生物種の特徴に応じた封じ込め措置をその実験室・区画で取り得るかどうかをチェックします。

(カ) 以上の評価を総合的に判断して、実験の封じ込めレベルが決定されることとなります。

b 実験の開始に要する手続の確認

最後に、以下のどの実験区分に当てはまるのかを考慮した上で、その実験が「機関届出実験」、「機関承認実験」、あるいは「大臣確認実験」のどれに当たるかを安全委員会で判断します。なお、「大臣確認実験」の場合にはその後文部科学省で大臣確認の手続(幅広い分野の専門家による審査を含む)を踏む必要があります。

- ・「微生物及び培養細胞を宿主とする実験」あるいは「動物及び植物を用いる実験」か
- ・「同定済みDNA実験」あるいは「未同定DNA実験」か
- ・「認定宿主-ベクター系を用いる実験」あるいは「認定宿主-ベクター系以外の宿主-ベクター系を用いる実験」か
- ・「大量培養実験」か
- ・「非閉鎖系区画における実験」か

(5) 安全主任者(指針第I部第5章第5)

安全主任者は、実験実施機関の長を補佐し、実験責任者及び実験従事者に対し、指針の遵守、実験室、実験設備の安全管理、実験の記録、組換え体の保管、運搬、廃棄、事故発生時の措置等について指導、助言を行うこととされています(機関届出実験の実験計画の指針適合性についての判断を含む)。つまり、このような日常的な業務については安全委員会に代わり、安全主任者が行うこととなります。

したがって、安全主任者がその任務を果たす際には、関係する知識及び技術に習熟するとともに、安全委員会と十分に連絡を取ることが要求されます。また、実験の安全を確保する上で必要な事項は、安全委員会に報告する必要があります。

(参考)安全管理規則の例

〇〇株式会社〇〇研究所組換え実験実施(または安全管理)規則(または規定)

第1章 総 則

第1条 (目的)

この規則は、「組換えDNA実験指針」(平成14年1月31日文部科学省告示第5号。以下、「指針」という。)に基づき、〇〇株式会社〇〇研究所(以下、「研究所」という。)において、組換えDNA実験(以下、「実験」という。)を計画し、実施する際に遵守すべき安全確保の基準を示し、もって実験の安全かつ適正な実施を図ることを目的とする。

第2条 (定義)

この規則において用いる用語の定義は、指針第1部第1章第2によるものとする。

第2章 組織及び職務

第3条 (所長)

〇〇株式会社〇〇研究所長(以下、「所長」という。)は、研究所で行われる実験の安全確保について責任を負い、次の各号に掲げる任務を果たすものとする。

- (1) 第4条に規定する組換えDNA実験安全委員会(以下、「安全委員会」という。)の委員及び第5条に規定する組換えDNA実験安全主任者(以下、「安全主任者」という。)を任命すること。
- (2) 第6条に規定する実験責任者及び第7条に規定する実験従事者の指名を行うこと。
- (3) 実験に係る規則等の制定、改定及び廃止を行うこと。
- (4) 初めて実験を実施する場合、又は相当期間休止した後に実験を再開する場合にその旨を文部科学大臣に連絡すること。
- (5) 第16条の規定に基づき、実験従事者の健康管理に当たること。
- (6) 第13条の規定に基づき、申請のあった機関承認実験及び大臣確認実験の実験計画に対し、安全委員会の答申及び安全主任者の助言を得て、承認、不承認、変更又は取り消しを行うこと。
- (7) 第13条の規定に基づき、届出のあった機関届出実験の実験計画又は変更された計画を受理すること。
- (8) 事故等の報告があった場合において、安全委員会及び安全主任者と連携して調査を行い、必要な処置、改善策等について指示を行うこと。
- (9) 実験の安全確保の考え方に影響を及ぼす知見が得られた旨報告があった場合、又は外部の環境等に影響を及ぼすおそれのある事故の報告があった場合に、直ちにその旨を文部科学大臣に報告すること。
- (10) その他、実験の安全確保に関して必要な事項を行うこと。

第4条(安全委員会)

1. 研究所に安全委員会を置く。
2. 安全委員会は、所長の諮問に応じて、次の事項について調査、審議し、それらの事項に関して答申を行う。
 - (1) 実験計画の指針に対する適合性に関すること。
 - (2) 実験に係る教育訓練に関すること。
 - (3) 実験に係る健康管理に関すること。
 - (4) 事故発生の際の必要な措置及び改善策に関すること。
 - (5) 実験に係る規則等の制定、改正及び廃止に関すること。
 - (6) その他、実験の安全確保に関する必要事項。
3. 安全委員会は、必要に応じ、第5条に規定する安全主任者及び第6条に規定する実験責任者に対し、報告を求めることができる。
4. 安全委員会は次の各号に掲げる委員をもって組織し、所長がこれを任命する。
 - (1) 実験責任者、若干名
 - (2) 総務部長
 - (3) 〇〇研究部長
 - (4) 〇〇開発課長
 - (5) 健康安全責任者、施設管理保守責任者
 - (6) 前各号に掲げる以外の職員のうち、所長が指名する者、若干名
 - (7) 所外の学識経験者のうち、必要に応じて所長が任命する者
5. 安全主任者はオブザーバーとして安全委員会に出席するものとする。
6. 安全委員会に委員長を1人置き、委員のうちから所長が任命する。
7. 委員長は、安全委員会を召集、主宰するほか安全委員会の全般的事項を総括する。
8. 委員長に事故があったときは、委員長があらかじめ指名した委員がこれを代理する。
9. 安全委員会の任期は1年とする。ただし再任を妨げない。
10. 会議の開催には委員の過半数の出席を必要とする。
11. 専門的事項を調査及び審議するために、安全委員会に専門委員会を置くことができる。
12. 安全委員会の事務局を〇〇部〇〇課に置く。
13. その他、安全委員会の運営に関し必要な事項は、委員長が定める。

第5条 (安全主任者)

1. 研究所に安全主任者を1人置き、所長がこれを任命する。
2. 安全主任者は、第6条に規定する実験責任者及び第7条に規定する実験従事者に対して、次の事項について指導及び助言を行うものとする。
 - (1) 指針及びこの規則の遵守
 - (2) 第13条の規定に基づき届出のあった機関届出実験の指針適合性
 - (3) 実験室、実験区域及び実験設備等の安全管理
 - (4) 組換え体の保管、運搬及び廃棄
 - (5) 実験の記録及び記録の保管
 - (6) 実験に係る事故発生時の措置
 - (7) その他、実験の安全確保に関する必要事項
3. 安全主任者は、実験の安全確保のため、安全委員会と十分な連絡を取り、必要な事項について安全委員会に報告するものとする。

第6条 (実験責任者)

1. 実験計画毎に実験責任者1名を置き、所長がこれを指名する。
2. 実験責任者は、指針及びこの規則を熟知するとともに、生物災害の発生を防止するための知識及び技術、並びにそれらを含む関連の知識及び技術に習熟した者であって、次の各号に掲げる任務を果たすものとする。
 - (1) 実験計画の立案及び実験の実施に関して、安全主任者と緊密な連絡のもとに、実験全体の適切な管理及び監督に当たること。
 - (2) 実験従事者に対して、安全確保に関する教育・訓練、指導及び助言を行うこと。
 - (3) 第13条の規定に基づき、所長に実験計画書を提出し、その承認を受けること及び届出を行うこと。又、実験計画を変更又は中止しようとする場合も同様とする。
 - (4) 実験の安全確保の考え方に影響を及ぼす知見が得られた場合又は実験中若しくは輸送中の事故等があった場合は、直ちにその旨を所長、安全委員会及び安全主任者に報告すること。

(5) その他、実験の安全確保に関して、必要な事項を実施すること。

第7条 (実験従事者)

1. 実験に携わる者を実験従事者とし、実験責任者がこれを所長に申請を行い、所長がこれの指名又は取消を行う。
2. 実験従事者は、実験計画の立案及び実験の実施に当たっては、安全確保について十分自覚し、必要な配慮を行うとともに、あらかじめ実験に特有な操作、方法及び関連する技術に精通し、かつ習熟していなければならない。
3. 実験従事者は、実験開始前に、指針に定める事項について教育・訓練を受けねばならない。
4. 実験従事者は、絶えず自己の健康について留意し、健康に変調を来した場合には、その旨実験責任者に報告しなければならない。
5. 実験従事者は、安全主任者及び実験責任者の指示に従うとともに、指針及びこの規則に遵守し、安全確保に努めなければならない。
6. 実験従事者として指名された者以外は、実験に従事してはならない。

第3章 施設等の管理・保全

第8条 (施設の管理・保全)

1. 所長は、実験に使用する実験室または実験区域(以下、「実験施設」という。)及び実験設備を、指針に定める物理的封じ込めの基準に従って設置し、それらの管理及び保全に努めるものとする。
2. 実験従事者は、第13条の規定に基づく承認等を経た実験計画書に記載された実験施設の中で実験を行わなければならない。

第9条 (実験施設への出入り)

1. 実験施設へ出入りする者は、物理的封じ込めの程度に応じて、指針に定める実験実施要項を遵守しなければならない。
2. 実験従事者以外の者が実験施設へ立ち入る場合、または実験区域内で他の実験もしくは他の作業を行う場合には、実験責任者の許可を得るとともに、その指示に従わなければならない。

第10条 (標識)

1. 実験責任者は、P2レベル以上の物理的封じ込めの実験を行う実験施設の入口には、当該実験の物理的封じ込めのレベルをあらわす標識を掲げるものとする。
2. 実験責任者は、安全主任者の指導のもとに、実験に用いる設備に標識をつけなければならない。
3. 組換え体を含む試料を入れた容器及びそれを保管する設備には、組換え体在中と明記しなければならない。P3以上の物理的封じ込めを必要とする組換え体の場合には、取扱注意と朱書しなければならない。

第11条 (試料の取扱い)

1. 実験従事者は、実験に用いる試料が、実験計画書に記載された生物学的封じ込めの条件を満たすものであることを確認するとともに、物理的封じ込めのレベルに応じて、指針の定める実験実施要項を遵守して、試料を取り扱わなければならない。
2. 組換え体の保管、運搬及び廃棄、並びにそれらの記録に関する事項は、実験責任者が安全主任者の指導のもとに行うものとする。
3. 組換え体を実験施設の外へ運搬する場合は、指針第I部第3章第2の規定に従うものとする。
4. 組換え体を研究所内に搬入もしくは研究所外に搬出する場合には、その都度、実験責任者が安全主任者の指導または助言のもとに、組換え体の名称・数量、相手先(機関名及び安全主任者名)及び事故時の対応方法を示す文書を添付するとともに、記録を保管するものとする。

第12条 (違反時の措置)

1. 安全委員会及び安全主任者は、指針もしくはこの規則に違反し、またはそのおそれがある実験が実施されているときは、所長に報告するものとする。
2. 所長は、前項の報告を受けたときは、必要に応じて当該実験の制限または中止の措置を講じるものとする。

第4章 実験計画の承認等及び報告

第13条 (実験計画の承認等)

1. 機関承認実験及び大臣確認実験を実施しようとする実験責任者は、実験計画毎に、実験に関する書類を添付して所長に申請し、その承認を受けた後でなければ実験を行うことができない。実験計画を変更しようとする場合も同様とする。
2. 所長は、機関承認実験及び大臣確認実験の実験計画の申請を受けたときは、安全委員会及び安全主任者の助言を得て、実験計画の承認、不承認、取消もしくは変更の決定を行い、その旨を当該実験の実験責任者に通知する。
3. 機関届出実験を実施しようとする実験責任者は、実験計画毎に、実験に関する書類を安全主任者を経て所長に届出た後でなければ、実験を行うことができない。
4. 所長は、機関届出実験の実験計画の届出を受けたときは、これを受理しなければならない。
5. 実験計画書の様式は、「組換えDNA実験指針の改訂について」(平成14年1月31日付け、文部科学省研究振興局長通知。)に記載されている様式2-1、又は2-2に準じるものとし、必要に応じ安全委員会の審査に必要な資料を添付するものとする。

第14条 (実験結果の報告)

1. 実験責任者は、第13条に基づいて所長に申請し、承認を受けた実験計画のうち、承認時に結果報告を行うこととされた実験計画について、実験終了後その他所長の定めた時期に結果報告を行うものとする。
2. 結果報告書の様式は、「組換えDNA実験指針の改訂について」(平成14年1月31日付け、文部科学省研究振興局長通知。)に記載されている様式4に準じるものとし、必要に応じ安全委員会の審査に必要な資料を添付するものとする。

第5章 教育・訓練及び健康管理

第15条 (教育・訓練)

実験責任者は、実験開始前に、実験従事者に対して、指針及びこの規則を熟知させるとともに、実験に伴う災害を防止するために、次の各号に掲げる教育・訓練を行うものとする。

- (1) 危険度に応じた微生物等の安全取扱い技術
- (2) 物理的封じ込めに関する知識及び技術
- (3) 生物学的封じ込めに関する知識及び技術
- (4) 事故発生時の措置に関する知識

第16条 (健康管理)

所長は、研究所職員健康管理規則によるほか、健康安全責任者に対して、実験施設に立ち入る者について、次の各号に掲げる健康診断を行わせるものとする。

- (1) 実験従事者が病原微生物を取扱う場合には、あらかじめ予防と治療の方策について検討し必要な措置を講じるとともに、実験開始後6ヵ月を超えない期間毎に、特別健康診断を行うこと。

- (2) 生物災害を受け、または受けたおそれのある者については、前各号の規定にかかわらず、速やかに特別健康診断を行い、その結果を報告させること。
- (3) 実験従事者が重病または長期にわたる疾病にかかった場合には、直ちに調査を行い必要な措置を講じ、その結果を報告させること。

第6章 事故発生時の措置

第17条 (事故発生時の措置)

事故、地震、火災及びその他の災害により組換え体による汚染が発生し、または発生するおそれがある事態(以下、「事故等」という。)が生じたときは、研究所防災管理規定によるもののほか、次の各号によるものとする。

- (1) 事故等を知った職員は、応急の措置を講じるとともに、事故にかかわる実験責任者、安全主任者、健康安全責任者、危害防止責任者及び守衛等のいずれかに通報し、その指示を受けること。
- (2) 前号の通報を受けた者は、速やかに関係者及び関係機関(文部科学省、保健所等)と協議し、生物災害の発生又は拡大を防止するために必要な措置を講じること。
- (3) 事故等に関わる実験責任者は、事故等発生後1週間以内に事故等の発生状況(日時、場所、原因及び発生した生物災害)及び講じた措置に関する報告書を作成し、安全主任者に提出すること。
- (4) 安全主任者は、前号の報告書を、健康安全責任者の確認を得て、所長に提出すること。
- (5) 所長は前号の報告をもとに報告書を作成し、関係機関に届出ること。
- (6) 健康安全責任者は、事故等により生物災害を受けた者及び受けたおそれのある者について、第16条の規定に基づき、適切な措置を講じること。
- (7) 事故等の発生したときは、関係者はこれを秘匿することなく、前各号の措置を実施すること。

第7章 記録及び保管

第18条 (記録及び保管)

1. 実験責任者は、実験の内容(組換え体の授受、保存及び廃棄を含む。)を記録し、実験の終了時又は年度末までに、安全主任者に提出するものとする。
2. 安全主任者は、前項の記録を取りまとめ、年度毎に所長に提出する。
3. 所長は、実験計画書及び前項の記録を5年間保存するものとする。
4. 所長は、事故等発生時に関する報告書を保存しなければならない。
5. 実験に係る健康診断の記録の保存は、〇〇研究所職員健康安全管理規則によるものとする。

第8章 雑則

第19条 (雑則)

1. この規則の運用は、この規則に定めるほか、指針、〇〇研究所防災管理規定、同職員健康安全管理規則、同放射線障害予防規定及び同実験動物取扱安全管理規則によるものとする。
2. その他、この規則の運用に関し、必要な事項は所長が定める。

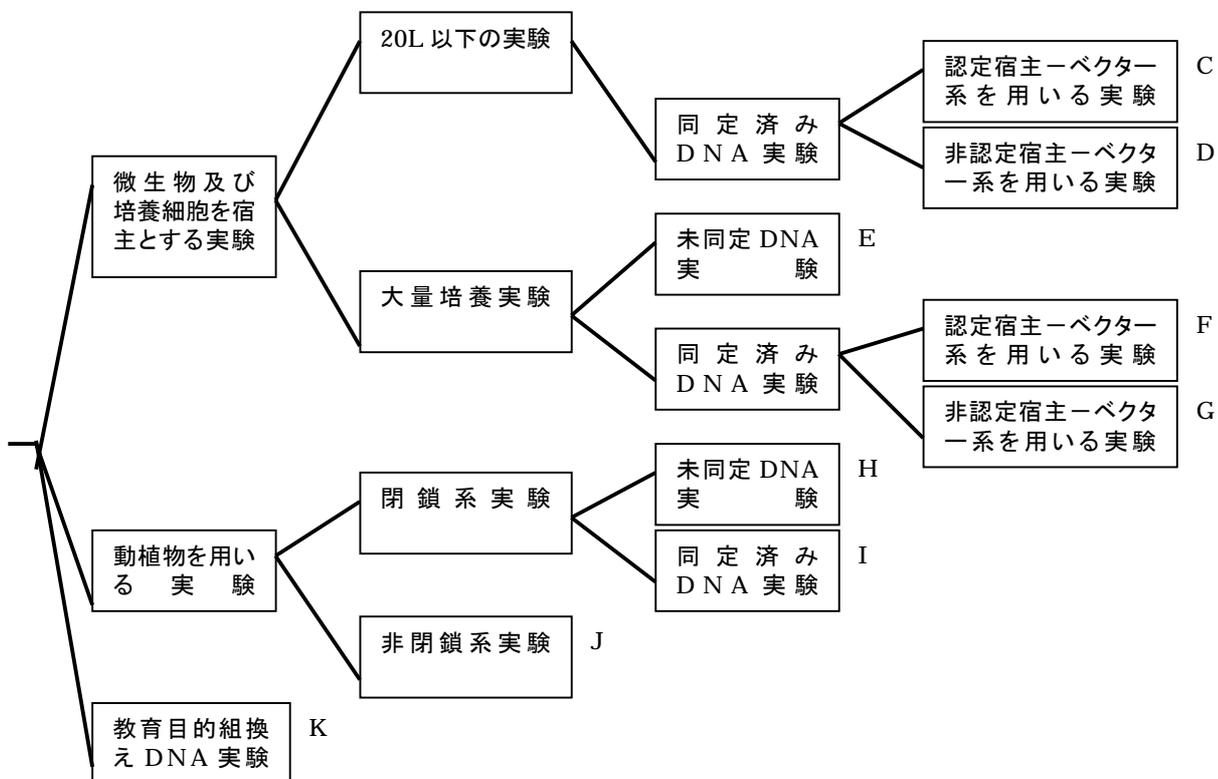
(附則) この規則は、平成〇年〇月〇日から実施する。

○ 実験の区分

実験は宿主－ベクター系及びDNA供与体を用いる生物の種類により、以下のとおり区分されます。

- ① 微生物及び培養細胞(個体形成を目的としないもの)を宿主とする実験
リケッチア及びクラミジアを含む原核生物、真菌(酵母等)、原虫(寄生虫等)といった、いわゆる微生物を宿主とする実験が該当します。また、個体形成を目的としない場合に限って、培養細胞を宿主とする実験もこれに含まれます。
- ② 動物及び植物を用いる実験
組換え動植物を作出する、または用いる実験、及び動植物に組換え体を接種する実験が該当します。
- ③ 教育目的組換えDNA実験
組換えDNA実験に関する教育及び啓発を図ることを目的として、安全性が特に高い宿主－ベクター系と供与DNAとを組み合わせる実験が該当します。

実験は基本的に「微生物及び培養細胞(個体形成を目的としないもの)を宿主とする実験」、「動物及び植物を用いる実験」、及び「教育目的組換えDNA実験」に大別されます。「微生物及び培養細胞(個体形成を目的としないもの)を宿主とする実験」は更に培養規模が20L以下の場合と20Lより大きい場合に分けられ、後者は特に「大量培養実験」と呼ばれます。また、「動物及び植物を用いる実験」は、閉鎖系における実験と非閉鎖系における実験に分けられます。更に、閉鎖系における実験は、用いる供与DNAの種類及び宿主－ベクター系により分けられます。これらの実験区分は下図のとおりです。



宿主 動物培養細胞 ベクター pUC系ベクター 供与DNA 既知遺伝子と一部相同な新規ウイルス cDNA	→	「微生物及び培養細胞を宿主に用いる実験」 20L 以下、未同定 DNA 認定宿主-ベクター系	A
宿主 分裂酵母 (<i>Schizosaccharomyces japonicus</i>) ベクター 宿主由来ベクター 供与DNA 異種酵母のcDNAライブラリー	→	「微生物及び培養細胞を宿主に用いる実験」 20L 以下、未同定 DNA 非認定宿主-ベクター系	B
宿主 <i>E. coli</i> K12株 ベクター pBR系 供与DNA ヒトの酵素遺伝子	→	「微生物及び培養細胞を宿主に用いる実験」 20L 以下、同定済み DNA 認定宿主-ベクター系	C
宿主 マウス培養細胞 ベクター pUC系 (SV40のポリAサイトを含む) 供与DNA ヒトの酵素遺伝子	→	「微生物及び培養細胞を宿主に用いる実験」 20L 以下、同定済み DNA 認定宿主-ベクター系	C
宿主 真菌 (<i>Pichia pastoris</i>) ベクター pBR系 供与DNA ウイルスの構造遺伝子	→	「微生物及び培養細胞を宿主に用いる実験」 20L 以下、同定済み DNA 非認定宿主-ベクター系	D
宿主 動物培養細胞 ベクター ワクシニアウイルス 供与DNA ウイルスの構造遺伝子	→	「微生物及び培養細胞を宿主に用いる実験」 20L 以下、同定済み DNA 非認定宿主-ベクター系	D
宿主 <i>E. coli</i> , XL1-Blue株 ベクター BAC 供与DNA ヒトの酵素遺伝子+その周辺 培養規模 200L	→	「微生物及び培養細胞を宿主に用いる実験」 大量培養、未同定 DNA	E
宿主 <i>E. coli</i> , HB101株 ベクター pBR由来 供与DNA <i>Bacillus</i> の酵素遺伝子 培養規模 2000L	→	「微生物及び培養細胞を宿主に用いる実験」 大量培養、同定済み DNA 認定宿主-ベクター系	F
宿主 <i>E. coli</i> , B株由来 ベクター pBR由来 供与DNA 原虫の構造遺伝子 培養規模 200L	→	「微生物及び培養細胞を宿主に用いる実験」 大量培養、同定済み DNA 非認定宿主-ベクター系	G
宿主 マウス ベクター BAC 供与DNA ヒトの酵素遺伝子+その周辺	→	「動植物を用いる実験」 閉鎖系、未同定DNA	H
宿主 マウス受精卵 ベクター (使用しない) 供与DNA ヒトの発がん遺伝子 実験室内でマウスの仮腹に入れ、トランスジェニックマウス を作製	→	「動植物を用いる実験」 閉鎖系、同定済みDNA	I
宿主 植物プロトプラスト ベクター pBI系 (カリフラワーモザイクウイルスのプ ロモーターを含む)あるいはベクターを使 用しない直接導入法 供与DNA 微生物の酵素遺伝子 実験室内で再分化させ、植物体を再生	→	「動植物を用いる実験」 閉鎖系、同定済みDNA	I

宿主	イネ	→	「動植物を用いる実験」 非閉鎖系	J
ベクター	アグロバクテリウム由来			
供与DNA	植物由来抗菌蛋白遺伝子			
温室	非閉鎖系温室			
宿主	マウス培養細胞	→	「微生物及び培養細胞を宿主に用いる実験」 20L以下、同定済みDNA 認定宿主-ベクター系	I
ベクター	シャロン系			
供与DNA	ヒトの発がん遺伝子	→	「動植物を用いる実験」 同定済みDNA	I
更に、組換え体を動物個体に接種				
宿主	アグロバクテリウム	→	「微生物及び培養細胞を宿主に用いる実験」 20L以下、同定済みDNA 非認定宿主-ベクター系	I
ベクター	宿主由来Tiプラスミド			
供与DNA	ウイルスの外被蛋白質遺伝子			
更に、組換え体を動物個体に接種				
宿主	E. coli K12株由来	→	「教育目的組換えDNA実験」	K
ベクター	pBR322由来			
供与DNA	GFP			

実験の安全を確保するためには、微生物学実験室で一般に用いられる標準的な方法を基本として、実験に用いる宿主、ベクター及びDNA供与体の安全度評価、さらには組換え体の安全度評価に応じた物理的封じ込めをする必要があります。個々の実験を行う際に、どのような物理的封じ込めのレベルが必要かについては、第II部において実験の区分にしたがって説明します。

○ 第6章 微生物及び培養細胞(個体形成を目的としないもの)を宿主とする実験

1. 実験の安全度評価に応じた封じ込めの方法の基準

微生物(リケッチアとクラミジアを含む原核生物、真菌及び原虫)と、個体までの分化を目的としない動植物培養細胞を宿主とする実験は、通常の微生物学実験を基本とし、組換え体の生物としての安全度評価に応じた適切な物理的封じ込め適用して実施することが前提とされます。さらに、大量培養実験の場合には、大型培養槽を始めとして、よく整備された施設で実施することも前提とされます。その上で、これらの実験に用いる宿主—ベクター系等の安全度評価及び実験の物理的封じ込めの考え方は次のようになります。

- ① 別表に示される認定宿主—ベクター系は安全度が高いと評価され、DNA供与体の安全度評価のみにより実験の物理的封じ込めレベルが定められ、特に安全度が高いと評価されるB2レベルの宿主—ベクター系では、実験の物理的封じ込めのレベルダウンが可能です。
- ② また、別表5に示される宿主—ベクター系は特定のDNA供与体を用いる場合に限り、認定宿主—ベクター系に準じて扱われます。
- ③ それ以外の宿主—ベクター系については、組換え体の安全度評価に応じて、DNA供与体、宿主、ベクターのそれぞれについて安全度評価を行い、そのうち最も高い物理的封じ込めレベルを実験の物理的封じ込めレベルと評価することを原則とします。例えば、P1レベルの封じ込めが必要な*Pseudomonas fluorescens*を宿主、*E. coli*由来のpBR322をベクターとして用い、P2レベルの封じ込めを要する動物由来のDNAを組み込もうとする実験では、P2の物理的封じ込めを用いることになります。
- ④ 20L以下の規模で実施する場合において、P1レベル及びP2レベルの物理的封じ込めが必要とされる実験を20Lより大きい規模で実施するときは、それぞれLS-1レベル及びLS-2レベルの物理的封じ込めを適用します。ただし、特に生物学的安全性が高いと評価される場合については、LS-Cレベルの物理的封じ込め又は特別な物理的封じ込めの方法を用いることができます。
- ⑤ 同定済みDNA実験においては、安全委員会で病原性、毒素産生能、発がん性、伝達性を検討して安全性が確保できると判断されれば実験の物理的封じ込めのレベルを下げる(レベルダウン)ができます。

2. 実験の手続の区分

次に、これらの実験の実施に当たって必要とされる手続を説明します。手続としては、大臣確認実験、機関承認実験及び機関届出実験の3種類がありますが、指針では、これらの区分を培養規模が20L以下の場合のうちの未同定DNA実験(指針第1)、同じく同定済みDNA実験(指針第2)及び大量培養実験(指針第3)に分けて示しています。

なお、指針の参考として、安全度評価等に基づくDNA供与体、宿主—ベクター系の組合せ毎に必要とされる物理的封じ込め及び手続を、培養規模が20L以下と20Lより大きいもの(大量培養実験、指針参考表C)に分けて、さらに20L以下の実験は、未同定DNA実験(指針参考表A)と同定済みDNA実験(指針参考表B)に分けて示しています(表Aと表Bは更に認定宿主—ベクター系を用いる実験(表A-1、表B-1)と非認定宿主—ベクター系を用いる実験(表A-2、表B-2)に分けて示しています)。これらの表中に、P1、P2、P3あるいはLS-1、LS-2と表示されているのは、機関の安全委員会での審議を受け、機関の長の承認後に実験を行うことができる機関承認実験であり、「機関届出実験P1」と表示されたものは、各機関の長に届け出た後に実験を行えるものです。機関承認実験と機関届出実験以外は大員確認実験となります。なお、実験責任者が、機関届出実験であるか判断が困難な場合には、安全委員会または安全主任者の確認を受けてください。また、安全委員会で大臣確認実験かどうかについての判断が難しい場合には文部科学省に相談してください。大臣確認実験については、実験開始前に実験計画書を文部科学大臣に提出し安全性に関する確認を受ける必要があります。大臣確認実験の申請方法等については後述の「実験実施手続」を参照してください。

3. 未同定 DNA 実験の手続の区分

(1) 大臣確認実験

- ① 新たに病原性が見出された微生物又は種名まで同定されていない微生物のうち病原性を有することが科学的に推定されるものをDNA供与体とする実験。ただし、同一実験実施機関において既に大臣確認を受け、かつ、安全性が評価された微生物を用いる実験で、病原性、薬剤耐性、感染性、毒素産生性、感染性ウイルス粒子産生能、宿主域等の変化により安全性の評価に影響が及ぶおそれのないものについては、機関承認実験とすることができる。

別表2及び別表4に示す微生物の安全度分類では、(2)、(3)に示すもの以外は安全度の高いものとして、多くの場合にP1で実験可能ですが、このとき、新たな病原性が見出されたもの及び種名まで同定されていない微生物のうち病原性を有することが科学的に推定されるものを除くという条件が付されており、この条件に合致する微生物については、安全性に関する科学的知見が十分でないと考えられ、大臣確認実験となります。

- ② 別表3-(4)に掲げる真核生物(真菌及び原虫を除く。)のウイルス及びウイロイドをベクター又はDNA供与体とする実験。

封じ込めの基準が具体的に示されていないウイルス、ウイロイドをDNA供与体として用いる場合は安全性に関する科学的知見が十分でない、あるいは特に危険性が高い実験として、大臣確認実験となります。

- ③ 脊椎動物に対するLD50が100 μ g/kg体重以下の蛋白性毒素産生能を有する遺伝子を用いる実験。ただし、宿主—ベクター系にEK1及びEK2を用いる場合であってLD50が100ng/kg体重より大きい実験については、機関承認実験とすることができる。

蛇毒、ボツリヌス菌毒素等をコードするDNAを用いる実験です。

④ 認定宿主－ベクター系以外の宿主－ベクター系を用いる実験(別表5に掲げる宿主－ベクター系及び DNA 供与体を用いる実験を除く。)

⑤ 組換え体の自然界への散布を含む実験。

(2) 機関承認実験

大臣確認実験及び機関届出実験以外の実験は機関承認実験となります。

(3) 機関届出実験

認定宿主－ベクター系を用い、別表 2-(1)、3-(1)、及び 4-(1)に示される安全性が高い微生物やウイルス等、あるいは植物を DNA 供与体とする実験は機関届出実験となります。

表A-1

微生物及び培養細胞(個体形成を目的としないもの)を宿主に用いる実験(20I 以下/未同定 DNA 実験/認定宿主－ベクター系を用いる場合)に係る手続の区分及び物理的封じ込めの方法の基準(第6章第1関係)

宿主	DNA 供与体	微生物			ウイルス等				動物	植物
		別表2-(3) 別表4-(3)	別表2-(2) 別表4-(2)	別表2-(1) 別表4-(1)	別表3-(4)	別表3-(3)	別表3-(2)	別表3-(1)		
B1	P3	P2	機関届出実験 P1	大臣確認実験	P3	P2	機関届出実験 P1	P2	機関届出実験 P1	
B2	P2	P1	機関届出実験 P1	大臣確認実験	P2	P1	機関届出実験 P1	P1	機関届出実験 P1	

※ 物理的封じ込めのレベルのみが示される欄は機関承認実験。

注1 新たに病原性が見出された微生物又は種名まで明らかでない微生物のうち病原性を有することが科学的に推定されるものを DNA 供与体とする実験は大臣確認実験とする。(同一実験実施機関において既に大臣確認を受け、かつ、安全性が評価された微生物を用いる実験で、病原性等の変化により安全性の評価に影響が及ぶおそれのない実験については機関承認実験とすることができる。)

注2 脊椎動物に対するLD50が100µg/kg体重以下の蛋白性毒素産生能を有する遺伝子を用いる実験は大臣確認実験とする。ただし、宿主－ベクター系にEK1又はEK2を用いる場合で、脊椎動物に対するLD50が100ng/kg体重より大きく、100µg/kg体重以下の実験は機関承認実験とすることができる。

注3 組換え体の自然界への散布を含む実験は大臣確認実験とする。

表A-2

微生物及び培養細胞(個体形成を目的としないもの)を宿主に用いる実験(20I 以下/未同定 DNA 実験/認定宿主－ベクター系以外の宿主－ベクター系を用いる場合)に係る手続の区分及び物理的封じ込めの方法の基準(第6章第1関係)

宿主	DNA 供与体	微生物			ウイルス等				動物	植物
		別表2-(3) 別表4-(3)	別表2-(2) 別表4-(2)	別表2-(1) 別表4-(1)	別表3-(4)	別表3-(3)	別表3-(2)	別表3-(1)		
別表5に掲げる宿主－ベクター系	大臣確認実験	大臣確認実験	P1 大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	
その他の宿主－ベクター系	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	

※ 物理的封じ込めのレベルのみが示される欄は機関承認実験。

注 組換え体の自然界への散布を含む実験は大臣確認実験とする。

4. 同定済み DNA 実験の手続の区分

同定済み DNA を用いる実験は、未同定 DNA を用いる実験よりも安全性が高いと考えられます。そのため、大臣確認実験あるいは機関承認実験によって既に作製された組換え体をそのまま用いる実験で、組換え体を作製した際の物理的及び生物学的封じ込めの方法と同じ方法で封じ込めを行う場合には、それぞれ機関承認実験及び機関届出実験として行うことができます。また、安全委員会において、病原性、毒素産生能、発がん性及び伝達性についての検討を経て、実験の物理的封じ込めのレベルを下げるすることができます(レベルダウン)。

(1) 大臣確認実験

① 新たに病原性が見出された微生物又は種名まで同定されていない微生物から提供されるDNAのうち病原性等に係るものを供与DNAとする実験、もしくは病原性の有無が明らかでない微生物を宿主とする実験。ただし、同一実験実施機関において既に大臣確認を受け、かつ、安全性が評価された微生物を用いる実験で、病原性等の変化により安全性の評価に影響が及ぶおそれのないものについては、機関承認実験とすることができる。

これは、未同定DNA実験と同様の考え方によるものですが、同定済みDNA実験ですので、“供与DNA”の病原性をもって大臣確認実験としかどうかの判断基準としています。また、非認定宿主－ベクター系を用いる場合の宿主について病原性の有無が明らかでない場合に、大臣確認実験となります。

② 3-(4)に掲げるウイルス等をベクター又はDNA供与体とする実験

③ 脊椎動物に対するLD50が100 μg/kg体重以下の蛋白性毒素産生能を有する遺伝子を用いる実験。ただし、宿主ベクター系にEK1及びEK2を用いる場合であってLD50が100ng/kg体重より大きい実験については、機関承認実験とすることができる。

④ 組換え体の自然界への散布を含む実験。

②～④は未同定DNA実験と同様の扱いとなっています。

さらに、非認定宿主ベクター系を用いる場合には、以下の実験が大臣確認実験となります。

⑤ 二次感染性ウイルス(生細胞に感染して自立的に増殖する能力を維持しているウイルス粒子、ただし別表6に掲げるヒトへの感染性がきわめて低いと考えられるウイルスを除く。)が生じる蓋然性が高い実験。

⑥ 表2-(2)又は2-(3)に掲げる病原性微生物を宿主とし、薬剤耐性遺伝子を導入することによりヒトに感染した場合において治療することが困難となる性質を付与する実験。

⑦ 毒素、サイトカイン、ペプチドホルモン又は既知のアレルゲンの発現その他の事由により宿主の安全性の評価に影響が及ぶ蓋然性が高い実験。

(2) 機関承認実験

大臣確認実験及び機関届出実験以外の実験は機関承認実験となります。

(3) 機関届出実験

未同定 DNA 実験と同様に、認定宿主ベクター系を用い、別表 2-(1)、3-(1)、及び 4-(1)に示される安全性が高い微生物やウイルス等、あるいは植物を DNA 供与体とする実験は機関届出実験となります。また、教育目的組換え DNA 実験として実施することが可能な安全性が特に高い宿主ベクター系と特定の供与 DNA を用いる実験を教育目的としてでなく行う実験が機関届出実験に含まれます(動物をDNA供与体とする場合には、一般に、認定宿主ベクター系を用いる場合であっても機関届出実験にはなりません、このような取扱いにより、指針別表7に示される、GFP等を供与DNAとし認定宿主ベクター系を用いる場合には、機関届出実験として取り扱われます)。

表B-1

微生物及び培養細胞(個体形成を目的としないもの)を宿主に用いる実験(201以下/同定済みDNA実験/認定宿主ベクター系を用いる場合)に係る手続の区分及び物理的封じ込めの方法の基準(第6章第2関係)

DNA 供与体	微生物			ウイルス等				動物	植物
	別表2-(3) 別表4-(3)	別表2-(2) 別表4-(2)	別表2-(1) 別表4-(1)	別表3-(4)	別表3-(3)	別表3-(2)	別表3-(1)		
宿主 ベクター									
B1	P3	P2	機関届出実験 P1	大臣確認実験	P3	P2	機関届出実験 P1	P2	機関届出実験 P1
B2	P2	P1	機関届出実験 P1	大臣確認実験	P2	P1	機関届出実験 P1	P1	機関届出実験 P1

※ 物理的封じ込めのレベルのみが示される欄は機関承認実験。

注1 新たに病原性が見出された微生物又は種名まで明らかでない微生物に由来する DNA のうち病原性に関するものを用いる実験は大臣確認実験とする。(同一研究機関において既に大臣確認を受け、かつ、安全性が評価された微生物を用いる実験で、病原性等の変化により安全性の評価に影響が及ぶおそれのない実験については機関承認実験とすることができる。)

注2 脊椎動物に対するLD50が100 μg/kg体重以下の蛋白性毒素産生能を有する遺伝子を用いる実験は大臣確認実験とする。ただし、宿主ベクター系にEK1又はEK2を用いる場合で、脊椎動物に対するLD50が100ng/kg体重より大きく、100 μg/kg体重以下の実験は機関承認実験とすることができる。

注3 安全委員会において供与DNAの病原性、毒素産生性、発がん性、伝達性を検討の上、実験の封じ込めレベルを下げるができる。

表B-2

微生物及び培養細胞(個体形成を目的としないもの)を宿主に用いる実験(20L以下/同定済みDNA実験/認定宿主-ベクター系以外の宿主-ベクター系を用いる場合)に係る手続の区分及び物理的封じ込めの方法の基準(第6章第2関係)

宿主 ベクター	DNA 供与体			微生物				ウイルス等				動物	植物
	別表2-(3) 別表4-(3)	別表2-(2) 別表4-(2)	別表2-(1) 別表4-(1)	別表3 -(4)	別表3 -(3)	別表3 -(2)	別表3 -(1)	別表3 -(4)	別表3 -(3)	別表3 -(2)	別表3 -(1)		
別表3-(4)及び別表4-(4)に掲げるウイルス等をベクターとする実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験
別表2-(3)、別表3-(3)及び別表4-(3)に掲げる微生物、ウイルス等を宿主、ベクターのいずれかに用いる実験	P3	P3	P3	大臣確認実験	P3	P3	P3						
別表2-(2)、別表3-(2)及び別表4-(2)に掲げる微生物、ウイルス等を宿主、ベクターのいずれかに用いる実験	P3	P2	P2	大臣確認実験	P3	P2	P2	P2	P2	P2	P2	P2	P2
宿主、ベクターが別表2-(1)、別表3-(1)及び別表4-(1)に掲げる微生物、ウイルス等のみで構成される実験	P3	P2	P1	大臣確認実験	P3	P2	P1	P2	P2	P1	P1	P2	P1
新たに病原性が見出された微生物又は種名まで明らかでない微生物のうち病原性の有無が明らかでないものを宿主とする実験(注7)	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験

※ 物理的封じ込めのレベルのみが示される欄は機関承認実験。

注1 複数の項目に該当するものは封じ込めレベルの高い方が優先される。

注2 新たに病原性が見出された微生物又は種名まで明らかでない微生物から提供されるDNAのうち病原性に係るものを供与DNAとする実験は大臣確認実験とする。(同一実験実施機関において既に大臣確認を受け、かつ、安全性が評価された微生物を用いる実験で、病原性等の変化により安全性の評価に影響が及ぶおそれのない実験については機関承認実験とすることができる。)

注3 二次感染性ウイルス粒子(別表6に掲げるウイルスを除く。)が生じる蓋然性が高い実験は大臣確認実験とする。

注4 脊椎動物に対するLD50が100µg/kg体重以下の蛋白性毒素産生能を有する遺伝子を用いる実験は大臣確認実験とする。

注5 別表2-(2)又は(3)に掲げる微生物を宿主とし、薬剤耐性遺伝子を導入することにより人に感染した場合において治療することが困難となる性質を付与する実験は大臣確認実験とする。

注6 毒素、サイトカイン、ペプチドホルモン又は既知のアレルゲンの発現又はその他の事由により宿主の安全性の評価に影響が及ぶ蓋然性が高い実験は大臣確認実験とする。

注7 新たに病原性が見出された微生物又は種名まで明らかでない微生物のうち病原性の有無が明らかでないものを宿主とする実験のうち、同一実験実施機関において以前の申請により大臣確認を受け、かつ、安全性が評価された微生物を用いる実験で、病原性等の変化により安全性の評価に影響が及ぶおそれのないものについては機関承認実験とすることができる。

注8 安全委員会において供与DNAの病原性、毒素産生能、発がん性、伝達性を検討の上、実験の封じ込めレベルを下げるができる。

5. 大量培養実験の手続の区分

(1) 大臣確認実験

未同定DNA実験のほか、同定済みDNA実験のうち、(2)に示す機関承認実験に該当しない実験及びLS-1とLS-2以外(LS-Cその他)の物理的封じ込め方法による実験は大臣確認実験となります。

(2) 機関承認実験

認定宿主-ベクター系を用いた同定済みDNA実験のうち、20L以下の規模で実験を実施した場合にP1又はP2レベルの封じ込めが必要とされ、かつ大臣確認実験とならないものは機関承認実験となります。また、非認定宿主-ベクター系であっても別表5に示された系及びDNA供与体を用いた実験は機関承認実験となります。

表C

大量培養実験に係る手続の区分及び物理的封じ込めの方法の基準(第6章第3関係)

DNA供与体 宿主	微生物			ウイルス等				動物	植物
	別表2-(3) 別表4-(3)	別表2-(2) 別表4-(2)	別表2-(1) 別表4-(1)	別表3-(4)	別表3-(3)	別表3-(2)	別表3-(1)		
B1	大臣確認実験	LS-2	LS-1	大臣確認実験	大臣確認実験	LS-2	LS-1	LS-2	LS-1
B2	LS-2	LS-1	LS-1	大臣確認実験	LS-2	LS-1	LS-1	LS-1	LS-1
別表5に掲げる宿主-ベクター系	大臣確認実験	大臣確認実験	LS-1 大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験
その他の宿主-ベクター系	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験	大臣確認実験

※ 物理的封じ込めのレベルのみが示される欄は機関承認実験。

注1 未同定 DNA 実験は大臣確認実験とする。

注2 LS-C レベルまたは特別の物理的封じ込め方法により行う実験は大臣確認実験とする。

注3 201 以下の実験で大臣確認実験となる実験で作製された組換え体を用いる実験は大臣確認実験とする。

注4 同定済み DNA 実験は、安全委員会において供与 DNA の病原性、毒素産生能、発がん性、伝達性を検討の上、実験の封じ込めレベルを下げる事ができる。

○ 第7章 動物及び植物を用いる実験

「動物(植物)を用いる実験」は、

- ① 組換え動物(植物)を作出する実験
- ② 組換え動物(植物)を用いる実験
- ③ 動物(植物)に組換え体を接種する実験

の3つに分けられます。

①は、組換え動物(植物)、つまり、ヒトを除く動物(植物)の生細胞を宿主とした組換えDNA実験により作出される動物(植物)を作出する実験のことで、なお、組換え動物には、動物個体のほか、受精卵や胚、胎仔の段階も含まれます。また、組換え植物には、植物個体のほか、個体から離れる花粉や孢子、種子も含まれます。例えば、受精卵や生殖細胞を宿主とする組換えDNA実験を行い、動物の仮腹に入れて組換え動物を個体を得る実験や植物培養細胞を宿主とする組換えDNA実験を行い、組換え体である植物培養細胞から分化させて植物個体を得る実験などが該当します。

②は、①の実験で作出された組換え動物(植物)を用いる実験(飼育や栽培を含む。)で、自らの機関において作出した組換え動物(植物)を用いる場合、あるいは、国内又は国外の他の機関から譲渡を受けた組換え動物(植物)を用いる場合があります。

③は、動物(植物)に組換えウイルスなどの組換え体を接種する実験ですが、接種した動物(植物)から、後代を得るなどにより組換え動物(植物)を作出することを目的とする場合には、①に該当しますので注意して下さい。

なお、指針及びこの解説では、①～③の総称である「動物(植物)を用いる実験」と②の「組換え動物(植物)を用いる実験」が厳密に使い分けられていることに注意してください。

作出された組換え動物及び組換え体を接種された動植物の飼育・栽培管理を伴う実験は、P1～P4といった微生物や培養細胞を用いて組換え体を作成する場合に適用する物理的封じ込めとは別に、用いる組換え動植物個体あるいは組換え体を接種された動植物個体の性質に応じた封じ込めを適用する必要があります。指針では、第II部7章第1節第2-2(3)及び同章第2節第2-2(2)に飼育・栽培管理を行うための基準が示されています。

ここでは、飼育・栽培施設の要件を中心に、動植物を扱う実験を安全に進めるうえで留意すべき点について解説します。なお、指針では、動物・植物それぞれについて個別に記述されていますが、ここでは共通事項を可能な限りひとまとめとして「動植物」として解説しています。

1. 動植物を用いる実験の手続の区分

動植物を用いる実験は、その内容により手続の区分が下表のように規定されます。それぞれの実験計画について、書面による申請または届出の手続が必要となります。

手続の区分	要件
大臣確認実験	<ul style="list-style-type: none"> ・供与DNAに未同定DNAを用いる実験 ・別表3の(4)に掲げるウイルス等(=別表3の(1)～(3)に具体名が記載されているもの以外全て)をベクター又はDNA供与体とする実験。 ・脊椎動物に対するLD50が100 μg/kg体重以下の蛋白性毒素をコードする遺伝子を用いる実験 ・大臣確認実験により作出された組換え体を動植物に接種する実験 ・組換え動物又は組換え体を接種した動植物について非閉鎖系区画又は屋外特定区画その他屋外の区画において飼育・栽培管理を行う実験 (以下、動物のみ該当) ・ヒトのみに病原性がある微生物又はウイルス等に対するヒトと共通の感染受容体を動物に付与する実験 ・霊長類を用いる実験
機関承認実験	<ul style="list-style-type: none"> ・大臣確認実験及び機関届出実験のいずれにも該当しないもの全て
機関届出実験	<ul style="list-style-type: none"> ・実験に用いる組換え動植物系統が以下の全ての要件を満たす場合 <ol style="list-style-type: none"> ① 他生物への自立的移行性(※)を持たないDNAを導入して作出した系統である ② 導入したDNAに係る形質が安定している ③ 人に対する安全性の保持に影響を及ぼすことがない ④ 個々の系統について、上記①～③が機関安全委員会における検討を経てすでに認定されている

※ 感染性ウイルス粒子の産生等により、当該DNA分子自体またはこれを含むゲノム断片が、これらを導入された生物から同種または異種生物の他の株や個体等に移行する性質。

2. 動植物を用いる実験の安全度評価に応じた封じ込めの方法の基準

(1) 実験の安全度評価に関する考え方

動植物を用いる実験の計画及び実施に当たっては、安全を確保するため、微生物学実験室、動物飼育施設、植物栽培施設で一般に用いられる標準的な方法を基準とし、組換え体の生物としての安全度評価に応じた物理的封じ込めが必要です。具体的には、動物では個体の移動能力や排泄物、植物では花粉や種子の飛散による拡散といった、生物としての基本的な特徴を考慮した封じ込め方法をそれぞれ追加検討する必要があります。さらに、遺伝子の導入などによって組換え体に新たに付与さ

れた形質が、上記のような生物としての特徴に変化をもたらす、あるいは周囲の環境(生物を含む)に直接あるいは間接的に影響をおよぼす可能性についても検討し、十分な対策を講じる必要があります。

(2) 実験の物理的封じ込めの方法の基準

- ① 「組換え動植物を作出する実験」における物理的封じ込めは、実験に使用するベクター又はDNA供与体のうち最も高い物理的封じ込めを必要とするものの安全度評価に従うことを基準に考えます。ベクターとDNA供与体の安全度評価分類については、指針第2章第3「安全度評価及び物理的封じ込めの方法の基準に関する原則」を参照してください。また、指針の参考表Dに物理的封じ込めの基準と実験実施手続きが整理されていますので、参照して下さい。微生物や培養細胞を宿主とした実験と同様、同定済みDNAを供与DNAとして用いる場合に限り、下記の4点についての機関安全委員会での検討を経て実験の封じ込めレベルを1ランク以上下げることが可能です(レベルダウン)。
 - ア. 病原性
 - イ. 毒素産生能
 - ウ. 発がん性
 - エ. 伝達性
- ② 「組換え動植物を用いる実験」における物理的封じ込めは、上記2の(1)で述べた考え方を踏まえ、適当と判断される方法を個別に検討・適用するものとします。このとき、①に記述しているように、「組換え動植物を作出する実験」において、一定条件下で物理的封じ込めのレベルダウンが可能となっていますので、これを考慮して物理的封じ込めレベルを適用することが適当です。
- ③ 組換え動植物の飼育・栽培管理については、指針では閉鎖系実験室での動植物の取扱いを前提に記述されており、非閉鎖系実験区画等での実験に関する留意事項の詳細が十分に記載されていません。以下では、組換え動植物及び組換え体を接種した動植物を取り扱う実験区域の設計・施工・稼働に当たり、飼育、栽培施設(閉鎖系、非閉鎖系、屋外特定区画)の種類ごとに留意すべき事項を中心に解説します。また、動物については、実験に用いる個体の性質に応じて留意すべき事項を加えています。これらは、旧文部省「学術審議会特定研究領域推進分科会・バイオサイエンス部会・組換えDNA専門委員会」、旧科学技術庁「科学技術会議ライフサイエンス部会・組換えDNA技術分科会」、及び文部科学省「科学技術・学術審議会・生命倫理・安全部会・組換えDNA技術等専門委員会」から出された公式見解及びコメントのうち、現在でも有効性が認められるものに基づいています。

非閉鎖系実験区画における組換えDNA実験については、従来は開放系における組換え体の利用を目指した安全性確認のための実験と位置づけられていました。しかし、近年特に植物を用いる実験では、形質評価のためにより自然に近い環境での栽培を必要とする実験(閉鎖系温室では再現できないもの)や、組換え体どうしの交配によって新たな形質を付与した個体を作出する実験のように、開放系利用を目的としない非閉鎖系実験が行われる傾向にあります。これらは現状では個別に実験の安全性を検討することで対応していますが、今後このような実験目的や方法の変化に合わせて、非閉鎖系及び屋外の実験施設・設備の要件や安全度評価のための考慮事項などを検討することとされています。
- ④ 「動植物に組換え体を接種する実験」においては、組換え体が接種される動植物の性質等を勘案し、当該動植物について組換え動植物に準じた飼育・栽培管理を行うとともに、接種する組換え体の作製時に適用された物理的封じ込めの方法を踏まえ、適当と判断される物理的封じ込め方法を適用するものとします。ただし、動植物に接種することにより、二次感染性ウイルス粒子が生じる可能性がある場合は、そのウイルスを得るための実験と同等の物理的封じ込めの方法を採用するものとします。たとえ欠損型のウイルスベクターを用いてパッケージング細胞で増殖させたウイルス粒子であっても、動物に感染させた後、相補等により二次感染性ウイルスを産生する能力を回復する場合がありますので、注意が必要です。実験室及び飼育・栽培施設では、ウイルス等の伝播・拡散を防ぐため、排気口等にHEPAフィルターを設置する、アインレータの中で飼育管理を行う等、必要に応じて適切な措置を講じてください。
- ⑤ 動植物を用いる実験においては、指針の規定によるほか、動物の保護及び管理に関する法律(昭和48年法律第105号)や同法に基づく実験動物の飼養及び保管に関する基準(昭和55年3月27日総理府告示第6号)に従って実施することが必要です。

表D

動物及び植物を用いる実験に係る手続の区分及び物理的封じ込めの方法の基準(第7章関係)

宿主	DNA 供与体 ベクター	微生物			ウイルス等				動物	植物
		別表2-(3) 別表4-(3)	別表2-(2) 別表4-(2)	別表2-(1) 別表4-(1)	別表3-(4)	別表3-(3)	別表3-(2)	別表3-(1)		
動物または植物	別表3-(4) 別表4-(4)	大臣確認 実験	大臣確認 実験	大臣確認 実験	大臣確認 実験	大臣確認 実験	大臣確認 実験	大臣確認 実験	大臣確認 実験	大臣確認 実験
	別表2-(3) 別表3-(3) 別表4-(3)	P3	P3	P3	大臣確認 実験	P3	P3	P3	P3	P3
	別表2-(2) 別表3-(2) 別表4-(2)	P3	P2	P2	大臣確認 実験	P3	P2	P2	P2	P2
	別表2-(1) 別表3-(1) 別表4-(1)	P3	P2	P1	大臣確認 実験	P3	P2	P1	P2	P1
	直接法(ベクターを用いない実験)	P3	P2	P1	大臣確認 実験	P3	P2	P1	P2	P1

※ 物理的封じ込めのレベルのみが示される欄は機関承認実験。

注1 未同定 DNA 実験は大臣確認実験とする。

注2 脊椎動物に対する LD50 が 100 μ g/kg 体重以下の蛋白性毒素産生能を有する遺伝子を用いる実験は大臣確認実験とする。

注3 ヒトのみに病原性を持つ微生物又はウイルス等に対するヒトと共通の感染受容体を動物に付与する実験は大臣確認実験とする。

注4 霊長類を用いる実験は大臣確認実験とする。

注5 大臣確認実験により作製された組換え体を動植物に接種する実験は大臣確認実験とする。

注6 組換え動植物又は組換え体が接種された動植物について非閉鎖系区画又は屋外特定区画その他屋外の区画において飼育管理又は栽培管理を行う実験は大臣確認実験とする。

注7 組換え動植物を用いる実験においては、組換え動植物の生物としての安全度評価を踏まえ、適当と判断される物理的封じ込めの方法を適用するものとする。

注8 動植物に組換え体を接種する実験においては、組換え体が接種される動植物の性質等を勘案し、当該動植物について組換え動植物に準じた飼育管理又は栽培管理を行うとともに、接種する組換え体の物理的封じ込めの方法を踏まえ、適当と判断される物理的封じ込め方法を適用するものとする。ただし、動植物に接種することにより、二次感染性ウイルス粒子が生じる可能性がある場合（相補等によりウイルスが二次感染性ウイルス粒子を産生する能力を回復する可能性が高い実験を含む。）は、そのウイルスを得るための組換え DNA 実験と同等の物理的封じ込めの方法を採用すること。

注9 動植物を用いる実験で、他生物への自立的移行性を持たない DNA を導入して作出した組換え動植物系統のうち、当該 DNA に係る形質が安定しており、かつ、人に対する安全性の保持に影響を及ぼすことが系統を用いる実験は機関届出実験とする（実験実施機関の長が安全委員会による検討を経て、当該系統に該当する旨を認定した系統を用いる場合に限る。）。

注10 同定済み DNA 実験は、安全委員会において供与 DNA の病原性、毒素産生能、発がん性、伝達性を検討の上、実験の封じ込めレベルを下げるができる。

3. 飼育・栽培施設の種類に応じて留意すべき事項

(1) 動物を用いる実験

■ 閉鎖系の実験室及び飼育施設

① 飼育施設の出入口、給排気口、排水口、窓等には組換え動物の習性に応じた逃亡防止設備（金網、ネズミ返し、前室等をいう）を設けるとともに、外部からの昆虫、げっ歯類等の侵入を防ぐ措置をとる必要があります。また、排気については、組換え動物を作出した時に講じられた物理的封じ込めレベルに従い、必要に応じてHEPAフィルター等を通じて行ってください。さらに、作出された組換え動物から人に感染するウイルス粒子を生ずるような実験については、必要に応じてHEPAフィルター等を備えた特定のアイソレーターの中で飼育管理を行ってください。

排水口は実験室内にはない方が望ましいのですが、排水口がある場合は、排水を行わない通常時はキャップ等をかぶせる等の措置を講じる必要があります（これには、げっ歯類や昆虫の逃亡防止の他に、排水に混入した排泄物等を外部に流出させない目的があります）。また、排水が直接排水口から外部に流出しないように貯留・処理できる方式とすることが必要です。

なお、アイソレーターやネズミ返し等の詳細については後述します。

② 飼育施設の出入り口の扉は、組換え動物の逃亡や昆虫・げっ歯類等の侵入を防ぐため、出入りの際を除いて必ず閉じておくことが必要です。

③ 窓は開けないこととし、外部から開かないように施錠するか、固定することが必要です。

④ 飼育容器及び逃亡防止設備は、飼育施設の性質と実験に用いる動物の種類、性質、大きさ等によって適切なものを選択する必要があります。飼育には専用のケージ等を用いて飼育管理を行うとともに、組換え動物の力や振動によって、ふた等が容易に開かないように固定できる構造とすることが必要です。

⑤ 組換え動物は可能な限り個々の識別ができるように措置してください。個々の識別が困難なもの（昆虫、魚類等）については、飼育容器ごとに区別し、管理できるようにしてください。また非組換え体とも区別する必要があることから、実験室内には飼育棚、飼育架台等を適宜設置し、明確に区別できるように整理しておく必要があります。

⑥ 床敷き、排泄物、飲水等は必要に応じて消毒、焼却等の処理を行ってください。これらを滅菌するためのオートクレーブや飼育容器等を消毒するための薬液槽は、実験区域内に設置することが望まれます。動物の遺体や敷ワラ、排泄物等を焼却するための焼却炉等は実験区域の外にあっても構いませんが、そこまでの移動の間、適切な封じ込めを維持することが前提となります。

⑦ 組換え体を実験室の外に運搬する場合、例えば組換え動物を作出する実験室と飼育管理を行う実験室とが離れている場合などには、その移動の間、適切な封じ込めを行うとともに特に逃亡防止に注意する必要があります。基本事項は、指針第3章第2「組換え体の運搬」を参照してください。運搬には、堅固でかつ万一破損しても組換え動物が逃亡しないような構造の容器を用い、その表面の見やすいところに組換え体であることを表示する標識を付けてください（標識の形式は任意とされていますが、容器または包装物の表面の見やすいところに必ず「取扱注意」と朱書きしてください）。

図 組換えマウスの運搬ゲージの例（上部がフィルターになっている。これをフィルター付きの空気穴が開いた容器に入れて運搬する。）



⑧ 飼育管理を行う実験室には、「組換え動物実験中」の表示を見やすい箇所にとりつけて下さい。

⑨ 組換え動物を飼育中には、実験区域内に関係者以外の者が許可なく立ち入ることがないよう措置することが必要です。

⑩ 組換え動物の交配によって後代を得て、それを飼育管理する場合も、第1代と同様の封じ込め管理を行う必要があります。但し、異なる組換え動物どうしの交配によって、親動物にはない新たな形質が付与される場合は、より厳重な飼育管理が必要となることも考えられますので、必要に応じて別途安全度評価を行ってください。

⑩ 組換え動物に導入したDNAあるいは接種した組換え体について記録を取り、保存しておく必要があります。

■ 非閉鎖系の実験区域及び飼育施設

非閉鎖系実験を実施する区画は、実験目的、動物の特性、実験の規模、実験実施場所の環境等を総合的に勘案し、必要と考えられる飼育室、畜舎等とする必要があります。非閉鎖系実験を実施する際には、実験室又は閉鎖系の動物飼育施設における実験を経て、以下に掲げる事項を考慮することにより実験の安全度評価を行うとともに、安全度評価に応じた適切な措置を講じることが必要です。考慮事項に掲げる項目の多くは、過去の知見及び閉鎖系実験区画における組換え体作出の段階で必然的に収集されるデータから判断できるものですが、有害物質産生性については、導入遺伝子の性質から必要と判断された組換え体について、個別に試験を行ってください。これらの項目についての知見や試験結果、考察については、実験計画書の該当欄に可能な限り記入してください(過去の知見の蓄積がない項目についても、その旨記入してください)。

<動物を用いる実験の安全度評価に当たっての考慮事項>

I 組換え動物の特性

1. 組換え動物の由来
 - (1) 組換え動物の作出方法
 - (2) 使用する動物又は当該動物の属する生物種
 - 1) 分類学上の位置
 - 2) 自然界における分布及び利用等人間との接触の歴史
 - 3) 生殖・繁殖様式及び特記すべき遺伝的特性
 - 4) 当該動物の属する生物種における有害物質産生の有無
 - 5) その他の特性
 - (3) 導入した組換えDNA分子
 - 1) 供与DNA(由来、種類、機能、大きさ、純化の程度及び構成)
 - 2) ベクター(由来、構造及び特性)
 - 3) 組換えDNA分子の構成
2. これまでの実験で得られた知見
 - (1) これまでの実験経過
 - (2) 組換え動物の特性(組換え動物と元の動物との相違)
 - 1) 供与DNAの発現
 - ア) 発現形質
 - イ) 発現の安定性(mRNA、蛋白レベルでの発現の確認)
 - ウ) 供与DNAの存在状態(ゲノム中での存在とコピー数の確認)
 - エ) 有害物質産生の有無
 - a. 動物体内に蓄積する物質
 - b. 動物の排泄物として体外に出される物質
 - 2) 生殖・繁殖様式及び特記すべき遺伝的特性
 - 3) その他の特性

II 実験の規模及び実験実施予定場所の環境

1. 実験の内容
2. 使用する組換え動物
 - (1) 飼養規模
 - (2) 飼養方法
3. 使用する施設等
 - (1) 位置
 - (2) 規模、構造、設備
 - (3) 周辺環境
 - (4) 周辺との隔離状態

III 安全確保のための措置

1. 動物の逃亡防止のための措置と排泄物の不活性化のための措置
2. 実験終了後の組換え動物、廃棄物等の処理
 - (1) 方法
 - (2) 有効性
3. 関係者以外の者の立ち入り防止措置
4. その他

組換え動物の飼育管理を行うための非閉鎖系実験室の設計や実験実施時の措置について、飼育室を例とした閉鎖系区画との比較を下表に示します。

表 動物を用いる実験に関する閉鎖系及び非閉鎖系における飼育管理の取扱い

		閉鎖系の飼育室	非閉鎖系の飼育室
構造	出入口	組換え動物の習性に応じた逃亡防止設備を設ける。前室を設置する。扉は出入りを除いて閉じておく。オートクレーブを備えることが望ましい。	組換え動物の習性に応じた逃亡防止措置を講じる。前室を設置すること。扉は、出入りを除いて閉じておく。オートクレーブを備えることが望ましい。
	窓	組換え動物の習性に応じた逃亡防止設備を設ける。窓は開けないこととし、外部から開かないように施錠する。	組換え動物の習性に応じた逃亡防止措置を講じる。必要に応じて、動物に接種した組換え体を伝播する可能性がある媒介昆虫等の侵入を阻止する対策を講じる。
	床	コンクリート敷とし、排水、排泄物等が外部に漏洩しないようにする。	同左
	排水口	組換え動物の習性に応じた逃亡防止設備を設ける。排水は外部に直接流出しないよう貯留・処理できる構造とする。	組換え動物の習性に応じた逃亡防止措置を講じる。排水は外部に直接流出しないよう貯留・処理できる構造とする。
	給排気口	組換え動物の習性に応じた逃亡防止設備を設ける。排気は、組換え動物作出時に適用した物理的封じ込めの基準に応じて、必要に応じてHEPAフィルター等を通じて行う。	組換え動物の習性に応じた逃亡防止措置を講じる。
個体識別等		可能な限り個体識別を行う。個々の識別が困難な場合には、飼育容器毎に管理する。	実験の目的に沿った必要最小限の個体数とし、可能な限り個体識別を行う。個々の識別が困難な場合には、飼育容器毎に管理する。
昆虫・げっ歯類等の対策		昆虫・げっ歯類等の侵入を防ぐ設備を設ける。	昆虫・げっ歯類の駆除を励行する。必要に応じて、媒介昆虫等の侵入を阻止する措置を講じる。
実験区画の表示		「組換え動物実験中」を表示する。	同左。
廃棄物の処理		消毒又は焼却等の処理を行う。	必要に応じ消毒又は焼却等の処理を行う。

非閉鎖系区画における実験の実施に当たり、このほかに留意すべき点は、以下のとおりです。

- ① 実験に用いる組換え植物の個体数は、実験目的に沿った必要最小限のものとする。
- ② 必要に応じて実験区域専用の実験着及び履物を用意し、実験従事者を通じた区域外への廃棄物等を持ち出しに注意する。

■ 実験に用いる動物の種類に応じた留意事項

ア) マウス、ラット

- ・ 組換え動物として最も多く実験に用いられるマウスやラットは、小型で動作がすばやいため、実験室の出入口等には高さ40cm以上のネズミ返しを床面に垂直にして取り付けする必要があります。前室がある場合でも実験室の出入口にはやはりネズミ返しが必要です。ネズミ返しを出入口に斜めに立てかけたり、三角材のようなものを用いると、マウスがそれをかけ登ることもありうるので垂直に取り付けるようにして下さい。ネズミ返しは固定式のものもありますが、差し込み式で不要の時は取りはずせる方が便利だと考えられます。
- ・ ヒトに感染しない哺乳動物のレトロウイルスを利用したベクターは、2次感染性ウイルス粒子が生じる場合も機関承認実験ですが、動物個体間の伝染性について、十分注意を払う必要があります。

図 マウスの飼育施設の例

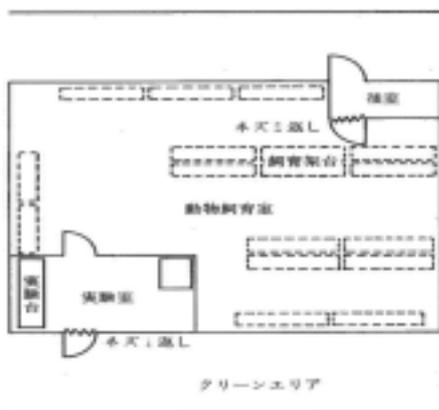


図 マウスの封じ込めチャンバーの例



図 ネズミ返し例



図 マウスの飼育室の排気口の例



イ) 魚類(メダカ、ゼブラフィッシュ等)

- ・ 飼育水の交換や移動の際に、水槽から魚(特に稚魚)や卵等が飛び出して排水口を通じて流失することのないようにする必要があります。飼育水の交換の回数を極力少なくするためのろ過器を通じた循環方式は魚の飼育の面でも有効な方法です。また、排水口がある場合には、サイズの小さい稚魚や卵等を捕捉できるメッシュの網を取り付けるか、排水口の位置を床面より高したり、飼育水や排水が直接排水口から外部に流出しないように貯留できる方式とする必要があります。
- ・ 水槽については、水槽受け容器を置くとともに、落下を防止するための措置を行う必要があります。

ウ) 昆虫(カイコ、ショウジョウバエ等)

- ・ カイコやショウジョウバエはモデル動物として、多くの動物実験に利用されていますが、カイコの核多角体病ウイルス(BmNPV)やショウジョウバエのP因子をベクターとして利用した様々な組換え体が生産されています。
- ・ カイコは運動量も少なく、容器内での飼育が容易ですが、BmNPVはバキュロウイルスに属し、カイコの体内でウイルス粒子を産生するため、他のカイコ個体への伝達性について注意する必要があります。
- ・ ショウジョウバエはきわめて小さいため、排気にはショウジョウバエを捕捉できるフィルター等を設置する他、個体が実験室内に逃亡した場合を想定して、これらを駆除するための措置(粘着トラップ等)を講じてください。なお、組換え体を生産する際は封じ込め状態のまま操作したり、観察ができ、さらには封じ込め状態のまま殺虫処理(CO₂ガス処理、熱風処理等)のできるキャビネットを用いることが望まれます。組換え体の飼育・管理についても、逃亡防止のためこのようなキャビネットの中で飼育器の交換、組換え体の分別等が行えることが望まれます。

図 循環水槽方式の例

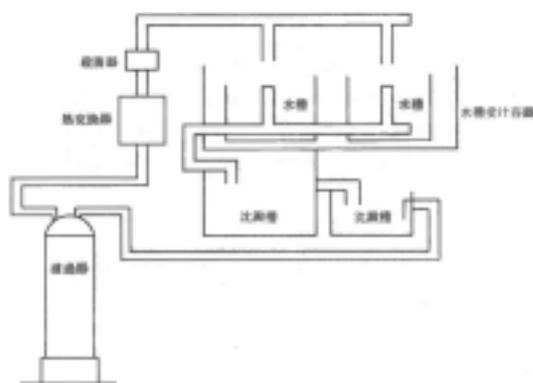


図 ニワトリ用のアイソレーター例



エ) ウシ、豚等大型動物

- ・ ウシ、豚等の大型動物の飼育管理については、実験に利用する頭数にもよりますが、大規模な封じ込めの施設が必要となります。
- ・ 各個体の識別は大型のため、比較的容易であり、柵や首部をはさむ装置等により逃亡防止を行います。
- ・ 大量の敷ワラや排泄物等を処分するオートクレーブや焼却炉が必要となります。

オ) その他

- ・ 上記の例から判断することが難しいものについては、個別に実験の安全度評価を行ってください。

■ 屋外特定区画における組換え体の取扱いについて

現状では、屋外特定区画における実験について、用いる動物の種類によって飼育管理の方法が大幅に異なると予想されるとともに、十分な知見が蓄積されていないことから、具体的な管理方法の基準を設けていません。したがって、これらに相当する実験は全て個別に安全度評価を行い、導入遺伝子や組換え体の外部環境への放出と影響をすべて排除できるように設計・実施する必要があります。具体的な実施については、機関安全委員会での十分な検討を経た後に文部科学省担当官にご相談下さい。

(2) 植物を用いる実験

■ 閉鎖系の実験室、植物培養装置及び閉鎖系温室

- ① アグロバクテリウムを用いる接種実験やエレクトロポレーション法、パーティクルガン法等により作出された組換え植物は、プロトプラスト、カルスあるいは組織の状態から個体を再生するように誘導されます。この段階のものはまだサイズが小さく、密閉された試験管やフラスコ内で培養できますが、さらに発根させ地上部を生長させた組換え植物を栽培する段階に移行すると、実験に使用する植物の種類、大きさ、継代の有無等に応じて、グロースキャビネット、人工気象装置(ファイトロン)等専用の閉鎖型の植物培養装置(以下「植物培養装置」という)、さらには閉鎖系温室の設置が必要となります。なお、実験室内にこのような植物培養装置を設置する場合には、実験区域がどこからどこまでかはっきりとわかるように措置してください。
- ② 組換え植物の栽培管理を行う上で最も重要な点は、花粉、胞子及び種子(以下「花粉等」という)の飛散防止及び外部への伝播防止に係る対策です。具体的には、実験室、植物培養装置及び閉鎖系温室の排気は、組換え体を作成したときに用いられる物理的封じ込めを考慮して花粉等を捕捉できるフィルター等を通じて行う必要があります。ただし、花粉等が飛散しないように開花前に袋掛け等の措置を講じる場合は、この限りではありません(袋掛けさえ行えば、一般の実験室内で栽培できるという意味ではありません。少なくともP1のレベルの封じ込めが確保されていることが前提となります)。
- ③ ②と同様の観点から、花粉等を伝播するおそれのある昆虫等の防除を行う必要があります。
- ④ 排水口は実験室内にはない方が望ましいのですが、排水口がある場合には、フィルター等を取り付けて、組換え植物の排水中への混入を防ぐ必要があります。また、排水が直接一般排水に流出しないように貯留・処理できる方式とする必要があります。排水については高圧滅菌処理等の適切な処理を行った上で廃棄してください。鉢上げした状態で栽培管理を行う場合には、鉢やポットの底面に受皿、トレイ等を敷いて灌水に伴う底面からの排水をこぼさないようにする工夫が必要です。
- ⑤ 組換え植物に係る廃棄物、土壌等の処理に当たっては、有効性が確認されている方法により不活化してください。これらを滅菌するためのオートクレーブや、鉢、ポット等を消毒するための薬液槽は、実験区域内に設置することが望まれます。
- ⑥ 組換え植物を作出する実験室と栽培管理を行う実験室、あるいは実験に用いる植物体、土壌、ポット等の不活化に必要な装置・設備とが離れている場合等には、その移動の間、適切な封じ込めを行う必要があります。組換え植物を実験室の外へ運搬する場合には、万一破損しても組換え植物が漏出しないような構造の容器に入れ、その表面の見やすいところに標識を付けて下さい。この場合において容器の底部から水、土壌等の内容物が漏出しないよう、容器内にトレイを敷く等の必要な措置を講じて下さい。
- ⑦ 栽培管理を行う実験室には、「組換え植物実験中」の表示を見やすい箇所に取り付けて下さい。
- ⑧ 実験従事者を通じて種子等が実験区域外へ飛散することを防止するために、実験室内では専用の実験着及び履物を着用するとともに、実験区域外へ出るときには、更衣、手洗い等を行ってください。
- ⑨ 実験区域内に関係者以外の者が許可なく立ち入らない措置を講ずる必要があります。
- ⑩ 実験に用いた組換え植物の後代を得て、それを培養する場合には第1代と同様の管理を行う必要があります。但し、異なる組換え植物どうしの交配によって、親植物にはない新たな形質が付与される場合は、より厳重な栽培管理が必要となることも考えられますので、必要に応じて別途安全度評価を行ってください。
- ⑪ 微生物及び動物を同時に実験に使用する場合には、それらの特性に応じて、実験に使用する植物を植物培養装置に入れるなど適切な措置を講じて下さい。
- ⑫ 組換え植物に導入したDNA又は接種した組換え体に関する記録を作成し、保存しておくことが必要です。

他生物への自立的移行性を持たないDNAを導入して作出した組換え植物(P31※参照)を用いる実験については、上記⑦から⑫までの規定は適用しないことができます。

また、農林水産省等国内の他の行政機関が屋外の区画で栽培して差し支えない旨の確認をした組換え植物については、当該機関が指導する区画の指定も含む栽培上の留意事項を遵守することをもって実験に用いることができることとし、この指針の規定は適用しないものとしています。なお、指定以外の区画で栽培する、あるいは同種の組換え体であっても、認可を受けたもの以外の系統を用いる場合はこれに相当しませんので、注意が必要です。

このほか、栽培施設の種類に応じて留意すべき事項は、以下のとおりです。

- ① グロースキャビネット、人工気象装置等室内の植物培養装置
 - ・ クリーンルーム等において、フラスコ等に入った組換え体と組換え体でない試料とを同時に培養する場合には培養棚を分ける等両者を区別できるようにして下さい。
- ② 閉鎖系温室
 - ・ 天窓・側窓等の窓、入口は全て閉じた状態になるので、実験実施のためには温度制御のための空調が必要となると考えられます。その際、空調の給気口から訪花昆虫が入らないような措置が必要です。内部循環方式でない場合は花粉等を補足できるフィルターを通じて排気する必要があります。内部循環方式の場合(空調を必要としない場合も含む。)は、これらの措置は不要です。
 - ・ 床はコンクリート敷とします。
 - ・ 前室を設け、そこにオートクレーブを設置することが望まれます。

- ・ 室内にない人工気象室(ファイトロン)の場合は閉鎖系温室に準じて取扱うこととなります。

図 グロースチャンバーの例



■非閉鎖系温室

実験の実施に当たっては、別紙2に掲げる事項により安全度評価を行い、これに応じた措置を講じることが必要です。実験を実施する区画は、実験目的、組換え植物の特性、実験の規模、実験実施予定場所の環境等を総合的に勘案し、必要と考えられる温室、網室等として下さい。以下に挙げる項目の多くは、過去の知見及び閉鎖系実験区画における組換え体作出の段階で必然的に収集されるデータから判断できるものですが、有害物質産生性については、導入遺伝子の性質から必要と判断された組換え体について、個別に試験を行ってください。これら項目についての知見や試験結果、考察については、実験計画書の該当欄に可能な限り記入してください(過去の知見の蓄積がない項目についても、その旨記入してください)。

<植物を用いる実験の安全度評価に当たっての考慮事項>

I 組換え植物の特性

1.組換え植物の由来

- (1) 組換え植物の作出方法
 - (2) 使用する植物又は当該植物の属する生物種
 - 1) 分類学上の位置
 - 2) 自然界における分布及び利用等人間との接触の歴史
 - 3) 生殖・繁殖様式及び遺伝的特性
 - 4) 当該植物の属する生物種における雑草の有無
 - 5) 当該植物の属する生物種における有毒物質産生の有無
 - 6) その他の特性
 - (3) 導入した組換えDNA分子
 - 1) 供与DNA(由来、種類、機能、大きさ、純化の程度及び構成)
 - 2) ベクター(由来、構成及び特性)
 - 3) 組換えDNA分子の構成
- ##### 2. これまでの実験で得られた知見
- (1) これまでの実験経過
 - (2) 組換え植物と元の植物との相違
 - 1) 供与DNAの発現
 - ア) 発現形質及びその安定性
 - イ) 発現の安定性(mRNA、蛋白レベルでの発現の確認)
 - ウ) 供与DNAの存在状態(ゲノム中での存在とコピー数の確認)
 - エ) 有毒物質及びアレロパシー物質産生の有無
 - a.植物体内に蓄積する物質
 - b.根から土壤中に放出される物質
 - c.地上部から大気中に放出される物質
 - 2) 生殖・繁殖様式及び遺伝的特性
 - 3) 有効な処分方法
 - 4) その他の特性

II 実験の規模及び実験実施予定場所の環境

1. 実験の内容
2. 使用する組換え植物
 - (1) 栽培規模
 - (2) 栽培方法
3. 使用する施設等
 - (1) 位置
 - (2) 規模、構造、設備
 - (3) 周辺の環境
 - (4) 周辺との隔離状態

III 安全確保のための措置

1. 花粉等の飛散抑制のための措置
2. 実験終了後の組換え植物、廃棄物等の処理
 - (1) 方法
 - (2) 有効性
3. 関係者以外の者の立ち入り防止措置
4. その他

組換え植物の飼育管理を行うための非閉鎖系実験室の設計や実験実施時の措置について、温室を例とした閉鎖系区画との比較を下表に示します。

表 植物を用いる実験に関する閉鎖系及び非閉鎖系における実験室の設計等について

		閉鎖系の温室	非閉鎖系の温室
構造	出入口	前室を設置する。扉は、出入りを除いて閉じておく。前室には、専用の実験着と部屋履きを備え、更衣に十分なスペースを確保する。また、手洗いのための流しとオートクレーブを備えることが望ましい。	同左。ただし、外部からの雨水の侵入等を防ぐため、地面から適切な高さより設置すること。
	窓	窓は開けないこととし、外部から開かないように施錠する。	天窓及び側窓は昆虫の侵入を防ぐメッシュを設置する。
	床	コンクリート敷とし、排水が外部に漏洩しないようにする。組換え植物を直接床面で栽培しない(ポットを用いて栽培する。)	同左。
	排水口	排水は外部に直接流出しないよう貯留・処理できる構造とする。また、栽培用ポット底面からの排水は受け皿、トレイ等で受け、直接床面に流さないようにする。排水は、高圧滅菌等の適切な方法で処置する。	同左。
	給排気口	温度コントロールを行うための空調が必要となると考えられる。内部循環方式でない場合は、フィルターを通じた給排気方式となるが、フィルターは花粉等を捕捉できるものとする。このほか、組換え植物作出時に適用した物理的封じ込めの基準を踏まえ、必要に応じてHEPAフィルター等を通じて排気を行う。	天窓・側窓と同等のメッシュを設置し、昆虫の侵入を防ぐ。
花粉等伝播防止の対策		花粉等を伝播するおそれのある昆虫等の防除を行う。	同左。
実験区画の表示		「組換え植物実験中」を表示する。	同左。
廃棄物の処理		消毒又は焼却等の処理を行う。	必要に応じて消毒又は焼却等の処理を行う。
その他			温室周囲は雑草等の管理を十分に行う。

非閉鎖系区画における実験の実施に当たり、このほかに留意すべき点は、以下のとおりです。

- ① 実験に用いる組換え植物の個体数は、実験目的に沿った必要最小限のものとする。
- ② 花粉等が飛散しやすい組換え植物については、実験の安全度評価に応じて、除雄、袋掛け、植木鉢等栽培容器の使用等により、花粉等の実験区域外への飛散を抑制する。

■ 通常温室・隔離圃場

屋外の温室またはフェンスで囲った圃場(以下「試験圃場」という)において組換え体を栽培する実験は、これまで多くの場合その目的が組換え農作物の一般栽培を目指した安全性確認であったことから、非閉鎖系区画における実験を終了した段階で農林水産省のガイドラインに移行していました。しかし今後は、大学等の研究機関においても専ら研究として行い実用化を目的としない屋外栽培が増える予想されています。

以下に、実験を行うに当たっての留意事項を示します。なお、周辺環境を含めた圃場や温室の設計・利用については、機関安全委員会での十分な検討を経た上で文部科学省担当官にご相談下さい。

- ① 実験の実施に当たっては、導入遺伝子や対象植物の特性・機能等に応じて以下の各項目のうち適切な項目について実験を行い、得られた結果について記録を作成して保存してください。
 - 1) 当該試験圃場において、当該実験植物と非形質転換体(元の植物)を用いた対照実験を行うこと。
 - 2) 当該試験圃場における当該実験植物と非形質転換体の間での自然交配の有無について検討すること。
 - 3) 当該試験圃場の土壌微生物相に対する影響、病害虫等に対する感受性の変化、他植物への影響の可能性(アレロパシ―物質の生産の可能性等)等、周辺の生態系に対する大きな影響の可能性の有無について検討すること。
- ② 実験区画についての具体的な留意事項は以下の通りです。
 - 1) 当該試験圃場の区域内に関係者以外のものが立ち入らない措置を講ずること。温室や圃場では出入口の施錠を行う。圃場のフェンスは人の出入りを遮るために適当な高さを検討し、圃場とその周辺の植物との間に接触がないよう、適当な緩衝地帯を設けること。
 - 2) 実験に使用した植物個体等及び同時に使用した微生物、動物は、必要に応じて消毒又は消却等の処理を行った後、適切な方法で廃棄すること。

4 組換え動植物等の譲渡及び実験終了後の取扱い

(1) 組換え動植物の譲渡

- ① 組換え動植物を譲渡する場合は、譲渡先において明確な使用計画があること及び適切な管理体制が整備されていることを事前に確認して下さい(指針第3章第3の規定によるものです)。
- ② 組換え動植物の譲渡を受ける実験実施機関の実験責任者は、当該組換え動植物を用いる実験について、該当する手続の区分(大臣確認実験、機関承認実験、機関届出実験のいずれか)に応じて定められた手続を行って下さい。当該組換え動植物の譲渡を受けられるのは、実験計画がそれぞれの手続において承認または受理された後になりますので注意が必要です。

(2) 組換え動植物の実験終了後の取扱い

- ① 実験終了後の組換え動物については、消毒、焼却等の処理を行い、また、組換え植物についてはオートクレーブ等による不活化し、それぞれ処分して下さい。ただし、当該実験以外の実験に用いるため当該組換え動植物を保存しようとする場合は、この限りではありません。なお、処分に当たっては、動物の保護及び管理に関する法律(昭和48年法律第105号)及び同法に基づく動物の処分方法に関する指針(平成7年7月4日総理府告示第40号)に従って実施することが必要です。
- ② ①ただし書きにあるように、当該実験以外の実験に用いるため当該組換え動植物を保存しようとする場合は、その記録を作成し、保存して下さい。
- ③ ②の手順で保存された組換え動植物を用いて新たな実験を開始する場合は、該当する手続の区分(大臣確認実験、機関承認実験、機関届出実験のいずれか)に応じて定められた手続を行って下さい。

(3) 組換え体が接種された動植物の実験終了後の取扱い

組換え体が接種された動植物の譲渡及び実験終了後の取扱いについては、指針第6章第5(「組換え体の譲渡及び実験終了後の取扱い」)の組換え体並びに指針第7章第1節(及び第2節)第3(「組換え動物(植物)等の譲渡及び実験終了後の取扱い」)の1及び2の組換え動物(植物)に準ずるものとします。ただし、組換え体を接種された動植物のうち、当該組換え体が残存していないことが明らかな個体については、通常の動植物として扱うことができます(アグロバクテリウムのように感染に伴って宿主に組換えが起こるものはその限りではありません)。

○ 第8章 教育目的組換えDNA実験

これまでの指針は、大学を始め、国や地方公共団体の研究機関、民間企業の研究所等の研究機関向けとして記述されていましたが、新指針では、高等学校等において組換えDNA実験に取り組めるように配慮した「教育目的組換えDNA実験」の枠組を新設しています。

1. 経緯とねらい

組換えDNA実験が、生物学の研究の現場で日常的に用いられる手法となったことなどを背景に、高等学校の授業等に組換えDNA実験を取り入れたいとする要望もみられるようになりました。我が国を含め世界各国で、組換えDNA技術を用いて生み出された遺伝子組換え農作物の是非をめぐる議論が展開されていますが、欧米諸国では、理科教育の場や新技術の実務研修の場において、既に組換えDNA実験が行われており、そのための教育用キットも市販されています。組換えDNA実験は、生命の仕組みを理解する上でも科学技術と社会とのつながりを理解する上でも大変有効な教材と考えられます。

一方、これまでの指針は、比較的高度な研究を行う機関を対象として策定されており、新しい知見を得るために他の機関とは異なる材料を使用したり、独特の操作方法を試みたりする場合がありますが通例であるため、これらの機関において、専門的知見を有した者からなる「安全委員会」を機関内に組織し、その機関内で行われる実験計画の安全確保の妥当性を審査すること、内部規則を定めること、安全主任者を任命すること、教育訓練及び健康管理に努めること等の安全確保のための各種措置を講ずることが求められていました。このため、高等学校等において、指針に基づいて組換えDNA実験に取り組むことは実質上困難となりました。

このようなことを踏まえ、新たな指針の策定に合わせ、高等学校の授業等においても、初歩的な組換えDNA実験が行えるように配慮した枠組みを新たに設けることとなりました。

今後、この枠組みを活用して、理科教育の場において、組換えDNA技術についての正しい理解が得られ、このような先端技術が社会に対してどのような貢献ができるのか、また、どのような影響を及ぼすのかという大切な問題について考えるきっかけとなることが期待されています。

2. 教育目的組換えDNA実験の実施要件

指針においては、教育目的組換えDNA実験以外の組換えDNA実験を行う場合、実験実施機関において、安全委員会の設置や安全主任者の任命、内部規則の制定、実験開始に当たっての文部科学大臣への連絡、教育訓練や健康管理、譲渡の際の手続き等の安全確保のために各種措置が求められています。一方、教育目的組換えDNA実験のみを行う高等学校等においては、これらの措置にかかる規定は一切適用されず、指針第8章にある実験の指導と方法に係る規定のみ適用されます。以下に、これらの規定で定められている事項について説明します。

(1) 実験指導者の要件及び責務

指針においては、教育目的組換えDNA実験を行う場合、教育目的組換え実験指導者(理科教員など)の要件として、以下の2点が求められています。このうち、②については、大学在学中に生物学系の研究をしていて実験を実施している、あるいは、大学や教員研修機関等が開催しているセミナーに参加して実験を実施しているなどの経験がこれに該当します。

<実験指導者の要件>

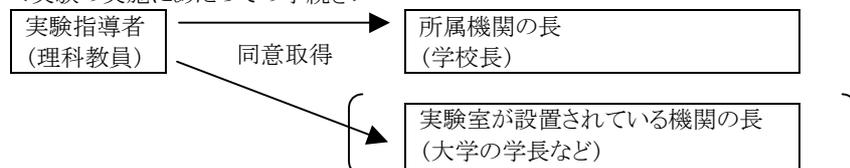
- ① 指針に示される実験の安全確保に関する考え方を理解すること
- ② 組換えDNA実験の実施経験を有すること

また、実験指導者の責務として、以下の4点が求められています。このうち、①については、実験を実施する教育機関においては、機関として責任をもって実験を実施することが求められているものです。実験室が設置されている機関の長の同意取得は、近隣の大学など所属機関以外の実験室で実験を行おうとする場合に必要となるものです。

<実験指導者の責務>

- ① 実験の実施について、あらかじめ、所属する機関の長及び当該実験に指導する実験室が設置されている機関の長の同意を得ること
- ② 実験従事者を適切に指導するとともに、実験全体の管理及び監督に当たること
- ③ 実験従事者の名簿、実験場所、実験日時、実験材料(宿主-ベクター系及び供与DNA)並びに組換え体の廃棄の方法を記載した記録を作成し、保存すること
- ④ 実験材料が指針別表7に掲げるものであることを実験実施前に確認すること

<実験の実施にあたっての手続き>



(2) 実験の内容

教育目的組換えDNA実験で実施できる実験の内容は、特定の培養条件下でしか生存できない大腸菌にクラゲの発光(蛍光)蛋白質遺伝子を入れる実験など、同様の実験が国内外で数多く行われ、安全管理も容易であることが経験的に知られているものに限定されています。また、これらの実験は、安全性が高だけでなく、その目的に配慮して、実験の結果が目で見えて容易に把握できるものが選ばれています。使用できる宿主-ベクター系及び供与DNAは、以下のとおりです(指針別表7)。

<使用できる宿主-ベクター系及び供与DNA>

- 1 宿主-ベクター系
指針別表1に定めるB1、B2レベルの認定宿主-ベクター系(大腸菌や酵母、昆虫の細胞など)
- 2 供与DNA
 - (1)発色・発光に関する蛋白質をコードする遺伝子
amylase、galactosidase、glucosidase、GFP、luciferase 等
 - (2)抗生物質耐性をコードする遺伝子
ampicillin、kanamycin、tetracycline 等

(3) 実験の方法

実験の実施に当たっての具体的な留意事項は、以下の実験実施規定のとおりです(指針附属資料4)。

<実験実施規定>

- 1 実験室の設計
初等中等教育機関の通常の理科実験室と同程度の設備を備えていること
- 2 実験実施要項
 - ・実験中は、実験室の窓及び扉は閉じておくこと
 - ・組換え体を取扱い後又は実験室を出るときは、手を洗うこと
 - ・実験終了後は煮沸又は消毒液の投入等の措置により、組換え体を滅菌すること
 - ・組換え体の付着した器具等は、消毒又は滅菌すること等

○ 実験実施手続

実験実施手続については、指針のほか、「組換えDNA実験指針の改訂について」(平成14年1月31日付け文部科学省研究振興局長通知)に関する記載がありますので、参照して下さい。以下に、これらの指針等に記載されている事項について説明します。

1. 実験実施機関において、初めて実験を実施する又は再開する場合の手続(指針第5章第3の3)

実験実施機関の長は、当該機関において初めて組換えDNA実験を実施する場合及び相当期間休止した後に組換えDNA実験を再開する場合には、その旨を文部科学大臣に連絡することとされています。ここで言う「相当期間休止した」とは、文部科学省において、実験実施機関として認識していない状況となることを想定しています。具体的には、文部科学省において毎年実施している実験実施状況調査票が届いていない場合には、実験を再開するときに文部科学大臣に連絡することと解して下さい。以下に、連絡する際の様式の例を示します。

(様式の例)

組 換 え D N A 実 験 開 始(再 開)届

平成 年 月 日

文 部 科 学 大 臣 殿

実験実施機関	所在地	(〒)
	名称	
	代表者職・氏名	(職 印)

組換えDNA実験に開始(再開)に当たり、下記のとおり届け出ます。

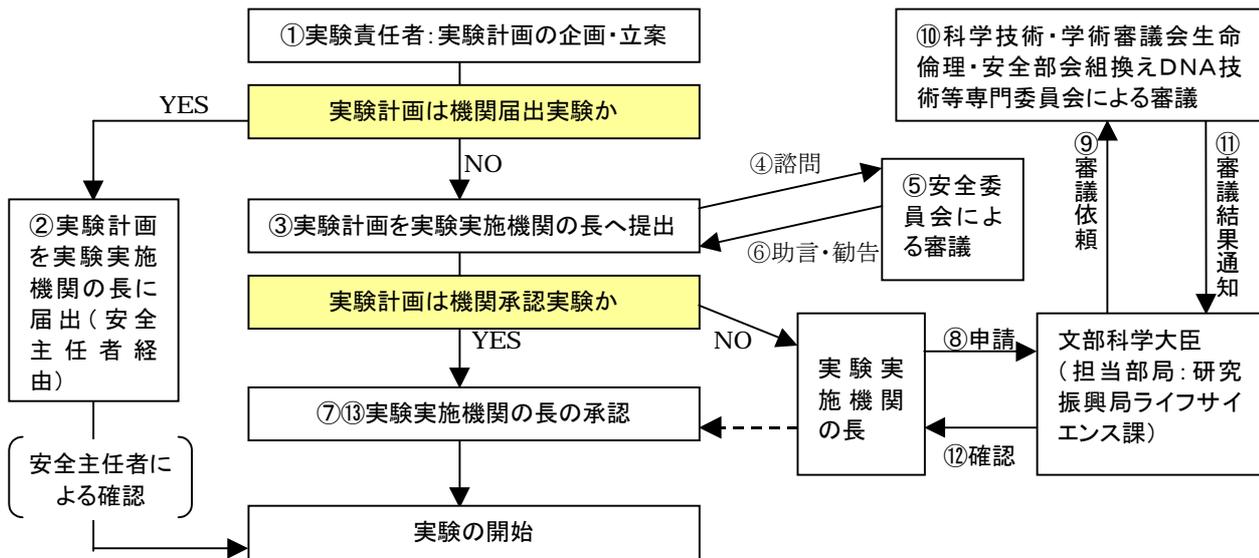
記

内部規則の名称・制定年月日・最終改正年月日	
安全委員会の名称及び人数	
安全委員会委員長の所属・職・氏名	
安全主任者の所属・職・氏名	
組換えDNA実験に関する事務担当者の所属・職・氏名	
組換えDNA実験に関する事務担当者の連絡先	電 話:() F A X:() E-mail :

2. 実験を実施する場合(開始及び変更)の手続(指針第1章第4、第5章第2～5)

(1) 実験実施手続フロー

実験の実施に当たっての手続は、指針第1章第4にあるように、実験の安全度そのもの及びこれに関する知見の集積度に応じて、①実験計画について、文部科学大臣の確認とこれに基づく実験実施機関の長の承認を得る「大臣確認実験」、②実験計画について実験実施機関の長の承認を得る「機関承認実験」、③実験計画について実験実施機関の長に事前に届け出る「機関届出実験」の3つに区分されます。これらの3区分における実験実施に当たっての手続のフローは以下のとおりです。



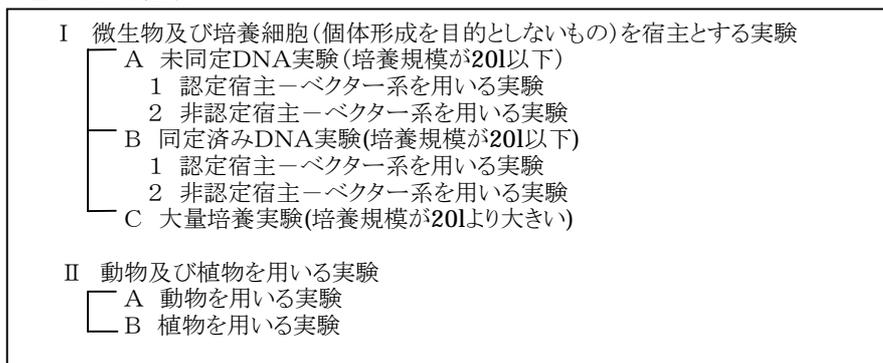
<実験実施手順フローの説明>

- ① まず、実験実施手順の区分にかかわらず、実験責任者がどのような実験を実施するかを実験計画書にまとめます。
- ② 実験計画が機関届出実験の場合には、実験責任者は実験計画を実験実施機関の長に届け出ます。実験実施機関の長がこの届出を受理することで、実験責任者は実験を開始することができます。なお、実験計画の実験実施機関の長への届出は、安全主任者を通じて行うこととされていますが、これは、実験実施機関の長を補佐する立場にある安全主任者が、実験計画の指針への適合性を確認するためです。
- ③ 実験計画が機関届出実験ではない場合には、実験責任者は実験計画を実験実施機関の長に提出します。
- ④ 実験実施機関の長は、③により提出された実験計画の指針への適合性について安全委員会で審議するよう諮問します。
- ⑤ 安全委員会では、実験計画の指針への適合性（機関承認実験か大臣確認実験か、物理的封じ込めレベルが適切かどうか等）について審議します。
- ⑥ 安全委員会では、⑤の審議を経て、実験実施機関の長へ助言又は必要があれば勧告を行います。
- ⑦ 実験計画が機関承認実験の場合には、試験研究機関の長の承認を経て、実験責任者は実験を開始することができます。
- ⑧ 実験計画が機関承認実験ではない（＝大臣確認実験）場合には、実験実施機関の長は、文部科学大臣に対して実験計画の確認を求める申請を行います。
- ⑨ 文部科学省では、⑧により申請のあった実験計画を科学技術・学術審議会生命倫理・安全部会組換えDNA技術等専門委員会（以下、「専門委員会」と言う。）に審議を依頼します。
- ⑩ 専門委員会では、幅広い分野の専門家により、実験計画について、実験を実施しても差し支えないかどうか、実験の実施にあたっての留意すべき事項は何かなどについて審議が行われます。
- ⑪ 専門委員会では、⑩の審議を経て、文部科学省に審議結果を通知します。
- ⑫ 文部科学省では、⑪の審議結果を踏まえ、⑧により申請のあった実験計画について、実施しても差し支えないかどうか等について文部科学大臣が確認を行い、それが実験実施機関の長に連絡されます。
- ⑬ 実験実施機関の長は、⑫の文部科学大臣の確認に基づいて、実験計画の承認を行います。この承認をもって実験責任者は実験を開始することができます。

(2) 実験実施手順の各区分に該当する実験の概要

指針においては、実験（教育目的組換えDNA実験を除く）を以下のように分類し、それぞれについて手順の区分を整理しています。

図 実験の種類



① 大臣確認実験

大臣確認実験には、特にリスクの高い実験及び安全度評価に当たり知見が十分でない実験が該当します。具体的には、以下のとおりです。なお、詳細については、指針本体及び指針に添付されている表を参照して下さい。

ア) P4レベルの物理的封じ込めが必要なウイルス等をベクター又はDNA供与体とする実験

イ) 組換え体の自然界への散布や非閉鎖系区画等で組換え動植物又は組換え体を接種された動植物の飼育ないし栽培管理を行う実験(大量培養実験は該当なし)

ウ) 微生物及び培養細胞を宿主とする実験のうち未同定DNA実験(上図 I のA)では、

a) 認定宿主-ベクター系を用いる実験(上図 I のAの1)については、

i) 新たに病原性が見出された微生物等をDNA供与体とする実験(同一実験実施機関において既に大臣確認を受け、かつ、安全性が評価された微生物を用いる実験であって、安全性の評価に影響が及ぶおそれのないものは除く)

ii) 脊椎動物に対するLD50が $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重以下の蛋白性毒素産生能を有する遺伝子を用いる実験(宿主-ベクター系にEK1又はEK2を用いる場合であって、LD50が $100\text{ng}/\text{kg}$ 体重より大きい実験は除く)

b) 非認定宿主-ベクター系を用いる実験(上図 I のAの2)については、別表5に掲げる宿主-ベクター系及びDNA供与体を用いる実験を除くすべて

エ) 微生物及び培養細胞を宿主とする実験のうち同定済みDNA実験(上図 I のB)では、

i) 新たに病原性が見出された微生物等から提供されるDNAのうち病原性に係るものを供与DNAとする実験(同一実験実施機関において既に大臣確認を受け、かつ、安全性が評価された微生物を用いる実験であって、安全性の評価に影響が及ぶおそれのないものは除く)

ii) 脊椎動物に対するLD50が $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重以下の蛋白性毒素産生能を有する遺伝子を用いる実験(宿主-ベクター系にEK1又はEK2を用いる場合であってLD50が $100\text{ng}/\text{kg}$ 体重より大きい実験は除く)

さらに非認定宿主-ベクター系を用いる実験(上図 I のBの2)については、

iii) 2次感染性ウイルス粒子(別表6に掲げるウイルスを除く)が生じる蓋然性が高い実験

iv) P2又はP3レベルの物理的封じ込めが必要な微生物を宿主とし、薬剤耐性遺伝子を導入することによりヒトに感染した場合において治療することが困難となる性質を付与する実験

v) 新たに病原性が見出された微生物等を宿主とする実験(同一実験実施機関において既に大臣確認を受け、かつ、安全性が評価された微生物を用いる実験であって、安全性の評価に影響が及ぶおそれのないものは除く)

vi) 毒素、サイトカイン、ペプチドホルモン又は既知のアレルゲンの発現その他の事由により宿主の安全性の評価に影響が及ぶ蓋然性が高い実験

オ) 大量培養実験(上記の I のC)では、

i) 未同定DNA実験

ii) 同定済みDNA実験のうち、認定宿主-ベクター系を用いた実験については、20l以下の培養規模で実施した場合に大臣確認実験となるもの及びP3以上の物理的封じ込めが必要なもの、認定宿主-ベクター系以外の宿主-ベクター系を用いる実験については、別表5に掲げる宿主-ベクター系及びDNA供与体を用いて得た組換え体以外の組換え体を用いる実験

iii) LS-Cレベル等での封じ込めの方法による実験

カ) 動物及び植物を用いる実験(上記の II)では、

i) 未同定DNA実験

ii) 大臣確認実験により作製された組換え体を動植物に接種する実験

さらに動物を用いる実験(上記の II のA)については、

iv) ヒトのみに病原性がある微生物又はウイルス等に対するヒトと共通の感染受容体を動物に付与する実験

v) 霊長類を用いる実験

② 機関承認実験

機関承認実験は、大臣確認実験にも機関届出実験にも該当しないものがこれに該当します。現在行われている実験のほとんどは、機関承認実験に位置付けられると想定されます。

③ 機関届出実験

機関届出実験は、特に安全性が高い実験がこれに該当します。具体的には、以下の2点です。

ア) 微生物及び培養細胞を宿主とする実験のうち培養規模が20l以下の認定宿主-ベクター系を用いる実験(上記 I (のA又はB)の1)で、別表2の(1)又は別表4の(1)に掲げる微生物、別表3の(1)に掲げるウイルス等、植物、つまりP1レベルの物理的封じ込めが必要なものをDNA供与体とする実験

イ) 動物及び植物を用いる実験(IIのA又はB)で、他生物への自立的移行性を持たないDNAを導入して作出した組換え動植物系統のうち、当該DNAに係る形質が安定しており、かつ、人に対する安全性の保持に影響を及ぼすことがない系統(実験実施機関の長が、安全委員会による検討を経て、当該系統に該当する旨を認定した系統)を用いる実験

(3) 大臣確認実験の申請手続(指針第5章第2の3、第3の6ほか)

① 確認申請

大臣確認実験については、実験責任者は実験計画を実験実施機関の長に提出し、提出を受けた実験実施機関の長は、当該実験計画について、安全委員会の審査を経て文部科学大臣の確認を求めるとともに、当該確認に基づいて承認を与え、又は与えないこととされています。文部科学大臣の確認を申請する場合には、以下の資料を提出して下さい。なお、実験計画に係る様式は、「組換え DNA 実験指針の改訂について」(平成14年1月31日付け文部科学省研究振興局長通知)において示されたものであり、文部科学省のホームページからダウンロードできます。

- ・ 組換えDNA実験確認申請書(様式1) 1部
- ・ 組換えDNA実験計画書(様式2-1又は様式2-2) 2部

なお、実験計画書の作成に当たっては、各様式の注書きに加え、以下の点に留意して下さい。

ア A4版で作成して下さい。

イ 実験計画書を作成したら、正式な申請の前に、文部科学省の担当官(研究振興局ライフサイエンス課)にFAXまたはE-mailにより連絡し、必要な情報が適切に記載されているかどうか等についての事前チェックを受け、チェック終了の連絡を受けた後に、正式な申請書を作成して文部科学省に送付して下さい。このような事前チェックは、専門委員会での円滑な審議のために必要なもので、これを受けないと審議の遅延につながりかねません。

ウ 実験実施期間は5年を限度とします。さらに、実験を継続する場合は、改めて実験開始時と同じ手続により確認申請を行って下さい。

エ 実験計画書には、専門委員会での円滑な審議のため、実験のフローチャートを添付して下さい。

② 現地調査

初めて実験が行われる大量培養実験に係る区画、非閉鎖系区画又は屋外特定区画その他屋外の区画については、専門委員会における審議に先立ち文部科学省の担当官による現地調査を行い、専門委員会において、その結果が報告されます。したがって、このようなケースに該当するときには、文部科学省の担当官と日程調整等を行います。

③ 専門委員会における審議及び文部科学大臣による確認

提出した申請書は、組換えDNA技術等専門委員会において実施しても差し支えないとの結論が得られた場合には、審議結果を踏まえた文部科学大臣の確認文書を送付します。この確認文書が届いてから、実験を開始するようにして下さい。なお、申請時期や申請内容によりますが、最初に文部科学省の担当官に連絡してから、平均して2ヶ月程度の期間を要しますので、これを考慮の上、時間的余裕をもって申請して下さい。

(4) 機関承認実験の申請手続等(指針第5章第2の3、4、第3の7ほか)

機関承認実験については、実験責任者は実験計画を実験実施機関の長に提出し、提出を受けた実験実施機関の長は、当該実験計画について安全委員会の審査を経て承認を与え、又は与えないこととされています。その際の実験計画等の書類については、原則として、大臣確認実験に係る実験計画書の様式に示される内容を含むものとして下さい。なお、機関届出実験における実験計画等の書類についても、同様にして下さい。

(5) 実験計画変更手続(指針第5章第2の3、4ほか)

実験計画を変更する場合には、原則として実験開始時と同じ手続を行うこととされています。大臣確認実験においては、主な審議対象となる変更事項を明確にするため、当該部分に下線を付して下さい。

また、大臣確認実験においては、「軽微な変更」の場合には、手続を簡略化することとされています。「軽微な変更」は、例えば、以下のようなものをいいますが、これに該当するか否かの具体的認定は、実験実施機関の長が行うこととしています。なお、「軽微な変更」を行うときには、実験実施機関において当該変更に係る記録を作成し、保存して下さい。

<軽微な変更の例>

- ・ 使用する装置、機器等の変更であってその能力の低下を伴わないもの
- ・ 実験従事者の一部変更
- ・ 実験開始から5年以内の実験実施期間の変更
- ・ 宿主-ベクター系、供与DNAの変更であって大臣確認を受けたときの安全度評価をそのまま適用できるもの

3. 大量培養実験における手続(指針第5章第3の5)

大量培養実験については、指針第5章第3の5にあるように、実験実施機関の長は、実験計画を承認した日から5年間は、以下の資料を保存するとともに、文部科学大臣の求めに応じこれらの資料を提供することとされています。

- ・ 大量培養実験がこの指針に適合していることの根拠となった資料
(実験の申請書類、文部科学大臣の確認文書、機関の長の承認文書等)
- ・ 安全委員会の審議記録
(実験計画の審議を行った、及び結果報告を受けた安全委員会のもの)
- ・ 実験設備、実験方法、実験結果等に関する事項のうち安全の確保に関する資料
(実験計画及びその添付資料(大量培養施設的设计図、DNA供与体、宿主-ベクター系の安全性に関する資料等)、結果報告のうちの一部)

4. 実験結果報告等の手続

実験結果報告は、これまでの指針では関係する規定がありましたが、新指針においては、組換えDNA技術等専門委員会が、

知見の蓄積等に有用と判断した実験計画についてのみ、文部科学大臣の確認文書にその旨が示され、報告が求められます。報告の時期は、これも確認文書に示されますが、ほとんどの実験は、確認がなされた日(確認文書の日付)から5年を超えない期間または実験終了後とされます。実験結果報告を行う場合には、以下の資料を提出して下さい。なお、結果報告の様式は、「組換えDNA実験指針の改訂について」(平成14年1月31日付け文部科学省研究振興局長通知)において示されたものであり、文部科学省のホームページからダウンロードできます。

- | | |
|-----------------------------|----|
| ・ <u>組換えDNA実験結果提出書(様式3)</u> | 1部 |
| ・ <u>組換えDNA実験結果報告書(様式4)</u> | 1部 |

なお、結果報告書(様式4)の作製に当たっては、様式において記載されている注書きに留意して下さい。特に、文部科学大臣の確認文書に報告事項が具体的に記載されている場合には、その報告事項に係る結果を記載することとされているので、注意して下さい。

5. 旧指針に基づいて手続が行われた実験の手続

(1) 新指針施行に伴う手続

旧指針(旧内閣総理大臣決定又は文部省告示)に基づいて手続を経て実施している実験については、新指針において一部の実験について実験手続区分が変更されておりますが、そのまま実験を継続して差し支えないこととされています。

(2) 実験結果報告等の手続

旧指針(内閣総理大臣決定)に基づいて手続を経て、実施している実験のうち基準外実験については、実験開始(旧科学技術庁あるいは文部科学省からの通知の翌日)から3年を経過した時点まで(3年を経過した時点または実験終了後)に、実験結果報告を行って下さい。結果報告を行う場合には、3の(1)に示しているものと同じ資料を提出して下さい。ただし、結果報告書(様式4)のうち、記載する必要のない事項等がありますので、注書きに留意して下さい。

また、この結果報告を行ったあとで、さらに実験を継続する場合には、新規の実験計画と同じ手続により確認申請を行って下さい。ただし、新規の実験計画の場合には、文部科学大臣の確認がなされてから実験を開始するようにしていますが、このような継続の場合には、原則として(安全度評価に影響を与える新たな科学的知見が得られている場合を除く)、実験を一度中止することなく、実施しても差し支えありません。なお、申請に当たっては、実験計画書(様式2-1又は様式2-2)の「申請の種類」の欄は、「継続」をチェックします(実験内容の変更を伴う場合には、「変更」もチェックします)。このような継続(及び変更)の手続は、旧文部省告示に基づいて手続を経て、実施している実験についても、実験実施期間が3年を越える場合がある点は異なりますが、原則として同様に行って下さい。

なお、新指針において実験手続区分が変更され、大臣確認実験に当たらなくなった実験計画については、継続、変更とも再度の確認申請は不要であり、機関承認実験等としての手続を行って下さい。逆に、新たに、大臣確認実験に当たるようになった実験計画については、各実験実施機関内において必要に応じて実験結果報告等の手続を行った上で、新規の実験計画として確認申請を行って下さい。このような継続の場合には、原則として、実験を一次中止して下さい(実験実施期間が終了する前に、別の実験として確認申請を行うような場合には、必ずしも実験を一次中止する必要はありません)。

6. その他の手続(指針第5章第2の5、第3の10)

実験の開始や変更、結果報告といった手続のほか、指針においては、実験の安全確保の考え方に影響を及ぼす知見が得られた場合又は実験中若しくは輸送中の事故等があった場合には、実験責任者は、直ちに実験実施機関の長、安全委員会及び安全主任者に報告し、報告を受けた実験実施機関の長は、以下の2点の措置を講じることとされています。

- ① 安全委員会及び安全主任者と連携して、その状況、経過等について調査を行い、必要な処置、改善策等について指示を行う。
- ② 実験の安全確保の考え方に影響を及ぼす知見が得られた旨の報告又は外部の環境等に影響を及ぼすおそれのある事故の報告があった場合には、直ちにその旨を文部科学大臣に報告する。