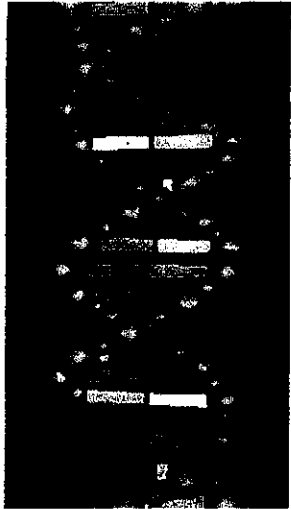


## 理科教員のための遺伝子組換え実験教育研修会



\*\*\*遺伝子組換え実験関連法規について\*\*\*

東京農工大学遺伝子実験施設

明治大学農学部農芸化学科

中島春紫

## 遺伝子組換え実験に関する指針と法律

- 1970年代前半 組換えDNA技術の開発
- 1975年 アシロマ会議(米国)  
(組換えDNA技術の安全性を議論するための国際会議として開かれ、生物学的封じ込め、物理的封じ込め等の安全性確保に関する概念が登場)
- 1976年 米国NIHが研究指針を策定
- 1979年 日本で研究指針を策定  
(組換えDNA実験指針：文部省・科学技術庁・厚生省・通産省・農水省)
- 2000年 「バイオセーフティーに関するカルタヘナ議定書」  
(遺伝子組換え生物等の安全な取扱いについて定めた) も!
- 2002年 省庁再編に伴い組換えDNA実験指針を統一改訂  
(文部省+科学技術庁→文部科学省、教育目的組換えDNAの枠組み)
- 2003年 カルタヘナ法成立・公布、議定書締結  
(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)
- 2004年 2月 カルタヘナ議定書日本で発効 ← 11月18日付  
(組換えDNA指針廃止、カルタヘナ法発効)

◆ 規制緩和により、2002年から初等中等教育機関における遺伝子組換え実験ができるようになっている。

## カルタヘナ法

「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」

【法律】平成15年6月18日公布

・目的、定義、規制の枠組み、命令、罰則等

【政令】

・各措置に係る主務大臣の分担の考え方  
・生物検査の手数料

【省令】

・定義の詳細、第二種使用の措置、承認・確認の適用除外  
情報提供、輸出  
・第一種使用等に関する事項  
・第二種使用の拡散防止措置(文科省・環境省)  
・第二種使用の拡散防止措置(財・厚・農・経・環 共同)

【告示】<努力義務・指針と同様の扱い>

・基本的事項(施策の実施、使用者が配慮すべき事項等)  
・第一種使用等による生物多様性影響評価実施要領  
・認定宿主ベクター系リスト、実験分類ごとの生物リスト  
・GILSP取扱い遺伝子組換え生物等のリスト

## カルタヘナ法における生物の定義

【法律・政令】

第二条 この法律において「生物」とは、一の細胞又は細胞群であって核酸を移転し又は複製する能力を有するものとして主務省令で定めるもの、ウイルス又はウイロイドをいう。

【省令・告示】

第一条 「法」第二条第一項の主務省令で定める一の細胞又は細胞群は、次に掲げるもの以外とする。

- 一 ヒトの細胞等
- 二 分化する能力を有する、又は分化した細胞等(個体及び配偶子を除く。)であって、自然条件において個体に成育しないもの。

◆生物である◆ 動植物の個体 動植物の配偶子 動物の胚 種イモ・挿し木 ウイルス・ウイロイド

◆生物でない◆ ヒトの個体・配偶子・胚・培養細胞  
動植物培養細胞 動物の組織・臓器  
切りキャベツ・種なし果実

## 「遺伝子組換え生物(LMO)」の定義

### 【法律・政令】

この法律において「遺伝子組換え生物等」とは、次に掲げる技術の利用により得られた核酸又はその複製物を有する生物をいう。

- 一 細胞外において核酸を加工する技術であって主務省令で定めるもの
- 二 異なる分類上の科に属する生物の細胞を融合する技術であって主務省令で定めるもの

### 【省令・告示】

主務省令で定める技術は、細胞、ウイルス又はウイロイドに核酸を移入して当該核酸を移転させ、又は複製させることを目的として細胞外において核酸を加工する技術であって、次に掲げるもの以外のものとする

- 一 細胞に移入する核酸として、次に掲げるもののみを用いて加工する技術

イ 当該細胞が由来する生物と同一の分類学上の種に属する生物の核酸  
ロ 自然条件において当該細胞が由来する生物の属する分類学上の種との間で核酸を交換する種に属する生物の核酸

- ◆ 同一種のDNAは除外（セルフクローニング）
- ◆ 自然に起こる核酸の交換は除外（ナチュラルオカレンス）
- ◆ 交配等従来から用いられているものは除外

## 第一種使用等と第二種使用等

### 第一種使用等【法第2条第5項】

遺伝子組換え生物等の環境中への拡散を防止しないで行う使用等

- ◆ 圃場での栽培
- ◆ 飼料としての利用
- ◆ 製油、納豆などの食品加工場での利用
- ◆ 容器を用いない運搬
- ◆ 野積み

等

### 第二種使用等【法第2条第6項、規則第4条】

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であって、次の措置を執って行うもの

- (1) 拡散防止措置を有する実験室等を用いること
  - (2) 当該施設等を用いる使用等のために運搬に供する密閉容器等を用いること
- ◆ 実験室を用いる使用等
  - ◆ 培養・発酵設備を用いる使用等
  - ◆ 網室、飼育区画を用いる使用等
  - ◆ 密閉容器を用いる運搬

15文科探第946号 平成16年2月18日

## 文部科学省通達

各都道府県教育委員会教育長  
各都道府県知事  
附属学校を置く各国立大学長  
国立久米大学校長 兼  
文部科学省研究振興局長 石川 明

高等学校等において教育目的で行われる遺伝子組換え実験の「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」における取扱いについて

文部科学省においては、従来より「組換えDNA実験指針」（平成14年文部科学省告示第5号。以下「指針」という。）により、遺伝子組換え実験等の安全確保を図ってきたところですが、近年の遺伝子組換え技術等の進歩と普及及び生物の多様性の重要性にかんがみ、我が国は、「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」（以下「議定書」という。）を締結することとし、議定書の的確かつ円滑な実施を確保するため、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」（平成15年法律第97号。以下「法」という。）が、昨年6月に制定、公布されました。

法は、議定書が我が国について効力を生ずる平成16年2月19日から施行されますが、文部科学省においては、法の施行に向けて、関係省と協力しつつ、法に基づく措置の内容及び手続きを定める省令及び告示を公布しました。なお、指針は法の施行に当たり、本日より廃止します。

指針においては、高等学校等においても遺伝子組換え実験に取り組みよう配慮し、安全管理の容易な実験について、一部の手続き等について簡略化を可能とする教育目的実験の枠組みが設けられていたところです。この教育目的実験についても、法に基づき所要の措置を講ずることが必要となりますが、指針と同様に、一部の手続き等については簡略化が可能となっています。

## 教育目的実験の法的取扱い(1)

### (1) 法及び法に基づく省令等における教育目的実験の取扱い

#### ① 法及び法に基づく省令等における教育目的実験の位置付け

教育目的実験は、遺伝子組換え技術に関する基礎的な理解、関心向上等を目的とするものであり、その重要性にかんがみ、指針第8章において、実験に用いる生物や細胞を限定し、その安全な実施の確保を図ってきた。

指針の枠組みで行われてきた教育目的実験は、法においては第二種使用等に該当し、その実施について特別の規定が設けられていないが、指針別表7に定められた組合せである遺伝子組換え生物等又はこれと同等に安全管理の容易なものを用いる等、安全上の観点から十分に配慮された実験として行うことが望ましいことから、各機関においてこの点についての検討をお願いします。

#### ② 執るべき拡散防止措置の内容

指針別表7に定められた組合せである遺伝子組換え生物等を用いる場合には、二種省令第4条第1号及び第5条第1号の規定により、同省令別表第2第1号に掲げるP1レベルの拡散防止措置を執ることが義務付けられる。同措置の内容と指針附属資料4に定められた実験実施規定の内容には異なる部分があるので、十分な留意が必要。

## 教育目的実験の法的取扱い(2)

### (2) 基本的事項における教育目的実験の取扱い

基本的事項第2に、遺伝子組換え生物等の使用等をする者がその行為を適正に行うために配慮しなければならない基本的な事項が規定されており、教育目的実験を実施する機関においても、配慮することが重要と考えられ、以下に掲げる事項について十分に留意の上、実験を実施されるようお願いする。

#### ① 体制の整備

<略>

教育目的実験は、安全管理が容易なものであることにかんがみ、安全委員会等の設置及び事故時における連絡体制の整備は求められるものではない。

#### ② 記録保管

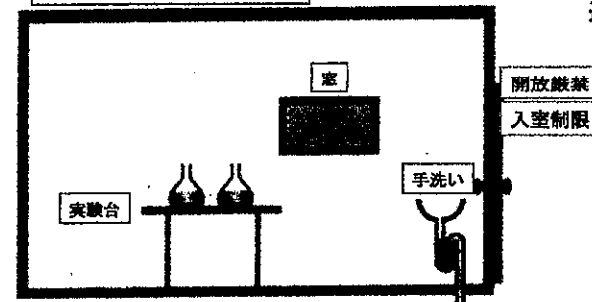
基本的事項第2の4に関し、教育目的実験の実施機関においては、安全委員会等における検討結果等についての記録、保管は求められるものではない。

### (3) その他の留意事項

教育目的実験を実施する機関においては、法に基づく拡散防止措置を執る義務の的確な実施等を確保しつつ、教育目的実験の円滑な実施に向けて、各機関の長を中心に関係者の連携が図られるよう十分な留意をお願いする。

## 物理的封じ込め(P1)

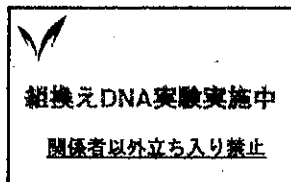
P1レベルの実験室 イメージ



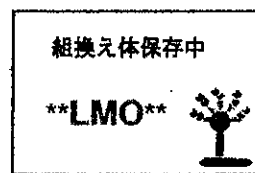
- ◆ 遺伝子組換え生物等の不活化
- ◆ 実験室の扉を閉じておく
- ◆ 実験室の窓等の閉鎖等
- ◆ エアロゾルの発生を最小限にとどめる
- ◆ 遺伝子組換え生物等の付着・感染防止のための手洗い等
- ◆ 関係者以外の入室制限

遺伝子組換え実験は、物理的封じ込めと生物的封じ込めの組み合わせにより、組換え体の拡散防止措置をとることが定められている。物理的封じ込めとは、組換え体を扱う施設の設備のこと。生物的封じ込めとは、認定宿主とベクターを用いること。

## 表示義務



実験室のドア



保存用冷蔵庫

## 生物学的封じ込め

### B1レベル (認定宿主ベクター)

- 【1】EK1: *Escherichia coli* K12株 (大腸菌) 又はこの誘導体を宿主とし、プラスミド又はバクテリオファージの核酸であって、接合等により宿主以外の細菌に伝達されないものをベクターとするもの
- 【2】SC1: *Saccharomyces cerevisiae* (パン酵母)
- 【3】BS1: *Bacillus subtilis* Marburg168株 (枯草菌)
- 【4】*Thermus*属細菌 (好熱菌)
- 【5】*Rhizobium*属細菌 (根粒菌)
- 【6】*Pseudomonas putida* (好気性の土壌細菌)
- 【7】*Streptomyces*属細菌 (放線菌)
- 【8】*Neurospora crassa* (アカパンカビ)
- 【9】*Pichia pastoris* (高分泌酵母)
- 【10】*Schizosaccharomyces pombe* (分裂酵母)
- 【11】*E. coli* B株 (大腸菌)

### B2レベル (特定認定宿主ベクター)

- 【1】EK2: *E. coli* K12株 (大腸菌) のうち、遺伝的欠陥を持つために特殊な培養条件下以外での生存率が極めて低い株
- 【2】SC2: *S. cerevisiae*のste-VC9変異株
- 【3】BS2: *B. subtilis*のASB298株

## 拡散防止に必要な物理的封じ込めレベル

- ◆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
- ◆特定認定宿主ベクター系 (B2) を用いた組換え微生物等の使用等は、1段階レベルダウンできる
- ◆供与核酸が同定済み核酸であり、かつ、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ものの使用等は、宿主の実験分類に従って定めることができる。

### 微生物の実験レベルの分類基準

- 【レベル1】ヒト又は動物に重要な疾患を起こす可能性のないもの
- 【レベル2】ヒト又は動物に病原性を有するが、実験室その他の職員等、家畜等に対し、重大な災害となる可能性の低いもの
- 【レベル3】ヒトに感染すると通常重篤な疾病を起こすが、一つの個体から他の個体への伝播の可能性は低いもの
- 【レベル4】ヒト又は動物に重篤な疾病を起こし、かつ、罹患者から他の個体への伝播が直接又は間接に起こり得るもの。有効な治療及び予防法が通常得られないもの。

## 微生物の実験分類

○細菌・真菌 ●ウイルス

### 【レベル1】

- 原核生物および真菌のうち、レベル2-4以外のもの (新たに病原性が見出されたものを除く)
- 植物ウイルス、魚類ウイルス、レオウイルス、アデノウイルス、etc.

### 【レベル2】

- *Candida albicans* (カンジダ症)、*Clostridium tetani* (破傷風)、腸管出血性 *E. coli*、*Helicobacter pylori* (ピロリ菌)、*Mycobacterium leprae* (ライ菌)、*Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌)、*Treponema pallidum* (梅毒)、*Vibrio cholerae* (コレラ菌) etc.
- 肝炎ウイルス(A, B, C, D, G)、ヒトherpesウイルス(6-8型)、T-cell白血病ウイルス、インフルエンザウイルス、日本脳炎ウイルス、Vacciniaウイルス etc.

### 【レベル3】

- *Bacillus anthracis* (炭疽菌)、*Mycobacterium tuberculosis* (結核菌)、*Orientia tsutsugamushi* (恙虫病菌)、*Salmonella typhi* (チフス菌)、*Yersinia pestis* (ペスト菌) etc.
- Herpes atelesウイルス、HIVウイルス、Yellow feverウイルス、West Nileウイルス etc.

### 【レベル4】

- Ebola出血熱ウイルス、Lassa熱ウイルス、Marburg出血熱ウイルス etc.
- (新たに哺乳動物に病原性が見出されたウイルスは危険なものとして扱われる)

## <旧>指針第8章 教育目的組換えDNA実験

教育目的組換えDNA実験については、別表7の宿主-ベクター系およびDNAの組合を用いることとし、この指針の他の規定にかかわらず、安全確保に関する次の措置をとることによって実施することができるものとする。

### 第1 実験の指導

この指針に示される実験の安全確保の考え方を理解しており、かつ、実験を実施した経験を有するものが実験指導者となるものとし、当該実験指導者が次の任務を果たすものとする。

- 1 実験の実施について、あらかじめ、所属機関の長及び使用する実験室を管理す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、実験に用いる宿主-ベクター系及び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、保管すること。
- 4 実験に用いる宿主-ベクター系及びDNAが別表7に掲げられるものであることを実験実施前に確認すること。

### 第2 実験の方法

付属資料4に掲げるところにより実験を実施するものとする。

## <旧>指針 付属資料4

### 教育目的組換えDNA実験に係る実験実施規定

#### (1) 実験室の設計

実験室は初等中等教育機関の通常の理科実験室と同じ程度の設備を備えていること。

#### (2) 実験実施要領

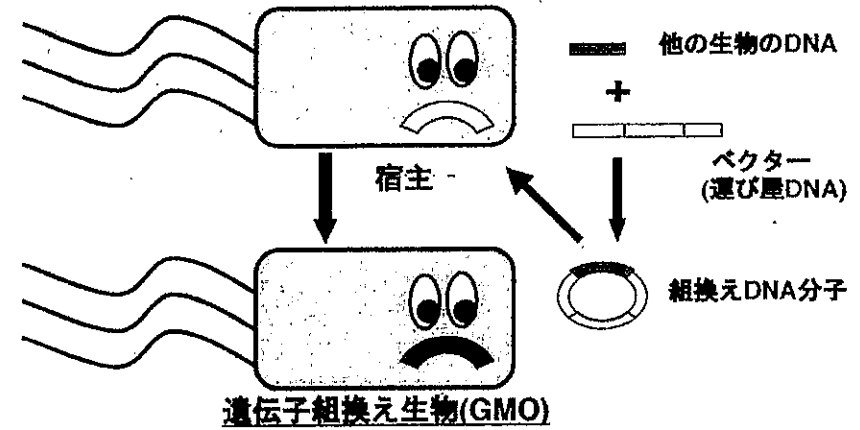
1. 実験中、実験室の窓及び扉は閉じておくこと。
2. 実験室内での飲食、喫煙及び食品の保存はしないこと。
3. 組換え体を取り扱った後、及び実験室を出るときは手を洗うこと。
4. 機械式ピペットの使用が望ましいこと。また、口を使うピペット操作は行わないこと。
5. 組換え体の保管又は運搬を行う場合は、他の微生物、組換え体と混同しないように管理すること。
6. 実験終了後は煮沸又は消毒液の投入等の措置により、組換え体を滅菌すること。
7. 組換え体の付着した器具類は、消毒又は滅菌すること。
8. 実験室は整理し、清潔を保つこと。
9. その他実験指導者の定める事項を遵守すること。

<旧>指針 別表7

教育目的組換えDNA実験に用いることのできる宿主-ベクター系及びDNA

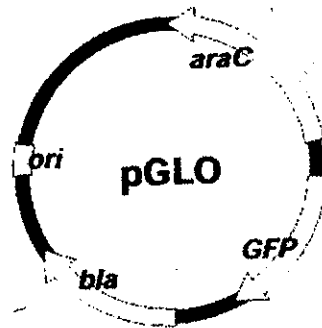
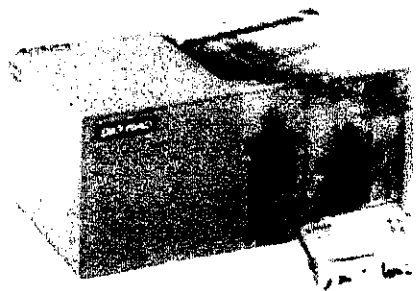
- 1 宿主-ベクター系  
別表1に定めるB1, B2レベルの認定宿主-ベクター系
- 2 移入するDNA
  - (1) 以下のタンパク質をコードする遺伝子  
amylase  
cellulase  
glucosidase  
green fluorescent protein (GFP)  
luciferase  
phosphatase
  - (2) 以下の抗生物質の耐性をコードする遺伝子  
ampicillin  
chloramphenicol  
kanamycin  
tetracycline

遺伝子組換え実験



- ◆ 組換えDNA分子を導入すると、そのDNAに乗っている遺伝子の働きで、宿主の生物の性質(形質)が少し(通常は1つだけ)変化する。
- ◆ 世界中で行われてきた研究により、化け物はできそうにないことが分かっている。これまでに、人的・環境的被害をもたらす事故は1件も起こっていない。

Bio-Rad 社のキット



宿主: *Escherichia coli* K-12 HB101株

移入するDNA(pGLO)

- ori: 大腸菌におけるプラスミドの複製開始点 (大腸菌由来)
- araC: araC遺伝子のプロモーター (大腸菌由来)
- GFP: green fluorescent protein 遺伝子
- bla: ampicillin耐性遺伝子( $\beta$ -lactamaseをコードする)

緑色蛍光タンパク質 (GFP)

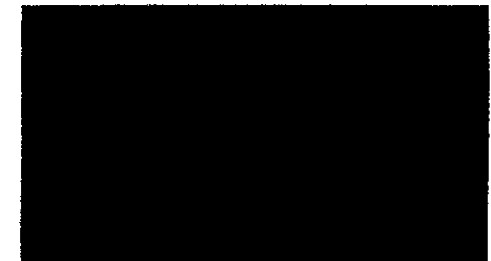


オワンクラゲ

◆ オワンクラゲ由来の緑色蛍光タンパク質 (GFP)は、青色光(または紫外線)を当てることにより、明るい緑色の光を発する。



GFP分子



GFP遺伝子ON      GFP遺伝子OFF