

## 第1節 はじめに

遺伝子操作に代表されるようなバイオテクノロジーの進歩により、生物を工学的に探究し応用するために、工学系の教育・研究機関においても生物材料を教育・研究で使用する機会が多くなった。これらの生物材料を扱う場合には、病原性微生物やその毒素および有害物質により引き起こされる健康被害ならびに遺伝子組換え生物等やその産物で懸念されるリスクなどを防止するために、法で定められた規則を守るとともに安全を確保することに留意する必要がある。

## 第2節 微生物実験

### 1 病原性微生物にかかわる法規制

病原性微生物を所持・使用する場合には感染により発症に至るリスクが生じるため、遺伝子組換え微生物と同様な拡散防止措置と感染防止対策が求められる。特に生物テロ対策の観点から図7-2-1に記載された一種から四種の特定病原体については感染症法により適正な管理をするように求められており、本学でも毎年、特定病原体の所持の有無とその内容を国に報告している。

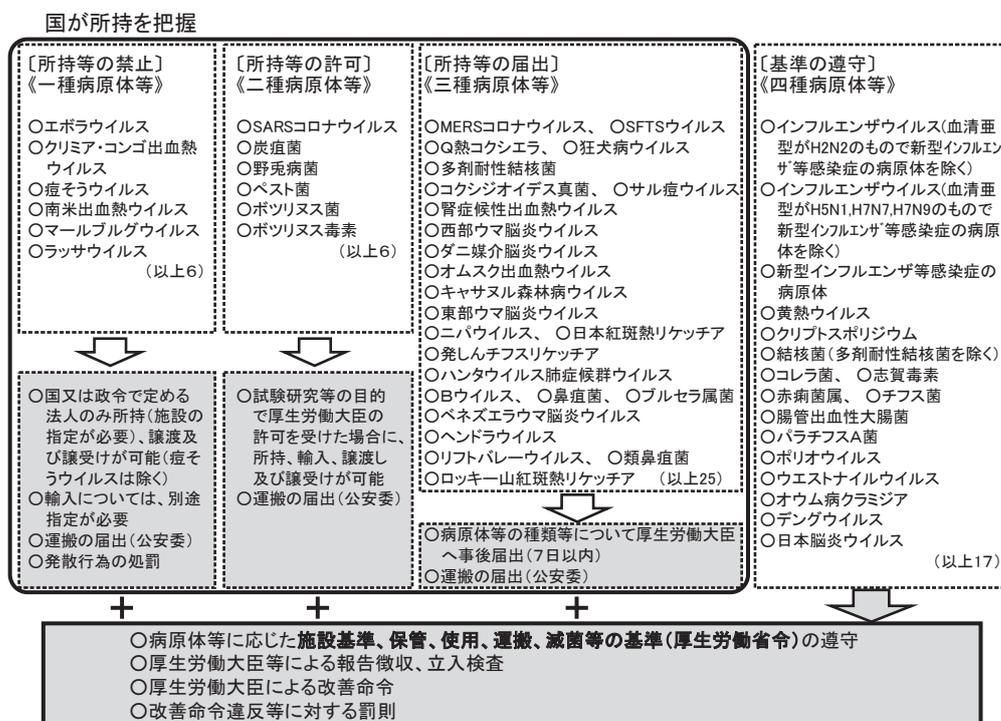


図 7-2-1. 病原体の適正管理について(厚生労働省、www.mhlw.go.jp から引用)

具体的には一種の特定病原体は本学で所持することは出来ない。二種の特定病原体を所持して使用するには事前に申請をして許可を得なければならない。三種の特定病原体の所持では届出が必要である。特定病原体を使用する場合はそれぞれのバイオセーフティレベル (BSL) (<http://www.nite.go.jp/nbrcl/list/risk/description.html#niid> 参照) に対応する感染防止対策を講じ、表 7-2-1 に示したようにリスクに応じた措置を取る必要がある。図 7-2-2 に四種病原体等で BSL2 相当に分類されるものを取り扱う実験室の施設基準例を示す。

【◎:法律上の義務・直罰 ○:改善命令】

	一種	二種	三種	四種
所持・輸入の大臣指定	◎			
所持・輸入の許可		◎		
所持・輸入の届出			◎	
感染症発生予防規程の作成	◎	◎		
病原体等取扱主任者の選任	◎	◎		
教育訓練	◎	◎		
滅菌等(指定・許可取消し等の場合)	◎	◎		
記帳義務	◎	◎	◎	
施設の基準	◎/○	◎/○	○	○
保管等の基準	○	○	○	○
運搬の届出(都道府県公安委員会宛)	◎	◎	◎	
事故届出	◎	◎	◎	◎
災害時の応急措置	◎	◎	◎	◎

表 7-2-1. 特定病原体等所持者の法律上の義務・罰則等 (www.mhlw.go.jp から引用)

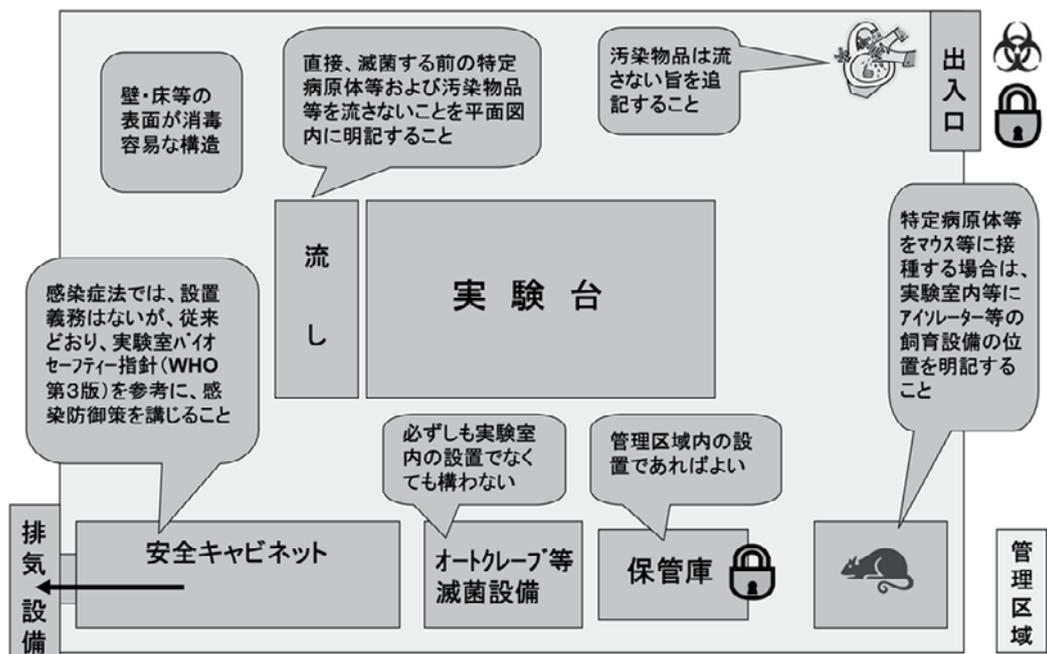


図 7-2-2. 実験室の施設基準の例(四種病原体等で BSL2 相当に分類されるもの) (www.mhlw.go.jp から引用)

尚、自然界などから分離した微生物においても分類上で病原性微生物と同等と認められた場合には、病原性微生物として取り扱うことが求められている。特に特定病原体等に相当する場合には、所持について許可や届出あるいは一種に相当すれば廃棄が必要となる。

## 2 微生物の取扱い

非病原性の微生物であっても、微生物で周囲をむやみに汚染することは、実験対象外の微生物の混入を招き、他の実験の妨げになる。また疾患や医療処置により免疫システムに不具合のある場合には病原性微生物にリストされていない日和見病原性微生物の感染により発症する場合や、自然界から分離した微生物群に病原性微生物が含まれている場合もある。したがって微生物を用いた実験は、以下のような注意を払う必要がある。

- (1) 実験を行う際は、白衣などの作業衣等を着用し、衣服等に微生物が付着するのを防ぐ。
- (2) 対象外の微生物の混入を避けるため、実験前には実験器具の滅菌や実験台の殺菌、手指の消毒を励行する。
- (3) ピペットの口での吸引や実験室内での飲食等を避ける。
- (4) 培養した微生物試料等は廃棄前に滅菌あるいは殺菌する。
- (5) 培養等に使用した器具は、使用後に滅菌あるいは殺菌する。
- (6) 病原性微生物を使用する場合には、感染や汚染を防ぐために白衣等の使用、安全ピペッター等の使用、使用後の試料や器具、実験台の滅菌あるいは殺菌、実験後の手指の消毒などを励行する。また誤飲などで感染が懸念される事態においては、必要に応じて抗生物質の服用や中和抗体・血清の投与などの措置を取る。

## 第3節 動物実験

動物実験は生命科学と医療の発展に必要であるが、その実施にあたっては、動物の福祉と倫理への十分な配慮が必須である。

### 1 動物実験に関する規制・規定

動物愛護の意識の高まりから2005年に「動物の愛護及び管理に関する法律」が改正され、動物実験においては、動物実験に関する国際原則である3Rの原則：

- (1) 代替法の利用 (Replacement)  
できる限り動物を供する方法に代わり得るものを利用すること
- (2) 使用数の削減 (Reduction)  
できる限り利用に供される動物の数を少なくすること
- (3) 苦痛の軽減 (Refinement)  
利用に必要な限度において、動物に苦痛を与えない方法によってしなければならない

に基づいて実験を実施することが義務づけられた。

実験動物の適正な飼育と利用については「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（環境省）および「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」（文部科学省）が定められている。これらに基づいて、本学では動物実験委員会が設置され、「動物実験取扱規程」が定められている。

動物実験はあらかじめ申請した「動物実験室」で行わなくてはならない。また、実験従事者は、毎年開催される動物実験講習会に参加し、実験動物と動物実験に関する十分な知識を習得しておかなくてはならない。さらに、実験の計画や安全性などについて、動物実験管理者または動物実験委員と相談した上で、十分な安全性と妥当性が確保されるようにしなければならない。その上で、動物実験計画を学長に諮り、承認を受けなければならない。定期的に動物実験の実施状況等の自己点検を行い、学長に報告しなくてはならない。

## 2 実験動物の取扱い

実験実施者は、実験動物を適切に利用するよう努めなければならない。できる限り実験動物に苦痛を与えないようにするとともに、保温等の適切な処置をとること。実験動物の苦痛を軽減するためには、実験技術の洗練・向上と人道的エンドポイント（安楽死のタイミング）の設定が必要である。麻酔を用いる場合、動物の種類や年齢、疼痛の種類、外科処置に伴う安定性など、多様な観点から適切な麻酔薬を選定する必要がある。

### 主な人獣共通感染症の病原体

病原体（人が発症する病気）	感染する動物
ハンタウイルス（腎症候性出血熱）	ラット
リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス	マウス、ハムスター
サルモネラ（食中毒）	マウス、ラットなど多くの動物種
皮膚糸状菌（頭部白癬、足白癬）	マウス、ラットなど多くの動物種

実験動物が人獣共通の病原体に感染している場合がある。また、実験動物の糞や尿、唾液、血液をアレルゲンとする動物アレルギーおよびアナフィラキシーショックに注意しなければならない。実験実施者の安全を確保するために、以下の事柄に注意を払うこと。

- (1) 実験に使用する動物は、実験動物として合目的に生産され、遺伝学的モニタリング・微生物モニタリングの検査成績が添付された動物であることが望ましい。
- (2) 実験器具による刺傷・創傷、動物による咬傷、ひっかき傷などの防止に努めること。ラット以上の動物を取り扱う際には、厚手の手袋をする。
- (3) 経口感染を防ぐために、動物実験室内で飲食、喫煙、化粧を行ってはいけない。
- (4) 動物実験の前後には手指を洗淨・消毒し、手袋、マスク等を着用すること。
- (5) 動物実験室内の整理整頓に心がける。

- (6) 動物実験に使用した注射針やメス、その他の汚染器具や汚染物質などは、清掃業者への感染事故を引き起こさないように、滅菌した後に適当な容器に入れて廃棄する。
- (7) 事故が発生した場合は、汚染・感染被害を最小限度に食い止めるための処置を行い、直ちに実験責任者に連絡する。

## 第4節 遺伝子組換え実験

### 1 遺伝子組換え実験の規制

遺伝子組換えは、生物の遺伝子の構造や機能等を明らかにする基盤的な研究はもとより、がんその他の難治性疾患の解明、インシュリン、インターフェロン等の希少医薬品の量産、有用微生物の育種や作物の品種改良等の応用研究に至るまで広範なライフサイエンス分野の研究や産業に活用されており、欠くことのできない重要な技術となっている。

しかし、遺伝子組換えは、生物に元来なかった性質を付与する新しい技術であるため影響に予測できない部分があるとして、遺伝子組換え技術の使用に当たって研究者の慎重な対応が求められた。また遺伝子組換えの安全性を疑問視して遺伝子組換え食品などの利用や遺伝子組換え技術の使用に反対する人々もおり、遺伝子組換え技術の安全を確保しつつ適切に利用するために研究者が遵守すべき指針として、昭和54年、内閣総理大臣決定による「遺伝子組換え実験指針」が制定された。その後、遺伝子組換え実験の積み重ねから、多数の遺伝子の絶妙な組み合わせと調和から成り立つ生物個体に一部の遺伝子を導入して新たな生物を創造することは不可能であり、初期に危惧されたモンスター生物の誕生は空想に過ぎなかったことが明らかになった。また、微生物間の遺伝子交換などにより自然界で遺伝子組換えが頻繁に起こり得ることも知られるようになった。このような知見の積み重ねから、遺伝子を導入する生物（宿主）と導入する遺伝子（外来遺伝子）について有害性（病原性や毒性など）を評価し、その組み合わせとして遺伝子組換え生物の安全性を評価する手法が確立された。また、自然界で頻繁に遺伝子交換が起こり得る同種の生物の遺伝子を同種の宿主に導入する実験等は遺伝子組換え実験に含まないことになった。

一方、遺伝子組換え技術の発展は組換え植物の栽培や組換え動物の飼育など遺伝子組換え生物の環境中での利用を実現させた。組換え作物の栽培や輸出入が行われるようになり、自然環境に生息する野生生物などの多様性を損なうことが心配されるようになった。この結果、国際的に「生物多様性条約（カルタヘナ議定書）」が締結されるとともに、国内的には上述の指針を廃止して「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確保に関する法律」（カルタヘナ法）が平成16年に施行され、現在に至っている。

## 2 法規制（カルタヘナ法）の仕組み

カルタヘナ法では遺伝子組換え生物や細胞融合生物（遺伝子組換え生物等）の使用について拡散防止措置による生物の多様性の確保を実現することを目的としている。対象は種の異なる生物間の遺伝子組換えや科を超える細胞融合で得られた生物であり、ヒトは対象となっていないが別の法律で規制される。実際に遺伝子組換え生物を作成・使用する場合には、あらかじめ作成・使用する遺伝子組換え生物にかかわる情報と作成・使用の計画を記載した申請書（研究開発においては「実験計画書」）を機関の安全委員会に提出して所管官庁（大学においては文部科学省）が定めた規定に沿って安全確認と拡散防止措置の決定（機関承認）を受けるか、所管官庁が定めた規定を逸脱するケースでは所管官庁に申請書を送り、所管官庁の遺伝子組換え関連委員会において安全確認と拡散防止措置の決定（大臣確認）を受ける。一方、実験室外で増殖できない動植物培養細胞等は対象としないが、動植物培養細胞の遺伝子組換え体等については従来の指針等に準じた扱いで安全性を確保することが求められている（本学では届出実験としている）。

カルタヘナ法において遺伝子組換え生物の作成・使用は、(1) 野外圃場での栽培や飼料利用など、遺伝子組換え生物等の拡散防止措置をしないで環境中で使用する第一種使用等と、(2) 実験室での使用や培養発酵装置での培養、飼育区画等での栽培・飼育など、遺伝子組換え生物等の環境中への拡散防止措置をして使用する第二種使用等に分けられている。本学において第一種使用等が実施されることは希であり、ここでは第二種使用等のみについて説明する。

本学では法規制に対応して「長岡技術科学大学遺伝子組換え実験安全管理規則」を、機関の安全委員会として「遺伝子組換え実験安全委員会」を設けており、実験責任者（教員）は実験の開始にあたって具体的に以下の(1)または(2)の手続きを踏むことが求められる。また実験の実施においては、実験責任者および実験に従事する者（実験従事者）は(3)以降の事項を遵守する必要がある。

- (1) 実験責任者は実験を始める前（実験計画時）に遺伝子組換え実験安全主任者と連絡を取り、所定の様式の実験計画書を作成し、安全主任者の拡散防止措置にかかわる所見の記載と押印、および所属する系の長の押印を受けた後、産学連携・研究推進課研究支援係に提出する（図 1）。産学連携・研究推進課研究支援係では各教員の申請書をまとめて「遺伝子組換え実験安全委員会」にかけ、安全確認を受けた後に各実験責任者に機関承認を通知する。
- (2) 文部科学省令で定めた拡散防止措置の範囲を逸脱する実験計画については文部科学大臣の安全確認が必要である。この場合には安全主任者の指示により大臣確認申請用の実験計画書の書き直し、産学連携・研究推進課研究支援係に提出する。産学連携・研究推進課研究支援係では安全委員会で確認後、実験計画書を文部科学省に提出する。文部科学省では遺伝子組換え技術等専門委員会で有効な拡散防止措置を確認し、結果が大臣確認として大学に通知される。この結果が産学連携・研究推進課研究支援係から実験責任者に通知される。

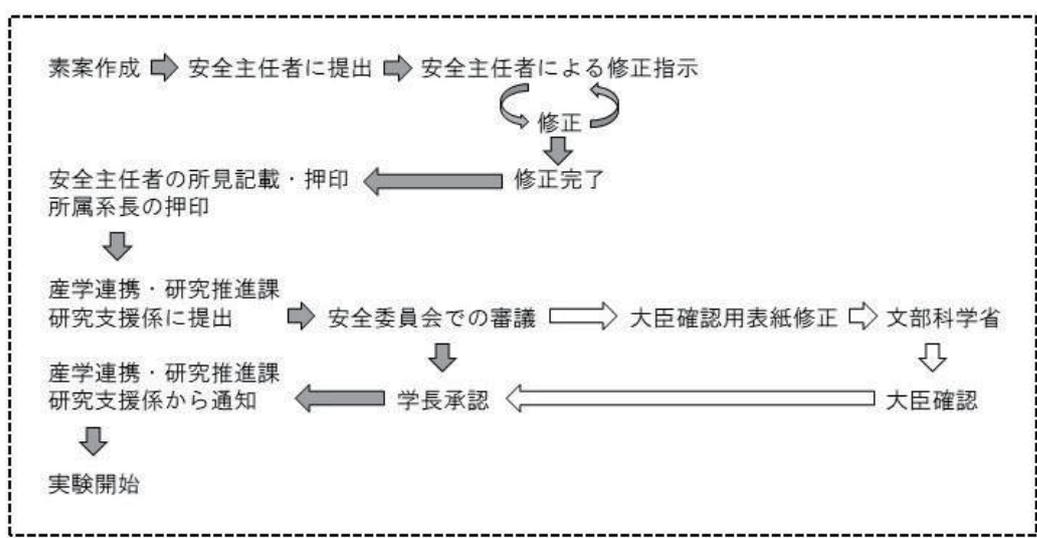


図1. 遺伝子組換え（組換えDNA）実験の手続き

- (3) 実験責任者は実験の実施に当たって適切な実験設備、実験手法、廃棄処理、遺伝子組換え体の保管と管理、表示等を含む必要な拡散防止措置を執る。また、実験計画書の内容と必要な拡散防止措置を実験従事者に周知する。
- (4) 実験従事者は実験の実施に必要な拡散防止措置を理解し、必要な拡散防止措置を遵守しつつ実験を実施する。
- (5) 実験従事者は、遺伝子組換え実験の教育訓練と健康診断（一般健康診断で代用）を受ける必要がある。
- (6) 実験責任者は年度初めに健康診断のために実験従事者のリストを、年度末に実験経過報告書を産学連携・研究推進課研究支援係に提出する。また実験計画書で指定された実験期間終了時には実験終了報告書を、実験を中止する場合には実験中止報告書を提出する。更に遺伝子組換え体の保管・廃棄の措置と記録を実施する。
- (7) 遺伝子組換え生物の保管及び運搬、譲渡、譲受においては必要な拡散防止措置や表示、情報提供等をする。

### 3 拡散防止措置の決定

第二種使用等における拡散防止措置は、「物理的封じ込め」と「生物学的封じ込め」の2種類の封じ込め手段を実験の安全度に応じて組み合わせて実施する。物理的封じ込めが優先されるが、生物学的封じ込めの利用により物理的封じ込めを緩和できる場合がある。

物理的封じ込め（Physical containment）は、遺伝子組換え生物を施設、設備内に閉じこめることにより、環境への拡散を防止することを目的とする。物理的封じ込めは、封じ込めの施設等の要件及び実験実施における遵守事項の2要素からなり、その封じ込めの程度に応じて微生物使用実験ではP1、P2、P3の3つのレベルが設定されている。Pはphysical（物理的）の頭文字で、数字が大きいくほど封じ込めのレベルが高い。微生物使用実験のP1/P2/P3に対応して、大量培養実験ではLSC/LS1/LS2、動物使用実験ではP1A/P2A/P3A、植物等使用実験ではP1P/P2P/P3Pの各レベルが設定されている。

一方、生物学的封じ込め（Biological containment）は、環境中で生残しにくい安全な宿主（認定宿主）あるいは環境中で生残できない安全な宿主（特定認定宿主）とベクターの組み合わせ「宿主ベクター系」を用いることにより、遺伝子組換え生物の環境への拡散を防止することを目的とする。封じ込めのレベルは、宿主ベクター系の安全性の程度に応じ、認定宿主ベクター系（B1）と特定認定宿主ベクター系（B2）の2つのレベルに区分される。Bはbiologicalの頭文字で、数字が大きいほど封じ込めのレベルが高く安全である。

物理的封じ込めレベルは、導入する遺伝子（供与核酸）自体の安全性と由来する生物（核酸供与体）の実験分類、遺伝子を導入する生物（宿主）の実験分類（表1）に基づいて決定する。この生物にはウイルスが含まれており、ウイルスに外来遺伝子を導入する場合にはウイルスを導入する細胞ではなく、ウイルス自体が宿主となる。具体的な実験分類は、クラス2以上の生物種が文部科学省告示「研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令の規定に基づき認定宿主ベクター系等を定める件」の別表第2にリストされており、リストされていない生物がクラス1に該当する。動植物はクラス1である。同告示の別表第1には認定宿主ベクター系と特定認定宿主ベクター系がリストされている。同告示は科学的知見の蓄積に応じて改訂されるので、使用時にWEB（末尾の参考に記載）から入手することが望ましい。

表1. 実験分類の根拠

実験分類	クラス1	クラス2	クラス3	クラス4
病原性(1)	なし	低	高	高
伝播性(2)	—	—	低	高

(1) 哺乳綱及び鳥綱に属する動物に対して病気を引き起こす性質と程度、

(2) 核酸が個体から他の個体へ伝達する性質と程度

実験分類と供与核酸の安全性に基づく判定の仕組みを表2に示したが、例えばクラス1の宿主ベクター系にクラス1の核酸供与体由来の遺伝子を導入する場合にはP1レベルとなる。クラス1の宿主ベクター系にクラス2の核酸供与体由来の多様な遺伝子を特定せずに導入する場合にはP2レベルとなるが、クラス2の核酸供与体由来の安全性が確認された遺伝子（安全な同定済核酸）を導入する場合にはP1レベルとなる。クラス2の宿主ベクター系にクラス2以下の核酸供与体由来の遺伝子を導入する場合は、遺伝子の安全性にかかわらずP2となる。クラス1の宿主ベクター系に環境中から抽出した多様な核酸を特定せずに導入する場合は、環境中で想定される病原性微生物の最も高い実験分類が適用されるが、PCR法で特異的に増幅した安全な同定済核酸を導入する場合にはP1レベルとなる。尚、遺伝子の安全性は病原性や毒素産生に関与していないことで判定される。

表2. 拡散防止措置の決定

宿主	核酸供与体	供与核酸	拡散防止措置	判断のしかた
認定	クラス1	同定済・安全	P1	同定済 →宿主のレベルに一致
クラス1	クラス1	同定済・安全	P1	
クラス1	クラス2	同定済・安全	P1	
クラス2	クラス1	同定済・安全	P2	
クラス3	クラス1	同定済・安全	P3	大臣確認
クラス1	クラス1	未同定・未定	P1	未同定 →大きい方のレベルに一致
クラス1	クラス2	未同定・未定	P2	
クラス2	クラス1	未同定・未定	P2	
特定認定	クラス2	未同定・未定	P1	宿主による緩和
クラス3	クラス1	未同定・未定	P3	大臣確認
クラス1	クラス1	同定済・病原性関連等	P2	病原性 →レベル1上昇
クラス1	クラス2	同定済・病原性関連等	P3	
特定認定	クラス2	同定済・病原性関連	P1	宿主による緩和

#### 4 物理的封じ込めの実際

物理的封じ込めが具体的にどのようなものであるのか、P1 レベル及び P2 レベルの物理的封じ込めの内容を以下に示す。

##### (1) P1 レベルの施設等の要件と実験実施における遵守事項

P1 レベルの物理的封じ込めでは、以下の要件および遵守事項が求められている。

##### 施設等について満たすべき事項

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

##### 遺伝子組換え実験の実施に当たり遵守すべき事項

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

(2) P2 レベルの施設等の要件と実験実施における遵守事項

P2 レベルの物理的封じ込めでは、上述の P1 レベルの要件および遵守事項に加えて、以下の要件および遵守事項が求められている。

施設等について満たすべき事項

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

遺伝子組換え実験の実施に当たり遵守すべき事項

拡散防止措置の内容		✓
10	エアロゾルが生じやすい操作をするときは、研究用安全キャビネットを用いることとし、当該研究用安全キャビネットについては、実験を行った日における実験の終了後に、及び遺伝子組換え生物等が付着したときは直ちに、遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。	
11	実験室の入口及び遺伝子組換え生物等を実験の過程において保管する設備に、「P2レベル実験中」と表示すること。	
12	執るべき拡散防止措置がP1レベル、P1Aレベル又はP1Pレベルである実験を同じ実験室で同時に行うときは、これらの実験の区域を明確に設定すること、又はそれぞれP2レベル、P2Aレベル若しくはP2Pレベルの拡散防止措置を執ること。	

参考

- 文部科学省ライフサイエンスの広場～生命倫理・安全に関する取組：遺伝子組換え実験

<http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/anzen.html#kumikae>