

大阪工業大学遺伝子組換え実験実施要領

遺伝子組換え生物等の使用等に当たっては、「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6月18日法律第97号。以下「法」という)」および「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(平成16年1月29日文科科学省・環境省令第1号。以下「二種省令」という)」に基づき実施する必要がある。

大阪工業大学(以下「本学」という)では、「大阪工業大学遺伝子組換え実験等安全管理規(2010年7月23日学園373号。以下「規定」という)を定め、大学における遺伝子組換え実験等の計画および実施に関して必要な事項を定めている。

本要領では、遺伝子組換え生物等の使用とそれに基づく必要な措置と遺伝子組換え実験の申請の手続き等を説明する。

1. 遺伝子組換え生物等の使用等

遺伝子組換え生物等の使用等の形態には、「第一種使用等」と「第二種使用等」があり、使用等に先立ち、それぞれ必要な措置を実施することが必要である。

(1) 第一種使用等

環境中への拡散を防止しないで行う使用等であり、たとえば、圃場での栽培、飼料としての利用、容器を用いない運搬等が該当する。

(2) 第二種使用等

環境中への拡散を防止しつつ行う使用等であり、たとえば、実験室、培養・発酵設備等を用いる使用等や密閉容器を用いる運搬等が該当する。

(i) 機関実験

第二種使用等のうち、執るべき拡散防止措置が二種省令第五条第一号で定められている場合は、その措置を執ることが義務づけられており、実験責任者は、学長の承認を受けること必要である。

(ii) 大臣確認実験

第二種使用等のうち、執るべき拡散防止措置が二種省令第五条第一号で定められていない場合は、あらかじめ文科科学大臣の確認を受けた拡散防止措置を執ることが義務づけられており、実験責任者は、文科科学大臣確認の上、学長の承認を受けること必要である。該当する実験は二種省令「別表第一」を参照する。

2. 第二種使用等に係わる実験等

大学において行われる使用等は、第二種使用等に該当し、実験、保管及び運搬のそれぞれに、執るべき拡散防止措置などが定められている。実験については、遺伝子組換え実験と細胞融合実験に区分される。

(1) 遺伝子組換え実験

細胞外核酸加工技術により得られた核酸又はその複製物（組換え核酸）を有する遺伝子組換え生物等の使用等である。なお、この使用等の一環として行われる保管及び運搬を含む。

(i) 実験種類

a) 微生物使用実験

遺伝子組換え生物の使用等であって、次のb) からd) に当てはまらない使用等である。

b) 大量培養実験

遺伝子組換え生物の使用等であって、培養設備（容量が20リットルを超えるもの）を用いる使用等

c) 動物使用実験

組換え動物の使用等である「動物作成実験」と動物に保有されている組換え生物の使用等である「動物接種実験」に分けられる。

d) 植物使用実験

組換え植物の使用等である「植物作成実験」、植物により保有されている組換え生物の使用等である「植物接種実験」と組換えきのこ類の使用等である「きのこ作成実験」に分けられる。

(ii) 実験分類

遺伝子組換え実験は、宿主または核酸供与体により下表のとおり分類される。具体的な分類は、「研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令の規定に基づき認定宿主ベクター系等を定める件（平成16年文部科学省告示第7号。以下「研究開発二種告示」という）」で定められている。

クラス1	微生物、きのこ類及び寄生虫のうち、哺乳綱及び鳥綱に属する動物（ヒトを含む。以下「哺乳動物等」という。）に対する病原性がないものであって、文部科学大臣が定めるもの並びに動物（ヒトを含み、寄生虫を除く。）及び植物
クラス2	微生物、きのこ類及び寄生虫のうち、哺乳動物等に対する病原性が低いものであって、文部科学大臣が定めるもの
クラス3	微生物及びきのこ類のうち、哺乳動物等に対する病原性が高く、かつ、伝播性が低いものであって、文部科学大臣が定めるもの
クラス4	微生物のうち、哺乳動物等に対する病原性が高く、かつ、伝播性が高いものであって、文部科学大臣が定めるもの

(2) 細胞融合実験

細胞融合技術により得られた核酸又はその複製物を有する遺伝子組換え生物等の使用の一環として行われる保管及び運搬を含む。二種省令に執るべき拡散防止措置の定めはなく、すべて大臣確認実験に該当する。

3. 第二種使用等に係わる拡散防止措置

二種省令第四条・第五条のとおり、遺伝子組換え実験に用いる宿主または核酸供与体のクラスに応じたレベルの拡散防止措置を執る。遺伝子組換え実験に係わる拡散防止措置と区分および内容は、実験の種類に応じ、それぞれ二種省令の当該各号に定められる。

実験種類	拡散防止措置の区分	二種省令
微生物使用実験	P1, P2, P3	「別表第二」
大量培養実験	LSC, LS1, LS2	「別表第三」
動物使用実験	P1A, P2A, P3A	「別表第四」
植物使用実験	P1P, P2P, P3P	「別表第五」

(1) 宿主または核酸供与体のクラスに応じた拡散防止措置の区分

(i) 組換え微生物等の実験(微生物使用実験、大量培養実験、動物接種実験、植物接種 実験、きのこ作成実験)の場合

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。研究開発二種告示に定められてい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については、核酸供与体の実験分類がクラス1又はクラス2の場合は、P1、LS1、P1AあるいはP1Pレベルとなる。核酸供与体の実験分類がクラス3の場合は、P2、LS2、P2AあるいはP2Pレベルとなる。供与核酸が同定済核酸であり、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。認定宿主ベクター系を用いていない組換え微生物等であって、供与核酸が哺乳動物等に対する病原性等に関係し、かつ、その特性により宿主の哺乳動物等に対する病原性を著しく高めることが科学的知見に照らし推定されるもの使用等は、宿主又は核酸供与体の実験分類のうち、実験分類の名称のいずれか小さくない方がクラス1の場合、P2あるいはP2AあるいはP2Pとなる。クラス2の場合はP3あるいはP3AあるいはP3Pとなる。大量培養実験においては、1から3に基づく措置に加え、認定宿主ベクター系を用いた組換え微生物であって、核酸供与体の実験分類がクラス1であるもののうち、供与核酸が病原性等に関係しないものの使用等は、LSCレベルの拡散防止措置を執ることができる。

(ii) 組換え動植物の実験(動物作成実験、植物作成実験)の場合

原則として、宿主の実験分類に従って定める。供与核酸が哺乳動物等に対する病原性等に関係し、かつ、その特性により宿主の哺乳動物等に対する病原性を著しく高めることが科学的知見に照らし推定される組換え動植物の使用等においては、核酸供与体の実験分類がクラス1の場合はP2A あるいはP2Pとなり、クラス2の場合はP3AあるいはP3Pとなる。供与核酸が同定済核酸であり、病原性等に関係しない等の要件を満たす組換え動植物の使用等は、特定飼育区画・特定網室の拡散防止措置を執ることができる。

(2) 拡散防止措置の内容

(i) 微生物使用実験

a) P 1 レベルの要点

施設等: 通常の生物の実験室等。

運搬: 遺伝子組換え生物等が漏出しない構造の容器に入れる。

その他: 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。関係者以外の者の入室制限。

b) P 2 レベルの要点

P 1 レベルの措置に加え、以下の措置を講ずること。

施設等: エアロゾルが生じやすい操作をする場合には、研究用安全キャビネットを設置し、キャビネット内で操作。実験室のある建物内に高圧滅菌器を設置。

その他: 「P 2 レベル実験中」の表示。P 1 (A、P) レベルである実験を同時に行う場合、これらの実験の区域を明確に設定するか、P 2 (A、P) レベルの拡散防止措置を執る。

c) P 3 レベルの要点

P 1 レベルの措置に加え、以下の措置を講ずること。

施設等: 前室を設置し、前室の前後の扉を同時に開けない。実験室は、容易に水洗・燻蒸でき、密閉状態が維持される構造。足等で又は自動で操作可能な手洗い設備。空気が内側へ流れていくための給排気設備。排気は、原則として、実験室・建物内の他の部屋に再循環されない。排水は、遺伝子組換え生物等の不活化後に排出されること。排水は、遺伝子組換え生物等の不活化後に排出されること。実験室内に高圧滅菌器を設置。専用の真空ポンプを使用。

その他: 専用の作業衣、保護履物等を着用。廃棄等の前に遺伝子組換え生物等を不活化。エアロゾルが生じ得る操作をするときは、実験室に出入りしない。「P 3 レベル実験中」の表示。P 1 (A、P)、P 2 (A、P) レベルである実験を同時に行う場合、P 3 (A、P) レベルの拡散防止措置を執る。

(ii) 大量培養実験

a) L S C レベルの要点

施設等: 実験区域を設ける。

運搬: 遺伝子組換え生物等が漏出しない構造の容器に入れる。

その他: 遺伝子組換え生物等の不活化。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。関係者以外の者の立入り制限。「L S C レベル大量培養実験中」の表示。

b) L S 1 レベルの要点

L S C レベルの措置に加え、以下の措置を講ずること。

施設等:培養設備等は、遺伝子組換え生物等が外部へ流出しないもの。培養設備等からの排気は、除菌用フィルター等を通じて排出。

その他:培養設備等に遺伝子組換え生物等を植菌するとき等は、遺伝子組換え生物等が漏出ししない構造の容器に入れる等。「L S 1 レベル大量培養実験中」の表示。

c) L S 2 レベルの要点

L S C レベルの措置に加え、以下の措置を講ずること。

施設等:培養設備等は、遺伝子組換え生物等が外部に流出せず、閉じたままで内部にある遺伝子組換え生物等の不活化が可能なもの。培養設備等に直接接続する回転シール、配管弁等の部品は、遺伝子組換え生物等が外部に排出されないもの。培養設備等からの排気は、除菌用フィルター等を通じて排出。エアロゾルが生じやすい操作をする場合は、研究用安全キャビネット等が設置され、これが使用されること。培養設備の密閉度の監視装置を設置し、常時密閉度を確認。実験区域のある建物内に高圧滅菌器を設置。

その他:培養設備等に遺伝子組換え生物等を植菌するとき等は、遺伝子組換え生物等が漏出ししない構造の容器に入れる等。「L S 2 レベル大量培養実験中」の表示。

(iii) 動物使用実験

a) P 1 A ~ P 3 A レベルの要点

P 1 ~ P 3 レベルの拡散防止措置に加え、以下の措置 (A 措置) が必要。

施設等:通常の動物の飼育室等。逃亡防止の設備等(ネズミ返し、アイソレーター、循環式水槽等)。ふん尿等を回収するための設備等。

運搬:組換え動物等の逃亡を防止する構造の容器に入れる。

その他:個体識別ができる措置(耳パンチ、別々の飼育容器の使用等)。「組換え動物等飼育中」又は「組換え動物等飼育中(P 2)」又は「組換え動物等飼育中(P 3)」の表示。

b) 特定飼育区画の要点

施設等:組換え動物等の習性に応じた逃亡防止の設備を二重に設置。

運搬:組換え動物等の逃亡を防止する構造の容器に入れる。

その他:個体識別ができる措置。「組換え動物等飼育中」の表示。遺伝子組換え生物等の不活化。飼育区画の扉を閉じておく。遺伝子組換え生物等の付着・感染防止のための手洗い・アルコールスプレーの使用等。関係者以外の者の立入り制限。

(iv) 植物等使用実験

a) P 1 P ~ P 3 P レベルの要点

P 1 ~ P 3 レベルの拡散防止措置に加え、以下の措置 (P 措置) が必要。

施設:通常の植物の栽培室等。排気中に含まれる組換え植物等の花粉等を最小限にとどめる。

その他:「組換え植物等栽培中」又は「組換え植物等栽培中(P 2)」又は「組換え植物

等栽培中（P3）」の表示。

b) 特定網室の要点

施設: 昆虫の侵入を最小限にとどめる網戸・換気口等。網戸等のメッシュサイズの制御により、微細な昆虫の侵入を大幅に低減することが可能。前室の設置。組換え生物等を含む排水が回収できる機器等の設置・床等の設計。

運搬: 遺伝子組換え生物等が漏れない構造の容器に入れる。（別表第2第1号ロ(7)）

その他: 花粉等を持ち出す昆虫の防除（薬剤等の散布、網室周辺の砂利敷き等により微細な昆虫の侵入を抑えることが可能）。花粉飛散時期に窓を閉める等、花粉の外部への飛散防止措置（組換え植物等への袋かけにより、花粉の外部への飛散を抑えることが可能。花粉を形成しない、あるいは不稔の場合はこの措置を省略可能。）「組換え植物等栽培中」の表示。遺伝子組換え生物等の不活化。網室の扉を閉じておく。遺伝子組換え生物等の付着・感染防止のための手洗い・アルコールスプレーの使用等。関係者以外の者の立入り制限。

4. 保管及び運搬

保管及び運搬（それぞれ遺伝子組換え実験及び細胞融合実験の過程において行われるものを除く）にあった執るべき拡散防止措置を、次のとおりとする。

(1) 保管

遺伝子組換え生物等が漏出、逃亡その他拡散しない構造の容器に入れ、かつ、当該容器の見やすい箇所に、遺伝子組換え生物等である旨を表示する。容器は、所定の場所に保管することとし、保管場所が冷蔵庫その他の保管のための設備である場合には、当該設備の見やすい箇所に、遺伝子組換え生物等を保管している旨を表示する。

(2) 運搬

遺伝子組換え生物等が漏出、逃亡等の拡散しない構造の容器に入れる。遺伝子組換え実験又は細胞融合実験に当たって執るべき拡散防止措置が、P3レベル、P3Aレベル、P3Pレベル、LS2レベルについては、通常の運搬において事故等により当該容器が破損したとしても当該容器内の遺伝子組換え生物等が漏出、逃亡等の拡散しないよう、二重に容器に入れる。最も外側の容器の見やすい箇所に、取扱い注意を要する旨を表示する。

5. 安全性の確保

実験は、許可を受けた実験計画に従って行わなければならない。実験責任者は、実験の安全ならびに実験施設の管理および保全状態等の点検を行う。安全主任者および実験責任者が特に必要と認めた者以外の者は、実験施設に立ち入ってはならない。なお、安全主任者は、実験の安全性確保の点検のため実験施設に立ち入ることができる。（規程第12条、第13条関係）

6. 教育訓練

実験従事者は、大阪工業大学遺伝子組換え実験等安全委員会が開催する遺伝子組換え生物等の安全な取扱いに関する教育訓練を受ける必要がある。(規程第18条関係)

7. 健康管理

実験従事者は、健康管理の目的のため定期健康診断を受診する必要がある。実験従事者が病原微生物を取扱う場合は、実験開始前に予防治療の方策についてあらかじめ検討し、必要に応じて抗生物質、ワクチン、血清等を準備するとともに、実験開始後6カ月を超えない期間ごとに特別定期健康診断を行う。(規程第19条関係)

8. 緊急事態および事故発生時の措置

地震、火災その他の災害、事故により、組換え体による汚染が発生し、または発生するおそれのある事態を発見した者は、直ちに当該実験責任者に通報する。実験責任者は、必要な措置を講じるとともに、安全主任者および当該学部長を経て学長に報告する。(規程第20条、第21条関係)

9. 記録保管

実験責任者は、実験記録をすべて保存すると共に、実験に使用したDNAの種類、宿主、ベクター、組換え体および実験を行った期間に関する資料を作成し、5年間保存する。

10. 申請手続きと様式

(1) 実験従事者の登録

実験の実施に携わろうとする者は、遺伝子組換え実験従事者登録申請書を作成し、所属学部長の同意を得て安全主任者に、登録の申請をする。(別紙様式「遺伝子組換え実験従事者登録申請書」)
なお、登録は、年度ごとに行うものとし、更新を妨げない。

(2) 実験計画申請書

実験の計画および実施にあたっては、実験ごとに、実験責任者を定めなければならない。実験責任者は、実験を行うにあたって、実験計画申請書を作成し、所属学部長の同意を得たうえ、安全主任者を経て、学長に申請し、その承認を受けなければならない。なお、実験計画を変更しようとする場合も同様とする。(別紙様式「遺伝子組換え実験計画(新規・変更)申請書」)

実験責任者は、実験を終了し、または中止したときは、直ちに実験経過報告書を作成し、所属学部長および安全主任者を経て学長に報告しなければならない。(別紙様式「遺伝子組換え実験経過報告書」)

11. 譲渡等に係る情報の提供

遺伝子組換え生物等を譲渡、若しくは提供、又は委託（以下「譲渡等」という。）して使用等をさせようとする実験責任者は、遺伝子組換え生物等の譲渡・提供・委託に関する情報提供書を作成し、譲渡等を受けてその使用等をしようとする譲受者等に対し、提供すべき情報を譲渡等の都度、提供しなければならない。譲渡等を受けてその使用等をする実験責任者は、相手方からの情報提供を受ける。（別紙様式「遺伝子組換え生物等の譲渡・提供・委託に関する情報提供書」）
実験責任者は、「遺伝子組換え生物等の譲渡等に関する調書」を作成し、安全委員会へ届ける。

（別紙様式「遺伝子組換え生物等の譲渡に関する調書」）