

カルタヘナ法における遺伝子組換え動物の拡散防止措置の考え方

全国大学等遺伝子研究支援施設連絡協議会

田中 伸和(広島大学)

1. 拡散防止措置とは

カルタヘナ法*における拡散防止措置は「施設基準(ハード要件)」と「行為基準(ソフト要件)」の二つ基準(要件)から成っており、具体的には二種省令**の別表第二から第五の各号の(イ)と(ロ)にそれぞれ記載されている。前者は、カルタヘナ法施行前にあった「組換え DNA 実験指針」でいうところの「物理的封じ込め」の基準であり、遺伝子組換え生物を実験室・飼育室等から外部環境に拡散させないための施設・設備を示すもので、後者はその施設から遺伝子組換え生物を外部環境に拡散させないためにどのような手法を執るべきであることを示す実施要項である。

「物理的封じ込め」の考え方は 1975 年にアメリカ合衆国カリフォルニア州のアシロマで開催されたアシロマ会議で示され、上述の「組換え DNA 実験指針」に取り込まれている。P1、P2、P3 など、この「物理的封じ込め(Physical containment)」のレベルを示したものである。アシロマ会議で示されたもう一つの考え方に「生物学的封じ込め」がある。これは、「特殊な培養条件下以外では生存しない宿主と、この宿主以外の生物への伝達性がなく、宿主依存性が高いベクターとを組み合わせた宿主-ベクター系」を用いれば、万一この遺伝子組換え生物が外部環境に漏出しても、他の生物種に核酸が移ることはなく、さらに短時間で死滅するため、広く伝播し拡散することを阻止できるというもので、これによって遺伝子組換え生物の生物学的な安全性が保てるというものである。この考え方を基に、二種告示***の別表第一には、安全性が高い 11 種類の宿主とベクターの組み合わせを「B1」の認定宿主ベクター系として、また特に安全性が高い幾つかの大腸菌(EK2)、出芽酵母(SC2)、枯草菌(BS2)の宿主とベクターの組み合わせを「B2」の特定認定宿主ベクター系として示してある。同じ供与核酸を用いる微生物使用実験でも、認定あるいは特定認定宿主ベクター系を使用することで、それ以外の宿主とベクターの組み合わせを用いるよりも拡散防止措置のレベルを低くできたり、大臣確認申請の必要がなくなったりする場合がある。

ところで、遺伝子組換え動物を飼育する中で、たまに前述の生物学的な安全性から誤った考え方が導き出されてくることがある。例えば、水中に配偶子を放出する動物では、卵はメッシュなどでトラップできるが精子は微小であるためトラップできない。一方、精子は放精後ごく短時間で運動能および受精能がなくなってしまう。これは微生物における「生物学的封じ込め」を連想させ、確かに生物多様性への悪影響はほとんどないものと思われる。そこで、このような遺伝子組換え動物の精子は飼育水と一緒にそのまま外部に排水しても大丈夫ではないかと感じてしまうようだ。しかし、いくら生物学的に安全性が高いからといっても、カルタヘナ法においては遺伝子組換え動物の精子を何の不活化処理もしないで環境中に放出することは許されない。配偶子である精子は法の規制対象であるので、認定宿主ベクター系を用いて遺伝子をクローニングした大腸菌や酵母を不活化しないでそのまま流しから流すのと同様、カルタヘナ法第 12 条(主務省令で定める拡散防止措置の実施)に違反する。

2. 遺伝子組換え動物の拡散防止措置の考え方

遺伝子組換え生物における拡散防止措置は、その生物の拡散を的確に防止するために行なわれなければならない。したがって、当然、生物の種ごとにハード要件とソフト要件が異なることになる。まず、以下の項目に基づいて拡散の可能性とリスクを考える必要がある。

- ① 生物の種類： ウイルス、微生物（細菌、酵母、カビ）、キノコ、動物、植物？
- ② 生存方法： 腐生性、寄生性（感染性）、自立性、摂食？
- ③ 棲息場所： 陸棲、水棲、土壌性？
- ④ 拡散方法： 逃亡（逸走、飛翔、遊泳）、付着、浮遊？
- ⑤ 増殖や受精方法： 水中、陸上、風媒、虫媒？
- ⑥ 配偶子や幼生： 精子、卵、幼生、幼虫、孢子、花粉、種子？

さて、これより先は「生物」の中でも「動物」に限って論じることにする。

一言で動物といっても、大きさや逃亡方法、その他の諸性質がそれぞれ異なっているので、遺伝子組換えマウスの拡散防止措置をそっくり遺伝子組換えショウジョウバエに当てはめても意味がない。また、その動物の特性だけでなく、導入遺伝子によってどのように性質が変わるかも考慮した上で施設の構造と必要な設備を考え、適切な取扱いの方法を選択すべきである。

すでに述べたように、適切な拡散防止措置はハード要件とソフト要件の二つが確実に満たされることで初めて成り立つもので、どちらか一方を満たせばよいというものではない。要はハード要件を満たす施設と設備を備えたうえで、ソフト要件を確実に実施することである。

① ハード要件

- ・ 実験室・飼育室の構造・設備
- ・ 拡散・逃亡させないような装置
- ・ 不活化させる装置

② ソフト要件

- ・ ハード要件の適切な取り扱い
- ・ 拡散・逃亡させないような方法
- ・ 不活化させる方法

3. ハード要件の概要

ハード要件では遺伝子組換え生物等を実験室・飼育室から外部に逃がさない構造と設備を備えることが前提であるが、これはあくまでも対象動物の特性と導入遺伝子の機能に応じたものであればよく、過剰な構造や設備を要求しているものではない。要は拡散の経路が確実に遮断できればよいのである。

① 実験室・飼育室

対象となる動物が通常飼養されるために用いられる飼育室としての構造と設備が必要である。また、ケージ、水槽、飼育容器などに入れる、場合によってはさらにこれらを飼育装置に入れるなど、二重、三重の拡散防止措置を執っておくことが望ましい。

② 拡散・逃亡防止装置

例えば、飛翔する動物であれば実験室・飼育室の扉、窓、通気口などにそれぞれ逃亡を防止するた

めの設備を備える必要がある。また、外部からの昆虫やげっ歯類の侵入を防ぐ設備も必要である。実験・飼育中は扉や窓を開放してはならないのはどの生物種でも共通の要件である。特に出入り口の扉は開閉時に動物が逃亡する危険性が高いので、逃亡防止の装置（動物が逸走しない高さの板や網など）を付けるか、前室を設けるなどの措置が必要である。また、扉は直接屋外には通じていないような構造にしておく必要もあろう。一方、水棲動物では、排水溝から飼育水と一緒に流れ出る危険性に十分に配慮しておく必要があり、排水溝にはフタをする、水槽は排水溝の近くにはおけない構造にする、シンクの排水口には必ずメッシュを入れるなどの措置が必要である。さらに、カルタヘナ法では配偶子も生物として規制の対象であるので、受精能を持つ精子および受精・未受精を問わず卵を飼育水とともに外部環境に流出させることは厳禁である。卵についてはトラップできるサイズのメッシュを排水口に設置することで流出を防ぐことは可能であるが、精子についてはメッシュでのトラップはほぼ不可能であるため、排水する前に適切な不活化の処理を行う必要がある。

③ 安全キャビネット

安全キャビネットはP2レベル以上の遺伝子組換え微生物を使用する際は必要とされるが、エアロゾルが生じやすい操作をする場合に限られている。しかし、二種省令にはエアロゾルが生じやすい操作とは具体的に何か記されていないので、安全キャビネットが必要かどうかの判断に困る。エアロゾルは遠心、摩砕、破碎、激しい振盪・混和、超音波処理、白金耳の火炎による滅菌のみならず、ピペットから試料液を排出する際にも発生する。したがって、通常行う多くの実験操作で発生すると考えてよい。そうすると、エアロゾルが生じやすい操作を考えるより、生じない操作は何かを考えるほうがよいであろう。エアロゾルが生じないと言い切るには、その操作を十分に精査した上で判断すべきで、そのためには科学的な根拠も必要と思われる。こう考えると、P2レベル以上の遺伝子組換えウイルス等を使用する実験およびそれらを接種する動物使用実験では安全キャビネットはほぼ必須と考えてよいかもしれない。一方、P1レベルの遺伝子組換えウイルス等を使用する実験においては、エアロゾルの発生を最小限に抑えればよいのであるが、扱うウイルスが人に感染するリスクが考えられるのであれば、安全キャビネット内で操作する必要があると思われる。

④ 不活化装置

不活化装置としては、オートクレーブや焼却炉、乾熱滅菌、冷凍庫、薬液槽などが考えられ、動物種に応じたやり方でよいと思われる。ただし、オートクレーブや焼却炉以外では、確実に不活化できる条件や処理時間を予め確認しておく必要があろう。

また、遺伝子組換えウイルス等が接種された動物ではオートクレーブあるいは焼却処理が必要である。P2レベルであれば、オートクレーブは実験室・飼育室と同じ建物にある必要がある。二種省令にあるオートクレーブの場所の記述から判断すると焼却炉も本来は同じ建物にある必要があるのかもしれないが、二種省令にはそこは書かれていない。焼却炉は焼却施設として別の建物にあることが多いであろうから、実験室から焼却施設まで運ぶには屋外を通る必要があると思われる。運搬の途中で遺伝子組換えウイルス等が漏出することがなく、確実に焼却による不活化が達成できるようなルールを機関で作っておく必要があるだろう。これについては後述のソフト要件の項でも少し述べる。

⑤ ふん尿等の回収・処理設備

遺伝子組換えウイルス等がふん尿に含まれる場合は、そのための回収と処理設備が必要とされる。

遺伝子組換えウイルス等がふん尿に含まれない場合は、その動物の通常のふん尿と同様に回収・処理すればよいであろう。また、水棲動物ではふん尿は飼育水中に放出され、ふん尿そのものを回収することができないので、回収・処理設備の設置は想定されない。しかし、遺伝子組換えウイルス等がふん尿とともに飼育水中に放出される場合には不活化処理が必要となるので、そのための飼育水の処理設備・装置などが必要となる。

4. ソフト要件の概要

遺伝子組換え動物の拡散を防止するためには、二種省令別表第四の一～四の(ロ)に記載されているソフト要件を遵守しなければならない。まずは対象動物の特性を十分に理解した上で、実験・飼育中に遺伝子組換え動物を絶対に逃がさないこと、廃棄は確実に不活化してから行うことが守られる必要がある。さらに、その他の幾つかの重要な要件があるので、これらにも十分な注意を払っておくべきであろう。

① 不活化の方法

遺伝子組換え動物の不活化もやはり動物の特性に合わせて行われるべきである。一般的には、遺伝子組換え生物の不活化とは完全な死滅を指しているものと思われるが、二種省令には、死滅をもって不活化とは記載されておらず、不活化の定義が曖昧である。一方、カルタヘナ法における生物の定義は「核酸を移転し又は複製する能力のある細胞等、ウイルス及びウイロイド」とされており、核酸の移転又は複製する能力のない細胞は生物とは見なされない。核酸を移転又は複製する能力がなくなれば、外部環境において生物多様性に悪影響を与えることはないと思われるので、当面はこれを基にした不活化の措置が執られればよいと思われる。もちろん、新たな分子生物学的手法が開発されている最近の状況を鑑みれば、不活化の解釈の動向についても常に注視しておく必要がある。

・ 遺伝子組換えウイルス等が存在しない動物

その遺伝子組換え動物の特性に応じた不活化の方法を執る。例えば、「動物の愛護及び管理に関する法律(動愛法)」及び「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」において定められた実験動物である哺乳類、鳥類、爬虫類については、同法及び同基準に基づき、麻酔処理による安楽死などの方法を執る。両生類、魚類、および一部無脊椎動物(頭足類のように神経系が発達し痛みを感じる生物)についても、麻酔処理による安楽死が望ましいであろう。また、昆虫や海産動物等は、オートクレーブ、乾熱滅菌、冷凍処理、薬剤処理などから適切な方法を選んで死滅させる。なお、オートクレーブや乾熱滅菌以外の方法、例えば冷凍処理については対象の動物が完全に死滅する温度と時間をあらかじめ調べる、薬剤処理などでは対象の動物が完全に死滅する濃度と時間をあらかじめ調べる、などを行うことで科学的な根拠を示し、それより長い時間をかけて十分な不活化を行うことが必要であろう。

・ 遺伝子組換えウイルス等が接種された動物

遺伝子組換えウイルス等を不活化するためには、通常はオートクレーブを行う。しかし、大型の動物ではオートクレーブが困難であることがあり、その場合は焼却処理が必要である。しかし、焼却設備が同じ建物にはないことが多いため、そこまでの運搬には遺伝子組換えウイルス等が漏れないような措置が必要である。そこで、各機関でカルタヘナ法を遵守した焼却のルールを策定しておくことを勧める。例えば、焼却施設を実験室の一つとし、焼却担当者を実験従事者に加え、焼却による不活化までを一連の

実験とするのは一つのやり方かもしれない。この場合は、遺伝子組換えウイルス等を接種した動物を安楽死させ、二重にした密封できる袋に入れて口をしっかりと閉じたうえで実験室から運び出す。もちろん、焼却施設は適切な拡散防止措置が執られている必要があり、さらに焼却の記録を残しておくといふ。

・ 飼育水

水棲の遺伝子組換え動物の飼育で最も頭が痛いのは配偶子、特に精子である。精子は微小なために、排水口のメッシュなどにトラップされないので、飼育水をそのまま排水すると遺伝子組換え動物の配偶子を環境中に放出することになり、カルタヘナ法違反となる。したがって、精子が不活化されてから排水しなければならない。飼育水を不活化する方法としては、遺伝子組換え微生物と同様にオートクレーブ処理が考えられるが、飼育水の量が多い場合は困難である。次亜塩素酸ナトリウムなどの投与による薬剤処理であればある程度量が多くても可能であるが、排水後の環境への影響は考慮しておく必要がある。一方、精子は放精後比較的短時間で運動しなくなり受精できなくなる。完全に運動能がなくなり受精能が消失すれば、カルタヘナ法における生物の定義である「核酸を移転し又は複製する能力のある細胞等」から外れ、法規制の対象外になると思われる。したがって、運動能と受精能が完全に消失する時間を調べ科学的な根拠として示すことで、特別な処理をすることなく排水が可能となるものと思われる。実際には、排水は運動能と受精能が消失する時間の何倍かの時間を経た後に行うべきである。

② 扉の開閉

動物の逸走・逃亡は、飼育室の扉の開閉時に最もおこりやすいと考えられる。扉の開閉はできるだけ短時間で行うことに努め、開放は厳禁である。

③ 遺伝子組換え動物の識別と飼育数の確認

遺伝子組換え動物の識別と飼育数の確認は、マウスやラットなどの実験動物では通常行われているはずであるが、鳥類などでも同様に行う必要がある。カエルでは、飼育数の確認はオタマジャクシの段階では困難と思われるが、成体での確認は必要であろう。小型魚類や昆虫など、個体数を数えるのが困難な動物では、水槽や飼育容器などの数の確認を行うべきである。いずれも、水槽や飼育容器にはラベル等を張ることで遺伝子組換え動物の種類を識別できるような措置を講じなければならない。

④ 表示

実験室・飼育室には P1A であれば「組換え動物飼育中」、P2A であれば「組換え動物飼育中 (P2)」の表示を忘れてはならない。

5. 保管の概要

遺伝子組換え動物が配偶子などで保管できる場合は、それらの特性に応じて漏れ出たりすることがないような容器に入れて適切な場所に保管し、遺伝子組換え生物が保管してある旨の表示を行う必要がある。しかし、配偶子などの形で保管できない場合は、飼育を続けなければならない。この場合、特に何も実験しない状況で系統を維持するだけでも動物作成実験と見なされるので、実験計画書を提出し機関の承認を受ける必要がある。

6. 運搬の概要

遺伝子組換え動物を運搬する場合は、それらの特性に応じて拡散・逃亡しないような容器に入れ、さ

らにそれを別の容器に入れるなど、二重、三重の拡散防止策を講じておくとい。また、最も外側の容器には取扱に注意を要する旨の表示を行う必要がある。さらに、他機関への譲渡の場合には情報提供が必要である。

7. 大臣確認実験について

遺伝子組換え動物を使用する実験における大臣確認申請で最もありそうなものは「実験を通じて増殖する遺伝子組換えウイルス等の接種実験」である。接種する遺伝子組換えウイルス及び接種される動物の特性を鑑みて、適切な拡散防止措置を検討したうえで申請を行う必要がある。また、動物を宿主とし、供与核酸から哺乳類等に病原性がある微生物等の感染を引き起こす受容体を発現させる場合（例えば、昆虫や鳥類などで、ヒトに感染する病原体の受容体を発現させる、など）も大臣確認の申請が必要なので注意されたい。

*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

**二種省令: 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

***二種告示: 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