

# ウイルスを用いた遺伝子組換え実験を行なう際の留意事項

二階堂 孝彦<sup>1)</sup>, 竹内 薫<sup>2)</sup>

1) 文部科学省 研究振興局 ライフサイエンス課 生命倫理・安全対策室,

2) 筑波大学大学院 人間総合科学研究科 感染生物学

## 1. はじめに

平成16年2月、いわゆるカルタヘナ法が施行され、それまで、「組換えDNA実験指針」に基づいて行われていた遺伝子組換え実験は、カルタヘナ法に基づき行われることが必要とされました。

遺伝子組換え実験を行う際に守らなければならないルールは多岐に渡ります。しかしながら、生物系研究者が、実際に遺伝子組換え実験を行う上で最も大切なことは、実験に用いる遺伝子組換え生物を実験室の外へ拡散させないよう、適切な拡散防止措置を講じることです。

この講じるべき拡散防止措置には、遺伝子組換え実験の性質に応じて、既に定められているものと、定められていないものの2通りがあります。前者の場合には、既に定められている拡散防止措置を講じればよいのですが、後者の場合には、実験を開始する前に、講じようとする拡散防止措置について文部科学大臣宛に申請書を提出し、大臣の確認を受けておく必要があります。この制度が通称、「大臣確

認」と呼ばれるものです。しかしながら、こういった場合にはどのような様式を用いて、どのように記載すれば良いのか分からないという声が度々聞かれるところです。

そこで、今回は、遺伝子組換え実験、特に、ウイルスを用いた遺伝子組換え実験を行う方々へ、大臣確認を中心としたカルタヘナ法の制度について説明します。

なお、文部科学省ホームページ (<http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/anzen.html#kumikae>) では、カルタヘナ法の全体像、遺伝子組換え実験を行う際の注意点、大臣確認申請の方法、Q & A などカルタヘナ法に関する情報が満載です。是非一度御覧下さい。

## 2. カルタヘナ法の概要

既に熟知している方々も多いかと思いますが、最初に、制度の概要を簡単におさらいしたいと思います。

なお、本章は、前述の文部科学省ホームページに掲載している「基本情報」を加筆・修正したものです。さらなる情報につきましては、当該ホームページを御覧下さい。

### 連絡先

二階堂孝彦

〒100-8959 東京都千代田区丸の内2-5-1

文部科学省 研究振興局 ライフサイエンス課 生命倫理・安全対策室

TEL : 03-6734-4108

FAX : 03-6734-4114

E-mail : [tnikaido@mext.go.jp](mailto:tnikaido@mext.go.jp)

竹内 薫

〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1

筑波大学大学院 人間総合科学研究科 感染生物学

TEL : 029-853-3472

FAX : 029-853-3472

E-mail : [ktakench@md.tsukuba.ac.jp](mailto:ktakench@md.tsukuba.ac.jp)

### カルタヘナ法の誕生

1993年、「生物の多様性に関する条約」が発効しました。本条約では、遺伝子組換え生物に関する取扱いを定めた議定書について検討することを求めています。こうして、2000年、遺伝子組換え生物の取扱いについて国際的な枠組みを定めた、「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（いわゆるカルタヘナ議定書）」が採択されました。

カルタヘナ議定書は2003年に発効し、我が国も同年に締結しましたが、この議定書に基づく義務を履行するため、同年6月に、いわゆるカルタヘナ法が公布され、翌年2月に施行されました。

### 法が規制しているのは何？

では、原点に立ち返って、カルタヘナ法が規制している

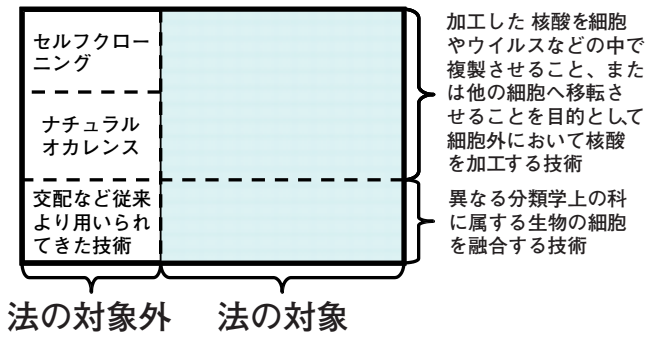


図1 遺伝子組換え技術の定義

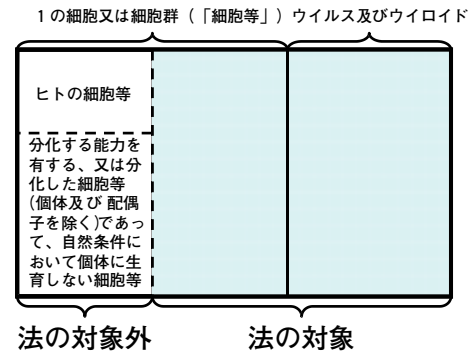


図2 生物の定義

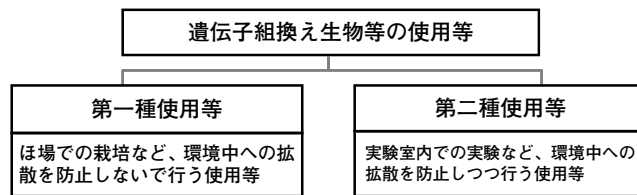


図3 「第一種使用等」と「第二種使用等」

対象とは一体何であるのかについて考えてみたいと思います。その答えは、カルタヘナ法の正式名称の中に明記されています。カルタヘナ法の正式名称は「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」という、とても長いものですが、この中に「遺伝子組換え生物等の使用等」とあります。そう、カルタヘナ法が規制しているのは「遺伝子組換え生物等の使用等」です。

この意味を、別の言葉により強調したいと思います。「遺伝子組換え生物等を使用等する全ての者は、カルタヘナ法に従わなければならない」ということです。

では、カルタヘナ法により規制される「遺伝子組換え生物等の使用等」とは一体何でしょう？この意味を正確に理解するためには、「遺伝子組換え生物等」と「使用等」のそれぞれの言葉の意味を正しく知ることが必要です。

**「遺伝子組換え生物等」＝「遺伝子組換え技術」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」**

最初に「遺伝子組換え生物等」の意味ですが、これは「遺伝子組換え技術」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」のことです。この「遺伝子組換え技術」そして「生物」、ともにカルタヘナ法上できちんと意味が定められていますので、次にこれらの言葉の意味を説明します。

**「遺伝子組換え技術」≡「細胞外において核酸を加工する技術」－「ナチュラルオカレンスとセルフクローニング」**

「遺伝子組換え技術」とは、加工した核酸を細胞やウイルスなどの中で複製させることや他の細胞へ移転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から、いわゆるナチュラルオカレンスとセルフクローニングを除いたものです(図1)。なお、細胞融合も遺伝子組換え技術の1つですがその説明は本稿では省略します。

**ウイルスも「生物」**

では、次に「生物」の意味です。カルタヘナ法における生物ですが、

- (1) 一の細胞(細胞群を構成しているものを除く。)又は細胞群から、
  - ① ヒトの細胞等、
  - ② 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生育しないもの、
 を除いたもの、
- (2) ウイルス及びウイロイド、

を指します(図2)。特に注目したいのは、カルタヘナ法ではウイルスを生物として定義していることです。ウイルスは生物であるか否かについての議論はさておき、法で生物と定義している以上はこれに従う必要があります。

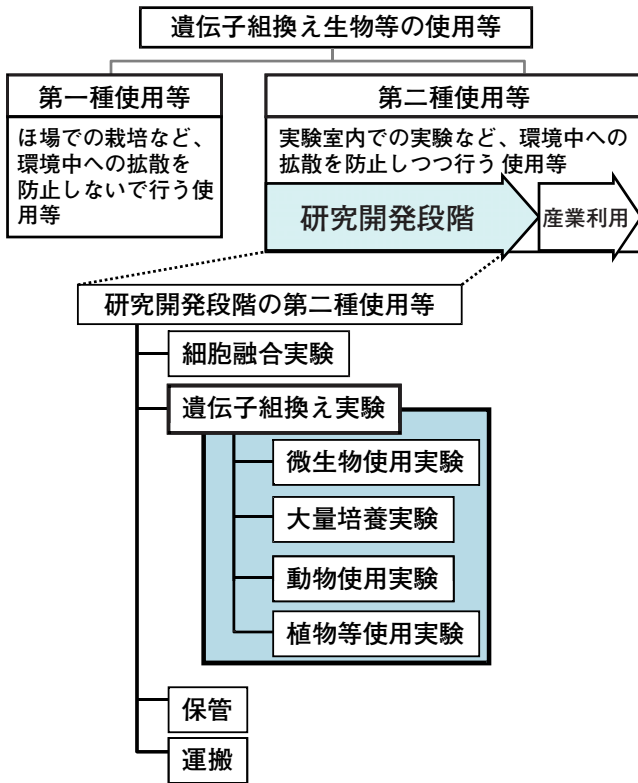


図4 遺伝子組換え実験

以上で「遺伝子組換え生物等」の意味が明らかになりました。次は「使用等」の意味です。

「使用等」とはあらゆる行為のこと

「使用等」の意味はとても簡単です。あらゆる行為、これが「使用等」の意味です。したがって、遺伝子組換え実験で行われるあらゆる行為（攪拌、培養、飼育、接種、保管、運搬など）も当然この「使用等」に含まれることになります。

第一種「使用等」と第二種「使用等」

ところが、カルタヘナ法では、「使用等」を、環境中への遺伝子組換え生物等の拡散を防止する意図の有無で二つに分けています。これが、「第一種使用等」と「第二種使用等」と呼ばれるものです（図3）。

「第一種使用等」とは、例えば遺伝子組換え植物のは場での栽培など、環境中への拡散を防止しないで行う使用等のことです。一方、「第二種使用等」とは、例えば研究室での実験など、施設外の環境中へ遺伝子組換え生物等の拡散を防止させる意図をもって行う使用等のことです。

ウイルスの遺伝子を改変する実験、また、遺伝子を改変したウイルスを用いる実験を行う方々は、通常、ウイルスの環境中への拡散を防止する意図をもって「第二種使用等」

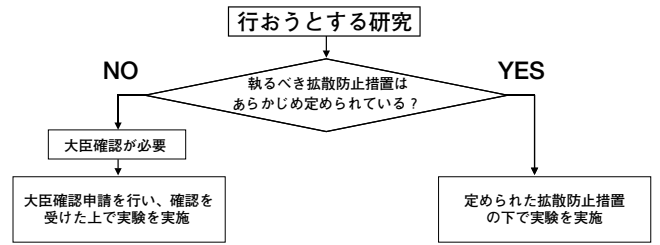


図5 大臣確認実験と機関実験

を行っているでしょうから、本稿では「第一種使用等」の説明は省略します。

「遺伝子組換え実験」≡「研究開発段階の第二種使用等」

では、本章の最後に、「遺伝子組換え実験」の正確な意味について触れておきたいと思います。「遺伝子組換え実験」という言葉は、研究の現場で当たり前のように用いられているので、今更意味をと言われてもとまどう方々がいるかもしれませんが、しかしながら、「遺伝子組換え実験」は、法に基づいてきちんと定義された言葉なのです。

遺伝子組換え実験とは、研究開発段階の第二種使用等から、細胞融合実験、保管及び運搬を除いたものとして定義されています（図4）。

ただし、通常は、遺伝子組換え実験は「拡散防止措置を講じた上で、遺伝子組換え生物等を研究目的に用いること」と理解していれば十分でしょう。

3. 遺伝子組換え実験を行う際のルール

前章では制度の概要について簡単におさらいしました。そこで、ここでは遺伝子組換え実験を行う際に守るべきルールについて説明したいと思います。

機関実験と大臣確認実験

カルタヘナ法では、遺伝子組換え実験を行う場合、

- ①執るべき拡散防止措置が定められている場合には、その措置の下で遺伝子組換え実験を行うこと（カルタヘナ法第十二条）、
- ②執るべき拡散防止措置が定められていない場合には、文部科学大臣の確認を受けた拡散防止措置を執ること（カルタヘナ法第十三条）、

を規定しています（図5）。これが、いわゆる「機関実験（①）」と「大臣確認実験（②）」です。したがって、遺伝子組換え実験を行う方は、大臣確認が必要である実験か否かについて判断し、必要である場合には大臣確認申請書を文部科学大臣宛に提出し、大臣の確認を受ける必要があります。大臣確認が必要ないということは、機関実験ということですから、P1 や P2A といった別途定められている拡散

防止措置を執る必要があります。

ここで注意すべきことは、大臣確認の場合、「文部科学大臣の確認を受けた拡散防止措置を執ること」を求めていますので、遺伝子組換え実験を行う前にあらかじめ文部科学大臣の確認を受けておかなければならないということです。事後確認では法律違反となります。

### 保管と運搬を行う場合に必要措置

遺伝子組換え生物等の保管や運搬を行う場合には、P1やP2Aといった拡散防止措置ではなく、それぞれ独自の措置を講じる必要があります。

ただし、ここでいう保管や運搬は、遺伝子組換え実験中に行われる保管や運搬とは異なるということに注意しなければなりません。遺伝子組換え実験中に実験室内で行われる保管や運搬は、遺伝子組換え実験として扱われます。よって、それぞれの実験に応じて定められているP1やP2Aといった拡散防止措置が適用されます。

保管と運搬を行う場合の具体的な措置については以下の通りです。

#### 保管の場合

- ① 遺伝子組換え生物等の漏出や逃亡などが起こらないようしっかりと密閉する
- ② 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
- ③ 所定の場所に保管する
- ④ 冷蔵庫などの保管場所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

#### 運搬の場合

- ① 遺伝子組換え生物等の漏出や逃亡などが起こらないようしっかりと密閉する
- ② 最も外側の容器の見やすい箇所に取扱いに注意を要する旨を表示する
- ③ P3, P3A, P3P, LS2 レベルが必要とされる遺伝子組換え生物等については、容器を二重にし、内側の容器が破損しても遺伝子組換え生物等の漏出や逃亡が起こらない構造とする

### 譲渡する場合には情報提供が必要

「自分が所属する研究機関で、ある遺伝子組換え微生物を作製したところ、別の研究機関から提供してほしいという申し込みがあった。」

研究の現場では比較的よくある光景でしょう。しかしながら、実際に提供を行う場合には、提供する相手に対して情報提供を行わなければなりません（カルタヘナ法第二十六条）。

提供すべき情報は、

- ① 遺伝子組換え生物等の第二種使用等をしている旨
- ② 宿主又は親生物の名称

③ 核酸又はその複製物の名称

④ 譲渡者の氏名及び住所（法人にあってはその名称と責任者の氏名及び連絡先）とされています。

しかしながら、提供を受ける研究者の方々はその遺伝子組換え生物等を当然遺伝子組換え実験に用いることを想定しているでしょうし、遺伝子組換え実験を行う際には、前述のように、適切な拡散防止措置を講じる必要があることもご存じでしょう。この拡散防止措置を決定するためには①～④の情報だけでは不十分でしょうから、十分な情報を提供するように努めて下さい。

また、提供を依頼する場合でも、提供元に対し、①～④の情報のみならず、拡散防止措置を決定するために十分な情報もあわせて要求することが大事です。

### 輸入の場合に気を付けること

諸外国の研究機関や試薬販売会社から、遺伝子組換え実験に供するために、遺伝子組換え生物等を輸入する場合には、どのような手続きを経れば良いのでしょうか？この場合、通常、文部科学省への事前手続きなどの特別な規定はありませんが、遺伝子組換え生物等の性質により、感染症予防法や家畜伝染病予防法などのカルタヘナ法以外の法律により、輸入に当たっての制限が課せられている場合がありますので注意が必要です。

また、前述のように、輸入した遺伝子組換え生物等を用いて遺伝子組換え実験を行うためには適切な拡散防止措置を講じる必要があります。このためには、拡散防止措置を決定するために十分な情報を入手しなければなりません。特に、アメリカ合衆国などのカルタヘナ議定書非締約国から遺伝子組換え生物等を輸入する場合には、議定書に基づく輸入の際の表示が行われていない可能性がありますので、十分に注意して下さい。

### 輸出の場合に気を付けること

では、逆に、諸外国の研究機関などへ遺伝子組換え生物等を送る場合にはどうしたらよいのでしょうか？アメリカ合衆国を相手としたケースが最も多く起こりうるケースでしょうが、ご存じの通り、アメリカ合衆国はカルタヘナ議定書の非締約国です。特段の規定はありません。

では、イギリス、フランスなどのカルタヘナ議定書の締約国に遺伝子組換え生物等を送る場合にはどうしたらよいのでしょうか？通常、研究者の方々が諸外国に遺伝子組換え生物等を送る場合、相手先ではその遺伝子組換え生物等を一定の拡散防止措置を執った上で実験に用いることが想定されますので、この場合には、輸出する遺伝子組換え生物等に、定められた様式に必要事項を記入して添付すれば良いとされています（カルタヘナ法第二十七条～第二十九条）。

では、相手方が拡散防止措置を執らずに遺伝子組換え実

験を行う場合にはどうすれば良いのでしょうか？この場合には、相手国に対し、輸出する旨の通告を行う必要がありますが、こうしたケースは稀でしょうし、ここでの説明は省略します。

#### 事故が起きたときには、一刻も早く応急措置を、そして連絡を！

最後に、事故が起きた場合の措置について説明します。ここでいう事故とは、遺伝子組換え実験を行っている施設などが破損して、法で定める適切な拡散防止措置を講じることができなくなった場合のことを指します。

もちろん、一番大事な事は、事故を起こさぬよう万全の注意を払うことです。しかしながら、万一、事故が発生した場合には、直ちに応急処置（例：実験室の窓をテープでふさぐなど）を講じてください。そして、速やかに、事故の状況や応急措置の内容について文部科学省まで連絡して下さい。

#### 4. ウイルスを用いた遺伝子組換え実験で大臣確認が必要となるもの

前章では、遺伝子組換え実験を行う際に守らなければならないルールについて説明しましたが、このルールの中でも、「大臣確認」に関するものが、ウイルスを用いて遺伝子組換え実験を行う研究者の方々にとって最も煩雑なものではないでしょうか。この「大臣確認」に関するルールは、いわゆる「研究開発二種省令」（「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を定める省令」（平成16年文部科学省・環境省令第1号））で定められています。そこで、この章では、「ウイルスを用いて遺伝子組換え実験を行う場合、どのようなものが大臣確認の対象となるのか」という点に関し、説明したいと思います。

#### 最初のステップは「実験分類」を決定すること

大臣確認を必要とする遺伝子組換え実験を決定するためには、最初に、実験に用いようとするウイルスの実験分類

を決定しなければなりません。実験分類は、生物等のリスクに応じて、クラス1からクラス4まで分類されています（表1）。

では、それぞれのクラスに該当する具体的なウイルス名はどこにあるのかというと、いわゆる「研究開発二種告示」（「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」（平成16年文部科学省告示第7号））別表第二に記載されています。研究開発二種告示別表第二のうち、ウイルスのみを抜き出した表を（表2）として末尾に付けていますので適宜参照して下さい。

#### 「研究開発二種省令別表第一」：大臣確認が必要な遺伝子組換え実験のリスト

ウイルスの実験分類を決定した後は、いよいよ遺伝子組換え実験が大臣確認を必要とするのか否かを決定することとなります。この方法は、次の単純な質問に答えるだけという実にシンプルなものです。

「あなたが行おうとする遺伝子組換え実験は、研究開発二種省令別表第一に記載されているものですか？」

研究開発二種省令別表第一は表3として付しています。もし、この答えがYESであれば大臣確認が必要となりますが、もし、この答えがNOであれば、大臣確認を必要とせず、機関実験として遺伝子組換え実験を行うこととなります。

しかしながら、問いは単純であっても、答えを探すのは意外に難しいものです。そこで、次に、この答えを探すヒントをいくつか挙げたいと思います。ただし、あくまでも以下の説明は、ウイルスを用いた遺伝子組換え実験を行う場合に、その実験が大臣確認を必要とするのか否かを判定するためのヒントです。ウイルスを用いない場合はもとより、ウイルスを用いる場合であっても、是非自分自身で別表第一を確認し、理解するよう努めて下さい。

表1 実験分類の基準

クラス	基準
クラス1	哺乳動物等（哺乳綱及び鳥綱に属する動物、ヒトを含む）に対する病原性がないもの
クラス2	哺乳動物等に対する病原性が低いもの
クラス3	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
クラス4	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

表2 ウイルスの実験分類

クラス	ウイルス名
1	ウイルス及びウイルス以外のうち、口及び目に掲げるもの 次に掲げるもの Adenovirus (Fowl adenovirus1型から3型まで及び5型から11型まで Equine adenovirus、Porcine adenovirus1型から4型まで並びに Turkey adenovirus1型及び2型に限る。) Avian astrovirus Avian pneumovirus Avian reovirus Avian enterovirus Bovine immunodeficiency virus (略称 BIV) Bovine enterovirus (1型及び2型) Equine herpesvirus2型及び5型から8型まで Getah virus Kilham rat virus

	<p>Lactic dehydrogenase virus  Lucke virus  Mouse encephalomyelitis virus  Parvovirus (Bovine parvovirus、Canine parvovirus、Feline parvovirus、Goose parvovirus、Mink parvovirus、Porcine parvovirus を除く。Adeno-associated virus を含む。)  Pneumonia virus of mice (略称 PVM)  Poikilothermal vertebrate retrovirus  Porcine enterovirus A 型及び B 型  Reovirus 1 型から 3 型まで  Shope fibroma virus  Turkey herpesvirus  Viroid (Viroid 様 Hepatitis D virus を含まない。)</p> <p>ロ 次に掲げるもの  Bacterial viruses (溶原化により哺乳動物等に対する病原性を付与しないものに限る。)  Fish viruses  Insect viruses (哺乳動物等に病原性があるものを除く。)  Plant viruses  次項(2)、3 の項(2)及び 4 の項に掲げるもの以外のもの (哺乳動物等に対する病原性がないものに限る。)</p> <p>ハ 次項(2)、3 の項(2)及び 4 の項に掲げるもの (Rinderpest virus 及び Vaccinia virus を除く) の薬事法 (昭和 35 年法律第 145 号) 第 14 条第 1 項 (同法第 83 条第 1 項において適用する場合を含む) の規定により承認を受けた生ワクチン株 (以下「承認生ワクチン株」という)</p>	<p>等に対する病原性がない株であって、使用等を通じて自立的な増殖力及び感染力又は病原性を獲得することがないものをいう。以下同じ。)</p> <p>Human metapneumovirus  Human parechovirus  Human rhinovirus A  Human rhinovirus B  Ibaraki virus  Infectious bursal disease virus  Infectious laryngotracheitis virus  Infectious bovine rhinotracheitis virus  Influenza virus (高病原性株を除く。)  Japanese encephalitis virus  Kasba (別名 Chuzan) virus  La Crosse virus  Langat virus  Lagovirus  LCM (Lymphocytic choriomeningitis) virus  Ljungan virus  Mammalian retrovirus (Bovine immunodeficiency virus (略称 BIV) 並びに Human immunodeficiency virus (略称 HIV) 1 型及び 2 型を除き、Human T-cell leukemia lymphoma virus (略称 HTLV) I 型及び II 型を含む。)  Marek's disease virus  Measles virus  Molluscum contagiosum virus  Monkeypox virus  Mumps virus  Newcastle disease virus  Norwalk-Like viruses  O'Nyong_Nyong virus  Papillomavirus  Parainfluenza virus 1 型から 4 型まで (Sendai virus を含む)  Parvovirus (Bovine parvovirus、Canine parvovirus、Feline parvovirus、Goose parvovirus、Mink parvovirus、Porcine parvovirus に限る)  Pichinde virus  Poliovirus (1 型、2 型及び 3 型)  Polyomavirus  Porcine circovirus  Porcine reproductive and respiratory syndrome virus  Porcine teschovirus  Pseudorabies virus (別名 Porcine herpesvirus 1 型)  Rabies virus の固定株及び弱毒化株  Rio Bravo virus  Ross river virus  Rotavirus A 型、B 型、C 型、D 型、E 型、F 型及び G 型  Respiratory syncytial virus  Rubella virus  Simian virus 5  Simbu virus  Simian herpesvirus (Cercopithecine herpesvirus 1 型 (別名 B_virus) 及び Herpes ateles virus を除く)  Sapporo-Like viruses  Sindbis virus  Semliki Forest virus の増殖力等欠損株  Swine pox virus  Swine vesicular disease virus  Tanapox virus  TT virus  Vaccinia virus  Varicella_zoster virus  Vesicular stomatitis Alagoas virus  Vesicular stomatitis Indiana virus  Vesicular stomatitis New Jersey virus  Vesivirus  Woodchuck hepatitis virus  Yaba monkey tumor virus</p> <p>ロ 次に掲げるもの  Rinderpest virus (生ワクチン株に限る)  Vaccinia virus</p>
2	<p>真核生物を宿主とするウイルス及びウイロイドのうちイ及びロに掲げるもの  イ 次に掲げるもの (承認生ワクチン株を除く。)  Adenovirus (Fowl adenovirus 1 型から 3 型まで及び 5 型から 11 型まで、Equine adenovirus、Porcine adenovirus 1 型から 4 型まで並びに Turkey adenovirus 1 型及び 2 型を除く。)  Aichi virus  Aino virus  Akabane virus  Apoi virus  Avian encephalomyelitis virus  Avian pox virus  Avian retrovirus  Batai virus  Bluetongue virus  Border disease virus  Borna disease virus  Bovine viral diarrhea virus  Bovine papular stomatitis virus  Bovine ephemeral fever virus  Bunyamwera virus  California encephalitis virus  Canine distemper virus  Canine herpesvirus  Chicken anemia virus  Cowpox virus  Coronavirus (SARS coronavirus を除く。)  Cytomegalovirus  Dengue virus 1 型から 4 型まで  Duck hepatitis virus  Epstein_Barr (略称 EB) virus  Ectromelia virus  Encephalomyocarditis (略称 EMC) virus  Epizootic hemorrhagic disease virus  Erythrovirus (B19 virus に限る)  Equine arteritis virus  Equine herpesvirus 1 型、3 型、4 型及び 9 型  Feline herpesvirus  GB virus B  Gibbon ape leukemia virus  Hepatitis A virus  Hepatitis B virus  Hepatitis C virus  Hepatitis D virus  Hepatitis E virus  Hepatitis G virus  Herpes simplex virus 1 型及び 2 型  Human astrovirus  Human enterovirus (Human coxsackievirus 及び Human echovirus を含む。)  Human herpesvirus 6 型から 8 型まで  Human immunodeficiency virus (略称 HIV) 1 型の増殖力等欠損株 (自立的な増殖力及び感染力を保持せず、かつ、哺乳動物</p>	<p>3 真核生物を宿主とするウイルス及びウイロイドのうち、次に掲げるもの (承認生ワクチン株を除く。)  African horse sickness virus  African swine fever virus  Cercopithecine herpesvirus 1 型 (別名 B_virus)  Chikungunya virus  Colorado tick fever virus  Eastern equine encephalitis virus</p>

	Foot_and_mouth disease virus Hantaan virus Herpes ateles virus Hog cholera virus Human immunodeficiency virus (略称 HIV) 1 型 (増殖力等欠損株を除く) 及び 2 型 Influenza virus の高病原性株 Kyasanur Forest disease virus Mayaro virus Murray Valley encephalitis virus Negishi virus Powassan virus Rabies virus (固定株及び弱毒化株を除く) Rift Valley fever virus Rinderpest virus SARS coronavirus Semliki Forest virus (増殖力等欠損株を除く) St. Louis encephalitis virus Tacaribe virus Tick_borne encephalitis virus Venezuelan equine encephalitis virus Western equine encephalitis virus West Nile virus Yellow fever virus
4	真核生物を宿主とするウイルス及びウイロイドのうち次に掲げるもの (承認生ワクチン株を除く) Crimean_Congo hemorrhagic fever virus Cote d'Ivoire Ebola virus Reston Ebola virus Sudan Ebola virus Zaire Ebola virus Hendra virus Junin virus Lassa virus Machupo virus Marburg virus Nipah virus Russian spring_summer encephalitis virus Variola major virus Variola minor virus

### 無条件に大臣確認が必要なクラス 4 のウイルス

別表第一の中で最も分かりやすいルールが、リスクが高いクラス 4 のウイルスを用いる場合には無条件に大臣確認が必要であるというものです。これを規定しているのが、別表第一第一号ロです。

#### ロ 宿主の実験分類又は核酸供与体の実験分類のいずれかがクラス 4 である遺伝子組換え生物等

クラス 4 とは、病原性、伝播性ともに高いもので、具体的には、エボラ出血熱ウイルスやマールブルグウイルスなどの危険なウイルスが該当します。よって、これらを用いて遺伝子組換え実験を行う場合には大臣確認が必要となります。

### 条件付きで大臣確認が必要なクラス 3

では、インフルエンザウイルスの高病原性株や西ナイルウイルスなどのクラス 3 に該当するウイルスの場合にはどうでしょうか。これを規定しているのが、別表第一第一号ハです。

表 3 研究開発二種省令別表第一

一 微生物使用実験のうち次のイからチまでに掲げる遺伝子組換え生物等に係るもの イ 宿主又は核酸供与体のいずれかが第三条の表各号の下欄に掲げるものの以外のものである遺伝子組換え生物等 (認定宿主ベクター系を用いた遺伝子組換え生物等であって、核酸供与体がウイルス及びウイロイド以外の生物 (ヒトを含む。) であるもののうち、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及び伝達性に係らないことが科学的知見に照らし推定されるものを除く。) ロ 宿主の実験分類又は核酸供与体の実験分類のいずれかがクラス 4 である遺伝子組換え生物等 ハ 宿主の実験分類がクラス 3 である遺伝子組換え生物等 ニ 認定宿主ベクター系を用いていない遺伝子組換え生物等であって、核酸供与体の実験分類がクラス 3 であるもののうち、供与核酸が同定済核酸でないもの又は同定済核酸であって哺乳動物等に対する病原性若しくは伝達性に係り、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 ホ 宿主の実験分類がクラス 2 である遺伝子組換え生物等 (ウイルス又はウイロイドであるものを除く。) であって、供与核酸が薬剤耐性遺伝子 (哺乳動物等が当該遺伝子組換え生物等に感染した場合に当該遺伝子組換え生物等に起因する感染症の治療が困難となる性質を当該遺伝子組換え生物等に対し付与するものに限る。) を含むもの ヘ 自立的な増殖力及び感染力を保持したウイルス又はウイロイド (文部科学大臣が定めるものを除く。) である遺伝子組換え生物等であって、その使用等を通じて増殖するもの ト 供与核酸が、哺乳動物等に対する半数致死量が体重一キログラム当たり百マイクログラム以下である蛋白性毒素に係る遺伝子を含む遺伝子組換え生物等 (宿主が大腸菌である認定宿主ベクター系を用いた遺伝子組換え生物等であって、供与核酸が哺乳動物等に対する半数致死量が体重一キログラム当たり百ナノグラムを超える蛋白性毒素に係る遺伝子を含むものを除く。) チ イからトまでに掲げるもののほか、文部科学大臣が定めるもの
二 大量培養実験のうち次のイからホまでに掲げる遺伝子組換え生物等に係るもの イ 第一号イからトまでに掲げる遺伝子組換え生物等 ロ 認定宿主ベクター系を用いていない遺伝子組換え生物等であって、宿主の実験分類又は核酸供与体の実験分類がクラス 2 であるもののうち、供与核酸が哺乳動物等に対する病原性又は伝達性に係り、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 ハ 特定認定宿主ベクター系を用いていない遺伝子組換え生物等であって、核酸供与体の実験分類がクラス 3 であるもの (第一号ニに掲げるものを除く。) ニ 第五条第二号イからハまでに掲げる遺伝子組換え生物等であって、その使用等において別表第三に掲げる L S C レベルの拡散防止措置を執るもの ホ イからニまでに掲げるもののほか、文部科学大臣が定めるもの
三 動物使用実験のうち次のイからニまでに掲げる遺伝子組換え生物等に係るもの イ 第一号イからトまでに掲げる遺伝子組換え生物等 ロ 宿主が動物である遺伝子組換え生物等であって、供与核酸が哺乳動物等に対する病原性がある微生物の感染を引き起こす受容体 (宿主と同一の分類学上の種に属する生物が有していないものに限る。) を宿主に対し付与する遺伝子を含むもの ハ 第五条第三号イからハまでに掲げる遺伝子組換え生物等であって、その使用等において別表第四に掲げる特定飼育区画の拡散防止措置を執るもの ニ イからハまでに掲げるもののほか、文部科学大臣が定めるもの
四 植物等使用実験のうち次のイからハまでに掲げる遺伝子組換え生物等に係るもの イ 第一号イからトまでに掲げる遺伝子組換え生物等 ロ 第五条第四号イからハまでに掲げる遺伝子組換え生物等であって、その使用等において別表第五に掲げる特定網室の拡散防止措置を執るもの ハ イ及びロに掲げるもののほか、文部科学大臣が定めるもの

### ハ 宿主の実験分類がクラス 3 である遺伝子組換え生物等

つまり、クラス 3 に該当するウイルスを宿主として用いる場合には、大臣確認が必要となります。クラス 3 とは、病原性は高いが伝播性は低いものであり、やはり危険なウイルスですから、これらを宿主として用いる遺伝子組換え

実験を行う場合には大臣確認が必要となります。

では、クラス3に該当するウイルスを宿主以外に用いる場合のルールですが、この場合、別表第一第一号ニに掲げる条件に該当すれば、大臣確認が必要となります。

**ニ 認定宿主ベクター系を用いていない遺伝子組換え生物等であって、核酸供与体の実験分類がクラス3であるもののうち、供与核酸が同定済核酸でないもの又は同定済核酸であって哺乳動物等に対する病原性若しくは伝達性に関係し、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**

**ウイルス研究者が避けて通れない壁：別表第一第一号へ**

大臣確認に該当するか否かを決定するに当たって、ウイルス研究者が最も気を付けなければならない規定、それが別表第一第一号への存在です。何故ならば、この規定は、ウイルスでありさえすれば、クラス1であろうが、クラス3であろうが関係なく適用されるからです。クラス3やクラス4のウイルスを用いる場合には前述の規定により大臣確認を要することを考慮すると、本規定はむしろクラス1やクラス2に該当するウイルスを用いる場合に最も注意を要するものかもしれません。

**ハ 自立的な増殖力及び感染力を保持したウイルス又はウイロイド（文部科学大臣が定めるものを除く。）である遺伝子組換え生物等であって、その使用等を通じて増殖するもの**

では、ウイルス研究者が最も気を付けなければならないこの別表第一第一号へについてさらなる説明を加えたいと思います。

**「実験系では増殖しない又は増殖力が極めて低いウイルス」は別表第一第一号へに該当するか？**

ウイルスの中には、C型肝炎ウイルス、ヒトパピローマウイルス、ノーウォークウイルスのように、培養細胞のみを使用した実験系では増殖しない又は増殖力が極めて低いことが知られているものがあります。こうしたウイルスを宿主として遺伝子組換え実験に用いる場合には、実験室では増殖しないことから、自立的な増殖力はないと判断され、別表第一第一号への規定に該当しないのでしょうか？この答えは「該当する」です。確かに実験室内では増殖しないとしても、自然界（動物体内）では増殖するわけですから、当然、別表第一第一号へに該当します。

**「特定の細胞のみで効率的に増殖するウイルス」は別表第一第一号へに該当するか？**

では、次に、哺乳動物細胞等ではほとんど増殖せず、ニワトリ胎児繊維芽細胞のみで効率的に増殖するワクシニアウイルス MVA 株や DI 株のようなものではどうでしょうか？これらのウイルスを用いて遺伝子組換え実験を行う場合には、特定の細胞のみで増殖することから、別表第一第一号へに該当しないのでしょうか？この答えも「該当する」です。特定の細胞とはいえども、やはり自然界で増殖するわけですから、当然、別表第一第一号へに該当します。

**「制限増殖型ウイルス」は別表第一第一号へに該当するか？**

前述のウイルスは、いずれもその野生型株（非組換え株）の実験室での増殖効率が低いか増殖する細胞の特異性が高いウイルスです。では、遺伝子改変により、腫瘍細胞等で特異的に増殖する、いわゆる「制限増殖型」として知られているウイルスについてはどうでしょうか。こうしたウイルスについても、前述の考え方により、別表第一第一号へに該当します。すなわち、制限増殖型ウイルスの増殖対象となる細胞が自然状態に存在する細胞（例えば腫瘍細胞）であれば、そのウイルスは自然界で増えることとなり、よって自立的な増殖力及び感染力を有するということとなります。

**「増殖力欠損型ウイルス」は別表第一第一号へに該当するか？**

では、この別表第一第一号への要件を満たさないウイルスとは一体どのようなものなのでしょうか？それが、遺伝子改変により、自立的な増殖力を欠損させた、いわゆる「増殖力欠損型」ウイルスです。このタイプのウイルスは、自然界で増えることはありませんので、別表第一第一号へに該当しません。

ただし、「増殖力欠損型」ウイルスを遺伝子組換え実験に用いているからといって、即大臣確認が不要になると判断するのは性急です。ここに、「増殖力欠損型」ウイルスを用いても大臣確認が必要となる典型的な2つの例を紹介します。

**増殖力欠損型の落とし穴1：スタートは「増殖力欠損型」、ゴールは「制限増殖型」**

例えば増殖力欠損型アデノウイルスベクターのように、増殖力欠損型のウイルスは市販されており、これらを用いた研究が広く行われているようです。通常、これらの実験は別表第一第一号へに該当せず、大臣確認を必要としません。しかしながら、実験の目的が、増殖力欠損型のウイルスを材料として、ガン細胞などで特異的に増える「制限増殖型」ウイルスを作製する場合にはどうなるのでしょうか？この場合、「制限増殖型」ウイルスの考え方が適用されることとなり、別表第一第一号へに該当しますので、大臣





には該当しません。参考までに、別表第一第一号への対象外となるウイルスを以下に掲げます。

- ・ Vaccinia virus 以外のウイルスの承認生ワクチン株 (当該承認生ワクチン株を改変せずに使用等をする場合に限る。)
- ・ Retrovirus (Human retrovirus を除く。)
- ・ Baculovirus
- ・ Plant viruses
- ・ ファージ及びこれらの誘導体 (別表第一に掲げる宿主のうち細菌を自然宿主とし、哺乳動物等に対する病原性を付与しないものに限る。)

### 5. 大臣確認申請書類の作製法

では、最後に大臣確認申請書類の例を示します (図6)。EGFP 発現組換えパラミクソウイルスを作製する実験を想定して記載しました。もちろん、ウイルスや実験内容が異なれば具体的な記載事項も異なってきますが、申請書類作製の際の参考にして下さい。

### 6. さいごに

遺伝子組換え技術に対する社会の関心は非常に高く、遺伝子組換え実験に従事する方々は、高い倫理観を持って、カルタヘナ法を厳に遵守しなければなりません。遺伝子組

換え実験に従事する方々にとって、大臣確認が必要な遺伝子組換え実験を、文部科学大臣の確認を受けた上で実施することは当然の義務です。

一方、制度を所管する我々にとって、大臣確認が必要な遺伝子組換え実験の基準や実験分類を、科学的知見の集積にともない日々見直していくことは、当然の義務です。

互いにそれぞれの義務をしっかりと果たすことで、大臣確認制度が一層適切に運用されることを願います。

### コラム

#### コラム：「宿主」はマウス？それともウイルス？

同じ用語でも法令上の意味と研究の現場で一般に用いられている意味が異なる場合があります。例えば、「宿主」という用語があります。法令上「宿主」とは「組換え核酸が移入される生物をいう」と定義されています。一方、病理学の研究者にとって「宿主」とは、病原体が感染する生物のことを指すでしょうし、このような研究者が、「マーカー遺伝子を発現する組換えウイルスをマウスに感染させる実験」を行った場合、「宿主」はマウスと記述されることでしょうか。しかしながら、法令上、「宿主」はマーカー遺伝子（組換え核酸）を導入する遺伝子組換え前のウイルスのことであり、マウスは「保有動物」と記述されなければなりません。このように、法令上の用語の意味を十分に理解していないと、研究の現場で一般に用いられている意味との混同から法令解釈を誤るおそれがあります。法令上の用語の意味は、「定義」として通常法令の冒頭に記載されていますので、あらかじめ良くお読みになり、理解しておくことが必要です。

## Important points in virus research using recombinant DNA technology

Takahiko NIKAIDO<sup>1)</sup>, Kaoru TAKEUCHI<sup>2)</sup>

1) Deputy Director Office for Bioethics and Biosafety, Life Science Division, Research Promotion Bureau, Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan, 2-5-1 Marunouchi, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8959, E-mail: tnikaido@mext.go.jp

2) Department of Infection Biology, Institute of Basic Medical Sciences, Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba 305-8575, E-mail: ktakench@md.tsukuba.ac.jp

Cartagena Protocol on Biosafety to the Convention on Biological Diversity seeks to protect biological diversity from potential risks posed by living modified organisms (LMOs) resulting from modern biotechnology. This protocol was ratified in Japan after establishing domestic law and regulations for the protocol. In the domestic law, use of LMOs is classified into type 1 use (use without containment measures) and type 2 use (use with containment measures). According to the domestic law, most of experiments using recombinant viruses are required for the approval of the Minister. In this article, we will explain Cartagena Protocol and the Japanese domestic law and indicate an example of application form for the approval of the Minister.