

◆ 総合科学研究支援センター活動概要報告 ◆

◇ 遺伝子機能解析分野 ◇

<平成22年6月-22年9月の活動と実施行事>

<設備・機器の修理や新設>

●111室のライカ共焦点蛍光レーザー顕微鏡 TCS SP5 に 20 倍の対物レンズ（ドライ）が設置されましたのでご自由にお使いください。さらに赤色蛍光タンパク質（RFP）用のバンドパスフィルターを落射顕微鏡観察用に購入いたしました。赤色蛍光用としては普段はロングパスのローダミン用のフィルターが SP5 には設置されています。フィルターの交換はスタッフが行います。植物葉緑体のような自家蛍光のバックグラウンドを抑えて RFP を落射蛍光で観察したい場合は有用ですので、ご利用を希望する方は予約時に西村にご連絡ください。

<行事>

技術講習会を開催しました。

第76回 平成22年6月16日

「共焦点レーザー顕微鏡説明会2」

第77回 平成22年7月14日

「ゲル撮影装置E-グラフ、CSアナライザーアプリケーションソフト説明会」

<会議・研修会参加>

6月5日 遺伝子組換え実験安全研修会（東京） 以下に報告があります。

<セミナー開催>

第174回 平成22年6月16日

演題「共焦点蛍光レーザー顕微鏡を使用した教育と研究：細胞内コレステロール輸送異常症に関する研究について」

檜垣克美（鳥取大学生命機能研究支援センター）

第175回 平成22年7月22日

演題「殺虫剤の選択性と多様性を生み出す神経受容体の構造基盤」

松田一彦（近畿大学農学部）

第176回 平成22年9月21日

演題「昆虫幼若ホルモン制御物質の化学生物学」

古田賢次郎（島根大学生物資源科学部）

177回 平成22年9月29日

演題「緑色植物における比較分子遺伝学のモデル植物ゼニゴケ」

河内孝之（京都大学大学院生命科学科）

<会議報告>

遺伝子組換え実験安全研修会報告

総合科学研究支援センター 中川

遺伝子組換え実験安全研修会（平成22年6月5日、東京）に参加しましたので報告をいたします。本研修会は、主催：全国大学等遺伝子研究支援施設連絡会議、共催：国立大学法人中国地方バイオネットワーク連絡会議、後援：文部科学省で開催されています。中国地方バイオネットワーク連絡会議とは鳥取大学、島根大学、岡山大学、広島大学、山口大学の遺伝子関連施設で構成される組織で、情報交換や様々な連携活動を行っています。今回私はこの連絡会議の一員として裏方を兼ねて参加しました。

プログラム

<午前の部：分科会>

1. 遺伝子改変マウスの取扱いについて（組換えウイルス感染実験を含む）
2. 多様な遺伝子組換え動物（ショウジョウバエ、メダカ、カイコ、他）の安全管理（拡散防止措置等）
3. 遺伝子組換え実験の申請書式と機関審査体制について
4. 植物の遺伝子組換え実験（第一種）の今後について

<午後の部>

文部科学省からのカルタヘナ法説明および質疑応答

パネルディスカッション（分科会での検討事項、全体討議）

この研修会に先立って5月21日に文部科学省主催の遺伝子組換え実験安全研修会が開催されています。5月21日の研修会は主にこれから遺伝子組換え実験の管理に携わる立場の人たちを対象としていましたが、今回（6月5日）の講習会はある程度実務経験がある人を対象に現在の悩みなども出し合って討論することを目的に開催されました。参加者は約150名でした。午前中は4つの分科会が開催されましたが、私は会場係として4の植物（第一種）の分科会に参加しました。4つの分科会の中で現在の島根大学に最も関係が深くない分科会かもしれませんが、報告をします。

分科会「植物の遺伝子組換え実験（第一種）の今後について」

特定網室。本分科会は第一種という標題を掲げていますが、まず二種使用の特定網室に関する話題が出されました。特定網室の要件として、前室を備える、コンクリート敷にする、昆虫を止めるメッシュ、周囲に雑草が生えないようにする、が挙げられました。またコーディネーターの鎌田先生の筑波大学における経験から、扉は引き戸が良い（開閉による空気の動きが少ない）こと、床に直にポットを置くのではなく棚を設置しその上にポットを置くと床がよく見えるので良い、施工業者は慣れたところが良い（不慣れた業者の場合、基礎からコンクリートが立ち上がっている部分で隙間がある場合があり、蟻の侵入経路になる恐れがある）、などが紹介されました。次いで特定網室における花粉飛散の話題が採り上げられました。5月21日の研修会では特定網室からは花粉を飛散させてはならないとの説明があったそうですが、これには、交配する植物が周囲に存在しない場合、花粉が発芽しない場合を除いて、という但し書きがついており、絶対に花粉飛散を防止しなければならないわけではない

という補足説明がなされました。最近、生態分野での研究で、遺伝子組換え植物を用いて昆虫に対する影響を調べる実験を実施するため、遺伝子組換え植物を栽培している特定網室に昆虫を放つても良いかという問い合わせがあったが、特定網室は昆虫を排除するためのもので、その条件下で機関承認実験となっており、もし昆虫を排除しないのであれば、大臣確認が必要との注意がなされました。また、葉緑体遺伝子組換えについて、特定網室の要件の中に、宿主の染色体の拡散に組込まれた---（以下省略）と書かれており、葉緑体遺伝子への組み込みをどのように扱うか検討が必要となっているという話題が採り上げられました。葉緑体遺伝子は花粉を通じては伝達されないため花粉による拡散の問題が回避できる、タンパク質が大量に生産できる、ということで産業上有効な方法となっています。これについては染色体というのをオルガネラも含めた概念としてとらえる、などの処置でできないかと考えており、Q&Aなどで対応してもらえないか検討中とのこと。ただし、現在は第二種で大臣確認となっているそうです。最後に、遺伝子導入に用いたアグロバクテリウム（遺伝子組換え微生物）が除去されていない場合は機関承認とならないので、機関承認実験とするためにはアグロバクテリウムが植物体に存在していないことを示さなければならない。どのような基準で確認を行うか、検討が必要（中川注：形質転換後の第2世代目からは問題ないと思います）。

質疑応答

Q：花粉の抑制に関して、1つも出さないという必要があるのか。できるだけ押さえるということが書かれているので、これではだめなのか。

A：前述のように但し書きがあり、絶対に出てはいけないというわけではない。

Q：虫媒に対しては良いと思うが、風媒に関してはどうか。

A：メッシュサイズや飛散距離の検討が必要。場合によっては袋がけが必要。Q：ゲノムサザンで調べることになっているが、PCRではだめなのか。

Q：BACを導入した場合はどうなるか。

A：同種の場合は良いと思うが、他種だと同定済みではないので大臣確認となる。

第一種について。隔離ほ場は基礎研究用で大臣承認、次のステップは一般ほ場（産業用）となるが、管轄の整理が必要（行政側）。花粉緩和米は医薬品としての試験が必要で厚労省管轄となっているが、今後環境修復用のものなどについては経産省になるのではないかと。研究者から見て、隔離ほ場で基礎実験を行い、次は実用化のための一般ほ場と進めるときに、どこの管轄となるのかなど、その手続き上のことがよく見えるようにしておいてほしい。

運搬容器。動物の運搬容器はケージがあるが、植物の場合あまり適当なものなかったのので、モデルを作ってみた。透明なアクリル製でふたはシール付きのものをねじで止めるようになっていました。ふたには換気のための穴があいており、2重のフィルターを通すようになっていました。このフィルターは5 μ m以下の粒子を100%トラップ（最小の花粉は6 μ m）し、また付着した花粉が壊れても吸着させる処理がされているものだそうです。取扱い注意という表示をして運搬に使用可能とのこと。アグロバクテリウムが付着していない場合はどうかという質問がありましたが、漏出はおこらないと判断しているとの回答でした。

譲渡書類について。情報不足が非常に多い。現在遺伝子協でモデルを作っているのだからこれ

を使用してもらおうのが対策の1つになるだろうとのことでした（中川注：島根大学では既に作られているので問題ないと思います）。

カルタヘナ法を作成した人からの発言。指針にはあった記載例はあえてなくした。記載例の通りに書いておけば、考えなくてよいということになりがちなので、このような事態にならないようにあえてなくした。形式化しないように。例えばシダのような胞子をつくる植物についてはスタンダードがないので、研究者がよく考えて拡散防止措置を計画してほしい、それを機関でよく検討して承認してほしい。

午後

文部科学省からの説明。一般的な説明。事件事例の説明。

分科会報告

申請書：従事者に規則をよく理解してもらえるような体制をつくる。教育訓練についてカルタヘナ法には細かい規定はないので各大学の委員会で決める。教育訓練にはかなり温度差がある。動物委員会とのタイアップ。事故時の対応を、事故発生前から考えておく。書式の統一の要望があるが、意見は割れており、現実には進まない。譲渡の書類は統一できるのではないか。などについて議論されたことが報告されました。

マウス。P2A 実験中に、PIP 室においてある機器を使う場合は？、安全キャビネットはどういうときに必要？、病原性とは？、natural occurrence とは？、病原性大腸菌遺伝子を大腸菌に入れるのは natural occurrence か？、などについて議論されたことが報告されました。

動物。動物の特性に基づいて行う、ハードソフト分けて考えていく、などが報告されました。

討論

Q：教育訓練の資料をシェアーしたり、どなたかにレクチャーをお願いしたりということは可能か？

A：文科省のスライドが HP からダウンロードできる。文科省の専門官に来てもらうのが一番だが各大学の教育訓練で行くのは無理なので、各ブロックの大学でよい先生がいたら講師になってもらうというのが現実的。英語での説明会のビデオも一部の大学で作られている。これをシェアーできるかどうか検討中。できるような方向で考えている。

Q：バイオセーフティー委員会と遺伝子組換え実験安全委員会との関係について教えて欲しい。

A：筑波大学は同じメンバーで委員長が異なる。情報を共有し、総合的に判断することができるようにしている。PIA+感染病法の規制がかかる実験の場合は P2A にしてもらうなどの最終判断ができるようにしている。動物実験委員会委員（中川注：人数忘れました）も上記委員会に入っている。審査の順番はバイオセーフティー、組み換え、実験動物、というようにシビアな順になっている。広島大学では最低1名相互に委員が入っている。病原性大腸菌から大腸菌への実験は natural occurrence だが、病原性の方で P2 にするなどの措置をとる。文科省よりコメント：病原性大腸菌の遺伝子を通常実験に用いている大腸菌に入れるときは

natural occurrence には該当しないので遺伝子組み換え実験としてしかるべき拡散防止措置をとる必要がある。

Q：外来遺伝子を導入して最終分化させた細胞（増殖しない）をマウスに移植した場合、このマウスは遺伝子組み換え生物か？

文科省回答：該当するのでP1A (P2A, P3A)の拡散防止措置が必要。外来遺伝子はその個体で増えないし、次世代に伝えられない場合でも、遺伝子組み換え実験に該当する。Q：DNA ワクチンはどうか。文科省回答：消えるので遺伝子組み換えでない。

Q：siRNA はどうか。

文科省回答：セルフだったら遺伝子組換えに該当しないが少しでも配列が異なる核酸を使用する場合は遺伝子組換え。（中川注：以前は違っていたと思うのですが、現在では、個体に核酸を導入する場合、および核酸が染色体に組み込まれた細胞を個体に移植する場合は、完全なセルフ核酸の場合を除いてすべて遺伝子組み換え生物として扱うようです。たとえ導入した核酸が消える場合でも。増えない場合でも、次世代に伝えられない場合でも。）

Q：ヒトがん細胞をノブマウス（中川注：遺伝子組換えされているマウスの細胞。ノブマウスと聞こえましたが、違うかも知れません）で培養、その後ヒトがん細胞をマウスに移植、という実験は遺伝子組換え実験か？

A：ノブマウス細胞が混入してくる可能性があるので遺伝子組み換え実験。

Q：環境モニター用の遺伝子組換えメダカを池や川で飼育したい。逃げないように網に入れるが、特定飼育区画として実施可能か？

A：大きな動物を閉鎖空間に置いておくのは困難なため、特定飼育区画というものが設けられている。今回の場合は網を越えて野生種と交配したり、鳥がとっていったりといった恐れがあるのではないかと。特定飼育区画という形態にはならないと思う。

Q：教育訓練は義務か？

A：教育訓練は努力義務。実験責任者が学生に教育訓練を施しても良い。事故があったとき、まず、きちんと教育をしているかと問われる。いずれにせよ責められるが、しておいた方が良い。

Q：バイオセーフティー委員会について教えて欲しい。

A：以前文科省で病原微生物に体する考え方（案）が作成され、バイオセーフティー委員会をつくれとの記載があったが、多くの大学では作られていない。感染法に該当する場合の届け出を受け入れるための委員会が必要。

Q：施設公開などで遺伝子組換え生物を一般公開・PR したいが、どのような形態が可能か？

A：どこかをP1 (P1A, P1P) 実験室として、見学者を不特定多数としない形で、付き添う形で、可能。

Q：記録をすることになっているが、大腸菌の形質転換プレートを全て記録しておかなければいけないのか？

A：最終構築物の記録は必要だが、日常のコンストラクションのときのプレート1枚1枚の記録までは不要（実験ノートで十分）。

中川の感想。今回は遺伝子組み換え生物の定義という最も基本的な判断に関する部分で考えさせられました。私の（他の多くの参加者も）考えでは、導入した核酸が増幅しない場合（染色体に組み込まれない場合）は遺伝子組み換えに該当しないと思っていましたが、すべて該当

するような説明がなされていました。siRNA 導入細胞を(核酸の消失が確認されないうちに)個体に移植すると遺伝子組み換え実験、とにかく何らかの形で個体に核酸が導入されるとすべて遺伝子導入実験になるようです。最近の考え方がどうなっているか知るために、もっとQ&A やポジションペーパー(文科 HP ライフサイエンスの広場)を見るようにする必要がありますと感じました。

〔後記〕文科省担当者の発言を私は上記のように理解しましたが、別の理解をしている方もいらっしゃるようです。そのため、この遺伝子組換え生物の範囲に関しては、参加された先生方と意見交換を続けています。また、文科省にももう少し詳しく聞くことも進められています。あいまいなままですみませんが、もう少し情報を集めたいと考えています。ただ、どうしても安全側に寄った判断がなされることが多いと思います。

<その他>

遺伝子機能解析分野専任教員が以下の学会賞を受賞しました。

● 7回日本植物学会賞<特別賞> 技術

中川 強(島根大学総合科学研究支援センター 教授)

「植物遺伝子研究における Gateway バイナリベクターシステムの構築と普及」

受賞式: 日本植物学会第74回大会(中部大学、平成22年9月10日)

● 2010年度 日本農芸化学会中四国支部奨励賞

西村 浩二(島根大学総合科学研究支援センター 助教)

「生活習慣病に関わる動物脂質代謝関連酵素の分子細胞学的研究」

受賞式・受賞講演: 2010年度日本農芸化学会中四国支部大会(第28回講演会)

(香川大学、平成22年9月24日)