

遺伝子組換え植物（シロイヌナズナ）の漏出事故とその対応について

（中間とりまとめ）

2016年7月1日

奈良先端科学技術大学院大学調査委員会

はじめに

2016年4月20日、奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科において使用されていた遺伝子組換え植物（シロイヌナズナ）が分子育種温室／実験温室／植物栽培室周辺の一部区域に生育していたことが判明した。奈良先端科学技術大学院大学では、直ちに植物、動物および微生物を用いた遺伝子組換え実験を中止し、遺伝子組換え植物体の拡散の状況を調査するとともに、調査委員会を設置した。

本調査委員会は、4回の委員会を開催して状況調査、原因究明、再発防止策などを検討した。検討内容を本中間とりまとめとして関係各位に報告するとともに、今後の対応について奈良先端科学技術大学院大学学長に提言する。

調査委員会構成メンバー

(外部委員 3名)

岡田 清孝 龍谷大学農学部 教授(委員長)

坂本 亘 岡山大学資源植物科学研究所 教授

大坪 憲弘 京都府立大学大学院生命環境科学研究科 准教授

(学内委員 2名)

横矢 直和 奈良先端科学技術大学院大学理事・副学長（研究担当）
/ 総括安全衛生管理者

加藤 順也 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科教授
/ 遺伝子組換え生物等総括責任者

調査委員会開催日程

第1回委員会 4月26日（火）

第2回委員会 5月10日（火）

第3回委員会 6月19日（日）

第4回委員会 7月1日（金）

（各委員会の議事の要約を資料1に記す。）

目次

1. 経緯
2. 拡散防止のための緊急措置
3. 漏出原因の究明
4. 再発防止策の策定と実施
5. まとめ

1. 経緯

2016年4月19日（火）午後1時頃、奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科学生が分子育種温室付近（資料2）で実験用のシロイヌナズナらしき植物体を複数発見した。その後同研究科副研究科長等が現場を確認し、同研究科長、遺伝子組換え生物等総括責任者、研究担当理事へ報告した。

4月20日（水）、学長の指示により、遺伝子組換え植物体の漏出事象発生の可能性について文部科学省へ報告した。学内で回収したシロイヌナズナの遺伝子解析を行った結果、一部が遺伝子組換え体シロイヌナズナであると判明した。

4月21日（木）、学長を本部長とする危機対策本部を設置し、拡散防止策の検討と原因究明を開始し、以下の措置を採った。

- ・動物・微生物を含めた遺伝子組換え実験の全面停止
- ・シロイヌナズナが確認された区域全域を立入制限
- ・文部科学省、生駒市に遺伝子組換え植物の漏出について報告

4月22日（金）～4月25日（月）、学外および学内の屋外に生育するシロイヌナズナの徹底調査が実施された。採取された個体は学内で525個体、学外で17個体である。

4月26日（火）、学外で採取された個体は全て非組換え体であることが判明した。また、学内で回収された525個体の内、289個体が遺伝子組換え体と確認されたが、いずれも学内の分子育種温室／実験温室／植物栽培室周辺（資料2）より回収された個体と判明した。

4月27日（水）、学外で採取された17個体は、いずれも実験室で使用されている系統とは異なり、野外に自生する系統であることが判明した。

その後の解析により、遺伝子組換え体と判明した289個体中58個体について、系統およびこれらの栽培を行った5研究室が特定された。また、135個体については研究室の特定が困難であったが、過去にこれらの系統を栽培した実績のある3研究室（いずれも上記5研究室に含まれる）に限定された。残りの96個体については研究室の特定には至らなかった。

並行して、4月26日（火）に設置された本調査委員会において遺伝子組換え実験の実施状況の調査を行い、漏出原因の究明、再発防止策の検討を行った。

・ **情報の公開**

5月10日（火）午後1時30分より、遺伝子組換え植物の漏出事故についての記者会見を実施した。また、奈良先端科学技術大学院大学ホームページに今回の事故について掲載した。

・ **地元自治体（生駒市）および生駒市学研高山地区環境保全対策委員会への説明**

- ・ 4月21日（木） 生駒市に遺伝子組換え植物の漏出について報告
- ・ 4月28日（木） 生駒市長を訪問し、状況報告
- ・ 5月19日（木） 生駒市学研高山地区環境保全対策委員会（有識者3名、自治会長7名で構成）にて、事故の経緯、今後の対応等について説明し、質疑応答を行った。

なお、生駒市環境保全課の担当者がいずれの調査委員会にも陪席した。

2. 拡散防止のための緊急措置

(1) 植物体の移動停止と実験の停止措置

- ・ 4月20日（水）植物体の移動停止
- ・ 4月21日（木）さらなる拡散防止のための初期対応
遺伝子組換え実験の全面停止（動物・微生物を含む）
シロイヌナズナが確認された区域全域の立入制限
- ・ 4月22日（金）～25日（月）実験責任者による拡散防止措置
の再点検
- ・ 4月23日（土）立入制限区域内に除草剤を散布
- ・ 4月25日（月）遺伝子組換え体を確認された箇所周辺の土壌を回収
- ・ 5月9日（月）植物温室管理者による実地確認
植物栽培室および分子育種温室内の遺伝子組換えシロイヌナズナが全て適切に廃棄され、室内が適切に清掃されていることを確認した。
- ・ 5月12日（木）～13日（金）植物以外の遺伝子組換え実験の再開
植物以外の遺伝子組換え実験について、実験室の設備の実地確認を含めた、
拡散防止措置の再確認を行い、実験室外への持ち出し時の遺伝子組換え体
の運搬方法の厳格化について、奈良先端科学技術大学院大学遺伝子組換え
生物等安全管理委員会と総合安全衛生管理委員会での審議と本調査委員会
での了承を経て、植物以外の遺伝子組換え実験の再開が承認された。
- ・ 6月2日（木）総括安全衛生管理者による植物体の管理状況の実地確認
全ての栽培施設、研究室において4月20日、21日の植物体移動停止お
よび遺伝子組換え実験の停止措置が適切にとられていることを確認した。

(2) 遺伝子組換え植物の拡散の有無の確認

- ・ 4月22日（金）～25日（月）遺伝子組換えシロイヌナズナの拡散範囲の
調査（学内・学外）
発見・回収されたシロイヌナズナは、20日に回収したものと併せて、学
内で525個体、学外で17個体の計542個体となった。
- ・ 4月26日（火）～27日（水）
遺伝子組換え体作製時に使用された薬剤耐性遺伝子を指標としたPCR解
析の結果、学内で採取した525個体については、計289個体の遺伝
子組換え体を確認された（全て分子育種温室／実験温室／植物栽培室周辺
より回収された個体）が、学外で採取した17個体は全て非組換え体であ
り、野外に自生する系統であった。その結果、漏出した遺伝子組換え体の
拡散の範囲は限定されていることが判明した。

(3) 漏出地点の定期的モニタリング

漏出地点では目視検査によるモニタリング調査を5月9日(月)、6月1日(水)、7月1日(金)に行ったが、これまでにシロイヌナズナの新たな生育は確認されていない。今後もモニタリングは1ヶ月ごとに行うこととしている。

3. 漏出原因の究明

(1) 漏出個体の遺伝子解析

学内外で発見・回収された 542 個体のシロイヌナズナからゲノム DNA を調製し、奈良先端科学技術大学院大学において遺伝子組換えシロイヌナズナを作製するために利用された 5 種類の薬剤耐性遺伝子（カナマイシン耐性遺伝子(Km)、ハイグロマイシン耐性遺伝子(Hyg)、ビアラフォス耐性遺伝子(Bar)、ゲンタマイシン耐性遺伝子(Gen)、サルファジアジン耐性遺伝子(Sul)) を検出するための PCR 増幅法を行い、遺伝子組換え体であるかの検定を行った。その結果、289 個体でいずれかの薬剤耐性遺伝子の増幅が確認された（資料 3）。これらの遺伝子組換え体はいずれも分子育種温室／実験温室／植物栽培室周辺より回収された個体であった（資料 2）。

289 遺伝子組換え個体について、レポーター遺伝子の有無（GFP, GUS, mGFP）と発現カセットの構造（35S-NOS, attB1-attB2, NOSpro-VP16, M13Fw-Rv）に基づいたグループ分けを行い、さらに、この過程で得られた PCR 増幅断片の DNA 配列の決定、あるいは TAIL-PCR 増幅法^{注 1)}を行うことにより、遺伝子組換え個体の特定が行われた（資料 3）。

注 1) 既知の DNA 配列を起点に周辺の未知配列を取得する方法で、本実験では判明したレポーター遺伝子配列やカセットの構造配列を起点に周辺の DNA 配列を決定し、導入遺伝子の特定を進めた。

(2) 遺伝子組換え植物の漏出研究室と、場所・時期の特定

① 漏出個体の系統と漏出研究室の特定

289 遺伝子組換え個体の遺伝子解析の結果、58 個体（30 系統：整理番号 No.1-30）は系統が特定でき、バイオサイエンス研究科植物科学領域に属する 9 研究室（A～I）の中の 5 研究室（A, B, F, G, H）で作製、栽培されていた遺伝子組換え体であることが判明した。それぞれの研究室からそれぞれの遺伝子組換え体の栽培場所および栽培時期の情報を得た（資料 3）。

135 個体（12 系統以上：整理番号 No.31-42 に仮分類）については、研究室を特定することが困難な Haseloff^{注 2)}もしくはその亜種ラインであったため、過去に Haseloff ラインを栽培した実績のある 3 研究室（B, F, G、3 研究室とも上記 5 研究室に含まれる）のいずれかで栽培されていた遺伝子組換え体であると考えられる（資料 3）が、それ以上の絞り込みは困難と判断した。3 研究室の Haseloff ラインの栽培場所および栽培時期の情報を得た（資料 3）。

残りの 96 個体内、30 個体（8 系統に分類：整理番号 No.43-50）については、ソーク研究所の T-DNA タグライン^{注 3)}や各研究室で汎用的に用いられるレポーター遺伝子もしくは発現カセットに関する断片的な情報が得られたので、一部については TAIL-PCR を行ったが個体の特定には結びつかなかった。66 個体（4 系統に分類：整理番号 No.51-54）は、薬剤耐性遺伝子以外の情報が得られなかった。これらの系統には、各研究室で日常的に作製されている変異体へのゲノム相補個体（多くの場合挿入断片が長大）が多く存在すると考えられ、これ以上の個体の特定には多くの時間が必要と判断した（資料 3）。

以上の結果から、漏出した個体は多系統（54 系統以上）であり、全ての個体について系統を明らかにすることは技術的にも限界があることが判明したが、多研究室からの多系統の漏出という今回の事故の特徴的な点が明確になったこと、また、系統が特定できた個体が生育していた地点に偏りは認められないことを考慮して、全ての個体について系統を明らかにすることに時間をかけるよりも、現時点での解析結果に基づき漏出原因を特定することにした。

注 2) Haseloff ラインは、英国の Jim Haseloff らによって作製され、世界中に公開されているエンハンサートラップ系統である。TATA-box と緑色蛍光タンパク質（GFP）が導入 DNA 断片の一端に配置されているため、ゲノム上の挿入位置近傍に偶発的に存在するエンハンサー領域により、系統ごとに一定の組織や時期に GFP が発現する。数百種以上の異なる系統が公開されているが、蛍光パターンのみでカタログ化されており、導入遺伝子のゲノム上の挿入位置は未決定のまま配布されているため、ゲノム DNA 情報を得たとしても系統を特定することは困難である。

注 3) アグロバクテリウムが持つプラスミド上の T-DNA と呼ばれる DNA 配列がシロイヌナズナのゲノム内にランダムに挿入された変異株系統のこと。主に米国ソーク研究所で作出され、T-DNA の挿入位置情報と共に国際的ストックセンターを通じて種子が公開されている。

② 漏出場所の特定

上記、系統を特定できた 58 個体と Haseloff ラインである 135 個体（計 193 個体）は、すべて昨年度までに種子を取る目的で植物栽培室にて栽培された系統であり（資料 3）、分子育種温室にて栽培された系統は含まれていなかった。植物栽培室と研究科棟の両方で栽培された系統も含まれていたが、植物栽培室から研究科棟に移動させることはあっても、過去に種子の付いた植物体を研究科棟側から植物栽培室へと移動させた実績は調査の結果見当たらなかった（資料 4）。なお、実験温室ではシロ

イヌナズナは栽培されたことはなかった。従って、これらの遺伝子組換え体はすべて植物栽培室から漏出したものと判断した。

③ 漏出時期の特定

漏出した個体は多系統（54 系統以上）であるが、系統ごとに見ると個体数は少ない（30 系統中、19 系統では 1 個体、4 系統では 2 個体、5 系統では 3 個体、1 系統で 6 個体、1 系統で 10 個体）ものが大部分であり、63%が 1 個体であった（資料 3）。この結果は、発見された個体が漏出した種子の当代か次世代である可能性を強く示唆する。

一般的なシロイヌナズナの開花期は 3 月下旬から 5 月上旬の年 1 回であるが、シロイヌナズナの実験系統（例えば Col 株）は開花に低温処理を必要とせず、野外で 9 月中旬までに播種すれば 11 月中に開花し次の世代の種子をつけて散布するという野外栽培実験の結果が報告されている（資料 5）。この報告に基づくと、今回発見された個体の多くは 2015 年春以降 9 月中旬までに漏出した種子から生育した当代の植物個体とそれが自殖した次世代の植物個体か、あるいは 2015 年 9 月下旬から 2016 年春までに漏出した種子から育った当代の植物個体であると考えられることができる。

実際、上記 193 個体は、3 系統 14 個体（整理番号 No.1, 4, 5）を除き、すべて昨年度に植物栽培室にて栽培されていた系統であった（資料 3）。また、昨年度に植物栽培室を利用していた 5 研究室（A, B, F, G, H）と、植物体の漏出が認められた 5 研究室が合致する点もこの可能性を強く支持する（資料 6）。毎年 4 月末および 10 月末に実施してきた分子育種温室／実験温室／植物栽培室とその周辺の一斉清掃（草刈り）において、これまでシロイヌナズナが発見されなかったという事実も、この可能性と合致する。

以上のことから、今回発見された遺伝子組換え体の大部分は昨年度に漏出した可能性が高いと判断できる。

（3）漏出原因の推定

植物栽培室では、出入り口付近に粘着シートを設置し、入退出時に履物を履き替え、退出時には出口付近に設置してある静電ブラシで衣服や運搬に用いる密閉容器の外面を清掃するなどの拡散防止措置をとっていた。しかしながら、今回、屋外で発見された遺伝子組換え植物体はすべて植物栽培室から漏出したものと判断されたことから、植物栽培室の拡散防止措置の不備と、植物栽培室から漏出に関わった 5 研究室への植物体運搬時の拡散防止措置の不備が漏出原因として最も可能性が高いと考えられるため、その状況について調査、検討を行った。

① 植物栽培室の拡散防止措置の不備により漏出した可能性の検討

植物栽培室と分子育種温室では同程度の個体数の遺伝子組換えシロイヌナズナが栽培されていた（資料6）にもかかわらず、漏出は植物栽培室からのみであったことは、植物栽培室と分子育種温室の構造上の違いが関係していると考えられた。

分子育種温室では、遺伝子組換えシロイヌナズナ栽培部屋（P204）から退室する際に、引き扉で仕切られた栽培部屋と前室の間に履物を履き替え、前室の粘着シートを通過して廊下に出る措置をとっていた。一方、植物栽培室では、退出時には出入口に置いた粘着シート上で履物を履き替える措置をとっていた（資料7）が、緩衝空間（前室など）を設けていないため、床面に落下した種子が出口付近に置いた外履きの位置まで拡散し、外履きに付着して、あるいは扉の開閉に伴って、屋外に漏出した可能性がある。

分子育種温室では、シロイヌナズナは主に2階の前室付きの遺伝子組換えシロイヌナズナ栽培部屋（P204）で、また一部が1階奥の実験室内（P106およびP109）に設置された人工気象器内で栽培されており、いずれも屋外からは3枚の扉で隔離された場所で栽培されていた（資料7）。一方、植物栽培室では、シロイヌナズナは室内に設置された人工気象器内で栽培されており、植物体と屋外は2枚の扉で仕切られている状態であり、出入り口の扉から人工気象器までの距離も最短1.7mと短かった（資料7）。この植物栽培室の構造が種子の拡散防止には不十分であり、今回の漏出事故に関係している可能性が考えられる。

② 遺伝子組換え植物体運搬時の拡散防止措置の不備により漏出した可能性の検討

漏出に関わった5研究室が植物栽培室から研究科棟に植物体等を移動する経路は3つあり（資料4）、遺伝子組換え体はその動線に沿う形で見出されていた（資料2）ことから、遺伝子組換え体の種子が履物、衣服、運搬容器などに付着して漏出したことが疑われる。

遺伝子組換え植物体を取扱う際に白衣の着用が徹底されていなかったことから、履物への付着に加えて、種子回収作業等の際に衣服に種子が付着して屋外に漏出した可能性がある。しかしながら、今回の漏出場所は分子育種温室／実験温室／植物栽培室周辺に限定されており、徹底的調査にもかかわらず、構内の他の場所で遺伝子組換えシロイヌナズナは発見されなかった。履物や衣服に付着して漏出した場合、実験に伴う分子育種温室／実験温室／植物栽培室と研究科棟間の移動時での拡散だけでなく、人の様々な学内の移動に伴って、より広範囲に拡散が起こっても良いと考えられる。従って、履物や衣服よりも、植物栽培室から研究科棟に遺伝子組換えシロイヌナズナを移動する際に用いた運搬容器や運搬方法に主たる漏出原因がある

可能性が最も疑われた。

解析等のために遺伝子組換え植物体を植物栽培室から研究科棟に移動させる際には、遺伝子組換え体を専用の密閉容器（植物体運搬箱：落としても壊れない丈夫なもので最外部に遺伝子組換え体運搬中と表記あり）に入れて運搬していたため、植物体運搬箱の外側に種子が付着する可能性を検討した。植物栽培室の床上に約 500 粒の野生型シロイヌナズナの種子を散布し、その領域に植物体運搬箱をかぶせ、箱の裏面に付着する種子数を調べた結果、植物体運搬箱の外側に種子が付着することが確認された（資料 8）。なお、分子育種温室の遺伝子組換えシロイヌナズナ栽培部屋（P204）の床面に種子を撒いて同様の検証実験を行ってもほとんど付着した種子は認められなかった。この理由として、分子育種温室の床面には突起があり、床面と密閉容器の底の接触部分のごく一部であるのに対し、植物栽培室の床面は平坦であり、密閉容器の底と広く接することが考えられた。

廃土や使用済み植物体をオートクレーブバッグに詰めて、不活化処理を行うために植物栽培室から研究科棟に移動させる作業も行われていた。この際、オートクレーブバッグの口を密閉することで密閉容器に準ずるものと解釈され、植物体運搬箱に入れる措置が徹底されていなかった。よって、袋詰めの際に植物体あるいは床から静電気によりオートクレーブバッグの外側に種子が付着することで漏出した可能性を検討した。オートクレーブバッグの材質には、高密度ポリエチレンと耐熱ポリプロピレンの 2 種類があったため、両者を含めて計 3 種類のバッグを用いた。植物栽培室の床上に 100 粒の野生型シロイヌナズナの種子を散布し、開口したオートクレーブバッグに付着する種子数を調べた。その結果、袋の外側に種子が強く付着することが確認された（資料 9）。特に、高密度ポリエチレン製のオートクレーブバッグには、より多くの種子が長時間経過後も付着した。分子育種温室内の遺伝子組換えシロイヌナズナ栽培部屋（P204）で同様の検証実験を行ったところ、植物栽培室と比べてオートクレーブバッグへの付着種子数が少なく、また、時間経過とともに速やかに減少した。遺伝子組換えシロイヌナズナ栽培部屋（P204）の床は金属製であるために、発生した静電気が比較的速やかに除去されるのに対し、植物栽培室の床はビニール製であり静電気を逃がしにくい材質であることが原因であると考えられる（資料 9）。

さらに、分子育種温室内の遺伝子組換えシロイヌナズナ栽培部屋（P204）の床は穴の空いた構造になっており、落下した種子が床面ではなく一段下の床下で捕捉される構造になっていた。一方、植物栽培室の床面は平坦である。よって、こうした植物栽培室と分子育種温室の構造上の違いがオートクレーブバッグへの種子の付着を促進した可能性が考えられる。

以上のことから、今回発見された遺伝子組換えシロイヌナズナは、植物栽培室か

ら移動する際に植物体運搬箱やオートクレープバッグの外側に遺伝子組換え体の種子が付着することで漏出した可能性が最も高いと判断される。

③ 2015年度に大規模な漏出が起こった原因の検討

(1)施設外で生育していた個体が漏出した種子の当代か次世代である可能性が高いこと、(2)シロイヌナズナの実験系統は開花に低温処理を必要としないこと、(3)漏出した遺伝子組換え体の90%以上は昨年度に植物栽培室にて栽培されていた系統であったこと、(4)毎年4月末および10月末に実施される一斉清掃(草刈り)でシロイヌナズナがこれまで発見されなかったこと、(5)昨年度に植物栽培室を利用していた5研究室と植物体の漏出に関わった5研究室が合致すること、を総合的に考えて、今回発見された遺伝子組換え体の大部分は2015年度に漏出した可能性が高いと判断された。従って、2015年に特異的に生じた施設上の問題が漏出要因と関係することが強く疑われる。

2015年には、分子育種温室の設置以来はじめて雨漏り(2階閉鎖系および開放系温室への雨水の浸入)が発生した。そのため、2015年6月～2016年2月の約8ヶ月間は、2階部分より浸入し1階作業室(P108)の排水タンクに溜まった雨水を、同作業室内のZクレープ(廃土や植物体の不活化処理に用いる大型オートクレープ)を優先的に使用して、廃棄のための不活化処理を行った(資料7)。植物栽培室にはオートクレープなどの不活性化設備が設置されていないため、植物体を植物栽培室外へ持ち出して不活性化する必要がある、通常は分子育種温室へ移動させZクレープで不活化処理を行っていた。しかし、上記の期間は、分子育種温室のみならず、植物栽培室から発生した廃土や植物体の不活化処理も研究科棟内の各研究室のオートクレープで行う必要が生じ、これらをオートクレープバッグに詰めて研究科棟まで運搬する頻度が例年に比べ格段に上昇していた(資料4)。また、植物栽培室から研究科棟に植物体等を移動する際に、各研究室は主に3つの経路を利用しており(資料4)、遺伝子組換え体はその動線に沿う形で見出されていた(資料2)。特に、分子育種温室と研究科棟の間の通路付近は西側から非常に強いビル風が常時吹いており、この東側で今回屋外で発見された遺伝子組換え体の85%以上が発見された。

従って、植物栽培室で袋詰めの際に、植物体あるいは床から静電気によりオートクレープバッグや植物体運搬箱の外側等に付着した遺伝子組換えシロイヌナズナの種子が、研究科棟までの運搬過程で落下し漏出した可能性が高く、特に、分子育種温室と研究科棟の出入り口の間では強いビル風により多数の種子が落下したことが、今回の大量漏出の主要な原因と推定される。分子育種温室のZクレープを使用した不活化処理ができないという事態により、植物体・土壌等の不活化処理が停滞し、運搬容器の外面を静電ブラシ等で清掃するという措置が杜撰になったことも考えら

れる。

(4) 結論

今回、分子育種温室／実験温室／植物栽培室周辺で発見された遺伝子組換えシロイヌナズナは、主に昨年度に生じた施設上の一時的な問題に後押しされて、種子がオートクレーブバッグや植物体運搬箱の外側等に付着する形で人の動線に沿って植物栽培室から漏出したと結論した。この結果は、施設外で発見された全ての遺伝子組換え個体について系統を明らかにすることができたとしても、大きくは変わらないと考えられる。しかしながら、2015年度に植物栽培室での栽培実績が認められなかった3系統（整理番号 No.1, 4, 5）については、確定的な議論を行うことは困難であるが、いずれも3～4年前まで植物栽培室において栽培されていた系統であり、他の遺伝子組換え体種子の漏出と同時に、植物栽培室内に残存していた種子が昨年度に漏出したと考えることができる。しかし、植物栽培室の構造上の問題点や、遺伝子組換え植物体運搬時の拡散防止措置の不徹底により、2015年度以前にも、施設外での生育は確認されていないものの、僅かな種子の漏出が起こっていた可能性も否定できない。

奈良先端科学技術大学院大学で用いられている遺伝子組換えシロイヌナズナは、植物遺伝子の機能を調べることを目的に作製されたものであり、環境中で自生しても人体に悪影響を与える可能性はないものの、種子の形で実験室外（一般の人の立ち入るスペース）に拡散して自然環境中で自生すると生物多様性に影響を及ぼす可能性がある。今回の事故は、拡散範囲が非常に限られていたものの、このことを再認識させるものであり、本事故の教訓を今後の遺伝子組換え植物体使用実験の安全な実施に生かすことが重要である。植物を用いた実験と比較して、微生物を用いた遺伝子組換え実験では、宿主は自然環境中で自己増殖できないような遺伝的変異が加えられている。また、動物（マウス）個体も自然環境中で生存することが可能であるが、シロイヌナズナの種子と比較して「目に見える」ほど大きいため、意識的に引数管理を行っており物理的な拡散防止措置（ネズミ返し）も効果的に用いられる。遺伝子組換え植物体の場合、ごく小さな種子の漏出の可能性について、より自覚した実験が必要である。

2015年度に植物栽培室で実験していた研究室の全てが漏出に関与していた事実は、単独の研究室の実験手順に不備があったというよりは、むしろ、奈良先端科学技術大学院大学において、遺伝子組換え植物体に対する拡散防止措置の徹底に問題があったと言わざるを得ず、対応策を考える上では、植物栽培室の構造的な問題点の解決や運搬時の拡散防止措置の徹底などにとどまらず、遺伝子組換え植物実験に関わる関係者の再教育訓練を徹底させることが必要である。

4. 再発防止策の策定と実施

今回、分子育種温室／実験温室／植物栽培室周辺で発見された遺伝子組換えシロイヌナズナは、主に昨年度に生じた施設上の一時的な問題に起因し、種子がオートクレーブバッグや植物体運搬箱の外側などに付着する形で人の動線に沿って植物栽培室から漏出したと判断される。しかし、その背景には、1) 植物栽培室の構造的な問題点に加え、2) 運搬時の不十分な拡散防止措置、3) 遺伝子組換え植物実験に関わる関係者の安全管理（清掃を含めた拡散防止措置の徹底）に対する意識の低下、など人的要因が深く関与すると結論される。従って、再発防止に向けては、こうした3つの問題点のすべてを解消する防止策を含めた以下の対策が必要である。

（1）植物栽培室の改修（問題点1に対する対応策）

- ・植物栽培室で指摘された拡散防止における構造上の問題点を解決するために、前室の設置、床面の材質の改良などを含めた植物栽培室の改修を行う。
- ・植物栽培室内にオートクレーブを設置し、実験終了後の土や植物体は不活化処理後に栽培室外へ移動させ廃棄する。
- ・施設の改修が完了するまでは実験施設として使用しない。

（2）植物栽培時における拡散防止対策の強化（問題点1に派生した栽培法一般に対する対応策と問題点3に対する対応策）

- ・種子をつけた植物体は原則として栽培していた部屋から移動させない。廃棄のための不活化処理は同じ実験区画内で行う。
- ・開放棚で種子をつける植物を栽培する場合は、前室等の緩衝空間を設置し、人工気象器を用いた場合と同様に、建物外まで、扉3枚以上で仕切られる措置をとる。
- ・栽培室の出入り口に粘着シートなどを設置し、バリア効果を向上させる。
- ・内履きへの履き替え、白衣の着用を徹底する。
- ・植物を栽培する部屋や人工気象器の内部は定期的に徹底清掃を行う。
- ・定期清掃に加えて、実験終了時には毎回清掃を行う。特に、種子のついた植物体を取り扱ったり、種子の回収作業を行った後には、人工気象器の内部や床等の清掃を必ず徹底的に行い、飛散した種子を回収する。
- ・清掃時に集めたゴミの不活化処理を徹底する。

（3）植物体運搬手順の改善（問題点2に対する対応策）

- ・静電気が起きにくいオートクレーブバッグ製品を用いる等の措置をとる。
- ・オートクレーブバッグや植物体運搬箱等を直接床面に置かない。

- ・オートクレーブバッグは植物体運搬箱に入れて運搬する。
- ・オートクレーブバッグや植物体運搬箱等の外面は放電ブラシ等での処理を徹底し、もし種子が付着していたら回収し、不活化処理後に廃棄する。

（４）遺伝子組換え実験に関する教育の徹底（問題点３に対する対応策）

- ・再発防止策を確実にを行うために、植物実験の具体的な実施方法に関するマニュアルを策定し、遺伝子組換え植物実験の従事者に以下の講習会を受講させてこの内容を徹底させる。
- ・毎年、遺伝子組換え植物実験に従事する予定の教員、研究員、学生、技術補佐員等に対して、遺伝子組換え植物の取り扱いに関する講習会の受講を義務付ける。留学生及び外国人研究者については、英語による講習会を実施する。講習会では、一般的な遺伝子組換え植物の取り扱い方に加えて、奈良先端科学技術大学院大学の実験室や栽培場所における取り扱い規則を熟知させる。
- ・未受講者は、実験責任者の立会いのもと、講習会を録画したビデオを視聴することにより、受講に代える。

（５）定期モニタリング

- ・学内の漏出シロイヌナズナ個体が発見された場所において、１ヶ月ごとにモニタリング調査を実施し、新たな遺伝子組換え体の漏出がないことを確認する。
- ・毎年、４月中旬に奈良先端科学技術大学院大学周辺のシロイヌナズナ個体を採取して遺伝子解析を行い、自生株であることを確認する。
- ・これらの定期モニタリングは今後当面の間継続するものとする。

なお、本調査委員会としては、こうした漏出防止策を厳格に講じることで、新たな遺伝子組換え体の漏出を防止できると判断し、現在停止している遺伝子組換え植物実験の再開が可能であると結論した。

5. まとめ

本調査委員会は、4月20日に判明した遺伝子組換え植物の漏出後速やかに組織され、本中間とりまとめに述べられた漏出發覚の経緯、その後の拡散防止のための緊急措置、漏出原因の究明、および、再発防止策について種々検討し、奈良先端科学技術大学院大学における今後の適切な遺伝子組換え植物の取り扱いを定めることとした。生駒市環境保全課の陪席を依頼するとともに、本漏出事故の調査および防止策の策定に関わったバイオサイエンス研究科教員が必要に応じ陪席し審議を行った。本調査委員会では以下の結論を得た。

(1) 今回の遺伝子組換え植物漏出事故は、調査の結果、複数の研究室から多種の組換え体が漏出していたこと、その漏出には栽培施設の構造上の問題が関係することなど、奈良先端科学技術大学院大学での遺伝子組換え実験における管理の不徹底によるところが大きい。奈良先端科学技術大学院大学はこの点を深く受け止め、実効性のある再発防止策を提案している。事故後の対応は迅速であり、周辺自治体および住民への対応も適切であったと判断する。

(2) 今回の事故による学外への漏出はなく、懸念される環境や人体への影響はないことを確認した。

(3) 「4. 再発防止策の策定と実施」において述べた個々の再発防止策を適切に履行することを確認した上で学内における遺伝子組換え生物等安全管理委員会等の承認を受け、植物に関する遺伝子組換え実験を再開することは妥当である。

(4) 本調査委員会は、引き続き防止策が適切に履行されていることを確認し、定期モニタリングによる新たな遺伝子組換え体の漏出がないことを確認した段階で、本遺伝子組換え植物漏出事故に関する最終報告をまとめる予定である。

調査委員会における議事の要約

第 1 回委員会（4 月 26 日）

学内委員から、遺伝子組換え生物等の第二種使用等を行っていた遺伝子組換え植物（シロイヌナズナ）が屋外で発見され、大学では危機対策本部が設置されるとともに、当該区域の立入制限、全学での遺伝子組換え実験の停止、文部科学省への報告などの措置をとったことについての経緯説明があった。

屋外のシロイヌナズナ個体について調査が行われ、学内 525 個体、学外 17 個体を採取し、遺伝子解析により少なくとも 289 個体が遺伝子組換え体であることが確認された。遺伝子組換えと判定された個体の生育地点は学内のみに限られており、いずれも分子育種温室／実験温室／植物栽培室周辺より回収された個体であった。行われた遺伝子改変はいずれも植物遺伝子の機能を調べることを目的としており、環境や人体に影響を与えないものではないことを確認した。

学内では遺伝子組換え実験実施従事者がとっている拡散防止措置の確認、当該区域の除草剤散布と土壌回収などの緊急措置がとられたことについて説明があった。

委員会ではこれらの漏出事故判明の経緯と調査結果について検討し、当該施設を見学して今後の対策について検討を行った。

第 2 回委員会（5 月 10 日）

本委員会開催までに明らかとなった、遺伝子組換え体の DNA 解析と、漏出原因に関する内部調査状況について報告があり、意見交換を行った。遺伝子組換え体の由来が特定できた個体は 289 個体中 41 個体で今後も調査を進めること、漏出個体が植物栽培室のみに由来すること、植物栽培室は昨年度雨漏りによる雨水回収のため滅菌装置が使えなかったことが今回の漏出に関係することなどを事実に基づき検討した。今回の漏出事故は、遺伝子組換えシロイヌナズナの密閉容器による運搬もしくは廃土や使用済個体の廃棄の際に密封バックで移動させた際に付着して拡散した可能性、さらにその漏出が昨年度一過的に生じた可能性があることについて種々議論した。

以上、資料に基づき討議が行われた後、植物を除く遺伝子組換え生物等の実験については、転倒時の場合においても密閉性が確保できる運搬環境を各研究室にて整えること条件として、停止解除することが妥当であると判断した。しかし、植物を用いた遺伝子組換え実験の停止は継続とし、今後対策を十分検討するよう要請した。

第 3 回委員会（6 月 19 日）

本委員会開催までに明らかとなった内部調査と地元自治体向けの事故経緯の説明等について報告があり、前回に引き続き意見交換を行った。

本委員会では特に、学内で取りまとめられた遺伝子組換え体の解析結果とそれに基づく漏出原因の特定について精査した。詳細な遺伝子解析の結果、289 個体のうち 58 個体を特定し、バイオサイエンス研究科植物科学領域に属する 9 研究室の中の 5 研究室で作製、栽培されていた組換え体であることが判明した。それぞれの研究室から遺伝子組換え植物の栽培場所および栽培時期の情報を得た。135 個体は研究室を特定することが困難な Haseloff ラインであることがわかった。以上の結果を持って漏出原因を特定する遺伝子解析作業を終了することについて、委員会では妥当であると判断した。

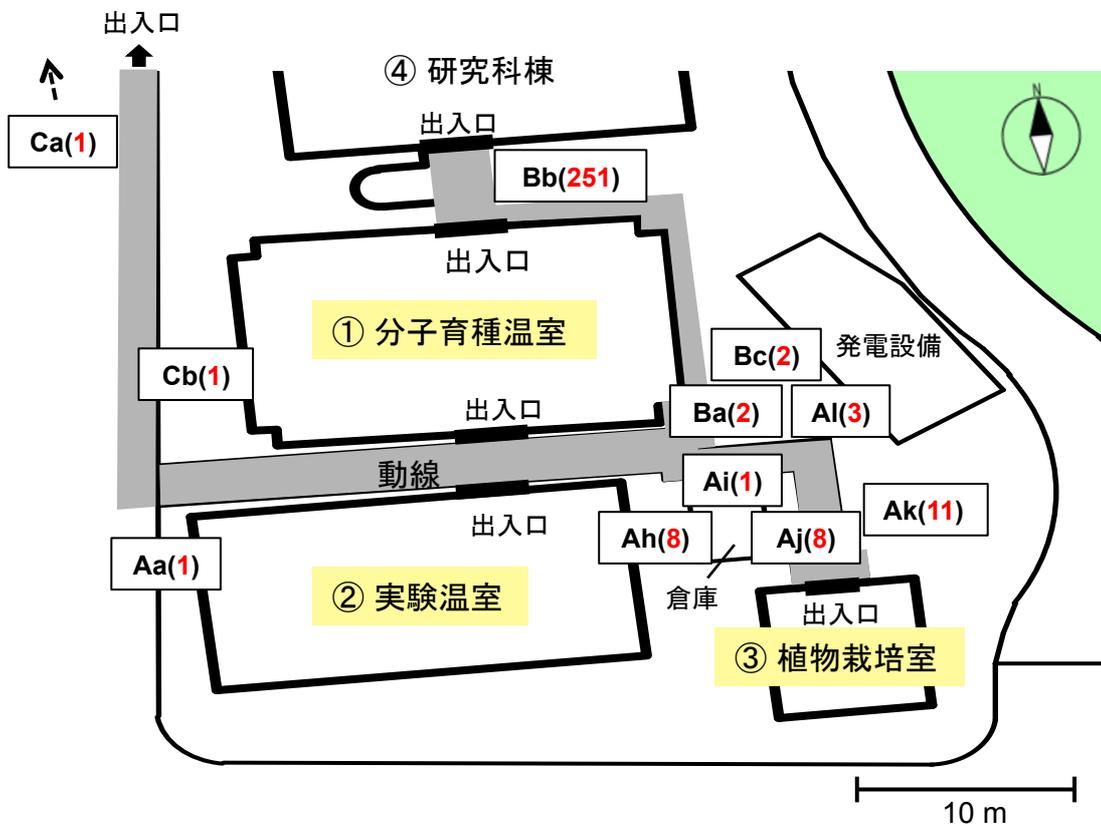
漏出した遺伝子組換え体の種類は多岐に渡るものの、漏出場所、漏出時期がほぼ特定され、全て植物栽培室に由来し、3 個体を除く全ての系統が昨年度に漏出した可能性が推定された。昨年度の漏出には、分子育種温室の雨漏りで当施設の廃土や使用済み個体を不活化する滅菌作業ができなかったことに起因した植物体の運搬によるものと断定した。しかしながら、本委員会としては昨年度以前にも個体の運搬による漏出があった可能性は完全には否定できないことを重視し、これらの点も考慮した上で防止策を検討することを要請した。

第4回委員会（7月1日）

前回まで検討した漏出事故の原因特定結果に基づき、今後の対策と再発防止策が提示され、内容の妥当性と対策の実施について種々検討した。今回の漏出は、主に昨年度に生じた施設上の一過的な問題に起因し、種子がオートクレーブバッグや植物体運搬箱の外側などに付着したためと判断されたが、植物栽培室の構造的な問題点、運搬時の不十分な拡散防止措置、遺伝子組換え植物実験に関わる関係者の安全管理意識の低下、などの人的要因も関わっており、それぞれについて十分な再発防止体制を整えることを委員会として要望した。

まず、施設の構造上の対応策として、植物栽培室の改修による前室設置、床面改修、オートクレーブの設置などが提案され、同施設の改修が完了するまで実験は停止することにした。さらに植物栽培時に種子拡散を防止する対策の強化、運搬方法の改善を徹底させること、遺伝子組換え実験に関わる学内教育の徹底、定期的なモニタリングを行うことなどが提案された。本委員会としてこれらの内容を精査し、改善策は妥当であると判断した。

大学周辺図



① 分子育種温室 ② 実験温室 ③ 植物栽培室 ④ 研究科棟

アルファベット記号は回収場所を、赤数字は発見された遺伝子組換え体の個体数を示す。

漏洩個体の遺伝子解析

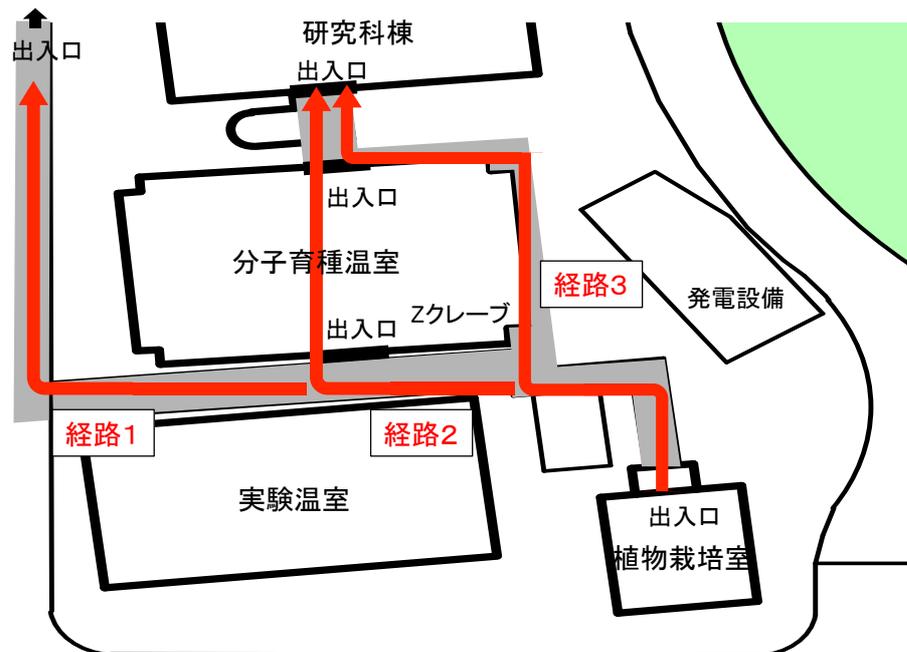
	整理No.*	個体数	回収場所(個体数)	薬剤耐性遺伝子	栽培研究室	栽培時期	栽培場所	備考
研究室特定	1	1	Bb (1)	Km	H	2010-2012	研究科棟・植物栽培室	
	2	6	Ai (1), Aj (1), Ak (4)	Km	H	2008-2016	研究科棟・植物栽培室	
	3	3	Bb (3)	Km	H	2007-2016	研究科棟・植物栽培室	
	4	10	Bb (10)	Km	H	2012-2013	植物栽培室	
	5	3	Bb (3)	Km	H	2012-2013	植物栽培室	
	6	2	Ak (2)	Hyg	B	2013-2015	植物栽培室	
	7	1	Ak (1)	Hyg	B	2014-2015	植物栽培室	
	8	1	Aj (1)	Hyg/Bar	B	2014-2015	植物栽培室	
	9	1	Ak (1)	Bar	B	2014-2015	植物栽培室	
	10	2	Aj (1), Ak (1)	Bar	A	2014-2016	植物栽培室	
	11	1	Aa (1)	Hyg/Bar	B	2014-2015	植物栽培室	
	12	1	Ak (1)	Km	A	2010-2016	研究科棟・植物栽培室	
	13	1	Aj (1)	Hyg	B	2014-2015	植物栽培室	
	14	1	Aj (1)	Hyg	A	2014-2016	植物栽培室	
	15	3	Aj (1), Bb (2)	Hyg	B	2014-2016	植物栽培室	
	16	3	Bb (3)	Bar	B	2014-2016	植物栽培室	
	17	1	Aj (1)	Km/Bar	B	2014-2015	植物栽培室	
	18	1	Ah (1)	Km	F	2010-2015	研究科棟・植物栽培室	
	19	2	Ai (1), Bb (1)	Km	B	2014-2015	植物栽培室	
	20	1	Bb (1)	Km	A	2010-2016	植物栽培室	
	21	3	Bb (3)	Km	A	2010-2016	植物栽培室	
	22	1	Bb (3)	Km/Bar	A	2010-2016	研究科棟・植物栽培室	
	23	1	Bb (1)	Km/Hyg	A	2014-2016	植物栽培室	
	24	1	Bb (1)	Km/Hyg/Bar	B	2014-2016	植物栽培室	
	25	1	Bb (1)	Bar	B	2014-2016	植物栽培室	
	26	1	Bb (1)	Hyg	A	2010-2016	植物栽培室	
	27	1	Bb (1)	Hyg	A	2014-2016	植物栽培室	
	28	2	Bc (2)	Km	A	2014-2015	植物栽培室	
	29	1	Cb (1)	Km	B	2014-2015	植物栽培室	
	30	1	Ca (1)	Km	G	2015-2016	植物栽培室	
研究室限定	31	14	Ah (7), Bb (7)	Km	B, F or G	2005-2016	研究科棟・植物栽培室	Haseloffライン タイプA
	32	38	Bb (38)	Km/Hyg	B, F or G	2005-2016	研究科棟・植物栽培室	Haseloffライン タイプB
	33	2	Ba (1), Bb (1)	Hyg	B, F or G	2005-2016	研究科棟・植物栽培室	Haseloffライン タイプC
	34	10	Bb (10)	Hyg/Km	B, F or G	2005-2016	研究科棟・植物栽培室	Haseloffライン タイプD
	35	40	Bb (40)	Hyg/Km	B, F or G	2005-2016	研究科棟・植物栽培室	Haseloffライン タイプE
	36	4	Bb(4)	Hyg/Km	B, F or G	2005-2016	研究科棟・植物栽培室	Haseloffライン タイプF
	37	5	Bb (5)	Hyg/Km	B, F or G	2005-2016	研究科棟・植物栽培室	Haseloffライン タイプG
	38	7	Bb (7)	Km	B, F or G	2005-2016	研究科棟・植物栽培室	Haseloffライン タイプH
	39	2	Bb (2)	Km	B, F or G	2005-2016	研究科棟・植物栽培室	Haseloffライン タイプI
	40	6	Bb (6)	Hyg	B, F or G	2005-2016	研究科棟・植物栽培室	Haseloffライン タイプJ
	41	6	Bb (6)	Hyg/Km	B, F or G	2005-2016	研究科棟・植物栽培室	Haseloffライン タイプK
	42	1	Bb (1)	Km	B, F or G	2005-2016	研究科棟・植物栽培室	Haseloffライン タイプL
特定できず	43	1	Aj (1)	Km/Hyg				含GUS
	44	1	Ak (1)	Km/Bar				含GUS
	45	3	Bb (3)	Km				含EYFP
	46	16	Bb (16)	Km				SALK T-DNAタグライン
	47	1	Bb (1)	Km/Hyg				SALK T-DNAタグライン
	48	5	Bb (5)	Km				含35S-NOS
	49	1	Bb (1)	Bar				含attB1-attB2
	50	2	Bb (2)	Hyg				含attB1-attB2
	51	3	Al (2), Ba (1)	Bar				遺伝情報なし
	52	10	Bb (10)	Km				遺伝情報なし
	53	20	Bb (20)	Hyg				遺伝情報なし
	54	33	Bb (33)	Km/Hyg				遺伝情報なし
	合計	289						

*整理番号：遺伝子解析により特定された系統番号(1-30)、もしくは得られた導入遺伝子の情報をもとに個体を分類したグループ番号(31-54)。

種子をつけた植物体および種子回収後の植物体の移動実績

植物科学領域 所属研究室	シロイヌナズナの栽培 に利用した施設	種子をつけた植物体の移動実績		分子育種温室 or 植物栽培室で 栽培した植物体・土の不活化場所		植物栽培室から 研究科棟までの動線 (2015年度、雨漏り時)
		研究科棟 ↓ 分子育種温室 or 植物栽培室	分子育種温室 or 植物栽培室 ↓ 研究科棟	通常時	2015年度 (雨漏り時)	
A	分子育種温室 植物栽培室	—	—	分子育種温室 or 研究科棟	研究科棟	経路1 or 2 or 3
B	分子育種温室 植物栽培室	—	+	分子育種温室	研究科棟	経路1 or 2
C	分子育種温室	—	—	分子育種温室	研究科棟	—
D	植物栽培室*	—	—	分子育種温室 or 研究科棟	—	—
E	—	—	—	—	—	—
F	植物栽培室	—	+	分子育種温室 or 研究科棟	研究科棟	経路1 or 2
G	分子育種温室 植物栽培室	—	+	研究科棟	研究科棟	経路1 or 2
H	分子育種温室 植物栽培室	—	+	分子育種温室	研究科棟	経路2 or 3
I	分子育種温室# 植物栽培室#	—	+	研究科棟	—	—

+: 移動実績あり, —: 移動実績または栽培実績なし
 * 2013年度以前に利用
 # 2007年度以前に利用
 経路1, 2, 3: 下図参照



シロイヌナズナ実験系統 (Col 株) の野外栽培試験データ
(京都大学生態学研究センター 工藤洋教授提供)

京都大学生態学研究センター (滋賀県大津市) の屋外鉢棚にて Col 株の種子を播種した際の開花時期に関するデータ (自然温度、自然光下、灌水ありの条件下で検討)

8/26 播種 → 11 月上旬開花開始
9/2 播種 → 11 月上旬開花開始
9/9 播種 → 11 月中旬開花開始
9/16 播種 → 12 月中旬開花開始
9/23 播種 → 1 月中旬開花開始
9/30 播種 → 1 月中旬開花開始
10/7 播種 → 3 月上旬開花開始
10/14 播種 → 3 月上旬開花開始
10/21 播種 → 3 月下旬開花開始
10/28 播種 → 3 月下旬開花開始
11/4 播種 → 3 月下旬開花開始
11/11 播種 → 3 月下旬開花開始

いずれの株も、春先まで枯れずに花を咲かせた。

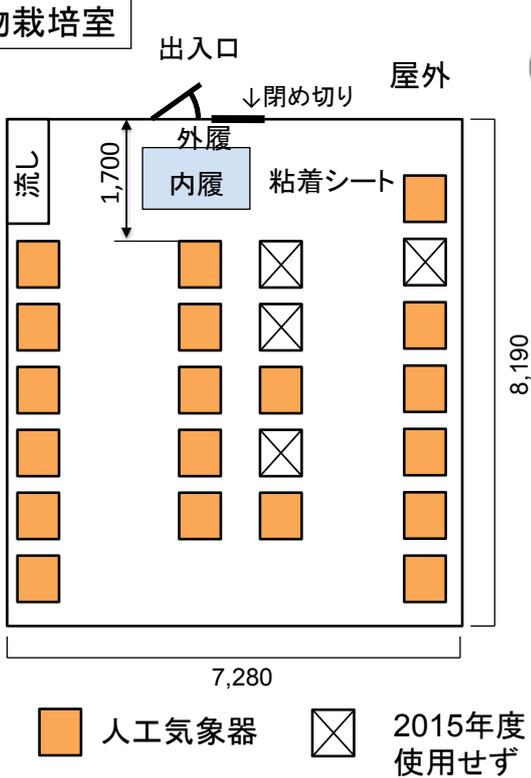
また、春先に鉢の中から発芽した種子は、小さな株のまますぐに花をつけた。

各研究室のシロイヌナズナの栽培実績
 (種子を回収する目的で栽培したシロイヌナズナの年間当りの個体数)

植物科学領域 所属研究室	分子育種温室		植物栽培室		備考
	2014年度以前	2015年度	2014年度以前	2015年度	
A	1,500	1,000	1,000	1,200	
B	1,000	4,000	1,000	4,000	
C	540	940	0	0	
D	0	0	100*	0	*2013年度以前
E	0	0	0	0	
F	0	0	1,500	1,500	
G	2,000	2,000	0	500	
H	200	300	200	150	
I	50#	0	200#	0	#2007年度以前

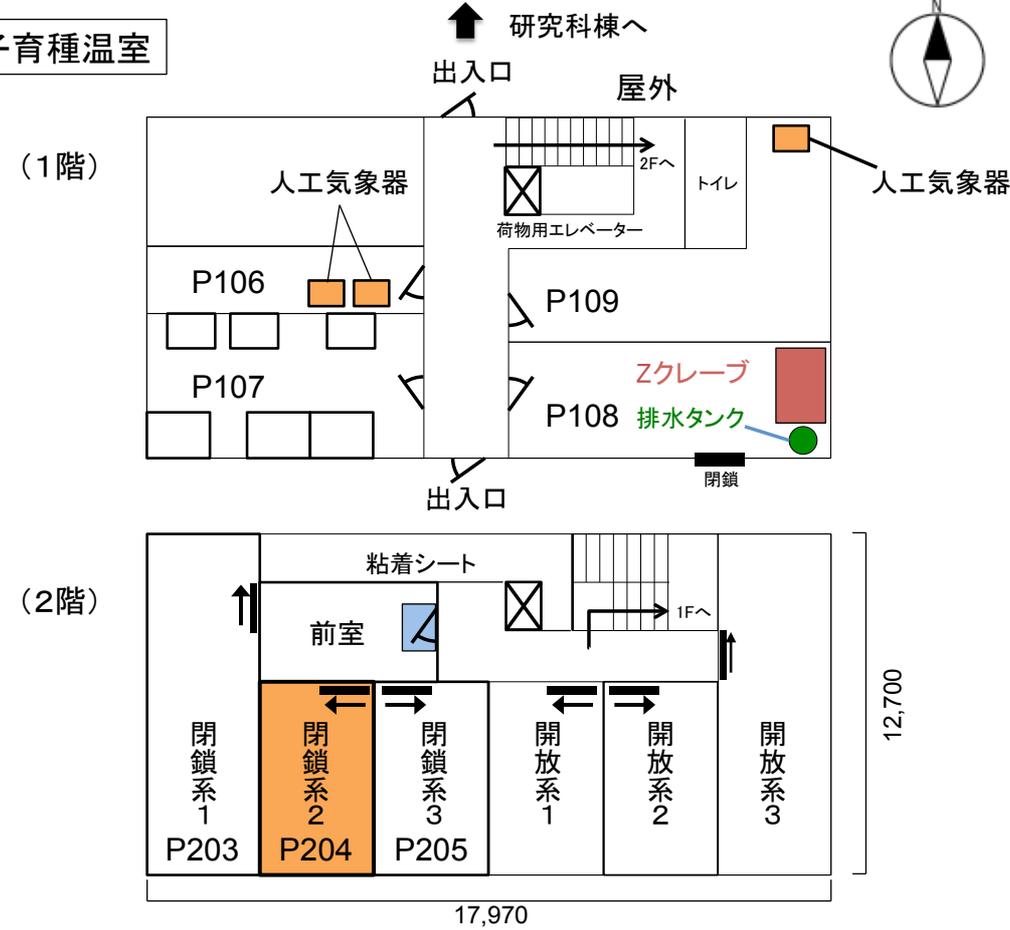
植物栽培室と分子育種温室の構造

植物栽培室



オレンジ色: シロイヌナズナ栽培場所

分子育種温室



床に落下したシロイヌナズナ種子の植物体運搬箱への付着の検討

■ 床表面の構造



植物栽培室

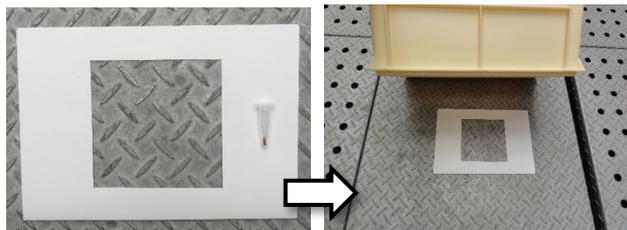


分子育種温室 (P204)

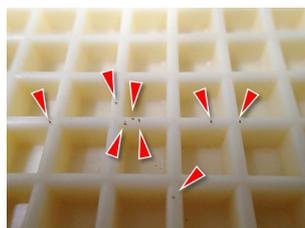
植物栽培室の床はビニール製で平坦である(中央は、参照とした1円玉で厚さ1.5 mm)。分子育種温室内のシロイヌナズナ栽培室 (P204) の床は床下空調との換気穴の有無で2種類に分かれるが、いずれも格子状の滑り止め(高さ1 mm強)を持つ金属製である。

■ 床の種子が、植物運搬用箱の底にどのくらい付着するのかの検討

方法：12 cm平方に、種子約 500 粒を均一に撒き、その上に運搬箱を載せ、箱の裏面に付着する種子数を数えた。試行数は3回。

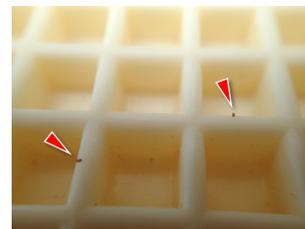


植物栽培室



試行	付着した種子数
1	20
2	27
3	26

分子育種温室 (P204)



試行	突起部の種子数	付着した種子数
1	24	0
2	15	0
3	13	2

結果：植物運搬箱の底は格子状になっており、植物栽培室の床上に撒いた種子の内、運搬箱の底面に接触し付着する種子は約 5%程度 (20-27 個) であった。一方、分子育種温室 (P204) では、撒いた種子の大半は格子状の突起部下にあり、運搬箱の底面に付着する種子はごく僅かであった。

静電気によるシロイヌナズナ種子のオートクレーブバッグへの付着の検討

各研究室で使用しているオートクレーブバッグの材質

研究室	材質
A	高密度ポリエチレン（白色）
B	高密度ポリエチレン（半透明）
F	高密度ポリエチレン（橙色）
G	耐熱ポリプロピレン（半透明）
H	高密度ポリエチレン（白色）

植物栽培室と分子育種温室 (P204) の床の構造



植物栽培室の床（ビニール製）



分子育種温室 (P204) の床（金属製）



オートクレーブバッグへの種子の付着実験

床上に種子 100 粒を撒き、10 枚のペーパータオルを詰めたオートクレーブバッグをすぐに床に接触させた後、一定時間毎に持ち上げてバッグに付着した種子数をカウントした。

材質	部屋	経過時間後の付着種子数（粒）		
		0 min	5 min	30 min
高密度ポリエチレン （白色）	植物栽培室	17	16	16
	分子育種温室 (P204)	7	4	0
高密度ポリエチレン （半透明）	植物栽培室	19	18	13
	分子育種温室 (P204)	2	0	0
耐熱ポリプロピレン （半透明）	植物栽培室	5	4	1
	分子育種温室 (P204)	3	0	0