

組換え DNA 分子に関するアシロマ会議の要約文書

Paul Berg, David Baltimore, Sydney Brenner,

Richard O. Robin, Maxine F. Singer

1. 緒言及び概略

本会議は、組換え DNA 分子に関する研究における科学的進歩を検討し、潜在的なバイオハザードを扱う適切な方法を討議するために組織された。同分野における科学的功績は目覚しく、こうした技術は原核生物及び真核細胞における基本的な生化学的プロセスに対する我々の理解を深める大きな可能性を見出すものである。組換え DNA 手法を利用することで、分子生物学の実際は根本から変化するであろう。こうした新技術は未だ実用に供されてはいないが、将来的に重要な有効性を持つようになる、と考えられ得る根拠が存在する。

同会議の参加者らの懸念事項は、米国科学アカデミー Committee on Recombinant DNA Molecules が 1974 年 7 月 (1) に発表した文書によって、問題となっていた数種の研究分野が再開されるならば、実験室内の研究者、一般市民、生態系を共有する動物及び植物種に対するリスクを最少にとどめるにはどのように研究を実施したらよいのか、ということである。

極めて異なる生物の遺伝情報を組み合わせることが可能なこうした新技術により、我々は生物学でも未知とされる分野に足を踏み入れることとなった。現在、本分野のさらに限定した研究の実施においてさえ、潜在的なバイオハザードの評価は、非常に困難であることが証明されている。この知識がないということが、同研究の実施に際しては慎重を期するのが賢明であるという結論に、我々を導いてきた。しかしながら、会議の参加者らは、適切な保護手段（新たに生み出された生物を封じ込めるのに十分な主に生物学的、物理的な障壁）が採用されるならば、組換え DNA 分子構築の大部分の研究を推進すべきであるということに合意した。さらに、保護基準は、当初は高くし、手法の改善やリスク評価の変化があった場合に改良するべきであり、また、幾つかの実験は潜在的リスクが非常に高く、現在利用できる封じ込め施設で実施するべきでないことについても合意した。産業、医療、農業分野に、この手法を広い範囲で適用することにより、長期に亘る深刻な問題が起こる可能性がある。しかし、将来の研究及び経験によって、潜在的なバイオハザードの多くが、

我々が現在懸念するほど深刻かつ起こりうるものではないことも明らかとなった。

II. 勧告及び結論に至る原則

組換え DNA 分子に関する研究に伴うリスクに対して評価は一定ではなく、こうした手法は通常リスクを伴わず、また伴うとしても、そのリスクは皆無に近いと考えられている。こうした潜在的リスクに対処する合理的原則は、以下の通りである。

- i) 封じ込めは、実験計画において必ず考慮すべきであり、
- ii) 封じ込めの有効性は、可能な限り推定リスクに見合うべきである。

従って、いかなる規模のリスクにも相応した、様々な規模の封じ込めが必要である。リスクを推定することは、最初は困難で直感に頼らざるを得ないが、我々が新たな知識を得るにつれて改善されるであろう。その各段階で、我々は潜在的リスクと適切な封じ込めレベルを一致させなければならない。実験は、大規模に実施されるものより、小規模に実施される同等のものの方が危険とされており、より厳しい封じ込め方法が必要である。クローニング用運搬体またはベクター（プラスミド、ファージ）あるいは実験室外で増殖する能力を制限した細菌の宿主を使用することで、特定の実験における潜在的なバイオハザードを低減できると考えられる。このように、潜在的なバイオハザード及び異なった封じ込めレベルを適合させる方法は、特に封じ込め技術が改善される場合など、時おり変化する可能性がある。リスクを評価し、適切な封じ込めレベルとの均衡を保つ手段については、随時再検討する必要がある。また、世界中の国家間及び国内情報の公式・非公式情報チャンネルを通じ、潜在的なバイオハザード及び封じ込めレベルの均衡を保つ方法に一貫性が望まれている。

潜在的にバイオハザードを有する病原体の封じ込めは、いくつかの方法によって実現できる。組換え DNA の拡散防止に大きく寄与するのは、生物的な障壁の採用である。こうした障壁には 2 種類がある。

- i) 自然環境で生存不可能な培養の難しい細菌の宿主。
- ii) 特定宿主でのみ成育が可能な非伝播性かつ同様に培養の難しいベクター（プラスミド、バクテリオファージまたは他のウイルス）。

適切なフードにより例証される物理的封じ込め、または、適用可能であれば、出入りが限定された、または陰圧に保った実験室の使用により、安全性がさらに高まる。適切な微生物

物実験手法を厳格に遵守することにより、実験環境からの生物の拡散を規制し、施行の安全性を高めることがとりわけ重要である。従って、実験に関与する全員の教育及び訓練は、封じ込め方法全ての有効性に不可欠である。実際、各封じ込め方法は相互に補完的で、細菌の宿主及びベクターの増殖制限能に関して大幅な改善を実証しており、補完的な物理的封じ込めの必要条件が修正可能となっている。

厳しい物理的封じ込め及び実験法により、潜在的ハザードを有する病原体の拡散の可能性は低減できるが、排除することは不可能である。したがって、研究者が、「無害な」宿主及びベクターにより安全性を高めようとする場合は、それらの病原体の有効性を生物学的障壁として受け入れる前に、その有効性を厳しく検査しなければならない。

III. 実験に即した封じ込め方法の勧告

リスクに関する実験の分類と、封じ込め方法の組合せがなくては、全ての状況を予測できない。ハザードに関する現在の不確実性を考慮すると、ここで提起されるパラメータは広く検討されており、組換え DNA 研究に関与した研究者及び機関に暫定的なガイドラインを提示するものと考えられる。しかしながら、各研究者はそれぞれの事例において、特別な状況が、ここで示唆されている以上の高次の封じ込めレベルを保証するかどうかを決定する責任を有している。

A. 封じ込めの種類

1. 最小リスク：この種の封じ込めは、バイオハザードが正確に評価され、かつ、最少と予測される実験に適用される。こうした封じ込めは、臨床微生物実験室に推奨されている次の操作手順によって達成することが可能である。そのような施設の必要不可欠な要件としては、実験室内での飲食及び喫煙の禁止、作業場における実験室用コートの着用、綿栓付ピペットまたは（より好ましい）機械ピペット器具の利用、汚染物質の早急な殺菌などが挙げられる。

2. 低リスク：このレベルの封じ込めは、新たなバイオタイプを生み出すが、そこで入手で

きる情報により、組換え DNA が受容種の生態学的挙動を大幅に変え、病原性を有意に増加させ、あるいは結果として引き起こされる感染症の効果的処置を防止できないことが示唆される実験に適用される。この封じ込めの主要な特徴（上述した最小限の方法に加え）は、口によるピペット操作の禁止、実験室作業員に限定した出入り及びエアロゾル発生のおそれのある実験に生物的安全キャビネットを使用することなどが挙げられる（例えば、混合及び音波破碎）。既存のベクターは、低リスク方法と組み合わせて使用すると考えられるが、より安全なベクター及び宿主が利用できれば採用すべきである。

3. 中程度のリスク：この封じ込め施設は、病原性または生態系の破壊に関し、甚大な影響力を伴った病原体を生み出す可能性のある実験に適用される。このレベルの封じ込めの主要な特徴は、前述の 2 分類に加え、移動操作を生物的安全キャビネット（例えば、層流フード）で実行すべきであるという点、感染性物質を取り扱う場合に手袋を着用する点、真空ラインはフィルターによって保護されていなければならない点、出入りを制限された実験室内で陰圧を維持するという点である。さらに、中程度のリスクをもたらす実験は、実験室外での増殖能力にかなりの障害を有するベクター及び宿主によってのみ行うべきである。

4. 高リスク：このレベルの封じ込めは、遺伝子改変生物の生態系の破壊または病原性が深刻なため、実験室作業員や一般市民に甚大なバイオハザードをもたらす恐れのある実験に対して適用される。この種の施設は感染力の強い微生物を封じ込めるように設計されており、主な特徴は、エアロックによる他域からの隔離、陰圧環境、出入りする人々の衣服の着脱及びシャワーの義務付け、排気、液体、固形廃棄物に存在する汚染物質とみられる生物的物质を不活性化または除去する処理システムを装備した実験室などである。これら施設の全作業員は、作業用の防護服を着用し、封じ込め施設の各出口にてシャワーを浴びることとされている。病原体の取扱いは、排気を焼却するか、Hepa フィルターに通す生物的安全キャビネットに限定して行うべきである。高リスクの封じ込めには、上述の物理的手順に加え、厳しい試験を受けたベクター及び、増殖が実験室に制限された宿主の利用が含まれる。

B. 実験の種類

予期される危険が出現する蓋然性に関しての我々の知識が乏しいため、異なる種類の実験に関連したリスクの正確な推定を行うことは困難である。しかしながら、i)原核生物、バクテリオファージ及び他のプラスミド、ii)動物ウイルス、iii)真核生物の DNA を用いた組換え DNA 分子の構築及び増殖に関連した実験は、最少、低、中程度、高リスクに分類され、研究者が適切な封じ込めを選択する際の参考となっている。こうした呼称は、今後の経験に照らし合わせ適宜修正を必要とすると思われる暫定的措置として考えるべきである。

組換え DNA 分子自体は、それらを運ぶ細胞と異なり、バクテリアや高等生物に導入される可能性がある。これらの実験から調製された DNA は、特に大量な場合、廃棄前に化学的に不活性化すべきである。

1. 原核生物、バクテリオファージ及び細菌性プラスミド：

組換え DNA 分子の構築及び増殖が、天然に遺伝情報を交換することが知られている原核生物に関連している場合、同実験は最小限のリスク封じ込め施設で行うことが可能である。こうした実験が潜在的ハザードをもたらす場合、さらに厳しい封じ込めが行われる場合がある。

遺伝情報を交換しない種の DNA 分子から採取した組換え DNA 分子の構築及び増殖が関係した実験により、一般には新たなバイオタイプが生まれる。同様の実験は、元の生物と関連した場合以上のバイオハザードをもたらす可能性があるため、少なくとも低リスク封じ込め施設で実施すべきである。仮に、同実験が、病原体または受容種の病原性を増大させる可能性のある遺伝子の決定因子に関連している場合や、移行した DNA により受容生物に元々備わっていない新しい代謝活性が付与され、環境との関係を改善できる場合、中程度または高リスク封じ込めが使用されねばならない。

治療上有効な抗生物質または殺菌剤に対するヒト病原体の確立した抵抗力の範囲を広げる実験は、関連した生物の毒性のため、中程度または高リスク封じ込めの下、実施されるべきである。

2. 動物ウイルス：

原核細胞における原核生物ベクター及びその増殖へのウイルスゲノムまたはゲノムセ

グメントのつながりに関連した実験は、実験室外で増殖する能力を明らかに制限したベクター-宿主系及び中程度リスク封じ込め施設でのみ行われるべきである。非発癌性ウイルスゲノムまたは発癌性ウイルス DNA の明らかに非形質転換領域の、厳密に精製解析したセグメントを、既存のベクターに付着させ、中程度リスク封じ込め施設で増殖させることが可能である。こうした実験で、より安全なベクター-宿主系が利用できる場合は、低リスク施設で行うことも可能である。

動物細胞の非ウイルス性または他の低リスク病原体から、DNA を導入または増殖するよう設計された実験は、ベクターとして低リスクの動物性 DNA のみを利用すべきであり（例えば、ウイルスまたはミトコンドリア）かつ、操作は、中程度リスクの封じ込め施設に限定すべきである。

3. 真核生物：

原核生物の DNA ベクターに真核性 DNA の任意のフラグメントを加えることと関連したリスク及び原核宿主におけるこれら組換え DNA の増殖は、最も難しい検討事項である。

演繹的に推測すれば、温血脊椎動物の DNA は、他の真核生物の DNA より、ヒトに対する病原性の疑いのあるウイルスゲノムを含む可能性が高い。従って、こうした動物及び特に霊長類のゲノムから DNA セグメントを複製する試みは実験室外で増殖する能力を明らかに制限したベクター-宿主系及び中程度リスク封じ込め施設でのみ行われるべきである。温血脊椎動物の DNA の複製されたセグメントが完全に解析されるまで、それらは中程度リスク封じ込め実験室で最も制限されたベクター-宿主系において保持されるべきである。そのように複製されたセグメントが解析されれば、それらは、ウイルスゲノムの精製セグメントに関して上述で示唆されているように、増殖する可能性がある。

生物が、危険であることがわかっている生産物（例えば、毒素またはウイルス）を産出しない限り、冷血脊椎動物及びその他、低位の真核生物全ての組換え DNA は、低リスク封じ込め施設で利用可能な最も安全性の高いベクター-宿主系で構築及び増殖が可能である。

既知の機能を示し、かつ、非毒性と判断されるソースから精製された DNA は、低リスク封じ込め施設において、現在利用可能なベクターを用い、複製できる可能性がある。（ここで毒性とは、在来微生物によって動物または植物中に産出される場合、通常の代謝を不安定にさせる可能性のある、潜在的に発癌性を有した生産物または物質を含む。）

4. 延期すべき実験：

危険性が高いために、現在利用可能なベクター宿主系及び封じ込め能力を用いては、実施すべきではない実験がある。これらには、非常に病原性の強い生物（すなわち、米国保健教育福祉省によって、クラス III、IV 及び V に分類された原因微生物）に由来する組換え DNA の複製、毒性遺伝子を含む DNA、ヒト、動物または植物に対し潜在的に有害な生産物を生じうる組換え DNA を利用した大規模な実験（培養物が 10 リットル以上）が含まれる。

IV. 実施

多くの国々で、既知または潜在的なバイオハザードを伴う実験の実施に対する実行規約を考案するため、政府機関の取り組みがすでに始まっている(2)。これらが策定されるまで、各科学者が、指針としてこの文書の提案を利用することを我々は望んでいる。これに加え、科学界により早急に実施すべき勧告がいくつか提出されている。

A. より安全なベクター及び宿主の開発

アシロマ会議の重要性及び功績は、実験室外で増殖する能力を制限した特定のバクテリア及びベクターを遺伝的に構成し、こうした生物の利用により、多くの点で、組換え DNA 実験の安全性を高めることを現実化した点にある。これらの情報に沿った実験は現在進行中であるが、近い将来、バクテリオファージの変種、非感染性プラスミド、大腸菌の特殊な株が利用可能となると考えられる。こうしたベクター全てが、極めて多数の要因によって潜在的なバイオハザードを低減でき、同様にその手法の改善も果たす可能性がある。他のベクター-宿主系、特に枯草菌の改良株及びそれらに関連したバクテリオファージ及びプラスミドも、特定の目的に有効であると考えられる。非常に安全性が高く、適応力のあるベクターが、イースト菌などの真核生物宿主、及び容易に培養できる動植物細胞中に発見できる可能性がある。この分野の継続的発展がなされ、アシロマ会議の参加者らが、組換え DNA 研究のバイオハザードを低減するベクター-宿主系の改善に合意すれば、その研究に関心を持つ研究者全ての研究成果の自由な入手が可能となるであろう。

B. 実験法

主任研究員は、こうした実験を開始する前に、その潜在的危険性を実験室のスタッフに通知する確固とした責任を有している。実験に参加している各個人が、実験及び関連するリスクの性質を完全に理解するよう、自由で率直な議論が必要である。全研究者は、危険が起きた場合の緊急措置を含めた、危険を制御するよう設計された封じ込め方法に関しての適切な訓練を受けなければならない。また、血清学的モニタリングを含む、全作業員の適切な健康診断を定期的に行うことが推奨されている。

C. 教育及び再評価

この分野の研究は急速に進展するため、その方法を様々に異なった生物学的問題に適用せねばならないと考えられる。将来的には、実施の可能性がある実験の全範囲を予見し、その判断をすることは不可能である。したがって、新しい科学的知識に照らして、問題の継続的な再評価を行うことが重要である。こうしたことは、毎年ワークショップ及び会議、随時の国際レベルの会議等によって達成できると考えられる。この分野の広範囲な経験のない研究所によって、研究が実施される場合もあり、関連した方法における個人の訓練方針も必要である。また、新たな及び既存のベクター-宿主系における封じ込めの有効性を改善及び評価できるような研究を最も優先するべきである。

V. 新たな知見

この文書は、現在の知識に照らした、潜在的なバイオハザードに対する我々の初の評価を示している。しかし、外界とは異なる生態的地位におけるバクテリア及びバクテリオファージの実験室株の生存についてはほとんどわかっていない。組換え DNA 分子が、自然界で、そうしたベクター及び宿主の生存を強めるかまたは弱めるかについては、更に理解が乏しいところである。こうした疑問は、構築した新たな生物全てを試験する原動力となっている。この分野の研究は、高い優先度で実施するべきである。しかし、一般に、DNA 組換え分子を構成しようと試みる分子生物学者は、こうした実験を行わないため、細菌感染症または微生物生態学の研究に熟練したグループとの共同研究の推進が必要である。また、我々が、クローニング用担体及びその宿主の拡散または伝播をモニターできるような研究も行うべきである。

真核生物の DNA セグメントを含むファージまたはバクテリアの高等生物における潜在的な感染力については何もわかっておらず、DNA 分子それ自体の感染力についてもほとんどわかっていない。バクテリアの形質転換は動物において起こることから、組換え DNA 分子が、この環境で、そうした生物学的能力を保持できることが示唆されている。この分野には多くの疑問があるが、組換え DNA 分子に関する実験のバイオハザードを我々が評価することで、答えが導き出せると考えられる。同研究の計画及び実施を確実にすることが必要であり、組換え DNA 分子の使用を大規模に適用しようと試みる前に、この事に関する情報を得ることが特に重要であろう。