

ショウジョウバエ

協力： 京都工芸繊維大学・ショウジョウバエ遺伝資源センター・名誉教授 山本雅敏先生
国立遺伝学研究所・生物遺伝資源センター・教授 上田龍先生
第3期 NBRP ショウジョウバエ運営委員会

1. 動物の特性と拡散防止措置の概要

(1) ショウジョウバエの特性

ショウジョウバエは完全変態の昆虫であり、卵より孵化した1令幼虫が2回の脱皮を経て蛹となり、蛹から成虫に羽化する。産卵から羽化まで、25℃において9日間を要する。全発生時期において温度の影響を受け易く、18℃では発生時間が約2倍に遅延する。12℃では発生は殆ど停止し、5℃以下では死滅するなど低温に対する耐性はない。高温に対しても耐性はなく、連続した30℃以上の飼育環境では死滅する。発生段階のそれぞれの特性を以下に記載する。

① 卵

成虫は湿った飼料にのみ産卵する。受精は雌成虫の排卵直後の輸卵管中で行われ、産卵後25℃において約1日で1令幼虫が孵化する。卵は乾燥に弱く、飼育瓶の乾燥した壁に偶発的に産み付けられた卵からは孵化が起こらない。

② 幼虫

1令幼虫は25℃では1日後に脱皮して2令幼虫に、さらに1日で3令幼虫となり、2日後に蛹となる。幼虫は常に飼料の中に潜り込んで、摂食を続けながら成育する。

③ 蛹

3令幼虫はその末期に飼料より離れ、飼育瓶の壁に登って唾腺から分泌された糊蛋白質で壁に体を固定し、蛹を形成する。蛹はショウジョウバエの全発生段階において唯一乾燥に耐性がある。

④ 成虫

雌成虫は富栄養条件下では羽化後2～3日で産卵可能となる。飼育環境下では2～3ヶ月生存し、最大産卵数は300ほどである。成虫の雄、雌とも生存には摂食、摂水が必須であり、24時間以上の絶食と乾燥で死滅する。

(2) 遺伝子組換えショウジョウバエの拡散防止措置の概要

ショウジョウバエは基本的に飼育瓶中で生育し、飼育瓶外の乾燥した実験室での生存は極めて難しい。従って飼育瓶が第1の強力な物理的封じ込めとなる。ただし成虫は系統を継代維持するために新たな飼育瓶に移す、あるいは交配実験等で飼育瓶から麻酔装置に移すことがあるため、万が一の逃亡を考慮し、実験室・飼育室全体を使った物理的封じ込めをおこなう。また不要となった飼育瓶や使用済みの実験器具は凍結処理、あるいはオートクレーブ／熱処理を加え、全ての発生段階のショウジョウバエを死滅させる。

① 卵

飼育瓶中の飼料に産卵された卵には逃亡の危険はない。胚発生等の実験に使用するため実験室内で卵を操作する場合、実験容器外にこぼれないよう注意するとともに、実験後に作業場所の清掃をおこなう。

② 幼虫

飼育瓶中で発育中の幼虫は逃亡の危険は低い。蛹化直前の幼虫が万が一、飼育瓶の蓋の隙間から逃亡したとしても乾燥した場所での移動距離は極めて短く、かつ乾燥や飢餓に弱いので野外環境に逃亡する危険はない。実験に使用する場合、実験容器外にこぼれないよう注意するとともに、実験後に作業場所の清掃をおこなう。

③ 蛹

蛹には移動能力はない。実験に使用する場合、実験容器外にこぼれないよう注意するとともに、実験後に作業場所の清掃をおこなう。

④ 成虫

飼育瓶が第1の拡散防止装置である。実験のため、飼育瓶外で操作する場合は炭酸ガス、エーテル、トリエチルアミン等で麻酔する。実験で不要となった成虫を実験室内で処分する場合、70%エタノール液等を使い、必ず死滅させる。成虫は遠距離の飛翔能力はないが、実験室外への逃亡を防ぐため実験室に前室を設けるか、あるいはカーテン等を設置するなど、環境への拡散を防止する障壁を2重に設ける。また窓、換気扇、流し等の外部へ通じる場所は隙間がないように処置すると共に、室内へ電撃殺虫器やトラップ等の捕獲装置を設置する。

なお、本マニュアルでは遺伝子組換えショウジョウバエの拡散防止措置の要件のみを記載する。本マニュアルにおける例示はP1Aの拡散防止措置を対象としている。したがって、P2A以上の拡散防止措置が必要な実験においては、それに対応した適切な拡散防止措置の要件が必要とされる。さらに、実験計画において拡散防止措置が不明である場合には大臣確認申請を行う必要がある。

また、今後、ショウジョウバエに遺伝子組換えウイルス等を接種する実験が実施されるのであれ

ば、別途そのための拡散防止措置を検討する必要がある。

2. 拡散防止措置の要件

(1) 施設等の要件(ハード要件)

[遺伝子組換えショウジョウバエの飼育]

P1A

物理的封じ込めによって逃亡および野外生物の接触を防止する。飼育容器を用いて、インキュベーターなどに保管し、必ず指定された実験室において飼育すること。飼育室・実験室の扉は 2 重の逃亡防止措置を講じる。また扉は直接、屋外に開かず、建物内の廊下等に面していること。

① インキュベーター内の密封飼育瓶

- ・ 飼育瓶は硬質ガラス製あるいはプラスチック製の透明で内部が観察できるものを使用すること。
- ・ 蓋は硬質スポンジ栓、あるいは綿栓や紙栓を用い、脱落の可能性がなく、また蛹化直前の 3 令幼虫や成虫が逃亡できない適切なサイズのものを使用すること。

② インキュベーター

- ・ 特に機種等は指定しないが、遺伝子組換えショウジョウバエが逃亡できる穴や隙間などがないこと。

③ 飼育室・実験室

- ・ 通常の飼育室・実験室の構造を有し、扉は直接屋外とつながった構造ではないこと。
- ・ ショウジョウバエが環境中に逃亡しないよう、出入り口は前室を設けるか、カーテンや 100 メッシュ程度の網等を用いて 2 重の拡散防止措置を講じる。カーテンと扉の間にはヒトが立てる程度の空間を設ける。
- ・ 換気扇や開口部は 100 メッシュ程度のナイロンフィルターやステンレス網等で覆い、ショウジョウバエが逃亡できない処置がしてあること。
- ・ 流しの排水設備は成虫の逃亡防止のため、封水型トラップ(S 型トラップなど)を装備すること。
- ・ 室内に電撃殺虫器やショウジョウバエ用トラップ等を設置すること。
- ・ 扉に「P1A 遺伝子組換えショウジョウバエ 実験中」の表示をすること。

- ④ オートクレーブ、乾熱滅菌、冷凍庫(不要のショウジョウバエを死滅させるための装置)
- ・ 飼育室・実験室内に設置することが望ましいが、異なる場所に設置し、実験室からショウジョウバエを搬入する場合は、逃亡防止のため2重の封じ込め状態で持ち運ぶこと(下記「運搬」参照)。

⑤ ふん尿の処理設備

- ・ 遺伝子組換えウイルスを使用しないので、とくに必要としない。

(2) 実施上の遵守事項(ソフト要件)

[遺伝子組換えショウジョウバエの飼育]

① P1 レベルの実施上の遵守事項

- ・ 実験中は窓、扉を閉め、実験後に机上を清掃すること。
- ・ 飼育室・実験室内で飲食をしないこと。
- ・ 実験室入り口に「P1A 遺伝子組換えショウジョウバエ 実験中」と表示すること。

- ② 実験後のショウジョウバエは、飼育瓶内に入った状態で凍結処理(-20℃で一晩放置)、あるいはオートクレーブか高熱処理(80℃で2時間処理など)により完全に死滅させること。70%以上のアルコールへの浸漬で死滅させてもよい。

- ③ インキュベーター内は常に清潔に保ち、餌や水がこぼれ出ていない状態にすること。またインキュベーター内でショウジョウバエが飼育瓶から逃亡した場合に備え、インキュベーターの開閉は必要最小限に留めること(ショウジョウバエは餌と水がない状態では24時間を越えては生きられない)。

- ④ 前室を設置している場合は前室と実験室の扉を同時に開放しないこと、あるいは、カーテンを設置している場合は、扉とカーテンを同時に開放しないことで、ショウジョウバエの逃亡の機会を極力減らすこと

- ⑤ 実験従事者の衣服に遺伝子組換えショウジョウバエが付着して室外に持ち出されることがないように、飼育室・実験室からの退室の際は衣服の表面を払うなどしてショウジョウバエの付着が

ないか十分な確認を行うこと。

- ⑥ 飼育瓶には、遺伝子組換えショウジョウバエであることがわかるように、種類ごとに識別できる表示を必ず行うこと。
- ⑦ 遺伝子組換えショウジョウバエの交配実験等、顕微鏡下での表現型による組換え体の判別や選別を行う場合は、必ず麻酔をかけ、移動や飛翔が出来ない眠った状態でおこなう。

3. その他

(1) 保管

ショウジョウバエは現在のところ、凍結保存、あるいは冷蔵保存が不可能であり、常に継代維持の必要があるため「保管」処置は考慮しない。

(2) 運搬

- ① 遺伝子組換えショウジョウバエを飼育室・実験室の外に生きたまま持ち出すときは、飼育瓶をオートクレーブバッグ、プラスチックコンテナ、段ボール箱等、密閉できる容器に入れ運搬すること。さらに最も外側の容器の見えやすい箇所に、取り扱いに注意を要する旨を表示すること。
- ② 遺伝子組換えショウジョウバエを郵便等で送付する場合は、プラスチックの飼育瓶を用い、蓋がはずれないように深く差し込むことに加えてセロハンテープで止める等の処置を行い、緩衝材を用いて段ボール箱等の密閉できる容器に入れること。さらに最も外側の容器の見えやすい箇所に、取り扱いに注意を要する旨を表示すること。

遺伝子組換えショウジョウバエの拡散防止措置のイメージ
(通常の飼育室等での使用)

