

カイコ

協力:九州大学大学院・農学研究院・准教授・伴野 豊先生

京都工芸繊維大学・工芸科学研究科応用生物学部門・教授・森 肇先生

東京大学大学院農学生命科学研究科・教授・嶋田 透先生

1. 動物の特性と拡散防止措置の概要

カイコは卵、幼虫、蛹、成虫と形体を変化させるので成長に合った拡散防止措置をとる必要がある。卵と蛹の時期であるが、この時期は先天的に全く移動する能力はないので後述する1重の拡散措置で良い。但し、卵から幼虫へと孵化する時期と蛹から羽化する時期は後述する幼虫、成虫と同様な措置を講じることとする。幼虫時期と成虫時期には移動能力を有するが、家畜化が最も進んだ生物であるカイコは、自ら餌を見つけ出してそれを食べて成長することはないこと、成虫(蛾)は飛翔することができないことから、幼虫・成虫とも後述する2重の拡散防止措置の方法とればよい。

カイコの幼虫は餌を探しての移動がなく、成虫は飛翔能力がないとはいえ、逃亡の可能性がゼロではないので、飼育室・実験室では扉と窓は必ず閉めておくこと、開口部があればふさいでおくなどカイコが逃亡できないような構造にしておくことが必要である。また、実験者への付着の可能性があり、そのまま飼育室・実験室外に持ち出してしまう危険性があるため、飼育室・実験室では必ず実験着と専用の履物を着用し、退出時に実験着や履物に付着がないことを確認した上で、ロッカー等に保管することが肝要である。実験後の遺伝子組換えカイコは死滅させてから廃棄するが、遺伝子組換えウイルス等の接種の場合は、ウイルス、接種カイコ、人工飼料、排泄物、使用飼育容器などをオートクレーブなどで滅菌し、遺伝子組換えウイルス等を死滅させることが必要である。

なお、本マニュアルにおける例示はP1A及びP2Aの拡散防止措置を対象としている。したがって、P3A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。

2. 拡散防止措置の要件

(1) 施設等の要件(ハード要件)

[遺伝子組換えカイコの飼育]

幼虫や成虫、蛹が外部に出ることはカイコの生物特性からその危険性は低いですが、指定された実験室(1重)において飼育容器(2重)を用いた拡散防止措置で飼育すること。前室あるいはインキュベーター*など(3重)を設置すればさらに拡散防止措置は向上する。

P1A、P2A

① 飼育室・実験室(1重)

- ・ 通常の飼育室・実験室の構造を有すること。窓には網戸を設置**。ドアは閉じた際に隙間がない構造であること。

② 飼育容器(2重)

- ・ 遺伝子組換えカイコの幼虫や成虫(蛹)の飼育・保管はカイコが逃亡しない程度の空気穴を用い、容易に蓋が開かない飼育容器で行うこと。大きさ、規格、材質は特に指定しないが、内部が目視出来ること、その後の不活化の必要性を考え、それに適した材質にすることが望ましい。

③ オートクレーブ

- ・ 飼育室・実験室に設置することが望ましい。異なる場所に設置する場合は逃亡しないような容器に入れて持ち運ぶこと。なお、P2Aの場合は、オートクレーブは同じ建物内に設置されていること。

④ 排泄物の回収

- ・ カイコは尿を排出しないため、糞の回収を行う。カイコの糞は給餌した桑葉や人工飼料の残さと共に回収する。齢に関わらず廃棄の際は残さをすべて冷凍庫で半日(カイコが完全に死滅する6時間程度)の冷凍処理の後に廃棄する。なお、遺伝子組換えウイルス等が接種されている場合は、必ずオートクレーブ処理し、冷凍処理での死滅は行わないこと。

* インキュベーター(3重)

- ・ 特に機種等は指定しないが、内部や扉にカイコが逃亡できる穴や隙間などが無いこと。

[遺伝子組換えウイルス等の接種]

本項は、カイコへの遺伝子組換えバキュロウイルス接種によるタンパク質の生産の場合にのみ限定して適用する。その他の遺伝子組換えウイルス等の接種の場合には、別途拡散防止措置のハード要件を検討する必要がある。

P1A

① 飼育室・実験室

- ・ 遺伝子組換えカイコの飼育に用いられる場合と同様の飼育室、実験室。

② インキュベーター(2重)

- ・ 特に機種等は指定しないが、内部や扉にカイコが逃亡できる穴や隙間などがないこと。

③ 飼育容器(3重)

- ・ 遺伝子組換えウイルスをカイコに接種する実験を行う場合、密閉容器での飼育に限定すること。
- ・ 飼育容器は4%のホルマリンないしは200倍の次亜塩素酸ソーダを用いてウイルスの不活化を行うこと。

④ オートクレーブ

- ・ 飼育室・実験室に設置することが望ましい。異なる場所に設置する場合はカイコが逃亡せず、遺伝子組換えウイルスが飛散しないような密閉容器に入れて持ち運ぶこと。
- ・ 遺伝子組換えウイルス接種時及び接種後に使用した人工飼料はオートクレーブ処理を行うこと。
- ・ 遺伝子組換えウイルスを接種したカイコからの排泄物も上記人工飼料と同様にオートクレーブ処理を行うこと。

⑤ 排泄物の回収・保管

- ・ 遺伝子組換えバキュロウイルス接種によるカイコでのタンパク質の生産の場合は、密閉容器の中で遺伝子組換えウイルスを接種したカイコを飼育し、1週間以内にそのカイコから発現タンパク質を回収する。その間に排出されたカイコの糞は給餌した桑葉や人工飼料の残さと共に回収し、オートクレーブ処理を行う。それより長期にわたる場合は、別途、回収・保管す

る容器や設備を検討する必要がある。

P2A

① 飼育室・実験室

- ・ 遺伝子組換えカイコの飼育に用いられる場合と同様の飼育室、実験室。

② インキュベーター(2重)

- ・ 特に機種等は指定しないが、内部や扉にカイコが逃亡できる穴や隙間などがないこと。

③ 飼育容器(3重)

- ・ 遺伝子組換えウイルスをカイコに接種する実験を行う場合、密閉容器での飼育に限定すること。
- ・ 飼育容器は 4%のホルマリンないしは 200 倍の次亜塩素酸ソーダを用いてウイルスの不活化を行うこと。

④ 安全キャビネット

- ・ エアロゾルが発生しやすい操作を行う場合には、安全キャビネットを設置すること。

⑤ オートクレーブ

- ・ オートクレーブは同じ建物内に設置されていること。飼育室・実験室に設置することが望ましい。異なる場所に設置する場合はカイコが逃亡せず、ウイルスが飛散しないような密閉容器に入れて持ち運ぶこと。
- ・ 遺伝子組換えウイルス接種時及び接種後に使用した人工飼料はオートクレーブ処理を行うこと。
- ・ 遺伝子組換えウイルスを接種したカイコからの排泄物も上記人工飼料と同様にオートクレーブ処理を行うこと。

⑥ 排泄物の回収・保管

- ・ 遺伝子組換えバキュロウイルス接種によるカイコでのタンパク質の生産の場合は、密閉容器の中で遺伝子組換えウイルスを接種したカイコを飼育し、1 週間以内にそのカイコから発現

タンパク質を回収する。その間に排出されたカイコの糞は給餌した桑葉や人工飼料の残さと共に回収し、オートクレーブ処理を行う。それより長期にわたる場合は、別途、回収・保管する容器や設備を検討する必要がある。

** 3ヶ月に1回くらいホルマリン薫蒸するので、その後の排気で飼育室の窓を開ける際、外部から昆虫類が入らないようにするために必要。通常は閉鎖。

(2) 実施上の遵守事項(ソフト要件)

[遺伝子組換えカイコの飼育]

- ① P1 レベル (P1A レベルの場合)、 P2 レベル (P2A レベルの場合) の実施上の遵守事項
- ② 実験中及び飼育中は窓を閉め、飼育室への出入り以外では扉を閉じておくこと。
- ③ 遺伝子組換えカイコの死滅にはオートクレーブ処理することが望ましい。あるいは3時間以上冷凍して凍死させることでもよい。ただし、後述の遺伝子組換えウイルス接種の場合は、必ずオートクレーブ処理で接種カイコ及び遺伝子組換えウイルスの死滅を行うこと。
- ④ オートクレーブもしくは冷凍庫が飼育室・実験室とは別の場所にある場合は、カイコが逃亡しないような容器に入れて持ち運ぶこと。
- ⑤ 遺伝子組換えカイコに産卵させる場合も通常のカイコと同様に台紙の上に蛾の移動を防ぐ、金属製やプラスチック製のふたをかぶせて行う。遺伝子組換えカイコの産卵時には金属製やプラスチックのふたに卵の付着がないか確認を行う。付着があった場合には除去しオートクレーブまたは凍結処理で死滅させる。
- ⑥ 飼育容器には、必ず種類ごとに識別できる表示を行うこと。
- ⑦ 室内では実験着、実験室内専用の履物を着用する。実験従事者にカイコが付着して室外に持ち出されることがないように、実験着は室内もしくは前室のロッカー等に保管すること。特に実験着、実験室内専用の履物の脱衣の際は実験着に遺伝子組換えカイコの付着がないか十分な確認を行った上で保管すること。
- ⑧ インキュベーターがある場合には、遺伝子組換えカイコが飼育中であることが分かるような表示があることが望ましい。
- ⑨ 実験室入り口に、「組換え動物等飼育中」(P1A レベルの場合)、「組換え動物等飼育中(P2)」(P2A レベルの場合)と表示すること。

[遺伝子組換えウイルスの接種]

- ① 本マニュアルは、遺伝子組換えバキュロウイルス感染によるカイコでのタンパク質の生産のみに限って適用する。上記の遺伝子組換えカイコの飼育の場合の要件に加え、遺伝子組換えウイルス接種の場合は、必ずカイコおよび飼育容器などをオートクレーブ処理し、接種ウイルスを死滅すること。バキュロウイルス以外の遺伝子組換えウイルスを使用する場合には、別途拡散防止措置のソフト要件を検討する必要がある。
- ② すべての操作においてエアロゾルの発生を最小限に留めること。
- ③ P2 レベルの遺伝子組換えバキュロウイルスを接種において、エアロゾルが生じやすい操作を行う場合は必ず安全キャビネットを用いること。
- ④ 実験従事者は遺伝子組換えバキュロウイルスの付着を防止するために、実験後は手洗等の必要な措置を講じること。

(3) その他

① 保管

- ・ 遺伝子組換えカイコの卵の保管は容易に蓋の開かない容器で行うこと。
- ・ 容器の外側の見えやすい箇所に遺伝子組換えカイコの卵である旨を表示すること。
- ・ 容器は所定の場所に保管すること。
- ・ 容器の保管場所が冷蔵庫等の設備である場合には、設備の見えやすい箇所に遺伝子組換えカイコを保管している旨を表示すること。

② 運搬

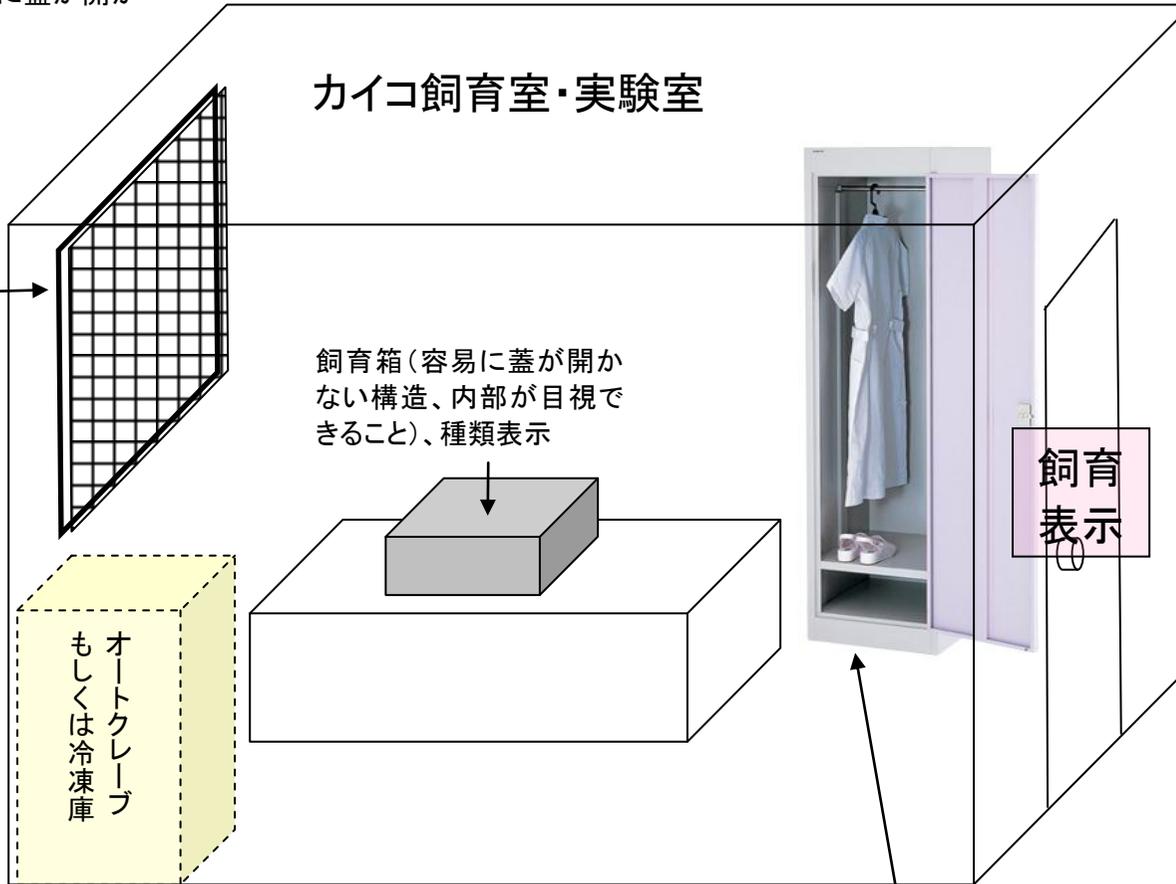
- ・ 遺伝子組換えカイコの運搬を行う際には、受け渡し簿への記録および管理を行うこと
- ・ 輸送中にカイコが逃亡できず、かつ容易に破損しない構造の容器に入れて輸送する。なお、輸送中の容器の破損を防ぐための措置をとること。
- ・ 最も外側の容器の見えやすい箇所に、取扱に注意を要する旨を表示すること。

遺伝子組換えカイコの拡散防止措置のイメージ
(通常の飼育室等での使用)

- 1重:カイコ飼育室・実験室
- 2重:飼育箱(カイコが逃亡しない程度の空気穴、容易に蓋が開かない構造)

排気用窓と網戸
(ホルマリン薫蒸後の排気で、外部から昆虫が入らないため。通常は閉鎖。)

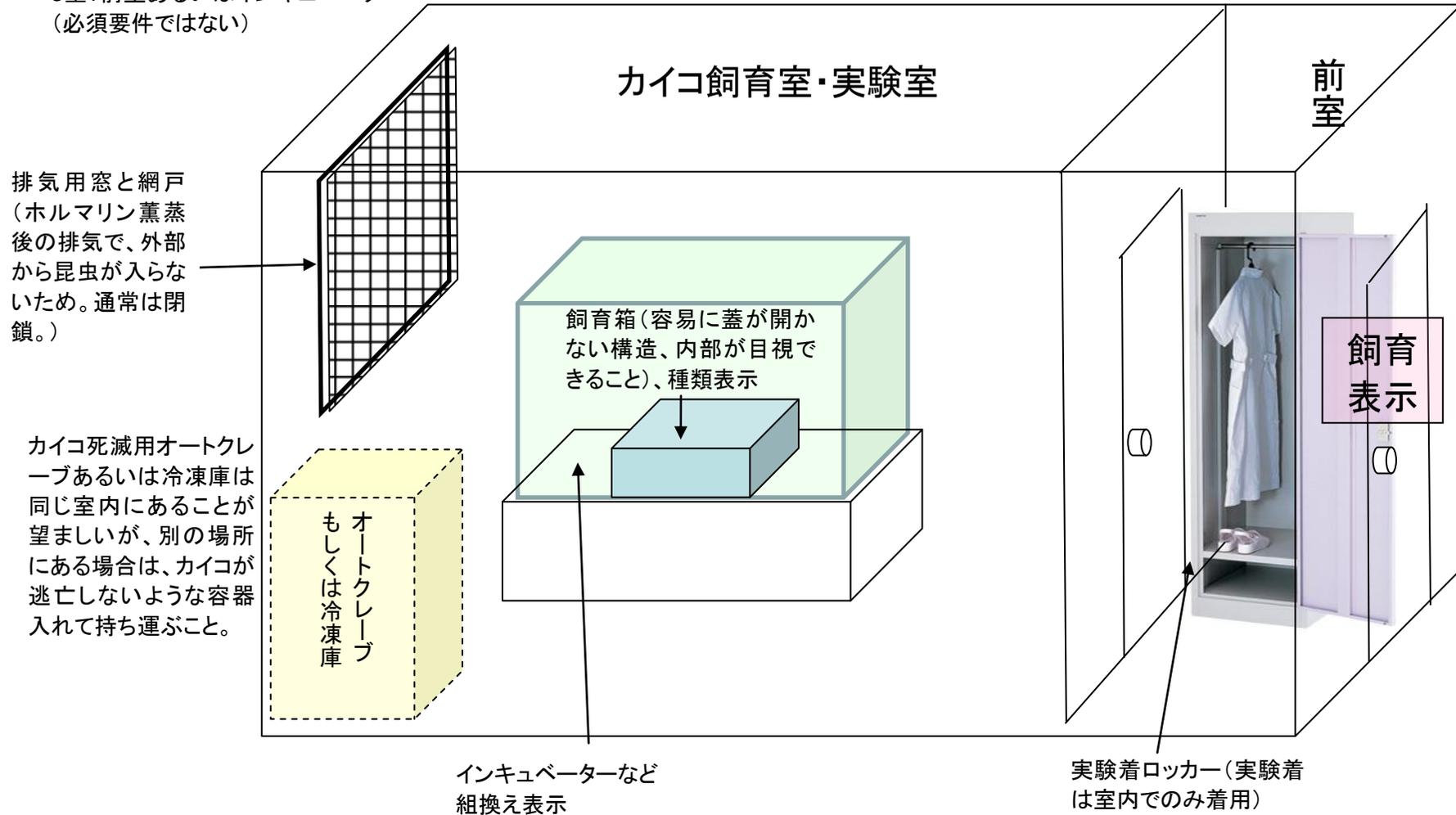
カイコ死滅用オートクレーブあるいは冷凍庫は同じ室内にあることが望ましいが、別の場所にある場合は、カイコが逃亡しないような容器に入れて持ち運ぶこと。



実験着ロッカー(実験着は室内でのみ着用)

遺伝子組換えカイコの拡散防止措置のイメージ
(前室のあるいはインキュベーターのある飼育室等での使用)

- 1重: カイコ飼育室・実験室
- 2重: 飼育箱 (カイコが逃亡しない程度の空気穴)
- 3重: 前室あるいはインキュベーター (必須要件ではない)



遺伝子組換えカイコの拡散防止措置のイメージ
(遺伝子組換えウイルス接種の場合)

- 1重:カイコ飼育室・実験室
- 2重:インキュベーター
- 3重:飼育箱(密閉容器)

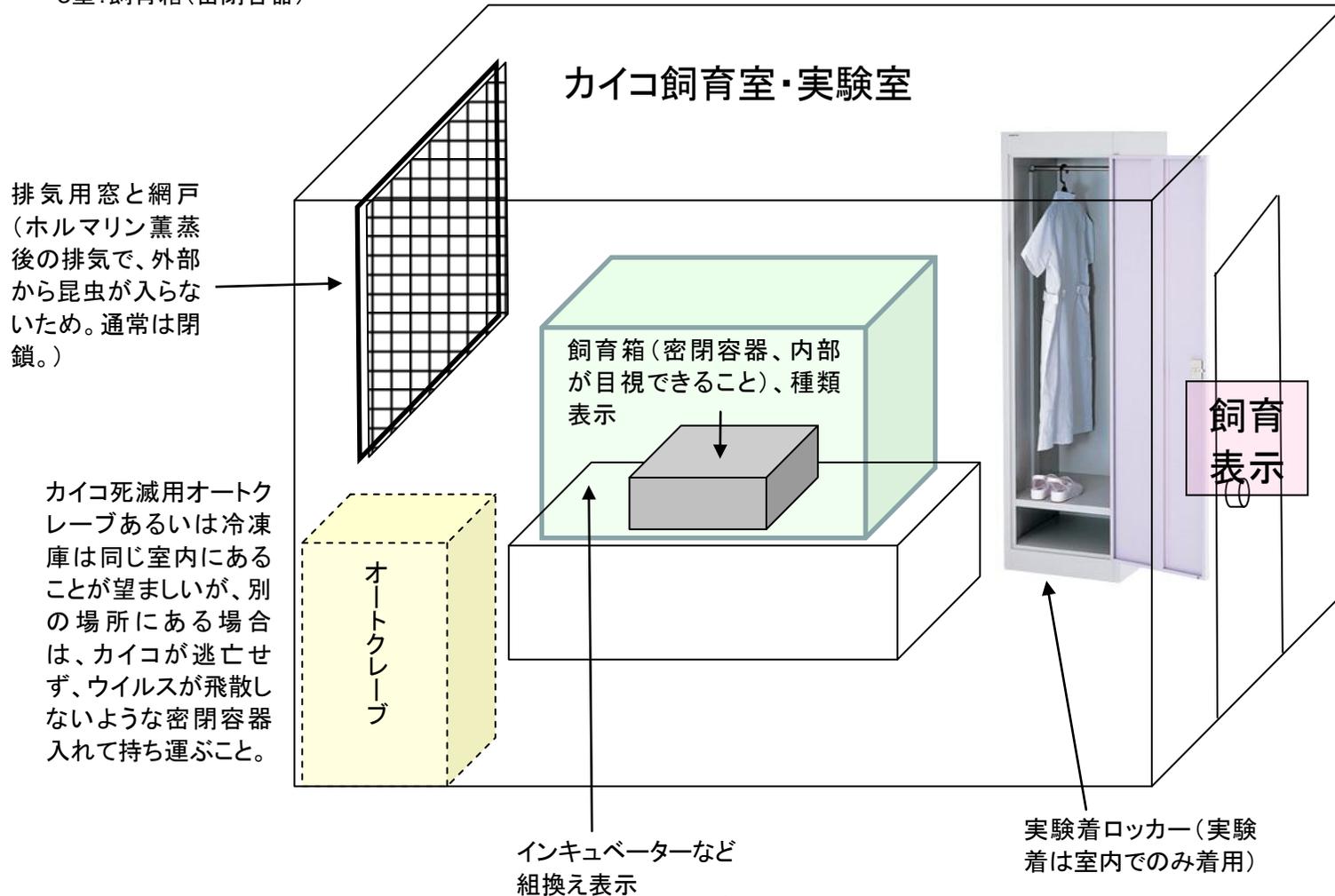




図 1. 飼育室全体



図 3. インキュベーターがある場合の飼育
(上) インキュベーター
(下) インキュベーター内の飼育容器

図 2. 前室がある場合の飼育
(上) 前室
(下) 飼育の状況



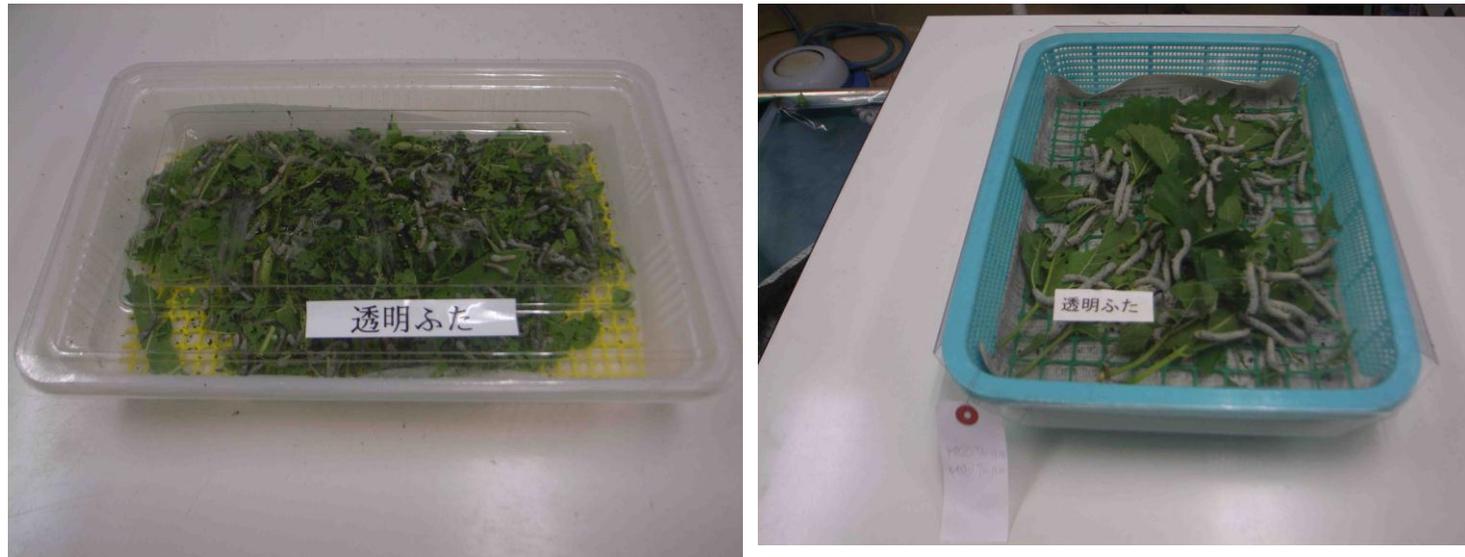


図 4. 飼育容器の例

(左) 小さな虫（体長 1 センチ未満）用のふた付きプラスチック容器で、密閉型

(右) 大きな虫、蛹、蛾等のふた付き飼育容器（編み目ザル）編み目は 4 ミリ