

(別紙) 飼育実験計画書

飼育実験名	緑色蛍光タンパク質含有絹糸生産カイコ ( <i>HC-EGFP</i> 、 <i>Bombyx mori</i> ) の飼育
実施法人・研究所名	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門
公表年月日	平成28年4月6日
<b>1. 飼育実験の目的、概要</b> (1) 目的 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構(以下「農研機構」という。)生物機能利用研究部門は、遺伝子組換え技術を用いて、緑色蛍光タンパク質を含有する絹糸を生産するカイコ(以下「遺伝子組換えカイコ」という。)を開発しました。 本飼育実験は、遺伝子組換えカイコを養蚕農家に近い環境及び方法で飼育した場合の繭の品質の安定性を調査するとともに、生育特性や行動特性を評価し、生物多様性影響評価等のデータを収集するために行います。 (2) 概要 平成28年5月から平成28年10月まで、遺伝子組換えカイコの飼育実験を行います。詳細は以下の通りです。	
<b>2. 飼育実験に使用する第1種使用規程承認カイコ</b> (1) カイコの名称 緑色蛍光タンパク質含有絹糸生産カイコ ( <i>HC-EGFP</i> 、 <i>Bombyx mori</i> ) ( <i>HC-EGFP</i> ぐんま× <i>HC-EGFP</i> 200) (2) 第1種使用規程の承認取得年月日等 平成26年5月2日に第1種使用規程(隔離飼育区画における幼虫の飼育(3齢幼虫期以降から繭の形成まで)並びに繭の生産、保管、運搬、不活化処理及び廃棄並びにこれらに付随する行為)の承認を取得しています。	

### 3. 飼育実験の全体実施予定期間、年度毎の飼育開始予定期間及び飼育終了予定期間

#### (1) 全体実施予定期間

平成28年5月 ～ 平成28年10月

#### (2) 年度毎の飼育開始予定期間及び飼育終了予定期間等

##### ・第1回

平成28年5月中旬 隔離飼育区画での飼育開始

平成28年6月上旬 繭の収穫、残渣等の処理

##### ・第2回

平成28年7月中旬 隔離飼育区画での飼育開始

平成28年8月上旬 繭の収穫、残渣等の処理

##### ・第3回

平成28年9月中旬 隔離飼育区画での飼育開始

平成28年10月上旬 繭の収穫、残渣等の処理（飼育終了）

第1種使用規程の期間が平成29年3月31日までであるため、当該第1種使用規程に基づく飼育は平成29年度は実施しません。

### 4. 飼育実験を実施する区画（隔離飼育区画）の面積及び位置（研究所内等の区画配置関係）

#### (1) 第1種使用規程承認カイコの飼育規模

隔離飼育区画の面積：2,100 m<sup>2</sup>（図1）

飼育室の面積：79 m<sup>2</sup>（図2）

平成28年度は、1回当たり本遺伝子組換えカイコ約10,000頭、対照とする非遺伝子組換えカイコ約10,000頭の飼育を計3回行う予定

#### (2) 隔離飼育区画の位置

農研機構大わし事業場（図3、4）

茨城県つくば市大わし1-2

### 5. 近縁野生種との交雑防止措置に関する事項

#### (1) 交雑防止措置の内容

隔離飼育区画（図5）の周囲には、カイコと交雑可能な近縁野生種としてクワコ（*Bombyx mandarina*）が生息していますが、第1種使用規程及び付随する作業要領に従って、以下のように、遺伝子組換えカイコとクワコとの交雑を防止します。

- ・遺伝子組換えカイコは、成虫が生じる前の繭の段階で収穫して不活化します。
- ・クワコ成虫の侵入を防止するため、飼育室（図7）の開閉可能な窓及びシャッター並びに換気口に4mm目以下の網を張ります。
- ・飼育終了後に残るクワコの枝等の残渣は、飼育室内で遺伝子組換えカイコを取り除いた上で、隔離飼育区画内の残渣保管場所（図8）で網をかけて30日後まで管理します。

#### (2) モニタリングの内容

隔離飼育区画の四隅の外側に、カイコのメス成虫又は合成した性フェロモン（ボンビコール）を誘引源として粘着板で捕獲するフェロモントラップを設置し、クワコのオス成虫を捕獲します。実施時期は、クワコ成虫が発生する6月中旬から12月中旬ま

でとし、実施年は、交雑個体が生じた場合に直ちに成虫まで成長する可能性と卵で越冬して翌年に成虫が生じる可能性とを考慮して、本飼育実験の実施年及びその翌年とします。捕獲したクワコ成虫は、遺伝子導入マーカーである赤色蛍光タンパク質の複眼での発現の有無を蛍光顕微鏡で確認した後に、PCR法又はサザンハイブリダイゼーション法で導入遺伝子を検出することにより、遺伝子組換えカイコとの交雑個体であるかどうかを判別します。

#### 6. 研究所等の内での収穫物、実験材料への混入防止措置

- ① 遺伝子組換えカイコの幼虫を、稚蚕（若齢幼虫）飼育施設から隔離飼育区画に搬入する際には、蓋を固定すること等により幼虫が逸出しない構造の容器に入れて搬送します。
- ② 幼虫の飼育室では専用の作業着及び履物を着用するとともに、飼育室から退出する際及び隔離飼育区画から退出する際は、衣服等にカイコが付着していないことを確認します。
- ③ 隔離飼育区画内で使用した機械や器具は、作業終了後、カイコが付着していないことを確認します。
- ④ 収穫した繭（蛹）は、蓋を固定すること等により繭がこぼれ落ちない構造の容器に入れ、不活化のための施設に搬送します。

#### 7. 飼育実験終了後の第1種使用規程承認カイコの処理方法

- ① 収穫した繭（蛹）は、冷凍又は熱乾燥により不活化した後、絹糸の品質を評価するため製糸等の試験に使用します。
- ② 飼育終了後に残るクワの枝等の残渣は、隔離飼育区画内の残渣保管場所で網をかけて30日後まで管理した後、翌年6月15日まで隔離飼育区画内の残渣管理用の穴（図9）に保管することにより不活化します。

#### 8. 飼育実験に係る情報提供に関する事項

- ① 飼育実験を開始する前の情報提供等  
茨城県及びつくば市へ情報提供を行います。今後も飼育実験の詳細について情報提供を行います。
- ② 説明会等の計画  
平成28年4月 6日 計画書の公表  
平成28年4月18日 飼育実験に係る説明会  
場所：農研機構大わし事業場
- ③ その他の情報提供  
飼育実験の実施状況については、農研機構ホームページ（<http://www.naro.affrc.go.jp/>）で情報提供を行います。
- ④ 本飼育実験に係る連絡先  
農研機構・生物機能利用研究部門企画管理部 遺伝子組換え研究推進室  
電話番号 029-838-7138

#### 9. その他の必要な事項

特になし。

(参考)

- ・今回、飼育実験を行う遺伝子組換えカイコは、オワンクラゲ (*Aequorea victoria*) の緑色蛍光タンパク質 (GFP) と、カイコの絹タンパク質であるフィブロインH鎖との融合タンパク質を生産するHC-EGFP遺伝子を導入したカイコで、緑色蛍光を発する絹糸を生産します。また、選抜マーカーとして、イソギンチャクモドキ類 (*Discosoma* sp.) の赤色蛍光タンパク質 (DsRed) を眼で発現する遺伝子が導入されています。
- ・カイコは高度に家畜化された昆虫で、餌がなくても幼虫が逃げずに待っているなど、人が管理しないと生きていけません。また、これまで全国各地で行った調査において、野生のクワコ集団にカイコとクワコの交雑個体は確認されていません。このような特性を持つカイコですが、我が国で最初の遺伝子組換えカイコのカルタヘナ法の第1種使用 (隔離飼育区画での飼育等) として、施設への網張りや残渣に網をかけて管理することなどで、交雑を確実に防ぐこととしています。

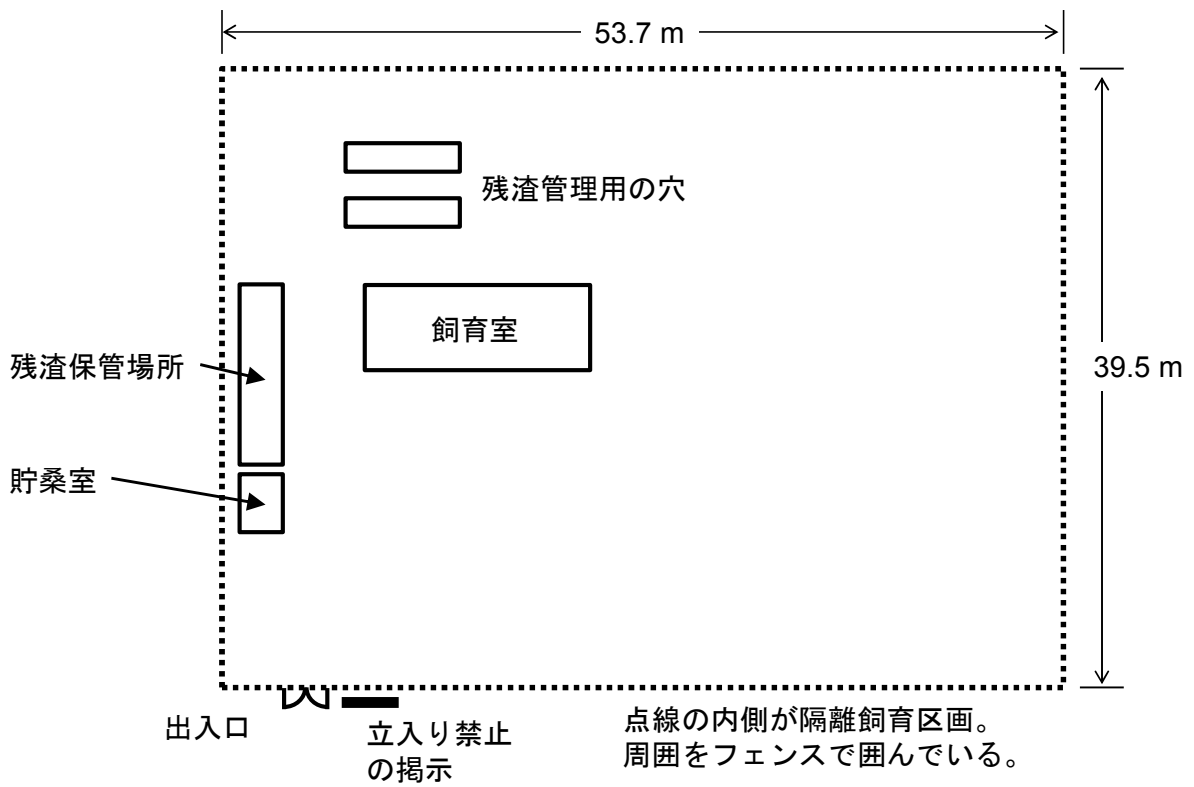


図1 隔離飼育区画

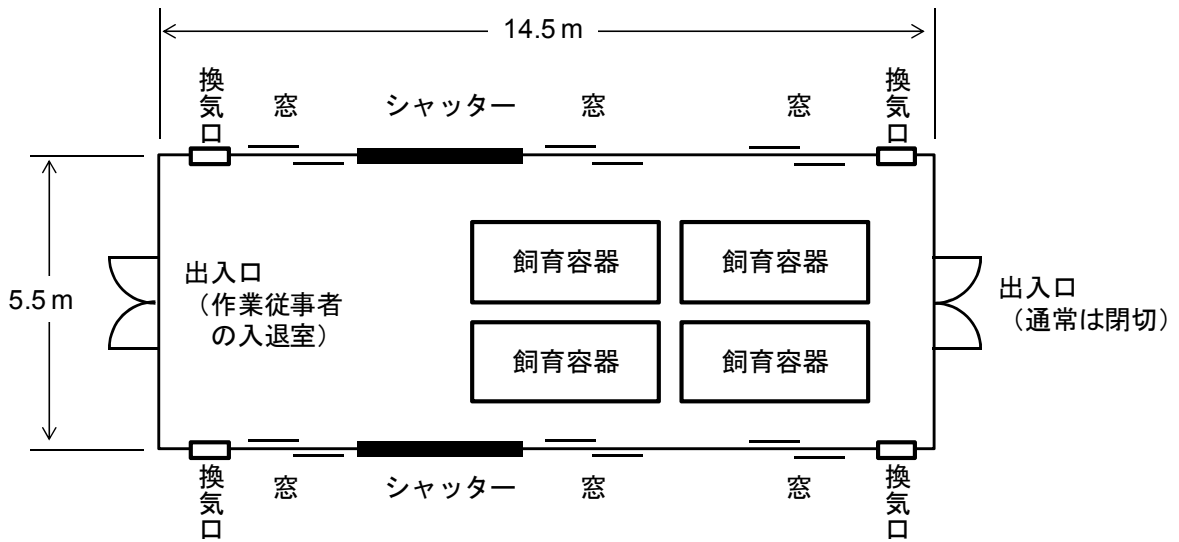


図2 隔離飼育区画内の飼育室

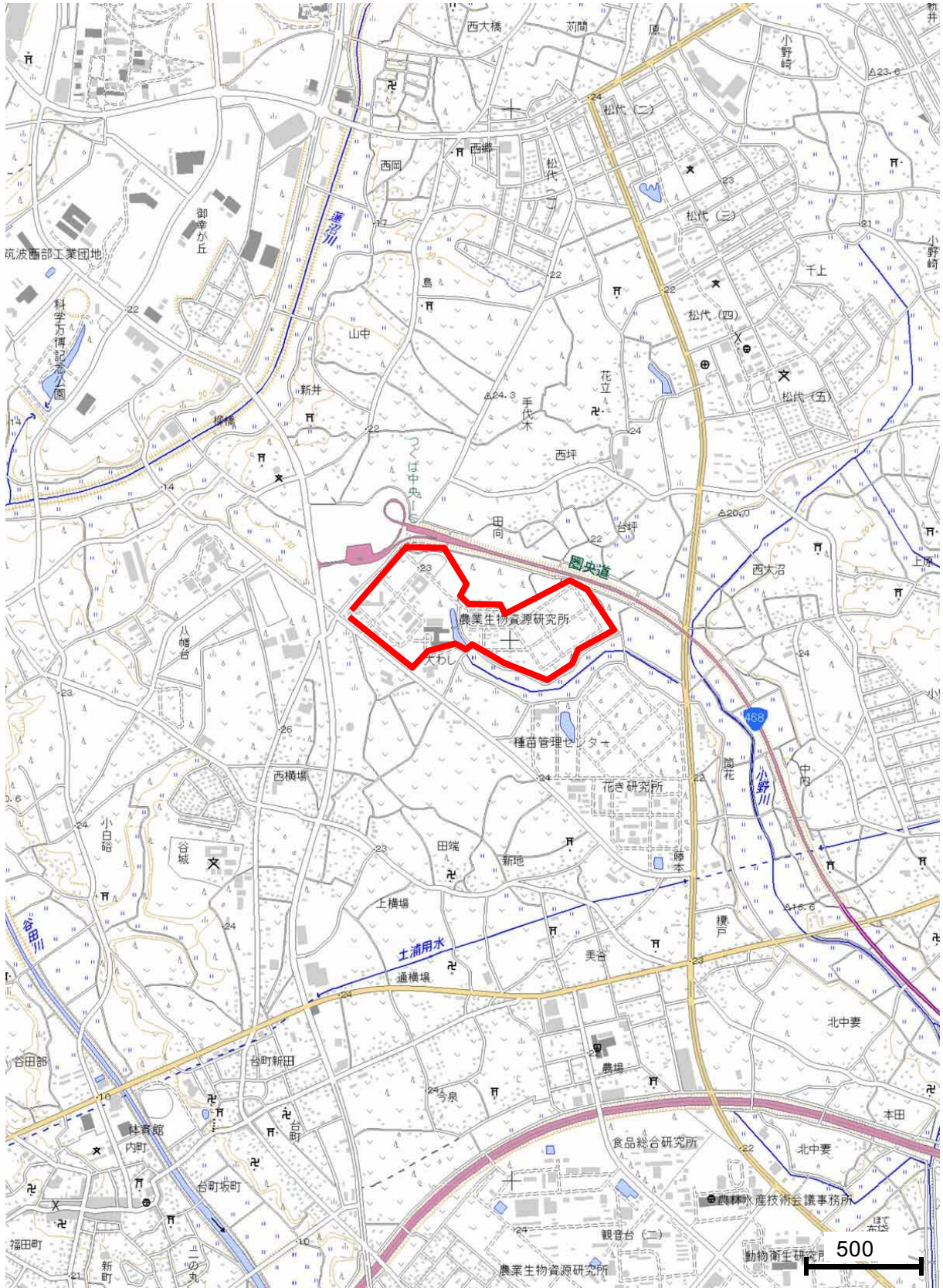


図3 農研機構（大わし事業場）周辺の地形図  
 (国土地理院のウェブサービスより) 赤く囲んだところが研究所の敷地



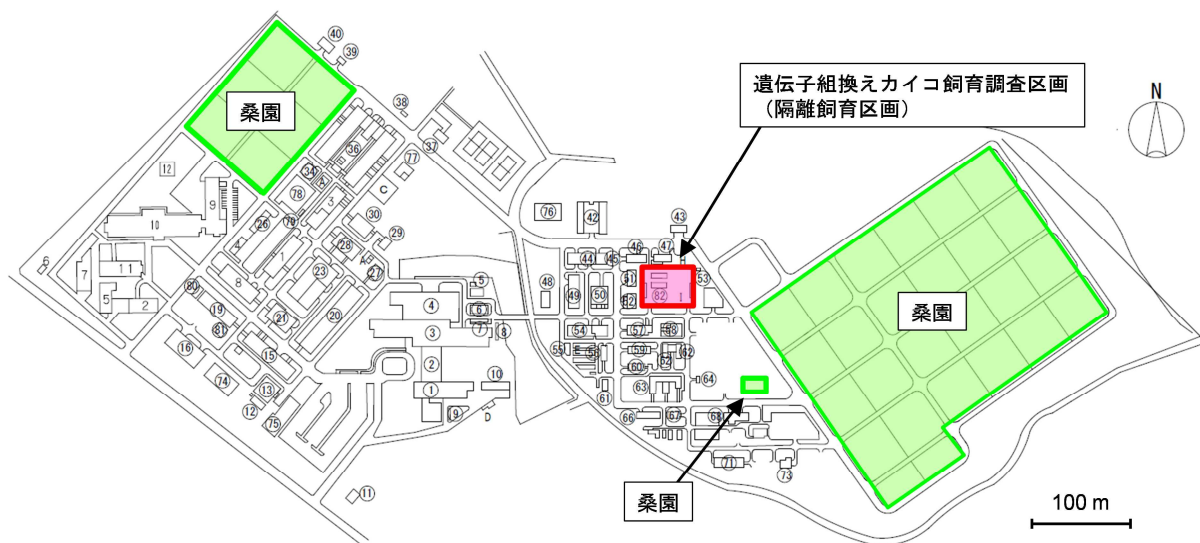


図4 農研機構（大わし事業場）所内配置図  
赤く囲んだところが隔離飼育区画



図5 隔離飼育区画入口



図6 貯桑室（クワを保管する冷蔵室）



図7 飼育室



図8 残渣保管場所



図9 残渣管理用の穴