

## 飼育実験計画書

飼育実験名	赤色蛍光タンパク質含有絹糸生産カイコ ( <i>HC-F90, 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	令和5年8月1日
<p><b>1. 飼育実験の目的、概要</b></p> <p>(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、赤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催青開始後の卵の孵化、稚蚕の飼育過程における生育や行動の特性等を調査するために行います。また、生産した原種の繭は実験室等に運搬して行動の特性等を調査します。</p> <p>(2) 概要 令和5年9月から11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。</p>	
<p><b>2. 飼育実験に使用する第一種使用規程承認カイコ</b></p> <p>(1) カイコの名称 赤色蛍光タンパク質含有絹糸生産カイコ (<i>HG-F90, Bombyx mori</i>) (GN5、GCS5、GN5×GCS5、GN5×中511号、GCS5×日604号)</p> <p>(2) 第一種使用規程の承認取得年月日等 令和5年7月13日に第一種使用規程（①催青処理開始後の卵の保管、運搬及び孵化、②幼虫の飼育（孵化直後から繭の形成まで）、③繭の生産、④幼虫及び繭の保管、運搬、不活化処理及び廃棄並びに①から④までに付随する行為）の承認を取得しています。</p>	
<p><b>3. 飼育実験の全体実施予定期間、飼育開始予定時期及び飼育終了予定時期等</b></p> <p>(1) 全体実施予定期間 令和5年9月 ～ 令和5年11月</p> <p>(2) 飼育開始予定時期及び飼育終了予定時期等 令和5年9月上旬 隔離飼育区画での飼育開始 令和5年10月中旬 繭の収穫、残渣等の処理（飼育終了） 令和5年11月中旬 残渣等の網掛け終了</p> <p>令和6年度は、令和5年度の飼育実験の結果等を踏まえて、飼育を行うかどうか及びその規模を判断します。</p>	
<p><b>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</b></p>	

## 関係)

### (1) 第一種使用規程承認カイコの飼育規模

ア 隔離飼育区画の面積：2,100 m<sup>2</sup> (図1)

イ 飼育室の面積：稚蚕飼育室 9.3 m<sup>2</sup>、壮蚕飼育室 79 m<sup>2</sup> (図2)

ウ 飼育頭数：遺伝子組換えカイコ約5,000頭、対照とする非遺伝子組換えカイコ約5,000頭を飼育予定

### (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、第一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。

ア 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。

イ 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。

ウ 飼育終了後に残るクワの枝等の残渣は、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、隔離飼育試験を開始する9月上旬からクワコの発生時期が終了する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、遺伝子導入マーカである緑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運搬します。

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運搬します。

## 7. 飼育実験終了後の第一種使用規程承認カイコの処理方法

- ① 交雑種の繭（蛹）は、絹糸の特性及び織物への加工法等についての研究に供するため、実験室等に運搬し、冷凍庫を用いて $-30^{\circ}\text{C}$ ～ $-20^{\circ}\text{C}$ で24時間以上の条件下において凍結するか、熱乾燥することにより不活化（殺蛹）します。産卵調査等に係る交配試験に用いる原種の繭については、実験室等に運搬した後、羽化・産卵させ、行動や特性等の調査に使用します。
- 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  
令和5年8月 1日 計画書の公表  
令和5年8月24日 飼育実験に係る説明会  
場所：農研機構 藤本・大わし地区（大わし）
- (3) その他の情報提供  
飼育実験の実施状況については、  
農研機構ウェブページ <https://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 研究推進部 研究推進室  
電話番号 029-838-6005

## 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、ヒラタクサビライシ (*Fungia concinna*) 由来の橙色蛍光タンパク質にアミノ酸置換を導入して改変した赤色蛍光タンパク質 mKO-F90 と、カイコの絹タンパク質であるフィブロインH鎖タンパク質との融合タンパク質を生産するHC-F90遺伝子を導入したカイコで、赤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、オワンクラゲ (*Aequorea victoria*) 由来の緑色蛍光タンパク質 (GFP) 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、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。

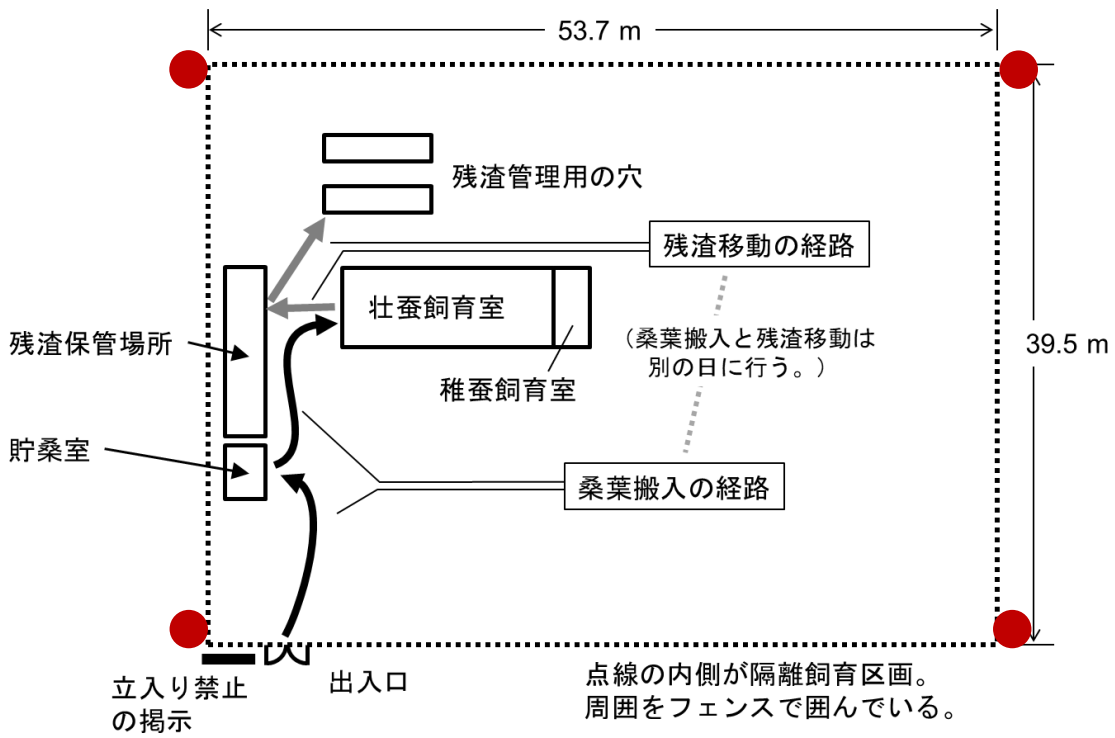


図1 隔離飼育区画  
モニタリング用トラップの設置場所は●で示した。

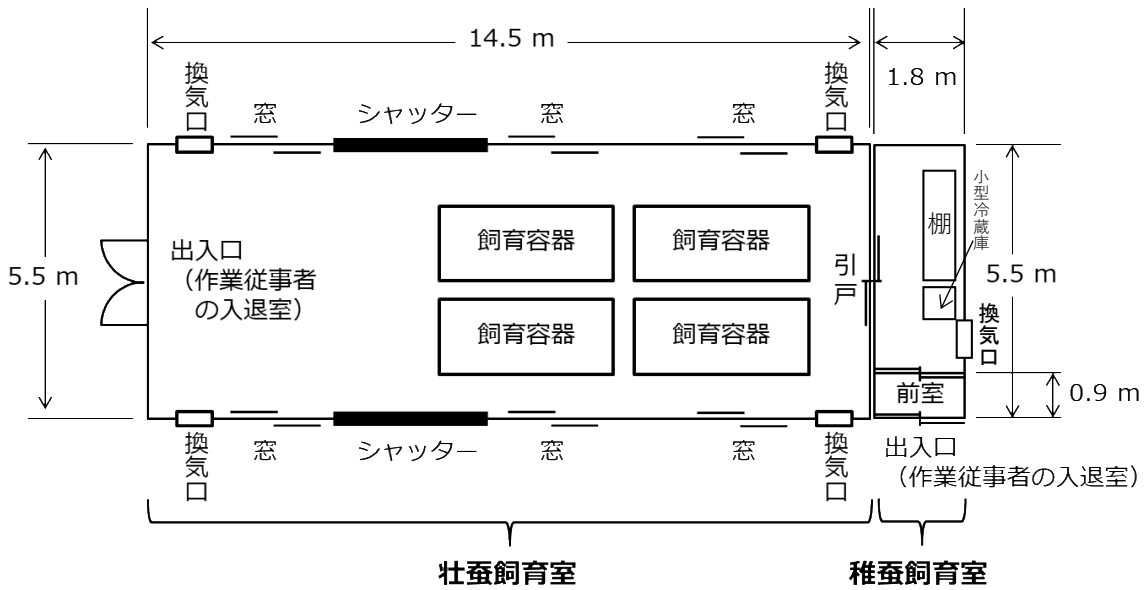


図2 隔離飼育区画内の飼育室



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



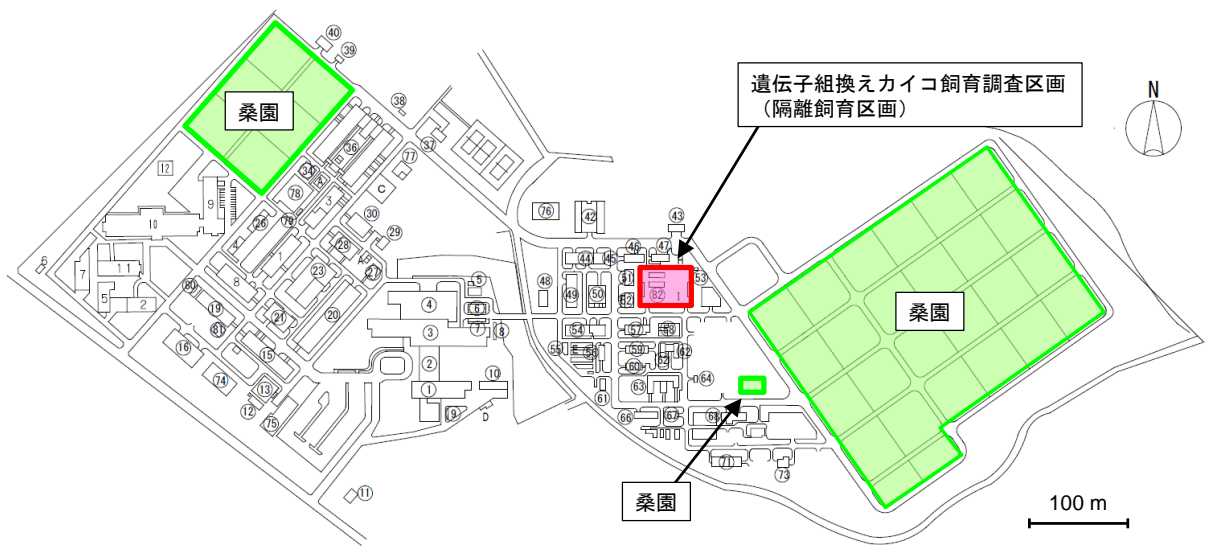


図4 農研機構（大わし事業場）所内配置図  
赤く囲んだところが隔離飼育区画



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