

○遺伝子組換え植物（シロイヌナズナ）のオートクレーブ処理条件について

名古屋大学では、大学院理学研究科及び遺伝子実験施設で、遺伝子組換え生物を用いた実験において、遺伝子組換え植物（シロイヌナズナ）を漏出したことについて、平成 27 年 5 月 22 日に公表いたしました。

本学では、直ちに、拡散防止措置を行うとともに、学外専門家を委員長とする調査委員会を設置して、原因究明及び再発防止策の策定等を依頼しました。調査の結果、培養土の不活性化のためのオートクレーブ処理前後試料の取り違えの可能性及びオートクレーブ処理条件により不活性化が不完全だったことが原因であると判明し、これらの再発を防止する対策について提言を頂き、平成 27 年 8 月 28 日に公表いたしました。

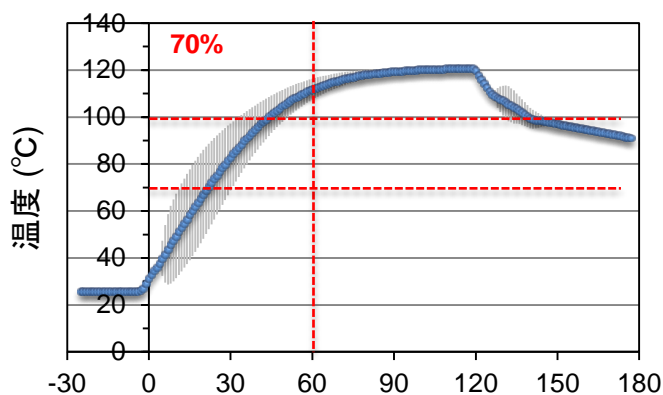
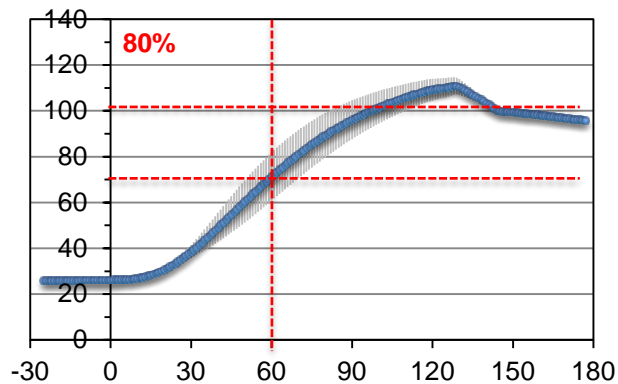
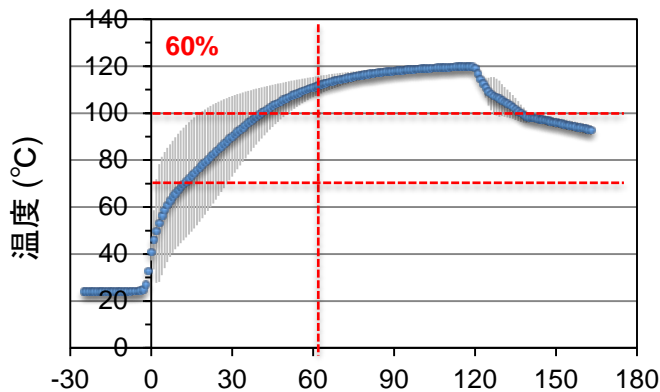
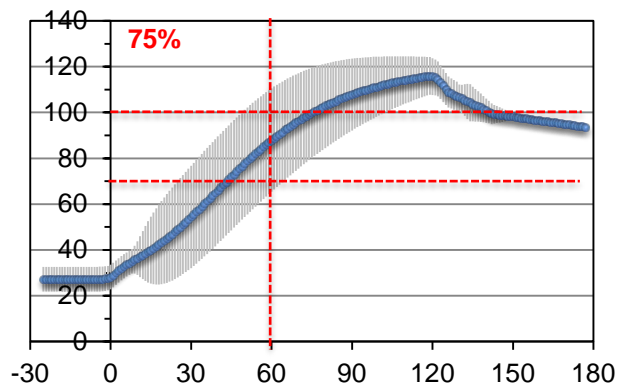
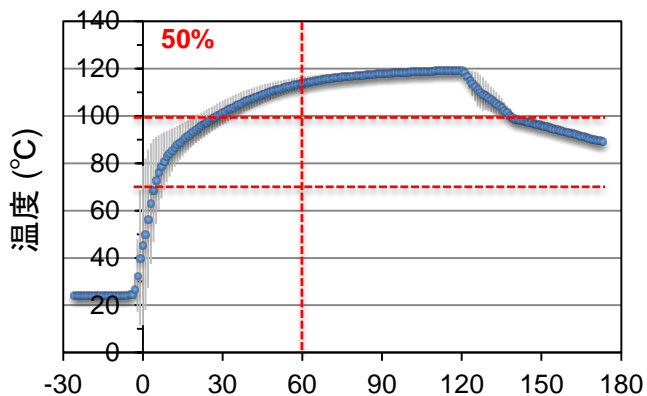
これを受けて、本学では、再発防止策の整備を行い、今後、同様な事案が発生しないよう再発の防止に努めてきました。加えて、遺伝子組換え植物（シロイヌナズナ）のオートクレーブ処理条件について、種子の不活性化に必要な温度と処理時間、様々な含水率の培養土の中央部の温度変化について検討を行ってきましたので、それらの結果について報告いたします。

まず、シロイヌナズナ種子の不活性化に必要な温度と処理時間の検討を行ったところ、70℃、10 分以上の条件において不活性化されることが分かりました（補足資料 1）。続いて、この条件を達成するために必要なオートクレーブ処理条件の検討を行いました。ここでは、厳しめの状況を確認するため、熱伝搬効率が比較的低いピートモス 100%の培養土を用いました。培養土は容積 12.5 L で含水率を 50%から 80%の範囲で用意し、培養土中心の温度上昇を測定しました（資料 1）。槽壁温度が 120℃に達してから時間を測り、120 分で加熱を停止しました。この測定を繰り返し、中心部が 70℃および 100℃に達する時間をまとめました（資料 2）。これにより、含水量 70%までなら、オートクレーブ処理 60 分以内に 70℃10 分間を達成できることが分かりました。また、この条件では、オートクレーブ処理 60 分以内に 100℃に到達することから、100℃程度で変色するオートクレーブ用インジケータータープの利用が温度到達の確認に有用であることも分かりました。

なお、本件は、下記条件により測定した結果であり、また、シロイヌナズナに限定したデータでありますので、植物の種類及び土の条件等によっては別途検討が必要となることにご留意いただきますようお願いいたします。

- ・ オートクレーブ装置：缶体内容積 58 L の高圧蒸気滅菌器
- ・ オートクレーブ設定条件：121℃、2 気圧、120 分
- ・ 測定に用いた培養土：ピートモスを主成分とする栽培用の細土
- ・ 培養土容量：12.5 L
- ・ 培養土の含水率：約 50%、60%、70%、75%、80%
- ・ 温度測定：滅菌バッグにいた 12.5 L の培養土 1 袋を既製の金網かごの中段に置き、データロガーを培養土中央部に埋め、測定
- ・ 滅菌バッグの口の状態：開放

資料1 (各含水率の温度変化の平均グラフ)



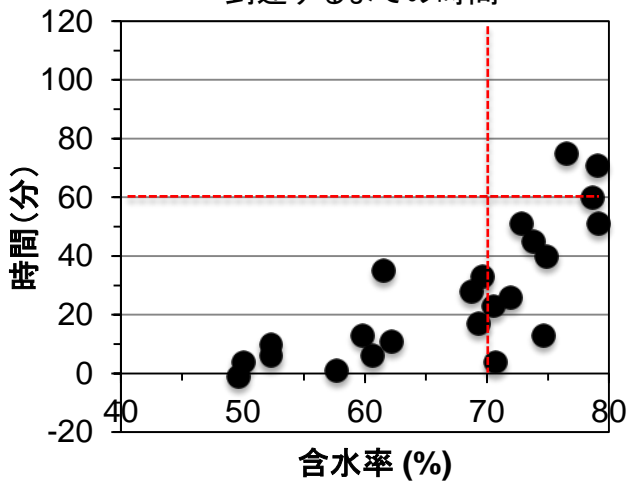
缶体内温度が120°Cに達してからの時間(分)

缶体内温度が120°Cに達してからの時間(分)

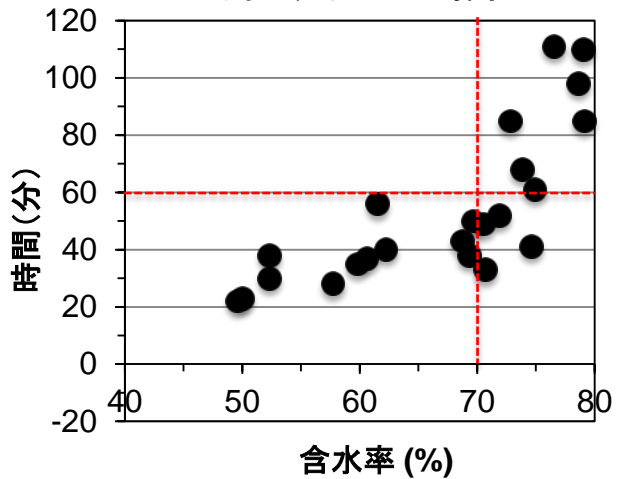
灰色のバーは標準偏差を示す。

資料2 (70°Cまたは100°Cに到達するまでの時間)

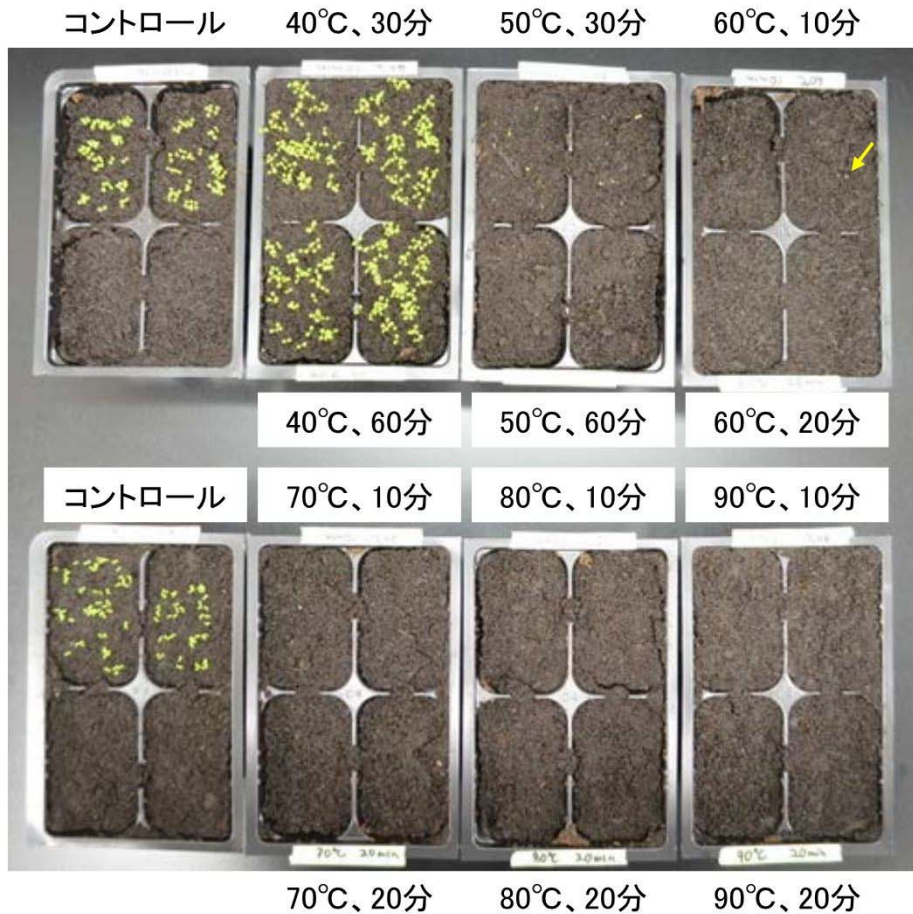
培養土中央部が70°Cに到達するまでの時間



培養土中央部が100°Cに到達するまでの時間



補足資料1 (種子不活性化への温度の影響)



方法

200 mLメディウム瓶に培養土40 g(ピートモスを主成分とする栽培用の細土、含水率45%)を入れ、恒温器で所定の温度になるまで加熱した。

種子100粒を不織布で包み、メディウム瓶の中に入れ、恒温器でインキュベートした後、種子を回収して土に播種した。

結果

50°C、30分～70°C、10分での発芽試験を計3回繰り返した結果、70°C、10分以上の条件において発芽は認められなかった。矢印は60°Cの処理で発芽した個体。