

丙第13号証 (6)

様式第9号(刑訴第223条、第198条)

(乙)

供述調書

住居 [REDACTED]

(自宅 [REDACTED])

(携帯 [REDACTED])

職業 大学教授(国立大学法人 岐阜大学)

研究推進・社会連携機構 科学研究基盤センター長)

氏名 田中 香おり (たなか かおり)

[REDACTED]  
上記の者は、平成30年9月13日、岐阜県岐阜市柳戸1番1岐阜大学医学部棟において、本職に対し、任意次のとおり供述した。

1 私は、岐阜大学の科学研究基盤センター長として、酸素が有害となる嫌気性細菌の研究を行っています。

また、当大学の微生物遺伝子資源保存センターは、有害な微生物病原体等を取り扱う施設に求められる「バイオセーフティーレベル」と呼ばれる全4段階の格付けのうち、最も厳しい封じ込めレベルである「レベル4」に次ぐ「レベル3」から「レベル1」までの細菌を取り扱っています。

私は同センター長も兼務しており、菌の性質や取扱いについて十分に熟知しています。

警察から照会を受け実施した乾熱殺菌試験の結果は、本年2月、報告書にまとめて提出したとおりですが、微生物の研究に馴染みのない方にもわかりやすいように、専門用語等の補足説明を加えながら同試験の概要を説明して欲しいとの依頼を受けましたので、資料を基に説明します。

このとき本職は、平成30年1月9日付け捜査関係事項照会書(外1.5第1

警視庁

(供述調書等継続用紙)

号)により照会し、同年2月19日付けで回答を得た田中香お里作成に係る検査関係事項照会回答書の別紙「乾熱滅菌器による殺菌試験 報告書」の写しを供述人に示し説明を受けたうえで、「資料1」として本調書末尾に添付することとした。

この資料は、私が警察に提出した殺菌試験報告書の写しに間違いありません。以降、これを「報告書」として説明を進めます。

## 2 まず、乾熱殺菌試験を行った対象菌の概要を説明します。

報告書1頁中段の【使用菌株】にあるとおり、今回の試験では、

(1) ウエルシュ菌 : *Clostridium perfringens* ATCC13124

(2) 大腸菌 : *Escherichia coli* ATCC25922

を対象菌として選定し、殺菌試験を行いました。

A T C C とは、世界中の微生物研究者に広く利用されている世界最大の生物資源バンクである American Type Culture Collection の略称です。ここでは、多くの微生物株等に固有の番号を付して保存・分譲しています。

報告書では省略しましたが、今回使用した菌株はそれぞれ「タイプストレイン」です。一言で大腸菌といっても、大腸菌という菌種には沢山の菌株が存在しています。「タイプストレイン」とは、とある菌種の中に多数存在する菌株の中で「基準となる株」であることを示すものです。専門家の間ではとある菌種の性質を調べるために「タイプストレイン」を使用するのが一般的です。

3 細菌の中には、「芽胞を形成する菌」と「芽胞を形成しない菌」があります。「大腸菌」は「芽胞を形成しない菌」で、実験で使用することが一般的な菌です。また、遺伝子工学の世界でもツールとしてよく出回っており、取

警 視 庁

扱いが容易な菌です。

今回の殺菌試験は「菌の熱耐性」に関するものです。学術上、芽胞を形成しない病原菌の熱耐性には大きな差はありません。例えば、バイオセーフティレベル 3 に分類されている「芽胞を形成しない菌」のうち、危険性が非常に高いとされている「ペスト菌」の熱耐性も、前述した「大腸菌」と大きな差はありません。

実際のところ、当大学の保存センターでは「ペスト菌」を保有していますので、「芽胞を形成しない菌」の対象菌として「ペスト菌」を選定することもできますが、取扱い時に呼吸器等から感染するおそれもあることから、今回は安全面を考慮して、同じ「腸内細菌科」に属する「大腸菌」を使用することが適切であると判断しました。

よって、今回の殺菌試験における「芽胞を形成しない菌」の対象菌を「大腸菌」とし、その基準株である

エッセリキア コリ  
*Escherichia coli* ATCC25922

を使用することとしました。

今回の乾熱殺菌試験でこの「大腸菌」が死滅すれば、熱耐性が同様と考えられる「ペスト菌」も死滅するものと判断できます。

4. 次に「芽胞を形成する菌」についてですが、このうち病原性を示す代表的なものには従来から「バチラス属」と「クロストリジウム属」があります。同じ「芽胞を形成する菌」でも「バチラス属」と「クロストリジウム属」では熱耐性に若干の差があり、「バチラス属」の方が熱耐性が強いとされています。一方、「クロストリジウム属」は「芽胞型」であっても 100 度程度の乾熱で死滅する可能性があります。これに関しては後述します。



(供述調書等継続用紙)

これを踏まえて警察の方と検討した結果、今回はまず「芽胞を形成する菌」の対象菌として「クロストリジウム属」の菌を用いることとしました。

「クロストリジウム属」には、酸素が有害となる嫌気性菌で芽胞を形成するグラム陽性桿菌が属します。その中でも「ウエルシュ菌」と「ボツリヌス菌」は、「クロストリジウム属」の基準種に近縁の「真のクロストリジウム」に属する菌種で、「病原性クロストリジウムの主要な菌種」です。

しかし、このうち「ボツリヌス菌」については、「ペスト菌」と同様に全面のリスクが高いため、今回は、以前に警察の方に見せてもらった「軍用の細菌製剤の原料として用いられる生物であって経済産業省令で定める細菌」を示す資料の中に「ボツリヌス菌」と同じ「クロストリジウム属」の嫌気性菌である「ウエルシュ菌」が掲載されていたことから、この「ウエルシユ菌の」基準株である

クロストリジウム パーフリンジェンス  
*Clostridium perfringens* ATCC13124

を「芽胞を形成する菌」の対象菌として使用することとしました。

このとき本職は、平成 30 年 3 月 20 日付け当課司法警察員巡查部長宮本茂樹作成にかかる「複写報告書（安全保障貿易管理関連貨物・技術リスト及び関係法令集〔改正第 22 版〕）」の添付資料のうち関係箇所を供述人に示し説明を受けたうえで、「資料 2」として本調書末尾に添付することとした。

これがその資料ですが、説明したとおり 120 頁の上段に

(1) 軍用の細菌製剤の原料として用いられる生物、毒素若しくはそのサブユニット又は遺伝子であって、経済産業省令で定めるもの

と記載されているほか、同ページ中段から、経済産業省令で定める細菌が列

警 視 庁

(供述調書等継続用紙)

記されており、121ページ上段には「ペスト菌」や「ボツリヌス菌」と並んで

ウエルシュ菌（イプシロン毒素産生型のものに限る）

と記載されていることがわかります。

前述の理由により、「基準株」で行うのを優先したため、今回の試験はイプシロン毒素産生型ではありませんが、「ウエルシュ菌」の熱耐性はイプシロン毒素産生型か否かにかかわらずどれも大きな差はありませんので、熱耐性の判別には大きな影響は無いと判断しました。

本試験の結果「ウエルシュ菌」が死滅すれば、「軍用の細菌製剤の原料として用いられる細菌」が死滅するとの要件を満たすものと判断できます。

なお、過去の試験データが「大腸菌」よりも少ない「ウエルシュ菌」については、試験結果の精度を高めるため、日を改めて計2回、殺菌試験を実施することとしました。

5 「芽胞を形成する菌」は、増殖していく「栄養型」と休眠状態にある「芽胞型」とその形態が変化する性質があります。例えば、嫌気性の「芽胞を形成する菌」が「栄養型」の場合には、一般的に大気レベルの酸素の存在下に曝されることで死滅します。しかし「芽胞型」は、温度を含む外環境の影響から自らを守ろうとする性質があり、嫌気性の「芽胞を形成する菌」が「芽胞型」の場合は、酸素にあたっても死滅しないほか、「栄養型」よりも熱耐性が強まります。

つまり、懸濁液中の「芽胞を形成する菌」を加熱する等して「芽胞型」のみを選別した後、噴霧乾燥器 RL-5 を用いて芽胞が耐え得る温度で噴霧乾燥すれば、炭疽菌等、生育に酸素が必要な好気性「バチラス属」であっても、

警 視 庁

ボツリヌス菌やウエルシュ菌等の嫌気性「クロストリジウム属」であっても、どちらの場合でも「芽胞を形成する菌」の粉体化は可能と言えます。

6 次に、試験に必要な菌の培養及び増殖について説明します。

今回は、対象菌である「大腸菌」を培養して、 $10^8$  cfu/mL の菌を用意しました。 $10^8$ とは  $10$  の  $8$  乗、つまり  $1$  億を表します。C F U とは、Colony Forming Unit の略称で菌量を表す単位であり、微生物学では一般的なものです。ここで言う「コロニー」とは、1 つの菌体細胞に由来する菌の集落のことです。菌のコピーが増殖していくほどコロニーが大きくなり、一つの塊として肉眼で確認できるようになります。なお、mL とはミリリットルを表し、 $10^8$  cfu/mL とは、1 ミリリットルあたり  $10^8$  cfu 存在していることを表しています。

一方、「ウエルシュ菌」については  $10^7$  cfu/mL の菌を用意しました。実際には「大腸菌」と同量を目指し、「ウエルシュ菌」も「大腸菌」と同程度の濁度で当初、菌液を作ったのですが、「ウエルシュ菌」の菌体細胞が大腸菌よりも大きいために最終的な菌量の差が生じたものと考えられます。試験の最初の段階で行う菌液の調製では、肉眼で見る液の濁度で菌量を調整するものであり、菌別で菌量に差が生じるのは当然のことです。

このとおり菌液の濁度で菌量を調整するため、試験実施前に菌量の計数は行いません。先に説明した  $10^8$  cfu/mL 等の菌量は、殺菌試験実施時に調製した菌液の定量培養を実施して、実数を測定したものです。その結果については後述します。

7 菌量の測定方法として一般的なのが、菌を培養して数える方法です。寒天培地の表面に菌を撒くと、菌は分裂・増殖して菌の塊、つまり集落を形成し、



目で見て数えられるようになります。この菌の固まりがコロニーです。なお培地とは、微生物等の培養において、その対象に生育環境を提供するものであり、様々な形状のものがあります。報告書 1 頁中段の【使用培地】の欄に、今回使用した全ての培地を記載していますので参考にして下さい。

この方法で得られるのは、生きて増殖できる菌の数、つまり「生菌数」なのですが、実際に菌をひとつひとつ計数している訳ではないので、「元となる菌液に、計数したコロニーと同数の細胞が生きている」という意味を表す

CFU という独特的の単位を用いて菌量を表します。

コロニーを数える際は、直径 9 ~ 10 センチメートルの円形容器であるシャーレに入った寒天培地上で菌を培養するのが一般的ですが、この寒天培地で正確に数えることが出来るコロニー数は約 30 ~ 300 程度です。そのため、仮にコロニーが 1,000 万個だとすると、数が多くすぎてとても正確に数えることはできません。また、菌量が多くなりすぎると、シャーレの中でそれぞれのコロニーがくっついてしまうことも問題となります。

そのため、今回のように検査対象に多くの菌が含まれることが予想される場合には、培養前に「希釀」を行います。つまり、10 倍・100 倍と各段階に薄めた菌液をそれぞれ 0.1mL ずつ採って、各シャーレに入った寒天培地上に均一に広げて培養し、各シャーレのうちコロニー数が約 30 ~ 300 個のものを「最も信頼性の高い計数値」と認め、その希釀倍率から 1mL あたりの値を算出するのです。

例えば、ある菌の懸濁液を 100,000 倍に希釀後、0.1mL 採って培養した結果、検出したコロニー数が 36 個だったとします。この場合、この菌液の 1mL あたりのコロニー数は  $36 \times 100,000 \times 10 = 36,000,000$ 、つまり 3.6

(供述調書等継続用紙)

$\times 10^7$  cfu/mL と算出されるのです。最後に 10 を乗じた理由は、希釀後に採取したのは 0.1mL であるため、1mL 換算の値を算出するために 10 倍したというわけです。このように菌量を測定するため、検査対象を希釀して培養する方法を「定量培養法」といい、今回もこの方法を用いました。

微生物学の分野では、CFU の単位が実践的とされ、多くの試験で用いられています。その理由は、細菌を肉眼で計数するのは非常に困難であるからです。その代わりに、一つの菌体細胞に由来して形成されるコロニーであれば肉眼で計数可能なため、菌ではなくコロニー数に由来する単位である CFU が用いられているというわけです。

8 次に、具体的試験要領を順を追って説明します。

まず、ペーパーディスク作成の手順は次のとおりです。

(1) 報告書 1 頁下段の【方法】「1. 菌体含有ディスクの調整」に記載したとおり、まず、寒天培地上で事前培養した新鮮なコロニーを液体培地に懸濁し、菌液を調製しました。

(2) 次に、滅菌したシャーレに複数のペーパーディスクを並べ、前述のとおり調製した菌液を注ぎ約 10 分間放置し、各ペーパーディスクに十分な菌液を含ませました。その後、ペーパーディスク周りの菌液は滅菌パスツールピペットで取り除きました。

(3) 続いて、各ペーパーディスクを新しい滅菌シャーレに移して、他の菌が混ざらないよう蓋をしました。その後、「大腸菌」ペーパーディスクの入ったシャーレは室温の大気環境下に置き、36 時間かけてディスクを乾燥させ、大腸菌含有ペーパーディスクを作成しました。一方、酸素が有害となる「嫌気性」の「ウエルシェ菌」ペーパーディスクの入ったシャーレ

警 視 庁

(供述調書等継続用紙)

は蓋をして、酸素を含まない大気環境下、内部温度を 22 °Cに設定した嫌  
氣チャンバー内に設置し、同じく 36 時間かけてディスクを乾燥させ、ウ  
エルシュ菌含有ペーパーディスクを作成しました。乾熱の殺菌評価をする  
にあたり、対象菌を十分に乾燥させるためには 36 時間程度が妥当だと判  
断しました。

前述したとおり 36 時間の乾燥を経ることで、ペーパーディスクに定着  
させた「嫌気性」の「ウエルシュ菌」については「芽胞型」の形成が進ん  
でいると考えられます。従って、今回の殺菌試験により「ウエルシュ菌」  
が死滅すれば、それは「芽胞型」の「ウエルシュ菌」が死滅したものと考  
えられます。

#### 9 続いて、乾熱殺菌の手順をお話しします。

報告書 2 頁上段の【方法】「2.乾熱滅菌」の 1)に記載したとおり、警察で  
実施した噴霧乾燥器 RL-5 内部の温度実験で「110 °Cを 2 時間以上維持した  
ほか、120 °C以上まで昇温した」等の結果を踏まえ、今回使用する乾熱滅菌  
器の温度設定等を

110 °Cで 2 時間

としました。

また、警察の方から「120 °Cでも 30 分以上維持したのを確認し、より長  
い時間も可能と認められる」旨の説明を受けたことから、

120 °Cで 2 時間

でも試験を実施しました。この件につき、前述した同項目の 1)には

120 °C設定 昇温時間 (室温→110 °C) 64 分

等と記載していますが、これは単純なタイプミスです。正しくは、

警 視 庁

(供述調書等継続用紙)

120 °C設定 昇温時間 (室温→120 °C) 64分

となります。

さらに、今回使用した乾熱滅菌器には昇温時間を自由にプログラム設定できる機能があるため、「噴霧乾燥器 RL-5 内部の温度が 110 °Cに達するのに、50 分を要した」との警察の実験結果に倣い、乾熱滅菌器にペーパーディスクを設置した後、50 分かけて装置内部の温度を 110 °Cに昇温する設定にしました。

わかりやすいように、説明してきた手順をもう一度繰り返すと、

- ・乾熱滅菌器にペーパーディスクを設置して扉を閉める
- ・乾熱滅菌器の運転を開始し、50 分かけて内部温度を 110 °Cに昇温させる
- ・内部温度 110 °Cを 2 時間維持させる

の順となります。同様に、120 °Cの場合の昇温時間は 64 分としました。

ただ、試験後に装置のプログラム設定を確認したところ、本来ならば 50 分間にするはずだった内部温度 110 °Cの試験における昇温時間を、私の勘違いで 49 分間にしていたことに気づきました。しかし、昇温時間が 1 分間短かったとしても装置内部の温度は 110 °Cに達していますし、昇温時間が短いということは、検体が高温に曝される時間が短く殺菌条件としてはより厳しいと言えるため、今回の試験で殺菌できていれば、昇温時間が 50 分間であっても殺菌できたと言えます。

前述したとおり、内部温度が 110 °C及び 120 °Cに達してから、同温度を保持してそれぞれ 2 時間運転しました。この間、乾熱による殺菌効果を判別するための比較対象として、同条件で作成した「大腸菌」ペーパーディス

警 視 庁

(供述調書等継続用紙)

クと「ウエルシュ菌」ペーパーディスクを室温で約3時間、放置しました。3

時間とした理由は、110°C及び120°Cそれぞれの昇温時間に2時間の乾熱殺

菌時間を加えた時間が約3時間だからです。報告書では室温で約3時間放

置したこの比較対象用のペーパーディスクを「コントロール」と表現してい  
ます。

2時間後に装置の運転を止め、その10分後に装置の扉を開けて各ペーパ  
ーディスクを取り出しました。10分間待ったのは、手を入れることが出来  
るまで庫内の温度が下がるのを待っていたためです。

なお、内部温度120°Cの試験は110°Cの試験を終えた後に行いました。  
余熱の影響を無くすため、110°Cの試験終了後、装置の扉を約1時間開放し  
て装置内部の温度が室温に戻ってから、120°Cの試験を行っています。

10 次に、報告書3頁下段の【方法】「3.ペーパーディスクからの菌検出」に  
記載したとおり、菌の溶出を行いました。

まず、「コントロール」及び乾熱殺菌後のペーパーディスクを滅菌した竹  
串で取り出し、滅菌蓋付き試験管に入れた後、それぞれに液体培地1mLを  
添加して約10分間放置しました。放置している間、各試験管をボルテック  
スミキサーで搅拌し、ペーパーディスクに含まれている菌を十分に溶出し、  
液体培地に移しました。ボルテックスミキサーとは、ポピュラーな搅拌用の  
実験機器のことです。

なお、「ウェルシュ菌」ペーパーディスクについては、空気に曝されるの  
を防ぐため酸素を含まない大気環境下の嫌気チャンバー内で液体培地を添加  
し、各試験管の蓋を閉じてから同チャンバー外へ搬出し、搅拌を行いました。

11 素菌評価について説明します。今回は、研究者としてより確かな評価を

警 視 庁

導き出すため、2種類の方法で実施しました。

まず1つ目の方法は、「定量培養」による殺菌評価です。定量培養とは、溶出した菌液に含まれる菌量を計数するために培養することを言います。「大腸菌」及び「ウエルシュ菌」とともに殺菌評価の手順は同じなので、ここでは「ウエルシュ菌」を例に挙げて「定量培養」による殺菌評価を説明します。

手順としては、前述したとおり、まず

・「コントロール」及び乾熱殺菌したペーパーディスクに液体培地1mLを添加して菌を溶出し、それぞれの「1mL溶出液」を作成する

以降、この「1mL溶出液」を「希釀段階」における「原液」と称していきます。

その後、

・「原液」から、寒天培地2枚に0.1mLずつ広げ培養する  
報告書では0.1mLのことを100μLと記載していますが、これは単位が違うだけで同量です。

・次に「原液」の残量から0.1mL取り出し、10<sup>1</sup>倍に希釀する  
この時点で「原液」の残りは0.7mLとなります。以降、希釀段階が一つ前のものから0.1mLずつ取り出して10<sup>2</sup>倍、10<sup>3</sup>倍、10<sup>4</sup>倍、10<sup>5</sup>倍、10<sup>6</sup>倍の順で希釀液を作成する。

・その後、各希釀液から0.1mLずつ取り出し、各希釀液毎に寒天培地2枚に接種、培養する

・「コントロール」のペーパーディスクの溶出液から十分な菌の発育が見られるまで1,2日間、37℃の温度環境下で各寒天培

地を培養する

の順となります。

これを踏まえて、報告書 4 頁上段の「ウエルシュ菌 コントロール」と表題のある一覧表を見ながら説明します。以降、これを「一覧表」と略して述べていきます。因みに、報告書上で殺菌評価をまとめた各一覧表は、いずれも同じ構成になっています。

「ウエルシュ菌 コントロール」の一覧表中、「希釀段階」欄の「原液」とは、前述したとおり、乾熱殺菌せず室温環境下で放置した「コントロール」の「ウエルシュ菌」ペーパーディスクから溶出した「1mL 溶出液」のことです。

その下の「集落数」欄は上下 2 段に分かれており、培養した 2 枚の寒天培地から検出したコロニー数を各自記載しています。「原液」における同欄は上下段ともに「TNTC」と記載していますが、これは「Too Numerous To Count」の略で「計数不能」の意味です。つまり、2 枚の寒天培地から計数不能な程、多数のコロニーが検出されたことを意味しています。

続いて、 $10^1$  倍、 $10^2$  倍、 $10^3$  倍、 $10^4$  倍、 $10^5$  倍、 $10^6$  倍の各希釀液の試験結果を見てみます。

一覧表中「希釀段階」が  $10^1$ 、 $10^2$ 、 $10^3$  の場合の「集落数」は、記載したとおりいずれも「TNTC」、つまり「計数不能」でした。

続いて、「希釀段階」が  $10^4$  以降の「集落数」は次のとおりでした。

$10^4$  の「集落数」～ 152 及び 119

$10^5$  の「集落数」～ 21 及び 12

$10^6$  の「集落数」～ 1 及び 0

(供述調書等継続用紙)

この結果を踏まえて、「集落数」の下の「平均」欄には、2枚の寒天培地

から検出したコロニー数の平均値を記載しました。例えば、 $10^4$ 希釀液では

$$(152+119) \div 2 = 135.5$$

の計算式から平均値を 135.5 と算出しています。同じ要領で  $10^5$  及び  $10^6$

希釀液の平均値も算出し、一覧表に記載してあります。

このとおり  $10^4$  希釀液から検出したコロニー数の平均を 135.5 と算出した

ことから、次に一覧表の下段にある「原液中の菌量」の算出に移ります。

$10^4$  は 10,000 を表しますから、前述した計算式にあてはめると

$$135.5 \times 10,000 \times 10 = 13,550,000, つまり 1.355 \times 10^7$$

となります。これを四捨五入して算出される

$$1.4 \times 10^7 \text{ cfu/mL}$$

が「コントロール」の「ウエルシュ菌」における「原液中の菌量」となりま

す。

あくまでも 1 万倍から 100 万倍希釀した各「希釀段階」で検出された「集

落数」から原液中の菌量を算出するため、各「希釀段階」で若干の数値の変

動が見られるのは一般的です。一覧表でも  $10^5$  希釀液の「原液中の菌量」

は  $1.7 \times 10^7$  と算出され、ただ今説明した  $10^4$  希釀液の値と異なっています。

検出した「集落数」が極端に少なかった  $10^6$  希釀液では、信頼に値する「原

液中の菌量」が算出できないため、計算しませんでした。

菌量の算出には、各「希釀段階」で検出したコロニー数を基に、どの「希

釀段階」の検出結果に高い信頼性を認めるかが重要です。前述したとおり、

シャーレ上の寒天培地で正確に数えることが出来るコロニー数は約 30 ~

300 程度であるため、通常、検出した「集落数」がこの範囲内にあるものを

警 視 庁

(供述調書等継続用紙)

「最も信頼性が高い検出結果」と判断します。そのため一覧表では、検出した「集落数」が 152 及び 119 であった  $10^4$  の「希釀段階」のものを最良と判断し、黒色背景で他と区別して表しています。その他の一覧表でも「最も信頼性が高い検出結果」をそれぞれ黒色背景で表示しています。

この結果、「コントロール」の「ウエルシュ菌」における「原液中の菌量」は  $10^4$  希釀液におけるコロニー検出結果から、 $1.4 \times 10^7$  cfu/mL の菌の存在が認められ、殺菌できていないことを確認しました。当然ですが、一覧表中の「集落数」0 は、検出したコロニーがなかったことを示しています。

説明してきた試験結果は、報告書 4 頁から 6 頁の「表 1. 培養結果」及び「表 2. 培養結果」に記載したとおりです。表は試験を実施した日付別に作成しました。これを踏まえ、最終的な結論は報告書 3 頁の【結果】に記載したとおりですが、これを温度別にまとめると次のようになります。

・ 室温の大気環境下に約 3 時間放置した

「大腸菌」ペーパーディスクから溶出した液体：  
 $2.5 \times 10^8$  cfu/mL

「ウエルシュ菌」ペーパーディスクから溶出した液体：  
1 回目 (2/4 実施) ~  $1.4 \times 10^7$  cfu/mL  
2 回目 (2/7 実施) ~  $4.2 \times 10^7$  cfu/mL

・  $110^{\circ}\text{C}$ で 2 時間乾熱殺菌した

「大腸菌」ペーパーディスクから溶出した液体：菌の発育なし  
「ウエルシュ菌」ペーパーディスクから溶出した液体：  
1 回目～菌の発育なし  
2 回目～菌の発育なし

警 視 庁

(供述調書等継続用紙)

・ 120 °Cで 2 時間乾熱殺菌した
「大腸菌」ペーパーディスクから溶出した液体：菌の発育なし
「ウエルシュ菌」ペーパーディスクから溶出した液体：
1回目～菌の発育なし
2回目～菌の発育なし
ここで言う「発育なし」という表現は、「培養した結果、菌の発育がなかつた」という意味であり、つまり「生菌の存在がなかったためコロニーが形成されなかつた」ということです。
報告書3頁末尾に記載したとおり、この結果、110 °C及び120 °Cの乾熱で2時間殺菌した後に生存菌は無く、「大腸菌」及び「ウエルシュ菌」とともに死滅したことを確認しました。
この定量培養でも十分な評価方法と言えますが、敢えて難点を挙げるとすれば測定法上の検出限界が存在することです。「原液中の菌量」が 10cfu/mL未満の場合では、菌が存在していても検出できていない可能性があるのです。そのため、より詳細な殺菌評価を行うため、次の方法を実施しました。
12 2つ目の方法では、半流動培地で増菌培養を行いました。増菌培養とは、少ない菌量でもその菌を増殖させて検出するため、生きている菌体細胞が1つでも存在すれば検出できる方法です。半流動培地の中に菌のかたまりが1つでも形成されれば確認できるため、この結果、菌の発育がなければ全ての菌が殺滅されていることになります。半流動培地とは、培地内の寒天の濃度を少なくしているため固形培地よりも柔らかく、ジェル状の培地です。好気状態でも発育する事ができるため、一般には好気性菌として扱われる「大腸菌」を含む通性嫌気性菌や「ウエルシュ菌」を含む酸素が有害な偏性嫌気性

警 視 庁

(供述調書等継続用紙)

菌が極めて良好に発育するため、増菌培養に適している培地です。

報告書3頁の【結果】には、先に使用し、残りが0.7mLとなった「原液」を希釈せずにそのまま増菌培地に接種、培養した結果を記載していますが、これを温度別にまとめると次のようになります。

・室温環境下に約3時間放置した

「大腸菌」ペーパーディスクから溶出した液体：菌の発育あり

「ウエルシュ菌」ペーパーディスクから溶出した液体：

1回目～菌の発育あり

2回目～菌の発育あり

・110°Cで2時間乾熱殺菌した

「大腸菌」ペーパーディスクから溶出した液体：菌の発育なし

「ウエルシュ菌」ペーパーディスクから溶出した液体：

1回目～菌の発育なし

2回目～菌の発育なし

・120°Cで2時間乾熱殺菌した

「大腸菌」ペーパーディスクから溶出した液体：菌の発育なし

「ウエルシュ菌」ペーパーディスクから溶出した液体：

1回目～菌の発育なし

2回目～菌の発育なし

増菌、つまり微量の菌を増やす目的の培地でも発育が無かったということ

は、定量培養による評価と同様に「生菌の存在がなかったため発育がみられ

なかつた」ということです。一方、定量培養の結果と同様に、乾熱殺菌して

いない「コントロール」の「大腸菌」及び「ウエルシュ菌」ペーパーディス

警 視 庁

(供述調書等継続用紙)

クからは菌の発育が認められました。

前述の定量培養における結果と併せ、この増菌培養により、

「乾熱の効果」で対象菌が「完全に」死滅したことを確認しました。

13 報告書では上記2種類の殺菌評価の内容を記載していますが、実際には、試験の確証をさらに高めるため、敢えて評価方法をもう1種類追加しました。

3つ目の方法は、前述のとおりボルテックスミキサーで攪拌し液体培地に溶出した後のペーパーディスクに残る菌の存在を確認するというものです。既にペーパーディスクの菌は液体培地に移しましたので、ボルテックスミキサー後のペーパーディスクはいわば「残りカス」とも言えます。しかし、万が一菌が溶出しきれておらずペーパーディスクに残存している可能性を打ち消すために、念には念を入れて実施しました。なお、これは乾熱殺菌したペーパーディスクにのみ行いました。

具体的には、菌溶出後のペーパーディスクを取り出し、寒天培地の上に乗せて培養し、その経過を観察しましたが、この結果においても、

・ 110℃で2時間乾熱殺菌した

「大腸菌」ペーパーディスク：菌の発育なし

「ウェルシュ菌」ペーパーディスク：

1回目～菌の発育なし

2回目～菌の発育なし

・ 120℃で2時間乾熱殺菌した

「大腸菌」ペーパーディスク：菌の発育なし

警 視 庁

「ウェルシュ菌」ペーパーディスク：
1回目～菌の発育なし
2回目～菌の発育なし
となり、「乾熱の効果」で対象菌が「完全に」死滅した事実を補強する結果となりました。
14 報告書1頁上段の「試験結果」に記載したとおり、結論として、110°Cで2時間及び120°Cで2時間の乾熱を条件とした殺菌試験において、対象菌とした「大腸菌」及び「ウェルシュ菌」の基準株が完全に死滅したため同条件で対象菌の殺菌は可能と判断しました。
15 本試験を実施する前に、警察の方から、一般的に菌の殺菌評価にあってはその信頼性の観点からも $10^8$ cfu/mL 以上の菌量で実施するよう要望がありましたので、前述しましたが、試験に使用したコントロールのディスクの菌量を計数したところ、 「大腸菌」は $10^8$ cfu/mL 「ウェルシュ菌」は $10^7$ cfu/mL と算出されました。 乾熱をかけないコントロールのディスクで、上記の菌量が計数できたことから、今回の「大腸菌」及び「ウェルシュ菌」の殺菌試験は、いずれも $10^8$ cfu/mL 以上の十分な菌量で実施したものであることを確認しました。
16 また、警察の方から噴霧乾燥器 RL-5 の最新の温度実験では、装置内部温度 117°C を 3 時間 7 分維持したと聞きましたが、本試験結果を踏まえると、この条件は本試験より更に高温・長時間の加熱であるため、より緩い条件の

警 視 庁

(供述調書等継続用紙)

本試験で対象菌とした「大腸菌」及び「ウエルシュ菌」は完全に死滅していることから、仮に「117℃、3時間7分」の条件で殺菌試験を実施した場合、当然に同一の結果が表れることになります。

田中香里

以上のように録取に読み聞かせた上閲覧せたところ、誤りのないことを申立て、末尾に署名押印した。

前同日

警視庁公安部外事第一課

司法警察員警部補

立会補助者

警視庁公安部外事第一課

司法警察員

警 視 庁

新  
聞  
社

資 料 1

## 乾熱滅菌器による殺菌試験 報告書

### 試験目的

指定された条件（110°C 2時間、120°C 2時間の乾熱滅菌）で、下記の対象菌種が殺菌可能か否かを調べる。

対象菌種 (1) ウエルシュ菌 (2) 大腸菌

### 試験結果

指定された条件について、下記の方法で行った試験において、対象菌種の基準株は死滅したため、殺菌可能と判断した。

#### 【使用菌株】

- (1) ウエルシュ菌 : *Clostridium perfringens* ATCC 13124
- (2) 大腸菌 : *Escherichia coli* ATCC 25922

#### 【使用培地】

ウエルシュ菌 : 変法 GAM ブイヨン (液体培地)、変法 GAM 寒天培地

#### 【日水製薬】

大腸菌 : ミューラーハントンプロス (液体培地)、ミューラーハントン寒天培地

#### 【ベクトン・ディッキンソン】

共通 HK 半流動培地 (増菌培地) [極東製薬工業]

#### 【方法】

##### 1. 菌体含有ディスクの調整

- 1) 寒天培地に前培養した新鮮培養集落を液体培地に懸濁し菌液を調製した。
- 2) 滅菌シャーレに滅菌ペーパーディスクを並べ、1) で調製した菌液を注いで約10分間菌液に浸し、ペーパーディスクに菌液を含ませた。

- 3) ディスク周りの菌液を滅菌パスツールピペットで取り除き、ペーパーディスクを滅菌ピッセット(アルコールに浸して火炎滅菌)で新しい滅菌シャーレに移し、下記の条件で、約 36 時間乾燥させた。

ウエルシュ菌：嫌気チャンバー内 22°C (図 1. 参照)

大腸菌：大気環境下 室温

## 2. 乾熱滅菌

- 1) 消毒用アルコールを噴霧し、紫外線照射下で乾かしたアルミホイルで被検菌含有ペーパーディスクを包み、提供された測定データより下記の設定で乾熱滅菌をかけた。(図 2. 図 3. 参照)

110°C 設定 昇温時間 (室温→110°C) 50 分 110°C 保持 2 時間

120°C 設定 昇温時間 (室温→110°C) 64 分 120°C 保持 2 時間

- 2) いずれも終了約 10 分後に滅菌器の扉を開放、ディスクを包んだアルミホイルを取り出した。

・コントロールの菌含有ペーパーディスクについては、乾熱滅菌にかかる約 3 時間、大気環境下室温に放置した。

・120°C 設定で滅菌したウエルシュ菌のペーパーディスクについては、滅菌の直前まで、嫌気チャンバー内で保管した。

・120°C 設定については、110°C 設定の滅菌終了後、扉を約 1 時間開放し、滅菌器の庫内温度が室温に戻ってから実施した。

## 3. ペーパーディスクからの菌検出

- 1) 滅菌蓋付き試験管に滅菌竹串でディスク 1 枚を移し、液体培地を 1mL 添加し、約 10 分間、放置した。この間、ボルテックスミキサーで 10 秒間 × 4 回の攪拌を 2 回(液体培地添加後、1~2 分と終了時) 行い、ペーパーディスク内の菌を液体培地に溶出させた。  
・ウエルシュ菌のディスクについては、嫌気チャンバー内で液体培地を添加し、蓋を閉じてから搬出し、攪拌を行った。

- 2) 1) でディスクから菌を溶出させた菌液を下記の培養に供した。

・寒天培地 2 枚に各 100μL を接種、培養  
・100μL を 10<sup>1</sup> 倍、10<sup>2</sup> 倍、10<sup>3</sup> 倍、10<sup>4</sup> 倍、10<sup>5</sup> 倍、10<sup>6</sup> 倍まで希釈、各希釈系列から寒

天培地 2 枚に各  $100\mu\text{L}$  を接種、培養

・残った菌液を増菌培地 (HK 半流動培地) に接種、培養

- 3)  $37^\circ\text{C}$  で 1~2 日 (コントロールで十分な発育が見られるまで) 培養後、コントロールと乾熱滅菌サンプルの発育の有無を確認し、発育が見られた寒天培地については、発育集落数を計数した。

【結果】 (表 1、表 2、図 4~9 参照)

(1) ウエルシュ菌

2/4 実施

コントロール 定量培養:  $1.4 \times 10^7 \text{ cfu/mL}$  増菌培養: 発育

$110^\circ\text{C}$  2 時間 定量培養: 発育無し 増菌培養: 発育無し

$120^\circ\text{C}$  2 時間 定量培養: 発育無し 増菌培養: 発育無し

2/7 実施

コントロール 定量培養:  $4.2 \times 10^7 \text{ cfu/mL}$  増菌培養: 発育

$110^\circ\text{C}$  2 時間 定量培養: 発育無し 増菌培養: 発育無し

$120^\circ\text{C}$  2 時間 定量培養: 発育無し 増菌培養: 発育無し

(2) 大腸菌

2/4 実施

コントロール 定量培養:  $2.5 \times 10^8 \text{ cfu/mL}$  増菌培養: 発育

$110^\circ\text{C}$  2 時間 定量培養: 発育無し 増菌培養: 発育無し

$120^\circ\text{C}$  2 時間 定量培養: 発育無し 増菌培養: 発育無し

上記結果から、 $110^\circ\text{C}$ ・2 時間、 $120^\circ\text{C}$ ・2 時間の乾熱後の生残菌は存在せず、被検菌は死滅した事が示された。

表 1. 培養結果 (2018.2.2 ディスク調製、2018.2.4 実施)

## ウエルシュ菌 コントロール

希釈段階	原液	$10^1$	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$
集落数	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	152	21	1
	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	119	12	0
平均					135.5	16.5	0.5
原液中の菌量 (cfu/mL)					$1.4 \times 10^7$	$1.7 \times 10^7$	
原液増菌培養					発育あり		

## ウエルシュ菌 110°C 2 時間

希釈段階	原液	$10^1$	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$
集落数	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
平均	0	0	0	0	0	0	0
原液中の菌量 (cfu/mL)	検出限界 未満						
原液増菌培養					発育無し→生残菌なし		

## ウエルシュ菌 120°C 2 時間

希釈段階	原液	$10^1$	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$
集落数	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
平均	0	0	0	0	0	0	0
原液中の菌量 (cfu/mL)	検出限界 未満						
原液増菌培養					発育無し→生残菌なし		

## 大腸菌 コントロール

希釀段階	原液	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
集落数	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	302	29
	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	260	21
平均						281	25
原液中の菌量 (cfu/mL)						2.8x10 <sup>6</sup>	2.5x10 <sup>6</sup>
原液増菌培養	発育あり						

## 大腸菌 110°C 2 時間

希釀段階	原液	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
集落数	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
平均	0	0	0	0	0	0	0
原液中の菌量 (cfu/mL)	検出限界 未満						
原液増菌培養	発育無し→生残菌なし						

## 大腸菌 120°C 2 時間

希釀段階	原液	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
集落数	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
平均	0	0	0	0	0	0	0
原液中の菌量 (cfu/mL)	検出限界 未満						
原液増菌培養	発育無し→生残菌なし						

表 2. 培養結果 (2018.2.5 ディスク調製、2018.2.7 実施)

## ウエルシュ菌 コントロール

希釈段階	原液	$10^1$	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$
集落数	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	40	2
	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	44	1
平均						42	1.5
原液中の菌量 (cfu/mL)						$4.2 \times 10^4$	
原液増菌培養						発育あり	

## ウエルシュ菌 110°C 2時間

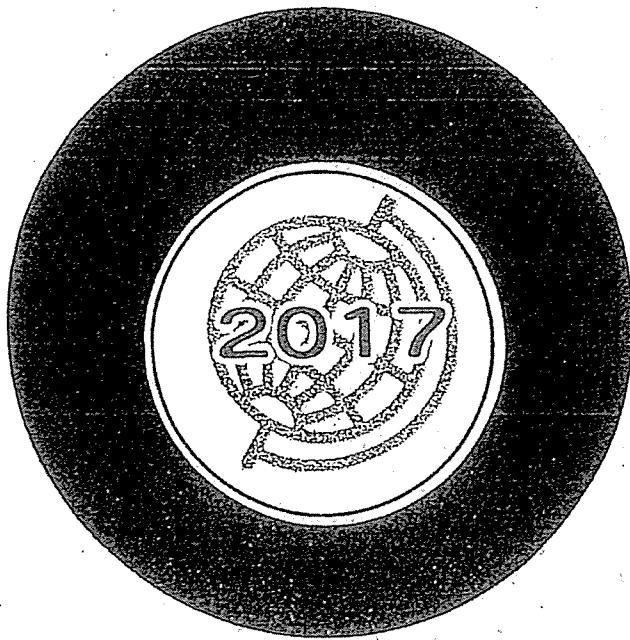
希釈段階	原液	$10^1$	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$
集落数	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
平均	0	0	0	0	0	0	0
原液中の菌量 (cfu/mL)	検出限界 未満						
原液増菌培養						発育無し→生残菌なし	

## ウエルシュ菌 120°C 2時間

希釈段階	原液	$10^1$	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$
集落数	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
平均	0	0	0	0	0	0	0
原液中の菌量 (cfu/mL)	検出限界 未満						
原液増菌培養						発育無し→生残菌なし	

資料 2

安全保障貿易管理関連貨物・技術リスト  
及び  
関係法令集  
〔改訂第22版〕



平成29年1月

日本機械輸出組合

## 〔3の2項貨物〕生物兵器

1項  
技術

2項

3項  
技術

項番 法規	項目
3の2 「輸出令」	<p>(1) 軍用の細菌製剤の原料として用いられる生物、毒素若しくはそのサブユニット又は遺伝子であつて、経済産業省令で定めるもの</p> <p>(2) 次に掲げる貨物であつて、軍用の細菌製剤の開発、製造若しくは散布に用いられる装置又はその部分品であるもののうち経済産業省令で定める仕様のもの</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1 物理的封じ込めに用いられる装置</li> <li>2 発酵槽又はその部分品</li> <li>3 遠心分離機</li> <li>4 クロスフローろ過用の装置又はその部分品</li> <li>5 凍結乾燥器</li> <li>5の2 噴霧乾燥器</li> <li>6 物理的封じ込め施設において用いられる防護のための装置</li> <li>7 粒子状物質の吸入の試験用の装置</li> <li>8 噴霧器若しくは煙霧機又はこれらの部分品</li> </ol>
「省令」 第2条の2	<p>輸出令別表第1の3の2の項(1)の経済産業省令で定めるものは、次のいずれかに該当するものとする。</p> <p>一 ウィルス（ワクチンを除く。）であつて、アフリカ馬疫ウィルス、アフリカ豚コレラウィルス、アンデアン・ポテト・ラテント・ウィルス、アンデスウィルス、エボラウィルス属の全てのウィルス、黄熱ウィルス、オムスク出血熱ウィルス、オロボーチウイルス、ガナリトウイルス、キヤサヌール森林病ウィルス、牛痘ウイルス、クリミア・コシゴ出血熱ウィルス、口蹄疫ウィルス、SARSコロナウィルス、再構成1918年インフルエンザウィルス、サビアウィルス、サル痘ウイルス、小反芻獸痘ウイルス、シンノンブレウィルス、水胞性口炎ウイルス、西部ウマ脳炎ウィルス、セントルイス脳炎ウィルス、ソウルウィルス、ダニ媒介脳炎ウィルス（極東型に限る。）、チクングニアウィルス、チャバレウイルス、跳躍病ウイルス、デュクロウィルス、デングウィルス、痘瘡ウイルス、東部ウマ脳炎ウィルス、ドブラバーベルグレドウイルス、トリインフルエンザウィルス（H5又はH7のH抗原を有するものに限る。）、ニバウイルス、日本脳炎ウィルス、ニューカッスル病ウイルス、ハンタンウイルス、豚コレラウィルス、豚水胞病ウイルス、豚テシオウイルス、豚ヘルペスウイルズ-1、フニンウイルス、ブルータングウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、ヘンドラウイルス、ポテト・スピンドル・チュバー・ウイロイド、ポワッサンウイルス、マチュポウイルス、マールブルグウイルス属の全てのウイルス、マレー渓谷脳炎ウイルス、ヤギ痘ウイルス、羊痘ウイルス、ラグナネグラウイルス、ラッサウイルス、ランピースキン病ウイルス、リッサウイルス属のウイルス（狂犬病ウイルスを含む。）、リフトバレー熱ウイルス、リ</p>

生物兵器 [ 3 の 2 項貨物 ]

「省令」  
第2条の2

- ンバ球性脈絡膜炎ウイルス、ルヨウイルス又はロシオウイルス
- 二 細菌（ワクチンを除く。）であつて、アルゲンチネンス菌（ボツリヌス神経毒素產生株に限る。）、ウェルシュ菌（イブシロン毒素產生型のものに限る。）、ウシ流産菌、オウム病クラミジア、牛肺疫菌（小コロニー型）、コクシエラ属バーネッティ、コレラ菌、志賀赤痢菌、炭疽菌、チフス菌、腸管出血性大腸菌（血清型O26、O45、O103、O104、O111、O121、O145及びO157）、発疹チフスリケッチャ、バラチ菌（ボツリヌス神経毒素產生株に限る。）、鼻疽菌、ブタ流産菌、ブチリカム菌（ボツリヌス神経毒素產生株に限る。）、ペスト菌、ボツリヌス菌、マルタ熱菌、山羊伝染性胸膜肺炎菌F38株、野兔病菌又は類鼻疽菌
- 三 毒素（免疫毒素を除く。）であつて、テフラトキシン、アブリン、ウェルシュ菌毒素（アルファ、ベータ1、ベータ2、イブシロン又はイオタの毒素に限る。）、HT-2トキシン、黄色ブドウ球菌毒素（腸管毒素、アルファ毒素及び毒素性ショック症候群毒素）、コノトキシン、コレラ毒素、志賀毒素、ジアセトキシスルペノール毒素、T-2トキシン、テトロドトキシン、ビスカムアルバムレクチン、ペロ毒素及び志賀毒素様リボゾーム不活性蛋白質、ボツリヌス毒素、ボルケンシン、ミクロシスチン又はモデシン
- 四 前号に該当するもののサブユニット
- 五 細菌又は菌類であつて、グラビバクター・ミシガネンシス亞種ゼベドニカス、コクシジオイデス・イミチス、コクシジオイデス・ポサダシ、コクリオボールス・ミヤベアヌス、コレトリクム・カーハワイ、ザントモナス・アクソノポディス・パソバー・シリ、ザントモナス・アルビリネアヌス、ザントモナス・オリゼ・パソバー・オリゼ、シンキトリウム・エンドビオチクム、スクレロフトラ・ライシアエ・バラエティー・ゼアエ、セカフォラ・ソラニ、チレチア・インディカ、ブクシニア・グラミニニス種グラミニニス・バラエティー・グラミニニス、ブクシニア・ストリイフオルミス、ペロブスクレロスピラ・フィリピネンシス、マグナポルテ・オリゼ、ミクロシクルス・ウレイ又はラルストニア・ソラナセアルム・レース3及び次亜種2
- 六 第一号、第二号若しくは前号に該当するものの核酸の塩基配列のうち病原性を発現させるもの又は第三号若しくは第四号に該当するものを產生させる核酸の塩基配列を有する遺伝子（染色体、ゲノム、プラスミド、トランスポゾン及びベクターを含む。）
- 七 第一号、第二号若しくは第五号に該当するものの核酸の塩基配列のうち病原性を発現させるもの又は第三号若しくは第四号に該当するものを產生させる核酸の塩基配列を有するように遺伝子を改変した生物（微生物を含む。）
- 2 輸出令別表第1の3の2の項(2)の経済産業省令で定める仕様のものは、次のいずれかに該当するものとする。
- 一 物理的封じ込めに用いられる装置であつて、次のいずれかに該当するもの
  - イ 物理的封じ込めのレベルがP3又はP4である施設用の装置

タネモ

3の2項貨物  
項技術物

項貨物  
技術物

技術物  
技術物

ハドウ  
ラス  
リ