

センチュウ (*Caenorhabditis elegans*)

協力：東京女子医科大学 三谷昌平先生 (NBRP センチュウ)

動物の特性と拡散防止措置の概要

(1) センチュウの特性

センチュウは、体長約 1mm で透明な体をもち、自然界では、非寄生性で土壌中に生息している。実験室では大腸菌を塗布したシャーレや大腸菌を懸濁した三角フラスコなどを用いれば飼育できる。センチュウは、25°Cで大腸菌を餌として飼育すると、受精後2日で成虫まで発生する。雌雄同体として1匹から増殖可能であるが、稀に出現する雄との交配でも増殖可能である。幼虫はL1～L4期までに分類され、間で脱皮をして大きくなる。乾燥に弱く、幼虫、成虫は脱水状態になると、短時間で死滅する。また、酸欠状態で飼育すると胚が孵化できない。26°C以上の高温で飼育すると、不妊となり易い。30°C以上で飼育すると、数時間程度で死滅する。

- ① 卵：卵は、堅い卵殻に包まれており、化学物質等の処理でも死滅しない。
- ② 幼虫：L1期で飢餓状態になると、体が細く生殖能がない耐性幼虫となり、長期間生存することができるようになる。耐性幼虫は、餌が無くなった寒天培地の一部を新しい寒天培地に移すことで再び生育を再開することができる。
- ③ 成虫：成虫は、雌雄同体で増殖可能であり、1個体で200～300個の受精卵を産むことが可能である。

(2) 遺伝子組換えセンチュウの拡散防止措置の概要

センチュウは乾燥や高温に弱く、実験室環境以外のところでは生育が困難である。また、万一飼育用シャーレやフラスコから逃亡しても、乾燥状態ではすぐに死滅する。従って、飼育時には、飼育用のシャーレを乾燥したケースに入れて、

それをインキュベータ内で飼育することで、逃亡などのリスクを避ける。

遺伝子組換えセンチュウを使用する実験においては、遺伝子組換えウイルスの接種や病原性等に関わる遺伝子等の使用を行うことはないと思われるので、本マニュアルにおける例示は遺伝子組換えセンチュウの P1A の拡散防止措置を対象としている。したがって、遺伝子組換えウイルス等の微生物接種を含む P1A、P2A および 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ため、本マニュアルとは別途検討する。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。

拡散防止措置の要件（ハード要件）

[遺伝子組換えセンチュウの飼育]

P1A :

① 飼育室・実験室

餌となる大腸菌と同じ扱いができるため、通常の微生物実験室と同様の構造を有する飼育室・実験室であること。

② 飼育容器

餌の大腸菌を塗布した寒天培地のシャーレ、あるいは餌の大腸菌を最少培地に懸濁した三角フラスコ等で飼育を行う。飼育容器は、乾燥したケースに入れておく。

③ インキュベータ

飼育容器を入れたケースはインキュベータに入れ、遺伝子組換えセンチュウを飼育する。

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逃亡

しないように飼育容器をケースに入れて持ち運ぶこと。

⑤ ふん尿の処理設備

ふん尿を回収することはできないので不要である。

(2) 実施上の遵守事項（ソフト要件）

[遺伝子組換えセンチュウの飼育]

P1A :

① P1 レベル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 遺伝子組換えセンチュウはオートクレーブ等で確実に不活化すること。

④ 飼育容器には移入した組換え核酸の種類ごとに、飼育中の遺伝子組換えセンチュウを識別することができる表示があること。

⑤ 実験室入り口に「組換え動物等飼育中(P1)」と表示すること。

(3) その他

保管

センチュウの飼育では成虫が多数の卵を次々の産むため、通常、卵、幼虫、成虫が混在した状態である。多くの場合、1週間程度でシャーレ内の餌の大腸菌を食べ尽くした後のL1期の幼虫は凍結保存できる。あるいは、L1期で飢餓状態であると耐性幼虫のみが残るため、この状態では常温で60日以上

の長期間保存できる。

- ① 飼育中の遺伝子組換えセンチウの耐性幼虫としての保管は、寒天培地を入れたシャーレをパラフィルム等で封入して行うこと。
- ② 容器の外側の見えやすい箇所に遺伝子組換え生物等と表示し、さらに「センチウ（系統名）」を表示すること。
- ③ 容器はきちんとふたが閉まる乾燥した箱内にシャーレ等を入れ、その箱を所定の場所に保管し、箱の見えやすい箇所に遺伝子組換えセンチウを保管している旨を表示すること。
- ④ 凍結保存容器の保管場所が超低温冷凍庫や液化窒素保存容器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生物等（センチウ）などの表示をすること。

運搬

- ① 遺伝子組換えセンチウの運搬を行う際には、組換え体の情報提供書を添付すること。
- ② 輸送中に容易に破損しない構造の容器に入れて輸送すること。例えば培養シャーレにセンチウを入れてパラフィルム等で密封し、さらにそのシャーレをクッション入り封筒に入れて2重の梱包をする。
- ③ 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。