

## 実験 A 線虫 *C. elegans* の基礎的取り扱い

(文責：杉本亜砂子 10/2002)

- (1)~(3)は線虫講習会テキスト(1997)を改変して使用させていただきました。
- 参考資料として、線虫講習会テキスト(1997)解説1を配布。(虫の集いHPから見ることができます。)

### (1) *C. elegans* の観察

野生型の雌雄同体および雄を培養しているプレートを配るので、以下について観察する。

1. 前後・背腹の区別
2. 雌雄同体と雄、受精卵(胚)とその発育段階、L1~L4 幼虫の区別
3. 体の運動(前進・後退・方向転換、大腸菌につく軌跡と運動の関係)
4. 虫の種々の部分にピックで触るとどうなるか。プレートを叩く(あるいは数ミリ上から落とす)とどうなるか。
5. 雌雄同体と雄の運動の違い
  - 参考資料として、「ステージの見分け方」(別ファイル)を配布。

### (2) 線虫を拾う練習

ピックを用いて虫をプレートからプレートに移す。白金線を虫の下に入れてうまく虫をすくい上げ、新しいプレート上に置いて虫が寒天上に這い出すのを待つ。はじめは成虫で練習し、できるようになったらより小さな幼虫も移してみる。

白金線の先に粘りけのある大腸菌をつけると虫を拾いやすい。

移すときに気を付けること：

1. 手早く移す。(もたもたしていると、白金線上で虫がひからびて死んでしまう。)
2. 寒天を傷つけないようにする。(傷がつくとそこから中に虫が潜る。)
3. 移そうと思った虫以外の虫や卵を一緒に移さないようにする。

### (3) male plate の作成(雌雄同体と雄の交配)

雌雄同体(XX)は自家受精では雌雄同体のみを産む(正確には1000匹に1匹程度、X染色体の不分離により雄が生じる)。

雌雄同体(XX)と雄(X0)を交配させると、雌雄同体と雄が半数ずつ産まれる。

野生型のL4 幼虫~young adultの雌雄同体4匹と雄10匹を新しいプレートに移す。毎日観察し、交配が上手くいったか確認する。

### (4) 変異体の観察

形態や運動能力等に異常のある突然変異体株を観察する。

- 6種類程度、簡単なものから難しいものまで用意した。(実際に用いた株を知りたい方は杉本までお問い合わせください。)
- 1. それぞれの変異体の表現型を記述する。スケッチするとともに、文章でできるだけ詳細に記述する。
- 動きが悪いならば、どのように悪いのか。長さが違うならば、野生型と比較して何割程度違うのか。など、できるだけ文章で記述するように指示。
- 2. 各変異体の表現型はどのような遺伝子の異常により引き起こされたかを推察せよ。(答えは

一つではない。考え得る可能性を列挙する。)

3. 突然変異体に名前をつけてみよう。(特徴を上手く表すものがよい。)

- 線虫の遺伝子命名法にこだわることなく、自由に名前を付けてもらった。レポートを読むときの楽しみの一つ。名前を付けるのにもセンスがありますからね。
- 最近の学生さんはインターネットを利用した検索がお得意なので、レポートに「これは unc 変異(あるいは, dpy 変異 etc)だと推測され、遺伝子産物は XXX だと報告されている」などと書いてくる人が何割かいます。自分の目で見て、自分の頭で考えて欲しいものです。

#### 実在する遺伝子名の例

Klotho (mouse):ギリシャ神話に登場する生命をつかさどる女神(老化に異常を示す。)

fushitarazu (シヨウジョウバエ): 体節の数が少ない

flamingo (シヨウジョウバエ): 分子の形がフラミンゴに似ている

cdc (酵母等): cell division cycle

#### <用意する物>

##### ・NGM-lite plate

- Worm Breeder's Gazette 13(5): 11 参照
- NGM プレートの簡便版で、粉を混ぜてオートクレーブするだけで良い。(ストック溶液や PH あわせが不要。オートクレーブ後に添加するものも無し。)あくまで簡便版なので、学生実習以外では使用していません。

NaCl	1.0g
ポリペプトン	4.0g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.5g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.25g
Cholesterol	4mg
Agar	10g

per 500ml

autoclave

60mm plate or 35mm plate にまく

一晩置いてから、大腸菌 OP50 株培養液(こちらで準備)を塗る。

1ml のピペットで OP50 培養液を吸い取り、少しずつ出しながらプレートに広げる。

一晩以上置いてから使用。

##### ・ピック

パストールピペットの先に約 3cm の白金線(太さ 0.2mm)を差し込み、ガスバーナーの種火でガラスを溶かして固定する。

白金線の先端は剃刀の刃で斜めに切り、コインの側面で少しつぶす。

- 各班 2 本ずつ作ってもらおう。