

線虫の液体培養

無菌的に操作することが極めて重要で、雑菌がコンタミすると致命傷（著しく収量が落ちる）となる。

【準備するもの】

2 × YT 培地（大腸菌の前培養）

Bacto-Tryptone	16g	
Yeast Extract	10g	
NaCl	5g	(1 litter)

LB培地（大腸菌の本培養）（1 litter の三角フラスコ 4 本に250mlずつ分注）

Bacto-Tryptone	10g	
Yeast Extract	5g	
NaCl	5g	(1 litter)

8P plate（線虫培養プレート）（ENGMで代用可）

NaCl	3.0g	
Peptone	20.0g	
コレステロール溶液	1.0ml	
蒸留水	975.0ml	
Bacto-agar	20g	（オートクレーブ 40min）
1M CaCl ₂	1.0ml	
1M MgSO ₄	1.0ml	
K-phosphate	25.0ml	

大腸菌NA22（コンタミを避ける時にはOP50(Stp^r)を用いる）

滅菌した遠沈管（フタは別途オートクレーブ）4本

滅菌したメスピペット（10ml）10本

滅菌したゴム（メスピペットに装着）2個

M9液体培地（オートクレーブ済みのものを氷冷しておく）

【種線虫の調製】

9cmシャーレに8P plateを作る（20枚程度）

1枚のプレートあたり約10匹の線虫（ヤングアダルト）を植える。（8枚）

孫が成虫になるまで培養を続ける。（約1週間）

【大腸菌の調製】

4本の乾熱試験管に2xYT培地を3mlずつ分注する。

大腸菌NA22を殖菌する。

37°Cで8時間振とう培養する。（前培養）

前培養液4本をを三角フラスコの培地4本に移す。

37°Cで一晩振とう培養する。（機能性化学培養室）

培養液を滅菌した遠沈管に移す。

バランスをとる。

4°C, 5,000回転で15分間遠心する。（微生物工学の遠心機）

上澄み液を捨てる。

【線虫の液体培養】

S培地を滅菌メスピペットで少量とり、大腸菌をよくけん濁する。

けん濁した大腸菌をS培地に戻す。（無菌的に行う）

線虫を培養したプレート4～8枚に氷冷したM9を5mlずつ分注し、線虫をけん濁後、S培地培地に加える。（無菌的に行う）

20°Cで回転培養する。

培養開始後65時間以降、培養液を注意深く観察する。一部サンプリングして検鏡する。

培養開始後70～75時間時間で培養液の濁度が急激に減少する。このときに培養を終了する。