

Title	学生実験用教材としてのショウジョウバエの取り扱い
Sub Title	A manual for educational experiments and maintenance of Drosophila melanogaster
Author	川崎, 陽久(Kawasaki, Haruhisa) 萱嶋, 泰成(Kayashima, Yasunari) 小野, 裕剛(Ono, Hirotake)
Publisher	慶應義塾大学日吉紀要刊行委員会
Publication year	2007
Jtitle	慶應義塾大学日吉紀要. 自然科学 (The Hiyoshi review of the natural science). No.42 (2007. 9) ,p.1- 15
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Departmental Bulletin Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN10079809-20070930-0001

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

学生実験用教材としてのショウジョウバエの取り扱い

川崎陽久・萱嶋泰成・小野裕剛

A manual for educational experiments and maintenance of *Drosophila melanogaster*

Haruhisa KAWASAKI, Yasunari KAYASHIMA, Hirotake ONO

はじめに

慶應義塾大学は1949年の新制大学発足当初から文系四学部（文・経・法・商）の1・2年生に対して実験を重視した自然科学教育を実践してきた。この取り組みは「文系学生への実験を重視した自然科学教育」として「平成17年度文部科学省特色ある教育支援プログラム」に選定され、現在もさらなる実験プログラムのアップデートが試みられている。その一環として、筆者らはショウジョウバエという単一の実験動物を用いて遺伝と遺伝子、そしてタンパク質（酵素）の繋がりを統一感を持って体験するための「ショウジョウバエを用いた統合遺伝学実験プログラム」の開発を行っている。このプログラムは慶應義塾のカリキュラムでは半年分に相当する5回から6回の連続した実験からなるが、一つ一つの課題を取り出して行うこともできるよう設計を行っている。なお、実験プログラム自体の詳細は続報として発表予定である。

今回開発中のプログラムを継続して行うには、実験を指導する教員がショウジョウバエ扱う技術を身に着ける必要がある。しかしながら、学生実験を念頭に置いてショウジョウバエの取り扱い方を記したマニュアルは適切なものが見あたらない。そのため本稿ではショウジョウバエ以外の実験生物を専門とする教員でも簡便に学生実験の用意ができるような飼育マニュアルを提供することを目的とした。また、ショウジョウバエの系統維持に係る機関（ストックセンター）への分与依頼についても現段階で最適な方法を併記した。

1. ショウジョウバエの特徴

キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*；以後ショウジョウバエと記す) は T.

* 慶應義塾大学日吉生物学教室（〒223-8521 神奈川県横浜市港北区日吉 4-1-1）：Dept. of Biol., Keio Univ., 4-1-1 Hiyoshi, Kohoku-ku, Yokohama 223-8521 Japan. [Received Apr. 27, 2007]

H. Morgan が眼の白い突然変異を発見して以来、遺伝学の材料として注目されるようになった。その後も様々な突然変異系統が次々と分離され、世代交代が速いことから遺伝学や発生学分野でよく使われる実験動物となった。近年では分子生物学のツールも充実し、2000年にはゲノムプロジェクトも終了したため様々な情報をインターネット経由で得る事ができる。さらに後述のようにストックセンターも充実し、研究のみならず学生実験でも使いやすい環境が整備されたと言える。

(1) 発生

ショウジョウバエは完全変態昆虫であるため、胚（卵）→幼虫（1 齢～3 齢）→蛹→成虫という順で発生する。25℃の飼育環境下では、ほぼ10日という短期間で成虫になるため、遺伝学実験の材料としては好都合である。（図1）

胚：ほかの動物と同様、産卵から孵化までのステージは胚と呼ばれ、約一日である。

胚の期間はさらに分割期、胞胚期、囊胚期などいくつかのステージに分けられている。この間に体節が形成され、神経系・筋肉・消化管などの器官が形成されるので、ホメオティック遺伝子に着目した発生遺伝学の実験に用いるには胚を大量に集める必要がある。

幼虫：ショウジョウバエは幼虫の間に2回脱皮を行う。25℃の飼育環境であれば、産卵後約1～2日の期間が1 齢幼虫、約2～3日が2 齢幼虫、約3～5日が3 齢幼虫となる。3 齢の終わりごろの幼虫は、パイアルの上の方へと這い上がって来る。これはワンダリングと呼ばれる現象で、湿っていないところで蛹化するためである。ワンダリング中の3 齢幼虫は唾腺染色体の観察実験に適している。

蛹：産卵後約5～9日の間に蛹になる。3 齢幼虫は脱皮せずに蛹化するため、蛹には3 齢幼虫の頃の表皮がそのまま残る。これは「囲蛹殻」と呼ばれ、ハエの仲間の蛹の特徴である。飼育中のハエ系統の状態を確認するために蛹の概数を見

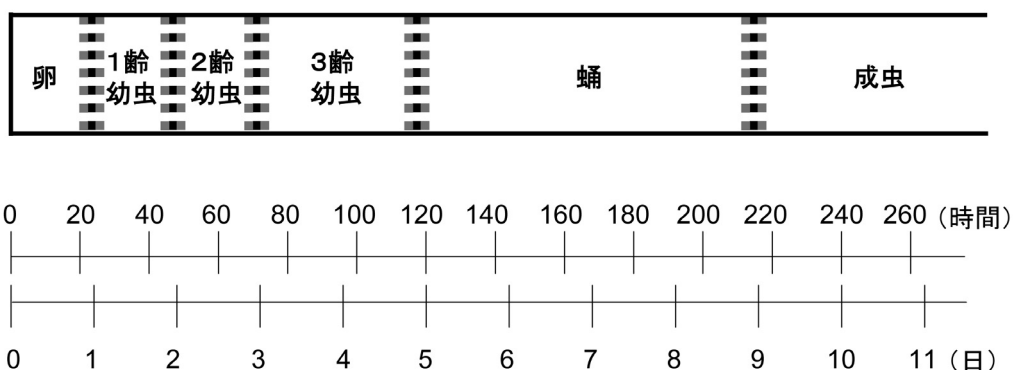


図1 ショウジョウバエのステージ表。幼虫は3回脱皮を繰り返して蛹になる。25℃の飼育環境下では、ほぼ10日で成虫になる。

ることがあるが、羽化後の囲蛹殻を蛹と見間違えないようにする注意が必要である。

成虫：産卵後約9日目に羽化して成虫になる。羽化後8時間くらいは交尾ができないため、系統間で交雑をするときには、この間に雌を集めて隔離し、処女雌として扱うことができる。成虫は良好な環境下では交尾の後間もなく産卵を始め、1～2日でピークに達する。雌1個体あたり50～80個の卵を毎日産む。1週間ほどで徐々に減少し、1ヶ月程度でほとんど産卵が停止する。後半は産卵数も少なく孵化率も低くなるため、羽化後7～10日以内のハエを交配実験に使用するとよい。25℃の飼育環境だと、成虫は2ヶ月程度生きられる。

(2) 雌雄の見分け方

ショウジョウバエを遺伝学実験の材料として交配させる場合、雄と雌を見分ける必要がある(図2)。ハエの雌雄で最も異なる場所は腹部である。背中側から見た場合、雌は尻の先が尖っているのに対して雄の尻の先は丸く、全体的に黒い部分が多くなっている。側面から腹部を見た場合も雌の尻の先は尖り、雄の尻は腹側に向かって丸みを帯びていて、この違いは顕著である。また雄の尻の先端には、丸くて黒い交尾器が見える。処女雌を得るときには蛹か

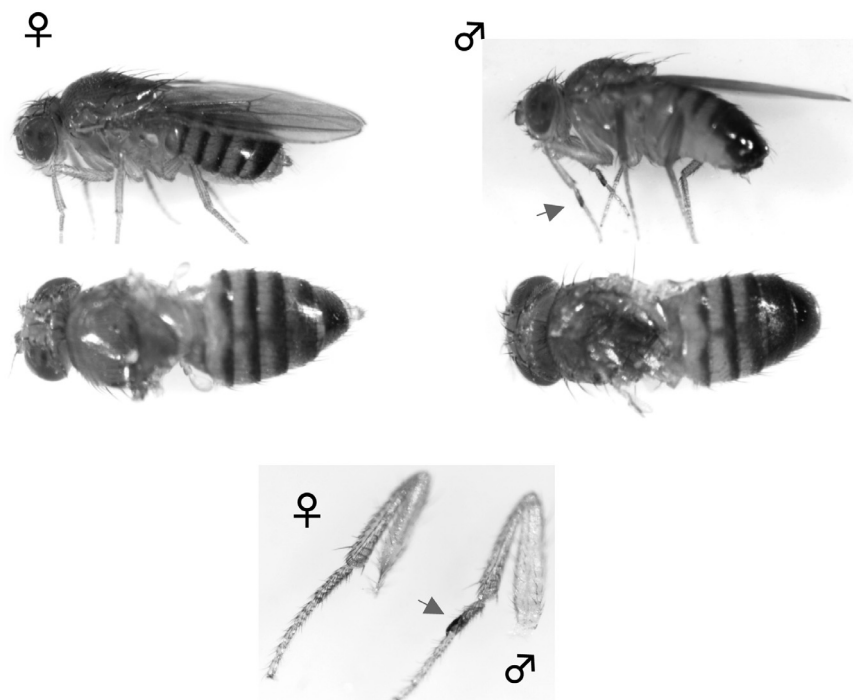


図2 雌雄の見分け方のポイント。左上・中段：雌の側面および背側から見た写真。右上・中断：雄の側面および背面から見た写真。背面からの写真は、腹部の形状を見やすいように羽根と脚を切除してある。下段：雌および雄の前脚。矢印で示しているのは、雄だけに見られる性瘤の位置である。

ら羽化したばかりの成虫を見分ける必要があるが、この時期の成虫は雌雄とも身体が白っぽくて細身である。そのため、尻の形や色を指標に性別を見分けようとすると見間違える場合がある。そのため、雄の前脚にある性瘤と呼ばれる黒い器官を指標とするのが望ましい。性瘤は、羽化直後が一番見やすく、時間と共に身体他の部分にも色素が沈着して行くので、徐々に見分けにくくなる。

(3) 染色体

ショウジョウバエ体細胞の分裂中期を観察すると、4対8本の染色体が見られる。1番染色体(X染色体)は性染色体であり、2～4番は常染色体である。X染色体は末端近くに動原体がある。雌はこのX染色体を2本持ち、雄はX染色体とY染色体を1本ずつ持っている。2番染色体と3番染色体はほぼ等しい長さの腕が動原体の両側にある。4番染色体はこれらに比べると非常に短く、X染色体の8分の1程度の長さしかない。

ショウジョウバエを含む双翅目昆虫では、唾腺細胞内に非常に大きな紐状の唾腺染色体を見いだすことができる。これは、染色体が核分裂をしないで複製だけを10回ほど繰り返して多糸染色体となったものがある。唾腺染色体は、普通の体細胞中期の染色体に比べると100～150倍に及ぶ長さを持っているため、学生実験用の顕微鏡でも充分観察することができる。唾腺染色体で観察できるのはユークロマチン領域だけであり、ヘテロクロマチンはすべて染色体中心に集まっている。

唾腺染色体の横縞模様は「バンド」と呼ばれ、それらの濃淡や太さ、配列の順序は染色体ごとに決まっていて、バンドパターンという。これら特有のパターンに基づいて染色体を区分けして、各バンドにアドレスが付けられている。このアドレスを使うことによって、遺伝子の染色体上における位置を表すことができ、これを細胞学的地図と呼ぶ。それぞれの染色体は、動原体を境にした腕ごとに20分割された区画が決められていて、1番染色体(X)は1～20、2番染色体左腕(2L)は21～40、2番染色体右腕(2R)は41～60、3番染色体左腕(3L)は61

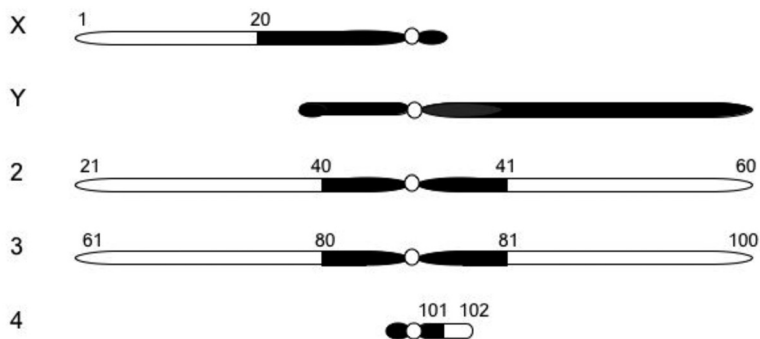


図3 ショウジョウバエ染色体模式図。黒い部分はヘテロクロマチン、白い部分はユークロマチンを表す。それぞれのユークロマチンの両端に書かれた数字は、アドレスを示す。

～80, 3 番染色体右腕 (3R) は81～100, そして 4 番染色体は101～102と区分表記される。数字で表されたそれぞれの区画は, さらに A～F の細区画に分けられる。これらに各細区画のバンドの数を加えて遺伝子のアドレスが決定される。一例として, FlyBase (<http://flybase.bio.indiana.edu/>) で *fushi tarazu* 遺伝子のアドレスを調べると, 「84A6」と表示される。これはつまり 3 番染色体の84区画で, 細区画 A の 6 番目のバンドということを示している (図 3)。

(4) 遺伝子の表記法

ショウジョウバエの遺伝子表記法は基本的にほかの動物と同様である。突然変異体の表現型に由来する名称の頭文字 1 から数文字を利用してイタリック体で示す。この時, 始めに見つかったアリルが劣性なら遺伝子記号は小文字, 優性なら大文字となる (たとえば劣性の *yellow* なら *y*, 優性の *Hairless* ならば *H*) が, 歴史的な経緯からこれに当てはまらないものも多数存在する (*Adh* など)。アリルが異なる場合は遺伝子記号の右肩に上付文字で示すことになる (y^2 あるいは w^a など)。

一個体に複数の突然変異を持つ場合は, 独自のルールに基づいて表記される。同じ染色体上に連鎖して複数の遺伝子変異があるならば, 遺伝子記号の間に空白を入れて表記する。遺伝子はアドレス順に並べて表記する (例: *w m f*)。スラッシュで区切られていなければ原則としてホモ接合体である。野生型やバランス染色体 (後述) とのヘテロ接合体であったり, 相同染色体上に連鎖していない別の突然変異遺伝子が存在する場合は, スラッシュで分けて表記する (例: *w m f/y*)。異なる染色体上の遺伝子は, 染色体番号順にセミコロンで分けて表記する (例: *w m f; dp; ru*)。遺伝子が野生型の場合は, 遺伝子名の右肩に + をつける (例: y^+) が, 一つの染色体上の遺伝子がすべて野生型ならば, 単純に + で表す (例: $y/+$)。慣例として, 変異のある遺伝子や染色体のみを表記し, 野生型ならばわざわざ表記しないが, あえて省略せずに表記するなら, 1 番染色体にのみ突然変異を持つ *w m f* は *w m f / w m f; +/+; +/+; +/+* と示される。同様に, *w m f/y* は *w m f y⁺/w⁺ m⁺ f⁺ y; +/+; +/+; +/+*, となり, 複数の染色体に突然変異を持つ *w m f; dp; ru* は *w m f / w m f; dp/dp; ru/ru; +/+* となる。

(5) バランス染色体

遺伝子の中には, 「劣性致死遺伝子」と呼ばれるものがあり, この遺伝子がホモになった個体は致死となるため, 純系として維持することはできない。そのため, その遺伝子に突然変異の入っていない染色体とヘテロにして維持する必要があるが, 野生型の染色体とヘテロにした場合, 変異遺伝子頻度は世代を重ねるたびに集団から減少していくことになる。このような現象を防ぐためにバランス染色体を利用する。バランス染色体はそれ自身にも劣性致死遺伝子を含み, バランス染色体同士のホモ接合体は致死となる。一方で大規模な逆位が含まれており, 通常の染色体 (維持するべき劣性致死遺伝子を含むもの) と組換えが起こると, その個体も致死となるよう設計されている。このため, バランス染色体と劣性致死遺伝子を持つ染

色体とのヘテロ接合体系統は組換えのないヘテロ接合体のみを再生産することとなる。このような現象を平衡致死と呼ぶ。このようなバランサー染色体は染色体ごとに整備されており、わかりやすい突然変異遺伝子が組みこまれている。1 番染色体用には目の形が棒状になる *B* を持つ *FM1* や *FM7* がよく利用されている。2 番染色体用には翅が丸まる *Cy* 遺伝子を持つ *Cy0* と *SM5* が、3 番染色体用には、翅の端が欠ける *Ser* の入った *TM3* や、胴体が短く寸胴になる *Tb* 遺伝子を含む *TM6B* などがある。

II. ショウジョウバエの飼育法

(1) 飼育条件

一般にショウジョウバエは25℃で飼育され、この温度で生育速度がほぼ最大となる。計画的な系統維持のためには、一定の温度で飼育する必要がある。飼育温度が30℃を超えると不妊になってしまう恐れがあるので、夏場は充分注意するべきである。生育が多少遅くなっても構わないのであれば、20～22℃でもよい。この温度がショウジョウバエにとって最も負担が少ない。普通、ショウジョウバエを使った実験は25℃で行われる。大規模な研究室では常に25℃に保たれた恒温室を用意するが、学生実験用に少数の系統を扱うならば冷却機能のある低温インキュベーターで十分である。また、ショウジョウバエの生育に日長条件は影響せず、休眠もしない。したがって、定温であれば明暗サイクルをコントロールする必要はない。

(2) 飼育容器

通常ショウジョウバエは、バイアル（小瓶）に入れた餌の中で育てる。現在では、安価で軽量のプラスチック製の使い捨てバイアルが使用されている。製品の例として、津元理化のデイスポバイアル（KFC-S）などがある。

数多くのバイアルを管理するためには、バイアルを立てておくラックを購入すると便利である。金属製のものが使いやすいが、安価な紙製の製品も出回っている。製品は Fisher scientific のトレー細型バイアル用（AS-260）などがある。

餌をバイアルに入れた後は蓋をして、ハエの逃亡・混入や乾燥を防ぐ。専用のスポンジ栓が売られている。製品として津元理化のセルキャップ（FFC-S）などがある。

大量にハエを飼育する場合は、大きめのボトルを使用しても良い。製品は Fisher scientific のストックボトル（AS-115）と紙蓋（AS-119もしくはAS-119B）などがある。こちらの蓋は紙製かスポンジ製のものを使う。ボトルの大きさに応じて餌の量を増やすこと。また、厚手の濾紙をアコーディオン状に折りたたんで入れておくと、ハエの休憩場所になると同時にボトル内の湿気を吸い取ってくれるので好都合である。

(3) 餌

ショウジョウバエの主な食物はイーストである。通常の実験に使用するショウジョウバエは、

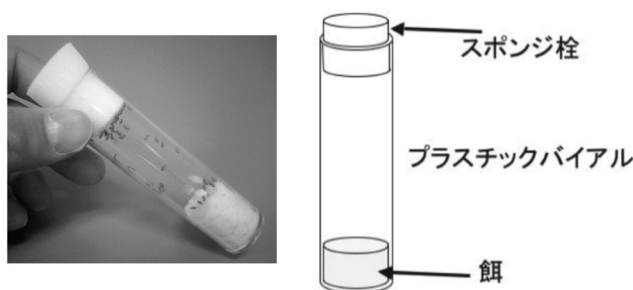


図4 ハエの培地が入ったバイアル。培地にはハエの餌となる酵母が含まれている。

バイアルにイーストや砂糖を含んだものを寒天で固めた餌を入れて飼育する。どんな餌でも、厚さは底から2～3センチくらいにしておく使いやすい(図4)。餌の作製中は、清潔を心がけ、外部からハエやダニが侵入しないよう充分注意する。

学生実験レベルの小規模な系統維持では、インスタントの餌を利用すると便利である(例：ホームユラ4-24プレインショウジョウバエ培地〔和光純薬〕)。使用に当たっては、料理用の小さじと漏斗を使ってバイアルに5ml分のパン粉状インスタント餌を入れ、そこに乾燥酵母(例：オリエンタレイースト〔オリエンタル酵母株式会社〕)を少量(およそ耳かき1～2杯分くらい)入れてフタをしたものを大量に作って、常温保存しておく。ハエを投入する直前にスポイトで餌と等量の(5ml)の滅菌水を入れれば1～2分で膨張して使用可能となる。加える水の量は季節や部屋の湿度に応じて調整する必要がある。固めに調整したほうが成虫にとっては都合だが、幼虫の育成のためには軟らかめに作るほうが良い。この餌は非常に手軽な反面、バイアルごとに栄養や含水量など生育環境に差が出やすくなるので注意を要する。

(4) 系統の維持について

ショウジョウバエ系統は、休眠させたり冷凍して保存することはできない。そのため、常に餌を取り替えながら系統を維持する必要がある。通常のバイアルで飼育している場合、羽化後2～3日の成虫を雌雄ほぼ同数で10～20個体ほど新しいバイアルに移すことで継代する。2～3日後には培地中で幼虫が動き回るのを確認することができる。継代は2～3週間の間隔で行う。

(5) 系統間交雑実験

ショウジョウバエは有性生殖を行う生物なので、遺伝実験の際には異なる系統の雄と雌を交配させる必要がある。雄と雌をそれぞれ2～3個体ずつ同じバイアルに入れておけばよいが、雌は未交尾の個体(処女雌)を用意する必要がある。25℃の飼育環境下で、ショウジョウバエは羽化後8時間に渡り交尾できないため、この期間に雄から隔離された雌ならば未交尾である。具体的には羽化直前の蛹(産卵後約8日)がいるバイアルを用意し、この中にいる成虫を一匹

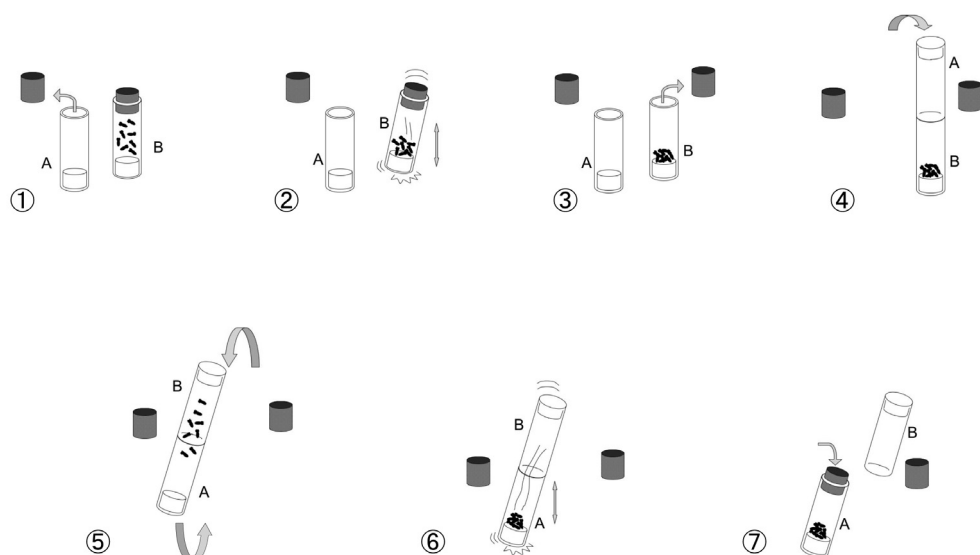


図5 ハエを移す手順。①空のバイアルAの蓋を外しておく。②ハエの入っているバイアルBを数回軽く机上で叩く。③ハエが下に落ちたら素早くバイアルBの蓋を外し、④ハエの入っていないバイアルAを逆さにして、両バイアルの口を正確に合わせる。⑤そのまま2つのバイアルを一緒にひっくり返し、⑥離さないよう注意しながら机上で叩いてハエを落とす。⑦ハエがバイアルBからバイアルAに移ったら、逃げられないよう素早く蓋をする。

も残さずに全て捨てる。それから8時間以内に羽化してきた成虫を雄と雌に分けて、それぞれを別のバイアルに移し、必要に応じて他系統と交配する。

(6) 成虫をバイアル間で移動させる

継代時など、バイアルから他のバイアルへハエを移すには、以下の手順で簡便に行えるが、手早く行うためには少々練習が必要である(図5)。①まずはハエの入っていないバイアルAの蓋を外しておく。②次にハエの入っているバイアルBを数回軽く机上で叩く。③ハエが下に落ちたら素早くバイアルBの蓋を外し、④ハエの入っていないバイアルAを逆さにして、両バイアルの口を正確に合わせる。⑤そのまま2つのバイアルを一緒にひっくり返し、⑥離さないよう注意しながら机上で叩いてハエを落とす。⑦ハエがバイアルBからバイアルAに移ったら、逃げられないよう素早く蓋をする。逃げられないことも大事だが、逃げたハエが意図しないバイアルに混入することにより注意するべきである。また、②や⑥の操作時に強く叩きすぎてはいけない。あまり強すぎると、ハエが餌の中に沈んで死んだり、逆さにしたバイアル中の古い餌が新しいバイアル内に落下することがある。バイアルを叩く際は、騒音や損傷防止のために、机の上にゴムのマットなどを敷いておくとよい。市販のマウスパッドや印鑑マットなどが便利である。

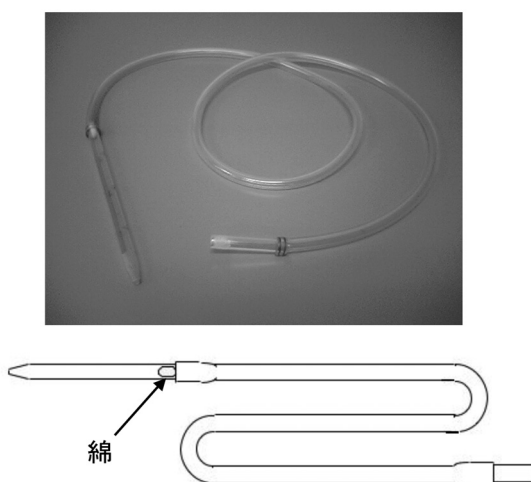


図6 吸虫管の構造。切り離したピペットをシリコンチューブで繋ぐ。使い捨てピペットの吸い口には綿が入っているので、それを流用するとよい。

(7) 吸虫管を用いたハンドリング

個体レベルでのハンドリングには、吸虫管を用意しておくとう便利である（図6）。これはストローを吸う要領でハエを吸い込む道具で、狙ったハエを麻酔せずに1匹ずつ移すことができる。吸虫管は、使い捨てのプラスチック製ピペットとシリコンチューブまたはゴムチューブを用いて自作する。シリコンチューブは直径1センチほど、長さ1メートルくらいにすると使いやすい。まず、ピペットの先端から約15センチの所と、反対側から4センチのところで3分割し、先端部をハエのハンドリングに、反対側をマウスピースとして用いる。先端部はハエの取り扱いには径が小さいので、直径4ミリくらいになるように調整する。また、先端部の切断面には脱脂綿を詰めて、吸い口側にハエが入ってくることを防ぐ。これら二つのパーツをシリコンチューブで繋ぐとできあがりである。使用に当たっては、手を離しても落ちないようにシリコンチューブを首の後ろに掛けて、吸い口をくわえる。先端側（長い方）を利き手で持って、ハエを吸い込み、移動先で息を吐きながら、指でタップしてハエを落とす。ピペットの先端が15センチ程あれば、バイアルの底までは十分に届く。上達すれば、スポンジの隙間から先端を差し込んで特定の個体を吸い取る事もできる。なお、吸虫管を長年使っていると、稀にハエアレルギーになることがあるので注意が必要である。

(8) 麻酔のかけ方

実体顕微鏡を用いて観察したり、交配用に雄と雌を分けるときは、ショウジョウバエの動きを止めなくてはならない。ハエに麻酔をかける方法には専用の麻酔瓶を利用する方法と洗浄瓶で作った簡易麻酔薬瓶からガスをバイアル内に注入する方法がある。

麻酔瓶はガラス製のものが使い勝手が良く今なお主流だが、高価で入手困難である。現在は

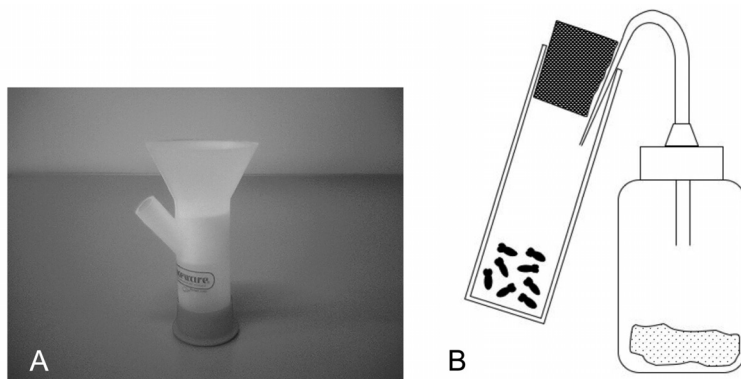


図7 ショウジョウバエ用麻醉瓶。A：プラスチック製麻醉瓶（サンプラテック）。麻醉薬を染み込ませてからハエを入れる。B：洗浄瓶で作った簡易麻醉薬瓶。中に入れた綿に、ジエチルエーテルかトリエチルアミンを染み込ませて使う。



図8 麻醉したショウジョウバエ。上・麻醉をかけすぎたハエ。翅が垂直に閉じている。蘇生はほぼ不可能。下・適正な麻醉をかけたハエ。数分後に蘇生する。

安価なプラスチック製のものが出回っているのでこれを用いる。製品としては、サンプラテックのショウジョウバエ麻醉ロート（DR-1）などがある。専用口から麻醉薬を数滴染み込ませてからハエを入れる構造になっている（図7A）。ハエを入れる際はバイアル間の移動と同じ要領で行い、動きが止まったことを確認してからキャップを開けてハエを取り出す。

ポリエチレン製の洗浄瓶の内側の管を切り、瓶の中に綿を入れれば、簡易麻醉薬瓶として使用できる（図7B）。綿に麻醉薬を染み込ませ、管の先端をスポンジ栓の脇からバイアルに差し込み、気化した麻醉薬を流し込めばバイアル内で麻醉できる。

ショウジョウバエに用いられる麻醉薬にはいくつかあるが、ジエチルエーテルを用いるのが一般的である。上記の専用麻醉瓶を用いればほんの数十秒で麻醉をかけることができ、その効果は10分程度持続する。ただし、ジエチルエーテルによる麻醉はかけすぎるとハエが死んでしまうので注意が必要である（図8）。特に交配などに使用する場合は、蘇生させなくてはならないため、あまり長い間かけないようにする。麻醉をかけ終わった後、翅が背中側で帆を立てたような閉じ方をしているならば、かけ過ぎ（図8上）で蘇生しない。また、ジエチルエーテルはヒトを含めた哺乳類に対しても作用するため、十分な換気が必要である。

トリエチルアミンは強い臭気があり、麻醉がかかるまで時間はかかるが、麻醉効果はジエチルエーテルに比べて長時間持続する（30～60分）。専用麻醉瓶よりも洗浄瓶を利用した簡易麻醉薬瓶を利用する方が向いている。

薬品を用いない方法もいくつかある。氷麻醉は手軽でしかもショウジョウバエに影響が少ないと言われる。バイアルごと水中にしばらく置くと、低温でハエが動けなくなる。ただし、湿度が高い状況下ではバイアル内部の結露によって、ハエの翅などが濡れてしまう欠点がある。

炭酸ガスでハエに麻醉をかける方法もある。炭酸ガスを浴びせている間は動かないが、ガスを止めると30秒ほどで動き始める。ハエに与える影響が少ない優れた方法だが、ガスボンベや専用の麻醉台など特殊な装置を必要とするので学生実験に導入することは困難である。

麻醉をかけたハエは、表面がなめらかで白いタイルの上に載せ、竹ヒゴや筆で払げれば静電気の影響を受けず、円滑に観察したり分類することができる。筆は平筆で、毛先が折れていたり丸まったりしていないものが使いやすい。

（9）不要なハエと飼育バイアルの廃棄

不要な成虫を捨てる容器も用意しておく（図9）。容量500mlのプラスチック瓶にポリエチ

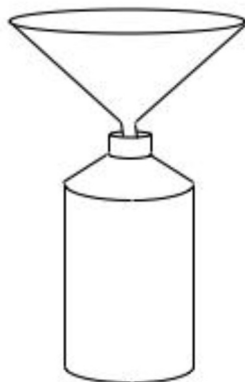


図9 ハエ捨て瓶の例。中に30～50%のアルコールと少量の台所用洗剤を入れておく。

レン製漏斗を挿した物が使い勝手が良い。瓶の中には30～50%のアルコールに、少量の台所用洗剤を加えたものを入れておく。不要な成虫はバイアルを逆さにして、漏斗内へたたき落とせば殺処分できる。

使用を開始して一ヶ月以上経過した餌は、乾燥したり腐敗したりする。また、ダニの発生源にもなりやすいので、ハエを移した後の不要な餌は早めに捨てるべきである。残存する幼虫が羽化しないよう、蓋をしたバイアルごとオートクレーブや電子レンジなどで加熱してから捨てるのが一般的だが、臭気が気になる場合は冷凍庫で凍らせてから捨ててもよい。スポンジ栓は回収して洗浄・滅菌すれば再利用できる。

(10) ダニとカビの防除

ショウジョウバエを飼育する際に障害となるのがダニの混入である。ハエに直接害を及ぼす種が発生することは稀だが、ショウジョウバエよりも増殖が速いので、短期間でバイアル内を占拠し、ハエが産卵できなくなるような弊害が起こる。疑わしいバイアルは実体顕微鏡で調べ、ダニが見つかったら、そのバイアルは他の系統に感染する前に捨てる。また、使い終わった餌を長期間放置しておくでダニが発生しやすくなるので、古い餌の入ったバイアルは早めに処分するよう心がける。最もダニが発生しやすいのはインキュベーター内の棚板であるため、普段から防ダニシートを敷き、こまめにアルコールで拭き掃除をするよう心がける。

餌にカビが生えると、ハエが非常に育ちにくくなるばかりか、ハエの足先を通じてカビが伝わるため、次世代の餌にもカビが生えてしまう。重要な系統であれば餌に抗生物質を混ぜてカビの発生を抑える、卵をアルコールで洗浄して新たなバイアルへ移植することで対応できる。

Ⅲ. 入手方法

実験に用いるショウジョウバエは、国内外のストックセンターなどから入手することができる。Web site から申し込みができるが、詳細に関しては随時変更があるので、手続き方法等を問い合わせていただきたい。

ストックセンターからのハエの配布は、営利のために行われるわけではない。手数料と送料を要求される事もあるが、同じ系統を何度も請求するのは慎むべきである。また、増殖させるのに必要最低限の個体が送られてくるので、これを繁殖させて使用することになる。また、多くのストックセンターは研究用として配布しているため、教育目的で使用する場合、業者などから購入するほうが望ましい場合もある。もちろん、自分たちで増やしたハエを教育のために使用する事については問題ない。

ストックセンターには、P エlementなどで作られた遺伝子導入系統も多数維持されている。実験室におけるバイオセーフティーレベルやバイオハザード防止の観点から、教材としての使用には適さない。

(1) 国内のストックセンター

首都大学東京 (<http://dept.biol.metro-u.ac.jp/fly/www/bunjo.html>)

国立遺伝学研究所 (<http://www.shigen.nig.ac.jp/fly/nigfly/>)

京都工芸繊維大学 (<http://www.dgrc.kit.ac.jp/>)

愛媛大学 (<http://kyotofly.kit.jp/cgi-bin/ehime/index.cgi>)

杏林大学 (<http://kyotofly.kit.jp/cgi-bin/kyorin/index.cgi>)

(2) 国外のストックセンター

Bloomington center

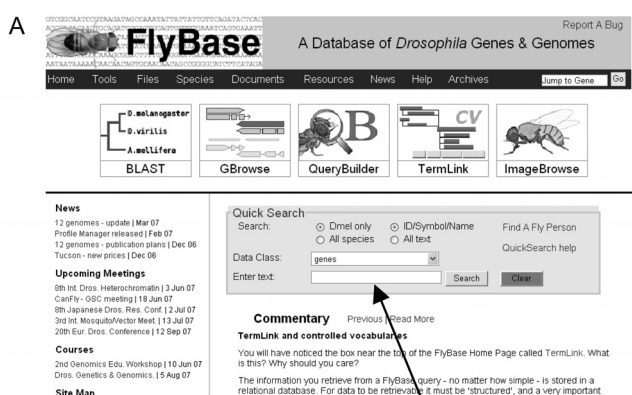
(<http://flystocks.bio.indiana.edu/Distribution/Order/searchbun.html>)

Tucson species center (<http://stockcenter.arl.arizona.edu/>)

(3) 系統取り寄せの流れ

始めに、取り寄せたい系統についての情報を FlyBase (<http://flybase.net/>) で調べる (図10A)。ここでは *Alcohol dehydrogenase (Adh)* 遺伝子を例とした。Enter text 欄に「Adh」と入力して Search をクリックする。*Adh* は2行目に出て来たので、このリンクをたどると (図10B) *Adh* 遺伝子の情報が得られる (図10C)。下に並んでいるそれぞれのリンクをたどれば、さらに詳細な情報が得られる。例えば転写産物について知りたければ GENE PRODUCTS & EXPRESSION を、*Adh* に関する文献を集めたければ REFERENCES をクリックする。ここでは系統を取り寄せたいので、STOCKS & REAGENTS の STOCKS AVAILABLE をクリックする。これらの中から、必要な系統を選んで注文する。

ハエが到着したら、すぐインキュベーターに入れる事は避け、飼育室以外の部屋に2～3日



ここに「Adh」と入力する

図10A ショウジョウバエ情報検索サイトの利用例。FlyBase (<http://flybase.net/>) のサイトはこのような形式で表示される。調べたい遺伝子の名称 (略称でよい) を「Enter text」欄に入力する。

B

FlyBase Genes Report A Bug

Home Tools Files Species Documents Resources News Help Archives Jump to Gene 00

No. matches = 7 Show me all related Genes Export hits to download tool

#	Symbol	Name	Annotation ID	Cytology	Alleles	Stocks	cDNA/EST
1	Adf1	Adf transcription factor 1	CG15845	42C3-42C3	43	8	18
2	Adh	Alcohol dehydrogenase	CG3481	35B3-35B3	583	164	20
3	Adh ^r	Adh-related	CG3484	35B3-35B3	2	-	20
4	Aef1	Adult enhancer factor 1	CG5683	78D2-78D2	9	3	49
5	Inr-A	inverse-regulator-Adh	-	-	-	-	-
6	r(Adh)	regulator of ADH	-	-	1	-	-
7	Trl	Trithorax-like	CG33261	70F4-70F4	43	11	105

Export hits to download tool

Adhは2行目に出て来た

図10B *Adh* 遺伝子を検索した結果は、このような形式で表示される。ここでは、*Adh* 遺伝子は2行目に出て来た。

C

FlyBase Gene DmelAdh Report A Bug

Home Tools Files Species Documents Resources News Help Archives Jump to Gene 00

Profile Manager Help Open All Close All

GENERAL INFORMATION	
Symbol	DmelAdh
Name	Alcohol dehydrogenase
Feature type	protein_coding_gene
Created / Updated	2005-09-09/2005-09-09
Species	<i>D. melanogaster</i>
FlyBase ID	FBgn0000055
GENOMIC LOCATION	
Chromosome (arm)	2L
Cytogenetic map	35B3-35B3
Recombination map	2-50.1
Sequence location	2L 14,615,555 14,618,902 (+)

Map (GBrowse)

2L 146kb

Adh

Adh

Decorated FastA Get genome region

Translations Get FastA

DETAILED MAPPING DATA
GENE MODEL & FEATURES
GENE PRODUCTS & EXPRESSION
ALLELES & PHENOTYPES

図10C *Adh* 遺伝子の詳細な情報は、このページからリンクをたどる事によって得られる。Web 画像は、FlyBase より許可を得て使用。

隔離しておく。これは、ハエがダニに汚染されていないかチェックするためである。もしもダニが混入していた場合、バイアルの内側に白い粉が広がった状態になる。実体顕微鏡で見るとはっきり分かるが、この粉状の物体がダニである。

最後に

本稿ではショウジョウバエを学生実験で取り扱うにあたり、最低限必要な情報を記した。これで充分というわけではないが、研究活動にショウジョウバエを使用しない教員でも学生実験を運営するにあたって知っておくべき事は、一通り紹介したつもりである。ショウジョウバエ系統の取り寄せ方は実際のサイト画像を交えて紹介したが、サイトのデザインや手続きの細則等は、これから変更される可能性もあるので臨機応変に対応されたい。

謝辞

本マニュアルの作成は、文部科学省特色 GP プログラム「文系学生への実験を重視した自然科学教育」ならびに慶應義塾大学部門内調整費の支援によって行われた。

参考文献

- (1) 森脇大五郎 編 (1979) 『ショウジョウバエの遺伝実習 分類・形態・基礎的実験法』, 培風館。
- (2) 森脇大五郎 (1988) 『遺伝学ノート ショウジョウバエと私』, 学会出版センター。
- (3) 堀田凱樹, 岡田益吉編 (1989) 『ショウジョウバエの発生遺伝学』, 丸善株式会社。
- (4) 西田育巧編 (1996) 『昆虫 [超能力の秘密]』, 共立出版。
- (5) Roberts, D. B. (1998) *Drosophila* (Second edition), Oxford science publications.
- (6) Lawrence, P. A. (1992) *The making of a fly*, Blackwell science.
- (7) Ashburner, M., Golic, K. G. & Hawley, R. S. (2005) *Drosophila* A laboratory handbook (second edition), Cold spring harbor laboratory press.