



NGMプレート（線虫飼育培地）作製

【 Author 】 坂口 愛沙、佐藤 健
(群馬大学生体調節研究所細胞構造分野)
【 Homepage 】 traffic.dept.med.gunma-u.ac.jp/index.html
【 Published 】 2014-06-19
【 Last Update 】 2014-06-19
【 Keywords 】 線虫、プレート

概要・原理

線虫C. elegansの飼育のためのプレートを作製する。

装置・器具・試薬

NGMプレート作製準備（1枚分）：

NaCl, agar, peptone, cholesterol (ethanol で 5mg/ml にしておく), 蒸留水 1M potassium phosphate pH6, 1M MgSO₄, 1M CaCl₂

大腸菌OP50 culture (2xYTやLB培地で増やしたculture)

オートクレーブ

60mm dish

三角フラスコ

スターラー, スターラーバー

詳細

1. 三角フラスコにスターラーバーとNaCl 3g, agar 17g, peptone 2.5g, 5mg/ml cholesterol 1mLを入れ, 蒸留水で975mLにメスアップし, オートクレーブする。
2. 1M potassium phosphate pH6, 1M MgSO₄, 1M CaCl₂を別々に作製し, それぞれオートクレーブしておく。
3. オートクレーブ後の1をスターラーで攪拌しながら60~70 くらいになるまで冷まし, 2の1M potassium phosphate pH6 25mL, 1M MgSO₄ 1mL, 1M CaCl₂ 1mL を加える。
4. 60mmディッシュに10~11mLずつ分注し1~2日間ほど乾かす。(実験内容に応じて35mm, 100mm, 150mmディッシュに分注する。)
5. 4の乾いたプレートにOP50 cultureを塗布し1~2日間ほど乾かす。室温で1週間ほど, コールドルームで数カ月間保存可能。

工夫とコツ

プレートは大腸菌を塗布する前に十分に乾かす。

餌(大腸菌)がプレートの端にあると線虫がプレートの壁をのぼって乾いて死んでしまうので、大腸菌を塗布する際は端に広がらないように気をつける。



参考文献