自動線虫培養システムの開発

谷川直樹[1]、久保田幸治[1]、山崎丘[2]、東端晃[2]、永瀬睦[1]
[1]千代田アドバンスト・ソリューションズ株式会社
[2]（独）宇宙航空研究開発機構（JAXA）

Development of Automatic Nematode Culture System

Naoki Tanigawa[1], Koji Kubota[1], Takashi Yamazaki[2], Akira Higashibata[2], Mutsumu Nagase[1]
[1]Chiyoda Advanced Solutions Corporation, 1-25, Shin-Urashima-cho 1-chome, Kanagawa-ku, Yokohama, 221-0031
[2]Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA), 2-1-1, Sengen, Tukuba, Ibaraki, 305-8505

Abstract: Small Payload Space Experiment Working Group was organized by Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) to propose the small and attractive flight experiments. As a part of the activity of this working group, the development of small payload in which the nematode is cultivated automatically was proposed in 2006. JAXA and we jointly made a ground prototype of automatic nematode culture system based on the proposition. In this system, the nematode eggs are retrieved every 4 days while the nematodes are continuously cultivated.

1. 要旨

（独）宇宙航空研究開発機構（以下 JAXA）生物科学系スモールペイロード宇宙実験研究班 WG において、全自動で線虫を培養できる小型自動培養システムの開発提案が行われた。この提案に基づき、我々は全自動線虫培養システムの地上用試作システムを製作した。本システムは線虫を連続的に培養しながら 4 日毎に卵を回収する機能を持つ。

2. 緒言

これまでの生物学系宇宙実験はごく単純なシステムであるか、またはサイズが大きく複雑なシステムを用いて行われる実験が多かった。この状況を鑑み、JAXA は平成 17 年度にスモールペイロード宇宙実験研究班を立ち上げ、科学的意義が高く、高機能であるにも関わらず、比較的小型で汎用性のある生物系実験装置の開発を目標に掲げた。その開発計画の一環として、線虫の自動培養システムが提案された。線虫の成虫は体長約 1mm で、わずか約 1000 個の細胞から構成されるにも関わらず、筋肉系、神経系、生殖系、消化系の各組織を持つため、モデル生物として広く使われている。また、約 4 日の培養で生殖可能であり、培養が比較的容易であることなど、宇宙実験生物としての利点が数多く存在する。

これまで線虫を用いた宇宙実験では合成培地を用いた実験系が主体であったが、合成培地を用いて培養すると通常よりも線虫の成長速度が遅くなり、時間の経過に伴いいくつかの世代が混在するようになり、発育ステージもばらばらになってしまうなどの問題点があった。そこで、我々は線虫の餌として地上で一般的に用いられている大腸菌を与えることによって成長速度の遅延という問題を解決し、さらに、成虫から卵だけを自動回収し、同調培養することで各世代および各発育ステージが混在するという問題を解決しようと試みた。

3. 材料と方法

NGM 液体培地を用いて大腸菌（OP50）と線虫（N2）の共培養を 100mm ディッシュにて行った。また、20℃で 3

This document is provided by JAXA.

～4 日間静置培養し、継代操作を繰り返すことにより線虫を維持した。手操作による卵回収は、線虫懸濁液を1.5M NaOH および 12% NaClO で 5 分処理後、M9 バッファーで 3 回洗浄して回収した。自動線虫培養システムを用いた卵回収では、線虫懸濁液中に 50%エタノールを添加して線虫を死滅させ、成虫捕獲フィルターおよび卵回収フィルターを通過させ、卵回収フィルターにトラップされた卵を回収した。

4. 線虫自動培養システムの開発

宇宙用実験装置の試作型として、我々は地上用線虫自動培養システムを開発した（Fig. 1）。

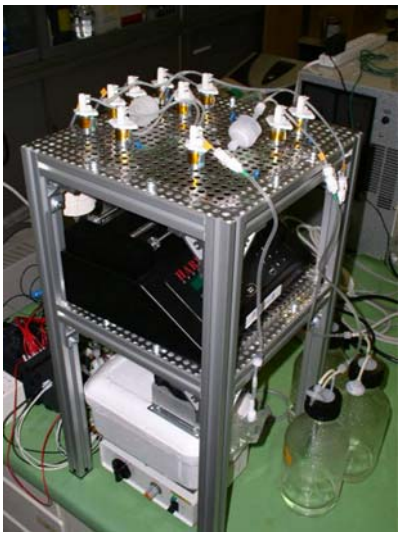

Fig. 1 Automatic Nematode Culture System

このシステムはピンチバルブ×10、シリンジポンプ、小型インキュベーター、攪拌装置、フィルター×2、試薬バッグ、線虫培養バッグ、大腸菌培養バッグ、廃液ボトル、培地ボトル、緩衝液ボトルから構成される。機構部は全て制御部の PLC（Programmable Logic Controller）により一元制御され、全自動で卵の回収と線虫の継代が行われる。

線虫の培養にはガス透過性フィルムで覆われた密閉型の線虫培養容器が用いられる（Fig. 2）

線虫培養容器は完全密閉型であり、容器上面と底面はガス透過性フィルムで覆われている。培養容器の培養面積 53cm^2、培養容量 26mL で成虫約 4 万匹が培養できる。

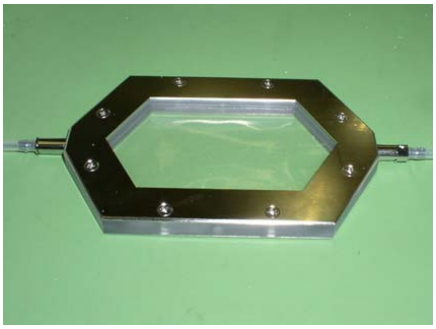

Fig. 2 Closed Nematode Culture Cassette

線虫培養容器は小型インキュベーター内に収納され、常時 20℃で線虫が培養され、4 日毎に卵が回収される。卵回収時には、培養容器に 50%エタノール溶液を添加することにより成虫および幼虫を死滅させ、その懸濁液が成虫捕獲フィルターおよび卵回収フィルターを通過し、緩衝液で洗浄された後、逆方向から緩衝液が流されて卵だけが回収される。幼虫は卵よりも直径が小さいため、卵回収フィルターを通り抜け、廃液ボトルに回収される。回収された卵の一部は線虫培養容器に戻され、新しい培地と大腸菌が添加され、同調培養が行われ、その 4 日後に再度卵が回収される。

上記方法により、線虫を連続的に継代培養しながら 4 日毎の卵の回収を可能にしている。

5. 今後の課題

本装置を用いた卵回収率は手操作と比較してまだ低く、運転条件を変更するなど各種の見直しが必要である。さらに、本装置へのタッチパネルの追加により操作性向上を図る、制御部を制御 BOX 内に収納して配線を整理するなど、よりユーザーフレンドリーなシステムとしてとして改良する余地が残る。また、宇宙用の実験装置として、さらなる小型化を目指す予定である。

謝辞

本システムを開発するにあたり、ご指導とご高配を賜りました JAXA 生物科学系スモールペイロード宇宙実験研究班ワーキンググループの皆様に厚く御礼申し上げます。

This document is provided by JAXA.