

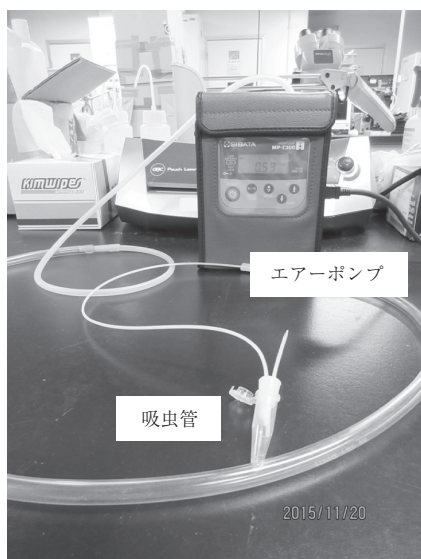


図-2 吸虫管とエアーポンプの組合せ

や途中の屈曲部位にハダニの吐糸が張り付いて管が詰まりやすく、しばしば紙縫りを作って掃除しながらの作業であった。しかし、テフロンチューブの場合はそのような問題はないようで、これまでのところ掃除を必要とする詰りは経験していない。また、ガラス管にハダニを集めた場合は、後にハダニを取り出す際に、ハダニをガラスから簡単に外すことができずに大変な思いをしていた。この点については吸虫管を小型化して 1.5 ml のサンプルチューブを使うことで相当程度改善された。

II ハダニの収集に適した吸虫管の調整

ハダニを集める場合、ハダニがよく増殖したリーフディスクから顕微鏡で観察しながら集めるのが効率的である（図-3）。このとき例えば雌成虫を集めようとする、他の发育ステージの個体や卵、脱皮殻や糞、吐糸等様々な供雑物がリーフディスク上に存在するため、これらの混入を避けたい。そこで、筆者は吸い口のテフロンチューブをライターで少し炙って柔らかくなったところを引き延ばして、適当なところでカットすることにより吸い口を細くし、先端の内径がハダニの雌成虫がちょうど通る程度（0.5 mm 前後）になるように調整して使用している（図-4）。

この状態にした吸虫管を使って、0.6 l/分程度の流速で使用するにより、増殖したリーフディスクから雌成虫や様々な发育ステージを個別に吸い取ることができる。ハダニを集めて DNA や RNA を抽出しようとする場合にはカビなどのコンタミも大変気になるところであ



図-3 吸虫管によるハダニ収集風景

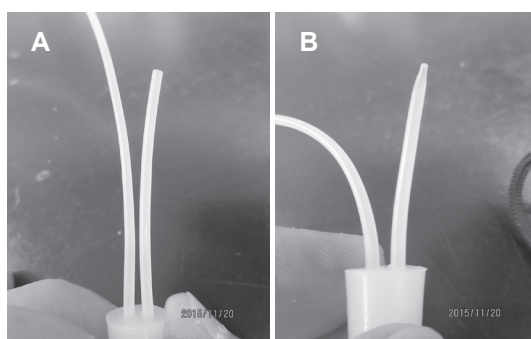


図-4 吸虫管先端部の加工

A：加工前，B：加工後。

る。吸い口が太過ぎる場合にはダニを吸い取るためにより高い流速が必要となる。しかし、流速を高くすることにより、周辺の個体や供雑物を一緒に取り込む危険性も高まる。よりよいサンプルの確保のためには流速を必要最小限にして供雑物の混入を防ぐとともに、ハダニ自身を傷つけないことが肝心である。このため、吸い口の内径はハダニ用吸虫管の重要なポイントになる。体のごく近くに吸いこみ口を近づけたときにはじめて雌成虫が吸いこまれるくらいが適当と思われる。ただし、ガラス管を使って吸虫管を作成した場合、吐糸が管の途中で付着しやすいため、流速を高め設定する必要があるかも知れない。

III ハダニの収集と処理

図-3 のようにしてハダニを集める場合、雌成虫 100 個体程度であれば、通常、ほぼ 5 分以内に収集作業を終えることができる。また、サンプルチューブを使用しているので、吸虫管を外してサンプルチューブの蓋をするだけで、ハダニを簡単に維持することができる。しかし、サンプルチューブをそのまま置いておくとハダニが中で

歩き回り、それによって内部に網が張られる。網が形成されると、後で DNA や RNA を抽出する際に、チューブの底に個体を集めるのが大変になる。場合によっては数分に渡って強い振動を与えてハダニをチューブの底に集めることになる。

そこで筆者は、ハダニを収集し終わったサンプルチューブを発泡スチロールの箱に入れた氷に挿しておくようにしている。冷やすことによりハダニの活動が抑制されて網が張られなくなるため、次の処理をする前に簡単にハダニをチューブの底に集めることができる。特に、多数のサンプルを扱う場合にはこのときの効率が馬鹿にならない。ただし、RNA 分析の場合は冷やすことで遺伝子発現が変化する可能性もあり、目的とする研究においてそれが許容されるかどうかについては十分に検討する必要がある。ハダニを冷やしておいた場合、サンプルチューブの側面を指で 1～2 回程度指で軽く弾くなどしてハダニを底に集めている。その後、このサンプルチューブに直接 DNA 抽出用バッファーや RNA 抽出用の

ISOGEN (ニッポンジーン) を加え、ペレットミキサー (トーホー) を使ってホモジナイズして、そのまま核酸抽出操作を行っている。当研究室では、核酸分析に限らず、酵素活性の検出や体内成分の分析等でもこの吸虫管が活躍している。

お わ り に

今回思いがけず小型吸虫管について執筆する機会をいただき、ハダニに関する使用方法を紹介することができた。ラボで利用しているこのような手法のノウハウに関連する情報は、文献上に表れる機会は少ない。その一方で、実験の本質ではないにもかかわらず、わずかな手作業の違いが原因で実験がうまくいかないことはよくある。この吸虫管がどの程度の意味を持つかはわからないが、この記事が多少でも研究の役に立てば幸いである。

引 用 文 献

- 1) MITCHELL, R. (1973): Ecology 54: 1349 ~ 1355.
- 2) OSAKABE, M. and Y. SAKAGAMI (1994): Insect Mol. Biol. 3: 63 ~ 66.

(登録が失効した農薬 12 ページからの続き)

- シクロスルフアムロン・ダイムロン・フェントラザミド粒剤
- 20512: ビッグシュア 1 キロ粒剤 (バイエルクロップサイエンス) 15/12/21
- ダイムロン・フェントラザミド・ベンスルフロンメチル粒剤
- 20514: バイエルイノーバ 1 キロ粒剤 51 (バイエルクロップサイエンス) 15/12/21
- 20515: イノーバ 1 キロ粒剤 51 (デュボン) 15/12/21
- 20516: クミアイイノーバ 1 キロ粒剤 51 (クミアイ化学工業) 15/12/21
- イマゾスルフロン・ダイムロン・フェントラザミド粒剤
- 20517: バイエルドニチ 1 キロ粒剤 (バイエルクロップサイエンス) 15/12/21
- 20519: SDS ドニチ 1 キロ粒剤 (エス・ディー・エス バイオテック) 15/12/21
- フェントラザミド・ベンスルフロンメチル粒剤
- 20521: バイエルイノーバ 1 キロ粒剤 75 (バイエルクロップサイエンス) 15/12/21
- 20522: イノーバ 1 キロ粒剤 75 (デュボン) 15/12/21
- フェントラザミド・ベンスルフロンメチル水和剤
- 20537: バイエルイノーバフロアブル (バイエルクロップサイエンス) 15/12/26
- 20538: イノーバフロアブル (デュボン) 15/12/26
- ダイムロン・フェントラザミド・ベンスルフロンメチル水和剤

- 20541: バイエルイノーバ L フロアブル (バイエルクロップサイエンス) 15/12/26
- 20542: イノーバ L フロアブル (デュボン) 15/12/26
- ピラゾスルフロンエチル・フェントラザミド水和剤
- 20552: ダブルスター顆粒 (日産化学工業) 15/12/26
- 20553: バイエルダブルスター顆粒 (バイエルクロップサイエンス) 15/12/26
- イソウロン・DBN・DCMU 粒剤
- 21127: ワイドウェイ E 粒剤 (保土谷アグロテック) 15/12/3
- 21128: ネコソギエース A 粒剤 (レインボー薬品) 15/12/3
- イソウロン・DBN 粒剤
- 21129: ロニー粒剤 (保土谷アグロテック) 15/12/3
- グリホサートカリウム塩液剤
- 21130: タッチダウン iQ (シンジェンタ ジャパン) 15/12/3
- オキサジクロメホン・クロメブロップ・ピリミノバクメチル・ベンスルフロンメチル剤
- 21151: パットフルエースジャンボ (クミアイ化学工業) 15/12/17

「殺そ剤」

- タリウム粒剤
- 6605: メリーネコタリウム (大丸合成薬品) 15/12/14

「誘引・誘殺・交尾阻害剤」

- チェリトルア剤
- 17152: スカシバコン (信越化学工業) 15/12/22