

## Survival Assay

### 細菌の培養液

ショウジョウバエ成虫（羽化後2-7日くらい）

虫ピン（0番）などの針

培養液は対数増殖期の“活きの良い”状態の細菌の方が良いとされる。

しかし、長期間放置したものでなければ **over night culture** で **saturate** したもので問題ない。

菌によっては薄すぎると効果が見られない場合がある。

逆に濃縮しすぎると、野生型も死ぬ。

通常培養液を遠心し、5~10倍に濃縮したものを使っている。

菌の濃度はポジコン、ネガコンをテストしてみて設定する。

感染処理は麻酔したハエの胸部に、細菌培養液につけた針を突き刺して行う。

背中あるいは側面に刺さりやすい部分がある。

処理後、バイアルにハエを移し麻酔から回復して正常にハエが活動していることを確認する。1-3時間後に観察し感染操作により死亡したハエをカウントし、この数は細菌ではなく針による傷が原因で死んだものとして実験から除外する。処理後のハエは通常 29°C で飼育している。菌によっては 25°C でも効果が見られる。菌と、ハエの間の兼ね合いで、決めている。

毎日、死んだハエの数を数える。正確には感染処理後の時間を記録する。（が、数時間ずれたところで実験に大きな影響は無い）通常 4, 5 日から 1 週間程度数える。

imd 変異体の場合 2 日前後で 80-100% が死ぬ。

バイアルは 30mm の場合ハエ 20 匹を目安に入れている。古くなるなどの理由で餌にトラップされて死ぬ個体が出るのを防ぐために一日おきあるいは毎日バイアルを変える。

通常、雌雄 10 匹ずつを 1 バイアルに入れている。雌雄の差を見たいとき、など別の理由で片方だけで見える場合もある。

### コントロール

系統：ポジコンとネガコンを置く。死ぬはずの imd などと、野生型あるいは Gal4 系統 UAS 系統などの実験に使う親系統。菌が弱すぎればポジコンで効かないし、多量すぎる（濃すぎる）とネガコンでも死んでしまう。毎回使った菌の培養液に問題が無いことをモニターしておく必要がある。

非感染：細菌を付けていない針で刺す。傷をつけたこと自体の影響を見る。imd 変異体でも普通は死なない。針を 70% エタノールで拭いて消毒（滅菌）して使って問題ない。無菌状態で飼っているわけではないので傷口から入る程度の感染で死んでいる可能性もある（そこまで弱いものは知らないが。。。）。