



## <CSEA-EM1. 細胞実験 CG 培養 A & B の手技・手法>



はじめに. □1) 下記「実験の進め方」を確認してください。 □2) 細胞実験では「操作スペース:空域/不可侵領域」が必要です(A4 用紙でスペースを確保してください)。

□3) 各工程の前後には「必要物品:材料」を確認しましょう。 □4) 左下の QR コードは実験操作のイメージです(必要に応じて確認)。 □5) 実施担当者は「6頁」を参照してください(培養の場所や温度管理に配慮してください)。

(左 QR コードは実験サイト/Set 3、 左下 QR コードは実験操作のイメージ、 右 QR コードは実験実施要領)

### 実験の進め方:受講者へ



生きている細胞(生細胞)を扱う細胞培養技術では、細胞に不要なストレスを与えないがポイントです。操作は「素早く・丁寧に・所用時間に配慮して」実施します。 担当者の指示/板書(制限時間など)は重要です(留意してください)。 勘違いは「右習え操作」で生じます・テキスト解説に従い実施しましょう。

実験操作は、指定された工程解説を集中通読、次に重要な「デモ・操作」を見学・確認します。その後は各自が自主的にその操作を進めます。つまり、チェックボックス(□)付きの操作を行う。更にチェック(□)がある時にはそれも進める、の繰り返しで工程(Step)を完了させてください(科学実験の基本的な方法です)。

「自主的・独自に進める」には、戸惑いや不安を感じるとは思いますが、それで少しの勇気も必要です。なお、実験とはとにかく何かを確かめること・貴方は何が知りたい確かめたい?であり、「失敗はないよ」が大前提(全てウェルカム)です。 原理解説や意義付けもない実験だと心細いかもかもしれませんが、ここで言う実験は生物学の基幹的な実験です。「とにかくやってみよう」で十分です。気になることは実験後に確認しましょう。今は、さじ加減なく前向きな気持ちで実技操作を進めてください。

(右図は細胞が入っている「細胞バッグあるいはフィルムバッグ細胞」と呼びます。FHL5 細胞)



\* 下記の解説文で下線付きは「程度や加減が微妙」なので「デモやポイント解説」に従って進めてください。

\* 所要時間:Step1 を別時間に「事前準備」として行った場合、その所要時間は、実験 A が 50 分。実験 B では 100 分(以上)を予定します。実験 B の時間配分や所要時間の考え方は「Set 5」を参照してください。

### <細胞培養「単純 CG 培養実験:Exp. A」のイメージ>

細胞実験キットを用い基本 4 工程(迅速・簡便・確実・省エネ)。いつでも・どこでも・誰でも可能な生物学基幹実験

<p>Step 1. カバーガラス(CG)の準備</p>	<p>Step 2. 細胞液の調製(遠心再浮遊)</p>	<p>Step 3. 細胞液の滴下・培養</p>
<p>Step 4. 固定・染色 固定のイメージは省略</p>	<p>→水洗</p>	<p>水封入/顕微鏡観察</p>

ID	A	B	C	D
濃度 万細胞/ml	50	100	150	200
PPTの横幅	4mm	4.5mm	5mm	6mm

細胞ペレット:染色液 CV で可視化した沈殿細胞。

左図の A は 50 万細胞/ml、 B は 100 万細胞/ml C は 150 万細胞/ml D は 200 万細胞/ml の細胞液を、それぞれ遠心チューブに 1.5ml 分注し、遠心分離、上澄み除去後のペレット(PPT)の写真。

\*実験 A には、80 万細胞/ml で 1.5ml 遠心分離なので、 図の A~B の大きさの細胞ペレットになるはず。\*保管期間中に増殖するとペレットは大きくなる。その時は再浮遊後に適切に希釈し用いる。