

E. 実験材料のリクエスト表(樹脂ネット CG 細胞培養法:Exp1):

細胞実験キット(CG-1)の基本単位は4人分(1グループ/班分)、あるいは4回分(カバーガラス4枚:8培養)と考えてください。下表は「授業実験」を想定したのですが個別の予備実験などにも用います。下線に数値をもれなく記入し、実施目的などのコメント、使用予定の遠心分離機も添え、お知らせください。

*カバーガラス1枚で2培養を行う。 *栄研3号スポイトによる1滴は0.05mlとする。

*授業実験の場合は「予備」数量を2班分と考えていますが、如何でしょう: _____

*試行/予備実験の時は右列の「希望数量」のみを目的に従い算出し提出してください。

実験項目:樹脂ネット CG 培養法による細胞染色標本の作製 実施担当者: _____				
目的: <input type="checkbox"/> 試行: _____、 <input type="checkbox"/> _____ のための予備実験、 <input type="checkbox"/> 授業実験: _____				
実施日:H__年__月__日、実施時間/時間構成: _____				
担当者__人+受講者__人=参加者総数__人。 総数÷4人 = _____ : _____グループ(班)				
#	材料/物品(略号)	必要量/1人	必要数量の算出(総班数+予備1班分)	希望数量
1	カバーガラス (CG)	1枚/1人:2培養	4枚/班 x グループ数__班 = __枚+予備__枚	____枚
2	樹脂ネット	1枚/1人	4枚/班 x グループ数__班 = __枚+予備__枚	____枚
3	輪ゴム	2個/樹脂ネット	8個/班 x グループ数__班 = __個+予備__個	____個
4	スポイト:栄研3号	1パック10入り:下記「スポイトの用途と必要量」を参照。		____pc
5	培養液 (B-Med)	0.6ml/2培養/1人 (6滴/1培養)	2.5ml/班 x グループ数__班 = _____ml+予備_____ml	____ml
		遠心再浮遊用:1.5ml/チューブ x グループ数__班 = _____ml		
6	細胞 (Cell)	0.3ml/2培養/1人 (3滴/1培養)	1.5ml/班 x グループ数__班 = _____ml+予備_____ml	____ml
7	微量遠心チューブ	1個/班	グループ数__班+予備2個 = _____個	____個
8	固定液 (G-Fix)	0.1ml/2培養/1人 (2滴/1培養)	0.5ml/班 x グループ数__班 = _____ml+予備_____ml	____ml
9	染色液 (CV)	0.4ml/2培養/1人 (4滴/1培養)	2ml/班 x グループ数__班 = _____ml+予備_____ml	____ml

*パラフィンブロック(マーキング色鉛筆の代用)など、下記を必要とする時は記入する。

10	パラフィンブロック	1個/班	1個/班 x グループ数__班 = _____個	____個
11	φ10cm シャーレ	1枚/一人	用途:CG培養装置のトレー	____個
12	φ35mm シャーレ		倒立顕微鏡を現有する場合	

*液止めリングのひな形台紙は解説サイトのPDFを利用してください。あるいはリクエスト:____人分。

*遠心機の種類:マイクロ遠心機(約6500rpm)、一般遠心機(約1800rpm)、自作遠心装置__rpm)

<栄研3号スポイトの用途・必要量 …… □必要総数は_____本>

*実施担当者のスポイト必要量 ……□必要数は_____本

- 1)細胞液(Cell)を遠心チューブに分注するスポイト→1本、
- 2)培養液・固定液・染色液を分注するスポイト→各1本で3本、
- 3)培養液・固定液・染色液を各斑に配布するため必要なスポイト(切断スポイト/代用試験管用)
:3本/班 x グループ数__班 = _____本、

*受講者のスポイト必要量 …… □必要数は_____本

(班当たりの必要量は9本)

- 1)遠心分離した細胞の再浮遊用:1本/班 x グループ数__班 = _____本
- 2)培養液(B-Med)の滴下用(2人で1本):2本/班 x グループ数__班 = _____本
- 3)再浮遊した細胞液の滴下用(2人で1本):2本/班 x グループ数__班 = _____本
- 4)固定液(G-Fix)の滴下用(4人/班で1本):1本/班 x グループ数__班 = _____本
- 5)染色液(CV)の滴下用(4人/班で1本):1本/班 x グループ数__班 = _____本

*予備のスポイト必要量 …… □必要数は_____本

:予備は各班当たり2本くらいと考えてください。

追加補足1:栄研3号スポイトの用法について(授業実験を想定して)

- 1)スポイトを立てても倒れない「50ml ガラスビーカー」を試験管スタンドとして使用する。ない場合は「透明使い捨てカップ:おもりを入れて安定化させる」を使用する。
- 2)培養液、固定液、染色液の分注用の容器は、スポイトの1.5ml レベルをハサミで切り取った「代用試験管」を使用すると迅速簡便。
- 3)班当たりの各溶液の必要量は1人分を予備として加え分注、グループ(斑)に配布する。
- 4)溶液を滴下するスポイトは、安全確実・取り違えが生じないように、使用前に名称・ID 略号を記入し使用する。スポイトの使い回しをしない。
- 6)使用器具は使い捨てもあり得るが、廃棄物削減のため、あるいは繰り返し実験のために、再生することも可能である。栄研スポイトの洗浄はとても簡単なので、再利用が可能と思います。
- 7) なお、マイクロ遠心チューブ(2ml 容量)のスタンドが見当たらない時は、コルクボーラーで穴をあけた厚手の発泡スチロールを使用する。

実験方法の補足「遠心分離」について:

*一般的な遠心分離機(15ml バケツ)の場合の条件は「1800rpm x 90 秒」。これについては本編の Web サイト「樹脂ネット CG 細胞培養法」の実験方法「Step2」を参照。

*遠心分離機がない場合は、同様に上記サイトの図 34 を参照し、自作遠心装置を作り、安全確保の上で上記の条件くらいで実施する。