

速読マニュアル・所要時間(時間制限)

<p align="center">実験 A は単純 CG 培養実験 (2サークル/CG)。 実験 B. お絵描き CG 培養実験 (1サークル/CG)</p> <p align="center">(実践の場の実情に基づき「右欄:所用時間」を決めておきましょう)</p> <p align="center">コメント:時間配分には状況に応じたシミュレーションが必要と思います。デモ解説、物品確認などにも配慮。</p>		
工程/Step	操作概要(物品ポイントや必要量については Set 5 を参照)。	予定・メモ
1	カバー ガラス (CG) の準備:	実験 A. SG 上に CG の左右辺をテープ止めの後、PFP で液止め円を2つ描く(雛形を利用)。CG 左上には油性ペンの目印を付す。
		実験 B. MC 処理済み CG (MC/CG) を左記と同様に準備し、液止め円はひとつ。加温溶解 Gel を付けた綿棒で任意の絵文字を描き、乾燥 30 分。 ポイント: 実験 B: Gel は事前に加温溶解し、室温で液状を維持し、1.5ml チューブで 0.5ml 配布(班に1本)。綿棒は半分に切り取る。コツは Gel の余液を除き、ゆっくり強く描く。
2	細胞液 の調製 (遠心 再浮 遊)	共通: 本工程の操作は実施責任者やグループ代表者が担当。 1) 細胞バッグに水平振動を与え分散させ、2) バッグを開封し、3) ピペッティングの後、4) その細胞液(1.5ml)を遠心チューブに加える。5) 遠心分離の後、6) 上澄みを捨て、7) 紙・ろ紙で余液を除き、8) タッピング。9) 新品のスポートで B-Med(1.5ml)を加え、10) 丁寧なピペッティングで細胞を再浮遊させる(単離分散化:重要)。 ポイント: FB 細胞は単離分散後、新品紙コップに分注し、班担当者が遠心チューブに必要量を採取する。培地も同様。分担担当者には指示を与えること。
3	細胞液 の滴 下・培 養	実験 A. 円内に2滴の B-Med を滴下し、調製した細胞液(遠心再浮遊細胞)を1滴の後、28℃程度 5-30 分培養。
		実験 B. 調製した細胞液(遠心再浮遊細胞)を円内に6滴加え、適所に静置し培養 90 分。蓋などで乾燥防止を図る。室温培養(28℃以上では Gel が溶解するから)。 物品ポイント: 実験 A では培養を行う場所を事前に確認する。培養温度も重要。
4	固定・ 染色	実験 A. 培養液を捨て、円内に G-Fix は2滴 3 分。水洗後、CV は2滴 3 分処理、水洗。完成。
		実験 B. 培養液を捨て、G-Fix は2滴 3 分。水洗後、CV は3滴 3 分処理、水洗。完成。 物品ポイント: 清浄な試験管(学校備品)に固定液・染色液(必要量)を分注し配布する。
5	水封入 観察	共通: 水封入法:乾燥スライドガラス中央に水1滴を滴下。CG 細胞面を下にして「滴水」の上に乗せる。ガラス表面の水濡れを紙で吸水除去(CG を押し付けない)。そのまま観察。
	標本化	共通: 60s 速乾性「爪トップコート」厳守。完全乾燥した染色細胞面にトップコートを1滴、スライドガラスを上からのせる。反転し完成。
顕微鏡観察や考察の時は、視野に現れた「実体」について、「構造:要素の配置とその繋がり」の観点から確認し話し合ってください。どのような要素があるか、どのような繋がりがあるか、繋がり(配置)はどのような結果を招いたか?、用いた実験材料や方法を思い出しながら、丁寧に図式化してみてください。なお、実験原理や解説は右の QR コード、を参照です		

担当者向け:実験実施に向けたポイント(注意事項)

- **計画(1)**. 実施実験「①実験 A だけ、②実験 B だけ、③実験 A の後に実験 B を行う、④実験 A/B を同時進行で行う」の別、そのタイムスケジュールに基づき、時間的余裕がある計画を立案する。実験 A の培養時間は 30 分以内であり所要時間 50 分以内で完了するが、実験 B で培養時間 1 時間以上を予定する。
- **計画(2)**. Step 1「カバーガラス(CG)の準備」は「実験前準備」と位置付け、事前に実施し、Step 2 以降(細胞操作や培養)に時間的な余裕を与える。この形式は、受講者多数の場合、特に重要である
- **計画(3)**. 「工程操作」はグループ実験「4人/班」に対応した解説・数量である。他のグループ編成や受講者多数の場合、材料(必要数量など)の事前確認が必要である。細胞実験キットの仕様、実験学習に向けた物品算出法やリクエスト法は「セット V」に示す。
- **準備(1)**. 実験 A の培養温度は迅速化のために重要であり、30℃を目安に CG 培養を行う。例えば、2枚重ねの紙コップや発泡スチロール小箱に 35℃程度のお湯を入れ、その上に厚紙やトレーやプラスチック下敷きを載せ「温度設定の培養台」とする。気温が影響するので事前に表面温度を確認。放射温度計が便利。
- **準備(2)**. Step 2(細胞の遠心再浮遊)は本実験の要であるが、遠心分離機がない場合は、安価な手作り遠心機などで対応することも可能(セット V を参照)。
- **操作(1)**. スポイトで「液」を滴下する時は、スポイトを立て(45 度以上の角度で)滴下する。その時、面に近づけ過ぎないこと(液滴の状態で滴下)。片手を添え安定させゆっくり滴下する(事前練習は有効)。
- **操作(2)**. 次の B. 工程操作(細胞操作)の解説・記述には「程度や加減が不明瞭」なことも含まれている。意識的な操作や配慮が必要なその解説は「下線付き文字」として示した。意識して注意して実施する。
- **操作(3)**. 本実験では「栄研 3 号スポイト」を用い実技操作を進めるが、指定がある場合はスポイトを交換する。あるいは、使用後に残液を紙タオルで吸引、水道水で残液を洗い流し、水切りを徹底し、再使用する。
- **手順(1)**. 実技操作は次項[B]に記述した工程区分(Step 1, 2, 3, 4)に従い行う。各工程(Step)の手技・方法は 1), 2), …順で解説文とした。その解説は複数のチェックボックス(□)付きの操作記述した。
- **手順(2)**. 実際に手技操作を行う場合は、片括弧番号の解説文を集中して通読後、チェックボックス付きの説明操作を行い、その後、次のチェックボックスの操作を行う。集中通読、チェックボックス文字列の操作、(マークキング)、次のチェックボックス操作の繰り返しで行う。各自で適切なマイペースで丁寧に操作する。
- **コメント(1)**. 細胞培養実験では「細胞操作スペース(A4サイズ程度)の確保」が重視されるが、グループ実験ではテーブルの混雑・混乱も生じる。そのため、A4 用紙などを用い各自の操作スペース(不可侵域)を取り決め、共有材料との混乱が生じないように、整理整頓に基づき培養実験を実施する。
- **コメント(2)**. **固定液**と**染色液**を扱う場合は、取り扱い場所や操作法を事前に確認し、混雑することなく適切に行う。スポイト操作で飛沫が生じないように注意する。身体・衣服に付着しないように注意する。
- **実験 A のポイント**:細胞の単離分散(再浮遊の時)、培養温度(28℃)、細胞濃度(低濃度が良い)、丁寧な固定
- **実験 B のポイント**:塗抹ゼラチンの厚塗り厳禁・完全乾燥、培養温度(28℃以下・室温で OK)、細胞濃度(高濃度)、培養時間は長めに。

<重要なポイントを列記してください>

<意味不明な事項を列記してみましょう:事前にメールで質問してください>