

<提案1. 細胞実験キットの基本的な構成品とその必要数量・算出基準：様式 A>

はじめに：細胞実験キットの提供は実践学習の場における教材実験系としての「利便性・実用性・発展性」に関わる実証試験の観点から実施されます。ご協力をお願い申し上げます。

その観点は、迅速簡便に実施可能な新規実験系としての評価はもとより、それ以上に念頭とすべきは利用者側における準備や計画に関わる負担軽減であり、如何にして「最小努力の最大効果」としてシステム化できるかに重点を置き検証することを目的としています。従って、苦情は大歓迎です。

特に、遠隔地における自主研鑽に前向きな若手の方における Web 学習支援と教材実験系の整合性について、その本質的な「迅速・簡便、確実・実効的に加え、省エネ・低コスト」とは何か、つまり、利用者や就学者側における実効性の理解のために実施したいと思っています。そのため、ここでは、はじめに、提供可能な「材料やその数量算出法」について解説します。実施計画や物品請求、加えて調査のお願いなど諸事については、次に書式化した「提案 2. 細胞実験キットのリクエストに関わる事項や書式:様式 B」で説明します。よろしくご参照してください。

.....

材料数量の算出表(1) 実験 A. 単純 CG 培養実験

* 下記は「4人1グループ」を想定した場合の解説です。実験方法(Set 3)や「図説解説 CG 細胞実験」などを理解した上で参照してください。質問はいつでもウェルカムです。

3.1 実験キット構成品の数量算出表(実験 A: 単純 CG 培養実験) * $D = C \times \text{班数}$						
* 4人構成で__班、総人数__人(学習者__人+ 担当者__人)。班数は総人数の繰上げで算出。						
A. 物品 (工程)	略号	B. 最低必要数量	C. 数量/班	D. 総数量	E. 輸送仕様	
1	カバーガラス (1)	CG	1 枚(2培養/CG) /人	5 枚	___枚	5 枚/pc.
2	遠心チューブ (2)	CT	2ml 容量 tube 1個/班	1 個	___個	4 本/pc.
3	細胞液 (2)	Cell	1.5ml/遠心 tube	1.5 ml	___ml	12ml/pc.
4	培地/Step 2 (2)	B-Med	1.5ml/再浮遊	3.0 ml	___ml	バルク/pc.
5	培地/Step 3 (3)	B-Med	2 滴/培養 x 2 培養 = 0.2ml			
6	固定液 (4)	Fix	3 滴/培養 x 2 培養 = 0.3ml	2.0 ml	___ml	バルク/tube
7	染色液 (4)	CV	(0.3ml/2 培養/CG)	2.0 ml	___ml	バルク/tube
8	栄研スポイト 3 号	SP	5 本/班	5 本	___本	10 本/pc
9			5 本/実施担当者/全体		5 本	

上記は「細胞実験キット」の基本仕様。C は予備も含めた数量。E は一括(バルク)の場合もあります。実験には上記以外の物品「例えばスライドガラスや遠心機、紙ナプキンなど」を必要とします(利用者側で準備します)。それらをリクエストする場合は、その説明と必要数量を上記書式に従い連絡・協議が必要です。注意:細胞や培地(B-Med)は無菌仕様で送付されます。その開封や分注は実施日に行ってください。なお、スポイトの「1滴は約 0.05ml」とみなします。

<上表の解説: 数量算出の基準>

* 下記解説が意味不明な場合は実験マニュアルや実験材料を参照の上で改めて理解に努めてください。

1. **カバーガラス(CG)**「工程(1)」: CG は一人 1 枚 2 培養(2つの液止めサークルを描く)で使用します。CG1 枚で 2 培養が可能なので、左右のサークル(培養面)を「培養時間の差異:例えば、5 分培養と 30 分培養」など任意の目的に使用します。CG は 4 人班あたり予備 1 枚を与え、**班当たりの必要数量は 5 枚**です。
2. **遠心チューブ(2ml 容量 tube)**「工程(2)」: 班当たりの必要数は 1 個。総数には予備数個を含めます。
3. **細胞液**「工程(2)」: フィルムバッグ細胞(FB 細胞)は、**4 人分/班あたりの必要量は 1.5ml/遠心チューブ**で十分です(補足 3 を参照)。遠心処理(6500rpm 10 秒)の後、**等量(1.5ml)の液体培地(B-Med)を加え再浮遊**します。
4. **液体培地(B-Med)**「工程(2)と(3)」: その用途は遠心後の再浮遊と培養開始時に用いる滴下培地です。1 サークルに B-Med 2 滴(約 0.1ml)を滴下し、Step 2 で調製した細胞液(CR 細胞)を 1 滴(約 0.05ml)加え培養を開始します。従って、班あたりの B-Med の必要量は、遠心分離後の再浮遊用に 1.5ml。サークル滴下用は 2 滴

0.1ml/1 サークルの2培養(2サークル)なので4人分は0.8ml なので、培地の最低必要量は2.3ml ですが、予備CGも含め10培養なので、従って、**B-Medの配布量は余裕を与え3ml/班**とします。

6・7. 固定液・染色液「工程(4)」: 固定液(Fix)は1サークルあたり3滴(約0.15ml)、染色液(CV)も3滴で実施します。従って、その必要量は2培養と予備も含め10培養なので班当たりの必要量は1.5ml ですが、**配布量は余裕も与えそれぞれ2.0ml**。なお、固定液は安全対策から非ホルマリン系を使用します。

8・9 栄研スポイト3号:この名称は商品名(他に変えがたい品質であり識別のためこの名称を使用しています)。栄研3号スポイトは目的用途に対応させ、識別・使い分けで使用します。使い回し・混用はダメ。また、本スポイトは通常の「液の出し入れ」などの用途の他に、代用試験管としても使用します。つまり、スポイトのメモリ2.0レベルをハサミで切断し、その切り取りスポイトを小試験/代用試験管(溶液の分注・配布用)としても用います。4人班当たりの必要数はそれで予備も含め5本です。つまり、その用途は、1)細胞液の採取分注用、2)液体培地の分取・添加・滴下用、3)細胞の再浮遊用、と4)液体培地を分取する「切り取りスポイト」用です。その他に固定液用、染色液用も必要ですが、固定液と染色液に用いるスポイトは「使用済みスポイトを水洗・水切り」して再利用します。以上が受講者4人用の必要数です。

それ以外に、**実施責任者が担当・用意・必要とするスポイトが予備も含め5本**としています。つまり、Step 2のフィルムバッグ細胞の前処理用や液体培地(B-Med)の分注用などに用います。

補足1:固定液・染色液は低コスト化のため、学校具備のガラス製の小試験管を使用してください。切り取りバイアルは50ml ビーカーや転倒防止用オモリを入れた透明プラカップ(小)に立て利用します。

補足2:微量遠心機ではなく通常の15ml バケットの遠心機の場合は、スポイトの切り取りの長さを調節し、その切り取りスポイトを遠心チューブとして使用することも可能。ただし、遠心速度は2000rpm以下で使用する。

補足3:遠心再浮遊した細胞液(CR細胞)1.5mlは30回分の実験A(CG1枚で2培養なので15人分)に相当します。また、フィルムバッグ細胞は通常12ml包装なので約120人分(2サークル培養で120回分)の実験A(CG単純培養)に相当しますが、**実験Aの残り(FB細胞)は次の実験B(OEKAKI)に用います。**

.....

材料数量の算出表(2) 実験 B. CG お絵描き実験

* 下記は「4人1グループ」を想定した場合の解説です。上記(1)、実験方法(Set 3)、「図説解説 CG 細胞実験」などを理解した上で参照してください。質問はいつでもウェルカムです。

3.2 実験キット構成品の数量算出表(実験 B:CG-OEKAKI 実験) * D = C x 班数					
* 4人構成で___班、総人数___人(学習者___人+ 担当者___人)。班数は総人数の繰上げで算出。					
A. 物品 (工程)	略号	B. 最低必要数量	C. 数量/班	D. 総数量	E. 輸送仕様
1 MC カバーガラス (1)	MC/CG	1 枚 /人	5 枚	___枚	5 枚/pc
2 ゼラチン液 (1)	Gel	ごく少量	0.5ml	___tube	0.5ml/tube
3 クラフト綿棒 (1)	CS	1 本/人(竹串でも可能)	5 本	___本	5本/pc.
4 遠心チューブ (2)	CT	2ml 容量 tube 2 個/班	2 個	___個	4 本/pc.
5 細胞(液) (2)	Cell	2.0ml/遠心 tube x 2	4.0 ml	___ml	12ml/pc.
6 培地/Step 2 (2)	B-Med	1.0ml/再浮遊 x 2tube	2.5 ml	___ml	バルク/pc.
7 固定液 (4)	Fix	3 滴/培養 : 0.15ml	1.0 ml	___ml	バルク/tube
8 染色液 (4)	CV		1.0 ml	___ml	バルク/tube
9 栄研スポイト 3 号	SP	5 本/班	5 本	___本	10 本/pc
10 (実験 A の再利用)		5 本/担当者/全体		5 本	

表解説は前述の「実験 A」と同じ。上記は「細胞実験キット」の基本仕様であり、利用者との協議に基づき改変し提供予定。利用者準備のスライドガラスなどは「材料一覧」で確認が必要である。補足. MC カバーガラス (メチルセルロース処理済みのカバーガラス:MC/CGと略記)。注意:実験A/Bを前後あるいは同時に行なう場合、「8,9のスポイト」は実験Aで用いたスポイトをその用途別に再使用してください。スポイトの「1滴は約0.05ml」とみなします。

<上表の解説:数量算出の基準>

(前ページ「実験A」の解説を理解した上で、下記「実験B」の理解を進めてください。)

1. **カバーガラス(MC/CG)**「工程 (1)」: 実験Bではメチルセルロース処理済みカバーガラス(MC/CG)を用います。描く「液止めリング」(培養面)は1つです。予備も含め**班あたりのMC/CGは5枚**を配布します。
- 2・3. **ゼラチン液(Gel)と綿棒**「工程 (1)」: MC/CGに塗抹(塗り付け)するGelの必要量は、綿棒先端に少量なので、**班あたりの配布量は0.5ml**で十分です。**綿棒も班5本で配布**します。ただし、両端が綿棒である場合はその半数です。ハサミで半分に切り取り使用します。なお、食用「竹串」でも代用が可能です(材料を参照)。
4. **遠心チューブ(2ml 容量 tube)**「工程 (2)」: 班当たりの必要数は2個。総数は予備数個を含めます。
- 5・6. **細胞液と液体培地(B-Med)**「工程 (2)」(2倍濃縮細胞液の作り方と必要量)

実験Bでは1サークルに6滴(約0.3ml)を滴下し細胞培養を行います。4人班なので最低1.2mlの細胞液が必要ですが、実験Bでは2倍濃縮の細胞液を必要とするため、下記の方法で遠心再浮遊しその細胞濃縮液を調製します。

* 調製概要: 班あたり2本の遠心チューブに、フィルムバッグ細胞(FB細胞)をそれぞれ2ml分注し、遠心分離(6500rpm 10秒)。上澄みを除き、タッピング処理を加えた後、それぞれに1mlのB-Medを加え再浮遊させ2倍濃度の細胞液とします。(高濃度の細胞液の調製が必要なため「2mlの細胞液」に対し「1mlのB-Medで再浮遊」し細胞濃縮液を調製します)。

実験Bでは「2本の遠心チューブ」を用いたので合計2mlの濃縮細胞液が調製されます。なお、実験Bで滴下する細胞液の量は6滴(0.3ml)/サークルです。従って2mlの濃縮細胞液は6人分、6回のお絵描き実験に相当します。

従って、班あたりの配布数量は、細胞液(FB細胞)が4ml、再浮遊用のB-Medは余裕を与え2.5mlです。

- 7・8. **固定液(Fix)・染色液(CV)**「工程 (4)」: 固定液・染色液ともに必要量は3滴(約0.15ml)です。4人班あたりの**配布量は、余裕や扱いやすさを考慮し、Fix・CVとも1ml**で十分なはずです。固定液は、学校で利用する場合、安全対策から非ホルマリン系で送る場合もありますが、必要量などは同じです。なお、これらの溶液は学校具備の小試験管などに分注し配布し、使用済みのスポイトを水洗いして再利用で用います。
9. **栄研3号スポイト(操作・溶液分注用)**: 実験Bは実験Aを行った後あるいは直後に実施とするため、であるため、操作・分注用のスポイトは実験Aで使用したものを再利用してください。実験Aと別の日に実施の場合は、使用済みスポイトや切り取りスポイト(試験管)を、水道水で内容物を十分に洗い流し、精製水で濯ぎ、水切り、再利用してください。もちろん、話し合いでいろいろな調整が可能です。

* 補足: CG-OEKAKI 実験を数十人以上で行う場合は種々の変法を提案する場合があります。詳しくは今現在はどこにも書いていませんが、対応は可能です。ご連絡をください。

工程別の必要物品（4人/班あたりの必要数量: 詳細は Set5 を参照）

下記の実験 B (CG-OEKAKI 実験) の材料には実験 A (CG 単純培養) に記した材料・物品も必要です。

Step 1: カバーガラスの準備

実験A用: □1) 操作スペースA4用紙(4枚)、 □2) スライドガラス(4枚)、 □3) カバーガラス(4枚:CG)、 □4) スコッチメンディングテープあるいは養生テープ、 □5) ハサミ、 □6) パラフィン色鉛筆(2本)、 □7) 細書き油性ペン(2本)、

実験B用: □1) メチルセルロース(MC)処理済みのカバーガラス(MC/CG:4枚)、 □2) スライドガラス(4枚)、 □3) 溶解ゼラチン液(Gel:0.5/1.5ml微量遠心チューブ)、 □4) クラフト綿棒(4本)、 □5) 紙ナプキン、 □6) 扇風機、

メモ(確認が必要な物品・リクエストする物品など)

Step 2, 3: 細胞液の調製と滴下培養（実験A, B共通）

責任者用: □1) フィルムバッグ細胞(FHLS細胞)と栄研3号スポイト(1本)、 □3) 50mlビーカー(細胞バッグのスタンド)、 □2) 培地(B-Med)とスポイト(1本)、 □4) ハサミ、 □5) 小型紙コップ(細胞と培地の分注用:それぞれ2個、補足:紙コップは転倒防止をすること)、 □6) スポイト(細胞と培地の配布コップ用:それぞれ2本:合計4本)、

担当者用: □1) 遠心チューブ(2mlサイズ:実験Aは1個、実験Bは2個)、 □2) 微量遠心分離機(約6500rpm・10秒)、 □3) 遠心チューブスタンド、 □4) 切り取りスポイト(代用試験管2本:細胞用と培地用)、 □5) スポイト(細胞と培地の分注用:各1本)、 □6) 紙コップ(廃液入れ)、 □7) 培養温度の設定用品、 □8) 湿潤箱

メモ(確認が必要な物品・リクエストする物品など)

Step 4: 固定・染色（実験A, B共通）

□1) スポイト(2本:使用済みを手洗いで再使用)、 □2) 固定液(N-Fix)、 □3) 染色液(CV クリスタルバイオレット)、 □4) ガラス小試験管(固定液、染色液の分注・配布用)、 □5) 水道水、 □6) 水洗用の紙コップ(2個)、 □7) 紙ナプキン、 □8) 下記「常備品」。 必要に応じて「超速乾性の爪トップコート」

メモ(確認が必要な物品・リクエストする物品など)

常備品（実験A, B共通）

□1) オモリ(紙コップ転倒防止用:ワッシャー)、 □2) 紙コップ多数(転倒防止、廃液入れなど)、 □3) お湯(湯煎や培養温度など)、 □4) 温度計(赤外線温度計)、 □5) タイマー、 □5) ピンセット、 □6) ゴミ袋、

メモ(確認が必要な物品・リクエストする物品など)