

無菌操作

細胞培養

①クリーンベンチ内で操作

- ・ベンチ内の空気吹き出し口や吸い込み口にモノを置かない
- ・ベンチに向かってエアコンの空調の風が直接吹き込まない
- ・ベンチ傍で、埃をたてない、歩かない

②フタを開けたら、容器を上を通らない

- ・手の動線を考えて容器などのレイアウトする
- ・作業する前に作業イメージし、レイアウトする
- ・余計なものをベンチ内に入れない

③開けたフタの置き場所を意識する

- ・予めフタの置き場所を作っておき、上を通らない動線を考える

* 片手でフタとチューブを持つ場合、チューブ及びフタのエッジに指が接触しないこと

④無菌のものを触る部位を認識する

- ・チューブ、フタ、シャーレのエッジに指が触れないこと
- ・無菌のものを持ったら、目を離さない

培地の準備

必要な培地量を計算して、瓶からチューブに分取

細胞を解凍

- ・液体窒素タンクから取り出す際は、安全のために**2人作業**
- ・液体窒素液面高さが十分あることを確認
- ・クリーンベンチまでは、液体窒素に入れておく。**氷はダメ**
- ・クリーンベンチ内で、キャップを1回転させて**エア抜き**し、再度フタを閉める
- ・フタに37°Cのお湯がかからないようにして、凍結チューブを浸し解凍、半分解凍したら70%エタノールで拭き、クリーンベンチ内へ入れる。解凍後は、室温。

細胞密度を調整する

- ①適切な播種(はしゅ)密度がわかっている場合 → **キリのよい数字で段階希釈**する
- ②初めて播種する細胞株の場合 → **2倍ずつ3種類の濃度**で播種
* 浮遊時間は少なく、浮遊液はピペッティングして播種

顕微鏡で観察

CO₂インキュベータに置く

播種ムラがある場合は、中トレイを15~30° 傾けて揺らし4~5秒そのままにして静かに水平に戻す

