

# 第6回 サイエンス・コ・ラボ 実験レポート

M · T / 年 組 番 氏名

期日	令和元年11月30日(土)	テーマ	三次元培養法
場所	南冥3F 化学室II	指導教官	東北大学大学院 工学研究科 教授 珠玖 仁 先生

## 1 実験記録 (機材、手順、実験内容など)

1 MCF-7のハンキングドローフ

- ① PILギン酸入りの細胞懸濁液(透明)を20μLとる。
- ② ティッシュの蓋の裏側に①の溶液を滴下(Drop)
- ③ 7点滴下した蓋を裏向きにしていき、そしてしばらくおいておく。
- ④ 数十分経過後はティッシュのT側にCa<sup>2+</sup>溶液を、ほそい程度にギン酸入りの蓋をかぶせ
- ⑤ 2分程したら、蓋をはからゆくり剥がしていく。
- ⑥ 液液をベンコトンで濾過。出来たゲルの形状や大きさなどを調べる。

2 鋳型で(大きい)ゲルを作る。

- ① 紙粘土をティッシュにつけて、そこに綿棒で鋳型を作る。(シリンダー)
- ② 紙粘土を少し乾燥させておく
- ③ 紙粘土の鋳型にスポイトを使ってPILギン酸溶液をたう。
- ④ PILギン酸溶液をたいたところにスポイトを使ってCaCl<sub>2</sub>溶液を滴下5分以上放置
- ⑤ できたゲルをヒンゼットを使って慎重に裁がす(薄葉型)にて持ち観察する。

3. 入イワフ。

① 0.5, 1, 2, 3% の様々な濃度のPILギン酸溶液を用意。

0.5% : 水 1000μL + 3% PILギン酸 200μL  
 1% : 水 600μL + 3% PILギン酸 300μL  
 2% : 水 900μL + 3% PILギン酸 600μL

② マイクロピペットを使ってPILギン酸溶液をティッシュに出したCaCl<sub>2</sub>溶液に滴下。  
出来たゲルの大きさ、硬さなどを調べる。(濃度、濃度、高さなどを調べる)

＜必要なもの＞

- PILギン酸入りの細胞懸濁液
- CaCl<sub>2</sub>溶液
- ティッシュ
- マイクロピペット
- チップ(10の先端)
- ベンコトン
- ビーカー
- 紙粘土
- アルミホイル
- 綿棒
- 大木口
- PILギン酸溶液(3%)
- ヒンゼット
- PILギン酸トリウム + CaCO<sub>3</sub>溶液
- 電極 (陽極・陰極)
- 電圧印加装置

\*CaCl<sub>2</sub>溶液などは最もいい感じの手袋を着用して実験を行う。

## 2

### ① 実験から解ったことや疑問点

細胞の培養は研究者の色々な機械を使ってやるようなイメージを漠然としていて、敷居が高いように感じていたが、今回の実験で、簡単なものならば数時間あれば作成できるといふことを学ぶまでには身近な話題だと感じる事ができた。

### ② 興味深かった点

マイクロメートルくらいの細胞の「パイプ」を編むという考えが凄いなと感動。それを再現できるほど技術が進歩していたことにおどろいた。  
あと数十年前は、形成医療(造人)で実用可能なレベルになるといふことにより感動がかなり大きかった。iPS細胞が「パイプ」の材料として最近大活躍していることが、70年経った研究などが始まっているのがすごいと思えた。

3 講義メモ

4. アルギン酸ナトリウムの電解析出

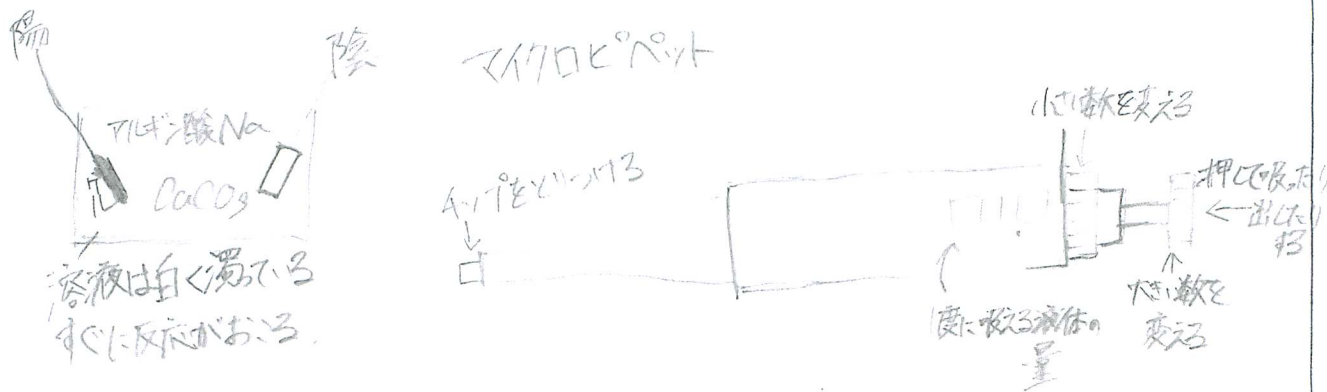
- ① アルギン酸ナトリウムと炭酸カルシウム溶液を電極を交差
- ② 電圧を加える
- ③ 電極にできたゲルを観察

H<sub>2</sub>Oの中にCaCO<sub>3</sub>とアルギン酸Naがある。  
 電圧を加えると  $2H_2O \rightarrow O_2 + 4H^+ + 4e^-$  となる。  
 H<sup>+</sup>がCaCO<sub>3</sub>と反応、 $CaCO_3 + 2H^+ \rightarrow Ca^{2+} + CO_2 + H_2O$   
 で発生したCa<sup>2+</sup>とアルギン酸Naが反応して、ゲル化する。

注意点、流し見、反応点、メモ

1. Ca<sup>2+</sup>溶液は、CaCl<sub>2</sub>溶液の10倍。ポンコツは水分を通しにかたため、ゆくりと入れるのが良い。
2. 紙粒の上に深く模様をかき、中がゲル化しているかた。インクのざりきりまで紙粒度をつめると、CaCl<sub>2</sub>を滴下するときにあふれてしまった。
3. マイクロピペットを使用してアルギン酸溶液を移す際は、ゆくり吸ってゆくり出さない、うまく吸い出したのでない。滴下する点は、濃度が高いものを低い位置から滴下するほど大きいゲルができる。マイクロピペットの先をCaCl<sub>2</sub>溶液に少しだけ入れ、引かながら出すと細く長く、7マイクロピペットでできる。滴下して時間をおいてからとり出す方が固いゲルができる。CaCl<sub>2</sub>溶液に付着したチップのまわりのアルギン酸溶液を吸おうとすると、アルギン酸溶液がゲル化してしおたに注意する。ゲルはぬれたままとすぐ乾かせるが、乾燥すると固く細くなって丈夫になる。

4. ゲルは電極のまわりにだけ付着、流し続けたら厚くなる。このゲルは青くない。



4 感想

アルギン酸溶液をこぼしてしまったりして、失敗が多くなるとは思った。不注意から来るミスは人々との違いで、もっと周りに気を使おう。  
 マイクロピペットなど、今後使用する機会が多いような器具を使用するとかでできて良かった。iPS細胞が万能だということしか知らず、他の幹細胞の存在や違いがなかったが、いろいろ調べていくと勉強になる。  
 珠玖先生も研究室のスタッフとよく分かりやすく教えてくれたおかげで、比較的楽に実験ができた。マイクロピペットの使い方が分からないときに教えておいてくれた。いろいろと勉強の機会があった。とても勉強になった。とても楽しい時間でした。