

## ① モニター品の入手について

- メールで申し込んだのですが、誓約書を送らないと準備してもらえないですか。  
スタートシートをご利用になる場合には誓約書の郵送をお願いいたします。誓約書の到着後にスタートシートの準備に入ります。日程には余裕を持ってお申し込み下さい。
- 誓約書は郵送ですか。  
メールやFAXでお申し込みいただいた場合も、誓約書は公印の必要な書類ですので、別途、郵送をお願いいたします。
- 申し込み後、どれぐらいで届きますか。  
スタートシートは受注生産になりますので、「**誓約書到着後**」最短で1週間はみていただく必要があります。また、試作品段階のモニター品ですので、仲介の教材業者を通さず、JNC 株式会社ライフケミカル推進室の方が、通常の業務のかたわらで対応して下さっています。営業のため担当者出張もあり、迅速に対応できない場合もあります。  
どうぞ、日程には余裕を持ってお申し込み下さいますようお願いいたします。  
また、使用日が決まっていて、間に合わせたい場合には、**申込時のメール、および、誓約書の郵送時に、〇月〇日までに届けて欲しい、旨をお知らせいただく**とよいと思います。
- サニ太くんがなかなか届きません。  
試作品段階のモニター品ですので、仲介の教材業者を通さず、JNC 株式会社ライフケミカル推進室の方が、通常の業務のかたわらで対応して下さっています。営業のため担当者出張もあり、迅速に対応できない場合もあります。その点はどうぞお含み下さい。  
けれども、2週間待って届かない場合には、先方で滞っている場合がありますので、いちど、メール、あるいは、電話にて、申込先にお問い合わせ下さい。  
メール：sanita-kun@jnc-corp.co.jp      電話 (03)3243-6225 (ライフケミカル推進室 木村さん)
- 5袋までとなっていますが、その数では予備実験と生徒実験には足りません。  
生徒実験にご使用で、クラス数、生徒人数の関係で5袋ずつでは足りない場合には、申込時にその旨、何クラス何名のため、何袋必要、の情報を入れて、メールにてご相談下さい。
- 試しに1袋ずつを入手し、その後、授業に使うことにしたのでもう一度送って欲しいのですが。  
授業や教員研修会へのご使用のための、2度目以降のモニター品送付については、お受けいたしております。申し込みのメールに使用目的(授業、研修会など)をお書き添えの上、ご相談下さい。
- モニター品の無料期間はいつまでですか。  
モニター品在庫がなくなるまでとなっていますので、期間はお返事できません。

## ② 実験操作について

### (1) サニ太くんのコロニーについて

- ・ **ポリスポイトの目盛りどおりにサニ太くに液を滴下しているのにコロニーが出ません。**  
市販のポリスポイトの目盛りはあくまでも目安で、正しい計量ができていない場合があります。サニ太くんは菌懸濁液の量が 1 mL を下回ると、コロニーが小さくなったり出なくなったりします。正しい液量が滴下できているかどうか、確認してみてください。
- ・ **試しに 1000 倍希釈、10000 倍希釈液を滴下しましたがコロニーが非常に少ないか、出ません。**  
始めにスタートシートから釣菌をして菌懸濁液を作ったときには、菌濃度の高い希釈列も播いてみることをお勧めします。また、生徒実験を行うときには、実験授業日に近い日に、生徒実験で釣菌に使おうと考えているシートから釣菌し、これも、菌濃度の高い希釈列も含めて播いてみて、コロニーの数を確認し、生徒実験に何倍希釈を使うのかを決めて下さい。
- ・ **シート上の大きいコロニーから取ったのに、少ししかコロニーが出ません。**  
大きいコロニーにたくさん菌がいる、というわけではありません。サニ太くんの青色の発色は大腸菌が作ったβ-ガラクトシダーゼによる酵素反応です。酵素が生産されてしまえば、あとは、大腸菌の生死に関わらず酵素反応は進み、日数が経つほど青色の範囲はにじむように小さくなっていきます。冷蔵保存をして、日数が経ったシートから釣菌する場合には、菌濃度が高い希釈列もシートに播いてみて、次の釣菌を新しいコロニーから行うようにして下さい。
- ・ **前に上手くいったのに、1ヶ月後の2回目ではコロニーが出ませんでした。**  
スタートシートが古くなる、あるいは、冷蔵保存の前回実験のシートでコロニーが小さい、といったことがあると、どうしても釣菌できる菌量が減るので、前回から日数が経っているときには、前に上手くいった希釈倍率よりも菌濃度の高い希釈列も播いてみてください。日を置いて実験をするときには、まずは、新しいコロニーを得るところからスタートと考えてください。
- ・ **赤いコロニーがだんだん青くなってしまうのですが、なぜですか。**  
「準備マニュアル (=申し込みフォームのついている説明書き@須磨東高校HP)」の p.4 に説明しています。以下、再掲です。

※今回、提供するサニ太くんは lac-のシートがやや青みを帯びたコロニーになる場合があります。これは、通常の K12 株ではラクトースや IPTG を加えていなくても、非常に弱くではありますが、ラクトースオペロンの発現があるからです。

特に、実験後、シートを冷蔵庫に保管すると、大腸菌の活動が弱まり、呼吸による赤色の発色が進まない一方、酵素による X-gal の分解は起こるため、次第に青みが出てきます。また、X-gal の発色に酸素を使うため、閉じる際に空気を入れてしまうと、より青みが出てしまうようです。透明カバーと内部の培地部分を密着させるように、カバーをゆっくり閉じて下さい。

## ② 実験操作について

### (2) 滅菌について 汚染やコンタミの防止について

- ・学校にオートクレーブがありません。「滅菌済み」のディスポーザブルなチューブやスポイトは価格が高く購入は無理です。滅菌した器具が準備できないのですが。

実験は再利用できるガラスの器具でも可能です。実験前、実験後に煮沸消毒をしてください。

また、煮沸できないものは台所用の塩素系漂白剤に浸して消毒してください。

ポリスポイトは「ガンマ線滅菌」などを施した個包装のものも市販されていますが、高価ですので、須磨東高校では未滅菌の大袋入りをそのまま使っています。問題なく使用できています。爪楊枝も特に滅菌せず、ケースから取り出したあと先を汚染しないようにすぐにアルミホイルで包んで、直前に取り出して使う、などの工夫をすれば、そのまま釣菌に使っても、この実験に関しては問題なくできています。

- ・使用後のサニ太くんやチューブの滅菌処理を具体的にどうすればよいのかわかりません。

右図はサニ太くんHPに掲載の処理方法です。

オートクレーブがあれば推奨の方法ですが、なければ煮沸殺菌をしてください。加熱処理の方が優先度が高いと考えてください。

鍋で煮沸する場合には、写真のようにサニ太くんは直接、湯に投入することができます。

使用したチューブやスポイトも、これに準じて、しっかりと殺菌処理をした上で廃棄するようにしてください。

台所用の塩素系漂白剤に浸す場合には、サニ太くんのカバーやチューブのフタは開いて、汚染部分が浸るようにしてください。

漂白剤の濃度は、お使いの商品のラベル表示をご確認ください。

- ・サニ太くんHPを見ていると、希釈用の滅菌水があるようですが滅菌水を使用した方がいいですか。

学校でこの実験を行うぶんには、必要ありません。市販のペットボトル水はほぼ無菌ですので、それで十分です。

PBSや生理食塩水を用意しなくても可能です。

なお、コンタクトレンズ用の滅菌水は使用しないで下さい。

- ・操作中にアルコールランプなどで上昇気流を作りますか。

サニ太くんの使用方法を生徒によく説明した上で使用させると、シートのカバーを開いている時間も短いため、バーナーやアルコールランプを焚かなくても落下菌によるコンタミはほとんどなく実験できています。シートのカバーを開きすぎないように指導できればなおよいと思います。



## ② 実験操作について

### (3) 生徒実験の手順について その他

- ・須磨東高校HPにある生徒実験プリントで、大腸菌を希釈する際、1mlのPBSに0.1mlの大腸菌懸濁液を入れており、完全な10倍→100倍→1000倍→…になっていないのはなぜですか。生徒実験の手順をできるだけ単純にするためです。この実験は『色』を見る実験で、コロニー数を問題にするわけではない、と割り切ればいいことに気がついた、ということです。また、液量を確保するためです。たまたま、業者から購入したポリスポイトの1mLの目盛り線が0.9mL弱しかなかったため、生徒に細かい操作を指示して返って液量不足になるのを避けたためです。そのあたりは、使用器具に応じて操作を決めてください。滴下する液量1mLが0.9mLになってしまうとコロニーが小さくなります。1.1mLまでなら、増えても何とかシートからあふれずにカバーを閉じることができます。ただし、それ以上の量を滴下することは、シートから液があふれ出て汚染の原因となるので、避けて下さい。