

The image shows two white plastic components of the SMOD device. On the left is a spherical cap with a small opening at the top. On the right is a larger, hexagonal base with a central vertical rod and a circular opening. A transparent dome-shaped cover is visible in the background behind the cap.

**smod**<sup>TM</sup>  
Smart Measuring Optical Device

## テクニカルノート: LFNS-SMOD-0.1J

### SMODの化学滅菌

#### 要旨

SMOD、Smart Measuring Optical Deviceはインビトロで細胞培養をモニターし( $OD_{600}$ )、リアルタイムにデータをWindows PCに送信するセンサーです。装置とデータはSMODソフトウェア v1.0 で制御されています。このテクニカルノートでは実験と実験の間に行うSMODの滅菌方法について記載します。SMODは直接培地に浸すため、次の実験に使用する前に装置からコンタミがないように滅菌することが重要です。最後に、この化学滅菌法の効果についても記載します。

#### 著者

Saraswat, M., Grand, R. S., Lifeonics Ltd.

#### キーワード

滅菌、細胞培養、Virkon<sup>TM</sup>、エタノール、光学密度、化学滅菌

## 始めに

従来から行われている細胞培養では、モニタリング測定のたびにフラスコをインキュベーターから取り出しサンプルを採取していますが、その場合コンタミするリスクは払拭できません。SMODを使えばそのようなマニュアル作業のために培養が中断されることはなくなり、培養を停止するときに初めてフラスコをインキュベーターから取り出すことになります。ここではSMODによって培地がコンタミネーションするリスクを回避するための、フラスコに入れる前に行う滅菌プロトコールについて記述いたします。

## 方法

1. 培養実験終了後SMODを培養フラスコから静かに取り出し、2% Virkon™ 溶液を入れた適当な容器に移します。SMOD全体を完全に溶液に浸しながら柔らかいブラシで外側の表面を洗った後、30分間浸します。
2. 30分経過後、ピンセットなどを使ってSMODを新しい2% Virkon™ 溶液に移します。この段階でSMODに付いていた微生物の大半は最初の溶液に残ります。パイプクリーナーか柔らかいナイロンマイクロブラシを使って注意深くかつ完全にSMODの中管を洗います。パイプクリーナーやマイクロブラシには、予めVirkon™を付けておいてください。さらに30分間放置します。

3. ピンセットなどを使いSMODを持って滅菌水で洗浄した後、70%エタノール溶液が入った容器に移します。SMODは70%エタノール溶液に完全に沈ませます。容器を密閉し、攪拌しながら12–24時間放置します。
4. 以上の工程を終了したら滅菌水で洗い、充電器に乗せて充電し次の使用に備えます。充電器の表面は、本体を乗せる前に70%エタノール溶液で拭いてください。
5. SMODを使用する直前に充電器からはずし、70%メタノール溶液で簡単に洗います。無菌法を用い滅菌環境下でSMODを静かにフラスコ培地に入れます。



### 図1: SMODをVirkon™に浸す

ピンセットまたは試験管ホルダーを使ってSMODを新しく用意した2% Virkon™溶液に移します。

Virkon™を取り扱う際にはグローブの使用を強くお勧めします。SMODがVirkon™溶液に全て沈んでいること(図2)と中管が完全にきれいになっていることを確認してください。



### 図2: SMODをVirkon™に沈める

外部表面と中管を洗った後に、SMODは新しく用意した2% Virkon™溶液に30分間浸す必要があります。その後70%エタノール溶液の中でスターラーで攪拌しながら12-24時間放置します。

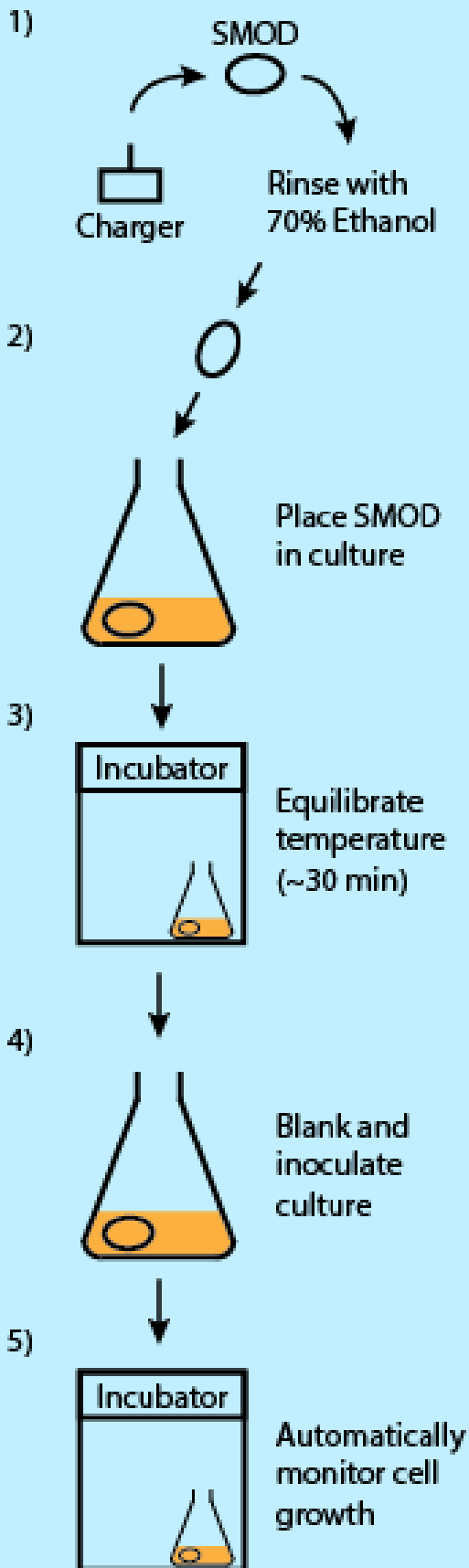


図3: 細胞培養モニタリングに使用するためのSMODプロトコール

SMODで培養細胞の成長をモニターするときの使い方を順を追って説明します。

1: 充電器から取り外し、滅菌液(70%メタノールなど)ですすいだ後、滅菌水で洗い流します。

2: 培養液を入れた培養フラスコにSMODを、無菌操作を用いて静かに入れます。SMODが完全に沈む量の培養液があることを確認してください。

3: SMODの入ったフラスコをインキュベーターに移し平衡温度に達するのを待ちます(予め30分程度培養液の入ったフラスコを温めておけば、平行温度に達する時間を短縮することができます)。

4: フラスコをインキュベーターから取り出します。SMODソフトウェアv1.0を使ってブランクを測定した後、決められた $OD_{600}$ 値(例0.05)になるまで微生物を植菌して実験を開始します。

5: フラスコをインキュベーターに戻します。培養中はSMODソフトウェアで設定した間隔で自動的に測定されます。ラボのPCまたはモバイルデバイスを通して成長曲線はリアルタイムに観測することができ、求められた $OD_{600}$ 値に達したことを確認して培養を停止することができます。



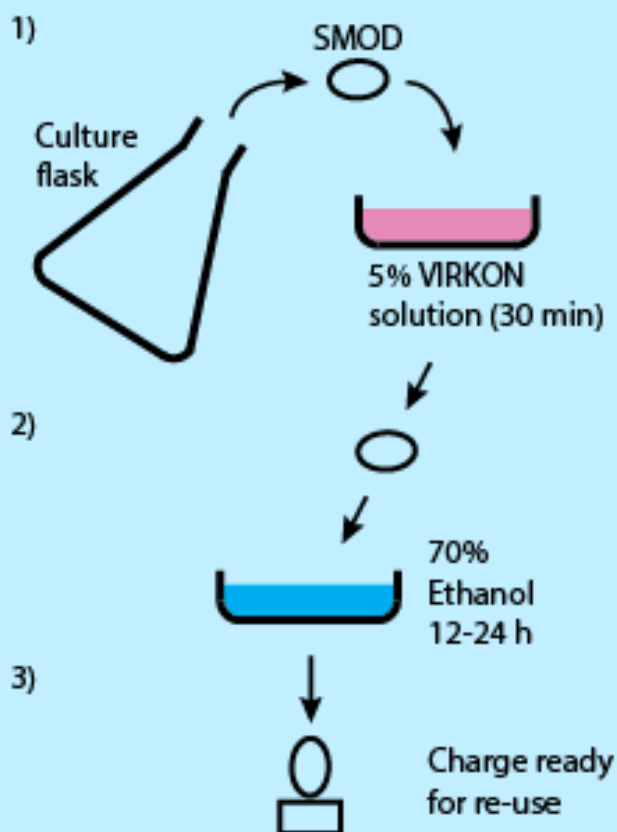


図4: SMOD滅菌プロトコールの概要

- 1) SMODを培地から取り出して2% Virkon™溶液に入れ、外部表面を洗って30分間放置します。
- 2) SMODを新しい2% Virkon™溶液に移し、中管を洗って30分間放置します。
- 3) SMODを70%エタノール溶液に移し、攪拌しながら12-24時間放置します。
- 4) SMODを充電器に乗せ、再使用に備えて充電します。

## 結果

滅菌方法の項で述べた滅菌プロトコールを忠実に実行した後に、SMODを培養液中37°Cで24-48時間保温しましたが微生物の繁殖は全く認められませんでした。

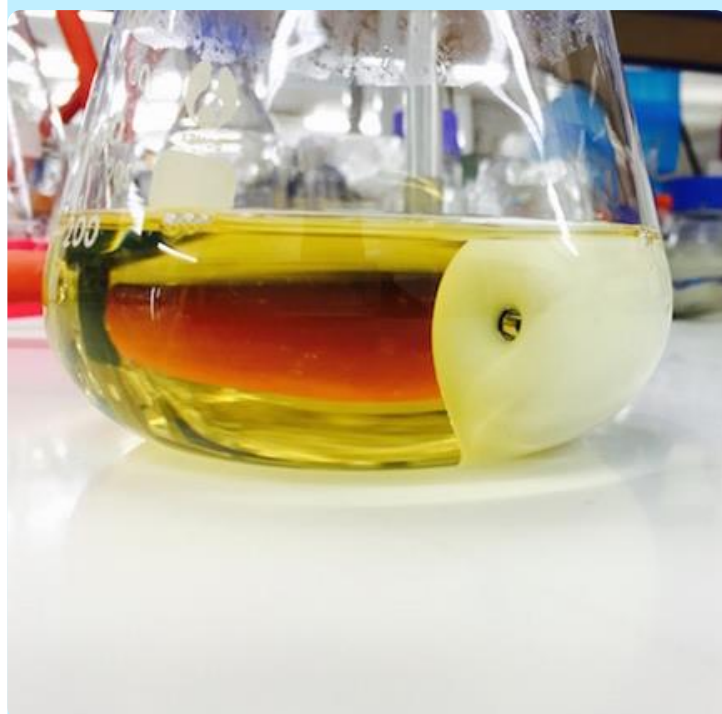


図5: SMOD滅菌結果

24-48時間培養後でも繁殖は全く検出されませんでした。

## 結論

以上示しましたように、化学滅菌法で滅菌したSMODがコンタミを起こすことはありませんでした。推奨した滅菌方法を忠実に行えば、この検出装置はあらゆる微生物実験において使用することができます。