



Application

ヒトiPS細胞凍結保存効率の比較検討

製品名

バンバンカーhRM（製品番号：CS-07-001）
再生医療研究用 無血清タイプ細胞凍結保存液

メーカー名

株式会社 リンフォテック

下記フィードバックは、米国法人 蓮見国際研究財団 東京リサーチセンター 平野 啓 様の御厚意により掲載させていただきました。

実験方法

当研究室にて培養維持しているヒトiPS細胞の凍結保存にバンバンカーhRMを使用し、ガラス化凍結法保存液・10% DMSO含有培地に対して保存効率を比較いたしました。

使用細胞：ヒトiPS細胞 201B7株（理研BRC）

- ① ヒトiPS細胞 201B7株をMMC処理したSNLフィーダー細胞上（10cm dish）で培養
- ② ヒトiPS細胞用解離液にて解離・回収後、1mLピペットでピペッティングし、コロニーをある程度崩す
- ③ 回収した細胞を3等分し、それぞれバンバンカーhRM/10% DMSO含有ヒトES/iPS細胞用培地/ガラス化凍結法保存液にて凍結保存（保存液に細胞を懸濁後数回軽くピペッティングする。）
- ④ バンバンカーhRM/10% DMSO含有培地にて保存した細胞は-80℃にて、ガラス化凍結法保存液にて保存した細胞は液体窒素中にて、それぞれ1週間保存
- ⑤ 保存細胞を解凍し、MMC処理したSNLフィーダー細胞上（6cm dish）に播種
- ⑥ 8日間培養（1日目まではrock inhibitorを使用）
- ⑦ 成長したコロニー数を計数

細胞保存方法

凍結保存方法	保存液
ガラス化凍結法	ガラス化凍結法保存液
簡易緩慢法	バンバンカーhRM
簡易緩慢法	10% DMSO含有培地

結果

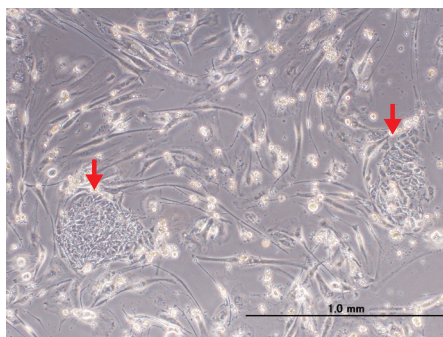
上記の試験を3回行い、コロニー数を比較しました（ガラス化法にて凍結した場合のコロニー数を100%とします）

	test 1	test 2	test 3
ガラス化凍結法保存液	100 %	100 %	100 %
バンバンカーhRM	317 %	310 %	422 %
10% DMSO含有培地	122 %	56 %	56 %

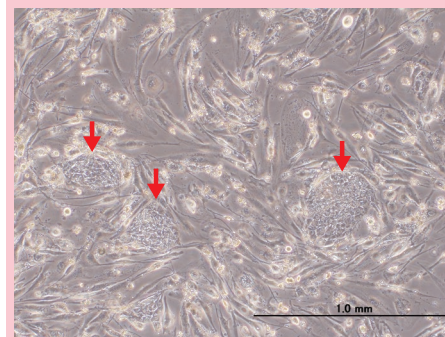
3回の試験全てにおいて、バンバンカーhRM使用時に最も効率よく細胞を回収できました。10%DMSO含有培地よりも保存効率が良く、またガラス化凍結法保存液よりも手技的に容易で失敗が少ない点が大きな利点であると感じました。

下記の写真は、解凍後4日目に撮影した細胞の様子です。10% DMSO含有培地では回収できたコロニーが小さく、生存率の悪さがうかがえる一方で、バンバンカーhRM使用時はガラス化凍結法保存液にて凍結した場合と同程度に大きいコロニーを回収出来ました。

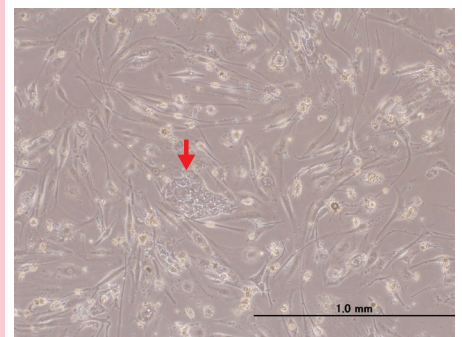
以上から、バンバンカーhRMの使用によって、ガラス化凍結法保存液と同程度に生育の良いコロニーを、ガラス化凍結法保存液よりも容易に（したがって失敗も少なく）凍結保存することが出来るものと考えております。



ガラス化凍結法保存液にて凍結保存



バンバンカー hRM にて凍結保存



10% DMSO 含有培地にて凍結保存



お客様のコメント

ヒトiPS細胞の凍結保存にはこれまでガラス化法を用いてまいりましたが、熟練を要すること・多本数のバイアルの同時処理が難しいことなどが問題となっておりました。バンバンカーhRMはこの点での作業効率を向上させ得るものと考えております。また保存性の向上も見られたことから、ヒトiPS細胞の保存・維持の効率改善に繋げるものとして期待しております。