



Application

細胞凍結保存液の比較検討 ～血清非含有タイプと血清含有タイプとの比較～

製品名

バンバンカー (Cat.No. CS-02-001、CS-04-001)
バンバンカーhRM (Cat.No. CS-07-001、CS-11-001)

メーカー名

株式会社 GCリンフォテック



下記データは、帯広畜産大学 生命食料科学研究部門 動物生体機能学研究室 村西由紀様、米田英里奈様のご厚意により掲載させていただきました。

概要

細胞凍結保存液には、細胞生存率を維持する目的で、血清が加えられる場合があります。一方で、血清はロットの差が大きいことが知られているように、血清を使用した細胞凍結保存液でも同様に、ロット間でその効果に違いを生じる場合があります。このため、バンバンカーシリーズでは、細胞凍結保存液に血清を使用しておりません。

本アプリケーションノートでは、シリーズのスタンダード製品である『バンバンカー』、および、Xeno Freeタイプの『バンバンカー hRM』を用いて、血清を使用しないことに基づく細胞の状態変化や細胞生存率の低下が起こらないか、血清入り細胞凍結保存液（他社製）と比較検討を行いました。この結果、両者に顕著な違いは見られず、血清入りとほぼ同等の結果が得られました。

実験方法

● 細胞培養条件

使用した細胞 : EM-E6/E7/hTERT2 (不死化ヒト子宮内膜前駆細胞)

培地 : D-MEM / Ham's F-12 (富士フイルム和光純薬株式会社, Cat.No. 048-29785)

+10% Fetal Bovine Serum (FBS) (ジャパン・バイオシーラム, Cat.No. OAC-001, Lot : 171220)

+100 U/mL Penicillin, 100 µg/mL streptomycin (富士フイルム和光純薬株式会社, Cat.No. 168-23191)

インキュベーター : 37℃, 5% CO₂

● 細胞の凍結および保管条件

6 cm ディッシュで 70% コンフルエント状態の細胞を回収し、3種類の細胞凍結保存液を用いて懸濁後、チューブに分注した。分注後すぐに-80℃のフリーザーにて凍結した。

保存細胞数 : 1~2×10⁶ cells / mL

保存温度 : -80℃

保管期間 : 2日間

● 解凍方法

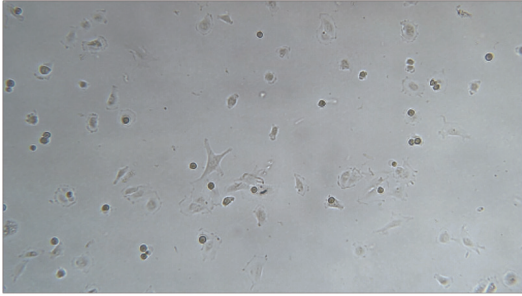
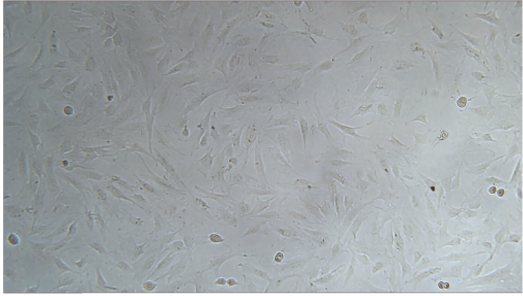
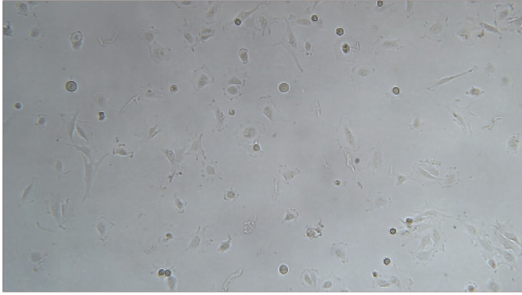
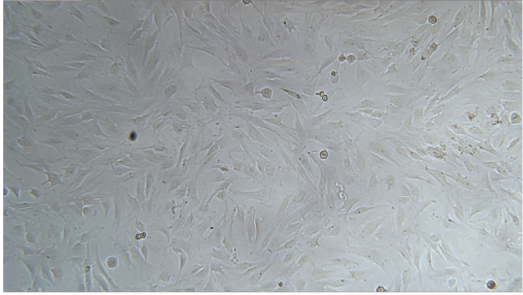
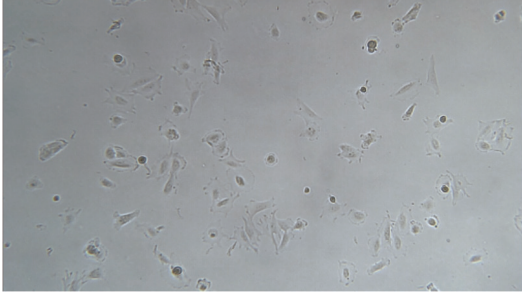
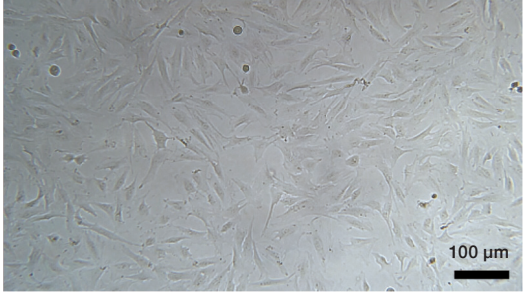
37℃のウォーターバスで解凍し、すみやかに全量をディッシュに播種した。

● 解凍後の生存率と培養像の評価

培養2日後、トリパンブルー染色 (SIGMA-ALDRICH, Cat.No. 93595-50ML) を行い、顕微鏡で観察した。

結果

● 解凍後の培養像

| | 解凍後5時間 | 解凍後2日 | 解凍後2日後の生存率 |
|------------|--|---|------------|
| 他社血清入り製品 |  |  | 96.1% |
| バンバンカー |  |  | 94.7% |
| バンバンカー hRM |  |  | 95.2% |

いずれの細胞冷凍保存液においても、細胞形態および増殖に問題がなかった。増殖活発な形状（分裂、突起）が認められ、ディッシュへの接着を確認することができ、生存率も良好であった。



お客様のコメント

- バンバンカーとバンバンカー hRMは、血清ロットに依存せずに使用できる点が良いと感じました。
- 両製品は血清を使用していないためか、ピペティングの際に泡が立ちにくく、使いやすい印象を受けました。