



Technical Data

## クライオチューブの違いによる細胞の回収率と生存率の比較

ヒトiPS細胞 (HYRO 103), Jurkat, KHYG-1では、どの細胞においても、クライオチューブによる凍結解凍後の細胞回収率と数日後の細胞生存率にはほとんど差がありませんでした。



評価製品

Wheaton, TrueLine, C社, S社, N社, G社 クライオチューブ

目的

細胞を保存する際に使用するクライオチューブの違いにより細胞の回収率と数日後の生存率に差がでるかどうかの検討を行った。

評価方法

ヒトiPS細胞 (HYRO 103), Jurkat, KHYG-1 3種類の細胞を下記の方法で凍結・解凍・培養し、細胞の回収率および生存率を確認した。

【凍結方法】

それぞれの培養細胞  
回収後、20 $\mu$ L サンプルングし、トリパンブルーを用いて細胞をカウント

↓  
5 $\times$ 10<sup>5</sup>×4 の細胞懸濁液を 15ml チューブに分注

↓  
遠心 1,000rpm 3min

↓  
細胞 ボルテックス

↓  
+凍結保存液 4mL

↓  
1ml づつチューブ 3本に分注

↓  
-80 $^{\circ}$ C 保存 (凍結処理容器を使用しない)

【解凍方法】

凍結細胞 -80 $^{\circ}$ C

↓  
37 $^{\circ}$ C 5ml 培地に懸濁

↓  
遠心 1,000rpm 3min

↓  
細胞回収

↓  
ボルテックス +培地 1ml

↓  
20 $\mu$ L サンプルングし、細胞数をカウント  
(それぞれのチューブ・細胞につき n=3 で行った)

↓  
適切な培地、培地量、培養プレートに播種

↓  
37 $^{\circ}$ C 5%CO<sub>2</sub>

↓  
顕微鏡観察 (細胞数カウント)

実験に用いた弊社取扱の消耗品と試薬



Wheaton  
2ml CryoELITE™  
クライオバイアル  
アウターキャップ 滅菌済  
(Cat.No. W985864 : レッド)



TrueLine  
2ml クライオバイアル  
インナーキャップ 滅菌済  
(Cat.No. TR7001)



株式会社 リンフォテック  
バンバンカー  
10%DMSO含有、無血清タイプ  
(Cat.No. CS-02-001 : 120ml×1)  
CS-04-001 : 20ml×5)



株式会社 リンフォテック  
バンバンカー hRM  
再生医療研究用  
(Cat.No. CS-07-001 : 20ml×1)

マメ知識

それぞれの細胞に関して～

ヒトiPS細胞 (HYRO 103)

- ヒト健康人から確立された iPS 細胞株
- 今回はフィーダーフリーで培養した (ラミニンコート)
- 緩慢法での凍結保存が難しいとされている

Jurkat

- 白血病細胞から確立された細胞株
- 浮遊細胞
- 比較的培養しやすい細胞として広く用いられている

KHYG-1

- ヒト白血病細胞から確立された NK 様細胞株
- 浮遊細胞
- 細胞バンクで凍結解凍が難しい細胞とされている

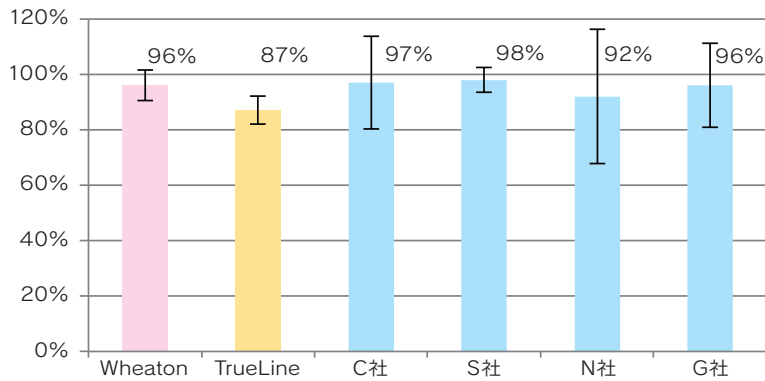
**結果**
**ヒトiPS細胞 (HYRO103)**


Fig.1 ヒトiPS細胞の凍結解凍後の細胞回収率 (n=3)

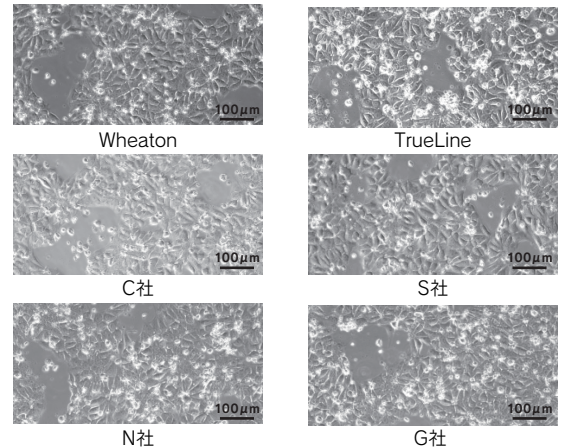


Fig.2 解凍後2日後の細胞の状態 (Bio Revoキーエンス x20)

● クライオチューブによる凍結解凍後の細胞回収率と2日後の細胞生存率にはほとんど差はなかった

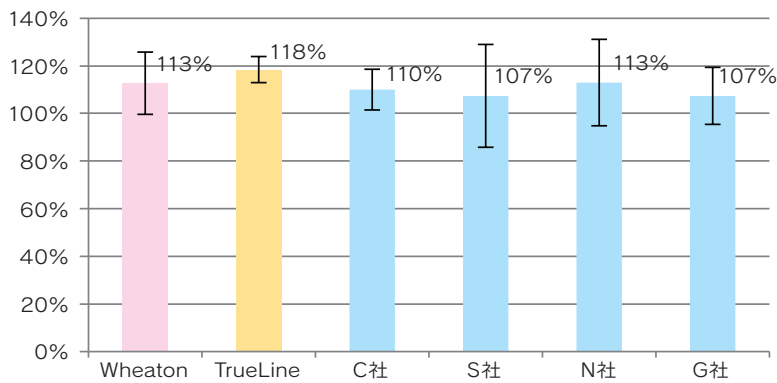
**Jurkat**


Fig.3 Jurkatの凍結解凍後の細胞回収率 (n=3)

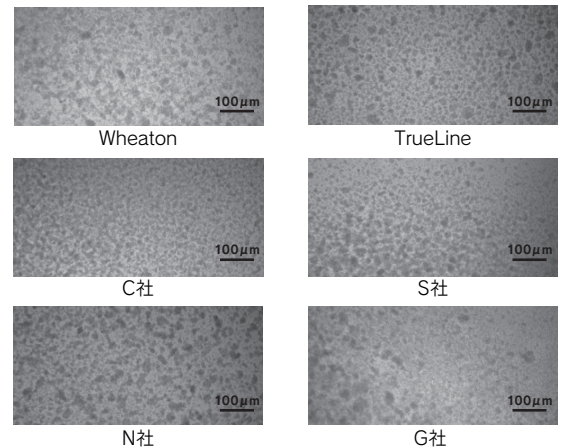


Fig.4 解凍後3日後の細胞の状態 (Bio Revoキーエンス x20)

● クライオチューブによる凍結解凍後の細胞回収率と3日後の細胞生存率にはほとんど差はなかった

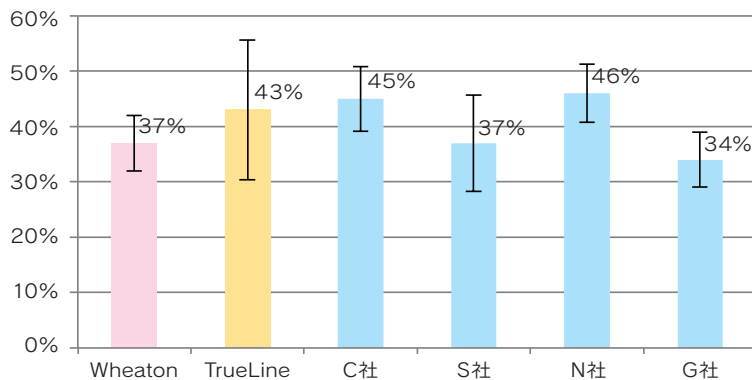
**KHYG-1**


Fig.5 KHYG-1の凍結解凍後の細胞回収率 (n=3)

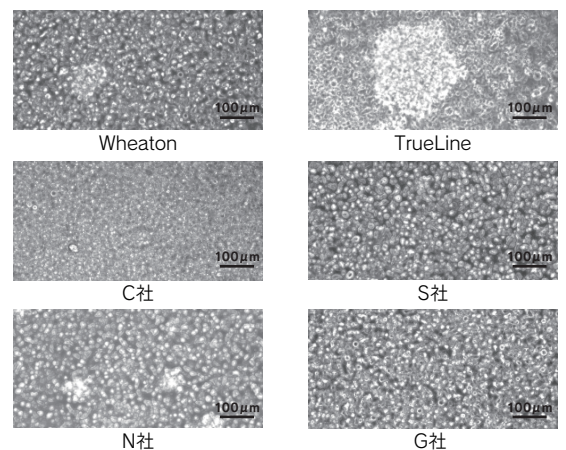


Fig.6 解凍後3日後の細胞の状態 (Bio Revoキーエンス x20)

● クライオチューブによる凍結解凍後の細胞回収率と3日後の細胞生存率にはほとんど差はなかった

**まとめ**

ヒトiPS細胞 (HYRO 103), Jurkat, KHYG-1の3種類の細胞を用いたが、どの細胞においても、クライオチューブによる凍結解凍後の細胞回収率と数日後の細胞生存率にはほとんど差がなかった。