

Reference Data

バンバンカー hRM を用いた、スフェロイド化細胞の凍結試験

評価製品

バンバンカーhRM
 (株式会社GCリンフォテック, Cat.No. CS-07-001, CS-11-001)

目的

バンバンカーのスフェロイド凍結の性能を評価するために他社製品と比較検討した。

本検証データは、製造元である株式会社GCリンフォテック様から、ご提供いただきました。

概要

緩慢凍結保存試薬は、単離された状態の細胞凍結を想定したものがほとんどであり、スフェロイドや組織様細胞構造体凍結での効果は不明である。そこで、今回、弊社取り扱い製品であるバンバンカーhRMを含め、市販の緩慢凍結保存試薬の凍結保存効果を検証した。スフェロイド化した細胞を、1週間-80℃で凍結保管を行い、解凍後の細胞状態観察、および細胞数/細胞増殖能を他社製品と比較した。その結果、バンバンカーhRMで保存したスフェロイドは、凍結前と近いサイズのまま保存できることが確認できた。また、解凍後の細胞増殖能は、他製品よりも優れていた。今回の結果から、バンバンカーhRMは、スフェロイド凍結において有効に機能する可能性が示唆された。

検証方法

■ 細胞培養条件

使用した細胞 : HEK293T

培地 : DMEM+10%FBS

- DMEM (Thermo Fisher Scientific:11965-092)
- Fetal Bovine Serum qualified, Brazil (Thermo Fisher Scientific:10270-106)
- iMediam for T (GCリンフォテック)

培養容器 : 浮遊細胞用96ウェルプレート (住友ベークライト)

培養条件 : インキュベーター 37℃、5%CO₂、湿度90%以上

■ 細胞凍結・保管方法

培養したHEK293T細胞を10,000 cells/wellとなるように播種し、スフェロイドを形成させた。

翌日、10 well分のスフェロイドを各凍結保存液1 mLと混合し、-80℃で1週間凍結保管した。

■ 評価方法

37℃のウォーターバスで解凍を行い、細胞を播種した。解凍直後 (DAY0) と培養3日目 (DAY3) で細胞像の比較を行った。

また同日にCell Counting Kit8 (Dojindo) を用いて450 nmの吸光度を測定した。

製品紹介

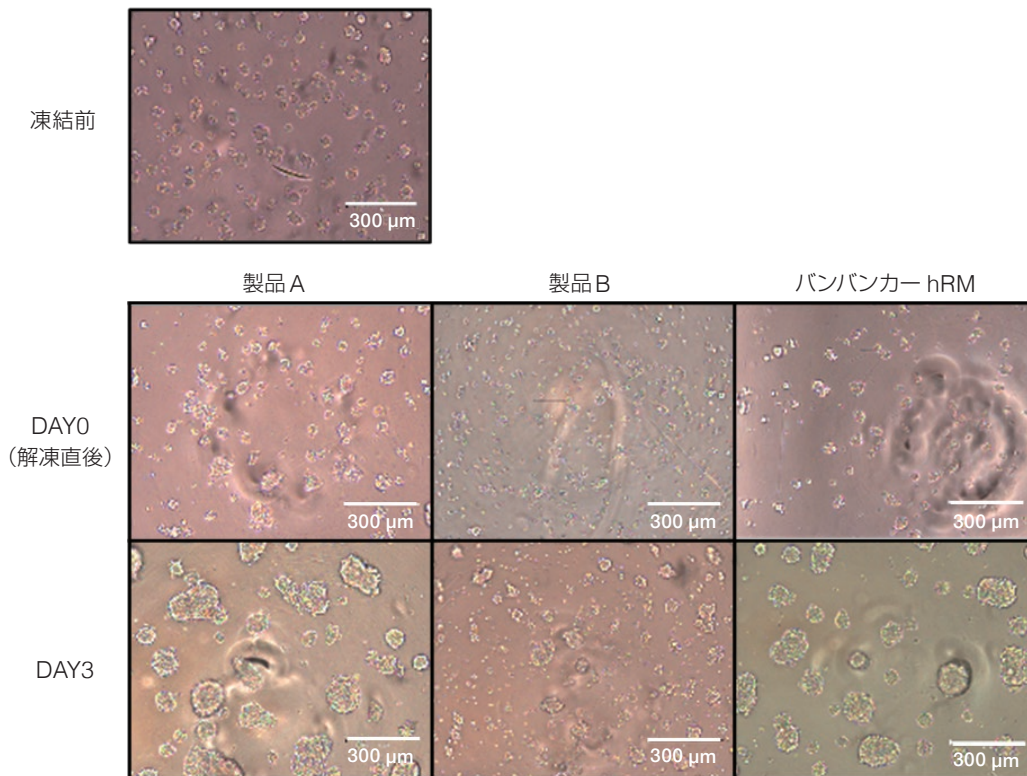
バンバンカーhRM

- Ready to Useタイプの細胞凍結保存液です。
- Xeno-Freeであるため (ヒト以外の動物由来物を含まない) ヒト由来細胞・ヒトES/iPS細胞や再生医療研究に適しています。
- 血清を含んでいないためロット間差が少なく、安定して使用することができます。
- 凍結細胞は、ディープフリーザー (-80℃) で凍結可能です。プログラムフリーザーのような特別な機器を用いなくても、凍結することが可能です。
- 12時間程度 -80℃で凍結した後に、液体窒素保存することも可能です。
- ヒト血清由来の化合物が含まれます。



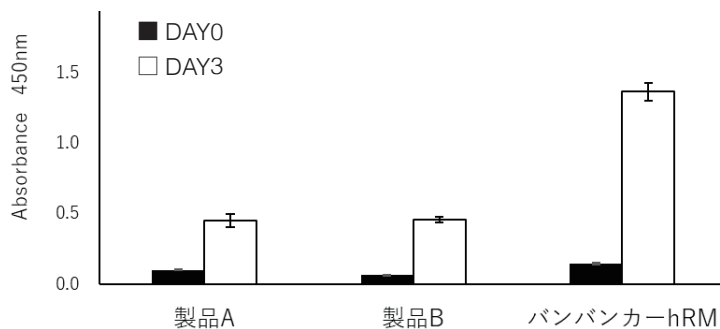
結果

細胞の培養像



DAY0のスフェロイドを顕微鏡観察した結果、バンバンカー hRMと製品Aで凍結した場合のスフェロイドサイズは、製品Bで保存した場合より大きかった。このサイズ差は、DAY3ではより顕著になった。

細胞増殖



DAY0からDAY3にかけて、バンバンカー hRMで保存したスフェロイドの細胞が最も増殖した。

結論

バンバンカー hRMでは、比較的凍結前に近いスフェロイドのサイズを維持することができ、細胞の増殖能においても優れた結果が得られた。以上の結果より、バンバンカー hRMはスフェロイド凍結において有効に機能する可能性が示唆された。

編集者コメント

本稿で取り上げたように、弊社取り扱いのバンバンカーは、スフェロイドと相性が良いようです。スフェロイド凍結をご検討いただいている方は、是非、本試薬をお試しいただけますと幸いです。