

クライオスカーレス DMSOフリー

詳細はこちら <http://www.funakoshi.co.jp/contents/4040>

DMSO-free

Serum-free

Protein-free

Xeno-free

クライオスカーレスDMSOフリーは、タンパク質やDMSOを含まない、各種細胞用の凍結保存液です。解凍後も様々な培養細胞で高い生存性を示し、幹細胞の多分化能(未分化状態)も維持されます。



MEMO

DMSOを含む保存液の問題点について

DMSOは一般的に細胞凍結保護成分として保存液に添加されていますが、人体に有害な成分としても知られており、特に皮膚からの吸収性が高くなっています。細胞毒性を有するほか、下記の報告のように、細胞の分化に影響を及ぼす因子の一つであることが明らかとなっています。より正確な実験結果を得るためには、DMSOを含まない条件での保存が必須です。

- ヒト前骨髄性白血病細胞株HL-60はDMSOにより顆粒球へ分化する¹
- マウスの骨髄間葉系幹細胞はDMSOにより心筋細胞へ分化する²
- ヒトES細胞をDMSO含有保存液で凍結保存すると、未分化マーカーであるOct-4の発現が低下する³

参考文献

1. Jiang, G., et al., *Int. Immunopharmacol.*, **6** (7), 1204~1213 (2006).
2. Young, D. A., et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **322** (3), 759~765 (2004).
3. Katkov, I. I., et al., *Cryobiology*, **53** (2), 194~205 (2006).

特長

- 血清およびタンパク質成分は含まれていないため、アルブミンやグロブリンなどのタンパク質による影響を受けません。
- DMSOによる毒性やタンパク質の影響が無いため、安全かつ高い生存率での細胞の凍結保存が可能です。
- ヒト/マウスの正常細胞、腫瘍細胞株、幹細胞など、様々な細胞で、凍結・解凍後でも約90%以上の生存率を示します。
- 幹細胞も分化能を維持したまま凍結保存できます。
- 無血清培養にも適しています。
- 無菌試験により細菌、真菌、マイコプラズマの混入がないことを確認しています。
- 本製品は4℃で長期間安定に保存できます(有効期間2年)。

操作方法概略

1. 培養細胞をチューブに入れ、遠心分離し、上清を除去する。
 2. 本製品を加えて $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ cells/mlになるように細胞を懸濁し、1 mlずつ保存用チューブに分注する。
 3. -80°C のディープフリーザーに入れて凍結させる。
 4. 3. の状態で保存された細胞を、 37°C の恒温槽中で振とうしながら速やかに解凍し、適切な培地(10 ml程度)で遠心洗浄する。
- ※長期保存の場合には液体窒素中で保存する。

使用実績のある細胞株

細胞株	生存率(%)	
L929	マウス線維芽細胞	97.5 ± 1.2
MG63	ヒト骨肉腫細胞	93.1 ± 2.3
HT1080	ヒト線維肉腫細胞	90.2 ± 4.3
Colon26	マウス結腸がん細胞	92.3 ± 2.3
B16F1	マウスメラノーマ細胞	94.2 ± 0.6
KB	ヒト口腔がん細胞	91.8 ± 0.9
Caco2	ヒト結腸がん細胞	93.7 ± 1.9
MC3T3	マウス骨芽細胞	94.4 ± 0.5
Jurkat E6-1	ヒト白血病細胞	88.4 ± 2.5
HUVEC	ヒト臍帯静脈内皮細胞	89.9 ± 0.4
HCAEC	ヒト冠状動脈内皮細胞	90.1 ± 1.6
MEF	マウス胎児線維芽細胞	94.4 ± 0.8
hACh	ヒト軟骨細胞	93.5 ± 0.7

※上記以外の実績(細胞)については、当社テクニカルサポート(試薬担当)までお問合せ下さい。

品名

メーカー 商品コード

包装 / 価格(¥)

CryoScarless DMSO-Free

BVD CPL-A1

100 ml / 12,000

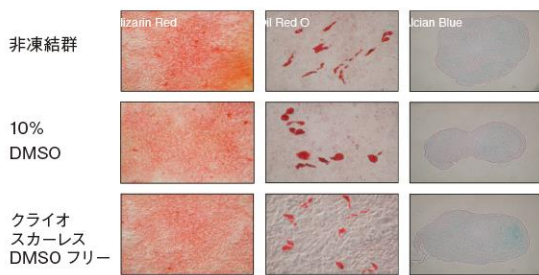
サンプル品あります!

本製品は、小包装のサンプル品(20 ml)をご用意しています。ご希望の方は当社テクニカルサポート(試薬担当)までお問い合わせ下さい。

裏面では本製品の使用例をご紹介します →

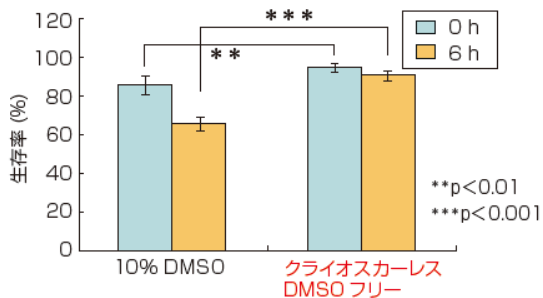
実験例

骨芽細胞への分化 脂肪細胞への分化 軟骨細胞への分化
(アリザリンレッド染色) (オイルレッド O 染色) (アルシアンブルー染色)



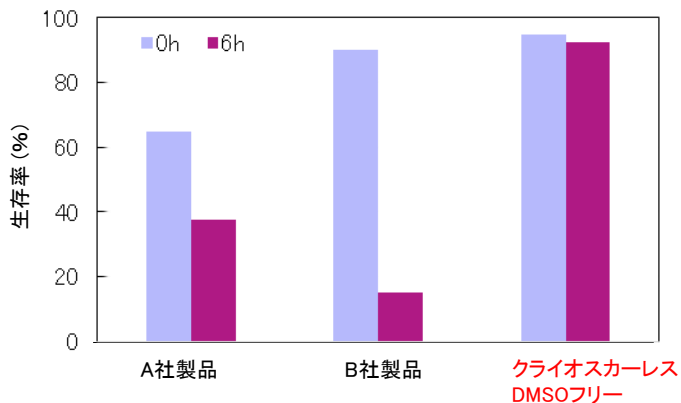
ヒト間葉系幹細胞の分化能

クライオスカーレスDMSOフリーで凍結保存したヒト間葉系幹細胞の解凍後の分化能を調べ、非凍結群および 10%DMSOの場合と比較した。クライオスカーレスDMSOフリーで凍結した細胞は、いずれの分化能も良く維持されていることがわかる。



ラット間葉系幹細胞の生存率

本製品で凍結保存(1週間)したラット間葉系幹細胞の解凍後の生存率と、6時間後の生存率を測定し、10%DMSOの場合と比較した。解凍直後(0h)、接着後(6h)の生存率も共に本製品で凍結した場合の方が高い生存率を示した。



他社製品との比較(DMSO不含製品)

A社製品: DMSOおよび血清不含

B社製品: DMSOおよび血清不含, セリシン含有

A社やB社のDMSO不含の細胞保存液は、解凍直後の細胞の生存率は良いが、その後生存率は急激に低下傾向にある。本製品は保存6時間後でも高い生存率を示した。

ユーザー様ご使用例

クライオスカーレス DMSO フリーによる簡易的凍結保存後のマウス ES 細胞の評価

(データ提供: 熊本大学 発生医学研究所 幹細胞部門
組織幹細胞分野 田村潔美先生)

【方法】

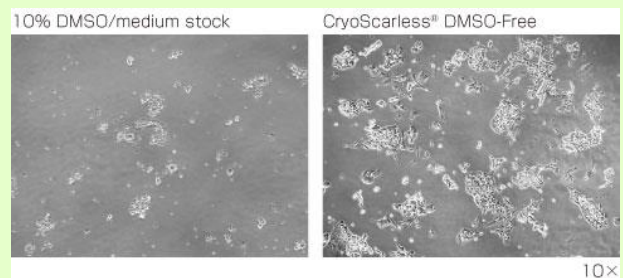
マウスES細胞(FKHR+/+)をゼラチンコートした96ウェルプレートで37°C、48時間培養した後に、簡易凍結保存を行った。培地を吸引し、PBSで洗浄した後、10%DMSO / 培地, またはクライオスカーレスDMSOフリーを添加し、-80°Cで保存した。24時間後に速やかに解凍し37°Cに加熱した培地を加えて引き続き37°Cで培養した。6時間後に光学顕微鏡下で位相差像を観察した。

【結果】

マウスES細胞を10%DMSO / 培地中で保存した場合には、解凍後生存細胞の減少が観察されたが(写真左), クライオスカーレス DMSOフリー中で保存した場合にはこれが改善され、多数の生存細胞が観察された。

【所感】

クライオスカーレスDMSOフリーは、遺伝子導入後に多数のクローンを培養プレートごと一括ストック(簡易的凍結保存)する場合に使用しやすい。この保存方法では、クライオスカーレスDMSOフリーの方が生存細胞が多いため、未分化マウスES細胞の継代培養(一定細胞密度で2日毎の継代)に移行しやすく、分化実験がスムーズに開始できる。



小川峰太郎先生(組織幹細胞分野教授:中央), 田村潔美先生(右から2番目)と研究室の皆様

NOTE

- ※ 本紙に掲載されている価格は、2014年1月1日現在です。
- ※ 仕様は改善のため、予告なく変更することがあります。
- ※ 本紙に掲載されている製品は、すべて研究目的用のみ販売しています。医薬品、診断用医薬品、食品、食品検査等の用途には使用できません。また、医薬品の製造、品質管理、各種診断、治療等、その使用目的にかかわらず人体には使用しないで下さい。

- ※ 記載されている会社及び商品名は、株式会社バイオヘルドの商標または登録商標です。
- ※ 表示価格には消費税等は含まれていません。また価格は予告なく変更される場合がありますので、あらかじめご了承下さい。
- ※ ご注文の際は、[品名、メーカー(BVD)、商品コード、包装、数量]をお知らせ下さい。

販売店



フナコシ株式会社

〒113-0033 東京都文京区本郷2丁目9番7号
<http://www.funakoshi.co.jp/> e-mail: info@funakoshi.co.jp
 試薬に関して: Tel. 03-5684-1620 Fax 03-5684-1775
 e-mail: reagent@funakoshi.co.jp
 受託に関して: Tel. 03-5684-1645 Fax 03-5684-6539
 e-mail: jutaku@funakoshi.co.jp