

ヒト ES 細胞およびヒト iPS 細胞保存方法(一例)

保 存

1. 細胞を従来の方法にて収集し、クライオチューブに移す。
2. 遠心分離せずに、ピペットにて培地を除去する*1。
3. 4℃に冷却した STEM-CELLBANKER®*2 500 μL を、クライオチューブに直接加える。
4. 4℃に冷却した緩慢凍結用コンテナ*2 にクライオチューブを入れる。
5. クライオチューブを入れた緩慢凍結用コンテナ*3 を-80℃ディープフリーザにて十分に凍結させる。
6. 翌日、クライオチューブを-196℃液体窒素に移す。

※上記の 5 と 6 の操作はなるべく迅速に行ってください。

*1：遠心チューブに採集し、300rpm(20G)にて遠心分離により培地を除去しても大丈夫です。

*2：前もって、STEM-CELLBANKER®に Rho-associated kinase (ROCK) inhibitor, Y-27632 (Merck)を 10 μM(最終濃度)添加したものを使用しますと、より高い生存率が得られる場合があります。

*3：Nalgene Freezing Container “Mr. Frosty” (5100-0001) (Nalge Nunc)、バイセル凍結処理容器(日本フリーザー)などが利用できます。

融 解

1. 凍結しておいたクライオチューブ(細胞)を 37℃恒温槽中にて振りながら迅速に融解する。
2. 直ちに培養に使用する培地またはセルローション™*18~10mL 程度で 1 回遠心分離する*2。
3. 上清を吸収除去し、必要の量の培地で細胞を懸濁する。
4. 培養用容器に移し、常法にて培養する。

*1：CELLOTION™ を用いますと、高い細胞回収率が得られます。

<http://www.zenoaq.jp/cellbanker/ja/cellotion.html>

*2：300G、5~10 分が目安となります。