

iPS細胞の凍結・解凍方法の検討

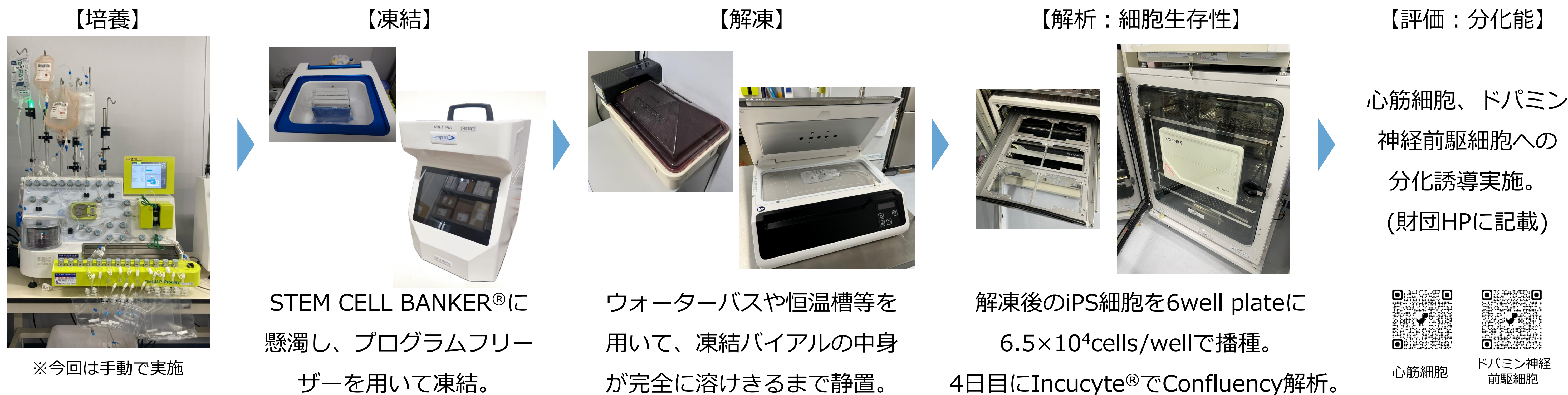
上田杏菜、山下優美、塚原正義（京都大学iPS細胞研究財団）



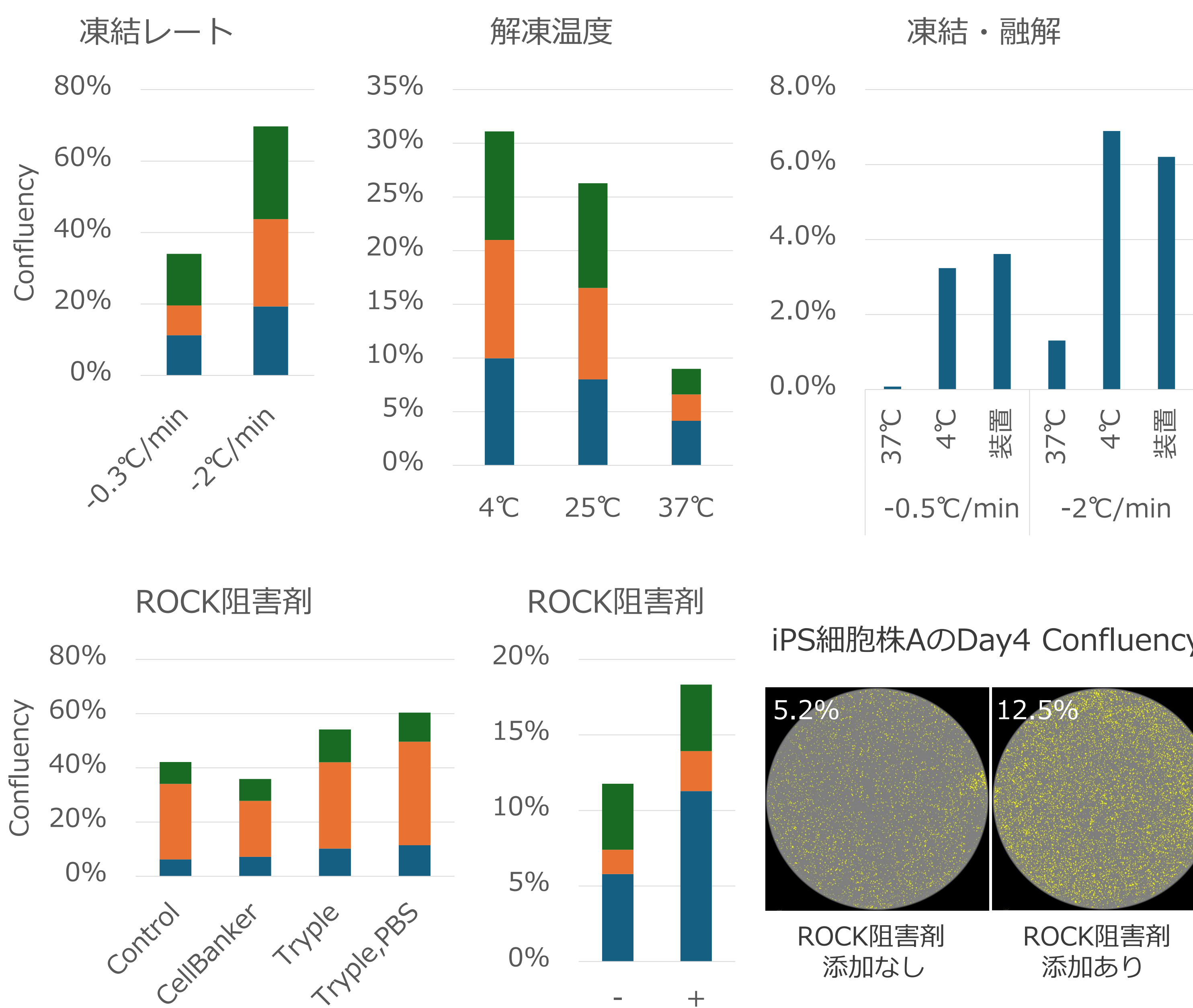
はじめに

- ◆ **課題**：iPS細胞の解凍後の生存性（接着し増殖する細胞の割合）が悪い。
- ◆ **目的**：凍結・解凍方法を改良し、生存性向上。
- ◆ **背景**：バイアル（1mL）を用いたこれまでの結果（右図）で急速凍結・緩慢解凍やROCK阻害剤の添加により生存性向上を確認。
- ◆ **本報告**：自動培養装置用の閉鎖系50mLバックを用いて同様の検討を実施。併せて細胞品質への影響を評価。

方法



結果【細胞生存性】

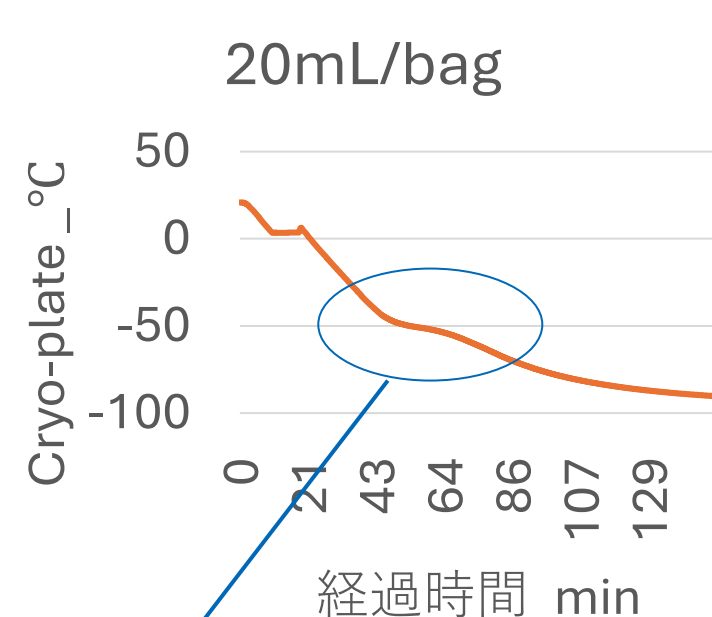
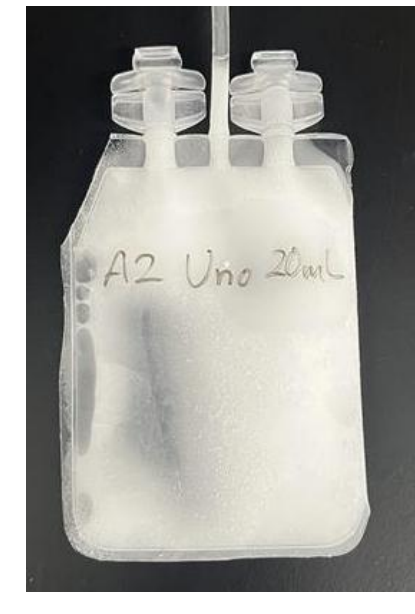
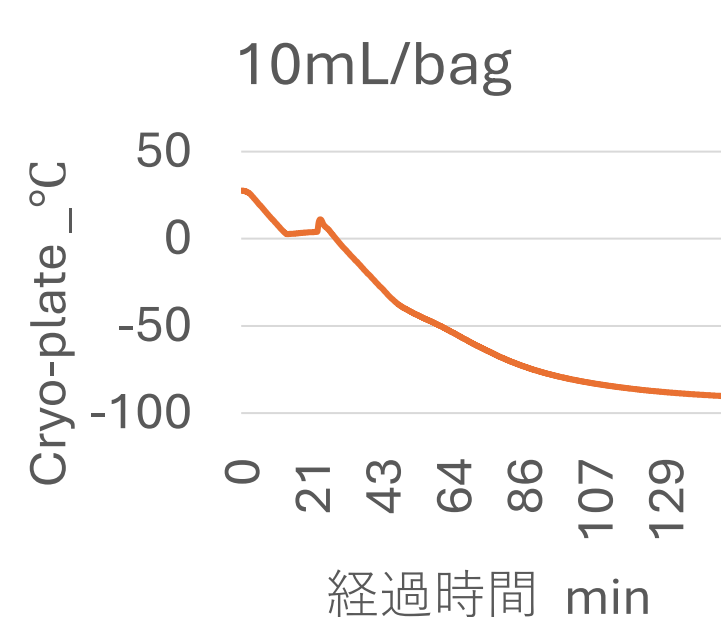
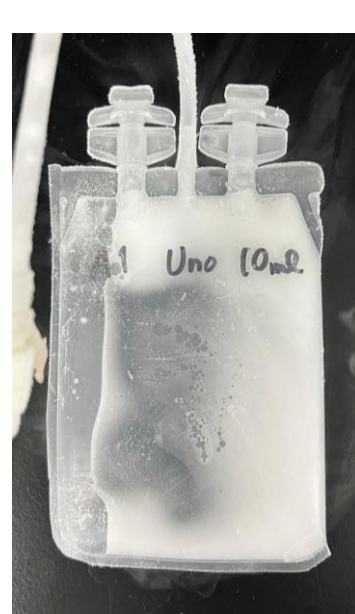


- 凍結バッグの場合であっても、バイアルと同等の結果が得られた。
- -2℃/minの急速凍結・4℃での緩慢解凍が細胞生存性が高い。
- 細胞融解装置(VIAThaw)を用いての解凍では4℃と同程度。
- トリプシン、PBS、CELLBANKERにROCK阻害剤の添加は有効。

課題と今後の展開

- 【凍結】
- ✓ 内容量(10mL,20mL)が多くなると急速凍結が困難。
 - ✓ 一度に冷却可能なバッグに個数制限あり。
 - ✓ バッグでのセルバンク専用の凍結装置が必要。
- 【解凍】
- ✓ 厚みが均等にならないため、解凍時にムラがでる。

内容量によるバッグの凍結状態の違い



冷却機能が追いつかず、一定のレートで冷却できていない

まとめ

- 凍結バッグにおいても急速凍結・緩慢解凍条件が細胞生存性が高い。
- 細胞剥離試薬へのROCK阻害剤の添加は有効。
- 凍結・融解条件が品質へ与える影響は少ない。
- バッグの方が解凍時の温度の影響が大きい。

謝辞

本研究は、AMEDの課題番号JP 24bm1323001の支援を受けました。本研究は、多くの寄付者様の多大なご支援により実施されました。