

血清の低温保存におけるCorning® PET製 および他社製PETG製培地ボトルの性能

CORNING

アプリケーションノート

Xiaojun Wang and Xuebin Wang
Corning Incorporated, Life Sciences
Shanghai, China

はじめに

血清は細胞培養培地の最も重要な成分の一つであり、多くの哺乳動物細胞（腫瘍細胞や初代細胞など）の増殖を維持するために重要な役割を果たしている。血清には、細胞の成長に不可欠な栄養素である様々なアミノ酸、ビタミン、ミネラル、脂質、核酸誘導体が含まれる^{1,2}。さらに血清中のフィブロネクチンやラミニンは、細胞の接着や伸長を促進する成分であり、特に接着細胞の培養容器表面への接着に必要となる。

生物学用試薬を保存する際に、その成分の純度と品質を保つことは重要である。組成の変化はその試薬を使用した実験結果へ影響し、実験の失敗や信頼性のないデータを生み出す原因となる。ポリエチレンテレフタレート (PET) は透明なプラスチック樹脂で生物学用試薬やその他溶液の保存容器に使用されている。PETは柔軟性がありO₂やCO₂のガスバリア性をもつため、パッケージング用素材として最も一般的に使用されている³。

また、PETは幅広い温度帯で使用でき、推奨下限温度は-40℃である。ただし、試薬やバッファー溶液の長期保存の場合は-70℃まで耐えうる⁴。

本試験では、血清をCorning PET製培地ボトルと他社製PETG製ボトルに入れ、-80℃で30日間保存した。血清は融解後L929およびAE-1細胞の培養に用いた。これら一般的な細胞株の増殖と形態を確認した結果、Corning PET製ボトルおよびPETG製ボトルで低温保存した血清の性能に差はみられなかった。

材料と方法

細胞株

- ▶ L929、マウス結合組織、接着細胞 (ATCC® CCL-1)
- ▶ AE-1、マウスハイブリドーマ、浮遊細胞 (ATCC HB-72)

培地と試薬

- ▶ ダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM, Corning カタログ番号 10-017-CV)
- ▶ リン酸緩衝生理食塩水 (PBS, Corning カタログ番号 21-040-CV)
- ▶ 0.25%トリプシンを含むHBSS (カルシウム、マグネシウム不含) (Corning カタログ番号 25-050-CI)
- ▶ オーストラリア産牛胎児血清 (FBS, Corning カタログ番号 35-076-CV)

培養容器

- ▶ 細胞培養表面処理済みフラスコ25 cm² (Corning カタログ番号 430639)

ボトルサンプル

- ▶ Corning PET製培地ボトル、1 L (Corning カタログ番号 432334)
- ▶ 他社製角形PETG製ボトル、1 L

血清保存

各ボトル3本にCorning オーストラリア産牛胎児血清100 mLを入れ、-80℃フリーザーで30日間保存した。

細胞培養：増殖および形態分析

-80℃で30日間保存した血清を融解後、DMEMに10%の濃度になるように加えた。その血清と培地の混合液をL929およびAE-1細胞の培養に用いた。細胞培養表面処理済みフラスコ25 cm²に1 × 10⁵細胞を播種した。細胞は37℃、5% CO₂インキュベーターで6日間培養した。細胞の形態的特徴は10倍率の顕微鏡で毎日観察した。6日間の培養後、細胞をコニカルチューブに回収し、細胞数をカウントした。非凍結牛胎児血清をコントロールとして使用した。

結果

-80℃で30日間保存し、融解したCorning PET製培地ボトルおよび他社製PETG製ボトルに外見上の変化はなかった。

また、Corning PET製培地ボトルおよび他社製PETG製ボトルに入れて凍結した血清を用いて培養した二つの細胞株において、その増殖に差はなかった。(表1)

さらに、それぞれのボトルで凍結した血清を用いて培養した二つの細胞株について形態的な違いは見られなかった。(図1、2)

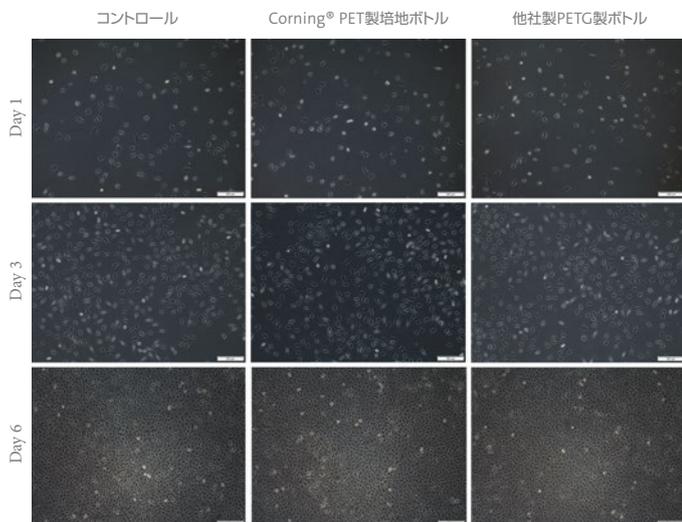


図1. Corning PET製培地ボトルと他社製PETG製ボトルで凍結保存した血清を用いて培養したL929細胞。

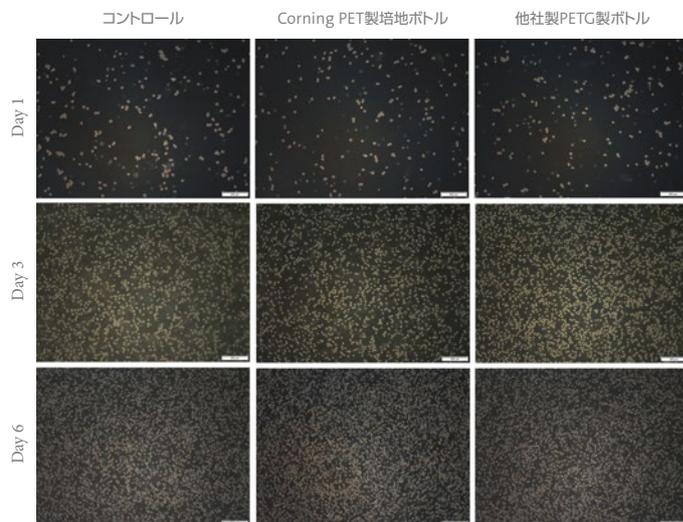


図2. Corning PET製培地ボトルと他社製PETG製ボトルで凍結保存した血清を用いて培養したAE-1細胞。

表1. Corning PET製培地ボトルと他社製PETG製ボトルで凍結保存した血清を用いて培養した細胞の播種時と回収時の細胞カウント

細胞タイプ	血清保存に使用したボトル	播種時の細胞カウント (Day 1)	回収時の細胞カウント (Day 6)	増殖の対コントロール比
L929	コントロール	1.00×10^5	2.25×10^6	-
	Corning PET製培地ボトル	1.00×10^5	2.28×10^6	101%
	他社製PETG製ボトル	1.00×10^5	2.20×10^6	97%
AE-1	コントロール	1.00×10^5	2.33×10^6	-
	Corning PET製培地ボトル	1.00×10^5	2.43×10^6	104%
	他社製PETG製ボトル	1.00×10^5	2.46×10^6	105%

結論

- ▶ -80°C で30日間凍結保存し、融解したCorning PET製培地ボトルおよび他社製PETG製ボトルに外見上の変化はなかった。
- ▶ Corning PET製培地ボトルおよび他社製PETG製ボトルに入れて -80°C で30日間凍結保存した血清の性能に有意な差は見られなかった。

参考文献

1. Lane B, Miller S. Preparation of large numbers of uniform tracheal organ cultures for long-term studies. I. Effects of serum on establishment in culture. *In Vitro* (1976) 12:147-154.
2. Von Seefried A, Macmorine H. The use of fetal, calf and adult bovine sera for the growth of serially sub-cultivated diploid cells. *Dev Biol Stand* (1976) 37:83-89.
3. Packaging diagnostic reagents with confidence. *Pharma* (2011).
4. Carter SM, Granchelli J. Thermo Scientific Nalgene PETG bottle performance at -70°C .

・価格は2020年2月現在のものです。価格は税抜き価格で記載しております。
 ・商品の外観・仕様は予告無しに変更することがあります。予めご了承ください。
 ・For a listing of trademarks, visit www.corning.com/lifesciences/trademarks.
 All other trademarks are the property of their respective owners.
 ・保証・免責事項：特に記載がない限り、記載中の製品は研究用機材および試薬です。診断、または治療用途には使用しないでください。また人体には使用しないでください。
 コーニングライフサイエンスは本製品の臨床または診断用途でのいかなるパフォーマンスについても保証しません。

CORNING

総販売元

コーニングインターナショナル株式会社
 ライフサイエンス事業部

〒107-0052 東京都港区赤坂1-11-44 赤坂インターシティ7階
 Tel: 03-3586-1996 Fax: 03-3586-1291
www.corning.com/lifesciences
CLSJP@corning.com

技術サポートへのお問い合わせは
 Tel: 03-3586-1268
ScientificSupportJP@corning.com