

ヒトiPS細胞由来心筋細胞の大容量での凍結と融解の実践

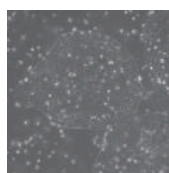
細胞加工製品、再生医療等製品の発展に伴い、今後の再生医療では、細胞培養工程のスケールアップが必須条件になっています。しかし、スケールアップの開発では、細胞培養やその他の工程において、作業効率が落ちるのではないか？という懸念があります。また、患者自身の細胞(自家細胞)を使用する場合、採取後の培養に時間がかかるため、すぐに治療に使用することができません。そこで現在注目されているのが、ドナーから提供された細胞、つまり他家細胞(ES細胞、iPS細胞)の使用です。ドナーから採取した細胞を事前に大量培養しておくことで、より早く治療に使用することができます。今回、予備実験における未分化iPS細胞の凍結保存の成功を元にして、iPS細胞から分化した心筋細胞について、治療で利用できるスケールでの凍結保存に関する検討を実施しました。

予備実験(前回までの報告)

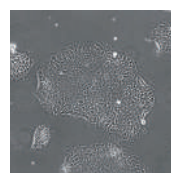
- ▶ 未分化iPS細胞(凍結保存液: STEM-CELLBANKER®)
- ▶ 濃度: 5×10^6 cells/mL、液量: 70mL
- ▶ 凍結保存バッグ: ミルテニーバイオテック社クライオマックス凍結保存バッグ250mL
- ▶ 凍結保存期間: 1.5ヶ月
- ▶ 解凍処理合計時間30分
※2mLバイアル(液量: 1.5mL)×47本分実施した場合、合計処理時間は90分
- ▶ 解凍時生存率: 95.5%
- ▶ 解凍後の増殖率(播種細胞数: 0.1×10^6 cells、4日間培養)
250mLバッグ: 2.55倍
コントロール(2mLバイアル1本): 2.49倍
2mLバイアル47本分: 1.85倍



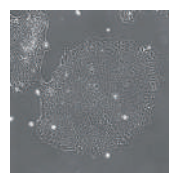
ThawSTAR CBでの解凍時の凍結保存バッグ



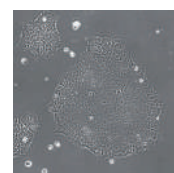
凍結前細胞



47本バイアル



250mLバッグ



コントロール1本

結論 大容量の凍結保存、解凍作業で、細胞への影響は非常に少なく、作業効率のUPが可能である。

実験

本実験では、研究用iPS細胞を心筋細胞に分化し、2回の凍結実験を行い、評価しました。

- ▶ 研究用iPS細胞を心筋細胞に分化
- ▶ 心筋分化開始後15-17日目に細胞回収
- ▶ 濃度: 5×10^6 cells/mL、液量: 20mL
- ▶ 凍結保存バッグ: ミルテニーバイオテック社クライオマックス凍結保存バッグ50mL (2mL凍結バイアル(液量1.5mL)14本分)
- ▶ 凍結保存期間: 1-2週間(-150℃)

ThawSTAR CB

凍結細胞融解ステーション(凍結バッグ用)



1 ラベル作成・貼付

2 凍結操作

3 凍結保存

4 解凍作業

5 解凍後培養

- ▶ 処理時間と解凍後の生存率

*比較対象: 2mLバイアル14本(液量21mL)

1 7.5分

2 6分

4 60分

▶ 合計: 1時間以上 生存率: 94%

*1回目50mLバッグ(液量20mL)

1 3.6分

2 3分

4 10分

▶ 合計: 20分以内 生存率: 91%

*2回目50mLバッグ(液量20mL)

1 3.6分

2 3分

4 10分

▶ 合計: 20分以内 生存率: 91.5%

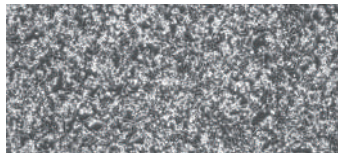


ワケンビーテック株式会社

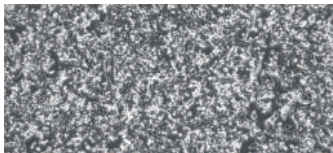
▶ 解凍接着培養

2日間培養

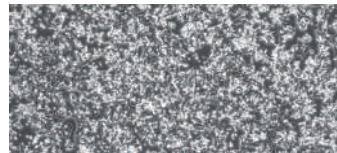
2mLバイアル14本



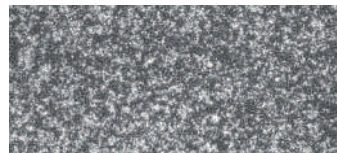
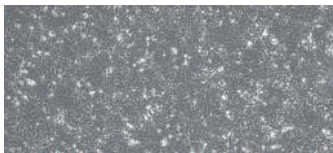
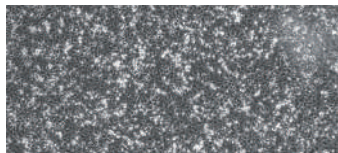
50mLバッグ1回目



50mLバッグ2回目



6日間培養

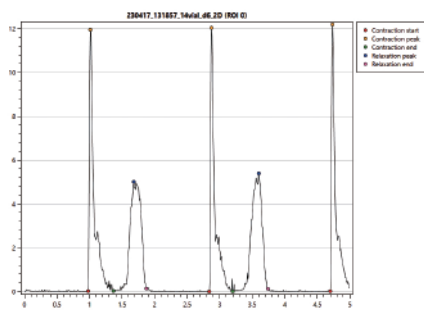


50mL バッグ保存細胞は、14バイアルと同等の接着性を示した。差は見られなかった。

▶ 解凍接着培養6日後 拍動解析(SONY SI8000)

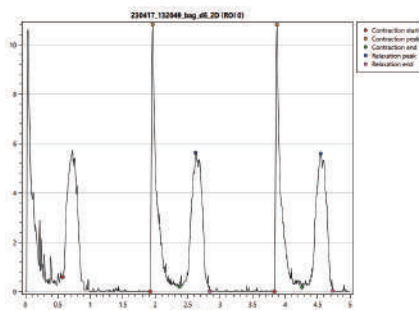
14vial

拍動数:32.3回/min



50mLBag

拍動数:31.4回/min



50mLバッグ保存細胞は、14バイアルと同等の拍動を示した。差は見られなかった。

▶ 心筋球作製能力

凍結前



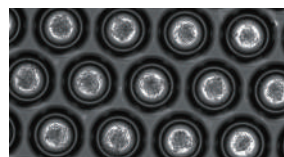
2mLバイアル14本



50mLバッグ1回目



50mLバッグ2回目



50mLバッグ保存細胞は、14バイアルと同等の心筋球作製能力を示した。差は見られなかった。

【データ提供元：慶應義塾大学 医学部循環器内科 遠山 周吾 講師の研究グループ】

各製品については、弊社までお問い合わせ下さい。

※ 本カタログ掲載品は全て研究用です。医療用には使用できませんので、ご注意ください。

※ 希望小売価格・外観・仕様・付属品などについては、改善の為に予告なく変更することがあります。希望小売価格には消費税は含まれておりません。



ワケンビーテック株式会社

WAKEN B TECH CO., LTD.

東京支店 〒135-0034 東京都江東区永代2丁目31番1号 いちご永代ビル6階
TEL (03) 5621-2420 / FAX (03) 5621-2421
西日本営業部 〒525-0058 滋賀県草津市野路東7丁目2番62号
TEL (077) 561-0081 / FAX (077) 561-0082

サポート
デスク

使用法や修理などに関するご相談・お問い合わせ



0120-749-810

営業時間 月曜～金曜 9:00～17:00 (祝祭日・弊社休日を除く)



販売店