



Application

# バンバンカーDMSO FreeによるRAW264細胞の保存事例

製品名

バンバンカーDMSO Free (Cat.No. CS-09-001)

メーカー名

株式会社GCリンフォテック



下記データは、日本ベルム株式会社 R&D 部 小笠原明彦様の御厚意により掲載させていただきました。

## 製品特長

本製品は、DMSOを含まない細胞凍結保存液です。

多くの場合、細胞凍結保存液にDMSOが含まれているため、DMSOによる影響を懸念される場合は、本製品をお試しください。

〈お客様が本製品をご選択いただいた理由〉

RAW264 (マウス由来マクロファージ様細胞) を使用して、サイトカインの誘導能を評価した際に、DMSOに懸濁したRAW264では、サイトカイン誘導能が抑制される傾向が見られたため、保存の段階からDMSO Free を選択しました。

## 評価方法

### ■ 細胞培養条件

使用した細胞：RAW264 (マウス由来マクロファージ様細胞)

培地：RPMI-1640 Medium (L- グルタミン、HEPES、カナマイシン、ペニシリンを含む) + 10% FBS

- RPMI-1640 培地 (Sigma-Aldrich, R8758-500 ML)
- HEPES (富士フィルム和光純薬株式会社, 340-01371)
- カナマイシン硫酸塩 (富士フィルム和光純薬株式会社, 113-00343)
- ペンジルペニシリンカリウム (富士フィルム和光純薬株式会社, 023-07731)
- Fetal Bovine Serum, qualified, Australia (Thermo Fisher Scientific, 10099141)

インキュベーター：37℃, 5%CO<sub>2</sub>, 湿度90%

### ■ 凍結時の方法

培養したRAW264細胞 (生存率95 ~ 99%) を遠心後、 $5.5 \times 10^6$  cells/mLとなるようにバンバンカー DMSO Free にて懸濁

→ 凍結チューブに1 mL ずつ分注

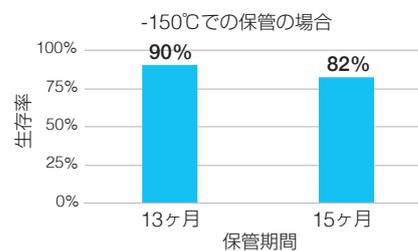
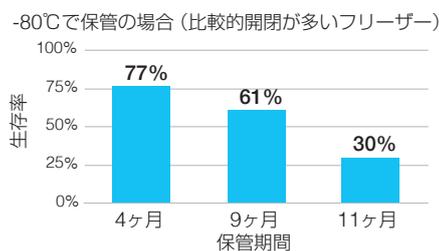
→ 凍結チューブを、バイセル (日本フリーザー株式会社) の中に入れて-80℃のフリーザーで凍結

→ -80℃のラックに移して保管。一部のサンプルは、-150℃に移して保管

### ■ 解凍後の細胞生存率

生存率の測定方法：トリパンブルー染色とC-Chipを用いた顕微鏡での目視による測定

## 結果



**結果：バンバンカー DMSO Free を用いて凍結保存することができた。**

補足：一般的に-80℃で長期保管すると、生存率が低下します。

長期保管の際は、取扱説明書に記載のとおり液体窒素タンクでの保管など、できる限り低温 (-150℃, 液体窒素タンクなど) で保管していただければと存じます。(日本ジェネティクス株式会社より)



### お客様のコメント

保存期間が長くなったり、保存状態が悪い (-80℃で開閉が多いフリーザー) と生存率が下がりますが、特に問題無く保存ができています。また、30世代まで継代を行うことができました。