日本化学会 第101春季年会 (2021)

生体適合性双性イオンを利用したスフェロイドの凍結保存

(金沢大理工[1],金沢大新学術[2],金沢大がん研[3])
○石﨑 建[1]・高橋 憲司[1],・仁宮 一章[2]・石橋 公二朗[3]・平田 英周[3]・黒田 浩介[1*]

Zwitterions as low-toxic cryoprotectants for cells

([1]*Faculty of Biological Science and Technology, Institute of Science and Engineering, Kanazawa University,* [2]*Institute for Frontier Science, Kanazawa University,* [3]*Cancer Research Institute, Kanazawa University*)
○Takeru Ishizaki[1], Kenji Takahashi[1], Kazuaki Ninomiya[2], Kojiro Ishibashi[3], Eishu Hirata[3], Kosuke Kuroda[1*]

Cryopreservation of tissues can accelerate development of regenerative medicine. Cryopreservation of tissues is known to be much more difficult than cryopreservation of cells because of disruption of intercellular structures by ice crystal formation during freezing. In previous study, we have proposed zwitterions as novel cryoprotectants. In this study, spheroids were cryopreserved.

Spheroids of mouse melanoma cells were cryopreserved using zwitterions. A zwitterion aqueous solution (10 wt%) showed low cell viability. Mixing the zwitterion with dimethyl sulfoxide, which is a general cell-permeable cryoprotectant, resulted in high cell viability because the zwitterion used in this study is a non-cell-permeable cryoprotectant.

Keywords : Cryopreservation, zwitterion, Spheroid, Ionic liquid, Cell

組織を長期間凍結保存することができれば再生医療の効率を飛躍的に上昇させることができる。しかし組織は凍結時に形成される氷晶によって細胞間の結合が破壊される可能性があり、細胞単体の凍結保存に比べて非常に困難である。これまで我々は新しいタイプの細胞の凍結保存剤として双性イオン (Fig. 1)を提案した[1)]。本研究では組織の凍結保存の前段階として、細胞塊であるスフェロイドの凍結保存を行い、双性イオンがスフェロイドにも優れた凍結保存効果を示すのか検証した。

実際に、双性イオンを用いてマウスメラノーマ細胞スフェロイドの凍結保存を行なった。その結果、10 wt%双性イオン水溶液を用いたときの生存率は、市販の細胞凍結保存剤に比べ低い結果となった (Fig. 2) 。しかし、細胞膜浸透性の凍結保存剤として一般的に使用されるジメチルスルホキシド (DMSO)と双性イオンを混合させることで、市販品と同等あるいはさらに高い生存率を示した。特に双性イオン/DMSO/水 (15/10/75, w/w/w)を用いたときの細胞生存率はほぼ 100%であった。このことから、スフェロイドの凍結保存には、細胞膜非浸透性の双性イオンと細胞膜浸透性の DMSO の両方が必要であることが考えられる。

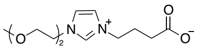

Fig. 1 A structure of zwitterion

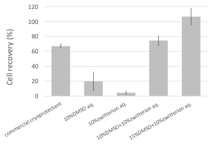

Fig. 2 Cell recovery after cryopreservation of spheroids using indicated solutions.

1) K. Kuroda *et al.*, *Commun. Chem.* **2020**, *3*, 163.

© The Chemical Society of Japan