

細胞挿入性アンカーを持つ双性イオンポリマーを用いた凍結保存

(金沢大理工¹・金沢大学がん研²) ○松田 佑也¹・石崎 建¹・高橋 憲司¹・平田 英周²・黒田 浩介¹

Cryopreservation of cells by anchoring zwitterionic polymer

(¹Faculty of Biological Science and Technology, Institute of Science and Engineering, Kanazawa University, ²Cancer Research Institute, Kanazawa University) ○Yuya Matsuda¹, Takeru Ishizaki¹, Kenji Takahashi¹, Eishu Hirata², Kosuke Kuroda¹

When cryopreserving cells, ice crystals formed during freezing and thawing damage the cells. In our previous work, we proposed a zwitterionic polymer as a cryoprotectant of cells. poly(ZI) strongly interacts with the cell membrane and forms a polymer matrix that could prevent the influx of ice crystals from outside the cells.

In this study, we evaluated the effect of zwitterionic polymer modified with anchors that insert into the cell membrane. The result shows that the zwitterionic polymer with anchors exhibited a stronger cryoprotective effect than the zwitterionic polymer without the anchors. In addition, we examined where the zwitterionic polymer exists by confocal microscopes before and after freezing, and this polymer was concentrated on the cell membrane surface. The alkyl anchor of the zwitterionic polymer contributes to successful cryopreservation through membrane protection.

Keywords : cell; cryopreservation; zwitterion; ionic liquid

凍結保存において、細胞は凍結・解凍時に形成される氷晶によって傷つけられてしまう。これまで我々は、細胞の凍結保存剤として双性イオンポリマー (poly(ZI)) (Fig. 1a) を提案した。poly(ZI)は細胞膜と強く相互作用することでポリマーマトリックスを形成し、細胞外からの氷晶の流入を防ぐことができると考えられている。

本研究では、細胞膜にアンカーし得る長鎖アルキルを導入した双性イオンポリマー (poly(ZI-C₁₆)) (Fig. 1a) の凍結保護効率を検証した。結果として、poly(ZI-C₁₆)は、凍結に弱い細胞種において poly(ZI)よりも高い凍結保護効率を示した (Fig. 1b)。さらに、共焦点顕微鏡による観察によって、poly(ZI-C₁₆)が細胞膜周辺に局在していることがわかった。これらの結果から、凍結時において長鎖アルキルを双性イオンポリマーが細胞周辺を囲むことで細胞膜を保護していることが示唆された。

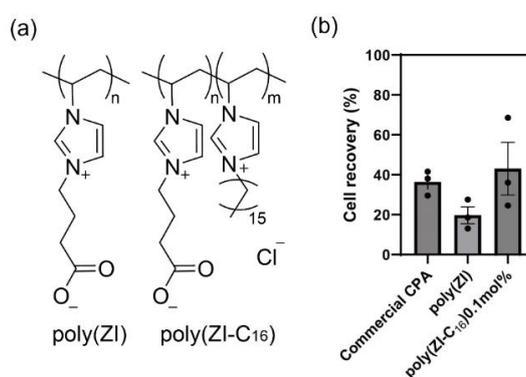


Fig 1. (a) Structures of poly(ZI) and poly(ZI-C₁₆). **(b)** K562 cell recovery after a freeze and thaw with commercial, poly(ZI), and poly(ZI-C₁₆) solutions

凍結に弱い細胞種において poly(ZI)よりも高い凍結保護効率を示した (Fig. 1b)。さらに、共焦点顕微鏡による観察によって、poly(ZI-C₁₆)が細胞膜周辺に局在していることがわかった。これらの結果から、凍結時において長鎖アルキルを双性イオンポリマーが細胞周辺を囲むことで細胞膜を保護していることが示唆された。