

双性イオンを用いた一般的な冷凍庫での細胞の非凍結保存

(金沢大理工¹, 金沢大がん研²)

○八川 祥子¹・石崎 建¹・高橋 憲司¹・石橋 公二郎²・平田 英周²・黒田 浩介¹

Preservation of cells in liquid state at -25 degree C in a general freezer using zwitterions
(¹Faculty of Biological Science and Technology, Institute of Science and Engineering, Kanazawa University, ²Cancer Research Institute, Kanazawa University)

○Sachiko Hachikawa¹, Takeru Ishizaki¹, Kenji Takahashi¹, Kojiro Ishibashi², Eishu Hirata², Kosuke Kuroda¹

Cryopreservation of cells is one of the essential techniques for basic researches and medicinal applications. However, ice crystals form during freezing and thawing, and the crystals damage the cells. Therefore, the best way to solve the problem is to store the cells in liquids. In previous study, we have proposed zwitterions as new cryoprotectants. In this study, cells were stored in liquid containing zwitterions because zwitterions prevent ice crystal formation. Human kidney cells were stored in a mixture of the zwitterion, dimethyl sulfoxide, and water (10/20/70, w/w/w) in a general freezer (-25 °C) for 3 days. The solution was liquid at -25 °C and gave high cell viability was observed. This indicates that the zwitterionic solution is possible to preserve cells in liquid.

Keywords : Cryopreservation; zwitterion; Subzero temperature; Ionic liquid; Cell

細胞の凍結保存は研究や医療において必要な技術の一つである。しかし、凍結や解凍時に氷晶が形成されて細胞を傷つけてしまう。そのため、この問題を解決するためには液体中での保存が最も適していると考えられる。これまで私たちの研究室では新しい凍結保存剤として双性イオンを提案してきた¹⁾²⁾。本研究では低温下で液体状態を保ちやすい双性イオン水溶液の性質に注目し、細胞の非凍結低温保存に適用した。

双性イオンの一種である OE₂imC₃C (Fig. 1) 水溶液を用いてヒト腎臓細胞 (BOSC) を-25 °Cの冷凍庫で3日間保存した。しかし、30 wt%以下の OE₂imC₃C 濃度では溶液が-25 °Cで固体になってしまった。そこで、ジメチルスルホキシド (DMSO) の混合を行った。その結果、OE₂imC₃C/DMSO/水 (10/20/70, w/w/w) を用いた時、溶液は-25 °Cで液体状態であり、高い細胞生存率 (83%) を示した。これらのことから、双性イオンと DMSO を組み合わせることで、低温でも液体状態で細胞を凍結保存できることが分かった。その一方で、市販の凍結保存剤を使って同様に-25 °Cで凍結保存した場合でも同様の生存率 (89%) が得られることが分かった。そのため今後は、凍結に弱い細胞などを利用して本手法の優位性を確認していく必要があると考えられる。

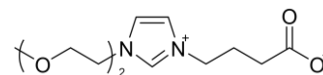


Fig. 1 A structure of zwitterion

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

2) Y. Kato, K. Kuroda *et al.*, *Commun. Chem.*, **2021**, 4, 151.