

極東 凍結保存用培地 FM-1

1988年、大野らにより発表された無血清培養細胞用のための凍結保存用培地です。細胞の凍結保存は一般にはジメチルスルホキシドまたはグリセリン並びに血清を含む培地が広く使用されておりますが、無血清培養が盛んになるにつれ無血清状態での凍結保存用の培地が望まれるようになってきました。近年、血清に代わるものとしてメチルセルロースを使用することにより生細胞の回収率を高めることが知られるようになりました。本培地はこの処方に基づいております。

この凍結保存用培地は、通常血清で培養している細胞の凍結にも使用できます。使用法は無血清培養の場合と同じです。

《組成》	1L中
イーグル MEM 培地(高圧滅菌用)	9.4g
メチルセルロース	2.0g
ジメチルスルホキシド(DMSO)	200.0mL
L-グルタミン	0.3g
炭酸水素ナトリウム	1.0g
純水	800.0mL

イーグル MEM 培地の組成	(mg/L)		(mg/L)
L-アルギニン塩酸塩	126.0	パントテン酸カルシウム	1.0
L-システイン塩酸塩(一水塩)	31.4	塩酸ピリドキサール	1.0
L-チロシン	36.0	リボフラビン	0.1
L-ヒスチジン塩酸塩(一水塩)	42.0	塩酸チアミン	1.0
L-イソロイシン	52.0	ビオチン	0.02
L-ロイシン	52.0	塩化ナトリウム	6,800.0
L-リジン塩酸塩	73.0	塩化カリウム	400.0
L-メチオニン	15.0	塩化カルシウム(無水)	200.0
L-フェニルアラニン	32.0	硫酸マグネシウム(無水)	93.5
L-スレオニン	48.0	リン酸二水素ナトリウム(無水)	115.0
L-トリプトファン	10.0	ブドウ糖(無水)	1,000.0
L-バリン	46.0	コハク酸	75.0
重酒石酸コリン	1.8	コハク酸ナトリウム(六水塩)	100.0
葉酸	1.0	カナマイシン	60.0
イノシトール	2.0	フェノールレッド	6.0
ニコチン酸アミド	1.0		

《操作法》

[FM-1 を用いた細胞の凍結法]

すべての操作を無菌的に行ってください。

本培地は凍結保護剤が 2 倍濃度になっています。

- ①本培地 1 本(5mL)に対して、通常の培養に使用している培養液に懸濁した細胞浮遊液を 5mL 加えます(1:1)。または細胞浮遊液に本培地を 1:1 になるように加えます。
- ②①を滅菌済みのセラムチューブまたはアンプルに詰め、密封し、凍結用発泡スチロール容器に入れ、-80℃以下に保存します。あるいはプログラムフリーザーで凍結します。
細胞密度は 10^6 cells/mL 以上になるように調製してください。

注)本培地は、メチルセルロースの沈殿が出るがありますが、性能に変わりはありません。

[凍結細胞の融解と再培養の方法]

- ①-80℃以下に保存されているアンプルを一気に 37℃の温湯の中に入れ手で振りながら急速に融解します。
- ②融解後開封し、通常の培養液で 5~10 倍に希釈して 1000r.p.m.程度の遠心力で 3~5 分遠沈します。
- ③上清を捨て、通常の培養液を必要量加え、培養容器に移して培養を開始します。必要ならば通常の培養液による細胞の洗浄を再度行ってください。一夜培養後、培養液を交換すると培養状態は一層良くなります。

《貯 法》

冷暗所(2~10℃)に保存してください。

《包装単位》

5mL×5 本

《有効期間》

1 年間

《参考文献》

1. 大野忠夫:細胞工学, 7(2):171-172, (1988)
2. T. Ohno, K. Kurita, S. Abe, N. Eimori and Y. Ikawa:A simple freezing medium for serum-free cultured cells. Cytotechnology 1:257-260(1988)

極東製薬工業株式会社

〒103-0024 東京都中央区日本橋小舟町 7 番 8 号

電話 (03)5645-5664 Fax (03)5645-5704