

Cellbox における細胞生存率の解析

1. 方法

1.1 細胞培養

培養細胞は、ヒト子宮頸がん細胞株由来である HeLa 細胞、チャイニーズハムスターの卵巣由来である CHO 細胞、ヒト胎児の腎由来である HEK293 細胞を用いた。

HeLa 細胞は Dulbecco Modified Eagle 培地 (Sigma Aldrich) に、10% ウシ胎児血清 (FBS, GLBCO) とペニシリンストレプトマイシン溶液 (WAKO) を添加したものを培地として用いた。

CHO 細胞は F-12 Ham 培地 (Sigma Aldrich) に、10% ウシ胎児血清 (FBS, GLBCO) とペニシリンストレプトマイシン溶液 (WAKO) を添加したものを培地として用いた。

HEK293 細胞は Dulbecco Modified Eagle 培地 (Sigma Aldrich) に、10% ウシ胎児血清 (FBS, GLBCO) を添加したものを培地として用いた。

また、どの細胞も前日に 96well dish に継代を行い、37°C、CO₂ 濃度 5% のインキュベーター内で細胞が 70~90% コンフルエントになるまで培養したものを実験に用いた。

1.2 細胞の輸送

培養細胞 3 種をそれぞれ、Cellbox を用いた群 (以後 Box 群) と、発泡スチロール製の箱に、37°C まで温めた保冷剤を入れた群 (以後 Control 群) に分け、車で二時間輸送した。

1.3 細胞観察・生存率の解析

培養細胞各種を、輸送前後で観察及び撮影を行った。観察前後で同じ領域について細胞数を計測し、細胞の生存率 (輸送後の細胞数/輸送前の細胞数) を計算した。

備考: 輸送前後で使用した顕微鏡の倍率が異なることから、正確に同じ領域にて計測は行えていない。

そのため、生存率の計算結果における誤差は大きいと考えられる。

2. 結果

2.1 観察画像

培養細胞3種について、Box群とControl群の輸送前後の画像をいかに示す。(図.1)

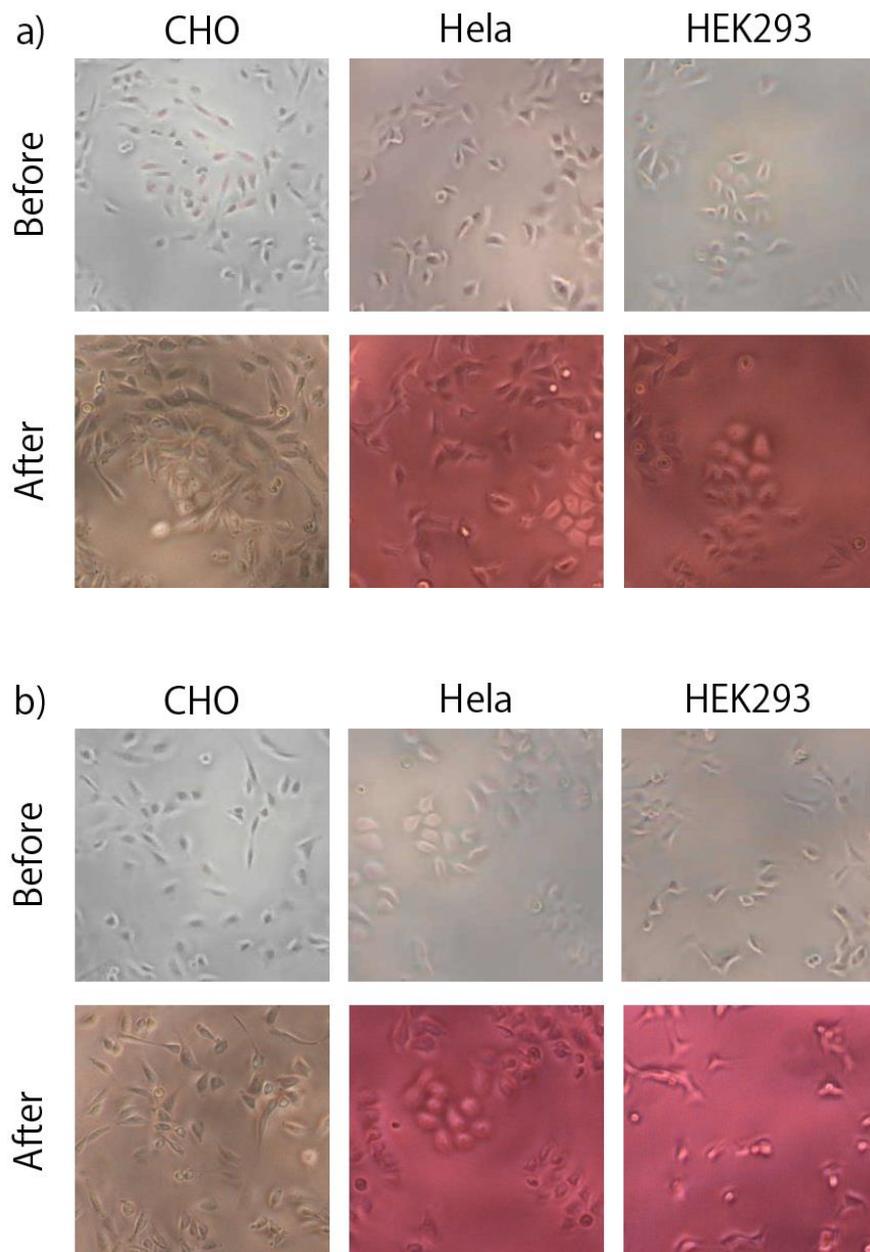


図.1 輸送前後の観察画像

a)Box 群の輸送前後の観察画像 b)Control 群の輸送前後の観察画像

2.2 生存率の解析

1.3 に示した手順に従って、細胞の生存率を求めた。(図.2)

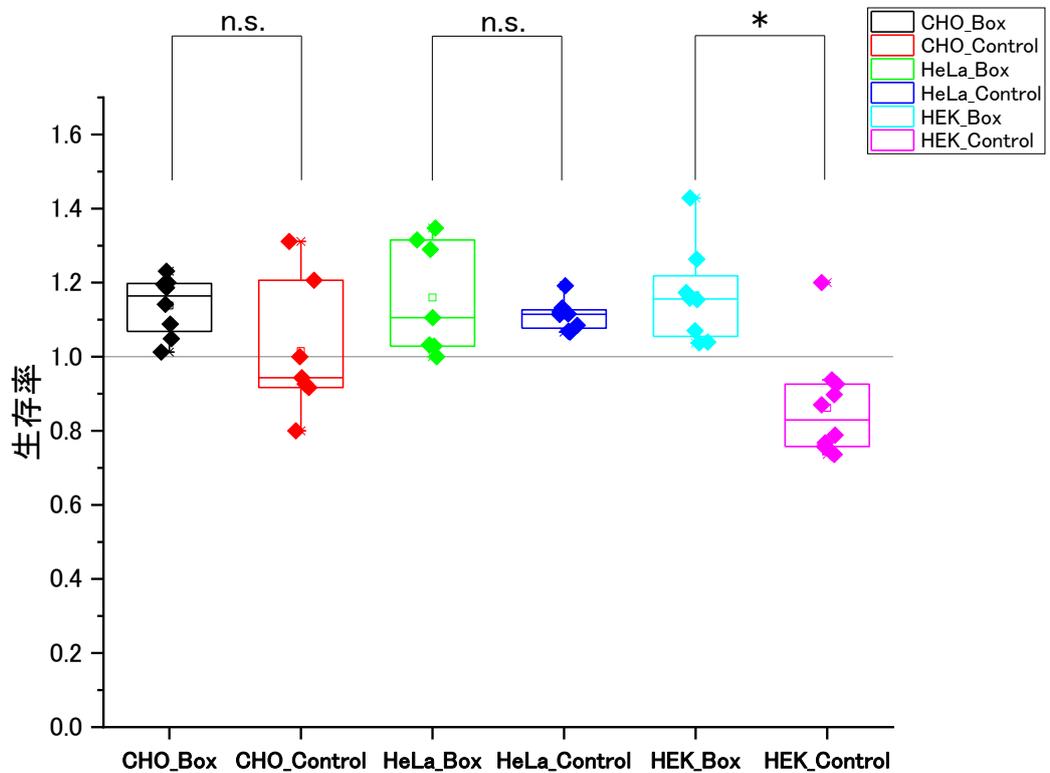


図.2 細胞の生存率

細胞の生存率は、CHO 細胞のうち、Box 群では 1.14、Control 群では 1.01 であり、二群の間に有意差はなかった。

また、HeLa 細胞のうち、Box 群では 1.16、Control 群では 1.11 であり、二群の間に有意差はなかった。

また、HEK293 細胞のうち、Box 群では 1.17、Control 群では 0.86 であり、二群の間に有意差があった($p < 0.001$)。

備考：継代一日後は対数増殖期にあたり、細胞固有の倍化時間(doubling time)で増殖する。CHO 細胞の doubling time は 16 時間前後、HeLa 細胞の doubling time は 22 時間前後、HEK293 細胞は 30 時間前後である。そのため、2 時間における細胞の生存率は、

CHO 細胞では $2^{\frac{2}{16}} \approx 1.09$ 倍 となり、HeLa 細胞では $2^{\frac{2}{22}} \approx 1.07$ 倍となり、HEK293 細胞は $2^{\frac{2}{30}} \approx 1.05$ 倍となる。

3. フィードバック

接着性が高い、CHO 細胞や HeLa 細胞では Box 群と Control 群で観察画像による見た目や生存率に大きく差はなかった。一方、接着性の低い HEK293 細胞では、Control 群で浮いている細胞が散見され、生存率の減少が見られた。

このことから、短時間の輸送においても、接着性の低い細胞に対しては Cellbox が有効に機能することが示唆される。

参考資料

細胞の倍化時間 (doubling time)

<https://www.cytion.com/Knowledge-Hub/Cell-Line-Insights/CHO-Cell-Line-in-Bioproduction-Applications-and-Innovations/>

<https://www.cytion.com/Knowledge-Hub/Cell-Line-Insights/HeLa-Cell-Line-Revolutionizing-Research/>

<https://www.cytion.com/Knowledge-Hub/Cell-Line-Insights/HEK293-Cell-Line-A-Cornerstone-in-Modern-Cellular-Research-and-Biotechnology/>