

FBS などの血清の保管・解凍・非働化

血清の安定性と性能を確保するためのベストプラクティス

FBS などの動物の血清は、タンパク質、脂質、塩類、ビタミン、ミネラル、アミノ酸など、細胞増殖に必要な成分を含んでいるため、培養細胞の栄養源として理想的です。血清は、正しく保管・取り扱われることで、その性能を長期間維持することができます。血清の保管・解凍が不適切な場合、その安定性だけでなく増殖促進効果も低下してしまいます。

血清の保管

動物の血清を効果的に保存するためには、遮光して冷凍保存する必要があります。推奨保存温度は-10~-40℃です。マイナス40℃以下では保存ボトルがもろくなり、破損する可能性が高くなります。

凍結融解の繰り返しは、血清成分の分解を促進し不溶性沈殿物を生じる可能性があるため避けて下さい。この理由により、血清は自動霜取り運転機能があるフロストフリー型冷凍庫では保管しないで下さい。霜取り運転の繰り返しは、冷凍保存されている血清の透明度・安定性を損ないます。

血清の解凍

1. 血清ボトルを冷凍庫から取り出し、10~20 分ほど常温に置きます。
2. 血清ボトルを 30~37℃のウォーターバスまたはインキュベーターに入れます。37℃を超えないことが非常に重要で、これより高い温度ではタンパク質が変性して、血清がゲル化する可能性があります。ウォーターバスを使用する場合は、ボトルのキャップが水没しないように、血清液面を超えてボトルを水没させないでください。ウォーターバスは、培地や血清の一般的な汚染源です。
3. 血清が完全に融けるまで、10 分毎にボトルを穏やかに揺すって血清を攪拌して下さい。激しく振ると泡立ってしまいます。解凍中は、融けた血清を十分に混ぜることが非常に重要です。攪拌が不十分であると、脂質やタンパク質が沈殿して、濁りや凝集物が生じることがあります。
4. 完全に融けたら、すぐにボトルをウォーターバスから出してください（ウォーターバスに入れたままにしないでください）。血清を高温に はいけません。
5. 完全に融けた血清はすぐに 2~8℃で遮光冷蔵保存します。凍結融解の繰り返しを避けるため 1 回分の使用量に小分け分注し、すぐに使用しない分は冷凍庫に戻してください。
6. 解凍により、凍結融解に起因する沈殿物、フィブリン、凝集物が微量に生じることがありますが、これらは血清の性能に影響しません。気になる場合は再度 37℃のウォーターバスに入れて、数分間穏やかに攪拌してください。通常はこの操作によりタンパク質や脂質が溶解します。また血清を培地に加えて 37℃でインキュベーションすることでも、沈殿物が溶解する可能性があります。

血清の非働化

1. 上記の方法で解凍した血清ボトルを常温に戻します。ウォーターバスに入れる直前に容器を揺すって血清を撈拌します。常温の水を入れたコントロールボトル(T1)を用意します。
2. 56°Cのウォーターバスに、血清ボトルおよびコントロールボトル(T1)を入れます。血清ボトルを揺すって撈拌してから、血清の液面のところまでウォーターバスに入れます。容器を完全に水没させないでください。T1の温度が56°Cになったら、30分間のタイマーをスタートさせます。温度が56°Cを超えないようにしてください。これより高い温度ではタンパク質が変性したり、血清がゲル化したり、血清の性能が変化したりします。
3. 5～10分おきに、血清ボトルをウォーターバスに入れたまま穏やかに揺すります。T1の温度も確認してください。熱処理後にプラスチック容器がわずかに反ることがありますが、血清に悪影響はありません。
4. 30分経過したら、血清ボトルをウォーターバスから出します。冷凍保存する場合は、ボトルを室温に戻してから冷凍庫に入れて下さい。血清が冷めないまま冷凍すると、容器にヒビが入ることがあります。必要に応じて、小分け分注してから冷凍して下さい。なお弊社では凍結融解の繰り返しはお薦めしていません。

★血清解凍時は沈殿物の形成を避ける

解凍時のポイントは血清の定期的な撈拌です。定期的に撈拌しないと、液体画分に血清成分の濃度勾配が生じます。この濃度勾配中には高濃度の塩、タンパク質、脂質が含まれており、これらが結晶性や凝集性の沈殿物を形成する可能性があります。この凍結融解に伴って生じる沈殿物(cryoprecipitates)は細胞培養に対して毒性はありませんが、血清の外観や成分組成に影響します。

推奨された方法で解凍しても沈殿物がわずかに生じることがありますが、これは通常のことで製品性能に影響はありません。しかし解凍法が不適切な場合、沈殿物が増加することがあり、多くは不溶性です。これらを除去するために血清をフィルターろ過すると、栄養成分をさらに損失する可能性があるためお薦めしません。

★解凍した血清の保存

解凍した血清は速やかにご使用ください。血清は冷蔵(2～8°C)では4週間まで保存可能です。凍結融解を繰り返す、または冷蔵で4週間以上保存してしまい未使用のまま廃棄するようなことを避けるために、すぐに使用しない血清は無菌条件下で速やかに小分け分注し、再度冷凍保存することをお薦めします。

シグマ アルドリッチ ジャパン リサーチ事業部 〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社はメルクのグループ会社です。

E-mail: jpts@merckgroup.com Tel: 03-6756-8245

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。なお、品目、製品情報、価格等は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。記載内容は2023年2月時点の情報です。©2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved. Merck, the vibrant M, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

Lit. No. TSM062-2302-K