

培地, 試薬, 血清

細胞培養の技術情報

ロンザは、長年の経験とイノベーションに裏打ちされた、膨大な種類の細胞培養培地と試薬を提供しています。ロンザは自身の努力とコレラポレーターとの協力により、技術サポートチームはロンザの多彩な培地と試薬に関するプロトコルや詳細な製品情報そして問題解決のためのヒントを提供することができます。本セクションでは、無血清培地

での培養、凍結保存と再構成、粉末培地の準備などに関する手順やヒントを通して、細胞培養技術に関連するよくある質問の多くにお答えします。ロンザの技術サポート部門は、細胞培養や培地に関連するその他数多くの技術的質問や懸念について、カスタマーをサポートする準備を整えています。

無血清培地への馴化

特定の細胞または細胞株を血清を含む培地での増殖から無血清培地での増殖へ移すことは、ウィーニングプロセスを通じて実現されます。ただし、ウィーニングがすべての細胞株に必要なわけではありません。細胞集団を無血清条件下に素早く移行するには、細胞を回収し、無血清培地で再懸濁します。いくつかの細胞型ではこれで問題ありませんが、定期的に培地交換を行った方が良い結果を生む可能性が高くなります。

ウィーニングプロセスにおいて、無血清状態で増殖可能な細胞の部分的集団が選択されます。このような細胞集団を選択は、細胞の物理的かつ栄養学的要素に依存しており、無血清組成が複雑なので困難になります。培養する細胞を UltraCULTURE™ 培地に移行することは比較的簡単です。なぜならこの培地は錯体組成であるためです。他の組成には、タンパク質含有量を少なめにしているものがあります（例：UltraCHO™ 培地や UltraDOMA™ 培地）。または完全にタンパク質やペプチドを含まないものもあります（例：UltraDOMA-PF™ 培地）。実際には、これらの組成を使用する場合はウィーニングプロセス中に通常より若干注意を払う必要があります。しかし、ウィーニングプロセスの手間がかかっても、低タンパクの質無血清増殖環境を作ることでその後の下流処理手順の手間が大きく減少します。

細胞機能の維持は、モニターすべきウィーニングプロセスのひとつといえます。細胞機能に関しては、選択される部分集団が血清の存在下で培養された集団と同じ特性を示すようにする必要があります。これらの機能は多様であり、

受容体発現、ウイルス感受性、モノクローナル抗体産生、および組み換え遺伝子発現などがあります。多くのケースで、無血清状態に細胞が移される場合、産物収率の増大が認められます。しかし、ウィーニングプロセスの間、目的に応じた細胞機能をモニターしてください。

細胞集団を無血清状態に移す際には、2つのプロトコルが推奨されます。これらのプロトコルは、哺乳動物および無脊椎動物の細胞型で使用することができます。最初のプロトコルは、接着しない細胞、または接着が緩やかでトリプシン処理を必要としない細胞で使用できます。これは、血清を含む培地を無血清培地で徐々に希釈する方法です。2つ目のプロトコルは、接着細胞および非接着細胞型の両方で使用でき、血清添加因子を添加した無血清培地を使用し、無血清で増殖が行われるまで各継代培養において血清濃度を順次減少させます。後者のプロトコルは、この細胞型の血清濃度の限度を決定することができるというもう1つの利点があります。いくつかの細胞（特に遺伝子導入される細胞株）は少量の血清を必要とします（0.1 ~ 0.5% v/v）。この方法によって血清をより低い限界濃度に調整することができます。2つのウィーニングプロトコルは、次のページに記載されています。ロンザの推奨手順が記載されていますが、特定の用途により良く適合するように修正を加えて使用することができます。ロンザの経験では、交換プロセスで維持される最小細胞密度が結果に大きな影響を与えます。接着非依存性細胞では $3.0 \times 10^5/\text{ml}$ 以上、接着依存性細胞では30%以上のコンフルエンスが推奨されています。