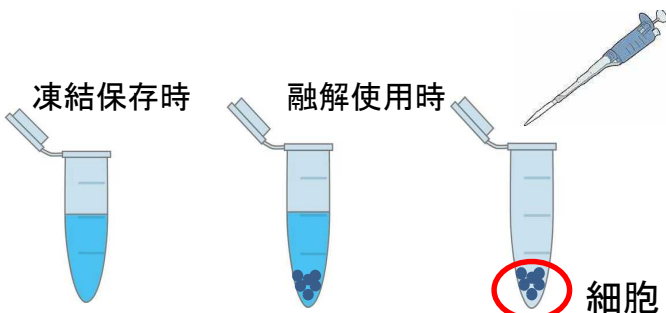


GC/MSによる培地中のジメチルスルホキシドの高感度分析

細胞を凍結保存する際、ジメチルスルホキシド(DMSO)が凍結保護剤として使用されることが多いが、融解後には培地中にDMSOが残留するため、そのモニターが重要な場合がある。本研究では、GC/MSを用い、培地中のDMSOを定量する分析法を検討した。

凍結保護剤としてのDMSOの役割と課題

DMSOは、細胞内における氷晶形成を阻害し、細胞や細胞小器官の保護に効果的だと考えられている。さらに細胞内に浸透しやすいことから、哺乳動物細胞などの複雑な構造をもつ細胞に汎用されている一方、細胞毒性を有することも知られている。

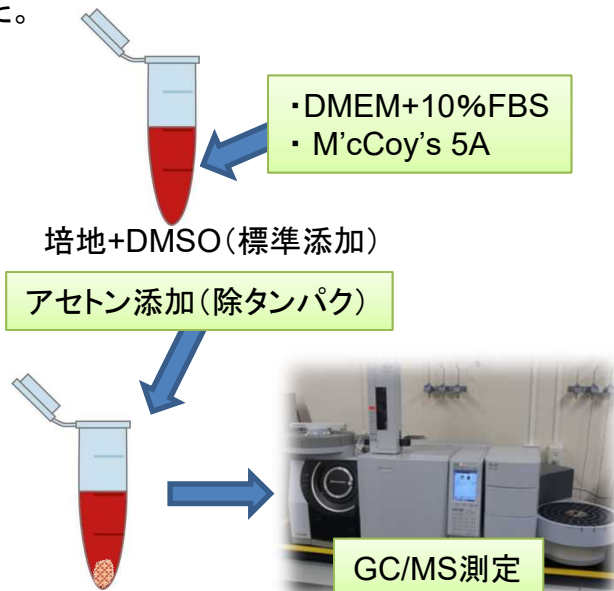


- 細胞
- 凍結用培地 (10%DMSO)

- 約10倍量の新たな培地を加え、遠心分離。
- 上清を除き細胞を使用 → DMSOが残留する

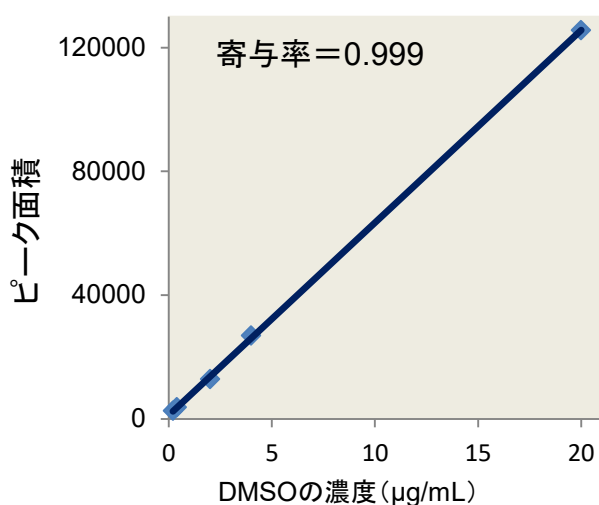
試料溶液の調製

培地のモデル試料に「DMEM+10%FBS」及び「M'cCoy's 5A」を選定し、DMSO 4 µg/mLを加えた溶液を調製した。除タンパクはアセトンを用いた。

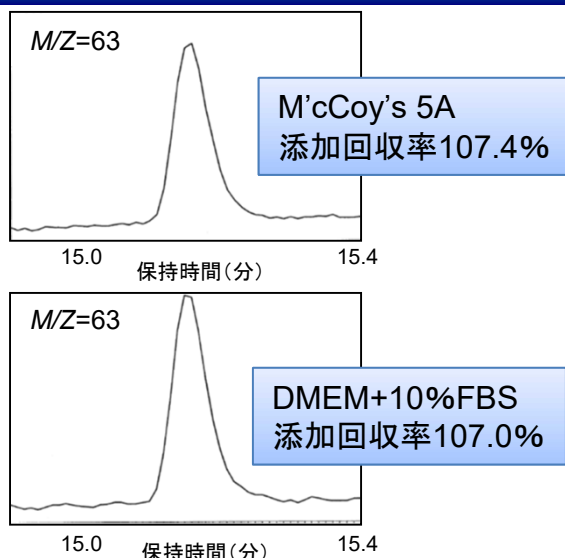


- DMEM+10%FBS
- M'cCoy's 5A

標準溶液 (0.2~20 µg/mL) における直線性



DMSO 4 µg/mL 添加における添加回収率



ヒト凍結肝細胞における遺伝子発現に対しDMSOは0.5% (v/v) (=5 mg/mL) において大きな影響が無いとの報告*)もある。東レリサーチセンターではGMP体制下において、その 1/1,000 以下の濃度である 4 µg/mLでもDMSOの定量が可能である。

*) 住田 佳代ら, DMSOがヒト凍結肝細胞の遺伝子発現に与える影響 (第37回日本トキシコロジー学会学術年会)