

植物培養細胞の超低温保存

独立行政法人理化学研究所
バイオリソースセンター
実験植物開発室

平成24年9月10日

植物細胞

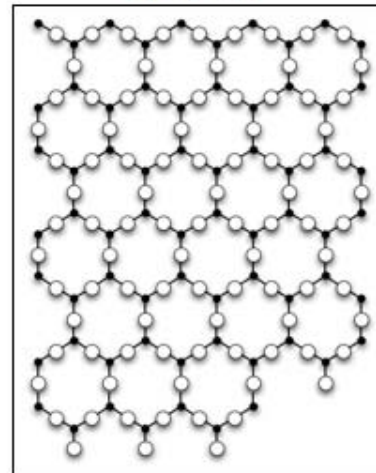
冷却



細胞内凍結

- 細胞内構造の破壊
- イオンの流出
- pHの変化

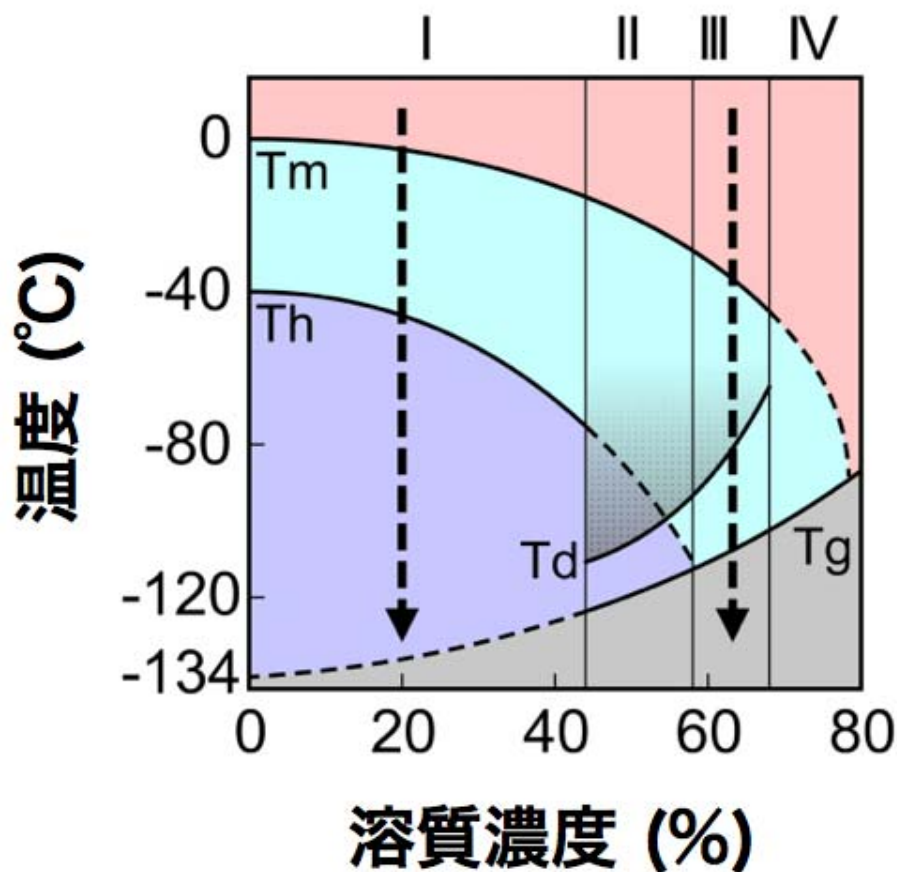
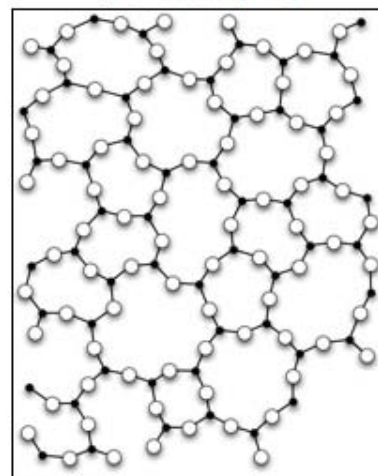
結晶



ガラス化

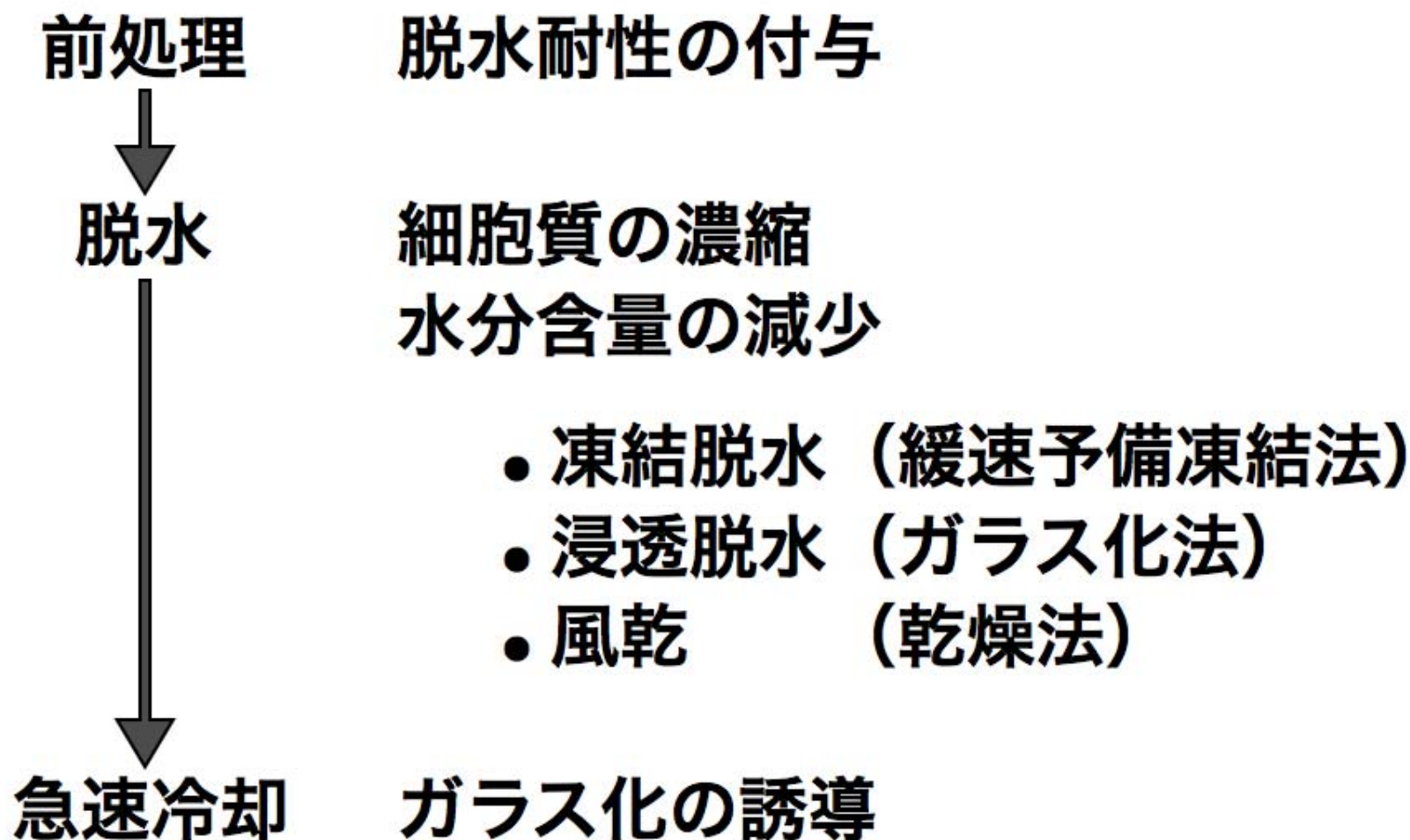
ガラス：液体を急速にガラス転移温度以下に冷却することによって形成される非晶質の固体

非晶質



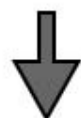
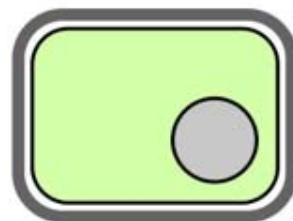
Tm : 融点
Th : 均質核生成温度
Tg : ガラス転移温度
Td : 再結晶化温度

超低温保存の手順



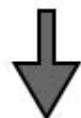
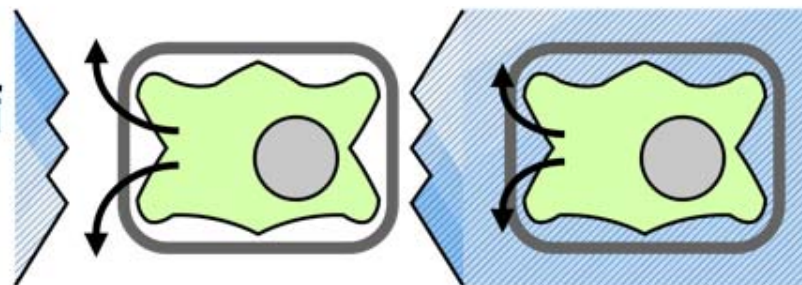
凍結脱水

凍害防御剤液



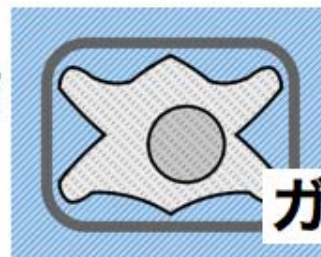
冷却 ($0.5 \sim 2.0^{\circ}\text{C min}^{-1}$)

細胞外凍結



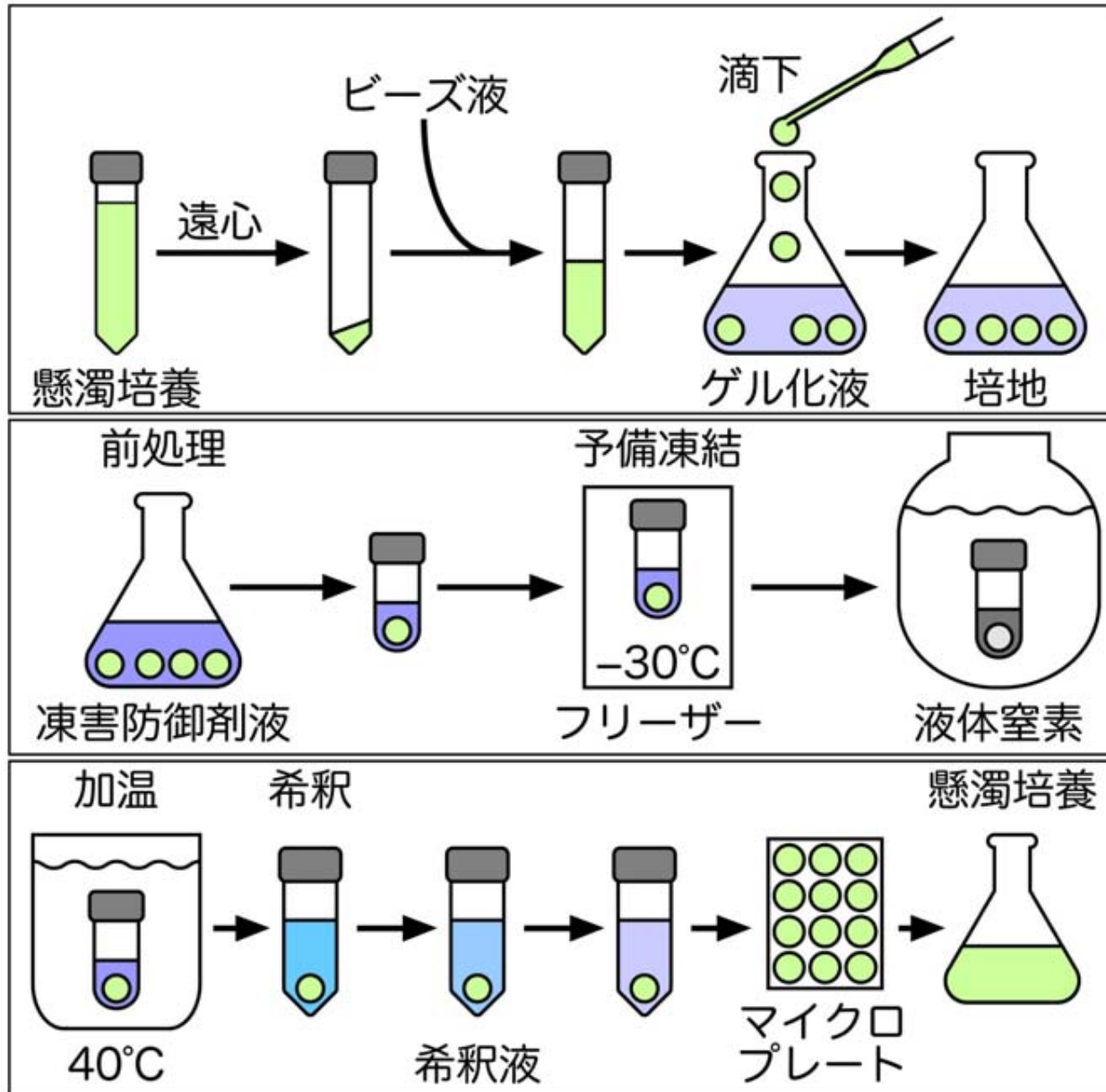
急速冷却 (液体窒素)

凍結



ガラス化

ビーズ簡易予備凍結法



超低温保存できる

懸濁培養の回復
特性の保持



- 高い細胞生存率
- 細胞増殖能

培養細胞の生理的状态