免疫細胞高効率凍結保存液
取扱説明書

一、製品概要

免疫細胞凍結保存液は、無血清の細胞凍結保存液製品です。本製品は免疫細胞の凍結保存に特化した特殊処方であり、凍結過程における細胞損傷を大幅に低減し、解凍後の細胞生存率を向上させるとともに、免疫細胞の特性を長期間にわたって安定的に維持可能です。さらに、ロット間の品質安定性に優れ、細胞医薬品製剤添加物としての安全性評価を完了しており、iNKなどの細胞医薬品のINDの承認取得を助けました。

二、製品情報

表1：免疫細胞高効率凍結保存液 製品詳細

製品情報	品番	規格
免疫細胞高効率凍結保存液	SN-06-1410	50mL

三、保存条件

1 保存温度：4℃

2 有効期間：12ヶ月

四、免疫細胞の凍結保存

1 凍結保存する細胞数に応じて、適切な数の凍結保存管に標識をつけます。

（参考凍結密度：NK細胞: 1×10^9cells/20mL/管；PBMC：1-1.5$\times10^7$cells/mL/管）。

2 対数増殖期の細胞を選択し、標準的な方法で細胞を遠心管に回収します。

3 遠心して細胞を回収します（参考遠心条件：300×g、10分間）。

4 上清を吸引除去し、適量の免疫細胞凍結保存液を遠心管に滴下し、均一に混和して細胞懸濁液を調製します。

5 調製した細胞懸濁液を、標識した凍結保存管に分注します。

6 プログラム凍結：

6.1 細胞懸濁液を含む凍結保存管を、4℃で予冷したプログラム凍結ボックスに入れ、プログラム凍結ボックスを-80℃フリーザーで24時間静置した後、液体窒素タンクに移して長期保存します（保存温度：-135℃以下）。

6.2 プログラム凍結装置を使用する場合、凍結保存管内の細胞懸濁液を、-1℃/minで-100℃まで降温（装置の取扱説明書を参照）し、直ちに液体窒素タンクに移して長期保存します（保存温度：-135℃以下）。

五、細胞の解凍（NK細胞を例とする）

1 液体窒素タンクから凍結保存した細胞を取り出し、ドライアイス上で細胞培養室へ運びます。

2 直ちに37℃のウォーターバスに浸し、振り混ぜながら迅速に解凍します。

3 凍結管中の細胞懸濁液が少量の氷残りまで融解したら、凍結管を取り出し、消毒後にバイオセーフティキャビネット内に移します。

4 適量の完全培地を加えてNK細胞を再懸濁し、適切な播種密度で培養容器に播種します。予温した新鮮な完全培地を適量加えます。

（NK細胞の解凍後培養方法は、プロセス体系によって異なります。それぞれの条件に準じて実施してください。）

（PBMCの場合は、洗浄後、遠心分離して上清を除去し、培地で再懸濁してから播種します。推奨播種密度： $1\text{-}2\times10^{6}$ cells/mL）

5 十字振り混ぜ法で細胞を均一に分散させ、37℃・5% CO2・飽和湿度の培養インキュベーターで培養します。

六、応用（NK細胞を例として、PBMCは適用外）

1 液体窒素タンクから凍結保存した細胞を取り出し、ドライアイス上で細胞培養室へ運びます。

2 直ちに37℃のウォーターバスに浸し、振り混ぜながら迅速に解凍します。

3 解凍後、細胞懸濁液を適切な溶液に移し、懸濁液を調製します。推奨細胞密度：2.5-10x10^{7}cells/ mL。実際の研究用途に応じて使用します。