

# ヒト間葉系幹細胞凍結保存液

## 取扱説明書

### 一、製品概要

当社製MSC凍結保存液は、無血清の間葉系幹細胞（MSC）用凍結保存液製品です。本製品はMSCの凍結保存に特化した特殊処方により、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、長期間にわたりMSCの多分化能を効果的に維持します。また、ロット間の品質バラツキが少ないため、研究グレード細胞保存に適用可能です。

### 二、製品情報

表1：hMSC高効率凍結保存液 製品説明

製品情報	容量	品番	保存条件
hMSC高効率凍結保存液	50 mL	SN-06-1310	2℃～8℃

### 三、保存条件

- 保存温度：4℃（冷蔵庫）。
- 有効期間：12ヶ月。

### 四、MSCの凍結保存

- 凍結保存する細胞量に応じて、適切な数の凍結保存管に標識をつけます（参考：1-5×10<sup>6</sup> cells/mL/管）。
- 対数増殖期の細胞を選択し、通常の方法で細胞を遠心管に回収します。
- 遠心して細胞を回収します（参考条件：200×g、5分間）。
- 上清を吸引除去し、適量のMSC凍結保存液を遠心管に滴下しながら加え、均一に混和して細胞懸濁液を調製します。
- 調製した細胞懸濁液を標識済みの凍結保存管に分注します。
- プログラム凍結：
  - 細胞懸濁液を含む凍結管を、4℃で予冷したプログラム凍結ボックス（例：Nalgene Mr. Frosty、5100-0001）中に置いてから、プログラム凍結ボックスを-80℃フリーザーに入れ、24時間後に液体窒素タンク（温度-135℃以下）に移して長期保存します。
  - 凍結管内の細胞懸濁液を、プログラム凍結装置（例：Thermo CryoMed）を用いて-1℃/minの冷却速度で-100℃まで凍結し（装置の取扱説明書を参照）、直ちに液体窒素タンク（温度-135℃以

下) に移して長期保存します。

## 五、MSCの解凍

1. 液体窒素タンクから凍結保存した細胞を取出し、ドライアイス上で細胞培養室まで運びます。
2. 細胞を37℃のウォーターバスに浸し、振りながら素早く解凍します。
3. 凍結管内の細胞混和液が少量の氷残りまで解凍したら、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. 細胞混和液を15 mL遠心管に移します。予温した細胞培養液9 mLを滴下しながら、よく振り混ぜます。凍結管を1 mLの予温した細胞培養液で洗浄し、残存細胞を同じ遠心管に回収します。
5. 細胞を遠心（推奨条件：200×g、5分間）して回収します。上清を吸引除去します。
6. 1～2 mLの完全培地を加え、細胞を再懸濁します。
7. 適切な密度で細胞を培養容器に播種し、適量の予温した新鮮完全培地を加えます。
8. 十字振り混ぜ法で細胞を均一に分散させた後、37℃・5% CO<sub>2</sub>・飽和湿度のインキュベーターで継続培養します。