

hMSC 温和消化液

取扱説明書

一、製品概要

hMSC温和消化液は、ヒト間葉系幹細胞の継代消化に特化した組換え型温和消化酵素であり、動物由来成分を含まず、作用が穏やかで、多様な由来のhMSCの継代培養に応用可能です。

二、製品情報

表1：hMSC 温和消化液製品詳細

製品情報	品番	規格	保存条件
hMSC温和消化液	SN-02-0040	100 ml	2℃ -8℃

三、取扱説明（T75フラスコでの消化を例にする）

表2：hMSC継代&培養操作における試薬の推奨使用量

培養容器	底面積	ncMission完全培地	トリプシン/トリプシン阻害剤
6ウェルプレート	9.6 cm ² /ウェル	2 mL/ウェル	1 mL/ウェル
T75 フラスコ	75 cm ²	15 mL	5 mL
T175 フラスコ	175 cm ²	25 mL	8-10 mL
T225 フラスコ	225 cm ²	35 mL	10-13 mL

- 継代タイミングの選択：hMSCの増殖速度は株によって異なるため、細胞コンフルエンスを基準に適切な継代タイミングを選択してください。80-85%程度のコンフルエンスで継代を行うことを推奨します。
- 30分前に、適量のncMission hMSC完全培地、DPBS（カルシウム・マグネシウム不含）、hMSC温和消化液を準備してください。このうち、DPBSとhMSC温和消化液は37℃に温めておきます。ncMission完全培地は室温に戻すだけで結構です。
- 吸培地を吸引除去し、復温したDPBS（カルシウム・マグネシウム不含）で1回洗浄し、復温したhMSC消化液を加え（使用量は表2参照）、37℃で6-8分間消化します。その後、培養フラスコを取り出し、水平方向に振り、ピペットで細胞を分散させ、遠心管に移し、遠心（250×g、5分間）します。

4. 上清を吸引除去し、5 mLの生理食塩水またはDPBSを加えて細胞を再懸濁します。100 μ mメッシュの細胞フィルターで一度濾過し、サンプリングして細胞数を計測します（細胞生存率は90%以上であること）。遠心（**250 $\times$ g、5分間**）して細胞を回収します。
5. 5 mLの**ncMission hMSC完全培地**を加え、細胞を再懸濁します。適切な密度（**6,000~8,000 cells/cm²、推奨は6,000 cells/cm²**）で細胞を培養容器に播種し、適量（**表4参照**）の予温した新鮮**ncMission hMSC完全培地**を添加します。水平方向に十字振りを3回実施後、37℃・5% CO₂・飽和湿度のインキュベーターに入れ、再度水平方向に十字振りを3回行い、培養します。3日間連続培養後、細胞はコンフルエンスが**85~90%**に達した時点で、継代または凍結保存を選択します。