

hPSC 高効率凍結保存液

目次 # SN-06-1210 50mL

製品説明

hPSC 高効率凍結保存液は、血清・外来タンパク質を含まず、化学成分が明らかなヒト多能性幹細胞（hPSC）用凍結保存液製品です。本製品は hPSC 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 hPSC の多分化能を効果的に維持します。化学成分が明確で、外来タンパク質を含まず、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。

製品情報

表 1：hPSC 凍結保存液 製品詳細

製品情報	規格	品番	保存条件
hPSC 高効率凍結保存液	50 mL	SN-06-1210	2-8 °C

保存条件

- 保存温度：4 °C。
- 有効期間：12ヶ月。

hPSC の凍結保存（6 ウェルプレート为例とする。操作手順は他の培養容器にも適用可能）

- 細胞が約85%コンフルエンスに達したら回収・凍結保存可能です。一般的に、6ウェルプレートでは1ウェルあたり $2-4 \times 10^6$ 個の生存細胞を回収し、1本の凍結管に保存します。
- 必要数の1.5/2 mL凍結管を用意し、細胞名、継代回数（P#）、日付、操作者IDを明記します。

3. 4 °C冷蔵庫からhPSC凍結保存液を取り出し、室温で温めておきます。使用前によく振り混ぜます。
4. hPSC培養上清を吸引除去し、DPBS（カルシウム・マグネシウム不含）を2 mL/ウェル添加し、数回軽く揺らしてから、吸引除去します。
5. hPSC Dissociation Bufferを2 mL/ウェル添加し、37 °Cインキュベーターで7-8分間静置します。
6. 消化処理終了後、プレートを静かに取り出し、hPSC Dissociation Bufferを吸引除去します。
7. 予温したhPSC高効率凍結液をよく振り混ぜ、各ウェルに1 mLの凍結液を添加し、穏やかにピペティングします。水平方向に3回十字振りした後、懸濁液を吸引して1.5/2 mL凍結管に加えます。
8. 細胞をプログラム凍結ボックスに入れ、-80 °Cのフリーザーに一晩保存し、翌日液態窒素タンクに移して長期保存します。または、プログラム凍結装置を使用して細胞を-80 °C以下に冷却し、そのまま液態窒素に移して保存します。

hPSC の解凍（6 ウェルプレートを例とします。操作手順は他の培養容器にも適用可能）

1. ウォーターバスを37 °Cに予熱します。
2. Vitronectin でコーティングした6ウェルプレートを、バイオセーフティキャビネット内に約1時間静置し、室温（15-30 °C）に戻しておきます。
3. hPSC完全培地（NcEpicまたはNcTarget）4 mL を準備し、1 μ Lの Blebbistatin （10 mM）を1:4000で添加後、室温（15-30 °C）に戻します。

Tips：培地を 37 °Cのウォーターバスで予温しないでください。

4. 冷凍保存した細胞1本を取り出して37 °Cウォーターバスで軽く振りながら1分以内に解凍します。肉眼で細胞懸濁液内の氷晶がほぼ消失した時点で取り出します。
5. 凍結管の表面を75%エタノール無塵紙で拭浄後、バイオセーフティキャビネットに移します。細胞懸濁液を予め準備した15 mL遠心管に移し、DMEM/F12 10 mL を滴下しながら、軽く振り混ぜて細胞を均一に分散させます。160 \times g、5分間 遠心します。

6. 上清を吸引除去し、予温したBlebbistatin+ hPSC完全培地（NcEpicまたはNcTarget）4 mL を加え、細胞をよく懸濁します。ピペッティングはしないようにします。

ウェルプレートの2ウェル分のVitronectinコーティング液を吸引除去し、懸濁した細胞を2 mL/ウェルで2ウェルに播種します。
7. 水平方向に3回十字振りを実施後、37 °C・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3回十字振りを行ない、インキュベートします。
8. 18-24時間後に新鮮なhPSC完全培地（NcEpicまたはNcTarget）に交換し、以降は毎日培地を交換します。