

細胞凍結保存法

■ 凍結方法 ■

- ① 接着性細胞の場合は80%シート時に培地を交換し、翌日に凍結を行う。
浮遊性細胞の場合は培地交換(培地の補充)を行い、翌日に凍結を行う。
※細胞を良好な状態で凍結保存するには、対数増殖期の細胞を使用することが重要である。
※コンフルエントに達した細胞や過増殖を起こした細胞は、凍結後の生存率が低下する。
- ② DMSO 0.1mL に、培養用培地(血清入り) 0.9mL を入れ凍結用培地(10%DMSO溶液)を調製する。
- ③ 細胞を定法に従い回収し、1,500rpm で1分間遠心する。
- ④ 上清を捨て、新しい培地を既知量加える。先の細いピペットで優しくピペッティングを行い、細胞浮遊液を作成する。
- ⑤ 細胞浮遊液の一部を取り、血球計数板にて生細胞数を測定する。
- ⑥ 予め氷中に保持しておいた凍結用培地で 1×10^6 cells/mL となるように希釈し、アンプルに1mL分注する。
- ⑦ アンプルはゆっくりした速度(-1~2°C/3分程度が望ましい)で凍結させる。具体的には、氷中に5分、-20°Cに50分、-80°Cに12時間保存し、最後に液体窒素中に保存する。
※細胞の保存は液体窒素保存が望ましい。液体窒素内であれば、半永久的に保存可能である。
-80°Cであれば1年が限度である。

■ 融解方法 ■

- ① アンプルを37°Cの温湯の中に入れ、素早く融解させる。
- ② スピッツ管に細胞浮遊液を入れ、約10倍量の培地を加えて1,000rpm~1,500rpm で1~2分間遠心する。
- ③ 細胞沈査を確認し、上清を捨てる。
- ④ 定法に従って、細胞を播種する。

CEL-1/0807D

【お問い合わせ先】

大日本住友製薬グループ

DSファーマバイオメディカル株式会社

(受注・発注/学術のお問い合わせ先)

〒564-0053 大阪府吹田市江の木町33-94

TEL 06-6386-2164 FAX 06-6337-1606

URL: <http://www.dspbio.co.jp>

E-メール: labopro@bio.ds-pharma.co.jp