

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($-1 \sim -2^\circ\text{C}/3$ 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 \sim 1,500rpm で1 \sim 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。

株式会社ケー・イー・シー

試薬事業部

〒661-0978 兵庫県尼崎市久々知西町2丁目1-20

(お問い合わせ窓口)

TEL: 06-6435-9747 FAX: 06-6435-9748

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

E-mail: cs-info@kacnet.co.jp