



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 と培養用培地(血清入り)を1:9で混合し、凍結用培地(10%DMSO 溶液)を調製し、氷中で保持する。
- 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、②の凍結用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し、細胞浮遊液を作成する。
- ⑤ 細胞浮遊液の一部を取り、血球計算板にて生細胞を測定する。
- ⑥ 氷中に保持しておいた②の凍結用培地で 1×10^6 cells/mL となるよう希釈し、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 1,000~1,500rpm で1~2分遠心する。
- 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・エー・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

(お問合せ先)

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

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

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