

# BAMBANKER 细胞冻存液-细胞冻存、解冻操作步骤说明

## 【冻存操作步骤】

①从恒温箱中取出培养中处于对数增殖期的细胞。

※冻存对数增殖期的细胞，是可以确保细胞良好生存率中最重要的一点。

②使用部分细胞用台盼蓝染色并计数细胞数量。

③将培养液移至离心管中，在规定条件下进行离心。

④去除上清液后，将杂质颗粒通过旋涡操作进行悬浮。

⑤每个冻存容器中细胞数要保持规定浓度，然后再添加冻存液。

(每 1mL 冻存液可容纳  $5 \times 10^5$ - $1 \times 10^7$  个细胞)

※⑤之后的操作步骤尽可能快速完成。另外，冻存液从冷藏柜取出后，尽快进行保存处理

⑥无需预冷细胞悬浮液，直接置于 $-80^{\circ}\text{C}$ 下保存。

※若储存在冷冻处理容器 bicell ( Funakoshi ) 中，效果更佳。

⑦保存液氮时，先在 $-80^{\circ}\text{C}$ 保存 12 小时 ( 超过一晚 )，待状态稳定后在移至液氮中保存。

※转移细胞时请尽快完成操作。

## 【解冻操作步骤】

①在  $37^{\circ}\text{C}$  恒温箱 ( 或者水浴锅 ) 等设备中解冻细胞，确认细胞液完全融解。

※此操作需迅速进行。因为细胞在解冻过程过极易受到损坏。

②将细胞液注入到 10mL 的清洗液 ( 培养液 ) 中，混合完全后在规定条件下进行离心

( 比如 :  $300 \sim 400 \times g$  ; 半径 21cm 转子 1200rpm )

③去除上清液后，将杂质颗粒通过旋涡操作进行悬浮。

④加入培养液后混合完全后，将其中一部分细胞用台盼蓝染色并计数细胞数量。

⑤将培养液转移至培养容器中，恒温箱内静置培养。