

细胞储存及复苏说明

- 1、推荐培养基：含有10% FBS的 IMDM、 α -MEM或RPMI-1640。
- 2、储存方式：收到细胞后请尽快使用，如需长时间存储请立即放置于液氮罐中，短时存储可放置于干冰内或者-80℃的冰箱。如您将细胞储存在液氮罐内，建议用镊子从液氮罐中取出冻存管，将其放置在超低温冰箱（-80℃）或干冰内3-5分钟，用来释放冻存管内残留液氮压力。
- 3、细胞复苏：复苏细胞时，建议将冻存管置于37℃水浴中，轻轻搅拌直至冻存管中冰晶融化（约1-2分钟），注意水浴融化时间过长会给细胞带来损伤，影响细胞的活性和细胞功能。复苏时注意尽量不要让冻存管盖部分接触水，以降低污染风险。
- 4、细胞计数：COA上体现的细胞数量活性是使用Nexcelom K2细胞计数仪AO/PI双荧光计数的方法进行检测的。不同的细胞计数和活性检测方法测出的细胞数量和活性会有一定差距，我们推荐使用双荧光计数法进行检测。
- 5、去除冻存液：离心去除冻存液时可以预先在15mL离心管中加入10mL培养基，然后将解冻后冻存管中的样本转移至15mL离心管中（为减少细胞数量的损失，可以用适量的培养基清洗管壁进行细胞回收），在15-25℃下400×g离心10分钟，离心后弃去上清，注意不要触动细胞沉淀）。
- 6、后续培养：加入合适体积 37℃预热的完全培养基轻轻重悬细胞。免疫细胞接种密度建议在约 $1-2 \times 10^6$ cells / mL，接种在合适的培养瓶中进行备用实验。（如不涉及样本培养，可直接获取样本后用于后续操作）。
- 7、预防结团：为了防止细胞结团，可以在较大规格细胞（ ≥ 100 million）复苏后，在离心管中加入DNA酶。注意：若细胞是用于DNA提取、RNA合成等相关实验，不可以使用DNA酶。