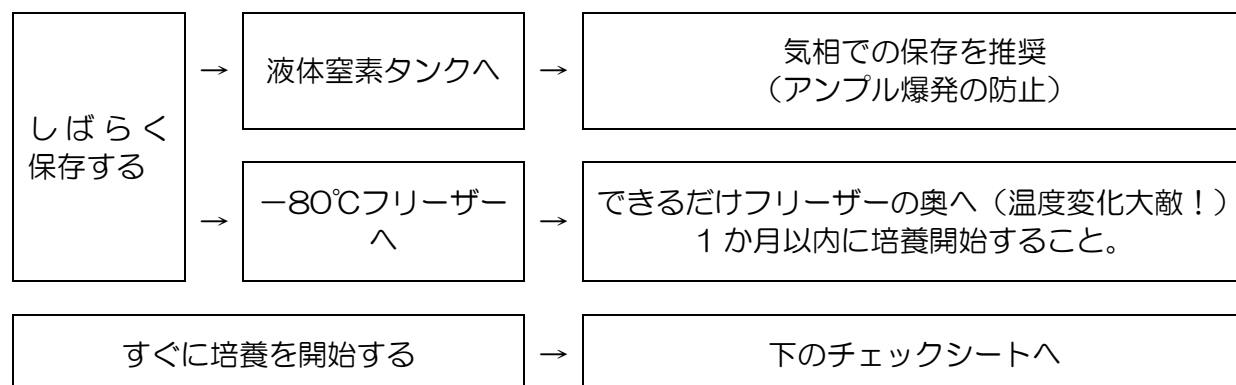


I. 凍結細胞が届いたら

開封、収納、培養開始時の移動は**素早く**！

−65℃以上にさらされると急激に生存率が落ちます！



凍結アンプルを持ち運ぶ際は、ドライアイスまたは液体窒素で冷やしながら運ぶことをお勧めします。氷で冷やしながら運ぶとかえって温度が上がりやすくなり、生存率が低下します。

II. チェックシート～培養開始前に確認してください～

☐ 組織培養用の培養器を用意しましたか？

- 「微生物用」の培養器は細胞培養に適しません。

小型の細胞（サルのリンパ腫細胞等）の場合は、より小さな培養器を使用する（または傾けて使用する）ことをお勧めします。

☐ 推奨の大きさの培養器を用意しましたか？

- 25cm² フラスコ 1 本または 6cm シャーレ 1 枚が目安です。

これよりも大きな培養器では希釈しすぎにより死滅する場合があります。

添付資料やカタログに記載の細胞密度は解凍時密度ではありません。（対数増殖期の密度です）

☐ 接着細胞か浮遊細胞かを確認しましたか？

- 接着細胞の場合は専用の培養器を使用してください。

事前にデータシートや
Web カタログで
確認しましょう

☐ 推奨培地を確認しましたか？

- L-Glutamine は必須成分です。（非含製品の場合は使用時に別途添加してください）
- DMEM 培地は Low Glucose (1 g/L) が標準の培地です。（High Glucose (4.5 g/L) は変法）
- 推奨培地以外の培地を使用しないでください。（補償対象外となります）

不明な点がある場合は**培養開始前**に JCRB 細胞バンクに問い合わせして下さい。

JCRB 細胞バンクお問合せ： jcrb-cell@nibn.go.jp

JCRB Cell Bank ホームページの「細胞培養を始める前に」を参考にしてください。

<https://cellbank.nibn.go.jp/preparing-cultivation/>

Ⅲ. 培養方法

●解凍

1. 容器からアンプルを取り出す（厚手の手袋とフェイスガードを着装）
1 本ずつ作業すること。（同時に複数本を作業しない）
2. 直ちに 37℃以下の温水に浸け、振りながら 2 分以内に解凍する

激しく振りながら（泡が立たないように）、氷晶が米粒・小豆粒程度になるまで解凍



●培養法

（無菌下）

3. 10ml の指定培地を遠心管に用意する
4. 70%エタノールまたは殺菌剤含浸ガーゼでアンプル全体をよく拭う
5. 滅菌ガーゼにくるんでアンプルを折る（かなり固い。切り傷注意）
6. アンプルの中身を懸濁し、遠心管の 10ml 培地に移す
7. 1000rpm 5 分の遠心後、上清を捨てる

※小型の細胞（血球系の細胞）の場合は、遠心 1300rpm 5-10 分で行い、遠心後は培地 2ml に懸濁してセルカウント、より小さな培養器を使用しましょう。

くびれた部分を折る



8. 培地 5ml 程度 を加えて懸濁する

培地の量は、セルカウントして適正な細胞密度に合わせるのをお勧めします

※培地が多すぎると過度に希釈され、死滅する場合があります！

9. 25cm² フラスコ 1 本または 6cm シャーレ 1 枚に播種する

●継代

10. 翌日の様子を確認する

※播種直後の細胞は弱っています。安定して増殖するまで数日～1 週間程度静置するほうがよい場合もあります。血球系細胞は毎日カウントしてはいけません。

11. 増殖を確認したら適宜継代する
12. 細胞が増殖したら早めに凍結ストックを作製する

※再解凍して凍結が成功しているかどうか確認するまでは、保険として現在の培養を維持しましょう。