

Initiating frozen cell cultures (英語原文は[こちら](#)からご確認いただけます。)

## 「凍結アンプルからの起眠について (アンプルの解凍について)」

凍結保存された細胞株をどのように起眠させますか？

凍結バイアルを素早く解凍し、すぐさま完全培地に移し適切な培養容器に細胞用液を播種します。単層で生育する細胞は、直接マルチウェルプレートで凍結状態からリカバリーできますが、そのリカバリーの結果はフラスコ程一定ではありません。

1. プロダクトインフォメーションシートに記載されている最適培地を推奨量入れた培養容器に用意し、温度と pH を平衡化してください。
2. 凍結バイアルは、37°C (もしくはその細胞の一般的な培養温度) のウォーターバスで静かに揺らしながら融解してください。融解は約 2 分ほどで素早く行います。
3. バイアルの内容物が溶けたらすぐにウォーターバスからひきあげ、70%エタノールを吹き付けたり、浸漬することによりバイアルを消毒します。以後の操作は厳格な無菌状態の下、ラミナーフード内部にて行ってください。
4. バイアルの蓋を外し、細胞懸濁液を無菌の遠心チューブに移し、指定培地で静かに希釈してください。穏やかな条件 (10 分、125 x g) で遠心し、凍結保護材を除去してください。遠心後上清を除去し、1~2mL の完全培地にセルペレットを再懸濁してください。この細胞懸濁液を培養容器中の完全培地 (培地量はその細胞に最適な容量になるようにする) 中に移し、十分に懸濁してください。
5. 培養開始 24 時間後に生育状態を観察し、必要に応じて継代作業を行う。

注意：ハイブリドーマ株など、いくつかの細胞株では凍結状態からの完全なリカバリーまでに時間を要する事があります。

実際に、いくつかのハイブリドーマ株では培養初日に死んだように見え、また多くのデブリが生じることがあります。

ほとんどの細胞の生存率は凍結保存後、低下し、解凍 24 時間後には最下点に達します。またいくつかの細胞株は培養後 48 時間は生存率の低下を示し続ける可能性があります。リカバリーに要する間、接着系の細胞であっても 24~48 時間程は接着しない可能性もあります。

その後は細胞もリカバリーし始め、急激な増殖 (対数増殖) を見せ始めます。