

# TC4-SOP 0-5

## 細胞解凍

Myeloma  Hybridoma 名稱: \_\_\_\_\_

### MATERIALS:

- 10% (FBS) DMEMX
- 37°C水浴槽
- Flasks T25 or T80
- CO<sub>2</sub> incubator
- 50 mL tube
- Laminar flow
- 離心機
- Pipetman P1000

### METHODS:

- 操作前 10 min 準備：
- 10% DMEMX 置於 37°C 水浴槽回溫
  - 以 75 % 酒精擦拭 Laminar flow 桌面後開 UV 至開始操作時關閉
  - 新的 Flask (T25) 以防酒精符號筆標示細胞株名、六位數日期、操作者
- 自液態氮中取出冷凍小瓶，儘快於 37°C 水中緩緩搖晃至冰完全融解 (約需 1~2 min)。
- 以酒精噴拭瓶身後在 Laminar flow 中打開瓶蓋置於乾淨離心管鐵架上，**緩慢加入** 1 mL DMEMX，邊加邊搖晃。
- 混合均勻後吸到新的 50 mL tube，**緩慢加入** DMEMX 至 10 mL，邊加邊搖晃。
- 以 300 rcf 離心 5 min 後將上清液盡量倒乾 (DMSO 對細胞有害)。
- 以掌心輕握維持其溫度，一手持 tube，另一手以指腹輕敲震動 tube 尖端以震散離心管底部細胞，加入 DMEMX 至 15 mL 後重覆以上步驟 (儘量去除 DMSO)。
- 加入 DMEMX 至 5 mL 後搖晃均勻，瓶口勿接觸下倒入新的 Flask T25，鎖緊瓶蓋後以酒精噴拭底部。
- ATCC 建議：1 個冷凍小管要分成 2~4 個 T25 以提高存活率
  - JT 小心得：提高存活率主要在於 1.冷凍前細胞健康狀態 2.DMSO 是否徹底去除
- 放進 CO<sub>2</sub> incubator 前務必**鬆開瓶蓋**。
- 收拾 Laminar flow 桌面，關掉水浴槽。

\* 正常狀況下，隔 2~3 天細胞即會長滿 (SP2 細胞倍增時間約為 30-40 小時)，medium 變黃

### Note:

---



---



---

日期	操作者	QC