

## 细胞复苏步骤

### 一、所需仪器：

离心机  
生物安全柜  
电动移液器  
CO<sub>2</sub> 培养箱  
倒置显微镜  
液氮罐  
恒温水浴锅

### 二、所需试剂：

胎牛血清（FBS）  
无菌 1×PBS pH=7.2  
完全培养基

### 三、所需耗材：

离心管（15ml、50ml）  
T-25 细胞培养瓶  
一次性无菌移液管（2ml、5ml、10ml）

### 四、操作步骤：

- 1.将恒温水浴锅中的水预热到 37℃；
- 2.从液氮罐中取出要复苏的细胞，尽快转入恒温水浴锅中复温，过程中需要不断震荡冻存管以提高复温速率；
- 3.将融化了的冻存管中的用移液管转入一直装有 5ml 完全培养基的 15ml 离心管中，充分混匀后，300g 离心 5min；
- 4.离心完成后弃去上清，用 1ml 完全培养基重悬细胞后，转入 T-25 细胞培养中，再加完全培养基 4ml，之后转入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养静置。