

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01200

产品介绍

无血清细胞冻存液为即用型产品，不含血清和动物源性蛋白。因此，不仅降低了各类细菌、病毒、支原体等污染风险，保证冻存细胞的安全，而且减少外源性蛋白对细胞正常生长和分化的影响。此外，该产品无需程序降温，可长期 -80°C 保存细胞，适用于绝大多数哺乳动物细胞的冻存。

应用范围

细胞冻存

储运条件

4°C 避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

使用方便：不需梯度降温冻存，可以直接放到 -80°C 中保存；

适用范围广：适合大多数哺乳动物细胞冻存；

效率高：复苏存活率较高。

注意事项

- 1.本产品含有酚红指示剂，长时间敞口会导致 pH 发生变化，并出现沉淀。故使用过程中应尽量缩短敞口时间，使用完毕后盖紧盖子保存，如有必要可适当分装使用。若使用一段时间后出现少量沉淀，经测试对细胞冻存无影响，去除沉淀可采取离心取上清、 $0.22\ \mu\text{M}$ 孔径过滤器过滤等方法去除。
- 2.细胞冻存前请确保其状态良好，活细胞比例宜大于 90%。
- 3.本产品含 DMSO，部分对 DMSO 敏感的细胞，建议进行预实验。
- 4.对于某些珍贵的细胞，建议同时使用含 FBS 的常规冻存液进行对比测试，确认性能后再进行正式冻存。
- 5.冻存细胞分装后应尽快移入 -80°C 超低温冰箱内，减少在外存放时间。
- 6.本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品和药品，不得存放于普通住宅内。
- 7.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1.耗材

冻存管

2.试剂

(1) $1 \times \text{PBS}$ (2) 胰蛋白酶 (可选) (3) 细胞培养基 (可选)

操作步骤

1.细胞冻存

(1) 取出细胞冻存液，待完全融解并混匀后置于 4 °C 保存，待用。

(2) 贴壁细胞

1) 移除细胞培养基，用无菌 1 × PBS 轻轻清洗细胞一次以除去残余的血清，再加入适量的胰酶消化液消化细胞。待消化完成后立即加入适量含血清的细胞培养基以终止胰酶，随后轻轻吹打细胞，并适当吹散和重悬。

注：不可过度消化细胞，以刚好能把细胞吹打下来为最佳。过度消化后的细胞由于生长状况较差，通常不宜再冷冻保存。吹打和重悬的过程也应轻柔，否则可能会影响细胞复苏时的存活率。

2) 将细胞悬液转移至合适的离心管中。

3) 细胞计数，计算细胞总数和所需细胞冻存液的量。细胞的冻存密度一般为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ cells/mL。

4) $100 \sim 200 \times g$ ，离心 5~10 min，弃上清。离心速度和时间取决于细胞类型。

5) 加入计算好的细胞冻存液体积，用移液枪轻轻吹打以重悬细胞，根据细胞类型调整细胞密度（一般为 1×10^6 cells/mL 或更高）。

6) 分装。将上述细胞悬液分装于 1.5 mL 或 2 mL 细胞冻存管中，并做好标记。

注：如果后续放入液氮罐中保存，须使用可用于液氮冻存的细胞冻存管。

7) 将细胞冻存管放置于 -80 °C 冰箱中。

注：如果后续拟放入液氮中长期保存，可在 -80 °C 冰箱内保存 24 h 后移入液氮罐内。

(3) 悬浮细胞

1) 将细胞悬液转移至合适的离心管中。

2) 细胞计数，计算细胞总数和所需细胞冻存液的量。细胞的冻存密度一般为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ cells/mL。

3) $100 \sim 200 \times g$ ，离心 5~10 min，弃上清。离心速度和时间取决于细胞类型。

4) 加入计算好的细胞冻存液体积，用移液枪轻轻吹打以重悬细胞，根据细胞类型调整细胞密度（一般为 1×10^6 cells/mL 或更高）。

5) 分装。将上述细胞悬液分装于 1.5 mL 或 2 mL 细胞冻存管中，并做好标记。

注：如果后续放入液氮罐中保存，须使用可用于液氮冻存的细胞冻存管。

6) 将细胞冻存管放置于 -80 °C 冰箱中。

注：如果后续拟放入液氮中长期保存，可在 -80 °C 冰箱内保存 24 h 后移入液氮罐内。

2.细胞复苏

(1) 从 -80 °C 冰箱或液氮中取出冻存管，立即放入 37 °C 水浴锅中，轻轻晃动少于 1 min，直至残留小部分冰块。

(2) 将上述细胞悬液转移至 15 mL 无菌离心管中，加入 5-10 mL 预热的完全培养基，轻轻混匀。

注：对于一些复苏效率很高的细胞也可直接将细胞悬液转移至离心管进行下一步。

(3) $100 \sim 200 \times g$ ，离心 5~10 min，离心速度和时间取决于细胞类型。

(4) 沉淀细胞，小心去除上清。

(5) 加入适量预热的完全培养基，轻轻吹匀后转移至培养器皿中，置于细胞培养箱中培养。