

## 通用细胞冻存液

产品编号	产品名称	包装
MA0205	通用细胞冻存液	50ml

### 产品简介:

美仑通用细胞冻存液 (Liquid Cryopreservation Medium) 是一种即用型的培养细胞低温冻存液, 适用于绝大部分的哺乳动物原代细胞、传代细胞系和杂交瘤细胞等的冻存保种。

细胞冻存是细胞保存的主要方法之一, 利用冻存技术将细胞用冻存液重悬后置于-196℃液氮中低温保存, 可以使细胞暂时脱离生长状态而将其细胞特性保存起来。细胞冻存及复苏的基本原则是慢冻快融, 这样可以最大限度的保存细胞活力。目前细胞冻存多采用 DMSO 作保护剂, 能提高细胞膜对水的通透性, 加上缓慢冷冻可使细胞内的水分渗出细胞外, 减少细胞内冰晶的形成, 从而减少细胞损伤。复苏细胞应采用快速融化的方法, 这样可以保证细胞外结晶在很短的时间内即融化, 避免由于缓慢融化使水分渗入细胞内形成胞内再结晶对细胞造成损伤。

本产品的主要成分是进口 DMEM 高糖培养基、进口优质胎牛血清和细胞培养级 DMSO 等, 采用优化的成分配比, 经无菌处理, 可直接使用。操作便捷, 储存稳定, 复苏后细胞存活率高。按照常规情况冻存 1 管细胞使用 1ml 冻存液计算, 本产品可以用于大约 50 管细胞的冻存。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
1	通用细胞冻存液	50ml
2	说明书	1 份

### 保存条件:

-20℃保存, 有效期 1 年。

## 使用说明：

### （一）细胞冻存

【2~8℃缓慢融化通用细胞冻存液，融解后混匀备用。】

#### 1. 贴壁细胞制备细胞悬液：（悬浮细胞请忽略此步骤）

- (1) 确保细胞处于指数生长期后，将旧培养基吸除，用 PBS 清洗两遍。
- (2) 在培养瓶中加入少许胰酶，以能覆满瓶底为限。将培养瓶平置于培养箱中消化约 1~2 分钟，期间在显微镜下观察，一旦发现细胞间隙增大、细胞变圆、比较松动后，立即终止消化（个别难消化细胞需要延长消化时间，但要避免消化过度）。
- (3) 加入适量温浴好的完全培养基终止消化，轻轻吹打均匀细胞。

#### 2. 贴壁细胞和悬浮细胞的冻存：

- (1) 取少量细胞悬液细胞计数，算出细胞总数和所需细胞冻存液的量。细胞的冻存密度以  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  cells/ml 为宜。
- (2) 将所需量的细胞悬液转移至适当离心管中，200~500×g，离心 3-5 分钟，弃上清收集细胞。（离心速度和时间取决于细胞类型）
- (3) 向细胞沉淀中加入适量预冷细胞冻存液，用移液器轻轻吹打以重悬细胞，分装于 1.5ml 或 2ml 无菌细胞冻存管中，严密封口后，注明细胞名称、代数、日期。
- (4) “慢冻”：可选以下其中一种方法：
  - a. 传统方法：冷存管置于 4℃ 10 分钟→-20℃ 30 分钟→-80℃ 16~18 小时（隔夜）→液氮罐长期储存。（-20℃ 勿超过 1 小时，防止胞内冰晶过大造成细胞死亡）
  - b. 冷存管置于可逐步降温的装置如程序性冻存盒内，-80℃ 放置约 24 小时（确保冷却速度约为 1~2℃/min）→液氮罐长期储存。

### （二）细胞复苏

1. 自液氮罐中取出冷冻管，检查盖子是否旋紧，立即放入 37℃ 水浴中快速解冻（避免冰晶重新结晶而造成细胞死亡），轻摇冷冻管使其在 1~2 分钟内全部融化，以 75% 酒精擦拭冻存管外部，移入无菌操作台内。
2. 将解冻的细胞悬液移至 15ml 无菌离心管中，再加入 5~10ml 预热好的完全培养基，轻轻混合均匀，200~500xg，离心 3-5 分钟，弃上清收集细胞。（离心速度和时间取决于细胞类型）
3. 加入预热好的完全培养基，混合均匀，转移到细胞培养皿或培养瓶中，置于细胞培养箱中培养。

#### 注意事项：

1. 使用前请在 2~8℃ 将细胞冻存液完全融化混匀，并置于 2~8℃ 预冷备用。
2. 长期保存请置于 -20℃ 保存，短期使用可置于 2~8℃ 保存至少 1 个月。
3. 若发现少量沉淀，可能是有少量的蛋白析出，为正常现象，不影响冻存效果。
4. 请确保冻存前细胞处于对数生长期，并且存活率大于 90%。
5. 复苏时，若不需立即去除冷冻保存剂，则可在解冻后直接将细胞悬液加入到预热好的完全培养基中进行培养，次日进行换液。
6. 冻存的细胞要定期复苏，检查细胞的活性；冻存的杂交瘤细胞还要定期检测分泌抗体的稳定性。在液氮中储存的细胞可以长时间进行保存，如果置于 -80℃ 储存，保存时间大约为一年。
7. 请注意细胞冻存和复苏过程中无菌操作。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。