

## Meilun Protein-Free Cryopreservation Medium

### 无血清非程序细胞冻存液(无蛋白)

产品编号: MA0401 规格: 100 ml

#### 产品内容

产品组成	MA0401
无血清非程序细胞冻存液(无蛋白)	100 ml
说明书	1 份

#### 产品简介

细胞冻存液作为冻存细胞时的液体环境，给细胞提供着营养和保护作用，可使冰点降低，提高细胞膜对水的通透性，能使细胞内水分在冻结前透出细胞，防止或减少冰晶对细胞的损伤，使细胞暂时脱离生长状态而将其细胞特性保存起来，在需要时直接复苏就可恢复细胞活性。传统的细胞冻存液是使用培养基、血清和DMSO按照一定的比例混合，因其其中的血清成分复杂、批次差异大等缺点，其应用具有局限性，且需要采用程序性降温的冻存方法（4℃→-20℃→-80℃→液氮），费时费力。

美仑无血清非程序细胞冻存液(无蛋白)化学成分明确，含有糖类、氨基酸等营养物质以及DMSO等多种保护剂组合，大大降低了在冻存过程中冰晶对于细胞的损伤，有效提高细胞复苏率和活力；不含血清和蛋白成分，无任何动物源组分，减少外源因子和污染源，更加安全、稳定；同时可省去繁琐费时的程序性降温过程，可直接重悬细胞后置于-80℃保存，或次日转移到液氮中。

美仑无血清非程序细胞冻存液(无蛋白)高效、安全、稳定、操作便捷，与传统细胞冻存液相比具有明显优势（表1），冻存细胞复苏后的存活率也有明显提高（表2），推荐用于常规哺乳动物细胞的冻存，也非常适合无血清培养的细胞冻存。按照一般情况冻存1管细胞使用1ml冻存液计算，本产品可以用于大约100管细胞的冻存。

表1：传统细胞冻存液和美仑无血清非程序细胞冻存液(无蛋白)的特点比较

	传统细胞冻存液	美仑无血清非程序细胞冻存液(无蛋白)
成分	基础培养基+血清+DMSO，血清成分复杂	化学组成明确，含有营养成分和保护剂，不含血清或其他蛋白成分
冻存液配制	现用现配	即用型，无需配制，2-8℃保存，即取即用
冻存操作方法	较复杂，需要程序性降温，操作时间长	简单快捷，直接放入-80℃即可，省时省力
复苏存活率	一般（微量冻存时细胞存活率低）	高（微量冻存时细胞存活率也高）
细胞保存设备	液氮	液氮或者-80℃低温冰箱
安全性	有动物来源病毒、霉菌和支原体等污染风险	无动物来源病毒、霉菌和支原体等污染风险
冻存细胞种类	适合含血清细胞冻存	适合各类细胞冻存，尤其是无血清驯化细胞，节省再驯化步骤
批次差异	批次差异大	批次差异极小
整板冻存	不可行	可行，且方便快捷

表2: 美仑无血清非程序细胞冻存液(无蛋白)与传统细胞冻存液(70%基础培养基+20%FBS+10%DMSO)冻存细胞复苏后存活率的比较(列举部分细胞)

细胞名称	种属-来源	传统冻存液存活率	美仑无血清非程序细胞冻存液存活率
NIH/3T3	小鼠胚胎成纤维细胞	91.17%	95.60% ↑
Hela	人宫颈癌细胞	96.77%	98.43% ↑
L-929	小鼠成纤维细胞	92.07%	96.13% ↑
PC-3	人前列腺癌细胞	80.33%	95.27% ↑
Caco-2	人结直肠腺癌细胞	86.47%	93.53% ↑
293	人胚肾细胞	92.60%	96.43% ↑
MDA-MB-231	人乳腺癌细胞	80.73%	90.80% ↑
Jurkat	人急性T淋巴细胞白血病细胞	84.03%	92.20% ↑
THP-1	人单核细胞	96.63%	97.37% ↑
MGC80-3	人胃癌细胞	95.97%	97.13% ↑

## 使用方法

### 一、细胞冻存:

【冻存前, 请确保细胞处于对数生长期】

#### 1. 贴壁细胞制备细胞悬液: (悬浮细胞请忽略此步骤)

(1) 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,  $200 \sim 500 \times g$ , 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无血清非程序细胞冻存液, 用移液器轻轻吹打以重悬细胞, 分装于无菌细胞冻存管中, 严密封口后, 注明细胞名称、代数、日期。

(4) 直接置于 $-80^\circ\text{C}$ 冰箱中储存, 细胞可至少保存一年; 或者 $-80^\circ\text{C}$ 过夜后, 次日将细胞投入液氮中长期储存。

## (二) 细胞复苏:

1. 自液氮罐或-80℃冰箱中取出冷冻管，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，200~500×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. 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。

## 保存条件

2-8℃保存，一年有效。

## 注意事项

1. 使用时，可直接将冻存液从2-8℃取出使用。如长时间放置出现少量沉淀，为成分的正常析出，请于37℃水浴温热片刻使成分完全溶解，然后再预冷使用。
2. 冻存过程中，在将冻存液加入到细胞之后，请尽量在冰袋附近操作，因为低温可以避免保护剂对细胞造成损伤。
3. 请保证细胞冻存管完全密封，避免在复苏过程中冻存管炸裂。
4. 理论上，本产品适用于各种哺乳动物细胞的冻存，但因细胞系种类繁多，无法逐一验证，因此，若冻存干细胞、免疫细胞或者珍贵的细胞，建议您在第一次使用时进行预实验，即在冻存24h后，复苏一支，确认细胞正常，再进行后续的冻存工作，避免意外。
5. 本产品为无菌包装，无需过滤，请注意无菌取用。
6. 为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。