



## 无血清细胞冻存液使用说明书

- 产品货号： PYG0128  
产品名称： 无血清细胞冻存液  
产品规格： 50ml /100ml  
产品应用： 细胞冻存  
保存条件： 2-8° C ， 一年有效

### 产品介绍：

本产品是一种不含血清、无任何动物源性蛋白且配方化学成分明确的无血清细胞冻存液，降低了外源因子和病毒、支原体等对细胞的污染。本产品含葡萄糖、氨基酸、维生素、无机盐等细胞所必需的营养成分和DMSO等多种冷冻保护剂组合，这些保护剂有的易于穿透细胞，避免细胞内部水分子形成冰晶损伤细胞，有的不能穿透细胞，但可以在冰晶形成之前，优先结合细胞外的水分子，降低细胞外溶液的电解质浓度，减少阳离子进入细胞的数量，在细胞内外进行双重保护，最大限度减少冰晶对细胞造成的损伤，确保细胞复苏后的成活率。使用本产品时无需进行程序降温，可直接重悬细胞后于-80℃长期保存。

### 产品使用方法：

#### 一、细胞冻存步骤

1. 将细胞制备成细胞悬液（以T25瓶为例）

a) 对于贴壁细胞

- 1.1 贴壁细胞生长到80%密度以上时，将旧的培养基吸弃。
- 1.2 加入5ml无菌PBS清洗1-2遍细胞，然后移除洗液。
- 1.3 加入1ml胰蛋白酶到培养瓶于37℃培养箱消化细胞。
- 1.4 待显微镜下观察细胞变圆收缩，细胞间隙变大，细胞呈流沙状脱落即可终止消化。
- 1.5 加入4ml完全培养基中和胰酶并轻轻反复吹打成单细胞悬液。

b) 对于悬浮细胞

悬浮细胞如果是单细胞生长的直接摇匀细胞瓶，如果有细胞团或者是多细胞聚集生长的可以轻轻敲打几下将细胞吹散成单颗细胞并摇匀。



- 2.将步骤1的单细胞悬液移至无菌离心管中，取少量细胞悬液进行细胞计数，根据细胞总数计数所需要的冻存液的体积，推荐细胞冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  个/ml。
- 3.将离心管单细胞悬液于离心机中1000rpm离心5min，（如果是比较脆弱的细胞可以800rpm离心）。
- 4.收集细胞沉淀，并弃掉上清液，同时加入计算好的无血清冻存液体积。
- 5.用移液器轻柔的吹打细胞将细胞沉淀混匀。
- 6.将细胞混合液分装到无菌冻存管中，1ml-1.5ml/管，将细胞名称和冻存日期做好标记。
- 7.将分装好的冻存管迅速放入-80℃冰箱保存。
- 8.若需要将细胞转入到液氮进行长期保存，可以在-80℃冰箱保存至少24h后转入到液氮。

## 二、细胞复苏步骤

1. 提前准备一管含10ml细胞对应的完全培养基于37℃水浴锅预热。
2. 将冻存管细胞从液氮罐或者-80℃冰箱取出后迅速于37℃水浴锅解冻，轻轻摇动冻存管尽量使细胞在1min内完全融化。
3. 用75%酒精擦拭冻存管后转移至超净工作台内并将细胞悬液加入到含有10ml培养基的离心管内。
4. 将离心管细胞进行1000rpm离心5分钟（悬浮细胞800rpm离心3分钟）。
5. 弃上清，将细胞沉淀重悬到培养瓶中，补充预热的完全培养基，摇匀后放到二氧化碳培养箱培养。

## 产品使用注意事项：

1. 加入冻存液后应迅速转移至-80℃冰箱进行冻存，尽量减少常温停留时间。
2. 如果要保存在液氮罐中需等细胞在-80℃冰箱冻存至少24小时后转移到液氮中。
3. 本产品含有DMSO,部分对 DMSO 敏感的细胞建议对细胞进行一个试验性冻存实验，即冻存后复苏看看成活率，正常的话再正式冻存。
4. 对于干细胞、原代细胞、进行特殊处理的细胞以及新购买的细胞，建议在使用本无血清冻存液时也做一个预冻存，确保效果后再正式冻存，同期也建议将部分细胞用含血清的冻存液进行程序性冻存，确保这些精贵的细胞有一个稳定可靠的保种。
5. 冻存细胞使用的冻存管务必使用专用的耐低温细胞冻存管，防止复苏细胞时出现爆管现象。
6. 本产品使用过程中尽量减少敞口的时间，使用完毕后务必要及时拧紧盖子。
7. 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。
8. 本产品仅用于科研用途，不可用于诊断、治疗、临床及其他用途。

免责声明：本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责