

Cell Freezing Solution 无血清细胞冻存液

目录号：6181

保存方法：4°C 保存，一年有效。请勿冷冻保存。

试剂盒组成

组分	规格 50T
Cell Freezing Solution	50ml

产品介绍

无血清细胞冷冻存液是一种不含血清、无蛋白、无须程序降温并能长期-80°C 保存细胞的即用型细胞冻存液，适用于绝大部分的哺乳动物细胞冻存。本无血清细胞冻存液不含常用的胎牛血清(FBS)、不含任何动物来源的蛋白质，能减少细胞污染风险，确保细胞安全；而且使用本无血清细胞冻存液，可直接置于-80°C 长期保存，无须程序性降温，使用非常便捷。本品含酚红。

- 即用型细胞冻存液
- 直接冻存于-80°C 冰箱，长期保存 (>5 年)，不需要程序性降温
- 高安全性，病毒、病菌和支原体等污染可能性低
- 细胞存活率和活力高，批次性差异小

注意事项

1. 本产品在冻存细胞前请勿置于-20°C 保存，否则融化后可能会出现少量沉淀。但即使在-20°C 保存并出现沉淀，经测试对冻存效果并无显著影响。
2. 对于某些特殊细胞或特别珍贵的细胞，建议同时使用常规的含 FBS 的冻存液进行对比测试，确认复苏存活率后再使用本产品。
3. 本产品含 DMSO，对 DMSO 敏感的细胞，建议进行冻存的预实验。
4. 对于不太珍贵的常见细胞，推荐使用本无血清细胞冻存液可直接置于-80°C 长期保存，这样使用和操作更加便捷。但对于比较珍贵的细胞或者复苏效率比较低的细胞，如果希望获得更好的冻存和复苏效果，建议使用程序性降温冻存，并在-80°C 放置至少 24 小时后转移至液氮中保存。
5. 本产品采用了细胞培养常用的碳酸氢根缓冲体系，如果敞口时间过长会导致二氧化碳的释放，从而导致 pH 值逐渐升高，敞口时间过长后甚至导致溶液颜色发生变化。由于溶液中含有钙离子和镁离子，在 pH 过高的情况下，有可能出现碳酸钙、氢氧化钙和氢氧化镁的沉淀。使用过程中请注意尽量减少敞口的时间，使用完毕后一定要盖紧盖子保存。如有必要可以适当分装使用，以避免 pH 的升高。如果使用一段时间后出现少量沉淀，经测试对冻存效果并无影响。
6. 请确保冻存前细胞生长情况良好，冻存时活细胞比例通常宜大于 90%。
7. 加入细胞冻存液并混匀后须尽快移入-80°C 超低温冰箱内保存。 -80°C 超低温冰箱内保存时，请将冻存细胞置于-80°C 超低温冰箱内部，避免频繁打开冰箱门导致门边的温度发生变化而使冻存效果变差。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

无血清细胞冻存液

使用说明：

一、细胞冻存

1. **对于贴壁细胞：**去除培养液后用无菌 PBS 轻轻洗涤细胞一次以除去残留的血清，然后用适量的细胞消化液消化细胞。可以用移液器轻轻吹打细胞，如果发现细胞刚刚开始可以被吹打下来(通常显微镜观察细胞变圆或肉眼观察细胞间出现缝隙时细胞即可被吹打下来)，就可以迅速吸除胰酶，并立即加入适量含血清的细胞培养液以终止胰酶的作用，随后把细胞轻轻吹打下来，并适当吹散和重悬。注意千万不要过度消化细胞，以消化至刚好能把细胞吹打下来为最佳。消化过度的细胞由于后续生长状况会比较差，通常不宜再用于冷冻保存。吹打和重悬细胞过程需要适当轻柔，否则可能会影响复苏时的细胞存活率。

对于悬浮细胞：直接从步骤 3 开始。

2. 将细胞悬液转移至适当离心管中，如 15ml 无菌离心管。
3. 细胞计数，计算出细胞总数和所需细胞冻存液的量。细胞的冻存密度一般为 $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ cells/ml。100-200×g，离心 5-10 分钟，弃上清。离心速度和时间取决于细胞类型。
4. 加入适量细胞冻存液，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. 分装于 1.8ml 细胞冻存管中，并做好标识。

注意：如果后续拟放入液氮罐中保存，须使用专门用于液氮冻存的细胞冻存管，不能使用普通的离心管。否则在后续解冻时，易发生离心管爆裂，而容易造成人身伤害。

6. 将细胞冻存管放置在 -80℃ 冰箱内。如果后续拟放在液氮中长期保存，可在 -80℃ 冰箱内保存 24 小时后移入液氮罐内。注：如果希望获得更好的冻存效果，推荐使用程序性降温冻存，并在 -80℃ 放置至少 24 小时后转移至液氮中保存。

二、细胞复苏

1. 从 -80℃ 冰箱或液氮中取出冻存管，迅速置于 37℃ 水浴锅内，轻轻晃动(1 分钟内)，直至只剩小部分冰块残留。
2. 将细胞悬液转移至 15ml 无菌离心管中，加入约 5-10ml 预热的完全培养基，轻轻混匀；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骤的离心。
3. 100-200×g，离心 5-10 分钟，离心速度和时间取决于细胞类型。
4. 确保细胞沉积于管底后，小心弃掉上清。
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，放入细胞培养箱中培养。

本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品；
不得存放于普通住宅内。