

## 无蛋白非程序性细胞冻存液

产品编号	试剂名称	规格	保存条件
Omc-04-50 ml	无蛋白非程序性细胞冻存液	50 ml	-20 °C 2 年
Omc-04-100 ml	无蛋白非程序性细胞冻存液	100 ml	-20 °C 2 年
	说明书	1 份	

### 一、运输与存储条件。

1. 本产品低温运输，-20 °C保存，有效期为2 年。
2. 产品使用过程中4 °C保存，3 个月内用完，避免反复冻融。

### 二、注意事项（请使用试剂盒前阅读此注意事项）。

1. 为了保证细胞冻存效果，冻存细胞应该生长良好，处于对数生长期。
2. 冻存细胞的密度一般控制在  $2-5 \times 10^6$  cells / mL，密度过低或过高都会影响冻存效果。
3. 细胞复苏后离心除去细胞冻存液，避免细胞冻存液对细胞生长的影响。
4. 本产品冻存的细胞可以在-80 °C冰箱中保存12 个月，长期保存请转入液氮罐。

### 三、产品简介。

本产品是一种不含胎牛血清和其它动物源性蛋白成份的细胞冻存试剂，由细胞膜保护剂、渗透性和非渗透性细胞保护剂组成，并添加细胞营养物质，冻存细胞的同时提高细胞的存活率。

### 四、特点与优势。

1. 与市面同类产品相比，本产品纯由化学物质配制而成，不含任何动物源性成份，可用于常规培养细胞和临床治疗用细胞的冻存。
2. 本产品冻存细胞时不需要程序性降温盒，重悬细胞后可直接置于-80 °C冰箱中保存，12 h 后转到液氮中保存，或一直存放于-80 °C冰箱中保存（12 个月）。
3. 本产品冻存细胞效果好，细胞复苏率高，与含有胎牛血清（FBS）的冻存液效果一致。
4. 本产品中的DMSO 含量为5%，对冻存细胞的毒性较小。

### 五、使用说明。

1. 细胞冻存。

- 1) 细胞培养。细胞接种于直径为 100 mm 的培养皿中，24 或 48 h 后密度达到 80% 左右，处于对数生长期。
  - 2) 细胞收集。胰酶消化法收集贴壁细胞（或直接收集悬浮细胞），1,000 rpm（离心力为 97 g），离心 5 min，弃上清。
  - 3) 细胞冻存。加入 2 ml 无蛋白非程序性细胞冻存液，混匀，分装于 2 支冻存管，置于 -80 °C 冰箱中，12-24 h 后转入液氮长期保存。
2. 细胞复苏。
- 1) 预热。提前开启水浴锅，温度调整到 37 °C（或 42 °C，能够促进细胞冻存液更快的融化）。
  - 2) 细胞复苏。从液氮罐或 -80 °C 冰箱中取出冻存细胞，立即置于预热后的水浴锅中，快速晃动冻存管，使冻存细胞尽快融化。
  - 3) 离心。将融化的冻存细胞转入含有 9 ml 细胞培养液的离心管中，混匀，1,000 rpm（离心力为 97 g），离心 5 min，弃上清。（融化的冻存细胞也可直接离心）
  - 4) 细胞培养。在离心管中加入 1 ml 的细胞培养液，混匀，转入含有 9 ml 细胞培养液的细胞培养皿中，混匀，置于细胞培养箱中培养。
  - 5) 检测。24 h 后观察细胞贴壁情况和生长状态。

## 六、细胞冻存效果鉴定。

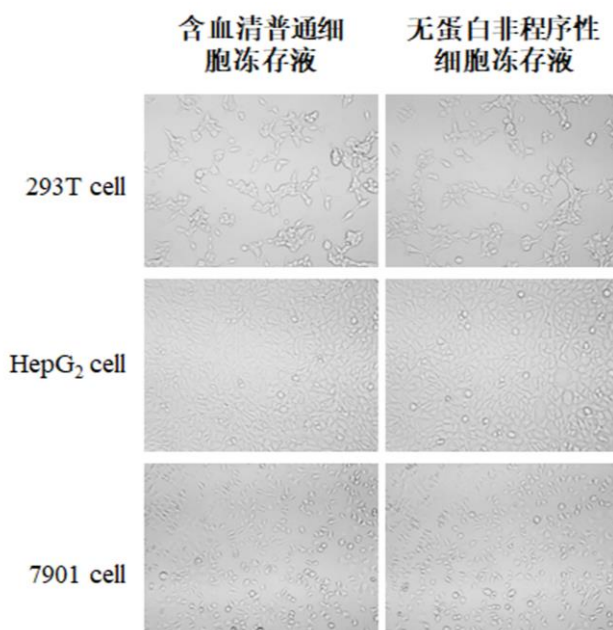


图 1. 无蛋白非程序性细胞冻存液效果鉴定。

利用无蛋白非程序性细胞冻存液和含有胎牛血清的常规细胞冻存液冻存 293T, HepG2 和 7901 细胞, 复苏后, 两种冻存液冻存的细胞的生长状态没有明显差异, 表明无蛋白非程序性细胞冻存液的冻存效果与含有胎牛血清的细胞冻存液的冻存细胞效果一致。

## 七、常见问题与分析。

问题	可能原因	解决方案
复苏后细胞存活率低	冻存前细胞状态较差。	请选用状态较好, 处于对数生长期的细胞冻存。
	冻存的细胞密度不合适, 过大或过小。	请按照说明书提供的冻存细胞密度范围, 进行细胞冻存。
	冻存细胞未在-80℃放置 12 h, 直接转入液氮罐。	细胞用冻存液重悬后, 不可直接转入液氮罐, 必须在-80℃静置 12 h 以上, 才可转入液氮罐。
	冻存细胞在-80℃放置时间太长 (超过 12 个月)。	冻存细胞长期保存时, 应该转入液氮罐存放。
	冻存细胞被反复冻融。	冻存细胞严禁反复冻融。
	复苏细胞时, 解冻速度较慢。	遵循“慢冻快融”的原则, 细胞复苏时, 提高震荡速度, 或适当升高水浴锅温度 (42℃), 尽快使冻存细胞融化。
	细胞复苏后, 未除去细胞冻存液。	部分细胞对冻存液比较敏感, 复苏后应离心除去冻存液, 再继续培养。
	冻存液失效。	请使用保质期内的试剂。
复苏后细胞量偏少	冻存细胞数量较少。	增加冻存细胞数量。
	复苏后, 细胞未离心到管底。	适当增加离心速度, 延长离心时间, 保证将细胞沉淀到管底。