# Witcel

# 无血清细胞冻存液

#A401

# 产品概述

无血清细胞冻存液,主要成分有: 氨基酸,维生素,无机盐,白蛋白,冷冻保护剂等。无需梯度降温,含多种保护剂成分,一些保护剂,易于穿透细胞,避免细胞内部水分子形成冰晶损伤细胞,同时另一些保护剂不能穿透细胞,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,大大提高了细胞复苏存活率。与传统冻存液相比,无需繁琐费时的程序冻存步骤或价格高昂的程序降温仪,可直接重悬细胞后置于-80°C,次日转移到液氮中,整个冻存过程节省了大量的时间与精力。

# 产品特点

- 1. 无动物源成分、且化学成分明确、安全高效、批次间差异小。
- 2. 细胞存活率和活力高,细胞复苏率高达90%以上,适用于大多数哺乳动物细胞的冻存。
- 3. 操作简单,直接冻存于-80℃冰箱,无需程序性梯度降温,并在-80℃中可以保存至少5年。
- 4. 即用型细胞冻存液、2-8℃稳定保存1年以上。

# 产品/组分信息

组分名称	A401-01
无血清细胞冻存液	100mL

# 储存方式

2-8℃保存,一年有效。

# 使用说明

### 细胞冻存

- 1. 对于贴壁细胞:
- 去除旧培养基后用无菌PBS清洗两遍以除去残留血清
- 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1~2min,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

对于悬浮细胞:直接从步骤2开始。

- 2. 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以5×10⁵-1×10⁻cells/mL为宜。
- 3. 将所需量的细胞悬液转移至适当无菌离心管中,如15mL无菌离心管。200-500×g,离心3-5min,弃上清收集细胞。 离心速度和时间取决于细胞类型。
- 4. 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。建议每管1ml或1.5ml。

- 5. 直接置于-80°C冰箱中储存,在-80度细胞可保存五年以上;或者-80°C过夜后,次日将细胞投入液氮中长期储存。 【注】:
- 1. 冻存前,需确保细胞处于对数生长期。
- 2. 冻存操作过程中,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. 务必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,但依然建议在第一次使用本产品之前,事先对所冻存的细胞进行至少为期 1周的试验性细胞冻存复苏培养,确认性能后再进行正式冻存。

#### 细胞复苏

- 自液氮罐或-80℃冰箱中取出冻存管,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),轻摇冻存管使其在1~2min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15 mL无菌离心管中,200~500×g,离心3-5 min,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。