

# 通用血清型程序冻存液使用说明书

## 货号：GPB180436

### 一、产品简介

冷冻保存是保存细胞的主要方法，对细胞的保种、引种、培养以及实验研究等具有重要意义。在冻存细胞时，为使细胞免受冷冻损伤，常常加入冷冻保护剂，目前使用最为广泛的是渗透型保护剂DMSO（二甲基亚砜），其保护机制是在细胞冷冻悬液完全凝固之前渗透到细胞内，在细胞内外产生一定的摩尔浓度，降低细胞内外的未结冰溶液中电解质的浓度，从而保护细胞免受高浓度电解质的损伤，同时细胞内的水分也不会过分外渗，避免了细胞过分脱水皱缩。但DMSO在常温下对细胞毒副作用较大，浓度较大时对细胞毒害作用较大，尤其是敏感的细胞，如杂交瘤细胞；一般情况下，DMSO使用终浓度在5-15%时具有较好的效果。

武汉普诺赛生产的通用血清型程序冻存液，由DMSO、进口胎牛血清（FBS）和DMEM/F12基础培养基组成，伴随着普诺赛的发展，经过数百种细胞的验证，适用于各种哺乳动物原代细胞，传代细胞系和杂交瘤细胞等细胞的冻存，细胞存活率高，储存稳定，使用方便。

### 二、产品信息

形态	液体
规格	10mL×5/10mL×10
浓度	即用型
DMSO	5%
FBS	40%
DMEM/F12基础培养基	55%
细胞存活率	≥ 90%
细菌检查	阴性
真菌检查	阴性
支原体检查	阴性
储存条件	2-8°C或-5~-20°C，避光
运输条件	低温
有效期	2-8°C，3个月；-5~-20°C至少24个月

### 三、使用说明

#### （一）细胞冻存

1. 选择对数生长期的细胞（90%左右），并保证在收获前24 h内换液一次，收集细胞，并将细胞制备成单细胞悬液（贴壁细胞可能需要用胰酶消化），计数并保证细胞活率> 90%；
2. 将细胞悬液1000 r/min离心5 min，弃上清；

网站: [www.procell.com.cn](http://www.procell.com.cn)

电话: 400-999-2100

邮箱: [techsupport@procell.com.cn](mailto:techsupport@procell.com.cn)

地址: 湖北省武汉市高新大道858号生物医药产业园三期C4栋



3. 向细胞沉淀物中加入细胞冻存液重悬细胞，轻轻吹打混匀，使细胞密度达到 $2-5 \times 10^6$ 个/mL；
4. 将上述细胞悬液按0.5 mL或1.0 mL的的量，分装于无菌细胞冻存管内，拧紧管盖，并做好标记；
5. 按细胞冻存程序性降温步骤冻存细胞（ $2-8^{\circ}\text{C}$ ，40 min； $-20^{\circ}\text{C}$ ，30-60 min； $-80^{\circ}\text{C}$ ，过夜（ $> 16 \text{ h}$ ）；液氮保存）或使用程序降温盒降温后，再转移至液氮罐中长期保存。

## （二）细胞复苏

1. 将水浴锅预热至 $37^{\circ}\text{C}$ ，准备好干净的一次性PE手套，一个无菌离心管内加入9 mL无菌培养基（提前预热）。
2. 将细胞从液氮罐中取出放入PE手套中，迅速没入 $37^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中，摇晃冻存管加速溶解，以1分钟内全部融解为宜。  
**小贴士：**如果冰箱或液氮罐距离水浴锅路途较远（步行超过1 min），要把细胞先置于干冰上，再送至水浴锅。如果将细胞冻存管直接放在手上或口袋里，可能导致温度逐渐回升而产生冰晶损伤细胞。而将细胞冻存管装在PE手套中，是为了预防污染。这一步越快融化越好，最好能放计时器在旁边。如果1分钟内没有融化，可能是冻存液量偏多，或者摇晃力度不够。
3. 在超净台中将复苏好的细胞液加入到装有新鲜培养基的离心管内，1200 rpm 离心3 min，离心完毕去掉上清。
4. 用适量与细胞对应的完全培养基重悬细胞，接入到无菌容器中（培养瓶或培养皿），补充培养基到适宜，放入培养箱培养。

## 四、注意事项

1. 本产品经3次 $0.22 \mu\text{m}$ 过滤除菌，使用本产品时应注意无菌操作，避免污染；
2. 本产品在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 中解冻，摇匀后使用，请勿反复冻融，用量较少时建议分装冻存；
3. 本产品不宜长时间放置于室温环境中，初次融化后可在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 避光保存3个月；
4. 使用本产品时如有少量蛋白析出，可以直接使用，不会影响冻存效果，也可离心去沉淀后使用；
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
6. 冻存细胞分装至冻存管后，应减少在室温/ $4^{\circ}\text{C}$ 存放时间，尽快移入到 $-80^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱，并保证超低温冰箱的温度稳定；
7. 若想长期保存细胞，可将冻存细胞经程序降温后置于 $-80^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱过夜冻存后（ $> 16 \text{ h}$ ），再转移至液氮罐中长期保存；
8. 冻存细胞时，请将细胞冻存管管盖拧紧，以免液氮内渗，而导致细胞复苏时发生冻存管炸裂危险；
9. 针对敏感细胞系、珍贵细胞系、原代细胞样本等冻存时，建议您在使用前，事先对所冻存的细胞进行至少为期1周的细胞冻存测试实验，确认没问题后再进行正式冻存；
10. 本产品仅用于科研或进一步研究使用，不可用于诊断、治疗、临床及其他用途。

