



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
订货热线: 400-1683301或800-8283301  
订货e-mail: order@beyotime.com  
技术咨询: info@beyotime.com  
网址: http://www.beyotime.com

## 细胞冻存液

产品编号	产品名称	包装
C0210	细胞冻存液	50ml

### 产品简介:

- 碧云天的细胞冻存液(Cell Culture Freezing Medium)是一种即用型的培养细胞低温冻存液, 适用于绝大部分的哺乳动物细胞冻存。
- 本产品是即用型的无菌溶液, 待冻存的细胞收集后, 加入适量冻存液混匀即可, 无需自行配制任何溶液, 使用非常便捷。
- 细胞冻存是细胞保存的主要方法之一。利用冻存技术将细胞置于-196°C的液氮中低温保存, 可以使细胞暂时脱离生长状态而将其细胞特性长期保存起来, 在需要的时候再复苏细胞用于实验。同时适度地冻存一定量的细胞, 可以防止因细胞被污染或其它意外事件而使细胞无法继续培养, 起到了细胞保种的作用。
- 细胞冻存和复苏一般采用‘慢冻快融’的方法, 该方法能较好地保证细胞存活率。
- 碧云天的细胞冻存液包含了细胞冻存所需的所有组分, 主要成分是高糖DMEM、适量澳洲进口优质胎牛血清及DMSO等, 并在此基础上优化了相关组分, 可大大提高复苏时细胞的存活率。
- 如果每管细胞使用1ml细胞冻存液, 一个包装的本产品可以用于约50管细胞的冻存。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C0210	细胞冻存液	50ml
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存, 一年有效。4°C保存, 3个月有效。

### 注意事项:

- 使用前需确保细胞冻存液完全融化, 并轻轻混匀。融化后的细胞冻存液置于4°C保存。
- 请确保冻存前细胞生长情况良好, 例如处于对数生长期的细胞, 并且冻存时存活率大于90%。
- 建议细胞冻存在液氮中, 可以长时间进行保存。如果置于-80°C保存, 保存时间大约为1年。
- 请使用耐受有机溶剂的marker笔(Alcohol Resistant Marker)进行标记, 以防做的标记被酒精或异丙醇等有机溶剂擦掉, 而不能辨识。
- 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。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

#### 1. 细胞冻存

- 完全融解并混匀细胞冻存液, 4°C保存备用。
- 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如碧云天的胰酶细胞消化液(C0203)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c开始。
- 将细胞悬液转移至适当离心管中, 如15ml无菌离心管。
- 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 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  cells/ml。
- 100-200g, 离心5-10分钟, 弃上清。离心速度和离心时间取决于细胞类型。
- 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 $1 \times 10^6$  cells/ml或更高)。
- 分装于1.5ml或2ml细胞冻存管中, 并做好标识。注意: 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。
- 将细胞冻存管放置于可逐步降低温度的装置如程序性冻存盒内并放置在-80°C冰箱内, 确保冷却速度约为 $1^\circ\text{C}/\text{min}$ 。通常冷却

速度不宜快于0.5°C/min。

- i. 放置在-80°C冰箱内约24小时后转移至液氮中保存。

## 2. 细胞复苏

- a. 从液氮中取出冻存管，迅速置于37°C水浴锅内，轻轻晃动(1分钟内)，直至只剩小部分冰块残留。
- b. 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。
- c. 100-200g，离心5-10分钟，离心速度和时间取决于细胞类型。
- d. 确保细胞沉积于管底后，小心弃掉上清。
- e. 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。

## 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0201	胰酶细胞消化液	100ml
C0203	胰酶细胞消化液(含酚红)	100ml
C0205	胰酶细胞消化液(不含EDTA)	100ml
C0207	胰酶细胞消化液(含酚红, 不含EDTA)	100ml
C0210	细胞冻存液	50ml
C0221A	PBS	500ml
C0222	青霉素-链霉素溶液(100X)	100ml
C0230	胎牛血清(Bovogen原装, 产地南美)	500ml
C0232	胎牛血清(Gibco原装, 产地南美)	500ml
C0235	胎牛血清(Gibco原装, 产地澳洲)	500ml
C0242	新生牛血清(Gibco原装, 产地新西兰)	500ml
C0246	马血清(Gibco原装, 产地新西兰)	500ml
C0251	胎牛血清(产地南美)	50ml
C0252	胎牛血清(产地南美)	500ml
C0256	胎牛血清(产地澳洲)	50ml
C0257	胎牛血清(产地澳洲)	500ml
C0258	新生牛血清(产地新西兰)	50ml
C0262	马血清(产地新西兰)	50ml

Version 2016.09.12