

Meilun Serum-Free Cryopreservation Medium
 无血清非程序细胞冻存液（无酚红）

规格：100 ml

产品内容

产品组成		
无血清非程序细胞冻存液（无酚红）	100 ml	100 ml
说明书	1 份	1 份

产品简介

细胞冻存液作为冻存细胞时的液体环境，给细胞提供着营养和保护作用，可使冰点降低，提高细胞膜对水的通透性，能使细胞内水分在冻结前透出细胞，防止或减少冰晶对细胞的损伤，使细胞暂时脱离生长状态而将其细胞特性保存起来，在需要时直接复苏就可恢复细胞活性。传统的细胞冻存液是使用培养基、血清和DMSO按照一定的比例混合，因其中的血清成分复杂、批次差异大等缺点，其应用具有局限性，且需要采用程序性降温的冻存方法，费时费力。

无血清非程序细胞冻存液（无酚红）化学成分明确，含有糖类、氨基酸等营养物质以及DMSO等多种保护剂，大大降低了在冻存过程中冰晶对于细胞的损伤，有效提高细胞复苏率和活力；不含血清成分，减少了外源因子和污染源，更加安全、稳定；同时省去繁琐费时的程序性降温过程，可直接重悬细胞后置于-80℃保存，或次日转移到液氮中。

无血清非程序细胞冻存液（无酚红）高效、安全、稳定、操作便捷，与传统细胞冻存液相比具有明显优势（表1），推荐用于常规哺乳动物细胞（包括肿瘤或转化细胞系、原代细胞、干细胞、免疫细胞等）的冻存，尤其适合无血清培养的细胞冻存。因本产品不含酚红，所以也适用于激素相关实验细胞的冻存。按照一般情况冻存1管细胞使用1ml冻存液计算，本产品可以用于大约100管细胞的冻存。

表 1：传统细胞冻存液和美仑无血清非程序细胞冻存液（无酚红）的特点比较

	传统细胞冻存液	无血清非程序细胞冻存液（无酚红）
成分	基础培养基+血清+DMSO，血清成分复杂	化学组成明确，含有营养成分和保护剂，不含血清成分
冻存液配制	现用现配	即用型，无需配制，4℃保存，即取即用
冻存操作方法	较复杂，需要程序性降温，操作时间长	简单快捷，直接放入-80℃即可，省时省力
复苏存活率	一般（微量冻存时细胞存活率低）	高（微量冻存时细胞存活率也高）
细胞保存设备	液氮	液氮或者-80℃低温冰箱
安全性	有血清来源病毒、霉菌和支原体等污染风险	无血清来源病毒、霉菌和支原体等污染风险
冻存细胞种类	适合含血清细胞冻存	适合各类细胞冻存，尤其是无血清驯化细胞，节省再驯化步骤
批次差异	批次差异大	批次差异极小
整板冻存	不可行	可行，且方便快捷

使用方法

（一）细胞冻存：

【冻存前，请确保细胞处于对数生长期】

1. 贴壁细胞制备细胞悬液：（悬浮细胞请忽略此步骤）

(1) 将旧培养基吸除，用PBS清洗两遍。

(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1~2分钟，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。

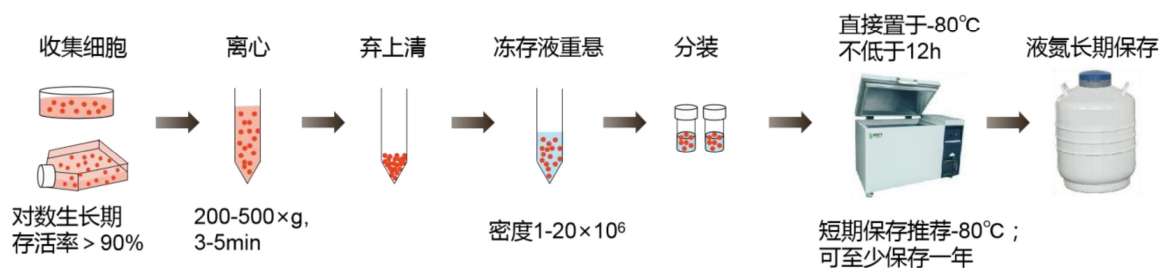
2. 贴壁细胞和悬浮细胞的冻存：

(1) 取少量细胞悬液细胞计数，算出细胞总数和所需细胞冻存液的量。细胞的冻存密度以 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^7$ cells/ml为宜。

(2) 将所需量的细胞悬液转移至适当离心管中， $200 \sim 500 \times g$ ，离心3-5分钟，弃上清收集细胞。（离心速度和时间取决于细胞类型）

(3) 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。

(4) 直接置于 -80°C 冰箱中储存，细胞可至少保存一年；或者 -80°C 过夜后，次日将细胞投入液氮中长期储存。

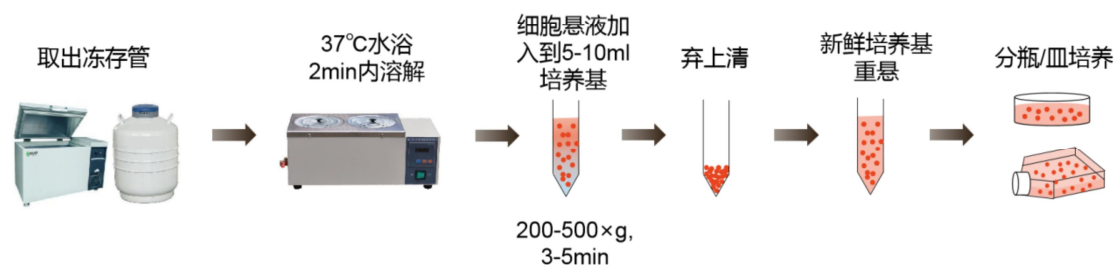


（二）细胞复苏：

1. 自液氮罐或 -80°C 冰箱中取出冻存管，检查盖子是否旋紧，立即放入 37°C 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1~2分钟内全部融化，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15ml无菌离心管中，再加入5~10ml预热好的完全培养基，轻轻混合均匀， $200 \sim 500 \times g$ ，离心3-5分钟，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。



保存条件

2-8℃保存，一年有效。

注意事项

1. 冻存过程中，在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。
2. 请保证细胞冻存管完全密封，避免在复苏过程中冻存管炸裂。
3. 理论上，本产品适用于各种哺乳动物细胞的冻存，但因细胞系种类繁多，无法逐一验证，因此我们推荐您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。
4. 本产品为无菌包装，无需过滤，请注意无菌取用。
5. 为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。