

## 通用血清型程序冻存液使用说明书

货号：PB180436

## 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24h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；



2. 将细胞悬液1000r/min离心5min，弃上清；
3. 向细胞沉淀物中加入冷冻液，轻轻吹打，使细胞密度达到 $2-5 \times 10^6$ 个/mL；
4. 将上述细胞悬液按0.5-1.0mL的量，分装于无菌细胞冻存小管内，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°C，40min；-20°C，30-60min；-80°C，过夜；液氮保存）或使用程序降温盒降温后，再转移至液氮中保存。

## （二）细胞复苏

1. 细胞复苏时，液氮中取出冻存管后，直接于37°C水浴中完全解冻（勿使水浸没冻存管口，而造成污染）；
2. 从37°C水浴中取出冻存管，酒精消毒后，吸出细胞悬液于10倍体积的培养液中，1000r/min 离心5min，弃上清；
3. 加入含血清的培养液重悬细胞，计数，调整细胞密度，接种培养瓶，37°C培养箱静置培养，次日更换一次培养液，继续培养。

## 四、注意事项

1. 使用本产品时应注意无菌操作，避免污染；
2. 2-8°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. 不宜长时间放置于室温环境中，初次融化后可在2-8°C避光保存至少一个月；
4. 使用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. 冻存后的细胞请勿在-80°C保存超过一个月，长期保存应放置于液氮中；
6. 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；
7. 因本品中含有DMSO，使用时请做好防护措施，避免与皮肤直接接触；
8. 本产品仅用于科研或进一步研究使用，不用于诊断和治疗。

