

非程序无血清细胞冻存液（无酚红）

产品货号: LBH-001 规格: 100ML 储存及运输: 2~8℃避光保存, 有效期 12 个月; 冰袋运输

一、产品介绍

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, 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。

二、使用方法

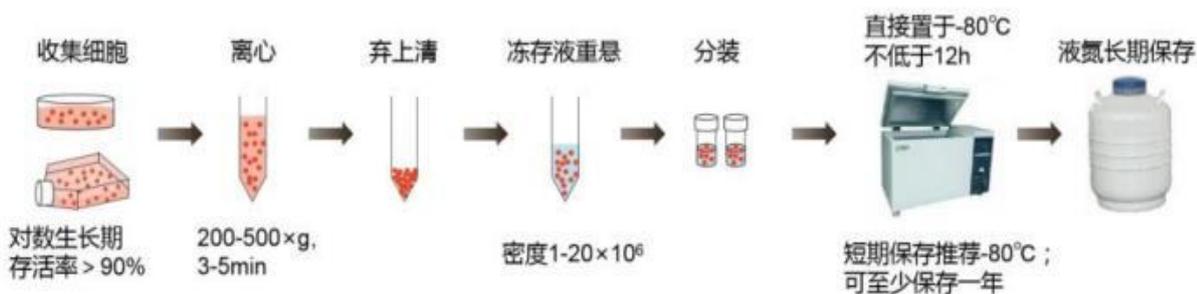
细胞冻存【冻存前, 请确保细胞处于对数生长期】

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, 200~500×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℃冰箱中储存, 细胞可至少保存一年; 或者-80℃过夜后, 次日将细胞投入液氮中长期储存。



三、细胞复苏

1. 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 1~2 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，200~500×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）
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。

四、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

