

# ExCell Bio

## OptiVitro<sup>®</sup> 无血清细胞冻存液 UC04 说明书

本品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗

### User Manual

Catalog Number UC000-N056  
UC000-N056S



## | 产品概述

无血清细胞冻存液 UC04, 是一款普遍适用于多种哺乳动物细胞低温冷冻保存的即用型细胞冻存液, 经验证本品适用于外周血单核细胞 (PBMC)、T 细胞、NK 细胞、间充质干细胞 (MSC) 等多种类型细胞的冻存。本品无血清, 无蛋白, 无异源体, 成分简单、明确, 能够保持多种细胞的复苏活率可达到 90% 以上。

## | 产品规格及储存条件

货号	规格	保存条件	有效期
UC000-N056	100 mL	2~8℃, 避光保存	18 个月
UC000-N056S	8 mL	2~8℃, 避光保存	18 个月

## | 产品原理

我公司推出的细胞冻存液, 通过冷冻保护剂保护细胞, 冷冻保护剂与水分子结合, 发生水合作用, 弱化水的结晶过程, 使溶液的粘性增加从而减少冰晶的形成, 同时冷冻保护剂可以通过在细胞内外维持一定的摩尔浓度, 降低细胞内外未结冰溶液中电解质的浓度, 使细胞免受溶质的损伤, 进而保持细胞在低温状态下稳定存活。

## | 产品特点

- **安全:** 无血清, 无蛋白, 无异源体成分, 化学成分明确, DMSO 含量 7.5% (v/v);
- **简单:** 化学成分简单明确, 更有利于在临床研究中的评估与应用;
- **高效:** 适用于 T 细胞, NK 细胞等多种免疫细胞冻存, 复苏活率可达到 90% 以上;
- **广谱:** 也适用于 hMSC、HEK293、Vero、CHO 等多种类型细胞系, 更多细胞系使用前请进行验证;
- **方便:** 即用型, 无需额外配制。

## I 操作方法

### 一、细胞冻存

以下操作以 T 细胞的冻存为例简述细胞冻存液的操作方法。

1. 冻存前观察记录细胞生长状态，细胞活率，收集生长状态良好的 T 细胞，300g 离心 5 分钟，弃上清，保留细胞沉淀；

**注意：**冻存前的细胞状态直接影响冻存复苏后的细胞活率及生长，保持 T 细胞冻存前活率 95%以上，并处于扩增对数期，更有利于获得较好的冻存效果。

2. 加入适当体积的 PBS 重悬细胞，300g 离心 5min 收集细胞，弃上清；

**注意：**细胞清洗为非必要步骤，可根据工艺需求进行，也可使用细胞冻存液进行重悬润洗；使用冻存液润洗细胞，离心时建议采用低温离心。

3. 根据冻存密度需要，添加适量无血清细胞冻存液 UC04，反复吹吸使细胞分散均匀；

**注意：**冻存密度可根据需要调整，T 细胞推荐冻存密度为  $1 \times 10^6$  /mL~ $1 \times 10^8$  /mL，更高密度细胞冻存请验证后使用。

4. 将细胞悬液转移至冻存管内，旋紧管盖，做好标记；

5. 将冻存管放入程序降温盒（ExCell Bio, CS041-0001）内，转移至-80°C冰箱过夜（或储存 6h 以上）；

6. 将细胞冻存管从-80°C冰箱内取出，迅速转移至-196°C液氮或气相罐中长期保存；

**注意：**对于较长期保存细胞，建议每 5-10 年复苏鉴定细胞状态。

### 二、细胞复苏

1. 复苏准备：开启水浴锅，调整温度，使水浴锅内水温稳定在 37°C；细胞培养基 37°C预温；确认细胞存放的位置；

2. 取出细胞，确认标签，迅速转移至 37°C水中，不断摇动冻存管并观察其中的冰块解冻情况（约需要 2~3min）；

3. 当冻存管中的冰块**即将完全融化时**，将其从水浴锅中取出，用 75%酒精充分清洁外表面后，移入生物安全柜或超净工作台内；

**注意：**摇动时避免水浴浸没冻存管盖；尽量缩短解冻时间；避免冻存管内冻存液溶解后升温。

4. 用 75%酒精棉球再次清洁冻存管口、管壁；
5. 打开冻存管，用移液器轻柔混匀后，将细胞悬液转移至预温的完全培养基内，轻柔吹打悬液，使细胞混合均匀；

**注意：**逐滴加入，轻柔操作，每毫升冻存液推荐加入至 10mL 完全培养基内。

6. 300g 离心 5min，收集细胞，弃上清；
7. 加入适量培养基再次重悬细胞，进行细胞计数，计算细胞密度；
8. 按照细胞类型或研究需要，接种适当密度的细胞至合适的培养器皿内，摇匀后，转移至培养箱中培养。