

ExCell Bio

OptiVitro[®] 无血清细胞冻存液说明书

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 VUC00-N011

VUC00-N011S



产品概述

OptiVibro®无血清细胞冻存液 (Serum-free Cell Cryopreservation Medium)，是一款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。经验证本品适用于人间充质干细胞 (hMSC)、中国仓鼠卵巢细胞 (CHO)、外周血单核细胞 (PBMC)、人胚肾细胞 (HEK293)、非洲绿猴肾细胞 (Vero) 等类型细胞的冻存。本品无须进行额外配制，使用简单，细胞冻存后复苏的回收率和存活率高，可完美替代传统的含血清冻存液。

产品规格及储存条件

货号	规格	保存条件	有效期
VUC00-N011	100 mL	2~8°C，避光保存	18 个月
VUC00-N011S	8 mL	2~8°C，避光保存	18 个月

产品原理

对珍贵细胞样品的妥善冻存和复苏是细胞培养成功的关键因素。我公司推出的无血清细胞冻存液，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，无异源体成分；
- **广谱：**普遍适用于 hMSC、PBMC、CHO、HEK293、Vero 细胞的冻存，更多细胞系冻存使用前需进行验证；
- **高效：**细胞复苏率高，多种细胞的复苏活率在 90% 以上；
- **方便：**即用型，无需额外配制；
- **简捷：**可适用于 hMSC、CHO、HEK293 细胞的非程序化冻存及 -80°C 环境短期保存，更多类型细胞系的简化操作需验证后使用。

I 操作方法

一、细胞冻存

1. 对于新鲜提取的 PBMC 或生长状态良好的悬浮培养细胞，可直接离心收集细胞，300×g 离心 5 分钟，弃上清；

注意：对于贴壁细胞，需将其用重组胰蛋白酶消化 2 分钟，用胰蛋白酶抑制剂终止消化，重悬细胞，300×g 离心 5 分钟，弃上清；

2. 加入适当体积的 PBS 重悬细胞，细胞计数，计算细胞总量；

注意：对于悬浮培养细胞或提取的 PBMC，进行细胞计数前应注意将其吹打分散为单细胞。

3. 再次以 300×g 离心 5 分钟，弃上清；

4. 根据冻存密度需要，添加适量 OptiVibro® CM-SF 细胞冻存液，反复吹吸 4-5 次使细胞分散均匀，重悬细胞；

注意：冻存密度可根据需要调整，贴壁细胞冻存密度推荐 $0.5-5 \times 10^6$ 个 /mL，悬浮细胞如 PBMC 和 CHO 等推荐 $0.5-2 \times 10^7$ 个 /mL。

5. 将细胞悬液转移至冻存管内，旋紧管盖，做好标记；

6. 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）；

7. 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 2~3 分钟）；
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 1：逐滴加入，或轻柔操作，每毫升冻存液推荐加入至 5-10mL 完全培养基内。

注意 2：洗涤并收集冻存管内残液，有利于提高细胞复苏回收率。

6. 300×g 离心 5 分钟，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。