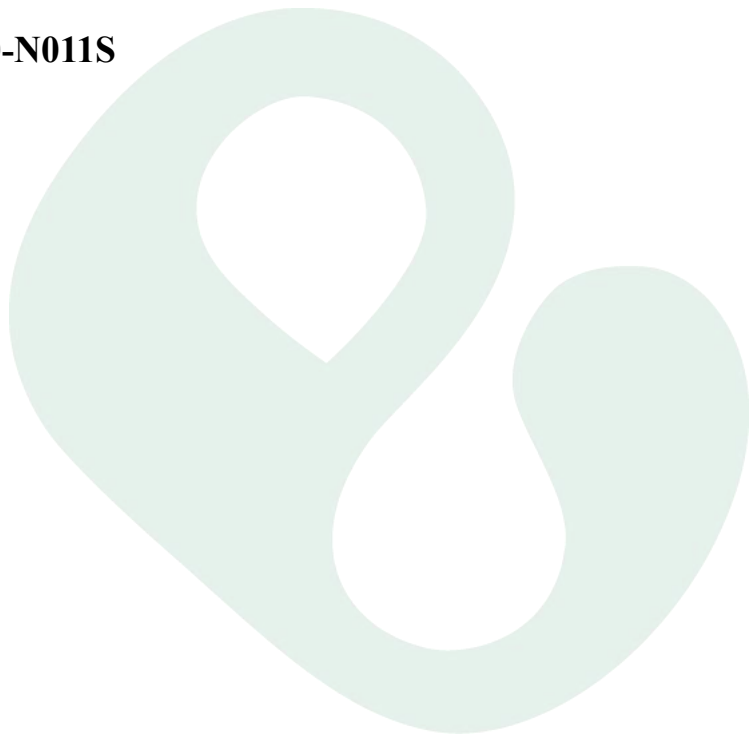


ExCell Bio

OptiVitro[®] 无血清细胞冻存液

User Manual

产品货号： VUC00-N011
VUC00-N011S



产品概述

OptiVibro® 无血清细胞冻存液 (OptiVibro® Cell Cryopreservation Medium SF, 以下简称 OptiVibro® CM-SF), 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	12 个月
VUC00-N011S	10 ml	2-8 °C, 避光保存	12 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。OptiVibro® CM-SF 的配方基于优化的细胞营养成分、pH 值及渗透压, 确保细胞冻存后复苏的高回收率和高存活率; 内含 10% 的冻存保护剂, 即开即用, 避免了繁琐的冻存液配制操作; 实行严格的生产质量控制, 确保其性能的稳定。

产品特点

- **安全:** 无血清, 不含异种动物成分;
- **广谱:** 普遍适用于多种类型细胞系 (如 hMSC、PBMC、CHO、HEK293、Vero 等);
- **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:** 可适用于细胞冻存多种简化操作, 可适用非程序化冻存, 亦可适用 -80°C 环境保存。

1
2
3

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；

提示：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；

提示：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；

提示：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℃冰箱过夜（或储存 6h 以上）；

7. 将细胞冻存管从-80℃冰箱内取出，迅速转移至-196℃液氮或气象罐中长期保存；

提示：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℃；细胞培养基 37℃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℃ 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；

提示： 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；

提示 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。

提示 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。

安全信息

此产品含有人血白蛋白成分，使用材料为符合国家批准的可临床应用的原材料，有明确的来源、批号及质量报告，经过艾滋病病毒（HIV-1/2）抗体、乙肝表面抗原（HBsAg）抗体和丙肝病毒（HCV）检测，检测结果呈阴性。然而，此产品仍然应该作为潜在的传染源来对待，使用时严格遵守安全实验手册，并穿戴防护设备，避免直接接触。

 相关数据

一、OptiVidro® CM-SF 冻存 PBMC 细胞表现出高细胞回收率

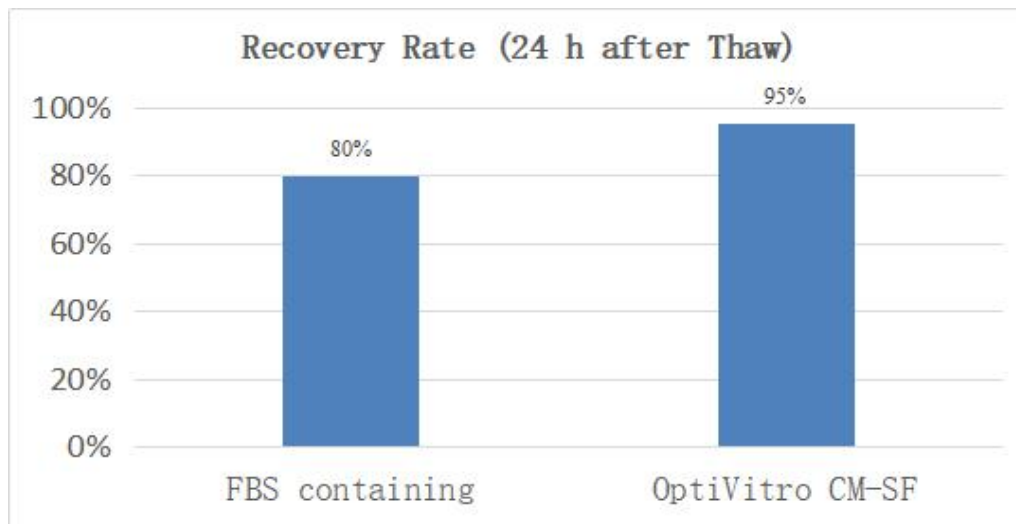


图 1. OptiVidro® CM-SF 冻存 PBMC 细胞获得高复苏回收率的代表性数据。新鲜提取的 PBMC 细胞分别使用传统含血清的冻存液和 OptiVidro® CM-SF 于液氮中冻存 1 周。复苏后 24 小时测定活细胞总数并计算细胞回收率。OptiVidro® CM-SF 冻存复苏的细胞回收率达 95%。

二、OptiVidro® CM-SF 冻存 PBMC 细胞显示出高细胞存活率

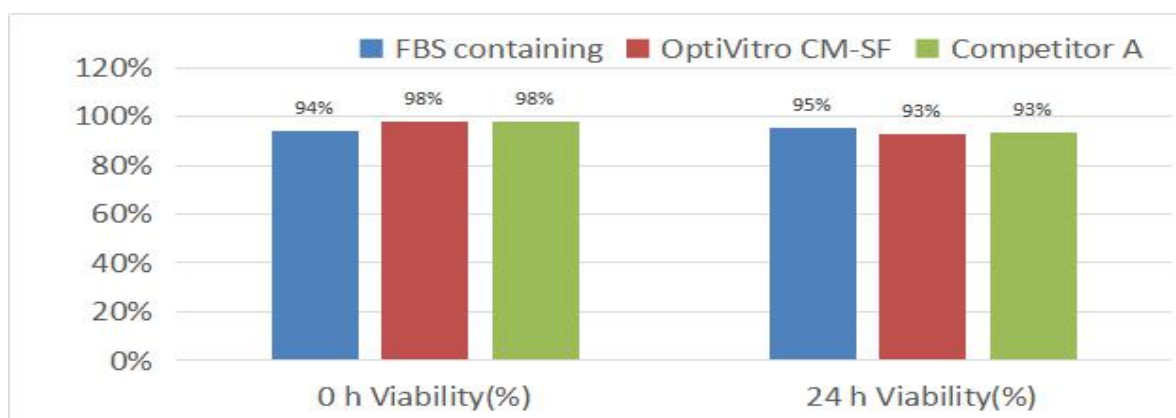
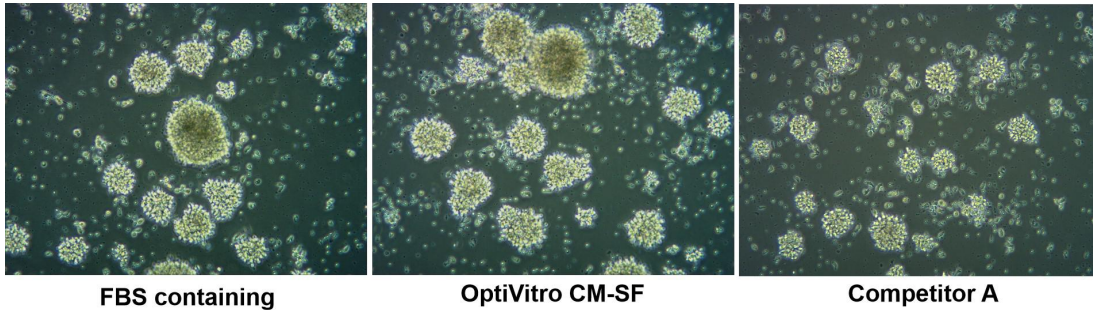


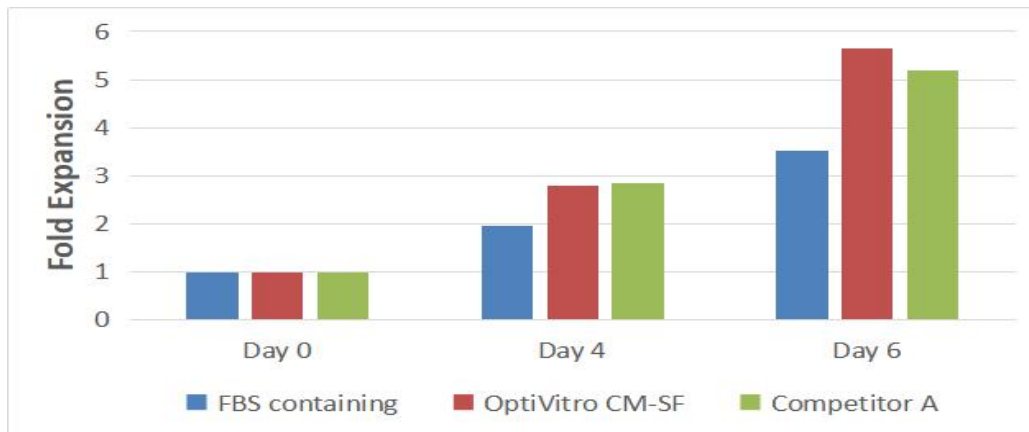
图 2. OptiVidro® CM-SF 冻存 PBMC 细胞获得高复苏存活率的代表性数据。新鲜提取的 PBMC 细胞分别使用传统含血清的冻存液、OptiVidro® CM-SF 及竞品无血清冻存液于液氮中冻存 1 周。复苏后 0 小时和 24 小时分别测定细胞存活率。数据显示 OptiVidro® CM-SF 冻存 PBMC 的复苏后存活率稳定在 90% 以上。

三、OptiVidro® CM-SF 冻存 PBMC 细胞不影响复苏后的细胞功能

A. T cell Activation Day 3



B. T cell Expansion



C. FACS Analysis

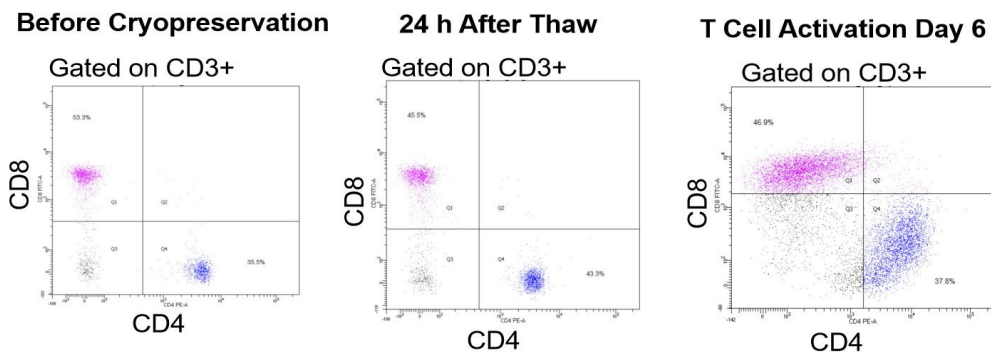


图 3. OptiVidro® CM-SF 支持 T 细胞的激活和扩增。新鲜提取的 PBMC 细胞分别使用传统含血清的冻存液、OptiVidro® CM-SF 及竞品无血清冻存液于液氮中冻存 1 周, 复苏后 24 小时后使用 anti-human CD3 抗体和 anti-human CD28 抗体激活 T 细胞, 并在 T 细胞无血清培养基中继续扩增。A 为激活第 3 天的细胞形态, B 为激活后 T 细胞的增殖曲线, C 为使用 OptiVidro® CM-SF 冻存前、复苏后 24 小时及 T 细胞激活第 6 天分别流式检测 CD3 阳性 T 细胞群体中 CD4 和 CD8 的表达。数据显示 OptiVidro® CM-SF 冻存复苏不影响 PBMC 中 T 细胞的正常激活和扩增。