

ExCell Bio

OptiVitro[®] 无蛋白, CD 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 UC000-N011

UC000-N011S



| 产品概述

OptiVibro® 无蛋白, CD 细胞冻存液 (Protein-free, Chemical Defined Cell Cryopreservation Medium), 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。本品化学成分明确, 不含有任何蛋白成分, 可排除血清或蛋白潜在的病原体或免疫反应风险, 使用更安全, 并能够保持多种细胞的复苏活率在 90% 以上。

| 产品规格及储存条件

货号	规格	保存条件	有效期
UC000-N011	100 mL	2~8°C, 避光保存	18 个月
UC000-N011S	8 mL	2~8°C, 避光保存	18 个月

| 产品原理

我公司推出的 OptiVibro® 无蛋白, CD 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:** 无蛋白, 无动物源成分, 化学成分明确;
- **广谱:** 普遍适用于 hMSC、PBMC、CHO、HEK293、Vero 细胞的冻存, 更多细胞系保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, -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

以下操作以脐带间充质干细胞（hUC-MSCs）的冻存为例简述细胞冻存液的操作方法，hUC-MSCs 的培养推荐使用无血清培养基培养（ExCell Bio, ME000-N023）。

1. 将生长状态良好的 hUC-MSCs，用重组胰蛋白酶消化 2min，用胰蛋白酶抑制剂终止消化，重悬细胞，300g 离心 5 分钟，弃上清；

注意：对于悬浮培养细胞，可直接离心收集细胞。

2. 加入适当体积的 PBS 重悬细胞，细胞计数，计算细胞总量；
3. 再次以 300g 离心 5min 收集细胞，弃上清；
4. 根据冻存密度需要，添加适量 OptiVibro[®] 无蛋白，CD 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 $0.5-5 \times 10^6/\text{mL}$ ，悬浮细胞如 CHO 等推荐 $0.1-2 \times 10^7/\text{mL}$ ，更高密度冻存验证后使用。

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℃液氮或气相罐中长期保存；

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 2~3min）；
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 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. 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。