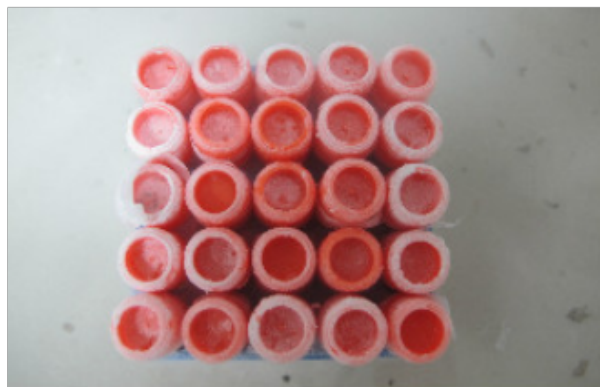


宁波贵阳无血清细胞冻存液

生成日期: 2025-10-13

细胞冻存步骤说明: 配制含10%DMSO或甘油、10~20%小牛血清的冻存培养液;取对数生长期的细胞, 去除旧培养液, 用PBS清洗。去除PBS加入适量胰蛋白酶(覆盖培养皿表面)把单层生长的细胞消化下来;离心1000rpm5min;去除胰蛋白酶, 加入适量配制好的冻存培养液, 用吸管轻轻吹打使细胞均匀, 计数, 调节冻存液中细胞的较终密度为 $5 \times 10^6/\text{ml} \sim 1 \times 10^7/\text{ml}$;将细胞分装入冻存管中, 每管1~1.5ml;在冻存管上标明细胞的名称, 冻存时间及操作者;冻存:标准的冻存程序为降温速率-1~-2°C/min;当温度达-25°C以下时, 可增至-5°C~-10°C/min;到-100°C时, 则可迅速浸入液氮中。也可将装有细胞的冻存管放入-20°C冰箱2h然后放入-70°C冰箱中过夜, 取出冻存管, 移入液氮容器内。无血清细胞冻存液: 一些保护剂, 易于穿透细胞, 避免细胞内部水分子形成冰晶损伤细胞。宁波贵阳无血清细胞冻存液



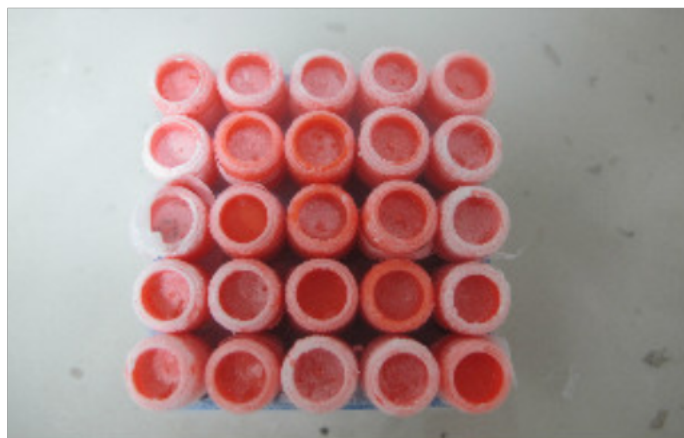
以前在另一家实验室的时候, 冻存细胞根本就没有讲究这些标准操作。冻存的细胞有293T、PT67、C2C12、MEF(鼠胚胎成纤维细胞)、HelaS3、HelaD、U2OS、HKC、RK3E、ECO、H292、HSY、COS7、SupT1等。将细胞酶消化后直接参与离心, 加入冻存液(含90%的血清和10%的DMSO)直接放在-80°C冰箱。两三天后移入液氮中, 较久保存, 几年后细胞的活力仍没有什么受损, 照常能复苏, 成活率高。但有三点须注意: (1) 一是细胞的生长状态要好, 不能长得过稀, 同样也不能过密, 细胞的状态看起来相当健康。70%密度的要保存的细胞须再长24h才能全满, 万一细胞状态不好, 可以酶消化后再繁殖一次; (2) 冻存细胞的量要留心, 不能太密也不能太稀, 一般100mm培养皿的细胞冻存为3~4管; (3) 存放在-80°C冰箱的时间不能过长, 一两天后转移到液氮罐里。我们曾取出存放在-80°C冰箱的细胞, 半年还有30%~50%的细胞有活性, 但一年的细胞就没有活的。成都正规无血清细胞冻存液哪家便宜无血清细胞冻存液的优势: 含DMSO、糖类、氨基酸等成分的一款通用型细胞冻存液。



细胞冻存液的原理及配制方法：细胞冻存及复苏的基本原则是慢冻快融，实验证明这样可以较大限度的保存细胞活力。目前细胞冻存多采用甘油或二甲基亚砷作保护剂，这两种物质能提高细胞膜对水的通透性，加上缓慢冷冻可使细胞内的水分渗出细胞外，减少细胞内冰晶的形成，从而减少由于冰晶形成造成的细胞损伤。复苏细胞应采用快速融化的方法，这样可以保证细胞外结晶在很短的时间内即融化，避免由于缓慢融化使水分渗入细胞内形成胞内再结晶对细胞造成损伤。

无血清细胞冻存液的使用方法及注意事项：1. 将分装好的细胞冻存管，直接置于-80度冰箱过夜保存，次日投入液氮中保存即可备注：1、冻存过程中，第2步在冰袋附近操作时，低温避免保护剂对细胞造成损伤。2、细胞冻存管一定要保证完全密封，否则在复苏过程中有可能会炸（1）提前开启水浴锅，温度调节到37（2）将冻存的细胞冷冻管从液氮中取出，迅速置于水浴锅中融化，尽量1min融化，时间越短，对细胞影响越小。（3）将融化后的含细胞的冷冻保存液迅速析出置于新鲜培养基中充分混匀，（如细胞冷冻保存液为500ul则加入到5ml新鲜培养基中，如细胞冷冻保存液位1ml则加入10ml新鲜培养基中。）（4）混匀后立即离心，800转3min即可离心结束后弃上清，加入预温的新鲜培养液。（5）混匀后分瓶置于二氧化碳培养箱中培养。

（二氧化碳浓度根据培养基要求决定，通常为5%【注意事项】细胞系冻存密度备注正常人成纤维细胞 1×10^3 cells/ml杂交瘤细胞 1×10^3 cells/ml某些hybridoma会因冷冻浓度太高而在解冻24小时后死去。加入适量细胞冻存液于离心管中，使细胞浓度为 1×10^6 ~ 1×10^7 cells/mL



无血清快速细胞冻存液细胞冷冻保存方法：选择冻存处于对数生长期的细胞有助于提高复苏细胞存活率。1. 按照常用方法收集悬浮细胞或贴壁细胞于试管中。2. 按照培养细胞密度和所用细胞冻存管的尺寸计算所需冻存细胞数。（参考： 5×10^5 至 5×10^6 cells/ml）3. 取相当于所需细胞数的细胞悬浮液量，置于离心管中，离心收集培养细胞（参考离心条件 $1,000 \sim 2,000$ rpm 4°C $3 \sim 5$ min）移去离心管中的上清液。4. 加入适量的无血清型细胞冻存液于离心管中，使细胞浓度为 5×10^5 至 5×10^6 cells/ml，缓慢地混合均匀，制成细胞混合液。5. 将离心管中的细胞混合液分装于已标示完全的冷冻保存管中。6. 直接将含细胞混合液的冻存管放入 -80°C 冰箱，长期冷冻保存。7. 若研究者需要液氮保存时，可将完全冻结的冻存管（放入 -80°C 冰箱后至少一昼夜）移至 -196°C 液氮罐。冻存液成分由原来血清变为无血清，无动物源成分。宁波无血清细胞冻存液供应商

将融化后的含细胞的冷冻保存液迅速析出置于新鲜培养基中充分混匀。宁波贵阳无血清细胞冻存液

细胞冻存液的配制可选用10%的DMSO加上90%的小牛血清，可以现用现配。除了这个方式，还可选择20%的DMSO加上80%的小牛血清，配成两倍的储存液，在使用时细胞悬液和冻存液按照1:1的比例混匀使用，特别的方便。冻存液可直接置于 -20°C 的环境中保存。使用细胞冻存液需要注意以下几点：1、在使用冻存液前，需要确保细胞冻存液已经完全融化，并要轻轻的混匀。对融化后的细胞冻存液要置于 4°C 的环境中保存。2、使用冻存液之前应该确保冻存前的细胞生长情况比较好，比如说细胞需要处于对数生长期，并且冻存的时候存活率大于90%。3、在使用细胞冻存液期间，为了保证可以发挥较佳的效果，建议将细胞冻存在液氮之中，这样可以长时间的进行保存。如果说将细胞置于 -80°C 的环境下保存，那么保存的时间大约为1年。宁波贵阳无血清细胞冻存液