

## BeyoAOF™无血清细胞冻存液

产品编号	产品名称	包装
C0210B-50ml	BeyoAOF™无血清细胞冻存液	50ml
C0210B-200ml	BeyoAOF™无血清细胞冻存液	200ml

### 产品简介:

- 碧云天生产的BeyoAOF™无血清细胞冻存液(BeyoAOF™ Serum-free Cell Freezing Medium), 也称BeyoAOF™无血清细胞冷冻存液(BeyoAOF™ Serum-free Cell Cryopreservation Medium), 是一种不含血清、无蛋白、无须程序降温并能长期-80℃保存细胞的即用型细胞冻存液, 适用于绝大部分的哺乳动物细胞冻存。本无血清细胞冻存液不含常用的胎牛血清(FBS)、不含任何动物来源(animal origin-free, AOF)的蛋白质, 能减少细胞污染风险, 确保细胞安全; 而且使用本无血清细胞冻存液, 可直接置于-80℃长期保存, 无须程序性降温, 使用非常便捷。
- 细胞冻存液, 也称细胞培养冻存培养基或细胞冻存培养液等, 英文名为Cell Culture Freezing Medium、Cell Freezing Solution或Cell Cryopreservation Medium等。
- 细胞冻存是细胞保存的主要方法之一。利用冻存技术将细胞置于-196℃的液氮中低温保存, 可以使细胞暂时脱离生长状态而将其细胞特性长期保存起来, 在需要的时候再复苏细胞用于实验。同时适度地冻存一定量的细胞, 可以防止因细胞被污染或其它意外事件而使细胞无法继续培养, 可以起到细胞保种的作用。
- **本产品为即用型溶液, 使用方便。** 本产品是即用型的无菌溶液, 待冻存的细胞收集细胞沉淀后, 加入适量冻存液混匀即可, 无需自行配制任何溶液, 使用方便。
- **本产品无须程序降温, 可直接-80℃冷冻。** 细胞冻存和复苏一般采用“慢冻快融”的方法, 在细胞冷冻过程中通常需要使用BeyoCool™细胞冻存盒(FCFC012)等程序性降温盒或采取程序性降温步骤。而使用本无血清细胞冻存液, 无须程序性降温, 可直接置于-80℃冷冻。
- **本产品能长期-80℃保存细胞, 无须使用液氮。** 使用本无血清细胞冻存液, 可直接置于-80℃长期保存。也可以在-80℃放置至少24小时后转移至液氮中保存, 无须程序性降温步骤或使用程序降温盒, 使用非常便捷。
- **本产品化学成分明确, 不含血清, 使用安全。** 本产品使用限定化学成分的配方, 含氨基酸、维生素、无机盐、葡萄糖、DMSO等各种细胞所必需的营养成分和冷冻保护剂, 含酚红, 不含常用的胎牛血清、不含任何动物来源的蛋白质, 减少因血清批次带来的冻存效果差异, 也能降低各种病毒、霉菌和支原体等微生物对细胞的污染风险, 确保细胞安全, 同时也减少外源蛋白对细胞正常生长和分化的影响。
- **本产品冻存的细胞复苏存活率高。** 本产品配方经过优化, 使用本产品冻存的细胞复苏后的存活率高, 并能保持良好的细胞活性。经过测试, 对于冻存复苏存活率较高的HeLa (人宫颈癌细胞) (C6330)、BEAS-2B (人正常肺上皮细胞) (C6106)等细胞, -80℃冻存一年后, 复苏存活率高于90%, 对于冻存复苏存活率较低的Jurkat (人T淋巴细胞瘤细胞) (C6456)、L929 (小鼠成纤维细胞)等细胞, -80℃冻存一年后, 复苏存活率高于65%, 与使用含FBS的冻存液效果基本一致, 与同类型无血清细胞冻存液相比, 效果基本一致或更好。本产品冻存的某些细胞, 甚至置于-20℃冻存6个月, 复苏存活率高于50%。本产品(BeyoAOF™ Freezing Medium) (C0210B)与含FBS的冻存液(Normal Freezing Medium)、国外同类产品Competitor G在-80℃冻存一年的复苏存活率比较参见图1。

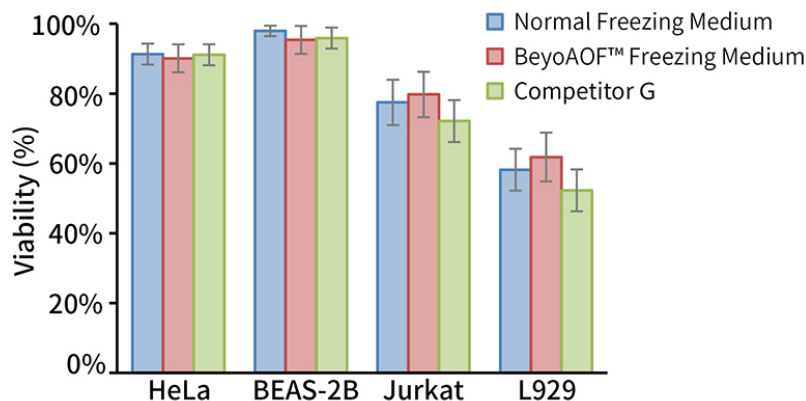


图1. BeyoAOF™无血清细胞冻存液的复苏存活率效果图。使用本产品(BeyoAOF™ Freezing Medium)与含FBS的细胞冻存液(C0210) (Normal Freezing Medium)、国外同类产品Competitor G三种不同的细胞冻存液, 将HeLa、BEAS-2B、Jurkat、L929四种细胞直接置于-80℃冻存一年后, 检测复苏存活率。实际结果会因实验条件、细胞状态等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 如果每管细胞使用1ml细胞冻存液，50ml和200ml的本产品可分别用于约50管和200管细胞的冻存。

### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
C0210B-50ml	BeyoAOF™无血清细胞冻存液	50ml
C0210B-200ml	BeyoAOF™无血清细胞冻存液	100ml×2
—	说明书	1份

### 保存条件：

4℃保存，一年有效。请勿冷冻保存。

### 注意事项：

- 本产品冻存细胞前请勿置于-20℃保存，否则融化后可能会出现少量沉淀。但即使在-20℃保存并出现沉淀，经测试对冻存效果并无显著影响。
- 对于某些特殊细胞或特别珍贵的细胞，建议同时使用常规的含FBS的冻存液进行对比测试，确认复苏存活率后再使用本产品。
- 本产品含DMSO，对DMSO敏感的细胞，建议进行冻存的预实验。
- 对于不太珍贵的常见细胞，推荐使用本无血清细胞冻存液可直接置于-80℃长期保存，这样使用和操作更加便捷。但对于比较珍贵的细胞或者复苏效率比较低的细胞，如果希望获得更好的冻存和复苏效果，建议使用BeyoCool™细胞冻存盒(FCFC012)等进行程序性降温冻存，并在-80℃放置至少24小时后转移至液氮中保存。
- 本产品采用了细胞培养常用的碳酸氢根缓冲体系，如果敞口时间过长会导致二氧化碳的释放，从而导致pH值逐渐升高，敞口时间过长后甚至导致溶液颜色发生变化。由于溶液中含有钙离子和镁离子，在pH过高的情况下，有可能出现碳酸钙、氢氧化钙和氢氧化镁的沉淀。使用过程中请注意尽量减少敞口的时间，使用完毕后一定要盖紧盖子保存。如有必要可以适当分装使用，以避免pH的升高。如果使用一段时间后出现少量沉淀，经测试对冻存效果并无影响。
- 请确保冻存前细胞生长情况良好，冻存时活细胞比例通常宜大于90%。
- 加入细胞冻存液并混匀后请尽快移入-80℃超低温冰箱内保存。-80℃超低温冰箱内保存时，请将冻存细胞置于-80℃超低温冰箱内部，避免频繁打开冰箱门导致门边的温度发生变化而使冻存效果变差。
- 请使用耐受有机溶剂的marker笔(Alcohol Resistant Marker)进行标记，以防做的标记被酒精或异丙醇等有机溶剂擦掉，而不能辨识。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明：

#### 1. 细胞冻存

- 对于贴壁细胞：**去除培养液后用无菌PBS轻轻洗涤细胞一次以除去残留的血清，然后用适量的细胞消化液如碧云天的胰酶细胞消化液(C0203、C0208)消化细胞。可以用移液器轻轻吹打细胞，如果发现细胞刚刚开始可以被吹打下来(通常显微镜观察细胞变圆或肉眼观察细胞间出现缝隙时细胞即可被吹打下来)，就可以迅速吸除胰酶，并立即加入适量含血清的细胞培养液以终止胰酶的作用，随后把细胞轻轻吹打下来，并适当吹散和重悬。注意千万不要过度消化细胞，以消化至刚好能把细胞吹打下来为最佳。消化过度的细胞由于后续生长状况会比较差，通常不宜再用于冷冻保存。吹打和重悬细胞过程需要适当轻柔，否则可能会影响复苏时的细胞存活率。  
**对于悬浮细胞：**直接从步骤c开始。
- 将细胞悬液转移至适当离心管中，如15ml无菌离心管。
- 细胞计数，计算出细胞总数和所需细胞冻存液的量。细胞的冻存密度一般为 $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$  cells/ml。
- 100-200×g，离心5-10分钟，弃上清。离心速度和时间取决于细胞类型。
- 加入适量细胞冻存液，用移液枪轻轻吹打以重悬细胞，根据细胞类型调整细胞密度(一般为 $1 \times 10^6$  cells/ml或更高)。
- 分装于1.5ml或2ml细胞冻存管中，并做好标识。注意：如果后续拟放入液氮罐中保存，须使用专门用于液氮冻存的细胞冻存管，不能使用普通的离心管。否则在后续解冻时，易发生离心管爆裂，而容易造成人身伤害。
- 将细胞冻存管放置在-80℃冰箱内。如果后续拟放在液氮中长期保存，可在-80℃冰箱内保存24小时后移入液氮罐内。注：如果希望获得更好的冻存效果，推荐使用BeyoCool™细胞冻存盒(FCFC012)等进行程序性降温冻存，并在-80℃放置至少24小时后转移至液氮中保存。

#### 2. 细胞复苏

- 从-80℃冰箱或液氮中取出冻存管，迅速置于37℃水浴锅内，轻轻晃动(1分钟内)，直至只剩小部分冰块残留。
- 将细胞悬液转移至15ml无菌离心管中，加入约5-10ml预热的完全培养基，轻轻混匀；对于一些复苏效率很高的细胞也可直接将细胞悬液转移至离心管进行下一步骤的离心。
- 100-200×g，离心5-10分钟，离心速度和时间取决于细胞类型。
- 确保细胞沉积于管底后，小心弃掉上清。
- 加入适量预热的完全培养基，轻轻吹匀后转移至培养器皿中，放入细胞培养箱中培养。

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0210	细胞冻存液	50ml
C0210B-50ml	BeyoAOF™无血清细胞冻存液	50ml
C0210B-200ml	BeyoAOF™无血清细胞冻存液	200ml
FBX081	81孔液氮罐专用冻存盒	1个/包
FBX082	100孔液氮罐专用冻存盒	1个/包
FCFC012	BeyoCool™细胞冻存盒	1个

Version 2023.06.19