

ES/iPS 细胞专用无血清冻存液

说明书

名 称	ES/iPS 细胞专用无血清冻存液
英 文	Serum-free cryopreservation solution for ES/iPS cells
货 号	CSP193
规 格	100ml
保 存	-20°C, 24 个月
用 途	仅供科研使用

【产品描述】

ES/iPS 细胞专用无血清冻存液是本公司开发的一款无血清、无需程序降温的干细胞冻存液，能大大降低冻存过程中冰晶对于细胞的损伤，有效提高细胞复苏率和活力。适用于人多能干细胞（hES/hIPS）的冻存，本产品对冻存的细胞损伤小，复苏后细胞存活率高，可以最大限度地保存细胞活力。

【操作说明】

一、冻存

1. 准备对数期生长的干细胞，加入人多能干细胞消化液（CSP215）消化 3~5 min，用 2mL 人多能干细胞培养基（J10001-3）制备成细胞悬液；
2. 1200 rpm 3min 离心，弃上清，用 1.5~2mL ES/iPS 细胞冻存液重悬细胞，细胞密度 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ /mL；
3. 转移至冻存管中，无需程序降温，直接将待冻存细胞置于 -80°C 过夜，后转移至液氮中长期保存，冻存时注意直立放置冻存管；

二、复苏

1. 基质胶包被培养板：取出 6 孔板/12 孔板，每孔内加入 1 mL/0.5 mL 即用型基质胶（CSP210），轻轻晃动 6 孔板/12 孔板使基质胶完全覆盖皿底，置于 37°C 培养箱中孵育 1h~2h，实验前拿出并置于超净工作台/生物安全柜中室温下平衡 20min。如果暂时不用，可用 Parafilm 封口后 2~8°C 储存，并于 1 周内使用。

注意：①一支冻存的干细胞的数量在 1×10^6 cells/mL 左右，对应 6 孔板 1 孔；②即用型基质胶对温度敏感，即用即拿，用完后立即放回 4°C 冰箱保存，且勿用手直接触碰基质

胶液面所及的瓶身，影响 基质胶质量。

2. 先将 2~3mL 的干细胞培养基加入 15mL 离心管中备用。

3. 解冻: 将从液氮中取出的冻存管快速浸入 37°C 温水中, 快速摇动, 使其在 1~2min 内快速解冻;

注意: 细胞从液氮中拿出的速度要快, 尽量减少其暴露在室温中的时间。

4. 离心: 冻存管中的冻存液解冻后, 将其逐滴加入含有干细胞培养基的 15mL 离心管中, 将 15mL 离心管置于低速离心机中配比平衡后, 1200 rpm 离心 3min;

5. 重悬: 离心后弃上清加 1mL 人多能干细胞培养基对干细胞沉淀进行吹吸混匀, 吹吸 3~5 次左右。

6. 接种: 吹吸均匀后, 将已经平衡好的即用型基质胶弃掉, 将吹打均匀的干细胞悬液加入到已经包被好的 6 孔板中, 并补全每孔 2mL 培养体系。

7. 培养: 接种后的 6 孔板可以置于倒置相差显微镜下观察接种的干细胞密度以及细胞团块大小, 呈 4 个细胞以上的团块较合格, 水平十字轻轻晃动 6 孔板/12 孔板使细胞均匀分布。并置于 37°C, 5% CO₂ 的恒温培养箱培养, 第 2 天观察细胞贴壁情况。

【注意事项】

- 1、 注意无菌操作，避免污染；
- 2、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
- 3、 仅供科研使用。