



## ZENOAQ 冻存液系列冻存细胞的原理及方法

### 原理(中文翻译)

有关细胞的深低温保藏方法，自研究工作者于 1949 年到 1950 年代发现甘油 (glycerol) 及二甲基亚砜(DMSO)的冷冻保护作用以来，有关冷冻储存动物细胞和癌细胞等活细胞的研究也日益扩大。与此同时，研究工作者也针对有关拥有冷冻保护作用的各种不同物质和防冻剂的进行了大量研究，分析其作用机制。

防冻剂根据其是否穿透细胞膜可分为细胞渗透性和非渗透性两类，渗透性防冻剂多为一些小分子物质，而非渗透性防冻剂一般是些大分子物质，大概以分子量 120 为界。常见的渗透性防冻剂包括二甲基亚砜、甘油、丙二醇等。其保护机制是防止细胞内水分过分外渗，避免细胞过分脱水 and 抑制细胞内结冰。同时也通过降低细胞内外未结冰溶液中电解质的浓度以达到减少细胞受高浓度电解质的损伤。

另一方面，细胞膜非渗透性防冻剂则常见有蔗糖、葡萄糖等高分子物质。通过各种防冻机制减少冰晶对细胞外膜的伤害。然而，单独使用渗透性或非渗透性防冻剂不能达到有效的细胞防冻效果，混合使用此两类防冻剂才能有效改善冻存效果已为众所周知，是深低温保藏技术今后发展的趋势。举一例，培养基中加入终浓度 5~15% 的二甲基亚砜或甘油为常规细胞冻存方法。此冻存液中，不仅二甲基亚砜有防冻功能，培养基所含糖类和牛胎儿血清(FBS)也起到了作为非渗透性防冻剂之作用。

CELLBANKER 成分里含有多重细胞膜渗透性及非渗透性防冻物质，为 ZENOAQ 经长时间研究改良的成果，能有效提高保护细胞效果，适用于各种细胞。

### 冻存细胞方法介绍：

细胞冻存是细胞保存的主要方法之一。在有保护剂的条件下，利用冻存技术将细胞置于-196℃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保存起来，从而达到临时保存、做种、运输等用途。

细胞冻存及复苏的基本原则是慢冻快融，实验证明这样可以最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砜作保护剂，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。

细胞冻存一般需要程序降温的过程，标准冷冻速度开始为-1 到 -2℃/min，当温度低于-25℃时可加速，到-80℃之后可直接投入液氮内(-196℃)。

细胞冻存液一般分为含血清的冻存液和不含血清的冻存液。配制方法为：按照一定比例的保护剂添加培养基或血清（血清可缓解保护剂带来的毒性，对一些敏感性细胞的复苏率有保护作用，成本较高。）

ZENOAQ 细胞冻存液系列(Cellbanker II、Stem-cellbanker)为化学成分明确的无血清冻存液，含有 DMSO、葡萄糖、各种营养成分和 PH 调节剂，冻存液各成分均符合国际药典（美、欧、日药典等级）要求。它在普通无血清冻存液的基础上进行优化配方，明显提高了细胞复苏率，而且在细胞冻存时可以省略程序降温的过程而直接冻存于-80℃，并且可以在-80℃条件下长期保存，从而简化了细胞冻存的过程，也大大节约了使用及设备成本。

### 注意事项：

- 1、CellBanker 系列细胞冻存液适用于绝大多数细胞、原代细胞、干细胞等；Stem-Cellbaker 细胞冻存液为专门针对干细胞冻存而研制的，MES、Juckat 和 SK-007 细胞实验性测试冻存细胞复苏率达 80%以上。
- 2、在进行基因重组、药物干预等构建的稳转细胞冻存时，由于细胞本身毒性得不到缓解，为提高细胞复苏效果，建议添加一定比例血清进行冻存。