

斯博利康冻存液 (Matrigel) 技术支持

Serum-Free Cell Freezing Medium 2.0 是一种无血清低DMSO细胞冻存液，含有5%的二甲基亚砷（DMSO），对细胞的毒性较低；本产品不含动物源性蛋白或血清，配方成分明确，不仅适用于常规细胞系、原代细胞，同时亦适合于无血清培养细胞和蛋白表达细胞。



细胞冻存液（无血清 无蛋白 无DMSO）是一新型的通用型细胞冻存液，不含血清、无DMSO、无蛋白，化学成分明确不含任何动物源成分。

用于冷冻保存对低温敏感、对DMSO敏感的细胞类型，例如：原代细胞、干细胞、免疫细胞、神经细胞、等多种类型细胞。



一、应用场景区别

SP00869-0100 (含5% DMSO)

适用场景：

常规细胞冻存：如肿瘤细胞系、干细胞、原代细胞等对低温敏感且能耐受DMSO的细胞。

研究级冻存：适用于实验室常规细胞库构建、药物筛选等非临床用途。

需要较高冷冻保护效果的场景：DMSO提供强渗透性保护，降低冰晶损伤。

限制：

DMSO可能对部分敏感细胞（如某些免疫细胞、神经细胞）产生毒性或诱导分化。

解冻后需去除DMSO（离心洗涤），可能造成细胞二次损伤。



扫码查询



SP00864-0100 (无DMSO)

适用场景：

临床/治疗级细胞冻存：如CAR-T细胞、干细胞治疗产品，避免DMSO残留导致的患者过敏或毒性风险。

DMSO敏感型细胞：对DMSO毒性耐受性差的细胞（如部分原代细胞、干细胞、免疫细胞、神经细胞）。

限制：

冷冻保护效果可能弱于含DMSO配方，成本通常较高（依赖高分子量保护剂如海藻糖、聚乙烯吡咯烷酮）。

扫码查询



二、细胞活率统计方式

通用方法：

台盼蓝染色：解冻后立即与台盼蓝混合，计数死细胞（蓝染）比例。

自动细胞计数仪：结合荧光染料（如AO/PI）区分活/死细胞，更客观高效。

流式细胞术：使用Annexin V/PI或Calcein-AM/碘化丙啶（PI）精确检测凋亡与坏死。

解冻后即刻活率：反映冻存过程对细胞的直接损伤（通常要求 >85%）。

解冻后24-72小时恢复活率：检测细胞恢复贴壁/增殖能力（更反映功能性存活，尤其对无DMSO冻存液）。

长期培养评估：观察增殖曲线、形态及功能（如分化潜能），确认无隐性损伤。

三、与传统冻存方法的区别

特性	传统方法 (血清+DMSO)	SP00869-0100	SP00864-0100
核心成分	10% DMSO + 90% FBS	5% DMSO + 无血清配方	无DMSO + 无血清配方
血清风险	高（批次差异、病原体、免疫原性）	无	无
DMSO风险	高（细胞毒性、解冻后需洗涤）	中（浓度减半，仍需洗涤）	无
渗透压	常偏高（>1000 mOsm/kg）	优化渗透压范围	匹配生理渗透压
冷冻保护机制	DMSO渗透性保护 + 血清蛋白	DMSO + 高分子聚合物/糖类	多羟基化合物/聚合物非渗透性保护
适用细胞范围	广谱但受血清限制	广谱（血清敏感细胞更安全）	DMSO敏感/临床细胞优先





四、工艺升级对冻存效果的改进

1、血清替代技术：

消除批次差异：化学成分明确，保证冻存结果可重复
降低污染风险：避免病毒、支原体等通过血清传播
减少免疫原性：适用于体内回输的细胞治疗产品

2、渗透压优化：

传统配方渗透压过高（>1000 mOsm/kg）导致细胞脱水损伤。

两款产品均调整至等渗范围（~300 mOsm/kg），减少渗透应激。

3、DMSO减量或替代：

SP00869：DMSO浓度从10%降至5%，降低毒性同时保持保护效果。

SP00864：采用高分子聚合物（如聚乙二醇、海藻糖）替代DMSO，通过玻璃化作用减少冰晶形成。

4、新型冷冻保护剂：

非渗透性保护剂：如蔗糖、葡聚糖，在细胞外形成高粘度环境抑制冰晶生长。

细胞内保护剂：如右旋糖酐，部分替代DMSO的渗透保护功能。

5、标准化冻存程序优化：

优化降温程序（直接放入-80 °C冰箱，无需梯度降温）。



五、冻存液常见问题

1、细胞冻存后，能在 - 80℃冰箱长期储存吗？

不建议

-80℃冰箱的温度稳定性差（开门后温度波动大），且存在“玻璃化转变温度”以下的冰晶生长风险，长期储存（超过 1 个月）会导致细胞活性逐渐下降。

短期储存：-80℃冰箱可储存 1-4 周（适用于临时冻存或备用细胞）；

长期储存：必须转移至液氮（-196℃）中，液氮温度稳定，细胞代谢完全停滞，可储存数年甚至数十年（需定期补充液氮，避免冻存管暴露在室温下）。

2、冻存细胞复苏时，为什么要快速解冻？

快速解冻的核心目的是减少冰晶对细胞的二次损伤

原理：冷冻状态下细胞内的冰晶呈稳定状态，缓慢解冻时，冰晶会逐渐增大，刺破细胞膜和细胞器；

正确操作：将冻存管从液氮中取出后，立即放入 37℃水浴锅中，快速摇晃 1-2 分钟，直至冻存液完全融化（避免冻存管底部残留冰块）；

错误操作：室温下自然解冻（需 10-20 分钟），细胞复苏率会从 80%-90% 降至 30%-50%。

3、复苏后细胞存活率低，可能是什么原因？

问题原因	解决方案
冻存液渗透压异常（过高 / 过低）	检测冻存液渗透压（目标 320-380 mOsm/kg），调整 DMSO和血清比例；或者选择使用商品化冻存液
DMSO 毒性损伤（室温放置过久）	冻存液预冷至 4℃，细胞重悬后快速降温；复苏后立即离心去除冻存液
降温 / 升温速度不当	使用程序降温盒；复苏时 37℃快速解冻，避免反复冻融
细胞冻存时状态不佳	选择对数生长期细胞（汇合度 70%-80%），冻存前确保细胞活力≥90%
血清或冻存液质量差	更换优质血清或商业化无血清冻存液
液氮储存不当（液面过低）	定期检查液氮罐液面，确保冻存管完全浸没在液氮中

