

免疫细胞高效冻存液

使用说明书

一、产品简介

免疫细胞高效冻存液是一款无血清的细胞冻存液产品。此产品是针对免疫细胞冻存的特殊配方，能大大降低细胞在冻存过程中的损伤，提高细胞复苏后的存活率，能够长期有效维持免疫细胞特性；同时因冻存液批间质量稳定，并已完成细胞药物制剂辅料安全性评价，已助力细胞治疗领域多个产品的研发与临床转化。

二、产品信息

表 1：免疫细胞高效冻存液 产品说明

产品	货号	规格
免疫细胞高效冻存液	SN-06-1410	50 mL

三、保存条件

1. 保存温度: 4 °C
2. 有效期: 12 个月

四、冻存免疫细胞

1. 根据所需冻存的细胞量，标记相应数量的冻存管。
(参考冻存密度: NK 细胞: 1×10^9 cells/20mL/管; PBMC: $1-1.5 \times 10^7$ cells/mL/管)。
2. 选择处于对数生长期的细胞，按照常用的方法收集细胞于离心管中。
3. 离心收集细胞 (参考离心条件: $300 \times g$, 离心 10 min)。
4. 吸去上清液，逐滴加入适量免疫细胞高效冻存液于离心管中，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记完全的冻存管中。
6. 梯度程序降温:
 - 6.1 将含有细胞悬液的冻存管置于已经 4 °C 预冷的程序降温盒中，再将程序降温盒置于 -80 °C 冰箱中，24h 后移入液氮罐长期保存 (温度不高于 -135 °C)。
 - 6.2 或者使用程序降温仪对冻存管中的细胞悬液按照 -1 °C/min 进行降温至 -100 °C (参考

仪器操作说明), 立即置于液氮罐中长期保存 (温度不高于 -135 °C)。

五、复苏细胞 (NK 为例)

1. 从液氮罐中取出冻存的细胞, 置于干冰上运至细胞间。
2. 立即放入 37 °C 水浴锅中一边摇匀一边快速解冻。
3. 待冻存管中细胞混合液融化至仅余少量冰快, 取出冻存管, 消毒后转移至生物安全柜内。
4. 加入适量完全培养基重悬 NK 细胞, 按照合适的接种密度将 NK 细胞接种到培养容器中, 加入适量的已预热的新鲜的细胞完全培养基。
(不同工艺体系的 NK 复苏后培养方式请以各自条件为准。)
(PBMC 建议洗涤后离心去上清用培养基重悬后再接种, 接种密度 $1\text{-}2 \times 10^6 \text{ cells/mL}$)
5. 十字摇匀法混匀细胞, 置于 37°C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中继续培养。

六、应用 (以 NK 为例, PBMC 不适用)

1. 从液氮罐中取出冻存的细胞, 置于干冰上运至细胞间。
2. 立即放入 37 °C 水浴锅中一边摇匀一边快速解冻。
3. 解冻后可将细胞悬液转移到相应的溶液中制备成悬液, 推荐细胞密度在 $2.5\text{-}10 \times 10^7 \text{ cells/mL}$, 然后根据实际进行研究使用。