

凍存細胞的眉眉角角報給你知



細胞培養是生物研究甚至是藥物開發不可或缺的一環，要維持細胞的活性以及正常表現，從挑選適合的細胞株到培養技術都需要格外留意，除此之外細胞的冷凍保存方式更是關鍵，不當的冷凍和解凍步驟，不但有會降低細胞的存活率，更可能改變細胞的特性，而使得試驗前後無法連貫。那麼究竟凍存細胞有那些地方要注意呢?現在就一起來檢視吧~

1. 選擇適合的凍存液成分

(1) 抗凍劑

當細胞懸浮液溫度低於凝固點的時候，會逐漸形成冰晶，細胞體內的水分也會在降溫過程中滲出而逐漸縊縮，而為了避免細胞過度的縊縮造成失活的現象，凍存液通常會添加甘油或 DMSO 等低分子量的抗凍劑，快速的滲入細胞並以漸進式凍結細胞，將對細胞的傷害降至最低。

(2) 血清蛋白

牛血清蛋白 BSA，能提供額外的生長激素和加強細胞的保護力，針對較敏感的細胞可提升凍存後的存活率。

(3) 無血清配方

去除血清中可能促分化的生長因子，對維持細胞幹性和避免分化是很必要的條件，當使用無血清配方的凍存液時建議以 Condition medium:凍存液=1:1 的方式，以增加細胞解凍後的存活率。

2. 凍存條件

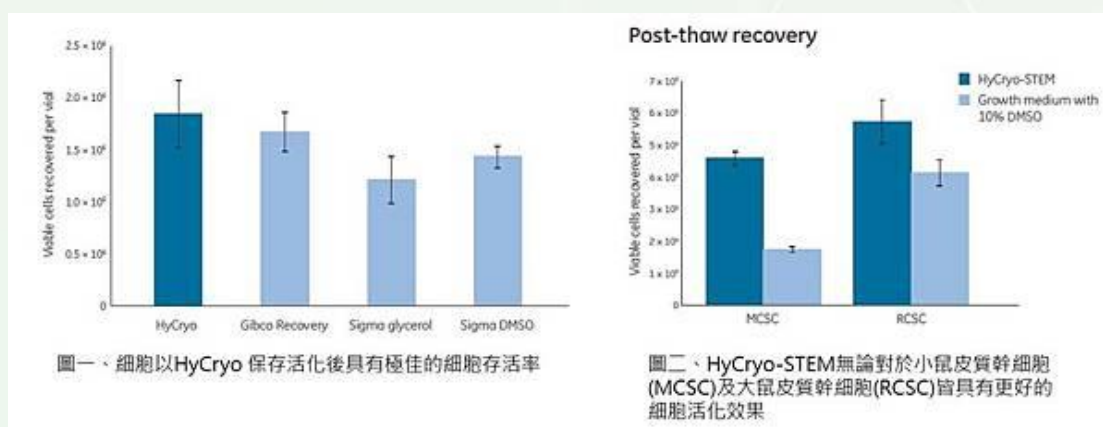
一般建議在細胞最健康活躍，也就是在對數期(Log phase)進行，細胞密度則建議落在 $1-2 \times 10^6$ cell/ mL。

3. 緩慢降溫

前面提到避免細胞快速縮失活，所以緩慢的降溫是非常重要的，理想的速率大約是 1 分鐘降 1oC，若無可調控式的降溫設備則可將細胞存放內含有凍存液的冷凍小管，置於抗凍盒內後移置 -80oC 至少 24 小時，之後再移置液態氮中以低於 -130oC 的溫度下進行長時間的保存。

4. 快速解凍活化

再取出凍存的細胞後，要避免融化回溫所形成的冰晶對細胞造成傷害，要盡快置於 37oC 的水域槽中溫和地搖晃加速回溫約 1-2 分鐘，低速離心去除抗凍液再以 10 倍稀釋加入 Fresh medium，活化後的 24 小時內為細胞存活率的低點，過了 24 小時後則細胞會逐漸恢復活性。



GE HyClone 提供無血清且無動物性來源的 **HyCryo 凍存液**以及針對敏感細胞設計的 **HyCryo-STEM 凍存液**，其無血清來源特殊配方能保護細胞在凍存過程中不受傷害，並降低其細胞自體分化現象，高度維持細胞凍存品質與一致性，存活率可達 95%以上。

更多產品資訊詳洽當區業務查詢。