

PBMC细胞冻存液2.0使用说明书

【产品名称】

PBMC 细胞冻存液 2.0

【产品规格】

产品名称	产品货号	规格	保存温度	保质期限
PBMC 细胞冻存液 2.0 (rHSA)	NC0605	100 mL/ 瓶	2-8℃，避光保存	12 个月

【用途与描述】

本冻存液适用于外周血或脐血中分离得到的 PBMC 冻存。

本冻存液是一款无任何人源、动物源成分，不含血清，DMSO 浓度限定的 PBMC 细胞冻存液，含多种保护剂成分，易于穿透细胞，避免细胞内部水分子形成冰晶损伤细胞，同时可以优先结合细胞外的水分子，控制大冰晶形成，在细胞内外进行双重保护，提高细胞复苏存活率。本产品冻存操作程序简单，方便使用。

【产品组成】

氨基酸，维生素，无机盐，冷冻保护剂。

【产品性能】

1. 物理化学性能：

外观：澄清透明液体

装量：100mL/ 瓶

pH 值：7.0 ~ 7.5

内毒素：< 0.5 EU/mL

无菌检测：真菌，细菌阴性

渗透压：160 ~ 220 mOsm/kg（10 倍稀释）

2. 生物学效能：

PBMC 冻存复苏后细胞回收率≥ 80%，细胞活率≥ 90%。

配合本公司（高性能版）NK 诱导培养基套装使用，按照套装说明培养，外周血 PBMC 经过 14 天诱导，终密度：4E6/mL，NK 细胞终表型：CD3-CD56+ 可达 98%。

【产品使用说明】

1. 试剂和材料

产品	品牌 / 货号
PBMC 细胞冻存液 2.0(rHSA)	YOCON/NC0605
免疫细胞修复培养基	YOCON/NC0102.F
NK 细胞无血清培养基	YOCON/NC0102
高性能版 NK 试剂盒	YOCON/AN0104

2. 使用说明

2.1 细胞冻存

2.1.1 细胞准备

- (1) PBMC 分离：取肝素锂抗凝的新鲜人外周血（离体 2 小时内），或室温恢复后的脐血样本（采集运输 <24h），按标准流程经 Ficoll 密度梯度离心分离 PBMC。
- (2) 细胞状态：冻存前细胞存活率应 > 90%。
- (3) 离心收集：将 PBMC 悬液离心（如 260g，10min），小心弃去上清，避免扰动细胞沉淀。

2.1.2 细胞冻存

- (1) 冻存步骤：用 75% 乙醇擦拭冻存管外包装并标记信息。以预冷（2 ~ 8℃）的冻存液重悬细胞沉淀，充分混匀后分装至冻存管。
- (2) 冻存密度：推荐密度为 $5 \times 10^6 \sim 2 \times 10^7$ 个 / mL，可根据实验需求调整。
- (3) 冷冻保存：采用程序降温仪或梯度降温盒进行标准慢速降温（约 -1℃ / min）。随后转移至 -80℃ 冰箱过夜，长期储存需移入液氮。

2.2 细胞复苏

2.2.1 预热与准备

将水浴锅预热至 37℃，并预热 NK 细胞无血清培养基 5.0（按 1:10 比例稀释）及所需激活培养基。

2.2.2 快速解冻

- (1) 取出冻存管：自液氮中迅速取出冻存管，立即置于 37℃ 水浴。
- (2) 解冻：轻柔快速晃动冻存管，使其在 2 ~ 3 分钟内完全融化。
- (3) 解冻终点：待管内仅存微量冰晶时即停止水浴，避免过度解冻。

2.2.3 稀释与离心

- (1) 消毒转移：用 75% 酒精擦拭冻存管外壁，无菌纸擦干后移入生物安全柜。
- (2) 稀释：将融化细胞悬液按 1:10 加入至预热的 NK 细胞无血清培养基 5.0 中，轻柔混匀。用少量培养基清洗冻存管 2 ~ 3 次，回收残留细胞。
- (3) 离心：室温离心（推荐 260g，7min）。
- (4) 去除上清：弃去上清。建议先使用 5mL 移液管吸除大部分上清，剩余 1 ~ 2mL 时换用小量程移液器彻底吸尽。

2.2.4 细胞重悬

- (1) 重悬计数：按需加入预热的激活培养基轻柔重悬细胞，进行细胞计数与活力检测。
- (2) 接种培养：根据实验需求调整细胞密度，接种至新培养器皿，置 37℃、5% CO₂ 培养箱中常规培养。
- (3) 培养基选择：推荐使用 YOCON 高纯 NK 套装或超纯 NK 套装进行培养。

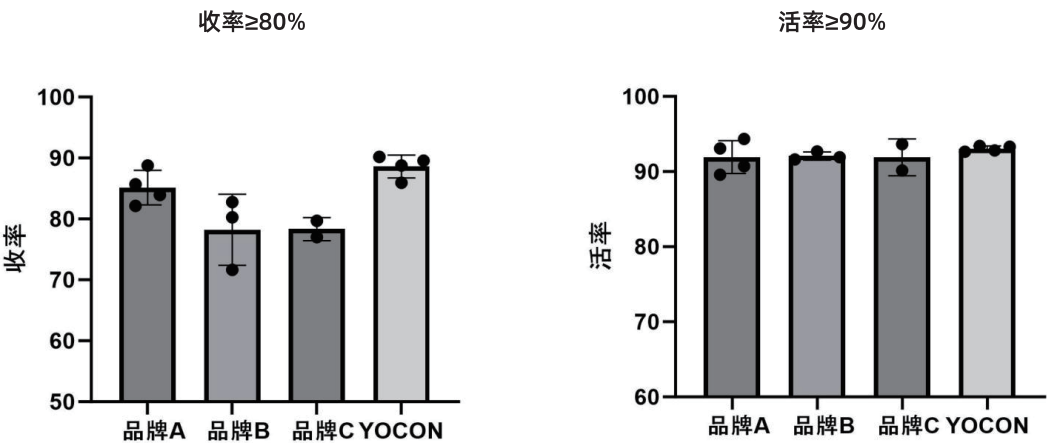
2.2.5 注意事项

- (1) 建议提取 PBMC 时控制杂细胞污染率，红细胞污染率 < 20%，粒细胞污染率 < 3% 为质量较好的细胞，高质量 PBMC 更有利于细胞长期保存。
- (2) PBMC 提取过程注意保持样本及试剂的温度处于室温，血样及 Ficoll 温度过低会加剧红细胞污染率。
- (3) PBMC 提取过程吸取白膜层时在精不在多，过度吸取白膜层下方 Ficoll 液层会加剧粒细胞污染率。
- (4) 冻存细胞时再将冻存液从 4℃ 冰箱取出，勿提前拿出导致冻存液温度上升影响冻存效果。

- (5) 不推荐在 -80℃冰箱进行长期保存。
- (6) 解冻时尽量避免水没过冻存管盖，以降低污染风险。解冻应尽可能在 1 ~ 2 分钟内完成。
- (7) PBMC 为温度敏感型细胞，补液时培养基一定要恢复至室温。

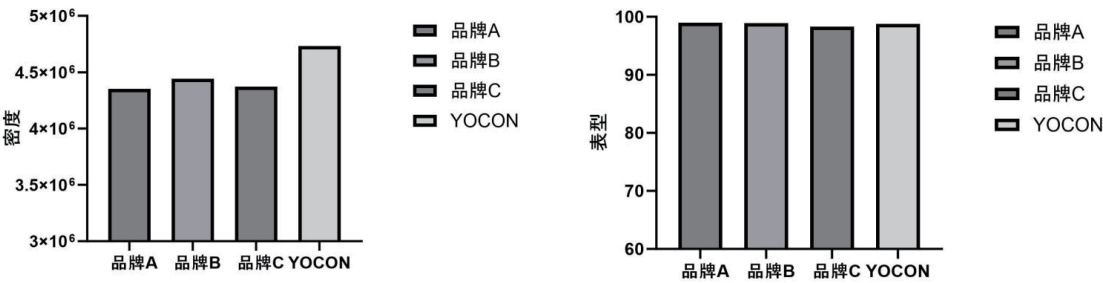
【结果展示】

外周血 PBMC 细胞冻存复苏结果对比（多样本均值）：

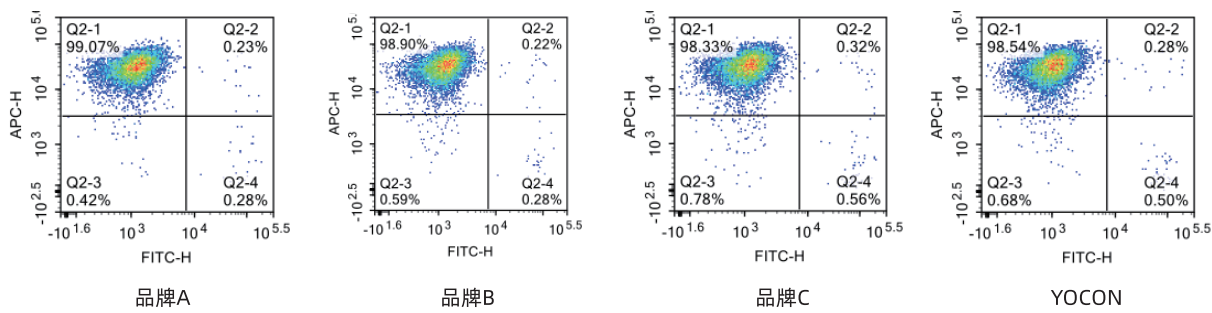


NK 细胞增殖功能（小体积培养）：
外周血样本

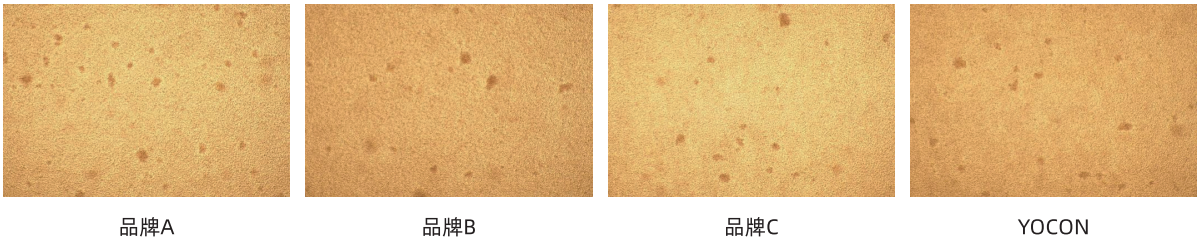
组别	冻存密度	回收率	活率	接种细胞数	培养终体积	培养天数	NK 终密度	NK 表型
品牌 A	5.00E+06	88.78%	93.08%	2.00E+06	100mL	14d	4.35E+06	99.07%
品牌 B	5.00E+06	82.77%	92.68%	2.00E+06	100mL	14d	4.44E+06	98.90%
品牌 C	5.00E+06	79.68%	93.64%	2.00E+06	100mL	14d	4.37E+06	98.33%
YOCON	5.00E+06	86.88%	92.82%	2.00E+06	100mL	14d	4.73E+06	98.54%



NK 细胞表型：

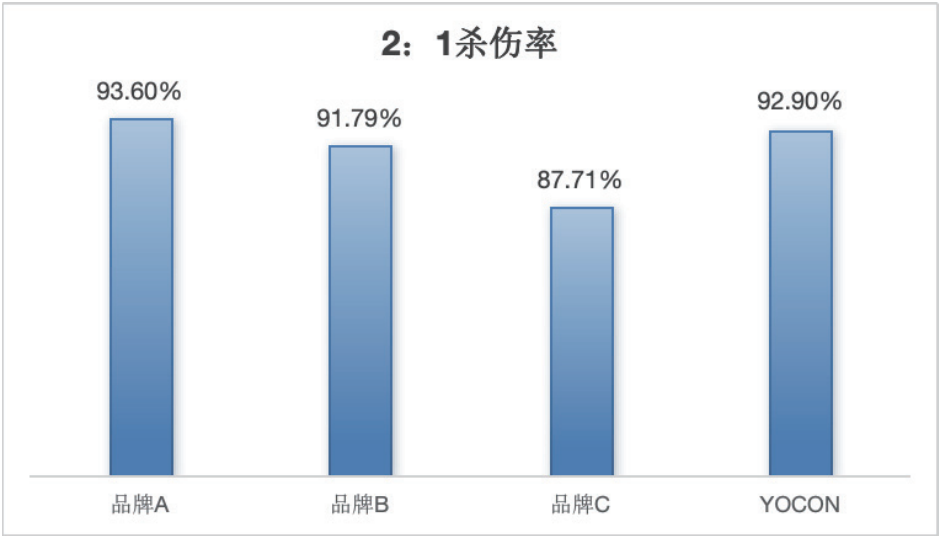


NK 细胞图：



NK 杀伤功能：

组别	效靶比	K562 接种数	杀伤后存活 K562 的均值	杀伤率
品牌 A	2:1	65058	4163	93.60%
品牌 B	2:1	65058	5340	91.79%
品牌 C	2:1	65058	7995	87.71%
YOCON	2:1	65058	4618	92.90%



【生产企业】

研发生产基地：北京市密云区科技路 6 号

总部地址：北京市海淀区长春桥路 11 号亿城中心 C2 座

华东分区：上海市普陀区真如街道天汇广场 706 室

华中分区：武汉市东湖高新技术开发区光谷大道 58 号光谷总部国际 2 栋 1210

华南分区：广东省广州市海珠区新港东路 1068 号中洲中心北塔 901

联系电话：0086-400-001-1266 0086-010-58711655

官方网站：www.yocon.cn

【说明书核准日期】 2026年1月9日

【版本号】 1.0.1