



南京爱贝生物科技有限公司

## 玻璃化冷冻-解冻液使用说明书

型号：M1915（冷冻液） 规格：10ml\*2支/盒 保存条件：4℃保存

型号：M1815（解冻液） 规格：10ml\*4支/盒 保存条件：4℃保存

型号：H0101（玻璃化冷冻专用载杆，Cryoleaf） 规格：1支/袋（无菌包装） 保存条件：室温保存

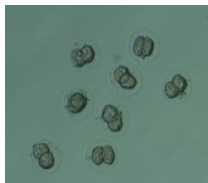
本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途

玻璃化冷冻技术的基本原理是将胚胎放入高浓度冷冻保护剂经一定时间平衡后，胚胎体积可因脱水而减少 30-50%，然后将胚胎置入特定冷冻载杆，再直接投入液态氮中使细胞内残存水分瞬间玻璃化，在无冰晶形成下保存，以减少细胞内结冰造成伤害。

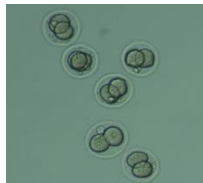
本试剂盒适用于冷冻小鼠、大鼠等实验动物及人类卵母细胞卵母细胞-囊胚期的各个阶段，复苏率 95%以上，复苏胚胎的囊胚形成率 85%以上。

本试剂盒需配套专用玻璃化冷冻载杆（H0101）使用。

### 冷冻图片

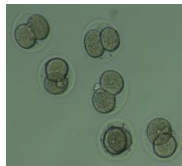
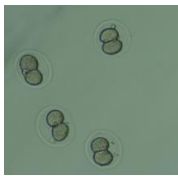
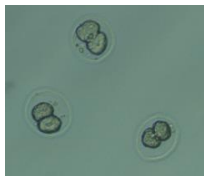


2cell ES 初始阶段卵裂球脱水



ES 4min 后卵裂球体积部分恢复

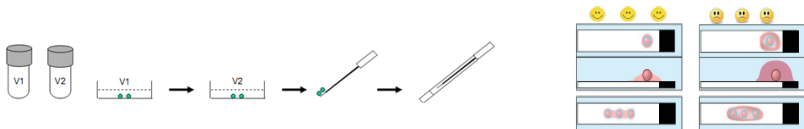
### 解冻图片



解冻后卵裂球体积逐步恢复的过程

## 冷冻步骤（两步法）

- (1) ES 液和 VS 液各做 200ul 滴，在室温下复温 5min。
- (2) 将胚胎放入 ES 液中，平衡 3min。
- (3) 将胚胎从 ES 液中移入 VS 液，放置 1min。
- (4) 将胚胎转移到玻璃化冷冻载杆上，3-4 步过程在 1.5min 内完成。为迅速降温跨越冰点，滴在载杆叶片上滴越小越好。
- (5) 轻轻的将玻璃化冷冻载杆投入到液氮中，维持 30 秒，然后完全释放于液氮中。
- (6) 用金属镊子在液氮液面下将玻璃化冷冻载杆帽子套上并装入载体支架（全过程中装载胚胎的叶片必须一直浸泡在液氮内），在冷冻登记本上做好相关记录。
- (7) 整个冷冻过程关闭加热工作台，维持常温。



## 解冻步骤（四步法）

- (1) 从冰箱中取出 DM-1、DM-2、DM-3、WM 液，各做 200ul 滴，DM-1 滴放入 37°C 培养箱中 5min 加温至 37°C，其余各滴在室温下复温 5min。
- (2) 将载有胚胎的玻璃化冷冻载杆在液氮面下用金属镊子脱下帽子取出，迅速将叶片置于 DM-1 液中，轻轻晃动载杆，镜下可见卵子或胚胎脱落至 DM-1 液中，放置 1min。
- (3) 将胚胎转移至 DM-2 液中，放置 3min。
- (4) 将胚胎转移至 DM-3 液中，放置 3min。
- (5) 将胚胎转移至 WM 液中，放置 3min。
- (6) 将胚胎转移至胚胎培养液中洗涤后，放入培养箱中培养。
- (7) 整个冷冻过程关闭加热工作台，维持室温。为了迅速复温跨越冰点，解冻第一步 DM-1 液要保证 37°C。后续解冻步骤在室温下进行。



**注意事项:** 1. 上述每步时间适用于小鼠胚胎。冷冻卵母细胞及囊胚请延长 ES 时间至 5min，不同动物胚胎请先做预实验摸索冷冻解冻各步骤时间。2. 产品出厂前均通过鼠胚质控。3. 视频教程请咨询客服。

地 址：江苏省南京市高新区东大路 2 号  
手 机：17130388944（销售，微信同号）  
办 公 室：025-66068668（9:00-18:00）  
电 子 邮 件：njabsw@163.com  
QQ：3595143129（销售）、1497503894（技术支持）