

MSC无血清基础培养基-普通款产品说明书

【产品名称】

MSC无血清基础培养基-普通款

货号：S1012-500

规格：500ml/瓶

【产品介绍】

BDBIO 间充质干细胞（MSC）无血清基础培养基-普通款是一款无血清、无异源成分的培养基，用于人脐带组织来源的干细胞的原代分离、扩增与传代培养，具备保持间充质干细胞的多谱系分化潜能及维持其良好的增殖速率的特性。可根据实验需求搭配干细胞培养添加剂使用。

【产品用途】

适用于人脐带组织来源的干细胞的原代分离、扩增与传代培养。

【使用方法】

MSC 无血清完全培养基配制：

将干细胞培养添加剂按比例加入到 MSC 无血清基础培养基中，混合均匀，即为间充质干细胞完全培养基，4℃保存，2周内使用。原代（P0）分离时建议使用青链双抗避免污染。

原代间充质干细胞分离（组织块法）

1. 手术台上取正常健康新生儿脐带，浸泡于含双抗的无菌生理盐水或 PBS 中常温或 4℃保存；
2. 超净台内取出脐带，用生理盐水或者 PBS 洗去脐带残留血液，剪成 3-4cm 小段；
3. 用生理盐水或者 PBS 再次清洗，用组织镊去除脐带中的 2 条脐动脉；

4. 沿脐静脉将脐带剪开，用组织镊刮去静脉，放入生理盐水或者 PBS 中洗涤 2-3 次，剪成 1.5mm 左右大小。
5. 将剪好买的组织块均匀铺于培养皿中，间隔 5mm 左右。
6. 放置 5-10 分钟后，根据所选培养容器添加相应量的培养基，放置于 37°C、5%CO₂ 培养箱中培养；
7. 培养 3 天后，镜下观察有无细菌污染，进行半量换液；
8. 细胞培养至 7-10 天可见长梭形细胞从组织块内爬出，7 天进行全换液，培养至 12-15 天可见大量细胞爬出，此时爬出的细胞记为 P0；
9. 待组织块周边细胞密度达到 80%-90%左右时，重组胰酶消化细胞进行传代；
10. 传代后的细胞记为 P1，以此类推。

人间充质干细胞传代与冻存：

1. 待细胞融和度达到约 80%后进行传代(细胞不能太密集，否则容易分化)，吸弃瓶中的培养基，加适量 DPBS 轻轻冲洗 1 次。
2. 根据培养瓶适量加入温和型细胞消化液，T175 建议使用 3-5ml，在室温作用 1-3min (可轻拍培养瓶帮助细胞脱落)。
3. 显微镜下观察细胞完全脱落后，用移液器轻轻吹打细胞，使细胞完全脱落，然后 1000 rpm 离心 3-5min。
4. 谨慎吸出上清，细胞团块用适当体积的完全培养基悬浮后，混匀细胞悬液。
5. 按照 6000-8000cells/cm² 的细胞密度将细胞接种至 T175 培养瓶中加入 25ml 细胞悬液，使其均匀的铺在培养瓶底部，放入 37°C, 5% CO₂ 培养箱内培养。
6. 每 2-3 天更换一次培养基，待细胞融合度达到 80%左右时，进行细胞传代操作或者收获细胞进行细胞冻存操作。
7. 细胞冻存：将细胞团块悬浮于适量无血清干细胞专用冻存液中，冻存液重悬细胞密度为 5*10⁵-5*10⁶ cells/ml；装入冻存管，-80°C 冰箱放置 24h，转入液氮罐中长期冻存。

间充质干细胞复苏：

1. 人间充质干细胞完全培养基提前预热，在生物安全柜或超净台中吸取适量（如 T-75 瓶：10-15mL）完全培养基沿上表面加入间充质干细胞培养瓶中，切勿冲到细胞培养瓶底面。然后慢慢将细胞培养瓶平放，在 37°C、恒温 CO₂ 培养箱中放置 5-10 分钟后使用。可让培养基中的促贴壁物质更好地与细胞培养瓶底部结合，使间充质干细胞的贴壁能力增强，降低“生长空洞”出现的概率。
2. 从液氮中取出冻存的间充质干细胞，迅速将冻存管放入 37°C 水浴中，快速融解。
3. 用 70%-75% 酒精消毒冻存管外壁，在生物安全柜或超净台中打开冻存管，将细胞悬液缓慢移入装有 5-10mL 完全培养基的离心管中。
4. 1200rpm 离心 5min，弃上清，加入 2mL 完全培养基重悬细胞，计数，按密度 6000-8000 cells/cm² 将细胞接种至步骤 1 中孵育完的细胞培养瓶中，添加细胞时细胞悬液直接加到底部，切忌冲到细胞培养瓶底面。
5. 轻轻摇晃细胞培养器瓶，使细胞均匀分布，混匀后，置于 37°C、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中静置培养。
6. 2-3 天后，更换新鲜的完全培养基。

【注意事项】

1. 本产品使用过程中应注意无菌操作，避免污染。
2. 试剂包装如有破损或滴漏，严禁使用。
3. 为保持本产品的最佳使用效果，请勿进行冻融处理；
4. 本产品置于 2~8°C，避光保存，禁止使用超出规定有效期的产品。

【保存条件】

2-8°C 避光保存，有效期 12 个月。

【声明】

仅用于科研使用，不能用于临床诊断和治疗。