

CelCulSF™ Mesenchymal Stem Cell (MSC) Culture Medium (Serum-free)

间充质干细胞 (MSC) 无血清培养基

产品简介

CelCulSF™ Mesenchymal Stem Cell (MSC) Culture Medium (Serum-free) 培养基是专为人类间充质干细胞（包括脐带间充质、骨髓间充质、脂肪间充质、脐带血间充质等干细胞）设计的一款标准化生产、无异种动物源、无血清的培养基。与传统添加动物血清的培养基相比，间充质干细胞 (MSC) 无血清培养基能维持间充质干细胞的无分化生长，保持细胞的形态特征和正常的染色体核型等，保证间充质干细胞的高增殖率以及分化潜能。

组分信息

组分编号	组分名称	40144ES76
40144-A	间充质干细胞 (MSC) 基础培养基 (无酚红)	500 mL
40144-B	间充质干细胞 (MSC) 添加物	25 mL

成分说明

无血清培养基和添加物均无异种动物源成分、无抗生素、无酚红，含谷氨酰胺。

储存条件

间充质干细胞 (MSC) 基础培养基 (无酚红)，2~8°C，有效期 18 个月；

间充质干细胞 (MSC) 添加物，-20°C，有效期 18 个月。

使用说明

1. MSC 完全培养基的配制

1) 间充质干细胞 (MSC) 添加物置于 37°C 水浴锅中至完全融化后立即拿出，若出现少量絮状物或浑浊为正常现象，不会影响细胞培养性能，建议离心去除絮状物 (3400 g, 3 - 5 min)，直接使用或分装储存于 -20°C，避免反复冻融。

2) 将 25 mL 间充质干细胞 (MSC) 添加物加到 500 mL 间充质干细胞 (MSC) 基础培养基 (无酚红) 中，彻底混匀。

2. 原代细胞培养 (以脐带来源为例)

1) 脐带洗涤：无菌有齿镊转移脐带至 10 cm 无菌培养皿中，用医用碘伏消毒整根脐带外表面，转入新的平皿中，加入 75% 乙醇浸没整根脐带，消毒灭菌后，转入新的平皿中，加入 5 - 10 mL 氯化钠注射液冲洗，重复 2~3 次，去除血渍。

2) 无菌组织剪将脐带剪成约 2~3 cm 数段，加入 5 - 10 mL 氯化钠注射液洗涤血凝块，重复洗涤直至基本去除血渍，洗涤液较清澈。

3) 剔除血管：按血管螺旋走式剔除脐带的两条动脉，一条静脉。

4) 分离华通氏胶：用有齿镊将华通氏胶撕下，放入无菌平皿中，加入 5 - 10 mL 氯化钠注射液，洗涤胶体。

5) 洗涤胶体：将获得的胶体转移至 50 mL 离心管，加氯化钠注射液 20 - 30 mL，轻轻晃动，2000 rpm、5 min。

6) 胶体称重：上清液弃去，称重记录。

7) 组织匀浆：胶体中加入 2~3 mL 培养基，用无菌组织剪，在离心管中将组织剪切成组织匀浆块，2000 rpm、5 min 离心，去除上清。

8) 根据胶体重量，加入适量完全培养基，定容，吹打均匀，按照每瓶 0.5 g 接种到培养瓶（T75 瓶）中，每瓶 8 - 10 mL 培养基（T75 瓶）培养。

9) 平置培养瓶使组织块尽量均匀分布于整个底面，将培养瓶放置于二氧化碳恒温恒湿培养箱。培养条件：37±0.5°C，CO₂ 体积分数为 5±0.2%。

10) 培养第 7 天，全量换液，合并收集组织块，离心上清液弃掉。新鲜完全培养基重悬组织块，均匀种瓶。

11) 细胞可见时间 5 - 9 天，细胞可收获时间 10 - 14 天。

12) 3 个以上组织块附近细胞融合度达 85% 以上，细胞可收获，倒出培养上清，使用生理盐水清洗培养瓶底面 1~2 遍，使用 0.05% 胰酶或重组细胞消化液消化细胞，终止消化后，收集细胞悬液至离心管，细胞液过细胞筛网去除组织，450g, 5 min 离心，沉淀即为原代收获细胞。

3. MSC 传代细胞培养

1) 取复苏或传代收获的 MSC，进行计数。

2) 用配制好的完全培养基重悬细胞，根据铺瓶密度进行铺瓶培养。

铺瓶密度：P1 - P3 代细胞铺瓶密度 4000 - 6000 个/cm²，P3 代以上传代细胞铺瓶密度 6000 - 8000 个/cm²。

铺瓶体积：T25 瓶，每瓶铺瓶体积 5 mL；T75 瓶，每瓶铺瓶体积 13 mL；T175 瓶，每瓶铺瓶体积 30 mL。

细胞铺瓶后，晃匀后放置 37°C，二氧化碳培养箱中培养。

3) 细胞培养时间 72 h，观察细胞融合度达 85% 以上，倒出培养上清，使用生理盐水清洗培养瓶底面 1~2 遍，使用 0.05% 胰酶或重组细胞消化液消化细胞，终止消化后，收集细胞悬液至离心管，450 g，5 min 离心，沉淀即为收获细胞。

注意事项

1. 间充质干细胞（MSC）添加物在 37°C 水浴锅复融，复融后直接使用或分装储存于 -20°C，避免反复冻融。
2. 间充质干细胞（MSC）添加物复融后可能会出现少量絮状物或浑浊为正常现象，不会影响细胞培养性能，建议离心去除絮状物（3400g，3 - 5 min）。
3. 间充质干细胞（MSC）添加物可在 -20°C 至 -40°C 条件下进行长期储存到有效期结束，一旦化冻，可在 4°C 最多放置 7 天，配制成的完全培养基可在 4 度条件下可稳定放置 14 天。
4. 本产品仅作科研用途。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。