

# 人间充质干细胞培养基

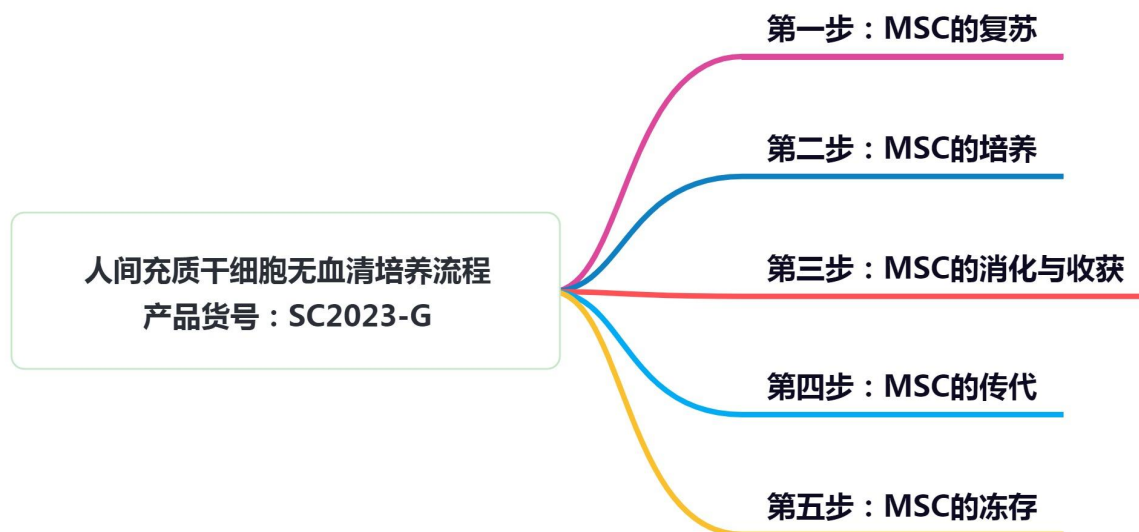
## /Human Mesenchymal Stem Cell Line

---

**产品货号：SC2023-G**

# Human Mesenchymal Stem Cell Line

## 人间充质干细胞培养基



### ▼产品用途概述

本产品可用于 MSC 细胞的传代培养。

本产品适用于脐带来源、胎盘来源、牙髓来源、脂肪来源、骨髓来源、尿源的 MSC 细胞。

### ▼产品性能概述

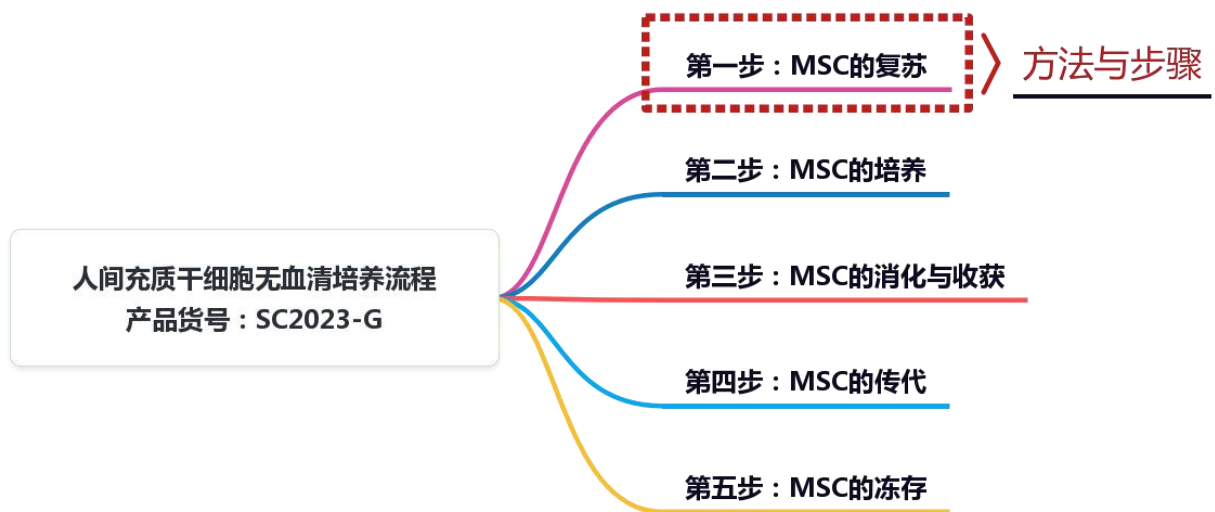
可稳定正常传代至 16 代细胞。

以 5000-10000 个细胞/cm<sup>2</sup> 密度接种，最佳接种密度为 7500 个细胞/cm<sup>2</sup> 培养 96 小时后即可收获。

1. 以 T175cm<sup>2</sup> 培养瓶为例，细胞接种量在 135 万个/瓶，培养 4 天后可收获细胞量 1000 万个/瓶。
2. 以 T225cm<sup>2</sup> 培养瓶为例，细胞接种量在 170 万个/瓶，培养 4 天后可收获细胞量 1500 万个/瓶。

### ▼产品使用特点概述

1. 以 T175cm<sup>2</sup> 培养瓶为例，所需完全培养基总体积约为 40ml 完全培养基。如细胞增殖速度缓慢可适当补加 20%-50%完全培养基。如细胞增殖速度快，在下一传代中可减少 10%-20%完全培养基。
2. 以 T225cm<sup>2</sup> 培养瓶为例，所需完全培养基总体积约为 60ml 完全培养基。如细胞增殖速度缓慢可适当补加 20%-50%完全培养基。如细胞增殖速度快，在下一传代中可减少 10%-20%完全培养基。



### 第一步：MSC 的复苏

1. 开始之前，提前准备好以下材料：试管、恢复至室温的培养基、预先包被的培养瓶。确保整个解冻复苏程序可以在最短的时间内完成。
2. 在 37°C 水浴中快速解冻，持续温和的在水中晃动冻存管，直到剩余少量细胞还处于冻存状态。
3. 水浴中取出冻存管，用 75%的酒精或异丙醇擦拭除菌。
4. 用 2 mL 的血清移液管把细胞悬液转移到一个 15 mL 的锥形试管。
5. 逐滴加入 5 - 7 mL 预热的人间充质干细胞无血清基础培养基 (产品货号：SC2023-G-A) 至 15 mL 的离心管中，加入的同时轻轻混匀。
6. 室温 (15 - 25°C) 以 300 g 离心 5 分钟。



## 第二步：MSC 的培养

1. 配制完全培养基：90%人间充质干细胞无血清基础培养基（产品货号：SC2023-G-A）+ 10%人间充质干细胞无血清添加物（产品货号：SC2023-G-B），充分混合后为“完全培养基”。

注意：完全培养基现用现配。

2. 吸出洗涤离心后的上层培养基，使细胞沉淀完好无损。使用 2 mL 血清移液管轻轻将细胞沉淀重悬于 1 mL 的完全培养基中。

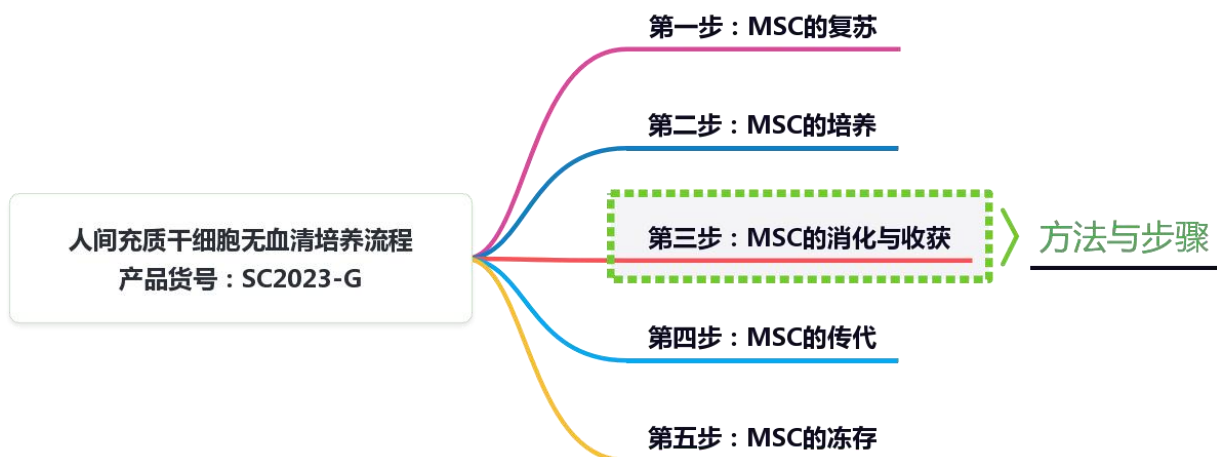
3. 细胞计数：经计数后以 5000-10000 个 MSC/平方厘米，接种到对应细胞培养瓶中（TC 处理培养瓶）。最佳接种密度为：7500 个 MSC/平方厘米。

注意：经机械离心后细胞数量有损失，此计数步骤非常必要。

4. 将计数后的总细胞转移到含有完全培养基的培养瓶中。放置于 37°C、5%二氧化碳、95% 湿度的二氧化碳培养箱中培养 96 小时。

以 T175 培养瓶为例：初始投入量需要 135 万个 MSC，总体积为 40ml 完全培养基。

以 T225 培养瓶为例：初始投入量需要 170 万个 MSC，总体积为 60ml 完全培养基。



### 第三步：MSC 的消化与收获

1. 吸去旧培养液，将瓶内剩余的组织块去净后，根据培养瓶规格适当加入 1-5ml 胰蛋白酶/EDTA 消化液（产品货号：TE2004Y）置 37°C培养箱中消化 1-2 分钟，或室温消化 3-5 分钟，显微镜下观察到绝大部分细胞变圆，极少量细胞贴壁仍呈纺锤形，极少量细胞已经悬浮即可终止消化。

以 T175 培养瓶为例：胰蛋白酶/EDTA 的需求量为 10ml。

2. 立即加入与胰酶替代物等体积无血清胰蛋白酶终止液（产品货号：SC2013-G-E），用吸管吸取液体，反复吹打培养器瓶底壁，使细胞彻底脱离瓶皿底壁。

3. 吸出培养瓶内所有液体，水平离心（250g，10 分钟），弃去上清液。

4. 用 20mlPBS 充分洗涤重悬细胞沉淀后，水平离心（250g，10 分钟）。

5. 离心后的沉淀为最终收获 MSC，可根据需求进行科研项目、细胞冻存、细胞传代。

T175 培养瓶收获量约为：1000 万个 MSC

T225 培养瓶收货量约为：1500 万个 MSC



#### 第四步：MSC 的传代

1. 配制完全培养基：90%人间充质干细胞无血清基础培养基（产品货号：SC2023-G-A）+ 10%人间充质干细胞无血清添加物（产品货号：SC2023-G-B），充分混合后为“完全培养基”。

注意：完全培养基现用现配。

2. 吸出洗涤离心后的上层培养基，使细胞沉淀完好无损。使用 2 mL 血清移液管轻轻将细胞沉淀重悬于 1 mL 的完全培养基中。

3. 细胞计数：经计数后以 5000-10000 个 MSC/平方厘米，接种到对应细胞培养瓶中（TC 处理培养瓶）。最佳接种密度为：7500 个 MSC/平方厘米。

注意：经机械离心后细胞数量有损失，此计数步骤非常必要。

4. 将计数后的总细胞转移到含有完全培养基的培养瓶中。放置于 37°C、5%二氧化碳、95% 湿度的二氧化碳培养箱中培养 96 小时。

以 T175 培养瓶为例：初始投入量需要 135 万个 MSC，总体积为 40ml 完全培养基。

以 T225 培养瓶为例：初始投入量需要 170 万个 MSC，总体积为 60ml 完全培养基。



## 第五步：MSC 的冻存

1. 将培养瓶内细胞消化终止后，在室温（15 - 25°C）以 300 g 离心 5 分钟。
2. 轻轻吸走上清液，注意不要扰动细胞团。
3. 用血清学吸管以 1 mL 的无血清细胞冻存液（产品货号：TBD698）重悬细胞。在打散细胞团时，尽量减少细胞聚集体分解。
4. 用 2 mL 的血清学吸管将 1 mL 的细胞聚集体转移到标记好的冻存管中。
5. 用以下方法冻存细胞聚集体: 推荐使用缓速降温方法，每分钟降低 1 度，随后可以在 -196°C 液氮或更低的温度长期保存。不推荐在 -80°C 长期保存。逐步降温法：使用程序将温盒 -20°C 保存 2 个小时，然后 -80°C 中保存 2 个小时，随后可以在 -196° C 液氮中或更低的温度长期保存。
6. 无血清细胞冻存液（产品货号：TBD698）可冻存细胞密度为 100 万-1000 万个细胞/ml。