

人脐带间充质干细胞 (MSC) 无血清培养基

产品描述:

YOBIBIO 人脐带间充质干细胞(MSC)无血清培养基是一款无血清、无动物源成分的人脐带间充质干细胞培养产品。本产品可用于脐带间充质干细胞的原代培养及多次传代, 同时还能保持其多向分化的潜能, 如分化为骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞的能力, 使用时无需添加血清或血清替代物。

本产品为淡黄色液体, 支原体为阴性, 无菌, 内毒素小于 0.25EU/ml, 含 L-谷氨酰胺和碳酸氢钠, 不含抗生素、HEPES 和酚红。本产品经过过滤除菌处理, 可以直接使用。

产品规格:

| 产品名称 | 货号 | 规格 | 保存条件 |
|---------------------------|-----------|-------|------|
| 人脐带间充质干细胞 (MSC) 无血清培养基 | U21-1001M | 500ml | 2-8℃ |

产品特点:

- 1、同时支持脐带间充质干细胞原代培养和传代培养, 支持脐带间充质干细胞高效增殖。
- 2、严格按照 cGMP 要求生产, 无血清、无任何动物源成分。

包装清单:

| 组分名称 | 规格 | 保存条件 |
|---------------------------|--------|------|
| 人脐带间充质干细胞 (MSC) 无血清培养基 | 500 ml | 2-8℃ |
| 添加剂 | 25 ml | -20℃ |

使用说明:

- 1、添加剂的分装

添加剂可置于室温或 2-8℃解冻并轻轻摇匀, 静置 5min, 待溶解均匀后使用或分装。注意反复冻融不超过 2 次, 分装后可在-20℃保存。



2、培养基的配制

取 500ml 人脐带间充质干细胞无血清培养基，加入 25ml 添加剂，混合均匀即为人脐带间充质干细胞无血清完全培养基（可按照比例配制所需用量）。

3、人脐带间充质干细胞原代细胞的分离与培养（以 T75 培养瓶为例）

（1）取出脐带，将脐带外表面消毒并清洗去除血迹，剪成约 2cm-4 cm 的小块，去除动静脉，制成边长 5-10mm 的小块，置于 T75 培养基瓶中排列整齐，每瓶铺入 15-20 块（注意区分脐带外表皮侧和华通胶侧，保证华通胶侧贴在培养瓶底部）。

（2）翻转培养瓶，置于 37°C、5%CO₂ 培养箱中静置 1h。

（3）取出培养瓶，向培养瓶中缓慢加入 15ml 脐带间充质干细胞无血清完全培养基，放入 37°C、5% CO₂ 培养箱中静置培养。

（4）培养第 7 天，每个培养瓶补加 5ml 新鲜的脐带间充质干细胞无血清完全培养基。

（5）补液后每 3 天进行半换液，吸出 10ml 培养基弃掉，再加入 10ml 新鲜的脐带间充质干细胞无血清完全培养基。

（6）培养第 13 天开始观察组织块，如组织块周围细胞融合度达到 90%，可收获细胞，否则继续每 3 天进行半换液直至组织块周围细胞融合度达到 90%。

4、脐带间充质干细胞的传代培养与冻存（以 T75 培养瓶为例）

（1）将脐带间充质干细胞无血清完全培养基平衡至室温。

（2）清洗：吸出培养瓶中的培养基弃掉，每个 T75 培养瓶用 10-15ml PBS 清洗细胞一次。

（3）消化：加入 3ml 胰酶消化液，使其浸润整个细胞生长表面后，置于 37°C、5% CO₂ 培养箱中消化 2-6 min，镜检观察，约 80%以上细胞回缩变圆并脱落时，加入两倍体积的脐带间充质干细胞无血清完全培养基终止消化，吹打使细胞分散成单细胞，进行细胞计数。（若大部分细胞回缩变圆但不脱落，可轻轻拍打瓶壁使其脱落。若细胞不脱落，可适当延长消化时间。）

（4）收集：300×g 离心 5min 后弃上清，收集细胞沉淀。

（5）传代/冻存：若进行传代操作，用脐带间充质干细胞无血清完全培养基重悬细胞，按照合适的接种密度（推荐 4000-8000 个细胞/cm²）将细胞接种到已加入 20ml 脐带间充质干细胞完全培养基的 T75 培养瓶中，放入 37°C、5%CO₂ 培养箱中继续培养。若进行冻存操作，按冻存密度加入适量细胞冻存液，轻柔吹打重悬细胞并混匀，转移至细胞冻存管中，冻存管置于程序降温盒中，-80°C 过夜，24h 后转移至液氮中进行长期保存。



5、脐带间充质干细胞的复苏（以 T75 培养瓶为例）

（1）将脐带间充质干细胞无血清完全培养基平衡至室温，每个 T75 培养瓶加入 15ml 的脐带间充质干细胞无血清完全培养基。

（2）取出冻存的细胞，置入 37°C 水浴锅中快速解冻。

（3）立即转移解冻后的细胞悬液 1 ml 至 15 ml 离心管中，逐滴加入 4ml 脐带间充质干细胞无血清完全培养基，混匀后计数。

（4）根据计数结果，按照合适的接种密度（推荐 4000-8000 个细胞/cm²）将细胞接种到已加入 15ml 脐带间充质干细胞无血清完全培养基的培养瓶中。（注：若细胞冻存液中不含 DMSO，可将细胞直接加入 20ml 脐带间充质干细胞无血清完全培养基中，且不用在第二天换液。）

（5）将细胞放在 37°C、5%CO₂ 培养箱中静置培养。

（6）培养 12-24h 待细胞贴壁后，弃去培养上清，加入 20ml 新鲜的、已平衡至室温的脐带间充质干细胞无血清完全培养基继续培养。根据细胞生长情况，每 3 天换液至细胞融合度达到 80%-90%。

注意事项：

- 1、本产品在使用过程中应注意无菌操作，避免污染。
- 2、如果培养基出现浑浊、有沉淀等异常现象，立即停用，并检查使用或保存过程中是否污染培养基。
- 3、本产品不含抗生素，不建议添加抗生素。如果必须添加抗生素，则应优化培养条件。
- 4、本产品不含有酚红，不含有血清及动物源成分，如有需要可额外添加。
- 5、为了达到理想的细胞培养效果，本产品可以直接使用，也可以根据细胞类型或研究需求，额外添加需要的细胞生长因子或激素等。
- 6、本产品培养细胞的效果可能因细胞来源、储存条件、样本质量、操作者经验而有所差异。
- 7、本产品长期放置后使用，如果发现细胞生长变慢，可能是因为产品中的 L-谷氨酰胺分解，可以在使用前加入适量的 L-谷氨酰胺来维持细胞的正常生长代谢。
- 8、本产品仅作体外科研使用，不可用于临床诊断或治疗。
- 9、实验员请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

保存方法：

2-8°C 避光保存，一年有效。

使用范围：

仅限科研使用，不能应用于临床。

