

## 人间充质干细胞无血清培养基

货号：CP1002

产品描述：伟通生物的人间充质干细胞无血清培养基根据人间充质干细胞的生长需要，包含必需和非必需氨基酸、维生素、无机化合物、生长因子以及其他补给成分。本品非常适用于培养间充质干细胞，能使人间充质干细胞在理想营养平衡状态下进行多代扩增而不发生分化，无血清培养减少了污染，方便进行后继实验。产品严格无菌，无病毒和支原体，性能稳定。配合特定的培养瓶（板），还可以节省铺板的工序和时间。

本品是限定化学成分间质干细胞培养基，满足使用者对培养基高品质、可重复、可靠性的需求。

- 无需额外使用基质
- 限定化学成分、无血清培养基
- 间质干细胞扩大培养的最佳选择
- 套装规格，使用方便
- 支持多谱系分化

### 产品组份

名称	规格	保质期	储存条件	运输
基础培养基	480ml	12个月	2-8°C避光保存	冰袋运输
人间充质干细胞生长添加剂 1	5ml	12个月	-20°C避光保存	
人间充质干细胞生长添加剂 2	5ml	12个月	-20°C避光保存	
谷氨酸氨	5ml	12个月	-20°C避光保存	
青霉素/链霉素溶液	5ml	12个月	-20°C避光保存	

### 其他所需试剂

特定培养瓶：Corning 的 CellBIND 系列培养瓶（板）或 BD 的 Primaria 系列培养板。

普通培养板：人纤维连接蛋白（Human Fibronectin）

胰酶：Trypsin 0.05% -0.53mM EDTA

在特定培养瓶中，使用本品培养间充质干细胞，无需铺板；在传统细胞培养瓶，推荐使用人纤维连接蛋白铺板。

### 使用注意事项：

- 1.在配制完全培养基前，请把间充质干细胞生长添加剂、谷氨酸氨、青霉素-链霉素放到 2-8°C 冰箱过夜解冻或 37°C 水浴中直到完全溶解。
- 2.在使用完全培养基前，需要把培养基放到 37°C 恒温水浴中预热，温度不要超过 37°C。
- 3.请把配制好的完全培养基放在 4°C 冰箱避光保存，并尽量在一个月使用完。

[键入文字]

4.若培养基要分几次使用,请将间充质干细胞无动物源生长添加剂、青霉素-链霉素解冻按用量分装后 4°C冰箱避光保存。

5.培养于其他无血清或者含血清培养基间充质干细胞,可以快速转移到本品培养。多数情况下,生长良好的间充质干细胞直接换液为本品即可,个别情况下,需要逐步转换(如按 50%, 75%, 100%比例依次递增)

### 间充质干细胞的原代提取

初次提取间充质干细胞的用户,可以联系伟通生物公司客服,索取不同间充质干细胞原代提取的步骤和注意事项。

### 间充质干细胞复苏

1. 把间充质干细胞无血清培养基放入 37°C水浴中预热;
2. 从液氮中取出细胞迅速放入 37°C水浴快速解冻(解冻后不要继续孵育细胞);
3. 在超净台中将细胞转移到 50ml 离心管,加入 5ml 的无血清培养基重悬细胞, 1000rpm (250g) 离心 5min;
4. 弃上清,加入 5ml 的人间充质干细胞无血清培养基重悬细胞,转移到 T-25 培养瓶中(带滤芯);
5. 将培养瓶置于 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 的无菌恒温培养箱中培养;
6. 培养 24 小时,用新鲜的人间充质干细胞无血清培养基给细胞换液。
7. 以后每隔两天换液,直至传代。

### 间充质干细胞传代培养

- 1.在显微镜下观察细胞(细胞生长在人间充质干细胞无血清培养基中,且是次传代),当细胞融合度超过 80%时,即可传代;
- 2.37°C水浴预热培养基;
- 3.在超净台中,弃掉 T-25 细胞培养瓶中的培养基,加入 2ml PBS 清洗,再加入 1ml 0.05%胰酶-EDTA 消化细胞;
- 4.在显微镜下观察到细胞变圆,有细胞开始脱离瓶壁时,即可加入 5ml 人间充质干细胞无血清培养基终止消化;
- 5.用移液器轻轻吹打瓶壁上剩余的细胞,并轻轻吹打将细胞吹散;
- 6.将细胞转移到 15ml 离心管中,1000rpm 离心 5min;
- 7.弃上清,加入 15-20ml 的人间充质干细胞无血清培养基重悬细胞后转入 T-75 细胞培养瓶中或按适当比例传到 T-25 细胞培养瓶中。确保细胞贴壁后融合度在 25-50%之间,细胞密度在  $1 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> ( $2.5 \times 10^5$  cells/T-25 瓶),混合细胞悬液,确保细胞均匀分布;
- 8.将细胞培养瓶置于 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 的无菌恒温培养箱中培养;
- 9.每两天用新鲜、预热的间充质干细胞无血清培养基进行换液。

## 注意

如果是使用胰酶消化细胞，终止消化的步骤必须快速离心分离，尤其是洗细胞不能在 10 分钟内完成的情况下，**否则需要使用大豆酶抑制剂来终止胰酶**。这一步是非常必要的，因为本品是无血清培养基，不含抗胰蛋白酶，如果不能快速离心分离，培养基中残留的胰蛋白酶会破坏细胞并影响其生长能力。

## 间充质干细胞冻存

间充质干细胞冻存：90%间充质干细胞无血清培养基+10%DMSO

具体操作如下。

1. 细胞消化和计数，用胰酶对待冻存的细胞进行消化，并对细胞进行计数。
2. 1000rpm 离心 5 分钟，去掉上清。
3. 根据细胞计数的情况，加入适量的冻存液，使细胞密度在  $1 \times 10^6/\text{ml}$  左右（或根据自己希望达到的细胞密度）。
4. 轻轻地重悬细胞（务必重悬均匀），将重悬的细胞按等份加入到灭菌的冻存管（需提前做好标记或者贴上标签）中，旋紧冻存管盖。
5. 将冻存管放入程序降温冻存盒中，然后将冻存盒直接放入  $-80^\circ\text{C}$ 。
6. 第二天将细胞从  $-80^\circ\text{C}$  转移到液氮中。

**注：如客户用自己配制的冻存液冻存细胞，请避免用甘油作为保护剂。**

## 质量控制

每个批号的培养基均通过 MSC 生长曲线实验并能维持和扩增无分化的干细胞。产品的个生产流程均在 GMP 车间完成，严格按照 GMP 标准操作。每批产品均有严格的细菌、真菌、内毒素、pH 等指标检测。确保产品质量合格。

检测指标	检测结果	参照说明
细菌	阴性	阴性
真菌	阴性	阴性
支原体	阴性	阴性
内毒素	$< 1 \text{ EU/ml}$	$\leq 1 \text{ EU/ml}$
pH	$7.2 \pm 0.5$	7.0-7.4
细胞生长状态	符合标准	参照检测标准

伟通生物保留旗下技术文档的所有权利，未经伟通生物公司书面允许，本文档任何部分不得转载或用于其他用途。