

# ExCell Bio

## MSC 无血清培养基 MH02 说明书

本品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗

货号

MH000-N021

MH000-N021S



## | 产品概述

MSC 无血清培养基 MH02，是一种为间充质干细胞在无血清、无异源成分、无酚红条件下进行细胞原代分离、传代扩增而设计的培养基。本产品需要添加血清替代物混合成完全培养基后使用，添加血清替代物后的完全培养基可支持植块法、消化法等多种方法的 MSC 原代分离，并可以维持 MSC 长时间及多次传代培养，同时能够较好地保持其表面标志物稳定。

## | 产品规格及储存、运输要求

品名	货号	规格	存储条件	运输条件	有效期
MSC 无血清培养基 MH02	MH000-N021	500 mL kit	-	-	-
MSC 无血清基础培养基 MH01	BA0301	500 mL	2-8°C 遮光	<25°C 遮光	12 个月
MSC 无血清培养基添加组分 MH02	BA0321	0.5 mL	-20°C 遮光	<0°C 遮光	12 个月
MSC 无血清培养基 MH02 (试用装)	MH000-N021S	100 mL kit	-	-	-
MSC 无血清基础培养基 MH01 (试用装)	BA0301S	100 mL	2-8°C 遮光	<25°C 遮光	12 个月
MSC 无血清培养基添加组分 MH02 (试用装)	BA0321S	0.1 mL	-20°C 遮光	<0°C 遮光	12 个月

## | 产品注意事项

### MSC 无血清基础培养基 MH01:

1. 产品存储过程中需要遮光，避免日光灯或其他灯光照射，在冰箱或仓库储存时建议使用有色包装袋。
2. 产品运输过程中需要遮光运输，避免日光或其他灯光照射对产品的外观产生影响导致外观变色。
3. 产品在使用过程中需要转运至洁净区内时，灭菌方式只能采用消毒剂擦拭灭菌，不能使用紫外灭菌。

【注意】在经过带有紫外的传递窗时，需要主动关闭传递窗内的紫外灯。

**MSC 无血清添加组分 MH02:**

1. 需存储于-20℃环境，产品存储过程中需要遮光，避免日光灯或其他灯光照射，在冰箱或仓库储存需要使用有色包装袋，在产品有效期内可以保持产品性能稳定。
2. 运输说明：干冰运输，用户收货时需检查包装盒内是否有干冰，如收货状态异常，请尽快联系销售方。
3. 使用前，添加组分室温解冻，摇匀后，静置 5 min 使溶液溶解均匀后进行使用或进行分装，反复冻融不超过 3 次，分装后的试剂可在-20℃保存 3 个月，或暂存于 2-8 °C环境，并在 2 周内用完。

**| 实验材料和试剂**

<b>细胞</b>	间充质干细胞
<b>试剂与耗材</b>	OptiVibro® 血清替代物 (ExCell, RF020-N011)、OptiVibro® 重组胰酶消化液 RF01 (ExCell, RF000-N031)、DPBS 溶液、细胞/组织培养瓶、离心管、移液管、移液枪和枪头
<b>仪器</b>	二氧化碳细胞培养箱、离心机、细胞计数仪、倒置显微镜、水浴锅等

**| 操作方法**

**培养基的配制**

1. 将 0.5 mL MSC 无血清培养基添加组分 MH02 添加入 500 mL MSC 无血清基础培养基 MH01 内，再加入 10 mL OptiVibro® 血清替代物，混合均匀后即成为 MSC 无血清扩增完全培养基。

**【注意】** 如果使用本培养基进行间充质干细胞原代提取，建议添加 5%血清替代物，以 500 mL MSC 无血清扩增完全培养基配制为例，将 0.5 mL MSC 无血清培养基添加组分 MH02，添加入 500 mL MSC 无血清基础培养基 MH01 内，再加入 25 mL 血清替代物，混合均匀后使用。

2. MSC 扩增完全培养基配制后，可存储于 2-8℃环境，避免阳光直射、灯光照射与紫外照射，在冰箱储存建议使用有色包装袋，避免其他灯光照射，并在 2 周内使用完毕。

**间充质干细胞培养**

1. 使用前提前预热适量的完全培养基，每个 T-175 培养瓶需要 25 mL 的培养基；

2. 复苏或传代收集间充质干细胞，用完全培养基重悬细胞，推荐接种密度为低密度 4000 cells/cm<sup>2</sup>，96 h 传代；或高密度 8000 cells/cm<sup>2</sup>，72 h 传代。
3. 将细胞放在 37°C，5% CO<sub>2</sub>，饱和湿度的环境中培养。
4. 细胞扩增至铺满瓶底 80-90%时，进行传代培养，不要让细胞扩增超过 90%或完全铺满瓶底。

### 间充质干细胞传代培养

1. 使用前提前预热适量的完全培养基、DPBS 缓冲液、消化液。
2. 清洗：吸去培养瓶中的培养基，每个 T-175 培养瓶用 10 mL 的 DPBS 润洗细胞一次；
3. 消化：加入 6 mL 消化液，摇动皿底，使消化液浸润整个细胞生长表面后，37°C消化 3-5 min，摇动拍打瓶壁，在显微镜下观察，约 80%以上细胞脱落时，加入等体积完全培养基或 DPBS 溶液稀释消化液，吹打使细胞分散成单细胞，进行细胞计数；

【注意】如使用培养瓶，消化后轻拍瓶壁，细胞脱落，如消化不彻底，继续消化 1-2 min。如细胞生长过密，消化时细胞可能成片脱落。如遇此情况，需增加吹打次数使细胞分散成单细胞，或离心后以更小体积重悬从而确保细胞沉淀分散成单细胞。

4. 收集：300g，5 min 离心收集细胞沉淀；

【注意】植块法分离的原代间充质干细胞，首次传代时（P0 到 P1），无血清培养基体系下细胞贴壁易受消化液影响，消化后需要用 DPBS 清洗细胞。在第 4 步离心收集细胞后，加入 10 mL DPBS 溶液吹打重悬细胞，300g，5 min 离心，弃上清，重新收集细胞沉淀。另外请勿将细胞长时间静置于操作管内，操作时间过长（培养基内放置 15 min 以上），部分细胞会粘附于操作管壁上，造成丢失。

5. 接种：用完全培养基重悬细胞，按照  $1.40 \times 10^6$  cells/瓶 T-175 的细胞量（或按 1:7 的比例传代），将细胞悬液接种于多个 T-175 培养瓶中，补加完全培养基至每瓶 25 mL；

【注意】若接种密度过高或培养时间过长，可能出现细胞生长过密引起细胞结团的现象。

6. 培养：将细胞放在 37°C，5% CO<sub>2</sub>，饱和湿度的环境中培养；
7. 冻存：步骤 4 结束后，加入细胞冻存液轻柔吹打重悬细胞，（注意：冻存液即用即拿，及时放回冷藏冰箱），转移至细胞冻存管中做好标记，冻存管置于程序降温盒（ExCell，CS041-0001）中置于-80°C过夜，24 h 后转至液氮中进行长期保存。

## | 免责声明

1. 产品应按照说明书指导使用，实验者未按说明书操作，本公司不对由此导致的产品性能偏离承担责任；
2. 产品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。