

间充质干细胞无血清培养基使用说明书

【产品类型】：间充质干细胞无血清培养基

【产品名称】：MCM CuLMSC-SFM31 Pro

【产品货号】：CM031P-1-500



【包装规格】：500mL/瓶

【主要成分】：该产品为无血清培养基，不含动物源成分。主要含糖类、氨基酸、无机盐、微量元素、细胞因子及生长因子等。

【预期用途】：本品适用人间充质干细胞（脐带、胎盘、脂肪等来源）体外无血清扩增培养。

【性能指标】：

无菌检测：阴性（细菌、真菌）	内毒素：<1EU/mL
pH：7.0~7.6（室温）	渗透压：280~350 mOsm/kg
外观：红色，澄清液体	

【运送要求】：

MCM CuLMSC-SFM31 Pro: -30~ -5°C, 避光运送；

【储存条件及有效期】：

MCM CuLMSC-SFM31 Pro: -30~ -5°C, 避光储存；有效期 12 个月。

【预期用途】：

为获得最佳细胞培养扩增效果，请参考以下操作：

使用前请在 37°C 水浴槽中解冻冷冻的 MCM CuLMSC-SFM31 Pro 产品，解冻后立即取出水浴槽不可久置。不推荐以 4°C 或室温解冻，可能会增加凝块或不溶性颗粒形成。解冻且未开封的 MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基，可在 2~8 °C 的条件下保存 1 个月。

I. 作业流程（以75T培养瓶为例）

1. 原代细胞培养

1.1.植块法

1.1.1.将 MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基放至 37°C 培养箱进行预热。

1.1.2.按照植块法进行组织剪切处理，组织处理完成后，将组织块按照对应作业要求移植至培养载体内。

1.1.3.按照对应作业要求，加入一定量的 MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基，置于 37°C, 5% CO₂ 及 85% 湿度条件进行培养。

1.1.4.按照对应作业要求进行观察及换液。待细胞融合度达 80~90% 消化收集细胞。

1.2.酶消化法

1.2.1.将 MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基放至 37°C 培养箱进行预热。

1.2.2.按照酶消化法进行组织消化处理，获得原代细胞悬液，按照一定密度接种（推荐 20000/cm²）至培养载体内，加入 15~20mL MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基，置于 37°C, 5% CO₂ 及 85% 湿度条件进行培养。

1.2.3.每 3 天换一次液，待瓶内细胞融合度达 80-90% 消化收集细胞。

2. 消化收集与细胞传代

2.1.显微观察，当细胞融合度达 80-90% 进行细胞消化传代。

2.2.将 MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基放至 37°C 培养箱进行预热。

2.3.使用移液管将培养容器内培养基去除，加入适量的 DPBS 进行清洗，去除清洗液后重复清洗一次。

2.4. 加入 5mL 胰酶或胰酶替代物 (1×) 并摇晃均匀, 放置 37°C或室温条件下消化, 期间用显微镜观察细胞是否呈现圆起状态。细胞呈现圆起状态后, 轻拍 Flask 侧面数次, 使细胞脱落, 并在显微镜下观察细胞是否皆已成悬浮状, 此步骤须尽速完成, 勿超过 5 分钟。

2.5.加入 MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基终止消化, 将细胞悬液转移至 50mL 离心管内。

2.6.300g 离心 5min, 弃上清, 加入 10mL MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基重悬, 取样计数, 细胞悬液再次离心。

2.7.离心结束, 弃上清, 加适当体积的 MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基重悬。

2.8.根据计数结果, 按一定密度 (推荐 6000~12000/cm²) 将细胞接种至培养瓶, 加入 15~20mL MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基, 置于 37°C, 5% CO₂ 及 85%湿度条件进行培养。

2.9.每 3 天换一次液, 待瓶内细胞融合度达 80-90%消化收集细胞。

3. 冻存与复苏培养

3.1.细胞冻存

3.1.1.显微观察, 当细胞融合度达 80~90%按照消化收集流程进行细胞消化收集。

3.1.2.细胞悬液离心后用一定量的 DPBS 重悬, 取样进行细胞计数及活性检测, 细胞悬液再次离心。

3.1.3.离心结束, 去除上清液, 根据细胞计数及活性检测结果, 向细胞沉淀中缓慢加入一定量细胞保存液, 轻轻吹打混匀。

3.1.4.按照冻存液参考作业进行冻存作业。

3.2.复苏培养

3.2.1.作业人员佩戴防冻护具, 将 MSC 的冻存样本从储存位置快速取出, 立即放入 37°C水浴/干浴复苏设备中解冻, 当样本即将全部融化 (90%左右) 时取出。

3.2.2.立即将细胞样品转移到无菌操作区域, 加入 MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基(1:10 或更高, 注意为了避免渗透压急剧变化对细胞造成损伤, 刚开始要缓慢添加, 逐步加快) 快速稀释, 轻轻混合。

3.2.3.300g 离心 5min, 去除上清。

- 3.2.4. 加适当体积的 MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基重悬，取样进行细胞计数及活性检测。
- 3.2.5. 根据计数结果，按一定密度（推荐 $6000 \sim 12000/\text{cm}^2$ ）将细胞接种至培养瓶，加入 15 ~ 20mL MCM CuLMSC-SFM31 Pro 培养基，置于 37°C , 5% CO_2 及 85% 湿度条件进行培养。
- 3.2.6. 每 3 天换一次液，待瓶内细胞融合度达 80~90% 消化收集细胞。

【建议】：

1. 建议提前置于室温或 37°C 条件下预热后使用。
2. 传代培养时，以下接种密度可供参考：

P1~4: $6000/\text{cm}^2$

P5~8: $7000/\text{cm}^2$

P9~12: $9000/\text{cm}^2$

P12-15: $10000 \sim 12000/\text{cm}^2$

【注意事项】：

1. 本产品仅供科研使用，不可用于临床治疗。
2. 产品启封后应立即使用或分装保存，否则产品性能将受影响。
3. 使用前应进行细胞培养测试，确认性能后再使用。
4. 使用后产生的废弃物处理，应遵守使用者所在地相关法律法规要求，不得随意丢弃。

【说明书核准及修改日期】： 2025 年 11 月**【技术支持】：**

根据销售条款，如您遇任何问题，请与我公司技术人员联系：

Tel: +86 21-64909996-393 Fax: +86 21-64909996-730

Email: bioreagent@tofflon.com