间充质干细胞无血清培养基使用说明书--MCM CuLMSC-SFM 31(A)

【产品名称】：间充质干细胞无血清培养基

【产品型号】：MCM CuLMSC-SFM 31(A)

【产品货号】：CM031(A)-500

【包装规格】：500 mL/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】：本品适用于人间充质干细胞（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：无色至淡黄色，澄清液体	

【运送要求】：

间充质干细胞无血清培养基：-30～-5℃，避光运送；

【储存条件及有效期】：

间充质干细胞无血清培养基：-30～-5℃，避光存储；有效期12个月。

【使用方法】：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间充质干细胞无血清培养基产品，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。解冻且未开封的间充质干细胞无血清培养基，可在 2～8 ℃ 的条件下保存 1 个月。

作业流程（以T75培养瓶为例）

1. 原代细胞培养

1.1. 植块法

1.1.1. 将MCM CuLMSC-SFM 31(A)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-SFM 31(A)培养基，置于 37°C，5% CO_2 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%以上消化收集细胞。

1.2. 酶消化法

1.2.1. 将MCM CuLMSC-SFM31(A)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/cm^2）至培养载体内，加入15～20mL MCM CuLMSC-SFM 31(A)培养基，置于37°C，5% CO_2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%以上消化收集细胞。

2. 消化收集与细胞传代

2.1. 显微观察，当细胞融合度达80%以上进行细胞消化传代。

2.2. 将MCM CuLMSC-SFM31(A)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-SFM 31(A)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-SFM 31(A)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-SFM 31(A)培养基重悬。

2.8. 根据计数结果，按一定密度（推荐6000～12000/cm^2）将细胞接种至培养瓶，加入15～20mL MCM CμLMSC-SFM31(A)培养基，置于 37℃，5% CO_2 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%以上消化收集细胞。

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%以上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℃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-SFM 31(A)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-SFM 31(A)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6000～12000/cm^2）将细胞接种至培养瓶，加入15～20mL MCM CuLMSC-SFM 31(A)培养基，置于 37℃，5% CO2 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%以上消化收集细胞。

【建议】：

建议提前置于室温或37℃条件下预热后使用。

【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，否则产品性能及细胞冻存效果将受影响。
3. 细胞样本冻存前，应进行试验性的细胞冻存测试，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 04 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