

## Max 间充质干细胞无血清培养基（无酚红）产品说明书

### 基本信息

| 货号      | 组分名称       | 规格    | 有效期   | 外观 |
|---------|------------|-------|-------|----|
| CMB0101 | 基础培养基（无酚红） | 500ml | 12 个月 | 液体 |
|         | 添加剂        | 15ml  | 12 个月 | 液体 |

### 产品应用

仅用于细胞的增殖培养，不具备对细胞的选择、诱导、分化功能，培养后的细胞用于体外诊断。

### 产品简介

本产品包括基础培养基和添加剂两个部分，基础培养基由水、氨基酸、维生素、无机盐等成分组成，添加剂由重组细胞因子、微量元素及人血白蛋白等组成，不含血清，无异源成分，适用于人间充质干细胞脐带原代分离和传代扩增培养。

| 指标    | 基础培养基（无酚红）     | 添加剂             |
|-------|----------------|-----------------|
| 外观    | 无色或淡黄色澄清液体     | 淡黄色液体，略浑浊       |
| pH    | 7.2±0.2        | 7.4±0.2         |
| 内毒素   | < 0.24EU/mL    | < 0.24EU/mL     |
| 渗透压   | 280~320mOsm/kg | 340~390 mOsm/kg |
| 微生物限度 | 无微生物检出         | 无微生物检出          |
| 支原体   | 阴性             | 阴性              |

### 储存条件及有效期

基础培养基（无酚红）：未开封并于 2~8℃避光保存，有效期 1 年；  
添加剂：未开封并于-25~-10℃保存，避免反复冻融，有效期 1 年；  
二者混合后置于 2~8℃保存，有效期一个月。

### 使用方法

#### 1. 培养基配制

将培养基套装内的基础培养基及添加剂进行混合。使用前须从 2~8℃取出室温平衡或 37℃预热。

#### 2. 人间充质干细胞脐带原代分离

2.1 用 PBS/生理盐水清洗脐带，去除血凝块，将脐带剪成 3~4cm 小段，纵向剖开脐带，剔除脐静脉和脐动脉，剥离华通氏胶。

2.2 用手术剪反复剪切华通氏胶，使得最终组织块大小在 1~3mm<sup>3</sup> 范围内，加入培养基使培养基浸湿组织块，置于 37℃，5% CO<sub>2</sub> 中培养。

2.3 第 2 天补液，轻轻加入 3mL 新鲜培养基，避免大力冲击，使得组织块飘起，镜下观察细胞爬出情况（通常在第 6~9 天时镜下可见组织块四周有梭形细胞爬出）。

**注：**在第 2 天补液以后，观察培养基颜色变化情况，在培养基变黄时换液，若培养基无变化，只需补液即可。

2.4 根据细胞爬出速率和汇合度情况，在第 10~14 天左右选择收获原代细胞。

**注：**收获原代细胞时需去除贴壁组织块，仍牢固贴壁的组织块可用枪头轻戳去除，将组织块和培养基去掉后，用

DPBS 润洗培养皿 1-2 次，加入消化液进行消化。建议用原培养基终止消化，避免使用生理盐水或者 DPBS 终止，并尽可能缩短消化时长。

2.5 收获后的细胞可使用冻存液冻存或者继续传代培养。

### 3. MSC 传代培养

3.1 将细胞按照所需的比例进行传代或接种至培养瓶中，于 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养。

| 细胞代数   | 推荐接种密度                      | 培养时长 (h) | 备注                                   |
|--------|-----------------------------|----------|--------------------------------------|
| P1~P3  | 5000~6000 个/cm <sup>2</sup> | 72       | 不同来源和不同代数的间充质干细胞增殖速率存在差异，接种密度可做适当调整。 |
| P3~P5  | 6000~7000 个/cm <sup>2</sup> | 72       |                                      |
| P5~P10 | 7000~8000 个/cm <sup>2</sup> | 72       |                                      |

3.2 待细胞汇合度达到约 80%~90%后进行传代（培养过程中，不能让细胞局部生长过密，否则容易老化和形成接触抑制），弃掉培养瓶中培养基，加入适量 DPBS 轻轻润洗 1~2 次。

3.3 根据培养瓶体积适量加入胰酶消化液消化细胞（以消化液可以铺满培养瓶为准），在 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱作用 2~3min（可轻拍培养瓶帮助细胞脱落）。

3.4 显微镜下观察细胞回缩变圆近乎脱落时，添加 3 倍胰酶消化液体积的新鲜完全培养基终止消化，转移细胞悬液至离心管中离心，1200rpm, 5min。

3.5 弃去上清，用适当体积的新鲜完全培养基重悬细胞沉淀。

3.6 细胞可使用完全培养基继续进行传代培养，或使用冻存液重悬后进行冻存。

### 注意事项

1. 在整个使用过程中，务必注意无菌操作，避免污染。
2. 可根据自身经验对脐带原代和传代操作方法做合理调整。
3. 本产品不含抗生素，必要时可另行添加；为保持本产品的最佳使用效果，请勿进行冻融处理。
4. 本产品仅用于科研或进一步研究使用，不用于诊断和治疗。