

ExCell Bio

MSC 无血清培养基 MH01 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

User Manual

Catalog Number MH000-N012
 MH000-N011
 MH000-N011S



产品概述

MSC 无血清培养基 MH01 (MSC Serum-free Medium MH01), 是一种为人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、传代扩增而设计的完全培养基。本产品可支持植块法、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。

产品规格及储存条件

产品名称	货号	规格	存储条件	有效期
MSC无血清培养基MH01	MH000-N012	1000 mL kit	—	—
含: MSC无血清基础培养基MH01	BA0302	1000 mL	2- 8 °C 遮光	12个月
MSC无血清培养基添加组分MH01	BA0312	24 mL	-20 °C 遮光	12个月
MSC无血清培养基MH01	MH000-N011	500 mL kit	—	—
含: MSC无血清基础培养基MH01	BA0301	500 mL	2- 8 °C 遮光	12个月
MSC无血清培养基添加组分MH01	BA0311	12 mL	-20 °C 遮光	12个月
MSC无血清培养基MH01 (试用装)	MH000-N011S	100 mL kit	—	—
含: MSC无血清基础培养基MH01 (试用装)	BA0301S	100 mL	2- 8 °C 遮光	12个月
MSC无血清培养基添加组分MH01 (试用装)	BA0311S	2.4 mL	-20 °C 遮光	12个月
关联产品: 重组胰酶消化液RF01	RF000-N031	200mL	2- 8 °C 遮光	18个月

产品应用与使用限制

1. 本品仅供科学研究及商业化生产, 不适用于临床诊断和治疗。
2. 为了达到理想的细胞培养效果, 本品可以直接使用, 也可以根据细胞类型或研究需求, 额外添加需要的细胞生长因子或激素等。

3. 实验结果可能因人间充质干细胞/前体细胞供体细胞系的不同而可能会出现一定的差异。
4. 本产品不含有酚红成分，不含有血清及异源体成分，不含有抗生素，如有需要可额外添加。
5. 产品需要在有效期内使用。

I 产品存储与运输

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，在冰箱或仓库储存需要使用有色包装袋。
2. 在产品有效期内可以保持产品性能稳定。
3. 运输说明：产品运输过程中需要遮光运输，避免日光灯或其他灯光照射对产品的外观产生影响导致外观变色。
4. 产品在使用过程中，需要进行转运至洁净区内时，转移过程需要进行清洁灭菌，灭菌方式只能采用消毒剂擦拭灭菌，不能使用紫外辐照灭菌。

注意：在经过带有紫外辐照灭菌的传递窗时，需要主动关闭传递窗内的紫外灯。

MSC 无血清培养基添加组分 MH01:

1. 需存储于-20 °C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 30-60 min（解冻后可能出现上下颜色不均，为正常现象）、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 °C 保存 3 个月，或暂存于 2-8 °C环境，并在 2 周内用完。

I 实验材料和试剂

实验设备及材料 (自备)

人间充质干细胞、重组胰酶消化液 RF01 (ExCell Bio, RF000-N031) ;

DPBS 溶液、细胞/组织培养瓶、离心管、移液管、移液枪和枪头;

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。

培养基的配制

1. 将 12 mL MSC 无血清培养基添加组分 MH01 室温放置 30-60 min 直至完全溶解, 然后加入 500 mL MSC 无血清基础培养基 MH01 内, 混合均匀后室温静置 5 min 即为 MSC 无血清扩增完全培养基。
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。

I 操作方法

间充质干细胞培养

1. 取出适量的 MSC 无血清扩增完全培养基, 在室温下放置 30-60 min 使其恢复至室温, 每个 T-175 培养瓶需要 35-53 mL 的培养基;
2. 复苏或传代收集间充质干细胞, 根据细胞数量用 MSC 无血清扩增完全培养基重悬细胞至 $1-5 \times 10^6$ cells/mL, 按工艺需求评估接种密度, 接种培养。

注意: 如果使用不同尺寸的组织培养器, 推荐接种密度为低密度 3000-5000 cells/cm², 72-96 h 传代; 或高密度 8000-10000 cells/cm², 48-72 h 传代; 培养基用量 0.2-0.3 mL/cm², 即 35-53 mL 每 T-175 培养瓶。

3. 将细胞放在 37 °C, 5% CO₂, 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

根据预估的细胞量, 取出适量的 MSC 无血清扩增完全培养基, 在室温下放置 30-60 min 使其恢复至室温, 每个 T-175 培养瓶预计需要 45-63 mL 的 MSC 扩增完全培养基, 20 mL PBS 缓冲液, 10 mL 消化液。

1. 清洗: 吸去培养瓶中的培养基, 每个 T-175 培养瓶用 10 mL 的 PBS 润洗细胞一次;
2. 消化: 加入 6-10 mL 消化液, 摇动瓶底, 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 MSC 无血清扩增完全培养基或 PBS 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 1: 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。

注意 2: 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。

3. 收集: 300g, 5 min 离心收集细胞沉淀;
4. 清洗: 加入 10 mL PBS 溶液吹打重悬细胞, 300g, 5 min 离心, 弃上清, 收集细胞沉淀;

注意 1: 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 PBS 清洗细胞。

注意 2: 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 $1.40-1.75 \times 10^6$ 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 35-53 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% CO₂, 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。