

## 间充质基质/干细胞 MSC 血替培养系统

# 使用说明书



珠海恺瑞生物科技有限公司

【技术支持】：如您遇到任何问题，请与我司技术支持人员联系， Tel:0756-3631186

珠海恺瑞生物科技有限公司

## 间充质基质/干细胞 MSCs (+血替) 培养系统使用说明书

### 【产品信息】：

产品名称	产品货号	包装规格	存储条件	有效期
ACE SCBM	ACE12101	500 ml/瓶	2-8°C, 避光	9 个月
ACE GF-MSC	ACE12102	0.5 ml/支	-20°C	12 个月
重组胰酶细胞消化液	ACE-2103	100 ml/瓶	-20°C	12 个月

### 温馨提醒：

- (1) 产品切勿紫外照射；
- (2) 使用前无需预热处理；
- (3) 储存培养基请使用医用冰箱，切勿冷冻。
- (4) 低温冷冻产品 (-20°C 储存)，建议用户根据需求分装冻存，避免反复冻融；开封后在 4°C 存储，建议在一周内用完。
- (5) 本系统包含基础培养基及间充质干细胞生长复合生长因子 (ACE GF-MSC)，培养过程仅需添加 2% 血替 (由客户根据需求选择相应的血替产品)。

**【适用范围】：**仅限于科研使用，不适用于临床诊断和治疗。

**【主要成分】：**该产品为无血清培养基，化学成分明确，无动物源成分。

**【预期用途】：**用于多种来源的间充质基质/干细胞 MSCs (以下以 MSCs 表示) 的原代细胞分离及细胞传代培养，包括骨髓 (BM-hMSC)、脂肪组织 (AT-hMSC)、脐带 (UCM-hMSC) 等等，所培养的细胞可保持多向分化潜能。使用本产品需要添加最低 2% 血替或血清。

### 【运输要求】：

- (1) ACE SCBM：湿冰，避光运输
- (2) ACE GF-MSC：湿冰或干冰，避光运输
- (3) 重组胰酶细胞消化液：湿冰避光运输

## 1. MSCs 血替培养实验步骤

### 1.1. 完全培养基的配置

**【技术支持】：**如您遇到任何问题，请与我司技术支持人员联系，Tel:0756-3631186

### 1.1.1. ACE SCBM

### 1.1.2. ACE GF-MSC (1000×)

### 1.1.3. 2%血替 (建议使用进口优质血替)

## 1.2. MSCs 复苏 (以 T-25 瓶为例)

1.2.1. 从液氮中取出冻存的 MSCs, 迅速将冻存管放入 37°C 水浴快速融化。

1.2.2. 在生物安全柜中, 将解冻后的细胞悬液缓慢加入 5-10ml 完全培养基中, 1500rpm 离心, 5min。

1.2.3. 弃上清, 加入 4ml 完全培养基重悬细胞, 使用台盼蓝染色计数, 并按密度  $4 \times 10^4$  cells/ml 将细胞接种至 T-25 培养瓶中。

1.2.4. 混匀后, 将培养瓶置于二氧化碳培养箱中培养, 培养条件为 37°C、5%CO<sub>2</sub>。

1.2.5. 48 小时后, 更换新鲜的完全培养基。

## 1.3. 细胞传代 (以 T-25 瓶为例)

1.3.1. 从培养箱中取出 T-25 培养瓶, 吸掉培养液。若细胞是培养在含血替或血清培养液中, 请使用 ACE SCBM 或其它缓冲溶液清洗细胞 1 次。

1.3.2. 加入适量重组胰蛋白酶消化 (1ml-2ml), 待细胞完全脱壁后, 加入 10ml 基础培养基 ACE SCBM 终止消化, 轻轻吹打混匀细胞, 将细胞悬液转移至 15ml 离心管中, 离心去上清 (1500rpm, 5min)。

1.3.3. 使用完全培养基重悬细胞, 轻轻将细胞充分吹散, 以 1:3-1:5 比例用完全培养液稀释细胞, 接种至新的培养瓶中, 置于 37°C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中静置培养。

1.3.4. 每 48 小时更换新鲜完全培养液。待细胞生长至 80%-90% 汇合度时, 重复以上步骤, 将细胞进行消化传代培养。后续根据客户需求, 检测细胞表型并应用。

### 操作要点及注意事项:

1. 细胞汇合度在 80%-90% 时方可进行消化传代。细胞按 1:3-1:5 比例传代或按  $4 \times 10^4$  cells/ml 接种。细胞接种密度过低将会影响细胞生长速率。
2. 本系统重组胰酶消化液可温和消化细胞, 消化结束后清洗一次即可接种传代, 需注意及时终止酶活性。若使用胶原蛋白酶分离细胞或传代细胞, 一定要在酶消化结束后用培养液将细胞清洗两次以上, 以去除残余的蛋白酶, 否则残余蛋白酶会导致细胞死亡。
3. 确保使用低温保存具有生物活性的生长因子, 避免使用常温保存或反复冻融的产品。