

## HMSC Culture Medium Kit

### 使用说明书

**【产品名称】** 间充质干细胞无血清培养基试剂盒套装

**【产品货号】** 663170

**【产品概述】** HMSC Culture Medium Kit一款适用于人间充质干细胞（Human Mesenchymal Stem cell, HMSC）的无血清细胞培养基试剂盒，不含有任何动物蛋白成份，培养所得细胞免疫学特性及旁分泌作用保持良好；稳定增殖，同时细胞表面因子表达正常（CD73+/CD90+/CD105+/CD14-/CD34-/CD45-/CD79 $\alpha$ -/HLA-DR-），保持三系分化潜能（成骨分化、软骨分化、脂肪分化）完备等特性。

#### 【产品组成】

名称	说明	货号	规格	储存条件
HMSC Supplement	间充质干细胞营养添加剂	663171	25ml/ (P)	-20℃
HMSC Culture Medium	间充质干细胞基础培养基	663172	500ml/ (P)	2-8℃
HMSC Culture Medium (Phenol Red -)	间充质干细胞基础培养基 (无酚红)	663173	500ml/ (P)	2-8℃

**【使用方法】** 以脐带间充质干细胞培养为例：

#### 一、完全培养基配制

将 HMSC Supplement（货号：663171）自然解冻，加入到500ml间充质干细胞基础培养基（货号：663172或663173）中混匀即成为MSC完全培养基。使用前恢复至室温，时间不宜过长，切勿强光及紫外长期照射。

注：1、HMSC Supplement（货号：663171）自然解冻后若有沉淀，请1200转（约320g）离心去除后再加入培养基中。

2、该培养基套装分为含酚红和无酚红两种，使用方法无差异。

#### 二、MSC 培养

1、脐带离体后，基础培养基（DMEM/F12）浸泡，2-8℃下 48 小时内运输至

实验室中。

2、湿润状态下分离获得华通氏胶，剪至 1-3mm<sup>3</sup> 小块，均匀分散于培养瓶中。  
添加适量完全培养基。

**特别说明：**（1）原代操作，完全培养基添加后应避免组织块漂起，以免影响细胞增殖。

T75 培养瓶完全培养基原则上添加量为8-10ml，根据组织块的大小来确认初期培养基的添加量；

（2）原代培养，原则上换液间隔3天-4天左右。

（3）使用中如有任何技术问题，请第一时间与我方技术支持联系，避免因对培养基体系的不熟悉导致原代细胞收获过少；

（4）初期使用，请严格按照说明书的加液要求以及换液要求操作。

3、完全培养基添加量及换液时间如下（以corning T75 培养瓶为例，供参考）：

时间点	换液	操作说明	完全培养基（ml）
0d	脐带处理	均匀分散组织，添加完全培养基	8-10
3d	换液	吸去瓶中旧培养基，加入新的完全培养基尽量吸净，若有残留，控制培养瓶中总量培养基不超过10ml	8-10
6d	换液	吸去瓶中旧培养基，加入新的完全培养基尽量吸净，若有残留，控制培养瓶中总量培养基不超过10ml	8-10
9d	换液	吸去瓶中旧培养基，加入新的完全培养基，若细胞较多，可轻拍使组织块脱落转移到无细胞的空白区。	12
12-16d	收获原代	一般收获原代在 12--16 天。	

4、原代收获：弃旧培养基，缓冲液清洗后，添加重组胰酶消化细胞，消化时间约为 1-2min，待细胞变圆，轻拍培养瓶至大部分细胞从瓶底脱落，添加完全培养基或者细胞上清液终止消化，收集细胞，计数。

5、细胞传代扩增：接种密度8000-12000个/cm<sup>2</sup>

传代时细胞消化前缓冲液的用量，重组胰酶（浓度<0.125%）用量以及终止液用量参考下表：

培养器材	培养基添加量	消化前缓冲液添加量	胰酶添加量	终止液用量
60mm 皿	5ml	5ml	1ml	3ml
100mm 皿	12ml	12ml	2ml	5ml
150mm 皿	30ml	30ml	5ml	15ml
T25 培养瓶	5ml	5ml	1ml	3ml
T75 培养瓶	15ml	15ml	2ml	5ml
T175 培养瓶	25ml	25ml	5ml	15ml
T225 培养瓶	35ml	35ml	7ml	20ml

注意：

- 1、培养基使用之前应恢复至室温。
- 2、配置后的完全培养基置于 2℃-8℃ 保存，7 天内使用，避免影响使用效果。
- 3、本品仅供科研使用。
- 4、若使用传统胰酶，建议使用的胰酶浓度为0.125%，添加量按照常规消化细胞的量添加。