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】663170/663170R

【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-/CD79α-/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物	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^3 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（3500 r/min，离心 5 min），收集细胞，计数。

5、细胞传代扩增：接种密度8000-12000个/cm^2

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。