

## StemGro® 间充质干细胞 (MSC) 无血清基础培养基 II



源培·培源  
BasalMedia

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
T322KJ	StemGro® 间充质干细胞 (MSC) 无血清基础培养基 II	500 mL	12 个月	液体	2 ~ 8 °C	蓝冰

### 1. 产品描述

StemGro® 间充质干细胞 (MSC) 无血清基础培养基 II 是专为人类间充质干细胞 (包括脐带间充质、骨髓间充质、脂肪间充质、脐带血间充质等干细胞) 设计的基础培养基。该培养基为基础配方, 需添加一定比例的人血小板裂解物 (PLT), 制备成完全培养基后使用。在干细胞分离过程中, 当细胞贴壁率达到 75 ~ 85 % 后, 可使用配置好的间充质干细胞 (MSC) 无血清完全培养基进行传代。与传统的须添加动物血清的培养基相比, 配合 PLT 使用的 StemGro® 间充质干细胞 (MSC) 无血清基础培养基能维持间充质干细胞的无分化生长, 保持细胞的形态特征和正常的染色体核型等, 保证间充质干细胞的高增殖率以及分化潜能, 并排除了培养过程中混入异源物质 (来自于人类以外的其他动物物种的成分) 的可能性。

StemGro® 间充质干细胞 (MSC) 无血清基础培养基 II 也可用于从间充质干细胞中提取外泌体的研究。具体做法是在表达外泌体阶段, 只添加基础培养基, 不添加血小板裂解物。在无添加剂的状态下培养 24-48 小时, 待细胞汇合度到 90%-100% 时收取细胞培养上清液, 该上清液即可用于外泌体提取实验。需要注意的是, 这一步骤的培养时间越久, 提取得到的外泌体的量会越多。我们建议在细胞状态良好的前提下, 尽可能延长这一步的培养时间。

本产品使用注射用水 (Water-For-Injection) 配置。

### 2. 企业质量体系

上海源培生物科技股份有限公司的产品是在 cGMP 标准车间中生产的。

上海源培生物科技股份有限公司已取得 ISO9001:2015、ISO13485:2016 质量体系认证。

### 3. 产品参数

本产品为过滤除菌产品

物理外观: 红色澄清液体

内毒素:  $\leq 1$  EU/mL

渗透压: 280 ~ 320 mOsm/kg·H<sub>2</sub>O

pH 值: 7.0 ~ 7.4

储藏条件: 2 ~ 8 °C

运输条件: 蓝冰

用途: 仅供科研和生产使用

### 4. 使用指南

使用时请穿着合适的安全手套、实验服和护目镜。

产品不能使用于人体。

细胞直接接触的环境应是无菌的, 直接作用于细胞的试剂必须是无菌的。

请在无菌环境中进行细胞实验, 任何器皿或工具, 移入无菌环境之前, 应在入口处移去外包装膜或者使用酒精擦拭进行消毒。

### 5. 制备培养基

StemGro® 间充质干细胞 (MSC) 无血清基础培养基 II 在使用前需加入一定比例的人血小板裂解物 (PLT), 配制完全培养基后使用, 我们建议的 PLT 添加量为 2-3%, 即 500ml 基础培养基中加入 10-15ml 的 PLT。如果出于防止分离的干细胞污染的考虑, 可以在使用前添加抗生素, 如终浓度为 5 µg/mL 的庆大霉素。刚配置好的完全培养基请立即使用, 或保存于 2 ~ 8 °C 的条件下, 并在 2 周内使用完毕。完全培养基可在 -30~-5 °C 保存 6 个月。

### 6. 细胞培养的条件

间充质干细胞 (MSC) 无血清完全培养基: StemGro® 间充质干细胞 (MSC) 无血清基础培养基 + 2-3 % 血小板裂解物 (PLT)

适用细胞系: 脐带间充质、骨髓间充质、脂肪间充质、脐带血间充质等干细胞

细胞类型: 贴壁细胞

培养容器和设备: 培养瓶和 CO<sub>2</sub> 恒温培养箱

培养条件: 36 ~ 38 °C, CO<sub>2</sub> 含量 4 ~ 6 % 的湿润空气, 避光。

实验前应对细胞培养仪器进行温度和气体的设置。

### 7. 细胞复苏

- 在 37 °C 水浴中, 迅速 (< 1 分钟) 溶解一小管冻存的细胞。当最后一丝冰融化时, 迅速从水浴中移出细胞冻存管;
- 轻轻吸出管中内容物, 并转移至 50 ml 的无菌离心管;
- 以 2 秒钟每滴的速度缓慢加入预热的间充质干细胞 (MSC) 无血清完全培养基, 同时轻晃离心管保证混匀;
- 室温下 100 ~ 200 × g, 离心 5 分钟, 然后吸去上清;
- 加入最小体积的培养基重悬细胞, 用细胞计数仪计数, 计算活细胞密度;
- 在用培养基荡洗过的 T75 培养瓶中, 加入适量预热的间充质干细胞 (MSC) 无血清完全培养基, 然后加入细胞重悬液, 保证培养瓶内接种的活细胞密度约  $5 \times 10^3$  个/cm<sup>2</sup>;
- 放入培养箱中培养;
- 每 2 ~ 3 天更换一次培养基, 新培养基加入前应预热。

## 8. 细胞传代

使用间充质干细胞 (MSC) 无血清完全培养基进行细胞传代培养

1. 当细胞融合度达 70 ~ 80 % 时可进行传代;
2. 使用前请在 37 °C 预热重组胰蛋白酶溶液 (无动物源性, 源培产品货号为 S342JV) 和间充质干细胞 (MSC) 无血清完全培养基;
3. 吸除培养瓶中的培养基; 使用不含钙镁离子的 DPBS 冲洗单层细胞, 然后吸除漂洗液;
4. 每个培养瓶中加入 3 ~ 5 mL 预热的重组胰蛋白酶, 确保液体覆盖到所有培养表面。在推荐的细胞培养条件下, 培养 5 ~ 10 分钟;
5. 使用倒置显微镜观察细胞培养瓶, 确保细胞完全脱落;
6. 然后在每个培养瓶中加入 5 mL 预热的含钙镁离子的 DPBS, 确保缓冲液能完全覆盖培养表面; 将细胞悬液转移至 15 mL 的无菌离心管中; 使用 5 mL 含钙镁离子的 DPBS 再次漂洗培养瓶, 然后收集液体入离心管;
7. 以 100 ~ 200 × g, 室温下离心 5 分钟, 小心吸除上清;
8. 使用最小体积的间充质干细胞 (MSC) 无血清完全培养基重悬细胞, 进行活细胞计数;
9. 在细胞培养瓶中加入 15 mL 预热的间充质干细胞 (MSC) 无血清完全培养基;
10. 采用 5 × 10<sup>3</sup> 个/cm<sup>2</sup> 的活细胞密度铺板 (即每个 T75 细胞培养瓶中, 3.75 × 10<sup>5</sup> 个活细胞); 轻晃培养瓶以保证细胞分布均匀;
11. 将细胞放在推荐的培养条件中培养;
12. 每 2 ~ 3 天传代换液一次。

注意: 建议对间充质干细胞的传代不超过 5 代以上

## 10. 相关产品

货号	品名	规格	存储条件	运输条件
T320KJ	StemGro® 间充质干细胞 (MSC) 无血清基础培养基	500 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
T321KJ	StemGro® 间充质干细胞 (MSC) 无血清基础培养基, 不含酚红	500 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
T323KJ	StemGro® 间充质干细胞 (MSC) 无血清基础培养基 II, 不含酚红	500 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
T310KJ	StemGro® 间充质干细胞 (MSC) 扩增培养基	500 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
T311KJ	StemGro® 间充质干细胞 (MSC) 扩增培养基, 不含酚红	500 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
S342KJ	Trpzyme® 重组胰蛋白酶消化液, 不含酚红	500 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
S919JV	CD-Freezer® 化学成分限定细胞冻存液	100 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
B210KJ	Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS), 不含钙、镁离子和酚红	500 mL	2 ~ 30 °C	常温
B310KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS), pH7.2	500 mL	2 ~ 30 °C	常温
B320KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS), pH7.4	500 mL	2 ~ 30 °C	常温

## 9. 细胞冻存

冻存实验前, 应预先准备足够量的细胞融合度处于 80 ~ 90 % 的细胞:

1. 准备冻存培养基 (46.25 % 新鲜的完全培养基 + 46.25 % 条件培养基 (即培养过该细胞的培养基) + 7.5 % DMSO), 并在 2 ~ 8 °C 避光条件下预冷 (不超过 24 小时); 或推荐使用源培生物 CD-Freezer® 化学成分限定细胞冻存液 (该产品为化学成分限定的无血清配方, 含 7.5% DMSO, 源培货号 S919JV)
2. 确定细胞数量, 计算需要的冻存培养基体积 V (推荐细胞冻存密度在 1 ~ 5 × 10<sup>6</sup> 个/mL);
3. 吸出培养瓶中培养基, 然后用 5 mL 不含 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 的 DPBS 漂洗贴壁细胞, 冲洗后吸出 DPBS 漂洗液;
4. 加入 3 mL 重组胰蛋白酶溶液 (T25 培养瓶中仅需加入 1 mL);
5. 室温放置 2 ~ 5 分钟, 期间可轻轻敲打瓶壁, 帮助细胞解离; 待细胞从培养瓶壁脱离后, 迅速加入 V mL 步骤 1 准备的冻存培养基, 倾斜、轻晃培养瓶, 混匀新加入的液体, 且充分接触培养瓶内壁所有角落;
6. 根据后续使用需求, 将上述细胞重悬液分装到细胞冻存管中 (一般 1.5 mL 每管);
7. 在冻存管上做适当标识 (例如细胞名称、冻存时间及操作者);
8. 可使用程序化降温仪控制细胞的温度下降 (标准的冻存降温速率为 -1 ~ -2 °C/分钟)。当温度达 -25 °C 以下时, 温度降速可增至 -5 °C ~ -10 °C/分钟; 到 -100 °C 时, 则可迅速浸入液氮中;
9. 也可使用人工降温的操作方法: 将细胞冻存管放入含有异丙醇的冻存盒 (Nalgene) 中, 置于 -20 °C 冰箱 2 小时, 然后在 -80 °C 冰箱中过夜, 最后单独取出冻存管移入液氮容器内。