cyagen | OriCell



细胞产品手册

OriCell®人间充质干细胞无血清完全培养基

产品货号：HUXMS-90061

We help you discover life

产品介绍

由赛业 OriCell®团队精心研发推出的无血清、无异源成分的 OriCell®人间充质干细胞无血清完全培养基套装，包括供给细胞营养的细胞基础培养基、培养基添加物等。该产品适用于人脐带、脂肪、骨髓等不同组织来源的间充质干细胞原代及传代培养。

本产品专为维持人间充质干细胞的体外生长而设计，可应用于细胞取材和后期扩增维持培养过程中使用，能够长期保持细胞的优良生长状态。即使经过多次传代，依然能够确保高细胞质量，维持间充质干细胞良好的增殖速率，并使细胞稳定保持多向分化的潜能。

注意：本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断和治疗。
使用本试剂产品发表的文献请注明：（OriCell, Cat.No. HUXMS-90061）from Cyagen.

套装成分

套装成分	货号	体积
OriCell®Basal Medium For Cell Culture OriCell®细胞基础培养基	BDMF-03011	475 mL
OriCell®Supplements For Human Mesenchymal Stem Cells Serum Free Culture OriCell®人间充质干细胞无血清培养添加物	HUXMS-04061	25 mL

质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过渗透压、pH 检测。
- 通过产品性能检测。

详情见《产品检测报告》。

产品稳定性及保存条件

1. 套装内所有成分均需避光保存。
2. 套装内基础培养基需置于 4°C冰箱保存，保质期为 1 年；培养添加物需置于-20°C保存，保质期为 1 年。
3. 配制后的完全培养基，需放置 4°C保存，保质期为 3 周。
4. 配制后的完全培养基，使用前请在避光条件下恢复室温后使用，请勿使用水浴锅加热。
5. 所有产品请于保质期内使用；过期的成分可能严重影响培养效果。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体和操作区域的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 各成分需按照保存条件妥善存放，并尽快使用。
4. 若短期内无法用完整套培养基，应按套装内各成分体积比例分批配制并分装保存。

完全培养基的配制

所需材料

- OriCell®人间充质干细胞无血清完全培养基套装
- 清洁、无菌、质量稳定的一次性耗材（移液管、移液器吸头、离心管等）
- 洁净的封口膜
- 铝箔纸等避光材料

操作步骤

1. 实验前至少 1~2 h，将 OriCell®人间充质干细胞无血清培养添加物（以下简称无血清添加物）放置于 4°C冰箱内完全融化。
2. 使用 75%酒精消毒试剂盒中各管/瓶的开口外壁。
3. 待试剂管上的酒精挥发干净后，无菌打开各个试剂管。
4. 将无血清添加物加入到 OriCell®细胞基础培养基中，尽可能的将添加物全部加入基础培养基中。

   注意：**建议在无血清添加物首次融化时按自身实验需求分装，置于-20°C保存，避免反复冻融。**
5. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。
6. 用封口膜密封瓶口，用铝箔纸包裹瓶身，并标注名称、配制日期等信息。

   注意：**1）完全培养基套装内的所有成分都严格控制无菌，一般情况下我们不建议再次除菌。若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌；**

   2）若短期内无法用完全部培养基，建议分批配制；请按照套装内各成分比例，配制所需量；剩余的成分必须严格按照各自的保存条件妥善保存，并且不可多次冻融；

   3）本品不含抗生素，请根据自己需求选择是否添加抗生素，如需添加请自购。

细胞的培养

所需材料

- OriCell®人间充质干细胞无血清完全培养基套装（以下简称完全培养基）
- OriCell®Phosphate-BufferedSaline (1×PBS) (货号：PBS-10001)
- 重组胰蛋白酶消化液
- 清洁、无菌、质量稳定的一次性耗材（移液管、移液器吸头、离心管等）

细胞复苏（以脐带间充质干细胞培养为例）

1. 水浴锅 37°C预热。
2. 实验前至少提前 30 min 从冰箱取出完全培养基置于室温下，待恢复至室温后使用。
3. 从液氮中取出冻存的脐带间充质干细胞，放入-80°C冰箱约 3~5 min 使液氮充分挥发。
4. 在-80°C冰箱取出冻存细胞，将冻存管迅速放入 37°C水浴锅中，快速晃动使管中内含物尽快融化。

   注意：**1）融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；**

   2）晃动时应避免水没过管盖造成污染；

   3）管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。
5. 用 75%的酒精消毒冻存管的外壁。
6. 在超净台中打开冻存管，用吸管将细胞冻存悬液移入 15 mL 离心管中，使用 2 mL 完全培养基逐滴缓慢加入重悬，注意这一过程轻柔且不要有气泡产生。
7. 为了减少细胞损失，可向冻存管中加入 2 mL 完全培养基，清洗回收残留细胞。
8. 将细胞悬液经 300xg，离心 5 min。
9. 离心后去除上清，加入 2~3 mL 的完全培养基（需室温复温），轻轻吹打混匀。
10. 将细胞按 8,000-12,000 个活细胞/cm^2 的密度接种到培养瓶中。建议接种密度如下：

细胞代次	P1-P5	P6-P10	P10 及以上
接种量	8,000 cell/cm^2	10,000 cell/cm^2	12,000 cell/cm^2

11. 加入足量的完全培养基，轻轻摇晃细胞培养瓶使细胞均匀分布。

培养容器	T25 培养瓶	T75 培养瓶	T175 培养瓶	T225 培养瓶
培养基添加量	5-6 mL	15-20 mL	35-40 mL	50-60 mL

12. 在 37°C、5%CO_2、饱和湿度的 CO_2 培养箱中培养，每 3 天换液至细胞汇合度达 80%-90%后进行传代或冻存。

细胞传代

1. 实验前至少提前 30 min，将完全培养基、1×PBS、重组胰蛋白酶消化液置于室温复温。
2. 吸去培养液，用 1×PBS 洗涤细胞 1 次。
3. 吸去 1×PBS，加入重组胰蛋白酶消化液 (T25 加入约 1 mL，T75 加入约 3 mL)，轻轻旋转，使重组胰蛋白酶消化液覆盖培养器皿表面，消化，显微镜下观察到约 70%~80%左右的细胞变圆后，用手轻拍培养瓶壁，促进细胞脱落。

   注意：**建议使用温和的重组胰蛋白酶消化液进行细胞消化，防止细胞因消化受到损伤。每个 T25 培养瓶使用 1 mL 消化液消化，其他培养容器可根据底面积按照此比例折合，**
4. 立即加入两倍体积的完全培养基稀释消化。
5. 用吸管吸取液体，轻轻地反复吹打培养器皿底壁，使细胞彻底脱离瓶皿底壁。吹打时动作不宜太猛，不要产生气泡。
6. 将细胞悬液转移到 15 mL 的离心管中；300xg，离心 5 min。
7. 离心后去除上清，加入 2 mL 完全培养基重悬细胞。
8. 按照细胞代次，使用推荐的活细胞接种密度将细胞接种至含新鲜完全培养基的培养容器中。
9. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO_2、饱和湿度的 CO_2 培养箱中培养。

   注意：**当人脐带间充质干细胞达到 80%~90%汇合度时，就应该进行传代。不可让人脐带间充质干细胞汇合度过高，否则会发生接触抑制。这将严重影响细胞的生长状态。**

赛业（苏州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业（苏州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，

不得改编或转载用作其他商业用途。