

人间充质干细胞高效扩增试剂盒说明书

【产品信息】

中文名称：人间充质干细胞高效扩增试剂盒

英文名称：Human MSCs robust expansion kit

货号：91-02-0111

【规格及成分】

包装规格：500mL

试剂盒组分：

成份名称	物理性状	规格	数量
人间充质干细胞基础培养基	红色透明液体	475mL/瓶	1 瓶
培养基添加剂 A	橙黄色略浑浊液体	25mL/瓶	1 瓶
培养基添加剂 B	澄清透明液体	160 μ L/支	1 支

【样本类型】

适用于培养人脐带、脂肪组织源间充质干细胞。

【使用方法】

人间充质干细胞无血清完全培养基的配制

1. 在实验开始时前一天，将培养基添加剂 A 从-20 $^{\circ}$ C 冰箱中取出，置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中直至完全溶解。

注意：

- 请勿将培养基添加剂 A 从-20 $^{\circ}$ C 冰箱中取出后直接置于 37 $^{\circ}$ C 中。
- 培养基添加剂 A 溶解完全后轻轻摇晃瓶身，使其成份均一，摇晃时，请小心避免气泡产生。
- 解冻时，若有蛋白沉淀产生属于正常现象，配制成完全培养基后会渐渐溶解，并继续提供营养物质。

- 在将培养基瓶拿进超净台之前，用 75%酒精对其表面进行消毒。
- 将培养基添加剂 A 和 B 加入到人间充质干细胞基础培养基中。
- 吸取基础培养基洗涤瓶身内壁，并重复操作一次，尽可能使培养基添加剂全部加入到基础培养基中。
- 轻轻摇晃基础培养基瓶身，使各成分混合均匀，摇晃时，请避免产生气泡。将配制好的人间充质干细

苏州欣协生物科技有限公司

电话：0512-63037851

网址：www.xinbiotech.cn

邮箱：info@szxxbio.com

胞无血清完全培养基置于 2-8°C 保存。

人间充质干细胞的复苏

1. 准备好 37°C 水浴。
2. 超净台中，取 5mL 人间充质干细胞无血清完全培养基于 T25 瓶中（可根据实际复苏的细胞量选择培养容器与培养基体积），并将培养瓶置于 37°C，5% CO₂ 培养箱中孵育 30min。
3. 超净台中，取 10mL 人间充质干细胞完全培养基于 15mL 离心管中，待用。

注意：无需将人间充质干细胞无血清完全培养基预先水浴至 37°C，以免影响培养基中生长因子的活性。

4. 从液氮中取出冻存的人间充质干细胞，置于-80°C 冰箱中挥发管中液氮，而后迅速将冻存管置于 37°C 温水中，并快速晃动冻存管，使其内含物尽快融化，待冻存管内含物融化完全后取出。

注意：

- 1) 尽可能将冻存管的内含物全部浸没于 37°C 温水中，使内含物均匀融化；
- 2) 请勿使温水没过冻存管盖的螺口以防污染；
- 3) 细胞复苏的操作过程要迅速，避免影响细胞复苏后的活性。
5. 在将冻存管拿进超净台之前，用 75%酒精对其表面进行消毒。
6. 轻轻重悬细胞，并将其移入待用的装有 10mL 人间充质干细胞完全培养基的 15mL 离心管里；
7. 用 1mL 培养基再次冲洗冻存管，并将此悬液移至离心管中，轻轻吹打混匀。
8. 室温下，300g 离心 10min。
9. 倾去上清，往沉淀加入 2-3mL 的人间充质干细胞完全培养基，轻轻吸打均匀。
10. 从细胞培养箱中取出已预先孵育 30min 的 T25 瓶，吸去培养瓶中的液体。
11. 将细胞按 $0.8-1.0 \times 10^4$ 个活细胞/cm² 的密度接种到 T25 瓶中，并加入足量的人间充质干细胞无血清完全培养基，轻轻摇晃培养瓶，使细胞分布均匀；
12. 将细胞置于 37°C，5% CO₂ 的细胞培养箱中培养；
13. 第二天，更换新鲜的人间充质干细胞无血清完全培养基；
14. 每隔两天更换一次新鲜的培养基，直至细胞生长至 80-90%的汇合度。

人间充质干细胞的传代

1. 将 PBS，胰酶置于 37°C 水浴锅中预热；
2. 超净台中，吸去培养瓶中的培养液；
3. 轻轻加入 5mL PBS 于 T25 瓶中，轻轻晃动洗涤细胞后吸去 PBS，共洗涤两次；
4. 加入 2mL 浓度为 0.05%的胰酶，轻轻晃动，使胰酶溶液均匀覆盖培养瓶底面。显微镜下，当 70-80%的细胞变圆时轻拍培养瓶，并立即加入 10mL 人间充质干细胞无血清完全培养基进行中和。轻轻吸取瓶内液

体反复冲洗瓶底，使细胞完全脱落；

注意：建议使用浓度为 0.05% 的胰酶，并且消化时间不宜过长，以减少胰酶对干细胞的损伤。

5. 将细胞悬液转移到 15mL 离心管中，300g 离心 10min；

6. 小心去除上清，而后加入 10mL PBS 重悬细胞沉淀，并再次 300g 离心 10min；

7. 小心去除上清，加入 2-3mL 人间充质干细胞无血清完全培养基重悬细胞沉淀，按 1: 2 或 1: 3 的比例接种到新的 T25 瓶中，再次加入足量的完全培养基，轻轻晃动培养瓶，使细胞分布均匀；

8. 将细胞置于 37°C，5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。

【贮藏与有效期】

- 人间充质干细胞基础培养基与培养基添加剂 B 需 2-8°C 避光保存，有效期为 12 个月。
- 培养基添加剂 A 需 -20°C 保存，有效期 24 个月。
- 配制成的完全培养基可于 2-8°C 条件下存放 4 周。
- 生产日期及有效期至：见标签。

【性能指标】

产品性能符合本企业制定的产品技术要求。

本产品仅限科学研究使用，不用于临床诊断与治疗。

XinBio

苏州欣协生物科技有限公司

电话：0512-63037851

网址：www.xinbiotech.cn

邮箱：info@szxxbio.com