

MSCeasy 人间充质干细胞培养基

V2.0 版本，更新日期：2018 年 9 月 6 日

货号：CA1004500/CA1004100

规格：500mL/100mL

储存条件：基础培养基 $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ ，添加剂 $-80 \sim -20^{\circ}\text{C}$ ；混匀后 $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ ，4 周内使用完毕。

产品简介：

MSCeasy 人间充质干细胞培养基是赛贝生物（Cellapy）开发出的一种化学成分明确、不含血清，无需铺底的间充质干细胞（hMSC）完全培养基。本培养基可用于多种来源的人类间充质干细胞的原代细胞分离及细胞传代，同时还能保持其多向分化的潜能，如骨髓（BM-hMSC）、脂肪组织（AT-hMSC）、脐带（UCM-hMSC）。使用本产品无需添加血清或血清替代物，产品批间差异小，细胞倍增速度较快。

产品内容：

组份代码	名称	规格	数量
CA1004500-1/CA1004100-1	MSCeasy 人间充质干细胞基础培养基	500mL/100mL	1 瓶
CA1004500-2/CA1004100-2	MSCeasy 人间充质干细胞添加剂	25mL/5mL	1 瓶

需要材料：

- MSCeasy 人间充质干细胞培养基（Cellapy：Cat. CA1004500/CA1004100）
- 细胞培养级无钙镁的 PBS 溶液（Cellapy，Cat. CA3017500）
- MSCeasy 人间充质干细胞消化液（Cellapy：Cat. CA1006500）

- 细胞培养级DMSO (Sigma: Cat. D2650)

培养材料准备:

MSCeasy人间充质干细胞完全培养基: 37°C水浴解冻MSCeasy添加剂 (有少量不溶物, 属于正常现象), 吹打混匀后将添加剂加到基础液中, 配成 MSCeasy人间充质干细胞完全培养基 (每5mL添加剂与100mL基础培养基混合)。使用0.22 μm一次性过滤器过滤完全培养基, 将不溶物过滤掉。

MSCeasy人间充质干细胞完全培养基可在2 ~ 8°C储存4周, 尽快使用完毕, 以免效价下降。

注: MSCeasy人间充质干细胞添加剂化冻后会有一些沉淀, 属于正常现象, 使用细胞滤网过滤即可。

可按实际用量对添加剂进行分装, 分装后重新置于-80 ~ -20°C保存, 避免反复冻融。

细胞复苏:

1. 将MSCeasy人间充质干细胞完全培养基取出并平衡至室温, 将适量的培养基加入培养皿/瓶, 将培养皿/瓶放置于37°C孵育15min。

培养皿规格如下:

培养器皿规格	培养基体积 (mL)	消化液 (mL)
T75 瓶	≥12	5
T175 瓶	≥28	12
T225 瓶	≥35	15
10 cm大皿	≥10	4
6孔板	≥2	1
实际操作时可以根据细胞密度情况调整加液量, 不能少于上述量		

2. 37℃水浴解冻细胞，小心摇晃使细胞融化至仅剩一小块冰晶，迅速取出并用75%酒精消毒冻存管外表面，转移至无菌操作台中。
3. 将细胞悬液转移至15mL离心管中，缓慢加入4mL MSCeasy人间充质干细胞完全培养基，轻柔吹吸2次混匀。
4. 1000 rpm离心3 min，弃上清。
5. 加入适量MSCeasy人间充质干细胞完全培养基重悬细胞，轻柔吹吸2次混匀，并接种到准备好的培养皿/瓶中。
6. 水平十字摇匀，5% CO₂的37℃恒温细胞培养箱中培养24小时。

消化传代：

1. 将MSCeasy人间充质干细胞完全培养基取出并平衡至室温。
2. 在显微镜下观察细胞，当细胞融合度达到80-90%即可传代。吸走待传代细胞培养皿/瓶中的MSCeasy人间充质干细胞完全培养基，并且加入无钙镁的PBS溶液洗一次。
3. 加入MSCeasy人间充质干细胞消化液使之完全覆盖皿/瓶底。
4. 室温放置5 ~ 8分钟或37℃恒温细胞培养箱中孵育3 ~ 5分钟，显微镜下观察到大部分变圆开始脱离皿/瓶底，表明细胞消化时间理想。注意：不同细胞的消化时间不同，请摸索合适的时间，过度消化会导致细胞死亡以及传代后补贴壁。
5. 用移液器轻轻吹打皿/瓶壁上未完全脱离的细胞，并将细胞悬液转移到15 mL 离心管中，1000 rpm离心3 min，弃上清，加入1 mL完全培养基重悬细胞，将一定数量的MSC细胞接

种于新培养皿/瓶中，推荐细胞接种数量为3000-5000个/cm²。水平十字摇匀，将培养瓶置于37℃，5%CO₂ 条件下培养。

细胞冻存：

1. 配制冻存液：90% MSCeasy人间充质干细胞完全培养基+10% DMSO，现配现用；
2. 吸走待传代细胞培养皿/瓶中的MSCeasy人间充质干细胞完全培养基，并且加入**无钙镁**的PBS溶液洗一次。
3. 加入MSCeasy人间充质干细胞消化液使之完全覆盖皿/瓶底。
4. 室温放置5 ~ 8分钟或37℃恒温细胞培养箱中孵育3 ~ 5分钟，显微镜下观察到**大部分变圆**开始脱离皿/瓶底，表明细胞消化时间理想。
5. 用移液器轻轻吹打瓶壁上未完全脱离的细胞，并将细胞悬液转移到15 mL 离心管中，1000 rpm离心3 min，弃上清。用冻存液轻轻重悬细胞，随后用移液器扇形吹打培养皿/瓶底，使皿/瓶底贴附的细胞集落脱落，轻柔缓慢吹吸混匀。
6. 将重悬的细胞加入灭菌的冻存管中，按照复苏所需要的量，例如 $1 \sim 5 \times 10^6$ /mL，每管1mL冻存，旋紧冻存管盖。迅速将冻存管放入程序降温盒中，将程序降温盒放入-80℃冰箱
7. 24 h后将细胞从-80℃冰箱转移至液氮中长期保存。