

## HMSC-bm 骨髓来源人 MSC 细胞

### 人骨髓血间充质干细胞

#### 使用说明书

细胞名称 Cell name	HMSC-bm 骨髓来源人 MSC 细胞人骨髓血间充质干细胞
货号 NO.	ZQ0308
描述 Description	
种属 Species	人
组织来源 Tissue	***
形态 Morphology	***
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护
培养基 Culture Medium	<p>配套培养基：500ml 基础培养基（货号：ZQ-1320）；25ml 血清替代物（货号：ZQ-1320S）</p> <p>（每种组分单独包装，使用前需要按比例分装，详细操作详见说明书，现用现配，效果更佳。）</p> <p>推荐专用培养基货号：间充质干细胞专用培养基(中乔新舟 货号：ZQ-1320)</p> <p>温度：37℃</p> <p>气相：95%空气，5%二氧化碳</p>
细胞复苏 Cell Thawing	<p>注意:1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入37℃的水浴中解冻，尽快复苏细胞。</p> <p>2. 提前室温预热培养基。</p> <p>推荐使用重组人纤连蛋白（中乔新舟 货号：CSP044）包被培养瓶。</p> <p>以 T25 培养瓶为例：T-25 培养瓶+3mL DPBS+50L 纤连蛋白（1mg/mL）包被时间：过夜（12-16h），至少也需 37C 2h 以上。</p> <p>1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基；</p> <p>2.将冻存管放入 37℃水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区；</p> <p>3.小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞悬液，加入到准备好的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；</p> <p>4.弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶（建议加液量：5~7ml）；</p> <p>5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要（如使用不透气瓶），松开阀盖，以便气体交换。</p>

	<p>6.将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</p>
传代 Subculturing	<p>收到细胞后,请对细胞培养瓶外表进行消毒,将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲,待细胞恢复基本生长状态后,进行后续细胞实验。 在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况:</p> <p>(一) 细胞未长至 85%时,用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内,严格无菌 操作,打开细胞培养瓶,若培养瓶上无特殊标注,吸去剩余培养液,只留 6-8ml 培养液 继续培养。</p> <p>(二) 细胞已长满(达 85-95%)。即可进行传代,具体步骤如下:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1.弃去培养液,用 PBS 洗涤 1-2 次;</li> <li>2.加入 1.0ml 胰酶消化液,37℃消化约 3min ,显微镜下观察细胞消化情况,若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落,则迅速拿回操作台,加入终止液,终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次,使其变成单细胞悬液;</li> <li>3.将细胞收集于离心管中离心 1000rmp/5min ,弃上清,轻弹管底,将细胞弹散;</li> <li>4.加入新鲜培养基重悬细胞,进行传代;</li> </ol> <p>5.如果没有特别说明,建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。 注: 1.观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察,以便正确的判断细胞密度; 观察细 胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察;</p> <p>2.推荐使用 0.05%胰酶/EDTA 消化液;</p> <p>3.瓶中运输的培养液不能重复使用,请换新鲜培养液培养;</p> <p>4.有些细胞贴壁不牢,如发现贴壁细胞有脱落,可离心重悬后接种到新瓶内;</p> <p>5.该细胞所用完全培养基为无血清培养基,消化时不能当做终止液,需要用含 10%FBS 的完 全培养基终止消化。</p>
保存 Storage	<p>冻存条件: 无血清细胞冻存液 (中乔新舟 货号: <a href="#">CSP042</a>)</p> <p>保存条件: 液氮存储</p>
供应限制 Product Use	仅供研究之用
常见问题及解决方案 Questions and solutions	<p>1.在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂,漏液等,如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</p> <p>2.贴壁细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 如细胞大部分又贴回瓶底, 表明细胞活力正常, 剩余少量漂浮的细胞可以去掉, 留 8-10ml 培养液培养观察, 细胞生长至汇合度到达 85%左右, 进行消化传代; 如细胞仍不贴壁, 将细胞离心收集转到新培养瓶, 原培养瓶加部分培养液继续培养, 注意观察。如细胞仍不能贴壁, 请用台盼蓝染色鉴定细胞活力, 并请及时拍照 (多倍数多视野), 包括染色照片, 并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法)</p> <p>3.悬浮细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rmp, 5min ), 加入适量培养基, 根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法)</p> <p>4.半悬细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rmp, 5min ), 重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大, 可将贴壁细胞消化下来, 与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件, 防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法)</p> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系,我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>