

间充质干细胞无血清培养基-化学确定 (DC) 升级款

说明书

名称	间充质干细胞无血清培养基-化学确定 (DC) 升级款
货号	ZQ-1320-DC-PRO
规格	500mL
保存	2-8°C避光保存 12 个月
用途	仅供科研使用

【产品描述】

间充质干细胞无血清培养基-化学确定 (DC) 升级款是化学成分确定, 适用于多种来源的间充质干细胞无血清条件下的细胞扩增和培养, 并保持间充质干细胞的生物学特性和分化潜能。本产品化学成分完全明确, 不含异源动物源组分, 不含人血清、血替 (血小板裂解物、AB 血浆等) 成分, 有效避免了人、动物等原料带来的病原体污染, 从根源上解决了核酸病毒、朊病毒和未知传染性疾病带来的风险问题; 且不含外泌体, 适用于间充质干细胞分泌的外泌体的收集及下游应用。

【操作说明】

一、细胞复苏

1. 从液氮中取出冻存的细胞, 迅速放入复苏装置或 37°C 水浴快速融化。
2. 将解冻后的细胞悬液中缓慢加入 5-10 倍冻存体积的间充质干细胞无血清化学成分限定 DC 培养基, 混匀, 转速 1500rpm, 离心 3 分钟, 弃上清, 再次加入适量的间充质干细胞无血清化学成分限定 DC 培养基重悬细胞沉淀。
3. 进行细胞计数以及确定细胞活率 (注意: 复苏时需确保细胞活率至少在 90% 以上, 最好在 95% 以上, 这样才可以保证复苏后的细胞生长状态), 然后按照 8000-10000 cells/cm² 的活细胞密度进行复苏接种, 置于 37°C, 5% CO₂ 条件下静置培养。

二、扩增培养

1. 首先进行细胞计数以及确定细胞活率 (注意: 复苏时需确保细胞活率至少在 90% 以上, 最好在 95% 以上, 这样才可以保证复苏后的细胞生长状态)。如间充质干细胞种子是用含血替或血清的培养基扩增的, 可以直接替换成无血清化学成分限定 DC 培养基, 无须驯化。但

是需要**在细胞传代接种之前，用 PBS 缓冲液将细胞沉淀清洗 2-3 次，彻底去除血清或血清残留**，否则会影响后续细胞的生长。

2. 按照 8000-10000 cells/cm² 的活细胞密度进行接种，添加适量体积的培养基（具体添加体积见下表），混合均匀之后，置于 37°C，5%CO₂ 条件下静置培养。

注意：培养基添加量应大于 0.3ml/cm² 培养皿的底表面积。

培养皿类型	T25	10cm	T75	T175	T225
培养基添加量	7.5-8.5mL	16.5-18mL	22.5-25mL	52.5-58mL	67.5-75mL

3. 在显微镜下观察细胞，当细胞融合度达到 80-90%左右，即可进行传代。一般为 2-3 天（约为 60h-72h）左右。不同 hMSC 的生长速度有差异，**尤其是第一次使用本公司这款产品时，需要每天观察记录一下细胞状态和细胞密度，以掌握培养基的性能**，推荐以细胞汇合度（85%-90%为佳）选择准确传代时机，细胞汇合度过高（>95%）会影响后续细胞的生长，加速细胞的衰老或停滞生长。

4. 吸出细胞培养上清，加入 PBS（无 Ca²⁺、Mg²⁺）溶液清洗 1-2 次，加入适量的重组胰蛋白酶消化液（推荐本公司货号：[CSP215](#)），使其完全覆盖培养皿底部。

5. 室温孵育或 37°C 消化 3-5 分钟，观察大部分细胞从培养皿底部脱落后立即停止消化。（**注意：千万不要消化时间过长**，消化 3-5 分钟后，可用手轻轻拍打培养皿底部，或终止消化之后用移液器轻轻吹打几次，使细胞完全脱落。）

6. 加入细胞培养液上清来终止消化，添加体积与重组胰蛋白酶消化液的体积比例为 3:1，转速 1500rpm，离心 3 分钟，弃上清，收获细胞沉淀。

7. 加入适量干细胞无血清 DC 培养基重悬细胞沉淀，用移液器轻轻吹打吹散，进行细胞计数以及确定细胞活率。

8. 继续按照步骤 1 进行下一代的传代接种，或进行细胞冻存操作，冻存事宜请参考无血清细胞冻存液的操作规程。

【注意事项】

- 1、注意无菌操作，避免污染；
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
- 3、培养器皿包括培养皿、培养瓶、细胞工厂以及 3D 微球等，请根据实验需要自行选择，且所有的器皿均应进行过 TC 表面处理，有利于细胞贴壁生长；

- 4、本 DC 培养基缺少胰酶的天然抑制剂，建议通过快速多次 PBS 清洗，以彻底去除残留的重组胰蛋白酶对细胞继续进行消化，以致消化过度导致衰老；
- 5、间充质干细胞切忌生长过满 (>95%) 以及消化过度 (消化时间过长或残留胰蛋白酶继续消化细胞等)，会导致细胞快速老化或停滞生长；
- 6、本产品细胞的生长曲线扩增效率高，不能直接按照常规 4 天收获细胞来进行操作，我们建议的细胞培养时间为 60 小时左右，最晚不超过 72 小时。建议 48 小时之后一定要进行细胞状态观察，来决定细胞的收获时间；
- 7、如复苏之前的间充质干细胞是用含血替的培养基扩增的，可以经过多次 PBS 清洗之后替换成间充质干细胞无血清化学成分限定 CD 培养基，无须驯化。**切记：**用 PBS 缓冲液将细胞沉淀清洗 2-3 次，彻底去除血替或血清残留，否则会影响后续细胞的生长；
- 8、建议按照该说明书的接种密度进行细胞接种。细胞密度太低，细胞前期扩增速度缓慢，且状态不如预期细胞生长状态。细胞密度过高，培养时间会缩短，培养基营养容易耗尽，易产生细胞接触抑制，促进细胞分化与衰老；
- 9、仅供科研使用。