

X-CTS™ MSCB无血清培养基使用说明

X-CTS™ Human MSC Basal Medium

产品描述

X-CTS™ Human MSC Basal Medium **X-CTS™ MSCB** 无血清培养基，以下简称 MSCB) 是一种无血清、无动物源成分的干细胞培养基。。可用于人类骨髓、脐带、脂肪、胎盘、羊膜等多种组织来源的间充质干细胞的原代培养和后续扩增传代培养，并保持其三系中胚层分化潜能。

本产品具有优越的促增殖能力，扩增时间短。该培养基需添加一定比例的人血小板裂解物 (PLT) 或胎牛血清，制备成完全培养基后使用。配合 PLT 使用的 MSCB 能维持间充质干细胞的无分化生长，保持细胞的形态特征和正常的染色体核型等，保证间充质干细胞的高增殖率以及分化潜能，并排除了培养过程中混入异源成分的可能性。

保存条件：

-20℃可保存 1.5 年；-80℃保存的效期可保存 2 年以上；如化冻后放入 4℃冰箱，建议 2-3 周用完，不要超过 4 周。避免反复冻融。

操作步骤：

- 以下实验中所涉及到的完全培养基都是用 MSCB 添加 5% PLT 制备而成。如为降低成本或便于纯化外泌体等目的，需要降低 PLT 的用量，建议更换培养基时采用半量更换的方式逐渐驯化，以适应新的培养基。
- 传代培养：
 - ✧ 细胞在复苏以后可以直接种在添加了 5%血清替代物的 MSCB 培养基中
 - ✧ 细胞复苏后 300g/min×10min 离心，去除上清后，用 MSCB+5% PLT 完全培养基重悬细胞，按照 $5 \times 10^3/\text{cm}^2$ 接种细胞；
Note：细胞接种密度可根据实验室建立好的培养条件执行；培养基建议提前预热，避免低温对细胞的刺激
 - ✧ 细胞传代时间需要视具体情况而定，通常细胞长到 60-80%的汇合度即可传代，超过 80%的汇合度会导致细胞状态下降。间充质细胞在培养基中增殖速度很快，须每天进行观察，决定传代时间；
 - ✧ 大多数间充质细胞，细胞在培养基中增殖很快，一般在 3-4 天就可以进行传代，在细胞扩增阶段，细胞每隔一天需要进行换液。
- 原代培养（脐带来源 MSC 组织块培养方案）
 - ✧ 无菌条件下取新鲜脐带，用 DPBS 漂洗 3-4 次，去除残留血液；
Note：脐带通常在非无菌环境下获取，在实验前建议用 75%酒精浸没 2min，并用含有双抗的 DPBS 清洗 3-4 遍去除酒精，组织分离阶段使用的 DPBS 建议都加入双抗；
 - ✧ 将脐带置于 10 或 15cm 培养皿中，任取一端用解剖刀在离顶端 1 厘米处的圆

周把外表皮划开, 然后用止血钳将其固定住; 再取两把镊子用力将外表皮撕下, 接下来再将两根动脉血管分离, 最后将静脉内皮剔除; 用 DPBS 漂洗 3-4 次, 洗净血迹;



- ✧ 准备一个新的 10cm 培养皿, 加入 1-2mL 完全培养基, 将组织段尽量去除 DPBS 后, 放入完全培养基的培养皿中, 再剪成 1-2mm³ 小块;
- ✧ 用无菌滴管吸取少量细小组织块均匀排布在 6 孔板/培养皿中, 37°C, 5%CO₂ 孵育 30min。此时组织块会逐渐粘在壁上;
- ✧ 沿孔板侧壁缓慢滴加 0.8-1mL 完全培养基, 37°C、5% CO₂ 继续培养过夜;
- ✧ Note: 此时细胞贴壁不牢, 不可对着组织块直接添加, 以防组织块冲起; 如果用 T175 瓶培养, 培养基添加量调成 12mL;
- ✧ 接种第二天, 补加 1mL MSCB 完全培养基至孔板中, 37°C, 5% CO₂ 继续培养;
- ✧ 每天观察是否有细胞从组织块边缘爬出。通常每 2-3 天需要换液一次;
Note: 换液时可将培养皿/孔板倾斜, 贴壁缓慢吸出培养基, 并贴壁缓慢加入新鲜完全培养基, 避免组织被冲起。
- ✧ 每天显微镜下观察是否有细胞爬出。如果观察到组织块周围有梭形细胞爬出时, 使用灭菌后的镊子夹除组织块。此时如果换液, 培养基量可增加到约 15mL/皿;
- ✧ 后续培养可参照前面传代培养的方案: 每 2 天换一次培养液, 继续培养 2~4 天, 待细胞融合度 (Confluency) 达到约 80% 后传代培养。

产品信息:

货号	产品描述	规格	保存温度	保质期
MSCB	X-CTS™ MSC 基础培养基	500mL	-20°C	1.5 年

如有技术或产品问题, 请联系翊尘生物:



上海翊尘生物技术有限公司



info@ishine-bio.com



02169896872



www.ishine-bio.com