

产品说明书

OriCell 人脂肪干细胞无血清完全培养基

Cat. No. HUXMD-90061

目录

产品描述.....	1
培养基成分.....	1
稳定性/存储.....	1
质量控制.....	1
OriCell 人脂肪间质干细胞的复苏和培养.....	2
相关产品.....	5

产品描述

由Cyagen团队推出的OriCell 人脂肪间质干细胞无血清完全培养基，包括无血清基础培养基和无血清添加物及其他辅助成分。该产品适用于人脂肪间质干细胞 (Human Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells)无血清条件的培养；可维持人脂肪间质干细胞良好的增殖速率，并保持良好的分化能力。



注意：本产品仅用于非临床科研用途，不用于诊断、治疗、临床或其他用途。

培养基成分

Human Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells Serum Free Basal Medium (Cat. No. HUXMD-03061)	440 mL
Human Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells Serum Replacement (Cat. No. HUXMD-04061)	50 mL
Penicillin-Streptomycin	5 mL
Glutamine	5 mL

稳定性/存储

1. 所有的产品都需要避光保存。
2. 无血清基础培养基在2-8°C可保存一年。其他添加物在-20°C可保存两年。所有产品一旦超过标签注释的有效期，必须放弃使用。
3. 配制成完全培养基后，避光保存在2-8°C可存放3周。
4. 为了更好的使用效果，请勿对试剂进行反复冻融。

质量控制

OriCell人脂肪间质干细胞无血清完全培养基均使用赛业OriCell人脂肪间质干细胞进行性能测试。

产品检测标准包括：

- 微生物检测（细菌、真菌、霉菌及支原体）
- pH检测
- 渗透压
- 内毒素

OriCell 人脂肪间质干细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell 人脂肪间质干细胞无血清培养基 (Cat. No. HUXMD-90061)
- GIBCO TrypLE™ Express (1X), Phenol Red (Cat. No. 12605-010)
- Corning CellBIND Surface T25 培养瓶 (Cat. No. 3289)
- Corning CellBIND Surface T75 培养瓶 (Cat. No. 3290)
- Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (Cat. No. PBS-10001)



提示：所有Corning CellBIND Surface的培养器皿都可用于该培养基的培养。

如需长期培养，可根据需要可加入1%的热灭活自体血浆。

血浆的热灭活处理步骤

1. 设置水浴锅温度为56℃，并放入一支经挑选的温度计，保证设置温度的准确性；
2. 温度升到56℃，将待灭活的血浆（离心管装或者瓶装，管口用封口膜封口）放入水浴锅，计时30 min；
3. 30 min后，取出灭活的血浆，如有沉淀物则250 g，10 min离心，离心后上清进行分装，-20- -70℃保存。

OriCell 人脂肪间质干细胞无血清完全培养基的制备

1. 在实验开始一小时前，将无血清添加物、青链霉素溶液和谷氨酰胺溶液等添加物成分放置于2-8℃进行溶解。溶解完成后，轻轻摇晃试剂管使冻融的成分充分混合。
2. 使用70%酒精消毒试剂盒中各管/瓶的开口外壁。
3. 待试剂管上的酒精挥发干净后，无菌打开各个试剂管。
4. 将各个添加物成分，按试剂体积大小，逐一加入到人脂肪间质干细胞无血清基础培养基中。
5. 无菌吸取基础培养基洗涤各管子，尽可能的将添加物的所有组分完整的加入基础

培养基中。

6. 重复步骤<5>两到三遍。
7. 轻轻摇晃基础培养基瓶子，使里面的各种成分充分混匀。将配制好的完全培养基放置于4℃保存。



注意： 本公司的产品均为无菌分装，但是为确保配制过程无菌，建议全部试剂混合之后，对完全培养基进行再次过滤除菌（**0.22 μm**）。

复苏

1. 准备好人脂肪干细胞无血清完全培养基，温育到37℃。
2. 在15 mL离心管中加入9 mL的人脂肪干细胞无血清完全培养基。
3. 从液氮中取出冻存的脂肪间质干细胞，立即放入-80℃冰箱（目的是让进入冻存管的液氮稍加挥发）。
4. 在-80℃放置2-3 min后，取出冻存细胞，将冻存管迅速放入37℃温水中，快速晃动令管中内含物尽快融化。仔细观察，待冻存管内含物完全融化后取出。



注意：

- ① 尽可能避免水没过管帽，以减少污染的风险。
 - ② 要快速完成细胞复苏过程，融化过程时间过长，会造成复苏后的细胞活性较差。
5. 用70%-75%酒精消毒冻存管口的外壁。
 6. 在超净台中打开冻存管，用吸管将细胞冻存悬液移入装有9 mL人脂肪干细胞无血清完全培养基的15 mL离心管中。注意这一过程不要有气泡的产生。
 7. 为了减少细胞损失，往冻存管中加入1 mL人脂肪干细胞无血清完全培养基，稍微吹打，用吸管将这1 mL的细胞悬液吸入离心管中，再用吸管将离心管中的细胞轻轻的吹打混匀。
 8. 将细胞悬液经250 g（对应于Eppendorf 5810R离心机是1134 rpm）离心5 min。
 9. 尽量去除上清液，向细胞沉淀物加入2~3 mL的人脂肪干细胞无血清完全培养基（已预热到37℃），轻轻吹打均匀。
 10. 将细胞按**2.0-3.0×10⁴个活细胞/cm²**的密度接种到Corning CellBIND Surface的T25培养瓶中；
 11. 加入足量的人脂肪干细胞无血清完全培养基，轻轻摇晃细胞培养瓶使细胞均匀分布。

12. 在37°C、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中培养。
13. 复苏后的第二天，给复苏的细胞换用新鲜的人脂肪干细胞无血清完全培养基（已预热到37°C）。
14. 之后，每两天给细胞换新鲜的完全培养基直到细胞达80%-90%的汇合度。

传代

1. 将人脂肪间质干细胞无血清培养基、1×PBS、TrypLE™ Express预热至37°C。
2. 吸去培养液。
3. 用1×PBS（T25培养瓶加入约3 mL，T75培养瓶加入约6 mL）洗涤细胞1次。注意不要损害贴壁的细胞。
4. 吸去1×PBS。
5. 加入TrypLE™ Express (T25加入约1 mL，T75加入约2-3 mL)。轻轻旋转，使TrypLE™ Express覆盖培养器皿表面，消化，显微镜下观察到约70%~80%左右的细胞变圆后，用手轻拍培养器皿的壁使细胞脱壁。



注意: 由于不同实验室所使用的消化液效价不同，消化时间可能会略有不同，具体时间应以显微镜下观察到的情况为准。

6. 立即加入三倍体积的1×PBS稀释消化。
7. 用吸管吸取液体，轻轻地反复吹打培养器皿底壁，使细胞彻底脱离瓶皿底壁。吹打时动作不宜太猛，不要产生气泡。
8. 将细胞悬液转移到15 mL的离心管中。
9. 250 g，离心5 min。
10. 小心弃去上清液。
11. 加入2 mL人脂肪间质干细胞无血清培养基重悬细胞。
12. 按照**2.0-3.0×10⁴个活细胞/cm²**的密度来接种细胞，或者按照1:2-1:3的比例来接种细胞。
13. 接种到Corning T25或者T75培养瓶(CellBIND Surface)中培养；
14. 加入适量的人脂肪间质干细胞无血清培养基，把细胞放入37°C、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中培养。



提示

1. 换液时机

传代后发现有很多死细胞，应该予以换液。

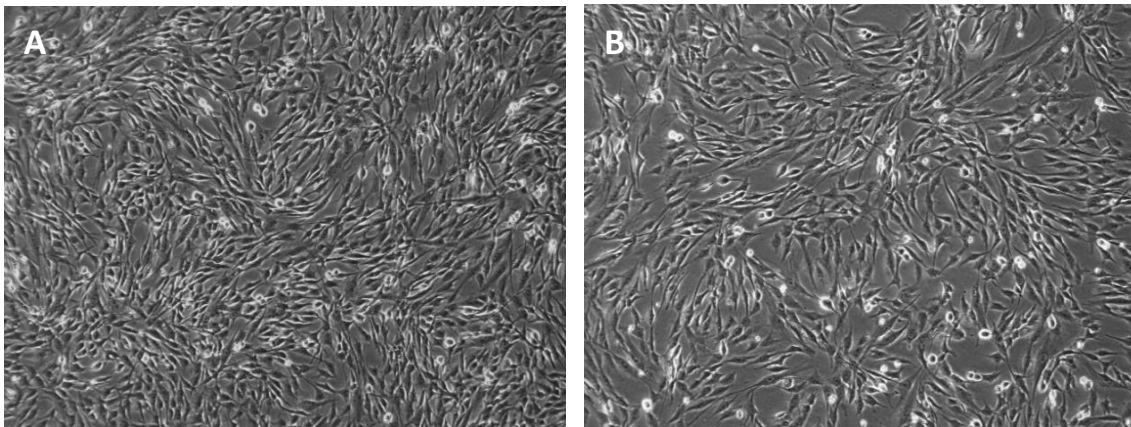
当成人脂肪间质干细胞的完全培养基pH值变酸时（培养液的颜色变黄），而且此时细胞仍未可以传代，则应该予以换液。一般来说，成人脂肪间质干细胞的换液间隔为2-3天。

2. 传代时机

当成人脂肪间质干细胞达到80%-90%汇合时，就应该进行传代。不可让成人脂肪间质干细胞完全融合或过度融合，否则会发生生长接触抑制。这将严重影响细胞的生长状态。

3. 培养图片

人脂肪间质干细胞在 (Human Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells)无血清培养基中的培养状态图片。



A. 培养第三代的细胞状态

B. 添加1%的灭活血浆培养第三代的细胞状态



提示：如需长期培养细胞建议添加1%的热灭活自体血浆，这样做可获得更多的细胞扩增数量，可以满足需要大量细胞的实验需要。如果需要细胞量不多，完全不需要添加人血浆成分，这样获得的细胞将更加稳定和安全。

相关产品

产品名称	货号
OriCell 人脂肪间质干细胞	HUXMD-01001
OriCell 1×PBS溶液	PBS-10001

OriCell 通用型无蛋白非程序冻存液	NCPF-10001
GIBCO TrypLE™ Express (1X), Phenol Red	12605-010
Corning CellBIND Surface T25 培养瓶	3289
Corning CellBIND Surface T75 培养瓶	3290

Cyagen Biosciences reserves all rights on the technical documents of its OriCell cell culture products. No part of this document may be reproduced or adapted for other purposes without written permission from Cyagen Biosciences.