



## 产品中文说明书

### **OriCell 人脐带间质干细胞/GFP**

货号：**HUXUC-01101**

## 目录

产品基本信息.....	1
产品介绍.....	1
产品特性.....	1
产品应用领域.....	1
处理原则.....	2
OriCell 人脐带间质干细胞/GFP 的复苏和培养.....	2
OriCell 人脐带间质干细胞/GFP 的传代.....	4
OriCell 人脐带间质干细胞/GFP 的冻存.....	5
参考文献.....	6

## 产品基本信息

产品名称	人脐带间质干细胞/GFP
货号	HUXUC-01101
规格	1×10 <sup>6</sup> 个细胞/管
冻存代次	P5
保存条件	液氮



**警告：**产品冻存液中含有DMSO，具有潜在的生物公害，操作者请谨慎处理。

## 产品介绍

脐带间充质干细胞是一种能分化成骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞的多能干细胞。其具有强大的增殖能力，且参与构成造血微环境，因此被广泛应用于组织工程，细胞治疗和基因治疗。

OriCell人脐带间质干细胞取自健康足月分娩孕妇的脐带，贴壁培养后使用慢病毒载体转导带有GFP荧光表达的基因。

质量控制：

- 本产品经过了细菌/真菌，支原体，内毒素检测。
- 本产品还经过细胞复苏活力检测，细胞周期，分化潜能鉴定。

该产品仅提供给进一步科研使用，不可应用于临床治疗等其他方面。

## 产品特性


- 操作规范的情况下，本产品有良好的传代能力，至少能传5代。
- 本产品有良好的分化潜能，能分化为成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞等。

## 产品应用领域

目前，人脐带间质干细胞/GFP作为一个研究热点被广泛应用于再生医学和组织工程（特别是在骨、心血管和神经系统等疾病的领域）。

OriCell人脐带间质干细胞/GFP可作为细胞模型被应用于增殖，移植和分化研究，以及体内外的免疫反应的鉴定。

## 处理原则

1. 要在无菌的条件下处理该产品。
2. 人脐带间质干细胞/GFP一旦培养起来，请冻存一部分细胞作为备份。  
 **注意：**人脐带间质干细胞/GFP能被冻存或复苏至少一次。
3. 我们强烈建议用于科研的细胞代次不超过10代。
4. 我们建议细胞的接种密度为  $2.5-4.0 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>，具体数量请根据细胞状态加以调整。



**注意：**我们强烈建议使用OriCell培养基和其他相关试剂以达到最理想的培养效果。

## OriCell 人脐带间质干细胞/GFP 的复苏和培养

### 所需试剂

- OriCell人脐带间质干细胞完全培养基（货号：HUXUC-90011）

### 人脐带间质干细胞/GFP的复苏和培养

1. 准备好37℃水浴。
2. 准备好人脐带间质干细胞完全培养基，温育到37℃。
3. 在15 mL离心管中加入9 mL的人脐带间质干细胞完全培养基。
4. 从液氮罐中取出冻存的人脐带间质干细胞/GFP，立即放入-80℃冰箱（目的是让进入冻存管的液氮稍加挥发）。
5. 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，快速晃动使管内含物尽快融化。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。
6. 用70%-75%酒精消毒冻存管口的外壁。
  7. 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完全培养基的15 mL离心管中。在这一过程请尽可能避免产生气泡。

8. 为了减少细胞损失，往冻存管中加入1 mL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吹打混匀。
9. 将细胞悬液经250 g（对应于Eppendorf 5810R离心机是1134 rpm）离心5 min。
10. 尽量去除上清液，向细胞沉淀物加入1-2 mL的完全培养基（已预热到37℃），轻轻吹打均匀。
11. 将细胞全部接种到1个T25培养瓶或底面积相当的培养器皿中，加入足量的完全培养基。轻轻摇晃细胞培养器皿，使细胞均匀分布。
12. 放入37℃、5%CO<sub>2</sub>、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脐带间质干细胞完全培养基（已预热到37℃）。
14. 之后，每两天给细胞换新鲜的完全培养基直到细胞达80%的汇合度。
15. 当细胞达80%-90%的汇合度，可进行消化和传代。



**注意：**为避免反复温热培养基，如果在一次操作中无法用完整瓶培养基，建议分装到适当的无菌容器中。换液时只取当天所需培养基量进行预热。

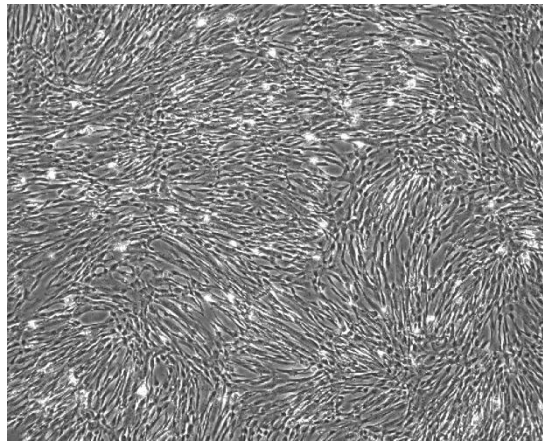


图 1 已贴壁的人脐带间质干细胞/GFP

## OriCell 人脐带间质干细胞/GFP 的传代

### 所需试剂

- 0.25%Trypsin-0.04%EDTA（货号：TEDTA-10001）
- Phosphate-BufferedSaline（1×PBS）（货号：PBS-10001）
- OriCell 人脐带间质干细胞完全培养基（货号：HUXUC-90011）

### 传代

1. 将人脐带间质干细胞完全培养基、1×PBS、0.25%Trypsin-0.04%EDTA预热至37℃。
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2-3次。注意不要损害贴壁的细胞。
4. 吸去1×PBS。
5. 加入0.25%Trypsin-0.04%EDTA（T25加入约1 mL，T75加入约2-3 mL）。轻轻旋转，使0.25%Trypsin-0.04%EDTA覆盖细胞表面，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Trypsin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. 当看到明显的细胞脱落下来，立即加入预热的完全培养基（T25培养瓶加入约3 mL，T75培养瓶加入约6 mL）终止消化。
7. 用吸管吸取液体，反复吹打培养器皿底壁，使细胞彻底脱离器皿底壁。吹打时动作不宜太猛，尽量避免产生气泡。
8. 将细胞悬液转移到15 mL的离心管中。
9. 250 g，离心5min。
10. 小心弃去上清液。
11. 加入2 mL完全培养基重悬细胞。吹打时动作不宜太猛，尽量避免产生气泡。
12. 对细胞进行台盼蓝染色计数活细胞数量。
13. 按照 $2.5-4.0 \times 10^4$ 个活细胞/cm<sup>2</sup>的密度来接种细胞。
14. 加入适量的人脐带间质干细胞完全培养基，轻轻摇晃细胞培养器皿，使细胞均匀分布。
15. 把细胞放入37℃、5%CO<sub>2</sub>、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。

当人脐带间质干细胞/GFP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，人脐带间质干细胞/GFP的换液间隔为2-3天。

### 2. 传代时机

当人脐带间质干细胞/GFP达到80%-90%汇合时，就应该进行传代。不可让人脐带间质干细胞/GFP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. 细胞汇合度提示（以C57 BL/6MSC为例）

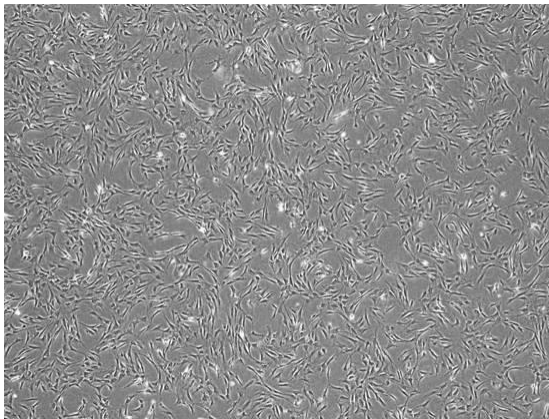


图2 细胞约70%-75%汇合

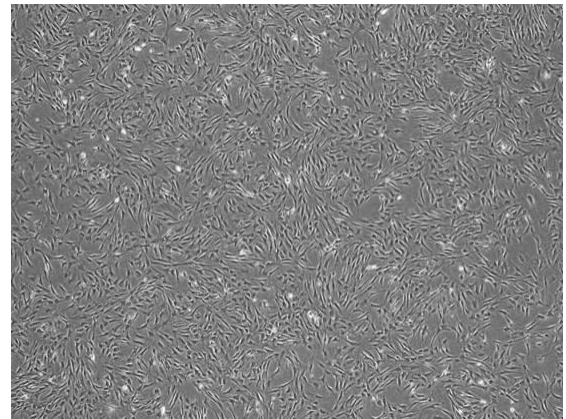


图3 细胞约85%-90%汇合

## OriCell 人脐带间质干细胞/GFP 的冻存

### 所需试剂

- OriCell无蛋白非程序冻存液（货号：GUXMX-07021）

### 冻存



**注意：**冻存前24小时需要给细胞换上新鲜的完全培养基。

1. 待细胞生长至可传代的密度，即可消化准备冻存。
2. 细胞的消化请参考OriCell 人脐带间质干细胞/GFP的传代操作中1-8步骤。
3. 对细胞进行计数。
4. 消化后的细胞悬液经250 g离心5 min。
5. 小心弃去上清。

6. 用OriCell间质干细胞无蛋白非程序冻存液重悬细胞，并使细胞的密度为 $1 \times 10^6$ 个活细胞/mL（或希望达到的细胞密度）。



**注意：** OriCell无蛋白非程序冻存液在使用前需保持4℃。

7. 把细胞分装到冻存管（需提前做好标记或贴上标签）中，旋紧冻存管盖。
8. 将封好的冻存管直接放进-80℃冰箱。24 h后将细胞转移至液氮进行长期保存。



**注意：** 如使用程序冻存液，需将封好的冻存管放入程序降温盒后方可放入-80℃冰箱。。

## 参考文献

Hwai-Shi Wang, Shih-Chieh Hung, and Shu-Ting Peng. (2004) Mesenchymal Stem Cells in the Wharton's Jelly of the Human Umbilical Cord. *Stem Cells* 22: 1330-1337.

Rahul Sarugaser, David Lickorish, and Dolores Baksh. (2005) Human Umbilical Cord Perivascular (HUCPV) Cells: A Source of Mesenchymal Progenitors. *Stem Cells* 23: 220-229.

SercinKarahuseyinoglu, OzgurCinar, and EmineKilic. (2007) Biology of Stem Cells in Human Umbilical Cord Stroma: In Situ and In Vitro Surveys. *Stem Cells* 25: 319-331.

**CyagenBiosciences保留OriCell细胞培养产品技术文件的所有权利。**

**没有CyagenBiosciences的书面许可，本文件的任何部分不得改编或转载用作其他商业用途。**