

# TransStem<sup>®</sup> Serum-Free, Xeno-Free Human Mesenchymal Stromal Cell Medium, no phenol red (GMP Grade)

## 人间充质干细胞无血清培养基, 不含酚红 (GMP 级)

使用前请仔细阅读说明书

目录号: MM102

版本号: Version 2.0

保存: 各组分在相应温度下保存一年。

### 产品说明

TransStem<sup>®</sup> Serum-Free, Xeno-Free Human Mesenchymal Stromal Cell Medium, no phenol red (GMP Grade) 是一种 GMP 级别的无血清、无动物源性成分的完全培养基, 适合人多能性干细胞衍生、脐带、骨髓、脂肪等多种来源的间充质干细胞 (human mesenchymal stromal cells, hMSCs) 的分离、扩增和复苏。本产品稳定性好, 支持 hMSCs 稳定传代至 15 代。利用本产品培养的 hMSCs 具有较高的成骨、软骨、脂肪细胞分化的能力和较强的免疫调节能力。

### 试剂盒组成

Component	MM102-01-V2	Storage
TransStem <sup>®</sup> Serum-Free, Xeno-Free Human Mesenchymal Stromal Cell Basal Medium, no phenol red 人间充质干细胞无血清基础培养基, 不含酚红	500 ml	2-8°C
TransStem <sup>®</sup> Serum-Free, Xeno-Free Human Mesenchymal Stromal Cell Supplement 人间充质干细胞无血清培养基添加物	5×5 ml	-20°C避光保存 避免反复冻融

### 操作步骤

#### 自备

Product Name	Catalog
PBS(1×)	TransGen, Cat. FG701-01
Recombinant Trypsin-EDTA Solution (1×)	TransGen, Cat. FG302-01
TransStem <sup>®</sup> Chemically Defined Xeno-free Cell Cryopreservation Medium	TransGen, Cat. MC101-01
TransStem <sup>®</sup> Human Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cells	TransGen, Cat. MC401-01

#### 1. 完全培养基的配制

2-8°C融化人间充质干细胞无血清培养基添加物, 按5%终浓度添加到基础培养基中, 充分混匀, 即为完全培养基。  
2-8°C保存两周。

#### 2. 人间充质干细胞的分离 (以分离脐带间充质干细胞为例)

- (1)用PBS清洗脐带至清洗液无血色, 去除脐静脉内膜和动脉, 留下的米白色组织为华通氏胶。
- (2)用手术剪将华通氏胶剪切成小块, 接种入培养瓶或培养皿, 使组织块均匀分布, 加入适量平衡至室温的完全培养基, 使培养基刚刚浸泡到组织块即可, 放入培养箱 (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) 中进行培养。
- (3)培养2-3天后, 向培养瓶或培养皿中缓慢添加适量平衡至室温的完全培养基, 避免组织块漂起, 使培养基刚刚浸泡到组织块即可。



(4)培养6-9天后,可观察到组织块边缘有细胞爬出,即为脐带间充质干细胞。

(5)保持隔天换液,当爬出的脐带间充质干细胞汇合度达到80%-90%时,可进行细胞的消化和传代。

### 3. 人间充质干细胞的传代扩增

(1)显微镜下观察,细胞汇合度达到80%-90% 时进行传代。

(2)吸弃旧培养基,用PBS润洗一次,每6孔板孔中加入500  $\mu$ l-1 ml 37°C预热的Recombinant Trypsin-EDTA Solution (1 $\times$ ), 37°C消化1-3分钟,待细胞完全脱落。

(3)加入2 ml平衡至室温的完全培养基,轻柔吹吸成单细胞悬液。

(4)300 $\times$ g离心5分钟,弃上清。再加入适量平衡至室温的完全培养基重悬细胞。进行细胞计数,推荐0.5-2 $\times$ 10<sup>4</sup> 细胞/cm<sup>2</sup> 的密度接种。

(5)放入CO<sub>2</sub>培养箱中进行培养,24小时后换液。以后隔天换液。

### 4. 人间充质干细胞的冻存

推荐使用TransStem<sup>®</sup> Chemically Defined Xeno-free Cell Cryopreservation Medium (目录号: MC101-01) 冻存细胞。

(1)吸弃旧培养液,用PBS润洗一次,每6孔板孔中加入500  $\mu$ l-1 ml Recombinant Trypsin-EDTA Solution (1 $\times$ ), 37°C消化1-3 分钟,待细胞完全脱落。

(2)加入2 ml平衡至室温的培养基,轻柔吹吸成单细胞悬液。

(3)300 $\times$ g离心5分钟,弃上清。加入适量2-8°C预冷的TransStem<sup>®</sup> Chemically Defined Xeno-free Cell Cryopreservation Medium重悬细胞。推荐按照2-4 $\times$ 10<sup>6</sup>细胞/ml的密度进行冻存。

(4)将细胞悬液转移至冻存管中,放入程序性降温盒中于-80°C冰箱过夜(或直接放入-80°C冰箱过夜),次日转移到液氮罐中,长期保存。

### 5. 人间充质干细胞的复苏

(1)在15 ml离心管中加入5-10 ml平衡至室温的完全培养基。

(2)从液氮中取出间充质干细胞,迅速在37°C水浴锅中摇动融化。

(3)将冻存管中的细胞悬液逐滴转移至预先准备好的完全培养基中,轻轻混匀,300 $\times$ g离心5分钟,弃上清。加入适量平衡至室温的完全培养基重悬细胞,接种到培养瓶或培养皿中。推荐接种密度为0.5-2 $\times$ 10<sup>4</sup> 细胞/cm<sup>2</sup>。

(4)放入CO<sub>2</sub>培养箱中进行培养,24小时后换液。以后隔天换液。

### 注意事项

- 请在2-8°C融化人间充质干细胞无血清培养基添加物。为避免反复冻融,可分装成小份保存于-20°C。
- 人间充质干细胞无血清培养基添加物及完全培养基若出现沉淀或少量絮状,属正常现象,不影响产品性能。如有需要,可用0.45  $\mu$ m滤器过滤完全培养基,但不建议过滤添加物。
- 配制好的完全培养基请于2-8°C避光保存,并在两周内使用完毕,避免冻融。
- 完全培养基在使用前请提前从冰箱中取出平衡至室温,避免37°C水浴加热。

本产品仅供研究,不用于临床诊断。

版本号: V2.0-202302

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

