



弗元（上海）生物科技有限公司
www.fuyuanbio.com

产品说明书

人脐带间充质干细胞无血清培养基

货号：RC200136

仅用于科学研究

Version 1.0



人脐带间充质干细胞无血清培养基

仅用于科学研究

产品信息

产品名称：人脐带间充质干细胞无血清培养基

货号：RC200136

批号：见包装

试剂清单：

序号	名称	数量	货号	存储
A	人脐带间充质干细胞基础培养基	450 ml × 1	RC200136-A	2-8°C
B	人脐带间充质干细胞添加剂	50 ml × 1	RC200136-B	-20°C

存储与有效期：

组分 A 于 2-8°C 保存，组分 B 于 -20°C 保存。所有组分均须避免反复冻融及复温，各组分在所需要的温度下有效期为 1 年，配制完成的完全培养基于 2-8°C 保存，稳定储存 2-3 周。

适用细胞：

适用于人脐带间充质干细胞的原代分离、扩增与传代培养。

产品介绍

人脐带间充质干细胞培养基是一款化学成分明确的新一代培养基，专门为人脐带间充质干细胞（hUMSC）培养设计，能够支持人脐带间充质干细胞生长、扩增，无需培养表面包被就能让细胞较好地贴壁，可有效延缓细胞在体外培养时的老化。可用于人脐带间充质干细胞的原代分离、扩增与传代培养，并保持人脐带间充质干细胞的多种生物学特性及多向分化潜能，培养的人脐带间充质干细胞具有成骨、成脂、成软骨的分化能力，正常人脐带间充质干细胞表达 CD73、CD90、CD105、CD166，不表达 CD11b、CD31、CD34、CD45 和 HLA-DR。人脐带间充质干细胞在此培养基条件下可稳定传代约 20 代，但不具有无限传代能力。



操作方法

实验准备

◆ 人脐带间充质干细胞完全培养基配制：

1. 添加剂处理：室温解冻人脐带间充质干细胞培养基添加剂（FY200013-B）。添加剂融化后轻轻充分摇匀，分装或直接按比例添加到基础培养基中，分装后添加剂立即存储于-20℃至-80℃，避免反复冻融。

注意：添加剂解冻不可加热，建议采用室温溶解。

2. 完全培养基配制：将添加剂以 10%比例加入到人脐带间充质干细胞基础培养基（FY200013-A）中，充分混匀，即配制成人脐带间充质干细胞完全培养基（FY200013）。完全培养基在 2-8℃可稳定储存 2-3 周，超过 3 周的完全培养基请谨慎使用。

注意：混合成人脐带间充质干细胞培养基后必须充分混匀，2-8℃保存。整个过程确保无菌操作，各试剂开封前以 75%酒精擦拭表面。完全培养基使用前务必室温复温至少 30 分钟，该操作适用于下列所有用到完全培养基的步骤。

◆ 自备试剂：

- 消化液（0.25%Trypsin-0.04%EDTA 或其他）
- 无钙镁的磷酸盐缓冲液（DPBS）
- 细胞冻存液

操作方法（仅供参考，请根据各自实验需求自行制定操作规程）

◆ 原代细胞培养（酶消化法）：

1. 该部分以单细胞悬液为操作起始。使用胰酶、胶原酶、分散酶等酶消化法（推荐使用组织细胞消化液 RC200104）从人脐带华通氏胶组织获得。
2. 原代接种：以上获得的细胞沉淀，漩涡震荡使其分散为单个细胞，加入适量的完全培养基，充分混匀。200 g 离心 5-10 分钟。弃去上清，漩涡震荡使沉淀分散为单个细胞，加入适量的完全培养基，充分混匀。按照一定的细胞密度接种与培养器皿中。37℃、5%CO₂、饱和湿度静置培养 48 小时。



该时间段内请勿移动培养器皿，也无需观察。48 小时后观察细胞，根据情况选择半量或全量更换新鲜完全培养基。

注意：细胞培养务必选择合适的贴壁细胞培养器皿，若培养器皿不合适则严重影响细胞的贴壁、增殖甚至存活。

3. 换液培养：后每 48 小时更换新鲜培养基。观察细胞，弃去原培养上清。若悬浮细胞较多，则可用 DPBS 轻轻洗涤细胞 1-2 次。添加新鲜完全培养基继续培养。
4. 传代：原代细胞传代以克隆大小和克隆中心细胞密度为标准。若克隆中心细胞密度较大，则不论整个培养器皿是否长满均应进行传代操作。弃去培养上清，加入适量的 DPBS，轻轻晃动后弃去 DPBS，重复洗涤 2-3 次。加入适量的 0.25%胰蛋白酶消化液（推荐使用间充质干细胞消化液，RC200108）室温消化 2 分钟，加入 5 倍体积的完全培养基终止消化。用移液管、吸管或移液枪头等轻轻吹打细胞，使细胞从培养皿表面脱落。

注意：足量的胰酶消化，室温消化不宜超过 2 分钟，吹打细胞时也不宜力量过大，轻轻吹打即可，不脱落细胞直接丢弃。

5. 冻存：参照下述“hUMSC 细胞冻存”。

◆ 原代细胞培养（组织块法）：

1. 该部分以组织块作为起始。组织块为脐带华通氏胶切成 1-3 mm³ 大小的组织块。
2. 原代接种：用缓冲液清洗过的组织块，用适量的完全培养基悬浮，300 目无菌滤网过滤或 200 g 离心 5-10 分钟，收集组织块。用适量的完全培养基重新悬浮组织块，均匀接种于培养器皿中，37℃、5%CO₂、饱和湿度静置培养。48 小时内最好不要对培养器皿进行任何移动。
3. 换液：48 小时后进行半量或全量更换新鲜完全培养基，具体视情况而定。每 2 天更换新鲜培养液。组织块周围有密度较高的细胞时，可以选择去除组织块。
4. 传代：参照上述“传代”方法。



5. 冻存：参照下述“hUMSC 细胞冻存”。

◆ hUMSC 细胞传代培养（非原代）：

1. 在显微镜下观察细胞，当细胞融合度达到 90%，即可传代。
2. 弃去培养上清，加入 DPBS 溶液清洗 1 次，加入细胞消化液（推荐使用间充质干细胞消化液，RC200108）使其完全覆盖培养器皿底部。
3. 室温孵育 1-2 分钟，轻轻拍打培养器皿，显微镜下观察大部分细胞从培养器皿底部脱落后立即停止消化。
4. 加入消化液 2 倍体积的人间充质干细胞完全培养基，用移液器轻轻敲打培养器皿表面未完全脱离的细胞，使细胞完全脱落并均匀分散。
5. 将细胞悬液转移到离心管中，200 g 离心 5 分钟。
6. 弃上清，加入完全培养基，重悬细胞，计数。1: 3-1: 6 比例传代，均匀铺在培养器皿中，置于 37℃、5%CO₂、饱和湿度培养箱中培养。

◆ hUMSC 细胞复苏：

1. 从液氮中取出冻存的 hUMSC 细胞，迅速将冻存管/冻存袋放入复苏装置或 37℃ 水浴快速融化。
2. 将解冻后的细胞悬液缓慢加入适量完全培养基（冻存体积与培养基的体积比为 1: 5-1: 10）。
3. 200 g 离心 5 分钟，弃去上清，加入适量的完全培养基重悬细胞。
4. 将细胞均匀铺到培养器皿中，摇动培养器皿使细胞均匀分布，37℃、5%CO₂、饱和湿度培养，24 小时后观察细胞状态。
5. 24 小时后更换新鲜完全培养基继续培养，以后每 2 天更换新鲜完全培养基。

注意：细胞传代所需的时间：2-4 天。hUMSC 消化极易过度，建议稀释 0.25% 胰酶消化液一倍，且严格控制消化时间，消化时长从细胞接触胰酶开始不宜超过 2 分钟。

◆ hUMSC 细胞冻存

1. 细胞达到 90% 汇合度，弃去原有培养基，DPBS 清洗 1 次。
2. 加入细胞消化液（推荐使用间充质干细胞消化液，RC200108）使其完全覆



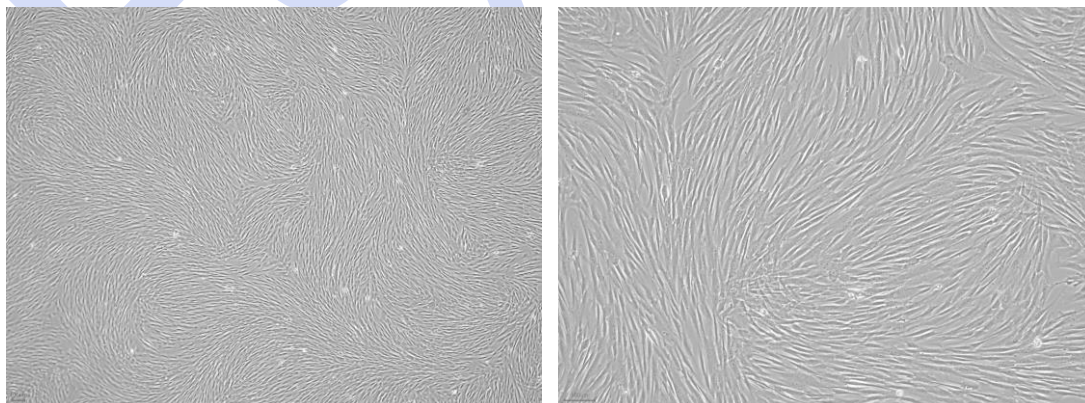
盖培养器皿底部，室温孵育 1-2 分钟，轻轻拍动培养器皿，显微镜下观察大部分细胞从培养器皿底部脱落后立即停止消化。

3. 加入消化液 2 倍体积的人间充质干细胞完全培养基，用移液器轻轻吹打培养器皿地面未完全脱离的细胞，使细胞完全脱落并均匀分散。
4. 将细胞悬液转移到离心管中，200 g 离心 5 分钟，弃去上清。
5. 加入适量细胞冻存液（推荐使用细胞冻存液 II，RC200106），调整细胞冻存密度在 1×10^6 cells/cm₂ 左右，每支冻存管分装 0.5-1 ml，使用冻存袋冻存请自行根据需要进行选择冻存方案。
6. 程序降温仪冻存，或放入冻存盒然后置于 -80℃ 或直接放入 -80℃，24 小时后转入液氮中长期保存。

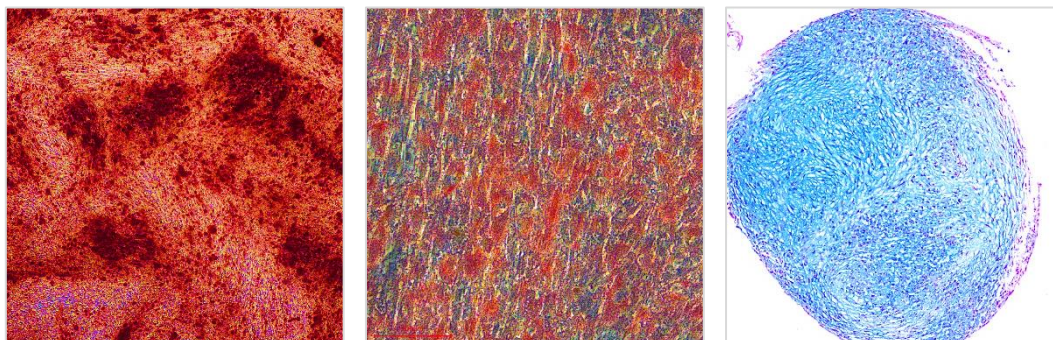
注意：此处消化液为胰酶消化液。细胞冻存方法有多种，此处介绍的冻存方法为含有 DMSO 的冻存方式。其他冻存方式请根据需要自行选择。

特别提示：以上所有操作均在无菌细胞培养室进行，细胞开放操作要在生物安全柜内进行；培养器皿包括培养皿、培养瓶、培养板、细胞工厂等，请根据实验需要自行选择；hUMSC 切忌消化过度，过度的消化会导致细胞快速老化，且失去部分或全部分化能力；实验室具体可操作的传代次数请自行分析判断，并建议以分化能力进行判别；该培养基仅用于 hUMSC 细胞培养，操作规程仅作为参考。

细胞形态展示：



分化能力鉴定:



依次为成骨茜素红染色、成脂油红O染色、成软骨阿利新蓝染色结果。

相关产品

名称	货号
细胞冻存液 II	RC200106
组织细胞消化液	RC200104
间充质干细胞消化液	RC200108
人间充质干细胞无血清培养基	RC200101
人间充质干细胞培养基	FY200012
人间充质干细胞成骨诱导试剂盒	FY200006
人间充质干细胞成脂诱导试剂盒	FY200007
人间充质干细胞成软骨诱导试剂盒	FY200008

