

细胞系使用说明书

细胞名称	HUMSC 人脐带间充质干细胞
货号	CQ80234
种属	人
细胞来源	ATCC/中科院/协和医院等地引进
生长特性	贴壁生长（形态纺锤状，成纤维细胞样）
培养条件	培养基：DMEM/F12 90%+FBS 10%+b-FGF 10ng/mL （建议使用本公司间充质干细胞无血清培养基） 温度：37℃ 气相：95%空气，5%二氧化碳 培养瓶/皿：使用无血清培养基时应使用针对间充质干细胞特别 TC 处理的培养瓶/皿，或使用纤连蛋白或其他促贴壁试剂包被过的培养瓶/皿
传代	1.用 75%酒精喷洒整个培养瓶消毒，将其平躺置于培养箱中进行 1-3 小时的缓冲，然后置于无菌操作台，打开瓶口，将其中的培养液去掉，再往其中加入 5-6 mL 新鲜培养基（以 T25 培养瓶为例）并置于细胞培养箱中培养，根据细胞生长状况及培养基颜色变化对其进行换液以及传代，一般 2 到 3 天换一次液； 2.待细胞长满瓶底面积 80%-90%，需要对其进行传代，第一次传代比例为 1:3，之后推荐传代比例为 1:5 到 1:10； 3 传代步骤：将 0.25%胰酶-0.53 mM EDTA 消化液与 DPBS 置于 37 预热，倒掉培养瓶中的培养基，往培养瓶中加入 3-5 ml DPBS，轻晃洗涤后弃去。使用 DPBS 将胰酶稀释 4 倍，往瓶中加入 2 ml 稀释后的胰酶，置于室温孵育消化（第一次消化需时常取出置于显微镜下观察，以显微镜下细胞触角回收变圆、轻拍瓶壁见细胞脱落为最佳消化时间，记录最佳消化时间，以便于下次消化），消化好后加入 2ml 含血清的完全培养基或其他胰酶中和液终止消化。用移液枪轻轻吹打瓶壁上的细胞，使之完全脱落，然后收集细胞悬液并吹打成单个细胞悬液，1200rpm 离心 5min，弃上清，加入完全培养基重悬细胞，进行传代。
保存	冻存条件：80%完全培养基+10%FBS+10%DMSO (备注：建议使用本公司的冷冻液（H-W-100），用 4 度保存的冷冻液直接重悬细胞，不能预热后使用。) 保存条件：液氮存储
供应限制	仅供研究之用



常见问题及解决方案

- 1.培养瓶有破裂，培养液有漏液：细胞极大可能会污染，所以我们会及时安排帮老师解决。
2. 收到细胞后尽快更换为含 10%血清的新鲜培养基，如因特殊情况需要继续使用原瓶培养基，请在原瓶培养基中额外添加 10%的血清（原瓶培养基的继续使用时间最长不宜超过 72 小时）
- 3.细胞漂浮：培养瓶不开封，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度 80%，进行消化传代；如细胞还是不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，中间注意观察，我们的技术人员会一直跟踪指导，直到问题解决。

