



骨髓间充质细胞无血清培养方案

产品用途及描述

骨髓间充质细胞无血清培养基，包括间充质细胞无血清基础培养基及骨髓间充质细胞培养基添加剂，需混合成完全培养基后使用（无抗生素），本培养基适用于人骨髓间充质干细胞、间充质基质细胞的增殖培养。

套装名称	套装货号	组分信息	组分货号	规格	保存温度	保质期
骨髓间充质细胞无血清培养基套装	KC030201/ KC030301	间充质细胞无血清基础培养基	KC010201-A	500mL	2-8℃ (避免长时间光照)	12个月
			KC010301-A	1000mL		
		骨髓间充质细胞培养基添加剂	KC030201-B	20mL	-20℃ (避免长时间光照)	12个月
			KC030301-B	40mL		

骨髓间充质细胞（BMSCs）无血清培养基是一种专门用于体外培养人骨髓来源间充质细胞的高性能培养体系，适用于骨髓来源的间充质基质细胞（Mesenchymal Stromal Cells, MSCs）及间充质干细胞（Mesenchymal Stem Cells），能为其提供稳定、支持性的生长微环境。培养过程中可有效维持细胞典型表型、促进增殖并防止自发分化，符合2025年ISCT共识标准对MSC表征与质量控制的要求。

骨髓间充质细胞完全培养基配制及保存说明

1. 配制方法

- 1) 间充质细胞无血清基础培养基，平衡到室温。
- 2) 骨髓间充质细胞培养基添加剂，4℃或室温解冻。
- 3) 按 1:25 的体积比例，将骨髓间充质细胞培养基添加剂加入至间充质细胞无血清基础培养基。例如：将20mL骨髓间充质细胞培养基添加剂加入至500mL间充质细胞无血清基础培养基，充分混匀，即为完全培养基。
- 4) 配制好的完全培养基可于2-8℃避光保存4周。

2. 建议细胞类型

人骨髓间充质细胞

3. 配制提示

- 1) 骨髓间充质细胞培养基添加剂避免反复冻融。
- 2) 完全培养基混匀过程中，避免剧烈摇晃产生过多泡沫。

骨髓间充质细胞培养方法

1. 细胞复苏

- 1) 将完全培养基平衡至室温，取出10mL完全培养基至15mL离心管中待用。
- 2) 从液氮中取出冻存细胞，37℃水浴锅内1-2分钟内快速解冻，将解冻后细胞悬液转移至上述离心管内。
- 3) 400-500g 离心3-5分钟，弃上清，取适量完全培养基将细胞重悬后，计数。
- 4) 以5000-8000cells/cm² 的密度接种细胞，接种培养基体积可参考正常的常规细胞培养器皿培养体系即可。将细胞置于37℃、5%CO₂孵箱中静置培养。



2.细胞传代

- 1)细胞接种24小时后，显微镜下观察细胞形态及细胞密度。若复苏后，漂浮的死细胞较多，建议更换等体积的完全培养基。
- 2)接种72-96小时后，细胞融合度达到80%–90%时，吸出细胞瓶中培养基，加入 PBS，清洗细胞两次。使用胰酶替代物（重组胰蛋白酶）消化细胞。
- 3)显微镜下观察，细胞边缘收缩、变圆后，完全培养基终止消化，轻轻吹下细胞（以 T25为例，胰酶替代物使用 1mL，终止用完全培养基5mL）。
- 4)收集终止后的细胞悬液，转入离心管中，400-500g 离心3-5分钟收集细胞。
- 5)离心结束后，弃上清，取适量完全培养基重悬细胞计数。
- 6)按照5000-8000cells/cm² 的密度接种细胞进行扩大培养即可，37℃、5%CO₂孵箱中静置培养。

3.细胞冻存

细胞融合度达到80%–90%时，消化收集计数细胞后，用完全培养基+10%DMSO 做常规无血清冻存处理，或使用商用冻存液进行冻存处理。

注意事项

- 1.完全培养基配制完毕，室温复温即可使用。建议分装使用，且**无需水浴预热**。
- 2.该产品针对骨髓间充质细胞开发，其他如脂肪、脐带来源的间充质细胞的培养，建议使用对应的货号产品（脂肪间充质细胞培养基添加剂：货号KC020201-B和KC020301-B，脐带间充质细胞培养基添加剂：货号KC010201-B和KC010301-B）。
- 3.完全培养基满足原代培养的要求，无需额外包被，可从原代培养开始连续使用。
- 4.若原有细胞培养体系更换为本培养基，可在传代时直接更换，培养基转换初始可能会出现细胞增殖能力适应性降低等现象。细胞融合度达到80%–90%的时间可能会增加1天，无需特殊处理，后续正常传代。