

AMMS[®] MSC 试剂盒套装 2.0（无酚红）说明书

（无异种动物源成分）

说明书编号：DS-Kit-R-AS33-A/4

产品名称

通用名称：AMMS[®]MSC 试剂盒套装 2.0（无酚红）英文名称：AMMS[®]MSC Cell Culture Kit 2.0（Phenol red free）

产品信息

套装货号：AS-33

套装组成：

套装内容	货号	规格	数量	保存条件	产品性状	效期
AMMS [®] MSC 添加物 2.0	AS13-1	25mL	1 瓶	-20℃， 避光保存	液体	18 个月
AMMS [®] MSC 基础培养基（无酚红）	AS09-11	500mL	1 瓶	2~8℃， 避光保存	液体	18 个月

产品描述

AMMS[®] MSC 基础培养基（无酚红）是一款标准化生产、无异种动物源、无血清的培养基，用于培养人间充质干细胞及其原代祖细胞（MSCs）。AMMS[®] MSC 细胞培养试剂盒 2.0（无酚红）支持 MSCs 的长时间生长并且能够保持其多能分化潜能。

产品特点：

- 1.适用于原代和传代培养不同来源的人间充质干细胞；
- 2.保持人 MSC 快速扩增的同时，维持其表型及多向分化特性；
- 3.完全培养基内毒素小于 0.25 EU/mL；
- 4.无血清培养基和添加物均无异种动物源成分、无抗生素；
- 5.培养基中含谷氨酰胺，培养过程无需再添加谷氨酰胺。

使用说明

MSC 完全培养基的配制：

- 1、AMMS[®] MSC 添加物 2.0 置于 37℃ 水浴锅中至完全融化后立即拿出，若出现少量絮状物或浑浊为正常现象，不会影响细胞培养性能，建议离心去除絮状物（3400g，3-5min），直接使用或分装储存于 -20℃，避免反复冻融。
- 2、将 25mL AMMS[®] MSC 添加物 2.0 加到 500mL AMMS[®] MSC 基础培养基（无酚红）中，彻底混匀。

原代细胞培养（以脐带来源为例）：

- 1、脐带洗涤：无菌有齿镊转移脐带至 10cm 无菌培养皿中，用医用碘伏消毒整根脐带外表面，转入新的平皿中，加入 75% 乙醇浸没整根脐带，消毒灭菌后，转入新的平皿中，加入 5~10ml 氯化钠注射液冲洗，重复 2~3 次，去除血渍。

- 2、无菌组织剪将脐带剪成约 2~3cm 数段，加入 5~10ml 氯化钠注射液洗涤血凝块，重复洗涤直至基本去除血渍，洗涤液较清澈。
- 3、剔除血管：按血管螺旋走式剔除脐带的两条动脉，一条静脉。
- 4、分离华通氏胶：用有齿镊将华通氏胶撕下，放入无菌平皿中，加入 5~10ml 氯化钠注射液，洗涤胶体。
- 5、洗涤胶体：将获得的胶体转移至 50ml 离心管，加氯化钠注射液 20~30ml,轻轻晃动，2000rpm、5min。
- 6、胶体称重：上清液弃去，称重记录。
- 7、组织匀浆：胶体中加入 2~3 ml 培养基，用无菌组织剪，在离心管中将组织剪切成组织匀浆块，2000rpm、5min 离心，上清液去掉。
- 8、根据胶体重量，加入适量完全培养基，定容，吹打均匀，按照每瓶 0.5g 接种到培养瓶（T75 瓶）中，每瓶 8-10ml 培养基（T75 瓶）培养。
- 9、平置培养瓶使组织块尽量均匀分布于整个底面，将培养瓶放置于二氧化碳恒温恒湿培养箱。培养条件： 37 ± 0.5 ，二氧化碳体积分数为 $5\pm 0.2\%$ 。
- 10、培养第 7 天，全量换液，合并收集组织块，离心上清液弃掉。新鲜完全培养基重悬组织块，均匀种瓶。
- 11、细胞可见时间 5-9 天，细胞可收获时间 10-14 天。
- 12、3 个以上组织块附近细胞融合度达 85%以上，细胞可收获，倒出培养上清，使用生理盐水清洗培养瓶底面 1~2 遍，使用 0.05%胰酶或重组细胞消化液消化细胞，终止消化后，收集细胞悬液至离心管，细胞液过细胞筛网去除组织，450g，5min 离心，沉淀即为原代收获细胞。

注：收获完细胞若想保留脐带组织，可参照同立海源脐带组织冻存方案。

MSC 传代细胞培养：

- 1、取复苏或传代收获的 MSC，进行计数。
- 2、用配制好的完全培养基重悬细胞，根据铺瓶密度进行铺瓶培养，铺瓶密度：P1-P3 代细胞铺瓶密度 4000-6000 个/cm²，P3 代以上传代细胞铺瓶密度 6000-8000 个/cm²，铺瓶体积：T25 瓶，每瓶铺瓶体积 5-10mL，T75 瓶，每瓶铺瓶体积 10-15mL，T175 瓶，每瓶铺瓶体积 20-30mL，细胞铺瓶后，晃匀后放置 37 二氧化碳培养箱中培养。
- 3、细胞培养时间 72h，观察细胞融合度达 85%以上，倒出培养上清，使用生理盐水清洗培养瓶底面 1~2 遍，使用 0.05%胰酶或重组细胞消化液消化细胞，终止消化后，收集细胞悬液至离心管，450g，5min 离心，沉淀即为收获细胞。

注意事项

- 1、AMMS® MSC 添加物 2.0 在 37℃水浴锅复融，复融后直接使用或分装储存于-20，避免反复冻融；
- 2、AMMS® MSC 添加物 2.0 复融后可能会出现少量絮状物或浑浊为正常现象，不会影响细胞培养性能，建议离心去除絮状物（3400g，3-5min）。
- 3、AMMS® MSC 添加物 2.0 可在-20℃ 至 -40℃ 条件下进行长期储存到有效期结束，一旦化冻，可在 4℃ 最多放置 7 天，配制成的完全培养基可在 4 度条件下可稳定放置 14 天。

生产企业的名称

北京同立海源生物科技有限公司

住所

北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地华佗路 50 号院 13 号楼 1 至 3 层

联系方式

400-010-5556

参考文献

1. S. Gottipamula, M. S. Muttigi, U. Kolkundkar and R. N. Seetharam, Serum-free media for the production of human mesenchymal stromal cells: a review, Cell Prolif ,6(12)(2013): 608–627.
2. Chi-Hsien Liu , Mei-Ling Wu b, Shiaw-Min Hwang, Optimization of serum free medium for cord blood mesenchymal stem cells, Biochemical Engineering Journal 33 (2007) 1–98.

说明书编制

核准日期：2024 年 07 月 18 日

核准日期：2024 年 09 月 26 日

核准日期：2025 年 03 月 14 日

核准日期：2025 年 04 月 03 日