

人间充质干细胞冻存液

使用说明书

一、产品简介

生产的 MSC 冻存液是一款无血清的间充质干细胞 (MSC) 冻存液产品。此产品是针对 MSC 冻存的特殊配方，能大大降低细胞在冻存过程中的损伤，提高细胞复苏后的存活率，能够长期有效维持 MSC 的多向分化潜能。同时因冻存液批间质量稳定，适用于科研级细胞保存。

二、产品信息

表 1: MSC 冻存液产品说明

产品信息	货号	规格
MSC Cryopreservation Medium	RP02004	50 ml

三、保存条件

- 保存温度: 4°C。
- 有效期: 12 个月。

四、冻存 MSC

- 根据所需冻存的细胞量，标记相应数量的冻存管（参考数量：1-5×10⁶ cells/mL/管）。
- 选择处于对数生长期的细胞，按照常用的方法收集细胞于离心管中。
- 离心收集细胞（参考离心条件：200×g，离心 5 min）。
- 吸去上清液，逐滴加入适量 MSC 冻存液于离心管中，混合均匀，制成细胞混合液。
- 将离心管中的细胞混合液分装于已标记完全的冻存管中。
- 梯度程序降温：
 - 将含有细胞悬液的冻存管置于已经 4°C 预冷的程序降温盒中（e.g. Nalgene Mr. Frosty, 5100-0001），再将程序降温盒置于 -80°C 冰箱中，24 h 后移入液氮罐长期保存（温度不高于 -135°C）。
 - 或者使用程序降温仪（e.g. Thermo CryoMed）对冻存管中的细胞悬液按照 -1°C/min 进行降温至 -100°C（参考仪器操作说明），立即置于液氮罐中长期保存（温度不高于 -135°C）。

五、复苏 MSC

- 从液氮罐中取出冻存的细胞，置于干冰上运至细胞间。
- 立即放入 37°C 水浴锅中一边摇匀一边快速解冻。
- 待冻存管中细胞混合液融化至仅余少量冰块，取出冻存管，消毒后转移至生物安全柜内。
- 立即吸取细胞混合液至 15 ml 离心管中。逐滴加入 9 ml 预热的细胞培养液，同时摇匀。取 1 ml 预热的细胞培养液洗涤冻存管，把剩余的细胞合并到同一离心管中。
- 离心收集细胞（参考离心条件：200×g，离心 5 min），吸去上清液。

6. 加入 1-2 mL 完全培养基重悬细胞。
7. 按照合适的接种密度将细胞接种到细胞培养容器中，加入适量的已预热的新鲜的细胞完全培养基。
8. 十字摇匀法混匀细胞，置于 37°C，5% CO₂，饱和湿度的培养箱中继续培养。