

hMSC 高效冻存液

操作使用说明

一、产品简介

hMSC高效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：hMSC 高效冻存液产品说明

产品	规格	货号	存储条件
hMSC高效冻存液	50 mL	SN-06-1310	2-8 °C

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： $1-5 \times 10^6$ 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： $200 \times g$ ，离心 5 min）。
- 吸去上清液，逐滴加入适量hMSC高效冻存液于离心管中，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：

6.1 将含有细胞悬液的冻存管置于已经 4℃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℃冰箱中, 24 h 后移入液氮罐长期保存(温度不高于-135℃)。

6.2 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℃(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℃)。

五、复苏 MSC

1. 从液氮罐中取出冻存的细胞, 置于干冰上运至细胞间。
2. 立即放入 37℃水浴锅中一边摇匀一边快速解冻。
3. 待冻存管中细胞混合液融化至仅余少量冰快, 取出冻存管, 消毒后转移至生物安全柜内。
4. 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。
5. 离心收集细胞 (参考离心条件: $200 \times g$, 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℃, 5%CO₂, 饱和湿度的培养箱中继续培养。