

# hMSC 高效冻存液

## 使用说明书

### 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

1. 保存温度: 4°C。
2. 有效期: 12 个月。

### 四、冻存 MSC

1. 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）。
2. 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。
3. 离心收集细胞（参考离心条件:  $200 \times g$ , 离心 5 min）。
4. 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。
5. 将离心管中的细胞混合液分装于已标记完全的冻存管中。
6. 梯度程序降温：

6.1 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) 。

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°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

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°C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 预热的培养液, 同时摇匀。取 1 mL 预热的培养液洗涤冻存管, 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 × 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% CO<sub>2</sub>, 饱和湿度的培养箱中继续培养。