

## novastem-MSC 培养体系转换 操作说明

### 一、 培养基配制

添加物建议在 37°C 环境下融化，融化的时候不要完全融解，留有一个小冰晶，因子活性最好。完全培养基配制后，一个月内用完，如果培养体系小，建议根据实际用量将添加物分装冻存，按照比例配制使用，避免反复冻融。

### 二、 培养体系转换

新的培养体系转换时需要进行适应性培养过度一下，其他培养体系转换到华辰 novastem-MSC 时，初始细胞扩增倍数可能较低。建议原培养基和 novastem-MSC 完全培养基按照 1:1 混合后复苏接种，培养 1 个代次后可以完全转换到 novastem-MSC 体系。

一般传代 1-2 次，细胞扩增可恢复正常。传代次数越多，越能体现出 novastem-MSC 培养基的优势。本培养基培养的细胞增殖速度快，扩增倍数高，且高代次细胞不易衰老和分化。

如果有条件的情况下，建议从原代开始培养。

### 三、 细胞接种密度

复苏代次接种建议按照 8000 个/cm<sup>2</sup>；

P1-P7 传代建议按照 7000 个/cm<sup>2</sup>；

P8-P10 传代建议按照 8000 个/cm<sup>2</sup>；

P11-P15 传代建议按照 9000 个/cm<sup>2</sup>；

P15 代以上建议按照 10000 个/cm<sup>2</sup>；

细胞复苏时，可按照细胞活力不同适当提高接种密度 10%-20%。不同培养体系的接种密度不相同，请注意区别。

### 四、 细胞传代时间

一般为 3 天 (72h±2h)，细胞融合度在 90% 左右进行传代。

### 五、 培养基用量

建议培养基用量为 0.2ml/cm<sup>2</sup>，T175 建议用 30-35ml 培养基用量。

无需包被，连续培养 3 天无需换液。

### 六、 细胞消化

建议选用比较温和的胰酶，例如 Gibco TrypLE™ Express 酶（重组，1X）用 PBS 按照 1:1 稀释，配制成胰酶工作液后使用。消化时间一般 3-5 分钟。消化 2-3 分钟后，可轻轻拍打培养容器，观察到大多数细胞脱落时即可用培养基终止消化。