**AdvCell®****造血干细胞无血清培养基**

 BioWiseTech研发的AdvCell® 造血干细胞无血清培养基﹙BHSC0001﹚的核心是采用无血清替代物为细胞提供一个营养全面和平衡的环境,适用于人及哺乳类造血干细胞的研究及应用。产品严格无菌，无病毒和支原体，性能稳定，使用该培养基能使造血干细胞在理想营养平衡状态下进行多代扩增而不发生分化（至少15代以内）。

* **产品号**

Cat NO: BHSC0001

* **产品名称**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 名称 | 产品号 | 规格 | 储藏条件 | 运输 |
| AdvCell®造血干细胞基本培养基AdvCell® Hematopoietic Stem Cell Base Medium | BHSCBM0001 | 500 ml | 2-8℃/ 避光 | 冰袋 |
| AdvCell® 造血干细胞添加物AAdvCell®Hematopoietic Stem Cell Supplement A | BHSCS0001A |  20 ml | -20℃/ 避光 | 干冰 |
| AdvCell® 造血干细胞添加物BAdvCell® Hematopoietic Stem Cell Supplement B | BHSCS0001B |  1 ml | -20℃/ 避光 | 干冰 |

* **产品适用范围**

 适用于人及哺乳类来源的人及哺乳类造血干细胞的培养及扩增。

* **培养条件**

 37℃，5％ CO2 无菌恒温培养。

* **操作步骤**

 以下过程作为常规造血干细胞培养的一般准则，如需在生物反应器或培养袋中高密度培养，应优化条件来确定最佳的操作步骤，BHSC0001中各组分（BHSCBM0001、BCV001、BHSCS0001A、BHSCS0001B）在使用前37℃解冻之后混合制备成完全培养基。

**【细胞培养】**

1. 经磁珠或其他方法富集的造血干细胞在37℃的水浴快速解冻或温浴（〈1 分钟）。
2. 用生理盐水洗涤细胞后，加入AdvCell®造血干细胞培养完全培养基，并迅速加入细胞生长因子

（SCF：50 ng/ml, GM-CSF:20 ng/ml, G-CSF: 20 ng/ml, IL-3:20 ng/ml, IL-6:20 ng/ml, EPO:3 U/ml, TPO:4 U/ml）。

3.在37℃，5％CO2 的潮湿培养箱中或生物反应器中培养细胞，给予并维持细胞在对数期生长所需要的营养。为了保持细胞在对数期的增长，当细胞密度超过1×106/ml 时，需要分离传代，维持细胞密度在0.5-1×106/ml（例如， 2×106个细胞/ml 以上，按1：4 比例0.5×106 细胞/ml）。在静态平板培养中为了获得最佳的气体交换，建议培养基深度不超过1 到1.2 cm。

4.将离心机的升速与降速调至最低，400 g 离心 30 min；离心结束后，用 5 ml 移液管吸取中间白膜层于

 新的 50 ml 离心管，并用生理盐水洗涤离心两次，以去除多余血细胞。

1. 当细胞生长到第三天离心换液 （ 340 g离心10 min ）更换新鲜培养基及相关细胞因子。
2. 当培养液体积大于 150 ml 或细胞数量大于 1.5 ×108 时则需转移至培养袋培养（气泡尽量排空，以

 免影响细胞生长）。

7.当细胞达到所需剂量时，即可离心收集细胞待用。