

心肌细胞(CM)维持培养基使用说明

Cat NO：IMI-CM01M

产品描述

心肌细胞(CM)维持培养基是一种适用于人类心肌细胞（Human cardiomyocyte, hCM），无血清，无动物源成分的完全培养基，hCM 在本培养基中可以持续存活并保持标志物 Cardiac Troponin T 的表达以及维持其搏动功能，适用于体外研究。

产品信息

表 1. CM 维持培养基组成信息

产品货号	产品名称	产品规格	储存
IMI-CM01M1	CM 维持基础培养基	200 mL	2℃-8℃， 12 个月
IMI-CM01MA	CM 维持培养基补充剂 （25×）	8 mL	-20℃， 6 个月

注：括号内容如 25×为母液浓度，使用时终浓度需为 1×。例如 CM 维持培养基补充剂（25×）需添加进 CM 维持基础培养基使其稀释 25 倍，使得补充剂终浓度为 1×，配成 CM 维持培养基。

实验试剂与材料

表 2. 推荐试剂&材料

试剂&材料	品牌（e.g.）	货号（e.g.）
Y-27632	逸漠生物	IMC-014-Y
DMEM/F12 培养基	逸漠生物	IMC-205
0.25%胰蛋白酶消化液(含 EDTA，含酚红)	逸漠生物	IMC-501
PBS	逸漠生物	IMC-401
6 孔细胞培养板	NEST	N/A
15 mL/50 mL 离心管	硕华生物	N/A
10 μL/200 μL/1000 μL 无菌吸头	佳顺生物	N/A
10mL/50mL 移液管	NEST	N/A
Matrigel	Corning	354277
心肌细胞消化液	逸漠生物	IMI-M001X

实验内容与方法（以6孔板 1个孔为例）

一、完全培养基配制

- (1) 在 4℃解冻 CM 维持培养基补充剂（25×），不要在 37℃条件下解冻。
- (2) 在生物安全柜中，按照实验用量，例如若用量为 50 mL，配制方法为 48mL CM 维持基础培养基+2 mL CM 维持培养基补充剂（25×）配成 CM 维持培养基。
- (3) 培养基建议现配现用，置于 4℃储存，2 周内使用。

注：补充剂可根据使用量进行分装以避免反复冻融。

二、CM 复苏

- (1) 将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，加 4mL CM 维持培养基（含 10 μ M IMC-014-Y）混合均匀。在 300g 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL CM 维持培养基（含 10 μ M IMC-014-Y）后吹匀。
- (2) 将所有细胞悬液加入含适量 CM 维持培养基（含 10 μ M IMC-014-Y）的基质胶或 laminin 521 包被的六孔板（1 孔）中培养过夜。
- (3) 24h 后，换成不含 IMC-014-Y 的 CM 维持培养基，视培养基颜色或隔 2 天换液。

三、细胞传代（当有实验需求时可按培养器皿底面积 1:1 比例接种传代）

- (1) 弃去培养基，若基质胶包被，则每孔加入 1mL 心肌细胞消化液（货号 IMI-M001X），置于 37℃培养箱消化 1-2 h。若 laminin 521 包被，则加入 0.25%胰蛋白酶消化液消化，5min。
- (2) 消化结束后每孔加入等量 CM 维持培养基（含 10 μ M IMC-014-Y），轻轻敲打细胞，使细胞解离成单细胞。
- (3) 将细胞悬液收集到 15 mL 离心管中，室温下 300 g 离心 3 min。
- (4) 仔细抽吸上清液，不干扰细胞，用 1mL 恢复室温的 CM 维持培养基重悬细胞（含 10 μ M IMC-014-Y），轻轻地上下移液以确保细胞溶液均匀。
- (5) 使用 CM 维持培养基（含 10 μ M IMC-014-Y）稀释细胞，以 1:1 比例（按底面积换算）接种到基质胶或laminin 521包被的六孔板或 35mm 皿中培养过夜。24h 后，换成不含 IMC-014-Y 的 CM 维持培养基，视培养基颜色或隔 2 天换液。