

ExCell Bio

OptiVitro[®] MSC 增生无血清培养基（无酚红）说明书

本品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗

User Manual

Catalog Number ME000-N061

ME000-N061S



产品概述

OptiVibro® 间充质干细胞（mesenchymal stem cells, MSCs）增生无血清培养基，是一种为纯化的人间充质干细胞（human mesenchymal stem cells, hMSCs），在无血清、无异源体成分、无酚红条件下的培养、扩增而进行开发优化的完全培养基。使用本品可以维持间充质干细胞的长期培养及多次传代，同时能够较好地维持其多种分化潜能，如分化为骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞的能力。

产品规格及储存条件

产品名称	货号	规格	存储条件	有效期
MSC增生无血清培养基（无酚红）	ME000-N061	1 kit	—	—
MSC增生无血清基础培养基（无酚红）	BA0011	500 mL	2- 8°C 避光保存	12个月
MSC增生无血清添加组分	BA0021	5 mL	-20°C 避光保存	12个月
MSC增生无血清培养基（无酚红）	ME000-N061S	1 kit	—	—
MSC增生无血清基础培养基（无酚红）	BA0011S	100 mL	2- 8°C 避光保存	12个月
MSC增生无血清添加组分	BA0021S	1 mL	-20°C 避光保存	12个月
关联产品：重组胰酶消化液RF01	RF000-N031	200mL	2- 8°C 避光保存	18个月

产品应用与使用限制

本品仅供科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗。此产品在临床诊断和治疗应用中的安全性和功效未确定。

为了达到理想的细胞培养效果，本品可以直接使用，也可以根据细胞类型或研究需求，额外添加需要的细胞生长因子或激素等。

实验结果可能因人间充质干细胞/前体细胞供体细胞系的不同而可能会出现一定的差异。

本产品不含有酚红成分，不含有血清及异源体成分，不含有抗生素，如有需要可额外添加。

产品需要在有效期内使用。

稳定性与存储

MSC 增生无血清基础培养基，2-8°C避光储存（避免阳光直射或紫外灯照射，日常使用时日光灯照射不受影响，长期保存请存储于不透光冰箱），在产品有效期内可以保持产品性能稳定。

MSC 增生无血清添加组分，需存储于-20℃环境，在产品有效期内可以保持产品性能稳定。

- 使用前，添加组分室温解冻、摇匀后，静置 5min 使溶液溶解均匀后进行使用或分装，反复冻融不超过 3 次，分装后的试剂可在-20℃保存 3 个月，或暂存于 2-8℃环境，并在 1 个月内用完。

I 实验材料和试剂

1. 实验设备及材料（自备）

人脐带间充质干细胞（human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells, hUC-MSCs）；重组胰酶消化液 RF01（ExCell Bio, RF000-N031）；PBS 溶液；T-175 细胞/组织培养瓶；15mL、50 mL 离心管；移液管；移液枪和枪头；二氧化碳细胞培养箱；离心机；细胞计数仪，或血球计数板；倒置显微镜；水浴锅等。

1. 培养基的配制

- (1) 取 500 mL MSC 增生无血清基础培养基(BA0011)，加入 5mL MSC 增生无血清添加组分(BA0021)，混合均匀即为 MSC 无血清扩增完全培养基。
- (2) MSC 扩增完全培养基配制后，存储于 2-8℃环境，避免阳光直射与紫外照射，并在 2 周内使用完毕。

I 操作方法

一、间充质干细胞培养

1. 在室温下预平衡适量的 MSC 无血清扩增完全培养基，每个培养瓶需要 35-53 mL 的培养基；
2. 复苏或传代收集脐带间充质干细胞，根据细胞数量，根据细胞密度用 MSC 无血清扩增完全培养基重悬细胞，按工艺需求评估接种密度，接种培养；

注意 1：细胞为其他培养体系培养冻存的细胞，首次使用本品，建议使用 1:1 混合培养基，即本品无血清培养基：冻存前使用培养基= 1: 1。

注意 2：如果使用不同尺寸的组织培养器，推荐接种密度为低密度 3000-5000/cm²，72-96h 传代；或高密度 8000-10000/cm²，48-72h 传代；培养基用量 0.2-0.3mL/cm²，即 35-53mL 每 T-175 培养瓶；每 48-72h 进行换液。

3. 将细胞放在 37℃，5% CO₂，饱和湿度的环境中培养。每 2-3 天更换培养瓶中的培养基，并加入 35-53 mL 新鲜培养基；

注意：换液时，将培养基添加到培养瓶的底部，避免直接吹打细胞培养表面，以免损伤细胞。

4. 细胞扩增至铺满瓶底 80-90%时，进行传代培养，不要让细胞扩增超过 90%或完全铺满瓶底。

二、间充质干细胞传代培养

根据预估的细胞量，室温预平衡试剂，每个培养瓶预计需要 45-63 mL 的 MSC 扩增完全培养基，20mL PBS 缓冲液，10mL 的消化液。

1. 清洗：吸去培养瓶中的培养基，每个 T-175 培养瓶用 10 mL 的 PBS 润洗细胞一次；
2. 消化：加入 10mL 重组胰酶消化液，摇动皿底，使消化液浸润整个细胞生长表面后，室温消化 2-6 min，摇动拍打瓶壁，镜检观察，约 80%以上细胞脱落时，加入等体积 MSC 无血清扩增完全培养基或 PBS 溶液稀释消化液，吹打使细胞分散成单细胞，进行细胞计数；

注意：如使用培养瓶，消化后轻拍瓶壁，使细胞脱落，如消化不彻底，继续消化 1-2min。

3. 收集：300g，5min 离心收集细胞沉淀；
4. 清洗：加入 10mL PBS 溶液吹打重悬细胞，300g，5min 离心，弃上清，收集细胞沉淀（**推荐步骤，可避免细胞消化后残留消化液对无血清体系下细胞贴壁产生影响**）；

注意：植块法分离的原代间充质干细胞，首次传代时（P0 到 P1），无血清培养基体系下细胞贴壁易受消化液影响，消化后需要用 PBS 清洗细胞。

注意：请勿将细胞长时间静置于操作管内，操作时间过长（培养基内放置 15 分钟以上），部分细胞会粘附于操作管壁上，造成丢失。

5. 接种：用完全培养基重悬细胞，按照 $1.40-1.75 \times 10^6$ 每瓶的细胞量，将细胞悬液接种于多个 T-175 培养瓶中，补加完全培养基至每瓶 35-53 mL；
6. 培养：将细胞放在 37°C，5% CO₂，饱和湿度的环境中培养；
7. 冻存：步骤 4 结束后，加入细胞冻存液轻柔吹打重悬细胞，（注意：冻存液即用即拿，及时放回冷藏冰箱），转移至细胞冻存管中做好标记，冻存管置于程序降温盒（ExCell，CS041-0001）中置于 -80°C 过夜，24h 后转至液氮中进行长期保存。

I 安全信息

此产品含有人血白蛋白成分，使用材料为符合国家批准的可临床应用的原材料，有明确的来源、批号及质量报告。人源材料经过艾滋病病毒（HIV-1/2）抗体、乙肝表面抗原（HBsAg）抗体和丙肝病毒（HCV）检测，检测结果呈阴性。然而，此培养基仍然应该作为潜在的传染源来对待，使用时严格遵守安全实验手册，并穿戴防护设备，避免直接接触。过度接触此培养基的短期与长期影响未知。