

ExCell Bio

OptiVibro[®]

MSC 无血清扩增试剂盒 ME01 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-N071

ME000-N071S



产品概述

MSC (mesenchymal stem cells, 间充质干细胞) 无血清扩增试剂盒 ME01, 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、无酚红条件下进行原代分离、传代扩增而定制、优化的完全培养基。本品可支持植块法、消化法等多种方法的 MSC 原代分离, 并可以维持 MSC 长时间及多代次的培养, 同时能够较好地保持其多种分化潜能 (如分化为骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞的能力) 及表面标志物。

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无血清扩增试剂盒ME01	ME000-N071	1 kit	—	—
含: MSC增生无血清基础培养基ME01	BA0221	500 mL	2- 8°C 避光保存	12个月
MSC增生无血清添加组分ME01	BA0231	12 mL	-20°C 保存	12个月
MSC无血清扩增试剂盒ME01 (试用装)	ME000-N071S	1 kit	—	—
含: MSC增生无血清基础培养基ME01	BA0221S	100 mL	2- 8°C 避光保存	12个月
MSC增生无血清添加组分ME01	BA0231S	2.4 mL	-20°C 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。

本产品需要在有效期内使用。

I 产品信息：稳定性与存储

MSC 增生无血清基础培养基 ME01，2-8°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 ME01，需存储于-20°C 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进行分装，反复冻融不超过 3 次，分装后的试剂可在-20°C 保存 3 个月，或暂存于 2-8°C 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）；DPBS 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。

2. 培养基的配制

- (1) 将 12mL/2.4mL MSC 增生无血清添加组分 ME01 (BA0231 或 BA0231S)，添加入 500 mL/100mL MSC 增生无血清基础培养基 ME01 (BA0221 或 BA0221S) 内，混合均匀即为 MSC 无血清扩增完全培养基。

注意：此配制比例适用于脐带间充质干细胞的复苏和传代培养。采用植块法分离原代细胞时，MSC 增生无血清添加组分 ME01 (BA0231 或 BA0231S) 的添加比例建议为上述 2 倍，传代后可恢复原比例。

- (2) MSC 扩增完全培养基配制后，存储于 2-8°C 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、间充质干细胞复苏培养

1. 在室温下预平衡适量的 MSC 无血清扩增完全培养基，每个 T-175 培养瓶需要 35-53 mL 的培养基；
2. 离心去除冻存液后，收集复苏的脐带间充质干细胞，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后接种细胞；

注意：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。

3. 将细胞放在 37°C, 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。

注意: 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 T-175 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 6-10mL 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;

注意 1: 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 2: 请勿将细胞长时间静置于离心管内, 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 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, 缓慢加入细胞冻存液, 轻柔吹打重悬细胞 (冻存液即用即拿, 及时放回冷藏冰箱), 转移至做好标记的细胞冻存管中, 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。