

ExCell Bio

OptiVitro[®] MSC 增生无血清培养基 说明书

Catalog Number ME000-N023

ME000-N023S



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、无异源成分条件下培养、扩增而进行定制、优化的完全培养基。使用 OptiVibro® MSC 增生无血清培养基, 可以维持间充质干细胞长时间培养及多次传代, 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
OptiVibro® MSC增生无血清培养基	ME000-N023	1 kit	—	—
OptiVibro® MSC增生无血清基础培养基	ME000-N023 (1 of 2)	500 mL	2- 8°C 避光保存	9个月
OptiVibro® MSC增生无血清添加组分	ME000-N023 (2 of 2)	5 mL	-20°C 避光保存	12个月
OptiVibro® MSC增生无血清培养基 (试用装)	ME000-N023S	1 kit	—	—
OptiVibro® MSC增生无血清基础培养基	ME000-N023S (1 of 2)	100 mL	2- 8°C 避光保存	9个月
OptiVibro® MSC增生无血清添加组分	ME000-N023S (2 of 2)	1 mL	-20°C 避光保存	12个月
关联产品信息: OptiVibro® 细胞温和消化酶	—	—	—	—
OptiVibro® 细胞温和消化酶	RF000-N021	100mL	2- 8°C 避光保存	18个月
OptiVibro® 细胞温和消化酶 (试用装)	RF000-N021S	50mL	2- 8°C 避光保存	18个月

产品应用与使用限制

本品仅供科学研究使用, 不用于临床疾病诊断。此产品在疾病诊断和其他临床应用的安全性和功效未确定。

为了达到理想的细胞培养效果, OptiVibro® MSC 增生无血清培养基可以直接使用, 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因子。

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。

此产品不含抗生素, 如有需要可额外添加。

产品需在有效期内使用。

产品信息: 稳定性与存储

OptiVibro® MSC 增生无血清添加组分, 需存储于-20°C以下环境 (建议存储于非自动除霜冰箱, 维持试剂处于冷冻状态, 并且维持较小温度波动), 在产品有效期内可以保持产品性能稳定。

OptiVibro® MSC 增生无血清基础培养基, 2-8°C避光条件下储存, 在产品有效期内可以保持产品性能稳定。

- 使用前，OptiVidro® MSC 增生无血清添加组分室温解冻，解冻后立即使用，或者进行分装（如分装 1 mL/支），分装后的试剂可在-20℃环境储存 6 个月，或暂存于 2-8℃环境，并在 1 个月内用完。请避免反复冻融，并且在产品有效期内使用。
- OptiVidro® MSC 增生无血清培养基（由 OptiVidro® MSC 增生无血清基础培养基和 OptiVidro® MSC 增生无血清添加组分混合后形成），在 2-8℃避光条件下储存，建议 2 周内使用完毕。

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）；细胞温和消化酶（ExCell Bio, RF000-N021）；PBS 溶液；T-75 细胞/组织培养瓶；15 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；细胞计数器，或血球计数板；倒置显微镜；水浴锅等。

2. 培养基的准备

准备 OptiVidro® MSC 增生无血清基础培养基和 OptiVidro® MSC 增生无血清添加组分。

在使用 OptiVidro® MSC 增生无血清添加组分前，预先室温解冻，或在 2-8℃环境解冻。

OptiVidro® MSC 增生无血清添加组分吸吹混匀后，取 5 mL，加入到 500mL 的 OptiVidro® MSC 增生无血清基础培养基中，配制成 MSC 增生无血清培养基。

提示：如有需要，可向 MSC 增生无血清培养基内添加盘尼西林和链霉素等抗生素；以下的详细介绍适用于 T-75 培养瓶培养，可根据实际培养容器调整所需液体体积。

操作方法

一、间充质干细胞培养

1. 在室温下预平衡适量的 OptiVidro® MSC 增生无血清培养基，每个培养瓶需要 25-30 mL 的培养基；
2. 新鲜复苏收集，或通过传代培养消化收集脐带间充质干细胞，根据细胞数量，按照每 $6.0-7.5 \times 10^5$ 细胞加入 10 mL 预平衡的 MSC 增生完全培养基重悬（复苏细胞为其他培养体系冻存细胞，首次复苏，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：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 15-23mL 每 T-75 培养瓶；每 48-72h 进行换液。

3. 将细胞放在 37-38°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 15-20 mL 新鲜预平衡的 OptiVibro® MSC 增生无血清培养基;

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 20-30 mL 的 OptiVibro® MSC 增生无血清培养基, 20mL PBS 缓冲液, 6mL 的细胞温和消化酶。

1. 清洗: 吸去培养瓶中的培养基, 每个 T-75 培养瓶用 6-10 mL 的 PBS 润洗细胞一次;
2. 消化: 加入 4ml 细胞温和消化酶 (ExCell Bio, RF000-N021), 摇动皿底, 使消化液浸润整个细胞生长表面后, 37°C 消化 3-6min, 镜检观察, 约 80-90%细胞收缩变圆时, 加入 4ml 基础培养基或 PBS 溶液重悬细胞, 吹散后计数 (或接种前计数);

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, 继续放入 37°C 消化 1-2min。

3. 收集: 300g, 5min 离心收集细胞;
4. 清洗: 加入 5mL PBS 溶液吹打重悬细胞, 300g, 5min 离心, 弃上清, 收集细胞 (**推荐步骤, 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, 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 $6.0-7.5 \times 10^5$ 每瓶的细胞量, 将细胞悬液接种于多个 T-75 培养瓶中, 补加完全培养基至每瓶 15-20 mL;
6. 培养: 将细胞放在 37-38°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 Bio, CS041-0001) 中置于 -80°C 过夜, 24h 后转至液氮中进行长期保存。

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。