

ExCell Bio

OptiVitro[®] 血清替代物（GMP 级）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

货 号

RF020-N022

RF020-N021

RF020-N021S



| 产品概述

OptiVidro® 血清替代物（GMP 级）是一种无外源性的高性能细胞培养补充剂，产品在合规 GMP 生产环境下制备，富含多种高浓度生长因子、细胞因子及生物活性蛋白，不含亦无需添加肝素等抗凝成分，且未添加任何抗生素，可高效支持多种细胞的体外扩增，是胎牛血清或人 AB 血清的高品质替代方案。

| 产品特点

新鲜原料，性能卓越：本品在 GMP 合规环境下生产，全流程严格质控，可广泛适配免疫细胞、内皮细胞、成纤维细胞等多类细胞培养，尤其对间充质干细胞（mesenchymal stem cell, MSC）具有优异促增殖能力，整体性能显著优于传统血清。全程采用新鲜原料，保障高品质、高稳定性细胞扩增效果。

批量均质，批次稳定：本产品采用大规模混合多份原料的工艺，依托 GMP 标准化生产管控进一步缩小批间波动大幅降低批间差异，实现科研与工业化生产级别的高批间一致性，保障实验重复、量产稳定。

三重安防，极致安全：GMP 全链条质量监控加持，产品无菌、无支原体、低内毒素，安全性与生物活性双向兼顾。

免加肝素，操作高效：本产品生产工艺中已有效处理抗凝问题，使用过程中无需额外添加肝素，操作更简便。

使用便捷，场景广泛：本产品可直接按比例添加至基础培养基，提供多种规格选择，便于各类规模细胞培养体系的应用。

| 产品规格及储存、运输要求

品名	货号	规格	存储条件	运输条件	有效期
OptiVidro® 血清替代物 (GMP 级)	RF020-N022	500 mL	-20°C 遮光	<0°C 遮光	24 个月
	RF020-N021	100 mL			
	RF020-N021S	10 mL			

| 产品注意事项

- 血清替代物应在干冰条件下运输。建议收到血清替代物后尽快将其储存在 -20°C 或更低温度下，长期储存建议置于 -80°C 环境下。
- 使用前，将冷冻的血清替代物产品在 4°C 下过夜解冻，或在 37°C 水浴中解冻 1h 左右。水浴解冻时应注意观察，轻摇避免局部过热，注意冰块将要融化完全时取出。

- 血清替代物产品一经解冻，建议一次性将其完全用完。若无法一次性用完，为避免产品效价降低，建议将未使用的血清替代物分装并保存在 -20°C 或更低温度下，避免反复冻融。配制好的培养基（例如 5% 血清替代物体积比）可在 4°C 下保存两周。
- 本品冻融过程中可能产生少量颗粒物质，属于正常物理现象，并非产品污染，且不会影响细胞培养相关性（包括细胞增殖、分化）。为降低颗粒生成风险，应尽量减少冻融循环次数，建议分装后一次性使用。推荐采用 37°C 水浴方式解冻，可明显减少或消除沉淀；若解冻后仍存在不溶性颗粒，可通过低速离心（ $3500\times g$, 5-10 min）去除颗粒后使用。
- 当产品需要转运至洁净区内使用时，灭菌方式只能采用消毒剂擦拭灭菌，不能使用紫外灭菌。
【注意】在经过带有紫外的传递窗时，需要主动关闭传递窗内的紫外灯。

实验材料和试剂

细胞	间充质干细胞
试剂与耗材	OptiVibro [®] 血清替代物（GMP 级）（ExCell, RF020-N02#）、MSC 无血清培养基 MH02（ExCell, MH000-N021）、OptiVibro [®] 重组胰酶消化液 RF01（ExCell, RF000-N031）、DPBS 溶液、细胞/组织培养瓶、离心管、移液管、移液枪和枪头
仪器	二氧化碳细胞培养箱、离心机、细胞计数仪、倒置显微镜、水浴锅等

操作方法

本产品效果因细胞类型和培养介质种类而异，建议用户根据实际应用，通过实验确定最佳工作浓度，推荐使用范围为 2% - 10% (vol/vol)。以 MSC 无血清培养基 MH02 加入 2% 血清替代物为例：

培养基的配制

- 使用前，将冷冻的血清替代物产品在 4°C 下过夜解冻，或在 37°C 水浴中解冻 1h 左右。水浴解冻时应注意观察，冰块将要融化完全时立即取出，摇匀并置于 4°C 环境存放。
- 将 0.5 mL MSC 无血清培养基添加组分 MH02 室温放置 5-10 min 直至完全溶解，添加入 500 mL MSC 无血清基础培养基 MH01 内，再加入 10 mL 血清替代物，混合均匀后即成为 MSC 无血清扩增完全培养基。
- 配制完成的 MSC 完全培养基可置于 4°C 保存，有效期约为两周。

间充质干细胞培养

- 取出适量的 MSC 完全培养基，在室温下放置 30-60 min 使其恢复至室温，每个 T-175 培养瓶需要 25 mL 的培养基；
- 复苏或传代收集间充质干细胞，根据细胞数量用完全培养基重悬细胞至 $1-5\times 10^6\text{cells/mL}$ ，按工艺需求评估接种密度，接种培养。

【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 4000 cells/cm²，96 h 传代；或高密度 8000 cells/cm²，72 h 传代；培养基用量每 T-175 培养瓶 25 mL。

3. 将细胞放在 37℃，5% CO₂，饱和湿度的环境中培养。
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。

间充质干细胞传代培养

根据预估的细胞量，取出适量的完全培养基、DPBS 缓冲液、消化液，在室温下放置 30-60 min 使其恢复至室温。

1. 清洗：吸去培养瓶中的培养基，每个 T-175 培养瓶用 10 mL 的 DPBS 润洗细胞一次；
2. 消化：加入 6 mL 消化液，摇动皿底，使消化液浸润整个细胞生长表面后，37℃消化 3-5 min，摇动拍打瓶壁，在显微镜下观察，约 80%以上细胞脱落时，加入等体积细胞培养上清或 DPBS 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，细胞脱落，如消化不彻底，继续消化 1-2 min。如细胞生长过密，消化时细胞可能成片脱落。如遇此情况，需增加吹打次数使细胞分散成单细胞，或离心后以更小体积重悬从而确保细胞沉淀分散成单细胞。

3. 收集：300g，5 min 离心收集细胞沉淀；
4. 清洗：加入 10 mL DPBS 溶液吹打重悬细胞，300g，5 min 离心，弃上清，收集细胞沉淀；

【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 DPBS 清洗细胞。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 min 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 1.40×10^6 cells/瓶 T-175 的细胞量（或按 1:7 的比例传代），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 25 mL；

【注意】若接种密度过高或培养时间过长，可能出现细胞生长过密引起细胞结团的现象。

6. 培养：将细胞放在 37℃，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℃ 过夜，24 h 后转至液氮中进行长期保存。

免责声明

1. 产品应按照说明书指导使用，实验者未按说明书操作，本公司不对由此导致的产品性能偏离承担责任；
2. 产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，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。