

MesenPlify™ sXF

无血清无异种成分人类间充质干细胞扩增培养基试剂

产品代码 C0001

产品说明书

一. 产品描述

MesenPlify™ sXF (MesenPlify™ 无血清无异种成分人类间充质干细胞扩增培养基) 是一种**无异源动物成分、无涂层、无血清**的完整培养基配方, 旨在支持体外培养和增殖人类间充质干细胞。MesenPlify™ sXF 培养基能够显著促进细胞的长期维持和增殖, 同时保留其多向分化潜能 (成骨、成脂、成软骨) 和重要细胞表面标记物 (CD73、CD90、CD105), 如 International Society for Cell and Gene Therapy (ISCT) 的最低标准所定义。

MesenPlify™ 无血清无异种成分人类间充质干细胞扩增培养基经过测试验证, 适用于培养多种类型的人类间充质干细胞, 包括骨髓源性 (BM-MSC)、脂肪源性 (AD-MSC) 和脐带源性 (UC-MSCs)。

二. 特性

MesenPlify™ 无血清无异种成分人类间充质干细胞扩增培养基配方中添加了人源血小板裂解产物 (hPL), 作为胎牛血清 (FBS) 的无异种替代品, 常用于细胞存活和扩展。研究表明, 与 FBS 相比, hPL 在批次之间具有更好的一致性。

三. 产品信息

MesenPlify™ 无血清无异种成分人类间充质干细胞扩增培养基 细胞培养套装包括两个材料:

产品	产品代码	体积	储存条件	保质期
MesenPlify™ sXF 扩增培养基	S0001	235mL	2-8°C	自制造日期起 1 年有效。
MesenPlify™ sXF 扩增补充剂	SU0001	15mL	-15-25°C	自制造日期起 1 年有效。

以上任何一个材料均不含抗生素。

MesenPlify™ sXF

无血清无异种成分人类间充质干细胞扩增培养基试剂

产品代码 C0001

产品说明书

四. 所需但未提供的材料

0.25% 胰蛋白酶 Trypsin

生理盐水 D-PBS (无镁无钙)

培养皿和培养瓶, Culture dish and flasks

聚丙烯锥形管 Polypropylene conical tubes

五. 安全信息

将所有人源材料 (例如 hMSCs、hPL) 视为潜在传染源。

阅读产品安全技术说明书 (SDS), 遵循生物安全级别 2 (BSL-2) 的实践方法, 穿戴适当的个人防护装备, 在经过认证的生物安全柜中处理这些材料。

六. 制备完整培养基

注意: 所有步骤需采用无菌技术执行。

6.1. 在室温或 2-8°C 下解冻 MesenPlify™ sXF 扩增补充剂 (产品代码 SU0001), 不要在 37°C 下解冻。

注意: 解冻后立即使用, 或将其分装到聚丙烯管中并在 -20°C 下冷冻存储。不要超出各个材料的保质期使用。不要重新冷冻分装后的补充剂。)

6.2. 将 15 毫升的 MesenPlify™ sXF 补充剂加入到 235 毫升的 MesenPlify™ sXF 扩增培养基 (产品代码 S0001) 中, 至 250 毫升。充分混合。

6.3. 将制备好的完整 MesenPlify™ sXF 培养基储存于 2-8°C 的阴凉处, 避光, 最长可保存 2 周。

注意: 如有需要, 可以进行额外的 0.2 微米过滤步骤。如有需要, 抗生素可以添加到最终完整培养基体积的 1%。

MesenPlify™ sXF

无血清无异种成分人类间充质干细胞扩增培养基试剂

产品代码 C0001

产品说明书

七. 使用指南

A. 冷冻保存的 hMSCs 的复苏过程

- A.1. 将完整的 MesenPlify™ sXF 培养基提前预热至 37°C。
- A.2. 在 37°C 的水浴中迅速解冻冷冻的 hMSC，直到剩余少量冰块。
- A.3. 将小瓶内的内容转移到一个 15 毫升锥形管中。缓慢地滴加 10 毫升完整的 MesenPlify™ sXF 培养基到锥形管中。
- A.4. 以 **300 x g** 的速度在室温下离心 5 分钟。
- A.5. 弃去上清液以去除二甲基亚砜(DMSO)保护剂。
- A.6. 用 1 毫升完整的 MesenPlify™ sXF 培养基重新悬浮细胞。
- A.7. 进行细胞计数。
注意：如果细胞密度超过细胞计数器的推荐范围，可能需要在培养基中进一步稀释样品。
- A.8. 使用完整的 MesenPlify™ sXF 培养基补充至适当体积。
建议：在 150 毫米培养皿中使用 30 毫升 MesenPlify™ sXF 培养基，在 T75 培养瓶中使用 15 毫升。详情请参考图表 1。
- A.9. 建议将细胞以每平方厘米 3,000-5,000 个细胞的密度种植在组织培养处理过的培养瓶中。
注意：当细胞刚从冷冻中恢复时，建议使用更高的种植密度。
- A.10. 在 37°C，5% CO₂ 的湿度控制 CO₂ 培养箱中培养细胞。

MesenPlify™ sXF

无血清无异种成分人类间充质干细胞扩增培养基试剂

产品代码 C0001

产品说明书

A.11. 每隔 3-4 天使用预热至 37°C 的完整 MesenPlify™ sXF 培养基进行完整培养基更换。细胞汇合度 **70-80%** 可选择传代。

B. hMSCs 的亚培养

B.1. 检查 hMSCs 细胞汇合度是否达到 70% - 80%。注意不要让 hMSCs 达到 100% 的密度，否则细胞会展示分化的迹象。

B.2. 将完整的 MesenPlify™ sXF 培养基预热至 37°C。

B.3. 用 10mL 的无钙无镁的 D-PBS（不包含在套装中）轻轻洗涤细胞一次。

B.4. 添加足够的胰蛋白酶（套装中未提供）以覆盖整个组织培养瓶的表面。

建议：每个 T75 培养瓶使用 3mL 胰蛋白酶，每个 150 毫米培养皿使用 5mL 胰蛋白酶。

B.5. 轻轻旋转培养瓶，使胰蛋白酶均匀分布在表面上。

B.6. 放在 37°C 培养箱中 2-5 分钟。

B.7. 使用相差显微镜检查细胞是否已脱落。轻轻敲击培养瓶的侧面以帮助脱落。

B.8. 一旦细胞脱落并自由漂浮，将完整的 MesenPlify™ sXF 培养基添加到胰蛋白酶体积的 2 倍。

建议：每个 T75 培养瓶使用 6 毫升完整的 MesenPlify™ sXF 培养基，每个 150 毫米培养皿使用 10 毫升完整的 MesenPlify™ sXF 培养基。

B.9. 将细胞收集到一个 15 或是 50 毫升锥形管中。

B.10. 以 **300 x g** 的速度在室温下离心 5 分钟。

MesenPlify™ sXF

无血清无异种成分人类间充质干细胞扩增培养基试剂

产品代码 C0001

产品说明书

B.11. 弃去上清液以去除胰蛋白酶。

B.12. 用 1 毫升完整的 MesenPlify™ sXF 培养基重新悬浮细胞。

B.13. 进行细胞计数。

注意：如果细胞密度超过细胞计数器的推荐范围，可能需要在培养基中进一步稀释样品。

B.14. 计算所需的培养基体积，以便以每平方厘米 3,000 - 5,000 个细胞的密度种植。

B.15. 使用完整的 MesenPlify™ sXF 培养基补充至适当体积。

建议：在 150 毫米培养皿中使用 30 毫升 MesenPlify™ sXF 培养基，在 T75 培养瓶中使用 15 毫升。详情请参考图表 1。

B.16. 在 37°C，5% CO₂ 的湿度控制 CO₂ 培养箱中培养细胞。

B.17. 每隔 3-4 天使用预热至 37°C 的完整 MesenPlify™ sXF 培养基进行完整培养基更换。细胞汇合度 **70-80%** 可选择传代。

C. hMSCs 的冷冻保存

C.1. 通过添加 20% 二甲基亚砷 (DMSO，套装中未提供) 制备 2 倍冷冻保存培养基。

C.2. 将细胞在预热的完整 MesenPlify™ sXF 培养基中重新悬浮，使细胞浓度为所需细胞浓度的两倍 (参考数目: 2×10^6 /mL)。

C.3. 将步骤 1 中制备的 2 倍冷冻保存培养基缓慢地加入细胞悬浮液中，并用移液管轻轻混合。

C.4. 将细胞转移到预冷的 (2°C - 8°C) 冷冻管中。

C.5. 将冷冻管放置在 -80°C 的冷冻容器中，第二天取出并将冷冻的细胞转移到液氮中进行长期储存。

MesenPlify™ sXF

无血清无异种成分人类间充质干细胞扩增培养基试剂

产品代码 C0001

产品说明书

D. hMSC 的特性分析

可以使用流式细胞术、集落形成单位 (CFU) 分析以及多向分化分析对培养的 hMSCs 进行特性分析。详情请参考指南手册获取信息 (Guide Book: Human Mesenchymal Stem Cells)。

E. hMSC 适应到 MesenPlify™ sXF 培养基的过程

如果使用其他品牌的 hMSC 培养基，建议先用原培养基进行复苏或传代，随后第二天直接将 hMSC 适应到完整的 MesenPlify™ sXF 培养基，无需进行预先处理。

表 1. hMSC 传代和培养操作推荐用量

培养器皿	底面积	MesenPlify sXF 完整培养基	胰蛋白酶用量
6 孔板	9.6cm ² /孔	2mL/孔	1mL/孔
T75 培养瓶	75cm ²	15mL	3mL
150 毫米培养器	145cm ²	30mL	5mL

保证

仅供研究使用 (RUO)，或用于进一步制造。

不适用于人类或动物诊断或治疗用途。

免责声明：尽管 InnoCellular 已采取一切合理措施确保所提供信息的准确性和正确性，但不提供关于此类信息准确性的任何保证。InnoCellular 保证其产品符合产品说明书中的建议并在产品保质期内使用时符合适用标准，如 CoA 所记录。如果出现保证违约情况，InnoCellular 的唯一责任是根据客户的及时通知，自行决定替换相关产品或其部分。在合理努力修复或替换产品无效的情况下，InnoCellular 将全额退还所支付的产品金额。

需要注意的是，InnoCellular 不对由于使用 InnoCellular 产品导致的任何客户经济损失、财产损坏等间接、附带、特殊或其他损害负责。