



型号: RMZ112

3D FloTrix®

间充质干细胞无血清培养基

(适用于MSC大规模扩增培养)

文件编号: RMZ112-DF0002

版本号: V2211



北京华龛生物科技有限公司
BEIJING CYTONICHE BIOTECH CO., LTD.

目录

1、产品概述	1
2、产品规格与配制	1
3、产品参数	1
4、稳定性与储存	2
5、产品应用与限制	2
6、操作方法	2
6.1、复苏 MSCs	2
6.2、传代&冻存 MSCs	3
6.3、3D 动态培养 MSCs	3
7、培养效果与产品推荐	5
7.1、2D 连续传代培养	5
7.2、3D 连续传代培养	6
7.3、相关产品推荐	6

1、产品概述

华鑫生物自主开发的 **3D FloTrix®间充质干细胞培养基**是一款无血清、无动物源成分的干细胞增殖和维持培养基。支持多种间充质干细胞的大规模连续扩增培养，适用于 2D、3D 培养模式，能够同时用于原代分离培养和传代培养。产品广泛应用于细胞治疗药物研发以及产业化生产等领域，能够助力生物制药客户加速药物开发进程和审批。

2、产品规格与配制

表 1：3D FloTrix®间充质干细胞无血清培养基产品规格

产品名称	型号	规格	储存条件	保质期
3D FloTrix®间充质干细胞无血清培养基	RMZ112	1Kit	2-8°C*	1年
套装包含：	3D FloTrix®间充质干细胞无血清基础培养基	500mL/瓶	2-8°C	1年
	3D FloTrix®间充质干细胞无血清培养基添加剂	25mL/瓶	-20°C	1年

*将基础培养基和添加剂混匀成完全培养基，可在 2-8°C中储存，建议 2 周内用完。

注：

完全培养基配制方法：①在 37°C水浴或室温条件下复温基础培养基，37°C水浴解冻培养基添加剂。②在生物安全柜中，使用无菌移液管将培养基添加剂加入至无血清基础培养基中，混匀后，完成完全培养基配制。

提示：可根据实际用量将添加剂分装后冷冻保存。例如将添加剂分装成 5mL×5 支。使用前解冻 5mL 添加剂与 100mL 基础培养基混合，配成完全培养基，2 周内使用。添加剂冻融总次数不超过 2 次。

3、产品参数

参数	结果
外观	澄清液体
pH 值	7.0~7.4
渗透压	270~340 mOsm/kg
无菌性	无菌
内毒素	≤0.25 EU/mL



4、稳定性与储存

3D FloTrix®间充质干细胞无血清基础培养基（500mL/瓶），2-8℃避光条件下储存，在产品有效期内可以保持产品性能稳定。

3D FloTrix®间充质干细胞无血清培养基添加剂（25mL/瓶），-20℃避光条件下储存（建议储存于非自动除霜冰箱，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。

5、产品应用与限制

3D FloTrix®间充质干细胞无血清培养基同时适用于多种组织来源的间充质干细胞的扩增培养，如脐带组织来源（UCMSCs）、脂肪组织来源（ADMSCs）、牙髓组织来源（DPSCs）等。

扩增水平与细胞的组织来源、细胞供体和细胞的培养条件有关，因此在实验中，扩增效果可能出现一定差异。

产品组分应在指定的储存条件下存放，并在产品有效期内使用。

产品仅供科研和生产使用。

6、操作方法

6.1、复苏 MSCs

以 T75 培养瓶操作为例，操作程序同样适用于其它二维培养容器

6.1.1 将水浴锅预热至 37℃，提前取出适量 3D FloTrix®间充质干细胞完全培养基复温。

6.1.2 取出冻存的细胞，置入 37℃水浴锅中快速解冻。

6.1.3 立即吸取细胞悬液至 15mL 离心管中，逐滴加入 10mL 恢复至室温的 3D FloTrix®间充质干细胞完全培养基，轻柔混匀。离心，弃上清，加入 3~5mL 3D FloTrix®间充质干细胞完全培养基重悬细胞，精确计数。

6.1.4 按照合适的接种密度（6000-8000/cm²，推荐 8000/cm²）将细胞接种到细胞培养容器中，加入适量（参考表 2）恢复至室温的新鲜 3D FloTrix®间充质干细胞完全培养基。置于培养箱中连续培养 3 天，细



胞汇合度 80-85%可选择传代。

6.1.5 更换培养基的条件适应：体系转换到 **3D FloTrix®间充质干细胞无血清完全培养基**时，建议原培养基进行复苏或传代，随后在 Day1 更换成 **3D FloTrix®间充质干细胞完全培养基**，一代后可适应新的体系。

表 2: MSCs 传代&培养操作试剂推荐用量

培养容器	接种时培养基用量	胰酶 (0.125%)
6 孔板	2mL/孔	0.25mL/孔
T75 培养瓶	15mL	2mL
T175 培养瓶	35mL	4.5mL
T225 培养瓶	45mL	6mL

6.2、传代&冻存 MSCs

以 T75 培养瓶操作为例，操作程序同样适用于其它二维培养容器

6.2.1 传代时机：不同的 MSC 生长速度有差异，推荐以细胞汇合度选择准确传代时机，细胞汇合度 80-85%左右即可传代。

6.2.2 提前取出 **3D FloTrix®间充质干细胞完全培养基**、细胞消化液 (0.125%胰酶) 恢复至室温。

6.2.3 吸弃培养基，使用 PBS (不含钙镁) 清洗 1-3 次，加入消化液 37°C 消化 2min，等体积完全培养基终止消化，离心，收集细胞。

6.2.4 加入 5mL **3D FloTrix®间充质干细胞完全培养基**。按照合适的密度 (6000-8000/cm²，推荐 8000/cm²) 将细胞接种到细胞培养容器中，加入适量 (参考表 2) 预温的新鲜 **3D FloTrix®间充质干细胞完全培养基**。置于培养箱中连续培养 3 天，细胞汇合度 80-85%可选择传代。

6.2.5 细胞冻存：如需冻存细胞，步骤 6.2.3 后加入冻存液按照一定密度重悬细胞，转入程序降温盒，-80°C 过夜，隔天转入液氮长期保存。

6.3、3D 动态培养 MSCs

以 125mL 培养瓶操作为例，操作程序同样适用于华鑫生物 3D FloTrix®系列其它培养瓶的生物反应器

6.3.1 设备及培养瓶准备：安装调试设备和培养瓶，保持无菌状态，备用。



6.3.2 微载片及细胞准备：取 100mg 微载片投入 125mL 培养瓶中，加入 20mL **3D FloTrix®间充质干细胞完全培养基**，晃动培养瓶使微载片均匀分散；准备适量细胞悬液（250 万 MSCs/mL），备用。

6.3.3 细胞接种及培养：将 1mL 细胞悬液（250 万 MSCs）加入培养瓶中，补加培养基至 50mL。设置反应器参数，置于培养箱中培养。1 天后，补充 25mL **3D FloTrix®间充质干细胞完全培养基**继续培养 3 天。

6.3.4 细胞取样观察：使用无菌移液管吸取少量微载体悬液置于 96 孔板中（推荐每孔 25-50 μ L 样品），通过荧光标记染色（推荐华鑫生物 3D FloTrix®荧光染液 R002-100）的方法进行细胞观察（参考 7.2.2 三维荧光染色图片）。

6.3.5 细胞收获：停止搅拌生物反应器，待微载体沉降后弃上清，加入裂解液（推荐华鑫生物 3D FloTrix®Digest 裂解液 R001-500）裂解消化，待微载体全部降解，收集细胞悬液，离心，弃上清，PBS 重悬细胞，再离心，弃上清。根据需求，将细胞重悬至适合密度，备用。

6.3.6 细胞计数：取少量（推荐 50-100 μ L）步骤 6.3.5 中裂解后重悬一次的细胞悬液，置于细胞计数仪或计数板进行计数，最后检测活细胞数、细胞活率、细胞直径等相关参数。

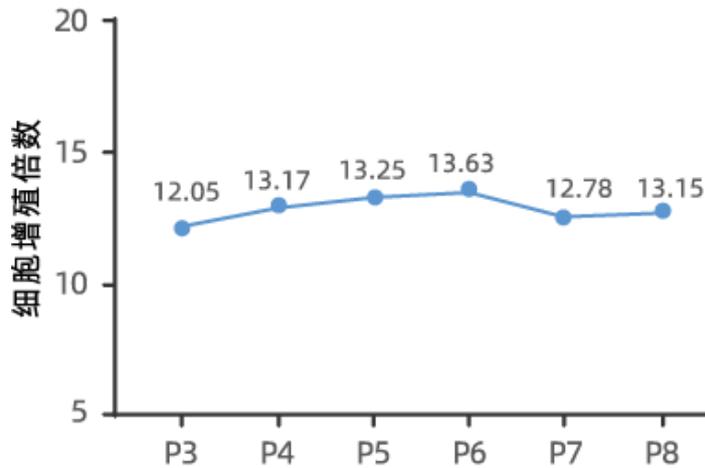
6.3.7 细胞传代：将步骤 6.3.5 中收获的细胞使用 PBS 清洗 1-3 次，按步骤 6.2.4 操作流程或按步骤 6.3.3 将细胞重新接种于新的培养容器中即可完成传代培养。



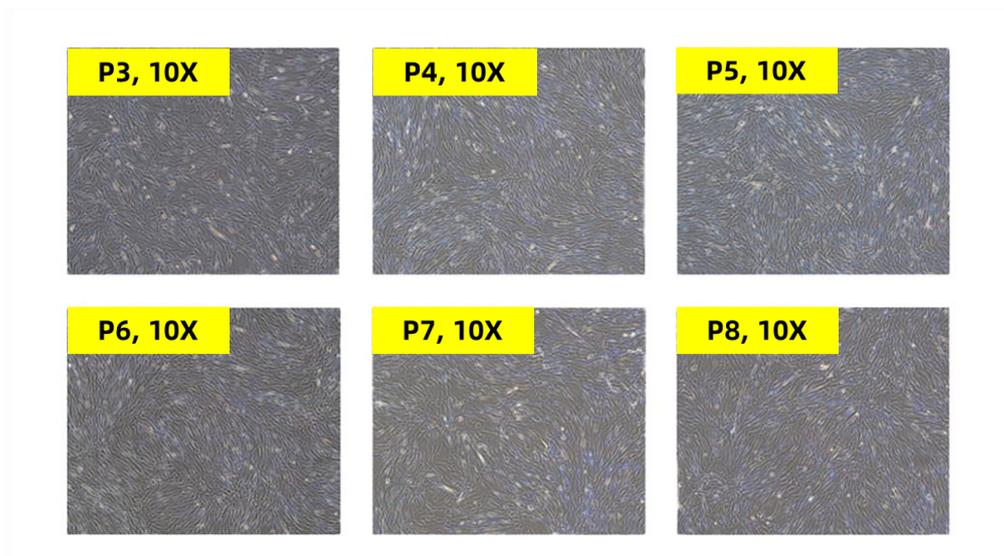
7、培养效果与产品推荐

7.1、2D 连续传代培养

7.1.1 使用 3D FloTrix® 间充质干细胞无血清培养基对 UCMSCs 进行 2D 连续传代培养 (P3→P8)

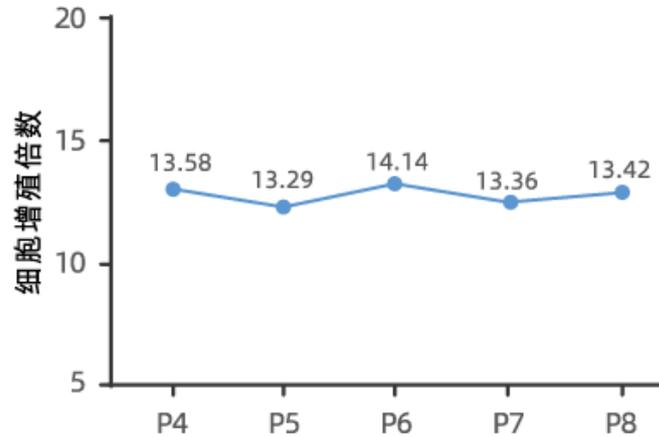


7.1.2 UCMSCs 进行 2D 连续传代扩增培养的细胞形态图 (P3→P8)

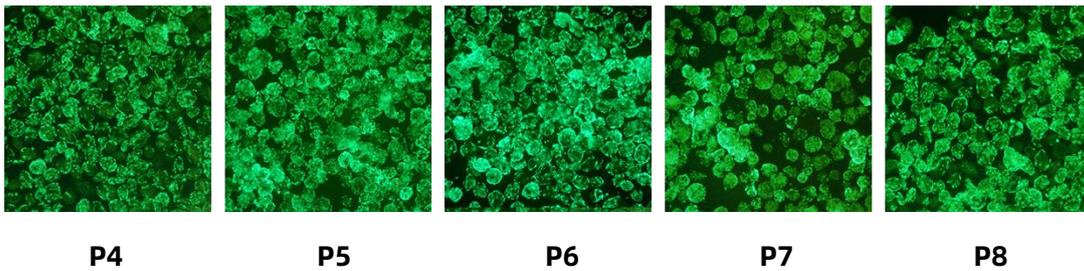


7.2、3D 连续传代培养

7.2.1 使用 3D FloTrix® 间充质干细胞无血清培养基对 UCMSCs 进行 3D 连续传代培养 (P4→P8)



7.2.2 UCMSCs 进行 3D 连续传代扩增培养的荧光染色图 (P4→P8)



7.3、相关产品推荐

表 3：推荐华鑫生物 3D FloTrix® 系列主要试剂耗材&仪器设备

试剂耗材&仪器	型号	规格
3D FloTrix® 间充质干细胞无血清培养基	RMZ112	基础培养基500mL/瓶 培养基添加剂25mL/瓶
3D TableTrix® 微载片 W01	W01-200/ W01-1000 W01-10000/W01-50000/W01-100000	2g/10g/100g/500g/1kg
3D FloTrix® Digest 裂解液	R001-500	0.5g
3D FloTrix® vivaSPIN 系列自动化生物反应器系统	FTVS05/FTVS10/FTVS15	5L/10L/15L
3D FloTrix® vivaPREP PLUS 细胞收获系统	vivaPREP PLUS	主机1台+便捷式底座1台
3D FloTrix® vivaPREP 系列细胞收获系统	vivaPREP	主机1台
3D FloTrix® vivaEXO 外泌体收获系统	FTVE10	主机1台

