



UniStem Medium

產品說明書

「使用前請務必詳閱原廠之說明書並遵照指示使用」

簡介

UniStem Medium (以下簡稱 UniStem)是一款可培養間質幹細胞之無血清細胞培養基，以過濾滅菌方式成為無菌產品，主要用來增殖源自骨髓、脂肪或臍帶等的間質幹細胞。這個培養基可快速增殖數代間質幹細胞，並維持細胞可分化成硬骨、軟骨及脂肪的能力。使用UniStem時，不需以任何細胞外基質預先塗佈培養皿，一般細胞培養器皿即可收穫良好的培養效果。

UniStem Medium (Phenol Red Free)產品型號：MSC-PL-004，包含項次1與2

項次	產品	型號	容量	保存條件	有效期間
1	間質幹細胞無外源培養基(基礎培養基) UniStem Basal Medium (without phenol red, 以下簡稱 Basal)	MSC-PL-005	450 mL	2 to 8°C	18個月
2	間質幹細胞無外源培養基(補充液) UniStem Supplement (without phenol red, 以下簡稱 Supplement)	MSC-PL-006	50 mL	-20°C	18個月

警告、注意事項、應採取的措施、使用限制

1. 請閱讀物質安全數據表(MSDS)，並遵循產品說明書，穿戴合適的防護服和手套。
2. 本產品為滅菌產品，若裝載瓶破損，則「不得使用」。
3. 培養基對於光線非常敏感，請使用者保存培養基時務必注意避光問題。
4. Supplement 回溫後，瓶與瓶之間顏色與混濁度可能會有差異，但不影響培養基效能，請安心使用。
5. 細胞培養時，在顯微鏡下可能會有些微小黑點，此為物料來源物質，不影響培養基效能。

預期用途

UniStem Medium使用於維持離體組織及細胞之生長、增殖培養與相關應用。

注意：UniStem Medium不可直接予人體或動物服用。



細胞培養步驟

● 培養基重組步驟

1. 將Supplement置於4°C冰箱中解凍約12-20小時，請不要超過24小時。
2. 將Supplement置於平台上旋轉數次以混合溶液。
3. 將Basal及Supplement置於37°C培養箱中回溫約30分鐘或37°C水浴槽約15分鐘。
4. 將Basal及Supplement置於平台上旋轉數次以混合溶液。
5. 無菌地將50 mL Supplement加於Basal中，並混合均勻，此為完整的UniStem。
6. 吸取約30-35 mL UniStem清洗裝載Supplement之塑膠瓶3次。
7. 將UniStem混合數次即可使用。若無法一次使用完畢，建議分裝使用，避免多次回溫使用。
8. UniStem置於4°C冰箱可保存3個月，3個月後培養效能可能下降，故請盡速使用完畢。

● 細胞培養步驟

1. 使用UniStem前，建議使用者在37°C培養箱回溫培養基約15-20分鐘，之後溫和地混合培養基後使用。
2. 以下是T-25cm²培養皿細胞培養步驟，請依培養器具表面積調整各試劑與培養基使用量。
3. 移除T-25cm²培養皿中舊的培養基，並用5 mL Dulbecco's PBS緩衝液(不含鈣、鎂離子)清洗細胞約1分鐘，最後移除Dulbecco's PBS緩衝液。
4. 加入1 mL預先回溫完成的胰蛋白酶相關試劑並將溶液均勻地平鋪蓋滿整個細胞區域。胰蛋白酶相關試劑強烈建議使用萊富公司出產的TrypLE Select溶液(型號為12563)或0.05%胰蛋白酶試劑(0.05% Trypsin-EDTA (0.53mM))。不建議使用0.25%胰蛋白酶試劑(Trypsin-EDTA (1mM))。
5. 將培養皿置於37°C中直到細胞變圓(約需2-5分鐘)並可簡單地自培養皿表面脫落。最後輕拍培養皿數次，將細胞完全自培養皿脫下。
6. 細胞自培養皿脫下後，馬上加入5 mL UniStem，輕輕搖晃混合細胞與培養基後，將所有細胞懸浮液吸至15 mL離心管(注意：不要用Dulbecco's PBS緩衝液作為懸浮細胞的試劑)。
7. 離心管於離心機中離心，轉速290 x g (大部分桌上型離心機約設定1200rpm) 5分鐘。
8. 移去上清液並將細胞團塊溶於1 mL UniStem中。
9. 以台盼蘭溶液(trypan blue)之染劑排除特性與血球計數盤計數活與死細胞數，或用其他細胞計數系統(例如ADAM細胞計數系統或Vi-CELL細胞計數系統)計數活與死細胞數。
10. 每平方公分種植2.5~5x10²個活細胞數，源自脂肪組織的間質幹細胞建議每平方公分種植2.5~4.5x10²個活細胞；源自其他組織的間質幹細胞建議每平方公分種植3~5x10²個活細胞。
11. 將培養皿置於含有5%二氧化碳的37°C培養箱中培養。
12. 培養3天後移除舊培養基，再加入新鮮並經回溫的UniStem。
13. 細胞培養至約80-90%滿度後，進行細胞繼代。培養時間從種植細胞開始，約需要4-6天。



● 使用UniStem冷凍保存細胞

1. 製備冷凍保存液，在UniStem中添加10% DMSO(二甲基亞砷)溶液。
2. 從培養皿中取得細胞後，離心(以290g重力離心5分鐘)後的細胞團，以冷凍保存液將細胞重新懸浮，維持細胞濃度在每毫升 $0.5-5 \times 10^6$ 細胞數目，並分裝到細胞冷凍保存管中。
3. 將冷凍管放入漸凍盒(例如 Corning® CoolCell® FTS30, Freezing Container, Product Number 432006)中，移至-70至-80度C冰箱中靜置至隔夜，使其緩慢降溫。
4. 將冷凍管轉移至液態氮中長期保存。

● 冷凍後的間質幹細胞恢復

1. 在37°C水浴槽快速解凍冷凍管中的細胞。
2. 15 mL離心管中加入8-9 mL預先回溫完成的UniStem。
3. 將冷凍管中的細胞懸浮液稍微混合後加入離心管培養基中，旋緊離心管蓋並溫和的搖晃離心管，均勻混合細胞和培養基。
4. 依照"細胞培養步驟"中，步驟6到12的說明培養細胞。

培養基品管測試

每批次UniStem皆經過源自脂肪幹細胞之細胞增殖測試、內毒素測試，以及無菌測試。無菌與內毒素測試方法符合美國或中華藥典要求，證明每批次培養基皆無內毒素、細菌與黴菌污染。

製造業者

名稱：騰達行企業股份有限公司委託工業技術研究院培養基產品GMP工廠製造

地址：新竹縣竹東鎮中興路四段195號53館地下一樓B116室

醫療器材商

名稱：騰達行企業股份有限公司

地址：台北市信義區11075松德路74號3樓