

騰達行間質幹細胞無血清培養基

SF1 hMSC Medium

衛部醫器製字第 007363 號

「使用前請務必詳閱原廠之說明書並遵照指示使用」

簡介

騰達行間質幹細胞無血清培養基(含有酚紅，英文名稱 SF1 hMSC Medium)與騰達行間質幹細胞無酚紅無血清培養基(不含有酚紅，英文名稱 SF1 hMSC Phenol Red Free Medium)皆是可培養間質幹細胞之無血清細胞培養基，以下總稱騰達行間質幹細胞無血清培養基，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SF1培養基時，不需以任何細胞外基質預先塗佈培養皿。請參考使用本說明書內提供之最適培養器皿資訊，以得最佳操作效果。

騰達行間質幹細胞無血清培養基產品型號：MSC-SF-003，包含項次1與2

項次	產品	型號	容量	保存條件	有效期間
1	騰達行間質幹細胞無血清培養基(基礎培養基) (hMSC SF1 Basal Medium)	MSC-SF-004	450 mL	2 to 8°C	18個月
2	騰達行間質幹細胞無血清培養基(補充液) (hMSC SF1 Supplement)	MSC-SF-005	50 mL	-20°C	18個月

騰達行間質幹細胞無酚紅無血清培養基產品型號：MSC-SF-006，包含項次3與4

項次	產品	型號	容量	保存條件	有效期間
3	騰達行間質幹細胞無酚紅無血清培養基(基礎培養基) (hMSC SF1 Basal Medium PRF)	MSC-SF-007	450 mL	2 to 8°C， 必須避光	18個月
4	騰達行間質幹細胞無酚紅無血清培養基(補充液) (hMSC SF1 Supplement PRF)	MSC-SF-008	50 mL	-20°C， 必須避光	18個月

警告、注意事項、應採取的措施、使用限制

1. 請閱讀安全數據表(SDS)，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. 騰達行間質幹細胞無血清培養基只接受整組方式訂購，目前無法單購項次1或2；3或4。

4. 無酚紅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。
5. 有效期間自生產日算起18個月。
6. 建議使用康寧公司出產的CellBind®系列培養器皿。康寧公司一般培養器皿或BD公司出產的Primaria®系列產品或Falcon培養盤(例如6孔或12孔盤等)。
7. 在分離初代間質幹細胞時，強烈建議使用者選用康寧公司出產的CellBind®系列培養器皿。若您需要以低密度種植方式培養間質幹細胞(例如聚落型成單位測定或細胞種植密度低於 $5 \times 10^2/\text{cm}^2$ 時)，康寧公司出產的CellBind®系列培養器皿亦是最佳的選擇。

預期用途

騰達行間質幹細胞無血清培養基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：騰達行間質幹細胞無血清培養基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. 將騰達行間質幹細胞無血清培養基補充液置於4°C冰箱中解凍約12-20小時，請不要超過24小時。
2. 將補充液置於平台上旋轉數次以混合溶液。
3. 將騰達行間質幹細胞無血清培養基基礎培養基置於37°C水浴中回溫約25-30分鐘。
4. 將補充液置於37°C水浴中回溫約10-15分鐘，請不要超過20分鐘。
5. 將補充液與基礎培養基置於平台上旋轉數次以混合溶液。
6. 無菌地將50 mL補充液加於基礎培養基中，並混合均勻，此為完整的騰達行間質幹細胞無血清培養基。
7. 吸取約30-35 mL騰達行間質幹細胞無血清培養基清洗裝載補充液之塑膠瓶3次。
8. 將騰達行間質幹細胞無血清培養基混合數次即可使用。若無法一次使用完畢，建議分裝使用，避免多次回溫使用。

● 細胞培養步驟

1. 使用騰達行間質幹細胞無血清培養基前，強烈建議使用者在37°C水浴槽回溫培養基約15分鐘，之後溫和地混合培養基後使用。
2. 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。
3. 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))。
4. 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。
5. 細胞自培養皿脫下後，馬上加入6 mL 騰達行間質幹細胞無血清培養基，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)。
6. 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。
7. 移去上清液並將細胞團塊溶於1 mL 騰達行間質幹細胞無血清培養基中。
8. 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。

9. 每平方公分種植 $0.5-1 \times 10^3$ 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 0.5×10^3 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 1×10^3 個活細胞。
10. 將培養皿置於含有5%二氧化碳的 37°C 培養箱中培養。
11. 培養3天後移除舊培養基，再加入新鮮並經回溫的騰達行間質幹細胞無血清培養基。
12. 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。

● 使用騰達行間質幹細胞無血清培養基冷凍保存細胞

1. 製備冷凍保存液，在騰達行間質幹細胞無血清培養基中添加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 $0.3-1 \times 10^6$ 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Nalgene產品，型號5100-0001)中，移至 -70 至 -80°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預先回溫完成的騰達行間質幹細胞無血清培養基。
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

每批次騰達行間質幹細胞無血清培養基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：『依所轄衛生局最新核定之醫療器材商地址內容刊載』（市售品須刊載實際地址）