



# 人成纤维细胞无血清培养基

## Human Fibroblast Medium



## 人成纤维细胞无血清培养基

### 一、产品基本信息

产品名称	Applied Cell®人成纤维细胞无血清培养基
货号	AC-1001015
规格	500mL
运输保存条件	基础培养基 2-8°C, 添加剂-20--80°C
使用范围	人真皮/肺/心脏等多种组织器官来源成纤维细胞培养
保质期	12个月

### 二、产品简介

人成纤维细胞无血清培养基是埃泽思生物科技有限公司 (Applied Cell®) 自主研发的一款适用于人成纤维细胞培养的无动物源细胞培养产品。本产品应用人真皮、肺、心脏等多种组织器官来源成纤维细胞原代分离、扩增与传代培养, 且不含动物血清, 内毒素水平低于药典标准 (<0.06EU/mL)。本产品生产过程遵循 ISO9001 体系, 并符合 GMP 指导原则。

### 三、产品特性

- 无外源动物蛋白成分, 大大降低各类病毒、霉菌和支原体等的污染风险。
- 全程无血清生产, 极大降低批次间差异。
- 可用于原代分离。
- 内毒素<0.06EU/ml, 远低于中国药典水平。

### 四、产品内容

组分	规格	数量	运输
人成纤维细胞基础培养基	450mL	1瓶	冰袋
人成纤维细胞添加剂	50mL	1瓶	干冰

## 五、相关产品

- 人真皮成纤维细胞 (Applied Cell®: Cat. no.AC-2001005)
- 无血清细胞冻存液 (治疗级) (Applied Cell®: Cat. no.AC-1001006)
- 人脐带间充质干细胞 (Applied Cell®: Cat. no.AC-2001003)
- 人脂肪间充质干细胞 (Applied Cell®: Cat. no.AC-2001004)

## 六、实验准备

### 1. 人成纤维细胞培养基配制

- 1.1. **37°C快速解冻人成纤维细胞培养基添加剂**，快速溶解时不易破坏添加剂中营养物质，时间大致为10min。待添加剂融化后摇匀，分装或直接按比例添加到基础培养基中，分装后添加剂立即储存于-20°C至-80°C，避免反复冻融。
- 1.2. 将添加剂以10%比例加入到**人成纤维细胞基础培养基**中，混匀，即为**人成纤维细胞无血清培养基 (AC-1001015)**。混合后培养基可在2-8°C稳定储存2-3周，不建议使用已配制超过3周的培养基。
- 1.3. **人成纤维细胞无血清培养基**可直接应用于人真皮、肺、心脏等多种组织器官来源的成纤维细胞的原代分离、扩增与传代培养。

## 七、操作方法(以下步骤皆应在无菌条件下操作)

### 1. 人成纤维细胞复苏(10cm dish)

- 1.1. 从液氮或-80°C冰箱中取出冻存的人成纤维细胞，迅速放入37°C水浴快速融解。
- 1.2. 在生物安全柜或超净台中，将解冻后的细胞悬液缓慢加入5 mL预温的人成纤维细胞无血清培养基 (AC-1001015)。
- 1.3. 1200rpm 离心3 min，吸掉上清，加入10ml人成纤维细胞无血清培养基重悬细胞。
- 1.4. 将细胞均匀铺到培养皿中，水平十字振动培养皿使细胞均匀分布，5% CO<sub>2</sub>的37°C恒温细胞培养箱中培养24小时后观察细胞状态。
- 1.5. 24h后更换新鲜人成纤维细胞无血清培养基继续培养，每2-3天更换培养液。

### 2. 人成纤维细胞传代培养

- 2.1. 在显微镜下观察细胞，当细胞融合度达到90%，即可传代。
- 2.2. 在超净台/安全柜中，吸掉原有培养基，加入PBS溶液清洗一次，加入**细胞消化液 (AC-1001024)**使之完全覆盖皿/瓶底。
- 2.3. 室温孵育4-5分钟或37°C孵育2-4分钟，显微镜下观察大部分细胞脱离皿底即停止消化。
- 2.4. 加入消化液2倍体积的人成纤维细胞培养基，用移液器轻轻吹打瓶壁上未完全脱离的细胞，并轻轻吹打混匀，使细胞完全分散。

- 2.5. 将细胞悬液转移到 15 mL 离心管中, 1200 rpm 离心 3 min。
- 2.6. 弃上清, 加入**人成纤维细胞无血清培养基**, 重悬细胞, 计数。1: 2-1: 4 比例传代, 或按  $2-5 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> 传代, 均匀铺在培养皿/瓶中, 置于 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。
- 注意: 人成纤维增殖情况与细胞密度密切相关, 所以传代时细胞密度不宜过稀。

### 3. 人成纤维细胞冻存

- 3.1. 细胞达到 90%汇合度, 吸掉原有**培养基**, PBS 清洗一次。
- 3.2. 加入**细胞消化液 (AC-1001024)** 使之完全覆盖皿/瓶底, 室温孵育 4-5min 或 37°C 孵育 2-4min 分钟, 显微镜下观察大部分细胞脱离皿底即停止消化。
- 3.3. 加入消化液 2 倍体积的**人成纤维细胞无血清培养基**, 用移液枪轻轻吹打瓶壁上未完全脱离的细胞, 并轻轻吹打混匀, 使细胞完全分散。
- 3.4. 将细胞悬液转移到 15 mL 离心管中, 1200 rpm 离心 3 min, 吸掉上清。
- 3.5. 加入适量**无血清细胞冻存液 (治疗级) (AC-1001006)**, 调整细胞冻存密度在  $1 \times 10^6$  cells/mL 左右, 每支冻存管分装 1.5-2ml。
- 3.6. 直接放入 -80°C, 24h 后转入液氮中长期保存。

## 八、质量控制

检验项目 Test Categories	参考数据 Reference Data
外观 Physical Appearance	橙红色液体 Orange-red Liquid
澄清度 Clarity	澄清 Clear
pH 值 Ph Value	7.0-7.4
渗透压 Osmolality	270-340 (mosm/KgH <sub>2</sub> O)
细菌内毒素 Endotoxin	小于 0.06 EU/ml
无菌 Sterility	无菌 Sterility
支原体 Mycoplasma	0.11um 过滤, 支原体试验为阴性 The mycoplasma test was negative after 0.11um filtration

生产企业:

上海埃泽思生物科技有限公司

地址: 上海市宝山区园丰路 69 号联东粤浦科技园 1 号楼 401 室

埃泽思 (福建) 生物科技有限公司

地址: 福建省福州市长乐区金滨路 458 号福建省精准医学产业创新中心

邮箱: service@appliedcell.cn

电话: 021-59541913

网址: www.appliedcell.cn

ISO9001 质量体系认证企业

医疗器械生产备案企业,

欧盟 CE 认证企业

文件版本号:

B202201