

多孔空心微载体使用说明书

【产品名称】

多孔空心微载体

【产品货号】

MC0001

【包装规格】

0.5g/ 瓶

【产品用途】

本产品可为干细胞等贴壁细胞提供广阔的黏附面积，支持贴壁细胞增殖的微载体，可高效提升细胞的培养数量并收获分泌产物。

【特性和参数】

外观	白色粉末
材质	明胶
粒径范围 (μm)	200~450 μm
比表面积 (cm ² /g)	> 3900cm ² /g
微球数量	约 1.4×10 ⁶ 个球 /g(干重)
灭菌方式	非无菌

【保存条件】

未开封的微载体在 2~8℃避光干燥保存 12 个月；

已高温高压灭菌后的微载体悬液可短暂保存在 4℃无菌环境下一周。

【使用方法概述】

以脐带间充质干细胞为例：

推荐使用 P3 或以下代次的脐带间充质干细胞；

推荐微载体加入量：0.5 g/100 mL

推荐接种细胞数：3.52×10⁷个细胞 /g

即 100mL 培养体系加入 0.5g 微载体，接种 1.76E7 个细胞。

推荐使用友康生物间充质干细胞无血清培养基基础（NC0103），根据接种细胞代次搭配间充质干细胞无血清培养基添加剂 1（脐带 - 原代细胞分离及种子库构建）（NC0103.S）或间充质干细胞无血清培养基添加剂 2（脐带 - 冻存细胞及高代数细胞传代）（NC0105.S）使用。

不同类型的细胞培养工艺可能不同，首次使用微载体培养时，需要条件摸索和优化，包括微载体加入量、搅拌速度、细胞密度等。

实验仪器

4 通道细胞培养磁力搅拌器 MS-C-S4 (DLAB)

双侧壁细胞培养瓶 125mL (DLAB 18900747)

CO₂ 培养箱

微载体预处理

1. 称取一定量的微载体，充分浸没于 DPBS，制成微载体悬液；

2. 将上一步的微载体悬液高温高压灭菌，至少 121°C 30min，不可进行干燥程序，微载体不能完全失水；

3. 无菌条件下静置降温；

4. 使用友康公司的培养基基础加添加剂制成完全培养基；

5. 微载体悬液静置会沉降，去除上清液，再加入完全培养基重悬微载体，浸没即可，以置换微载体内的 DPBS；

6. 静置沉降微载体，去除上清液，4、5 步骤可重复 2~3 次，以充分置换微载体内的 DPBS，得到清洗完成的微载体。

细胞培养

推荐使用 P3 或以下代次的细胞。

1. 用完全培养基再次重悬微载体，将含有 1.76E7 个细胞的细胞悬液加入微载体悬液中，充分混匀，加入微载体瓶中，补充培养基至 100mL；细胞培养在 CO₂ 培养箱中进行，CO₂ 浓度为 5%，温度为 37°C。

2. 设置搅拌程序：

(1) 搅拌速度 35 rpm, 2 min；

(2) 静置 480 min；

(1)、(2) 步骤进行 3 次；

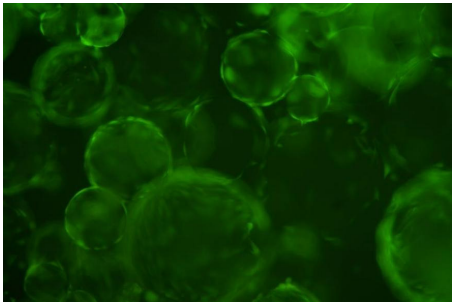
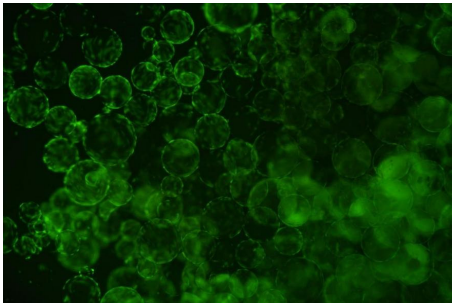
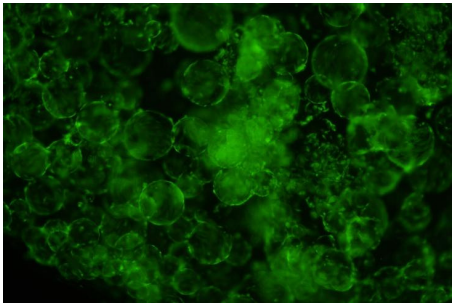
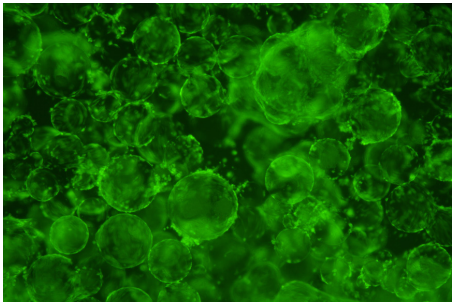
3. 全量换液后，保持搅拌速度 35 rpm，持续培养；每 3 天全量换液。

全量换液方法

停止转瓶，静置以沉降微载体，尽量吸取上清，后补充新鲜培养基继续培养。

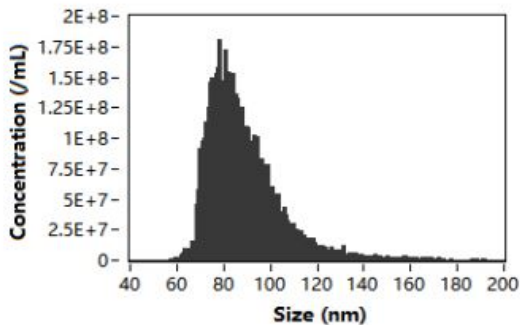
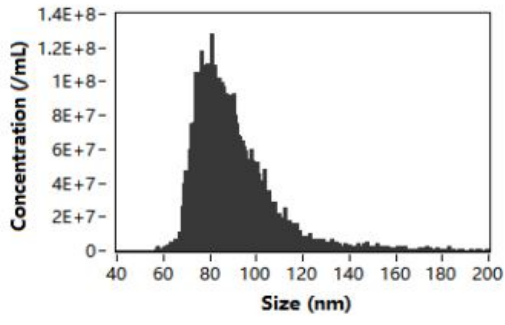
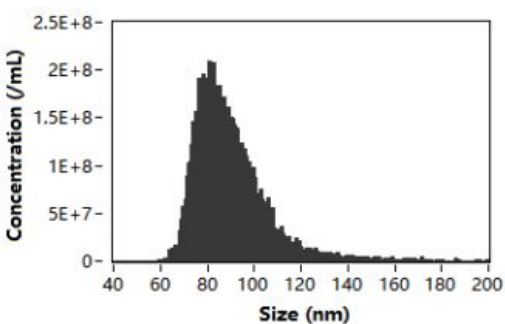
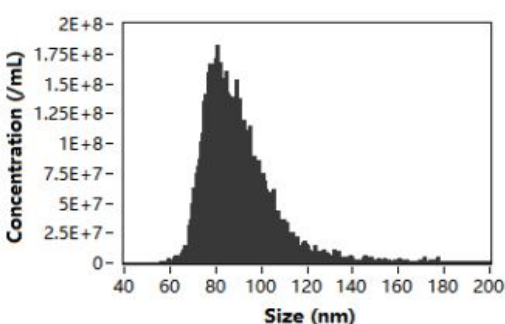
【培养性能及细胞状态】

黏附程序结束后预期黏附率 85% 以上。每隔 72h 荧光染色观察细胞分布。

培养时间	荧光染色 (Calcein AM 染色, 绿色荧光为活细胞)
3 天	
6 天	
9 天	
12 天	

【可溶性细胞囊泡分析】

使用纳米流式法检测颗粒浓度和粒径分布

培养时间	颗粒浓度 (particles/mL)	颗粒粒径分布
6 天	8.87E9	
9 天	6.23E9	
12 天	1.10E10	
15 天	9.24E9	

【注意事项】

1. 96h 后，微载体表面细胞增殖达到一定程度可能会出现聚团，属正常现象，早期该聚团结构松散可吹散，不影响细胞转瓶培养，后续随着细胞增殖可能会聚团变大；
2. 如使用带酚红培养基，密切观察培养基颜色，并根据需要及时换液；
3. 在微载体预处理和接种细胞培养过程中，微载体接触到的容器需要硅化处理，尤其是细胞培养转瓶，以免粘壁；
4. 高温高压灭菌处理后可能有少量聚团，属正常现象，可吹散，不影响细胞后续转瓶培养；
5. 建议使用 P3 以内的细胞，不要使用代次靠后的细胞，很有可能会影响外泌体产量；
6. 微载体预处理时，应取消灭菌设备的干燥程序，或在进入干燥程序之前取出，微载体不能完全失水。

【生产企业】

友康厚德生物制品（北京）有限公司

生产企业：友康厚德生物制品（北京）有限公司

生产地址：北京市密云区科技路 6 号

联系电话：400-001-1266 010-58711655

公司网址：www.yocon.cn

【说明书批准日期及修改日期】

2024 年 7 月 1 日