

PRIME-XV MSC XSFM Dual Component Kit （不含酚红）

货号#	产品名称	规格
91214DC	PRIME-XV MSC XSFM Dual Component Kit without Phenol Red	10 ml冷冻补充袋和 5 L液体袋

预期用途

该产品仅供研究用途或进一步制造用途。该产品不适用于注射或诊断程序。该产品在诊断或其他临床用途中的安全性和有效性尚未确定。

产品描述

PRIME-XV MSC XSFM 双组分试剂 (不含酚红)，91149DC 包含双组分无血清和无异源 5L 基础培养基袋和冷冻补充袋。结合使用后，该配方可在 Terumo Quantum 或 Quantum Flex 生物反应器或其他兼容的生物反应器中，在无血清和无异源培养条件下优化纯化或富集的人间质基质/干细胞（MSCs）的维持和扩增。本产品不含抗生素。本培养基作为基础培养基和补充培养基提供，使用前应混合均匀。也可根据需要添加细胞因子/生长因子。

运输

PRIME-XV MSC XSFM BASE (不含酚红) 91237-5L-60494 在 2-8°C 运输，PRIME-XV MSC XSFM SUPPLEMENT 91236-10mL-60493 在 -20°C 用干冰运输。收到后，将 MSC 基础培养基存储在 2-8°C，补充剂存储在 -20°C。

质量保证

所有质量控制测试结果都会在具体批次的分析证书(COA)上报告，该证书可在 fujifilmbiosciences.fujifilm.com 获取或应要求提供。

储存说明和稳定性

收到后，将基础培养基保存在 2-8°C，补充剂保存在 -20°C。未开封的基础培养基和冷冻补充剂在各自的温度下保存时，自标签上标明的生产日期起 12 个月内稳定。将两种成分混合后，完整的培养基等同于产品目录中的 91149 PRIME-XV MSC Expansion XSFM，可无菌等分并在 -20°C 或更低的温度下保存在手动除霜冰箱中长达 3 个月。不建议将培养基直接放入袋中冷冻。准备使用时，将补充剂袋在 2-8°C 下避光解冻过夜，将基础液袋室温避光解冻过夜。与补充剂混合后，PRIME-XV MSC XSFM 双组分试剂 (不含酚红)，91149DC，应在 2-8°C 避光保存一周内使用。超过未开封保质期的使用未经验证，请勿使用。应避免反复冻融循环。

注意事项

由于来自不同供体的人类间充质干细胞之间存在差异，结果可能会有所不同。本产品的成分来源符合 EP 5.2.12 “用于生产细胞和基因治疗药物产品的生物原料”的指导原则。本产品含来自人血浆的成分，这些人血浆来自经 FDA 许可和检查的捐献中心，经检测发现 HIV-1/2、乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 和丙型肝炎病毒 (HCV) 均为阴性。但是，由于没有任何检测方法能完全保证人体来源的产品不具有传染性，因此在处理所有人体来源材料时，应采用通用预防措施，将其视为具有潜在传染性的材料。

使用说明

以下方案经过优化，可用于在 Terumo BCT 中空纤维生物反应器 Quantum 中使用 PRIME-XV MSC XSFM 双组分试剂（不含酚红，91214DC）扩增来源于脂肪、骨髓和脐带的人类间充质基质/干细胞（hMSCs）。

Day(-)1:准备细胞扩增设备和生物反应器包被

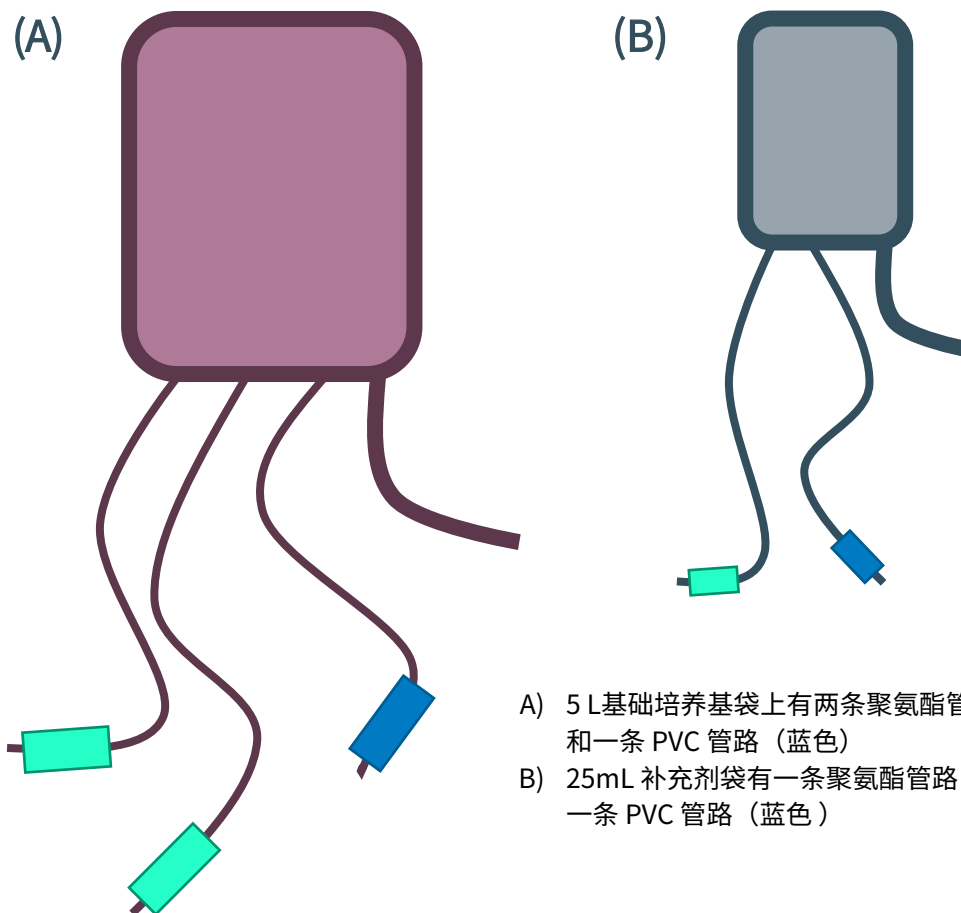
注意: Quantum 细胞扩增系统操作手册 (QCESOM) 涉及将细胞、培养基或废液袋连接到管路上。可使用与 Pellethane（热塑性聚氨酯弹性体）兼容的无菌管焊接机进行连接。正确的操作和处理方法，请参阅相应的焊接机使用手册。以下方案使用的是 Terumo BCT 的 TSCD-Q 无菌管焊接器。相应的手册《TSCD-Q 无菌管焊接机系统操作手册》（TSTWSOM）包含安全的操作方法。

1. 复苏细胞后，在 37 °C 和 5% CO₂ 条件下，将细胞放入培养瓶和完全培养基中过夜。
2. 加载细胞扩增设备（QCESOM 7-2）。
3. 将装有 PBS 的袋子连接到清洗管路（TSTWSOM 3-2）上。
4. 预充细胞扩增设备 (QCESOM 7-11)。
5. 分离管路（QCESOM 7-12）
6. 用 PBS 和 5 mg 纤连蛋白配制 100 ml 包被溶液。
 - a. 将包被溶液和至少 40 ml 空气装入入口袋，并连接到试剂管路上。
 - b. 设置并运行包被生物反应器程序（QCESOM 8-8）。使用以下设置：

	Step 1	Step 2	Step 3
IC inlet	Reagent	Wash	None
IC inlet rate (mL/min)	10	10	0
IC circ. rate (mL/min)	100	100	20
EC inlet	None	None	Wash
EC inlet rate (mL/min)	0	0	0.1
EC circ. rate (mL/min)	30	30	30
Outlet	EC outlet	EC outlet	EC outlet
Rocker	Stationary (0°)	Stationary (0°)	Stationary (0°)
Stop condition	Empty bag	IC Volume (22 mL)	Manual (overnight)

Day 0: 准备 IC培养基和接入细胞

7. 将基础培养基袋与补充剂袋连接并混合。
 - a. 确保补充剂袋完全解冻。
 - b. 将一袋 PRIME-XV MSC XSFM Base (+) Phenol Red (91237-5L-60494) 挂在 Quantum 旋转袋杆上。
 - c. 在每个袋子上选择合适的管子焊接在一起。每个袋子都有两种管子，并用彩色标胶带标明以方便使用。
 - i. 绿色标签的管材由 Pellethane 制成，可使用 TSCD-Q 无菌管材焊接机进行焊接。这些管路与细胞扩增设备直接兼容，也是 FISI 常规使用的管路。
 - ii. 蓝色标签的管材为 PVC，可使用 TSCD-II 无菌管材焊接器焊接在一起。
 - iii. PVC和Pellethane 管不能相互焊接。
 - d. 使用相应的无菌管焊接机将每个袋中的兼容管无菌连接在一起。



- e. 从焊机上取下连接管，检查焊缝。如果焊接正确，则通过施加压力并在坚硬表面上滚动来弹出密封处 (TSTWSOM 3-6)。
 - f. 将基础培养基袋放低，同时将补充剂袋放高，让补充剂袋中的内容物流动。交替使用两个袋子，使一个袋子中的内容物流入另一个袋子，重复 5-7 次。这样可确保管道和补充剂袋中残留的补充剂完全转移到基础培养基袋中。
8. 用无菌封口器将补充剂袋与基础培养基袋分开，在管子中间形成三点密封。确保在密封前将补充剂袋完全倒入基础培养基袋中。用剪刀小心剪开中间的密封处。左右倾斜袋口十次，适当混合袋中内容物。
 9. 将 IC 培养基袋连接至 IC 管路，并运行 IC/EC 冲洗（QCESOM 第 9-5 节）。使用以下设置：

Step 1	
IC inlet	IC media
IC inlet rate (mL/min)	100
IC circ. rate (mL/min)	-17
EC inlet	IC media
EC inlet rate (mL/min)	148
EC circ. rate (mL/min)	-1.7
Outlet	IC & EC outlet
Rocker	In motion (-90°, 180°, 1 sec)
Stop condition	Exchange (2.5 IC, 2.5 EC)

10. 在整个培养基袋上覆盖铝箔纸以避光。打开气源，调节培养基（QCESOM 第 8-6 节）。使用以下设置：

	Step 1	Step 2
IC inlet	None	None
IC inlet rate (mL/min)	0	0
IC circ. rate (mL/min)	100	100
EC inlet	IC media	IC media
EC inlet rate (mL/min)	0.1	0.1
EC circ. rate (mL/min)	250	30
Outlet	EC outlet	EC outlet
Rocker	Stationary (0°)	Stationary (0°)
Stop condition	Time (10 min)	Manual (50-230 min)

11. 将细胞从培养瓶中分离出来，进行细胞计数，并保存样本用于流式细胞检测。
12. 将 25x10⁶ 个细胞、100 ml IC 培养基和至少 40 ml 空气装入细胞进样袋，连接到管路。
13. 确保将适当的袋子连接到相应的管路上（IC 培养基、细胞、洗涤），并用新袋子替换废液袋。
 - a. 在整个培养过程中，根据需要更换废液袋和 IC 培养基袋。在更换过程中暂停程序。
14. 从 EC 采样端口抽取培养基样本以获取基线代谢物读数（QCESOM 第 5-7 节）。
15. 设置并运行细胞接种与循环混合程序（QCESOM 第 10-9 节）。使用以下设置：

	Step 1	Step 2	Step 3
IC inlet	Cell	IC media	None
IC inlet rate (mL/min)	25	25	0
IC circ. rate (mL/min)	150	150	200
EC inlet	None	None	None
EC inlet rate (mL/min)	0	0	0
EC circ. rate (mL/min)	30	30	30
Outlet	EC outlet	EC outlet	EC outlet
Rocker	In motion (-90°, 180°, 1 sec)	In motion (-90°, 180°, 1 sec)	In motion (-90°, 180°, 1 sec)
Stop condition	Empty bag	IC volume (47 mL)	Time (2 min)

16. 设置并运行细胞贴壁程序（ QCESOM 第 10-7 节）。使用以下设置：

Step 1	
IC inlet	None
IC inlet rate (mL/min)	0
IC circ. rate (mL/min)	0
EC inlet	IC media
EC inlet rate (mL/min)	0.1
EC circ. rate (mL/min)	30
Outlet	EC outlet
Rocker	Stationary (0°)
Stop condition	Manual (1440 min)

Day 1: 开始培养

17. 将细胞从培养瓶中分离出来，进行细胞计数，并保存样本用于流式细胞检测。

Feed (Days 1-7)	
IC inlet	IC media
IC inlet rate (mL/min)	0.1 - Variable
IC circ. rate (mL/min)	20
EC inlet	None
EC inlet rate (mL/min)	0
EC circ. rate (mL/min)	30
Outlet	IC outlet
Rocker	Stationary (0°)
Stop condition	Manual

18. 每天从EC取样口收集EC培养基样品用于代谢物分析，同时记下这些 样品的采集时间（QCESOM 第 5-7 节）。

视需要调整 IC 入口速率，以维持培养基中适当的葡萄糖和乳酸水平，注意关注培养基消耗量和废液袋填充率，在培养期间一直如此。

收获和分析细胞

19. 准备一个装有 200 ml胰蛋白酶溶液和 40 ml空气的进样袋。连接至试剂管道。
20. 设置并运行贴壁细胞释放和收获程序（QCESOM 12-5）。使用以下设置：

	Step 1	Step 2	Step 3	Step 4	Step 5
IC inlet	Wash	Reagent	Wash	None	EC media
IC inlet rate (mL/min)	100	50	50	0	400
IC circ. rate (mL/min)	-17	300	300	300	-70
EC inlet	Wash	None	None	None	EC media
EC inlet rate (mL/min)	148	0	0	0	60
EC circ. rate (mL/min)	-1.7	30	30	30	30
Outlet	IC & EC outlet	EC outlet	EC outlet	EC outlet	Harvest
Rocker	In motion (-90°, 180°, 1	In motion (-90°, 180°, 1	In motion (-90°, 180°, 1	In motion (-90°, 180°, 1	In motion (-90°, 180°, 1
Stop condition	Exchange (2.5 IC, 2.5 EC)	Empty bag	IC volume (22 mL)	Time (8* min)	IC Volume (378 mL)

*使用 0.25% 胰酶时所需时间。使用 Tryp LE™ 时，建议使用 20 分钟。

21. 分离细胞收获袋，进行细胞计数、收获后培养基上清分析和流式细胞检测。

数据

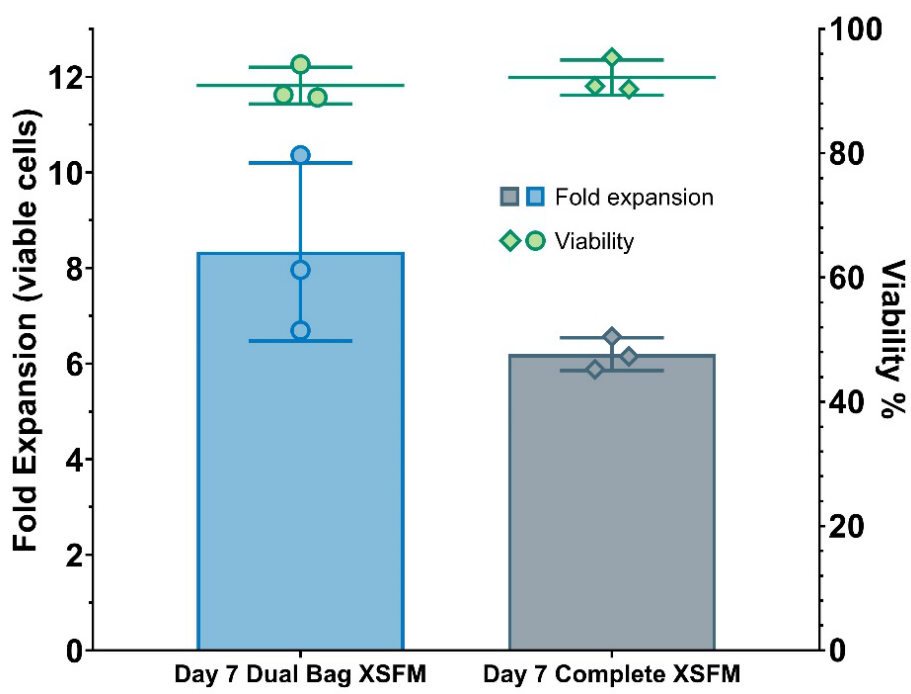


图1. PRIME-XV MSC XSFM Dual Component Kit with Phenol Red, 来自三个不同供体的结果表明，供体与供体之间在 hADMSCs 的扩增倍数方面存在一些差异。在 7 天的扩增过程中，活力保持在 90% 或以上。双组件和完整培养基平均性能的差异可能是由于初始储存温度的不同。由于完整XSFM的冷冻培养基体积较大（5 L），必须在冰箱中解冻 48 小时以上才能完全解冻，而双组分袋中对温度敏感的成分在使用前不到一小时就解冻完成，因此降解时间较短。

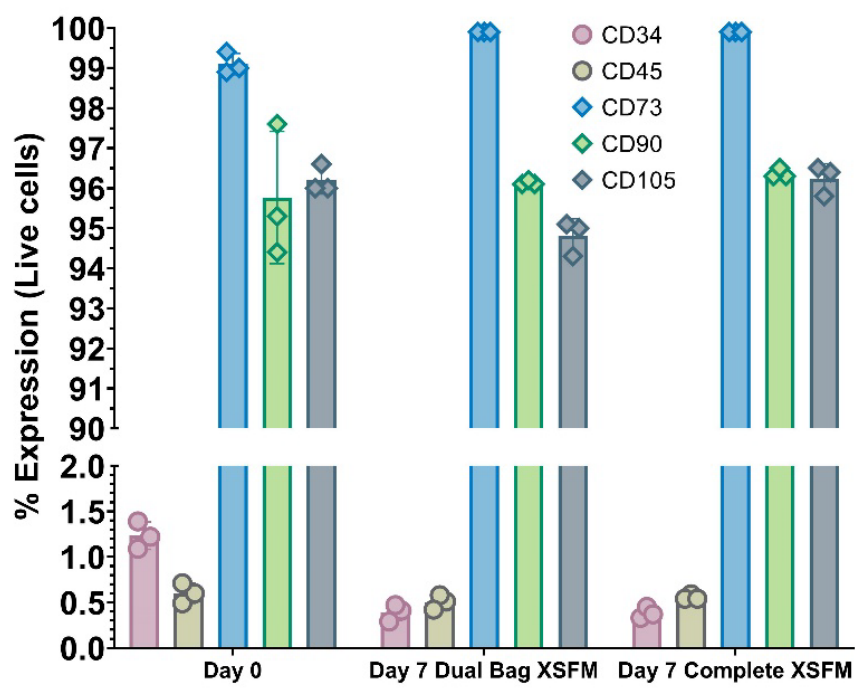


图 2. hADMSCs 在 Terumo Quantum 生物反应器和 PRIME-XV MSC XSFM 扩增培养基中扩增后第 7 天，hADMSCs 仍能保持其干细胞表型。在培养过程中，阴性标志物 CD34 和 CD45 的表达仍远低于 2%。阳性标志物 CD73、CD90 和 CD105 的表达在 94 -100% 间，表明间充质干细胞在培养过程中保持了分化潜能。结果来自具有代表性的三个供体。所有测量均一式三份。

相关产品

货号#	产品名称	规格
91140	PRIME-XV FreezIS DMSO-Free	10 mL, and 100 mL liquid
91139	PRIME-XV FreezIS	10 mL, and 100 mL liquid
91137	PRIME-XV Adipogenic Differentiation SFM	100 mL liquid
91138	PRIME-XV Chondrogenic Differentiation XSFM	100 mL liquid
91135	PRIME-XV MSC Expansion SFM	250 mL and 1 L liquid
31002	PRIME-XV Human Fibronectin	1 mg liquid
91149DC	PRIME-XV MSC XSFM Dual Component Kit with Phenol Red	Kit of 5L MSC basal and 10ml frozen supplement in bag
91149	PRIME-XV MSC Expansion XSFM	1L

技术支持

联系我们

如果您需要更多信息或帮助，请联系我们的客服中心：

- 电子邮件：biopharma@fujifilm.com
- 直线电话：021-5010 6000 转生命科学事业部

网站资源

进入 fujifilmbiosciences.fujifilm.com 获得以下技术资源与信息：

- 安全数据表 (SDS)
- 分析报告
- 常见问题
- 产品资料
- 各国家/地区的办事处地址和联系信息

富士胶片(中国)投资有限公司

公司地址：上海市浦东新区平家桥路100弄6号7号楼601单元

网址：<https://fujifilmbiosciences.fujifilm.com/us>

销售咨询：021-5010 6000 转生命科学事业部