

# MESENCHYMAL STROMAL CELLS

系列产品



## 目录

- 4 间充质基质细胞研究**
- 4 [MesenCult™-ACF工作流程](#)
- 5 从hPSC中产生间充质祖细胞**
- 5 [STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒](#)
- 7 人MSC的培养、扩增和冷冻保存**
- 7 [MesenCult™-ACF Plus培养基](#)
- 8 [无动物成分细胞解离试剂盒](#)
- 8 [MesenCult™-ACF冻存液](#)
- 9 [MesenCult™-hPL培养试剂盒](#)
- 10 [MesenCult™扩增试剂盒\(人\)](#)
- 12 人MSC的分化**
- 12 [MesenCult™脂肪分化试剂盒\(人\)](#)
- 12 [MesenCult™-ACF软骨细胞分化试剂盒](#)
- 12 [MesenCult™成骨细胞分化试剂盒\(人\)](#)
- 13 小鼠MSC培养**
- 13 [MesenCult™扩增试剂盒\(小鼠\)](#)
- 14 [MesenCult™脂肪分化试剂盒\(小鼠\)](#)
- 14 [MesenCult™成骨细胞激生试剂盒\(小鼠\)](#)
- 15 人MSC获取和分离**
- 15 [RosetteSep™人间充质干细胞富集抗体混合物](#)
- 16 [EasySep™人CD271正选试剂盒II](#)
- 16 [基质细胞/于ACF培养基扩增的基质细胞](#)
- 16 [全骨髓](#)
- 17 小鼠MSC获取和分离**
- 17 [EasySep™小鼠间充质干/祖细胞富集试剂盒](#)
- 17 产品信息**
- 20 辅助产品**
- 22 参考文献**

# 间充质相关研究

Mesenchymal stromal cells (MSCs, 也被称为间充质基质细胞, 间充质干细胞或医疗信号细胞) 具有体外的自我更新和三系分化潜能。它们可以从包括骨髓 (BM)、脐带 (UC)、脂肪组织和牙髓在内的多种组织中分离出来。MSCs研究的目的是深化我们对其基本细胞生物学的认识, 并探索将其用作细胞治疗药物的可行性。MesenCult™产品线是针对人和小鼠MSCs的一套完备及集成的产品, 研究人员由此能进行细胞培养系统的标准化, 并最大限度减少与性能和实验变异性相关的问题。

## MesenCult™-ACF工作流程

MesenCult™-ACF工作流程提供无动物成分 (ACF) 的培养基和试剂, 为整个MSC培养流程提供支持。该工作流程可以实现人MSCs的衍生、扩增、维持培养、冷冻保存和向软骨细胞的分化, 整个流程无需接触血清、其他动物组织或体液。MesenCult™-ACF试剂盒的ACF成分能对MSC实现可靠的培养和表征。它还能防止源于动物组分可能产生的污染, 从而最大限度降低MSCs下游应用的免疫原性。这套产品包括MesenCult™-ACF Plus培养试剂盒 (产品号 #05448)、ACF细胞解离试剂盒 (产品号 #05426)、MesenCult™-ACF冻存液 (产品号 #05490) 以及MesenCult™-ACF软骨细胞分化试剂盒 (产品号 #05455)。MesenCult™-ACF工作流程还包括STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒 (产品号 #05240), 用于从人多能干细胞 (hPSCs)、胚胎干 (ES) 细胞和诱导多能干 (iPS) 细胞中生成间充质祖细胞。

### STEMCELL为MSC研究的每一步所提供的产品

物种	MSC 分选&富集	培养, 扩增&冻存	MSC分化
人	<ul style="list-style-type: none"> <li>• STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒*</li> <li>• RosetteSep™人间充质干细胞富集抗体混合物</li> <li>• EasySep™人CD271正选试剂盒II</li> <li>• 基质细胞/于ACF培养基扩增的基质细胞**</li> <li>• 全骨髓**</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• MesenCult™-ACF Plus培养基/培养试剂盒*</li> <li>• 无动物成分细胞解离试剂盒*</li> <li>• MesenCult™-ACF冻存液*</li> <li>• MesenCult™-hPL培养试剂盒</li> <li>• MesenCult™扩增试剂盒 (人)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• MesenCult™-ACF软骨细胞分化试剂盒*</li> <li>• MesenCult™脂肪分化试剂盒 (人)</li> <li>• MesenCult™成骨细胞分化试剂盒 (人)</li> </ul>
小鼠	<ul style="list-style-type: none"> <li>• EasySep™小鼠间充质干/祖细胞富集试剂盒</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• MesenCult™扩增试剂盒 (小鼠)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• MesenCult™脂肪分化试剂盒 (小鼠)</li> <li>• MesenCult™成骨细胞激生试剂盒 (小鼠)</li> </ul>

\*ACF工作流程产品

\*\*产品提供受区域限制

# 从hPSCs中生成间充质祖细胞

## STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒

STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒 (产品号 #05240) 优化于从hPSCs (即ES和iPS细胞; 图1) 中分化和培养间充质祖细胞 (MPC)。与MSCs不同, MPCs并非源自原代组织的基质部位, 较其对应的原代MSCs具备更低的异质性。使用STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒生成的MPCs具有高扩增率 (图2), 表达国际细胞治疗学会 (ISCT) 定义的细胞表面标志物 (图3), 并且保持三系分化潜能 (图4)。

### STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒的优势

**一致。** 无血清、无动物成分的配方将提高实验重复性。

**强大。** 从多种人ES或iPS细胞系生成MPCs。

**高效。** 在三周内快速将hPSCs分化为MPCs。

**实用。** 产生的MPCs能长期扩增及向三系分化。

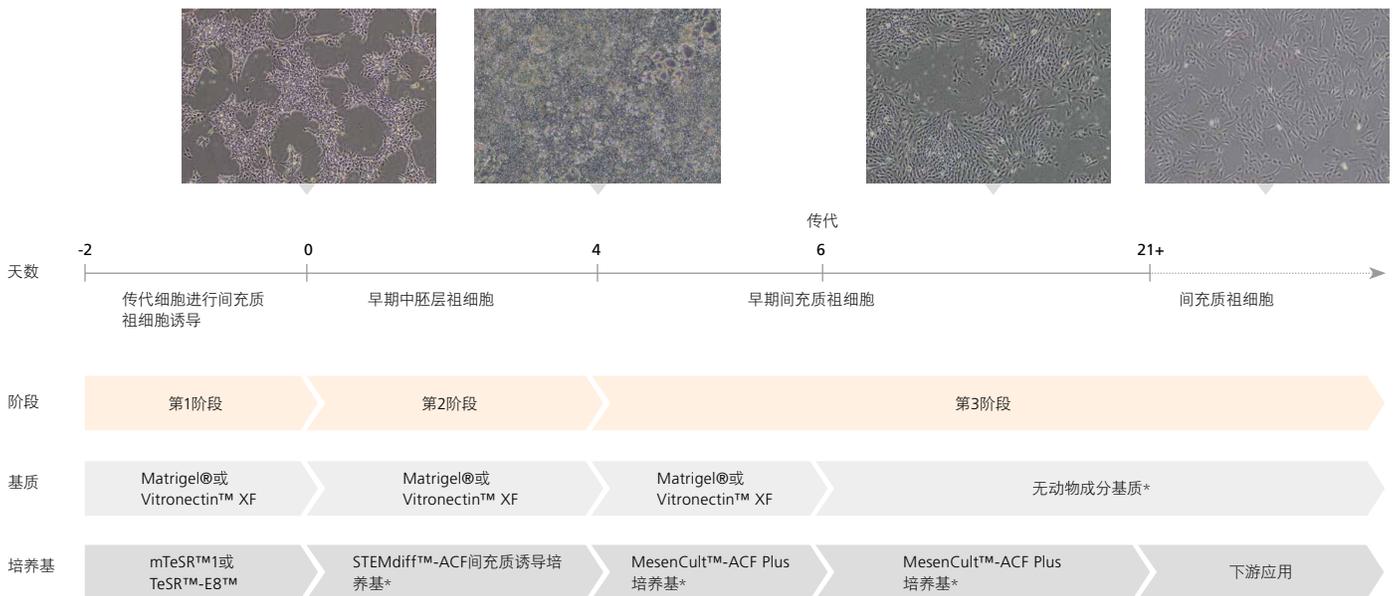
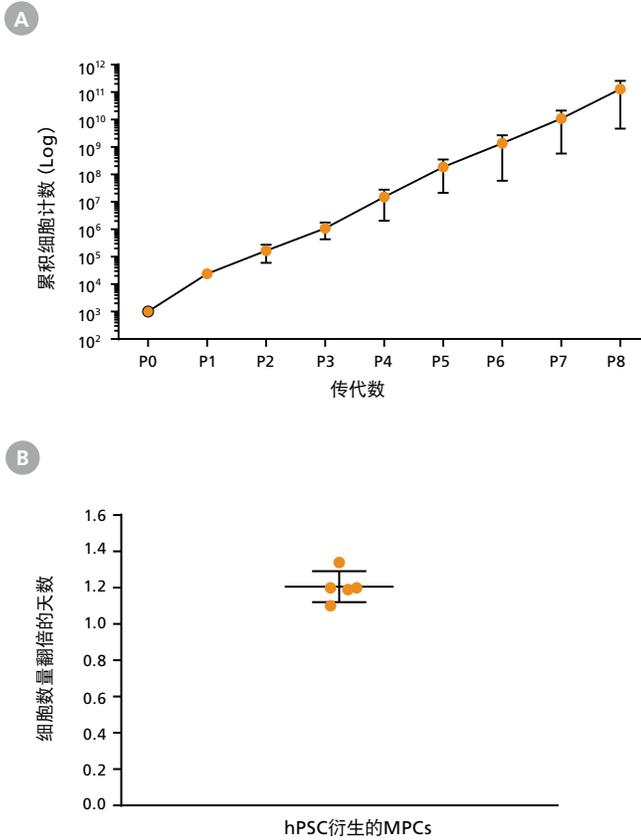


图1. hPSC衍生MPC的分化流程示意图

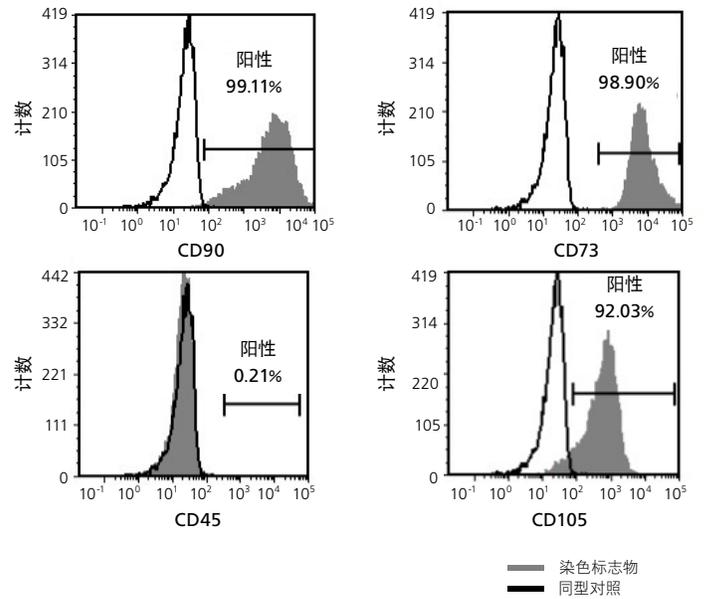
在第1阶段, hPSCs在mTeSR™1 (产品号 #85850) 或TeSR™-E8™ (产品号 #05990) 培养基中, 和预先以Vitronectin XF™ (产品号 #07180) 或Corning® Matrigel® hESC-Qualified基质铺板的培养皿上培养。在流程的第0天 (第2阶段), 通过将TeSR™培养基转换为STEMdiff™-ACF间充质诱导培养基, 将细胞诱导为早期中胚层祖细胞。到第4天 (第3阶段), STEMdiff™-ACF间充质诱导培养基由MesenCult™-ACF Plus完全培养基取代, 以衍生早期MPCs。在第6天, 细胞传代到预先以无动物成分基质铺板的培养皿上。到第21天, 分化的细胞表现出MPC特征, 可以进一步扩增至20代。

\*STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒随附组分



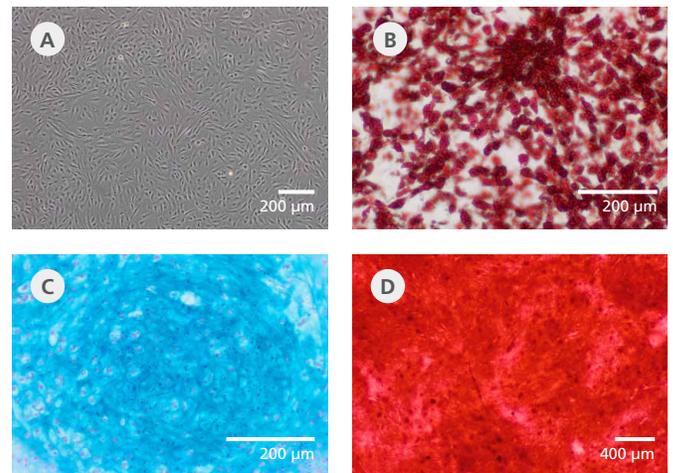
**图2.** 使用STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒从hPSCs衍生的MPCs在MesenCult™-ACF Plus培养基中表现出高的细胞扩增率

使用STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒生成的人MPCs表现出 (A) 高的累积细胞扩增率, 以及 (B) 培养的细胞数量翻倍平均时间为1.2天 (P3 - P8)。此处显示的数据展示了使用STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒进行分化, 并使用MesenCult™ ACF-Plus培养基试剂盒进行扩增的iPS (n = 1) 和ES (n = 4) 细胞。误差线表示的是均值的标准误差 (SEM)。



**图3.** 对STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒中培养的iPS细胞衍生的MPCs进行的流式分析

使用STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒从人iPS细胞生成MPCs, 并使用MesenCult™ ACF-Plus培养基进行扩增。这些MPCs符合ISCT定义的MSC表面标志物标准 (CD73、CD90和CD105), 且在分化后的23天没有表现出造血标志物CD45。从人ES细胞衍生的MPCs表现出相同的表型 (数据未显示)。



**图4.** ES细胞衍生的MPCs保持强大的分化能力

使用STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒将人ES细胞分化为MPCs, 并使用MesenCult™-ACF Plus培养基进行扩增 (A)。然后将生成的MPCs分别使用MesenCult™脂肪分化试剂盒 (人; 产品号 #05412) 分化为 (B) 脂肪细胞 (油红O)、MesenCult™-ACF软骨细胞分化试剂盒分化为 (C) 软骨细胞 (阿尔新蓝与核固红) 以及MesenCult™成骨细胞分化试剂盒 (人; 产品号 #05465) 分化为 (D) 成骨细胞 (茜素红S)。对于iPS细胞衍生的MPCs, 也观察到了相似结果 (数据未显示)。

# 人MSC的衍生、培养和冷冻保存

## MesenCult™-ACF Plus培养基

MesenCult™-ACF Plus培养基/培养试剂盒(产品号 #05445/48)是无动物成分的标准化培养试剂盒,用于从BM、UC及脂肪组织获取和培养人MSCs。与无血清或无异种成分的配方相比,在MesenCult™-ACF Plus培养基中衍生和扩增的MSCs会产生总数相等或更多的成纤维细胞集落形成单位(CFU-F;图5),每次传代的细胞总数也更多(图6)。若分别与含FBS或含人血小板裂解物(hPL)的培养基相比,MesenCult™-ACF-Plus培养基分别具有更优异或相同的性能(图7)。使用MesenCult™-ACF-Plus培养基衍生和扩增的MSCs会保持稳定的扩增率和体外三系分化潜能(图8),并表达ISCT定义的细胞表面标志物(图9)。

### MesenCult™-ACF Plus培养基的优势

**一致性。**无动物成分的配方将提高实验重复性。

**高性能。**与含血清的培养基相比具有更优异的细胞扩增率。

**功能性。**培养的MSCs会保持良好的扩增率和三系分化能力。

**经过优化。**支持从原代人体组织重直接衍生MSCs,无需添加人血清。

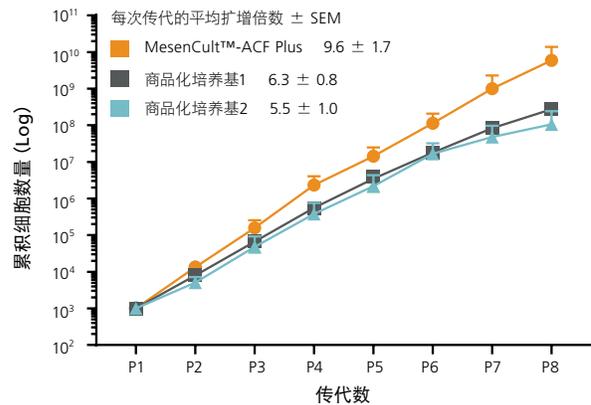


图6. 从BM衍生的MSCs在MesenCult™-ACF Plus培养基中快速扩增

与无异种成分、无血清的商品化培养基1 (n = 3) 及商品化培养基2 (n = 2) 相比,使用MesenCult™-ACF Plus培养基 (n = 4) 生成更多的人BM衍生MSCs。在8次传代中, MesenCult™-ACF Plus培养基中培养的MSCs每次传代的平均扩增率达到了9.6倍,而商品化培养基1和商品化培养基2中的平均扩增率分别是6.3倍和5.5倍。误差线表示的是SEM。

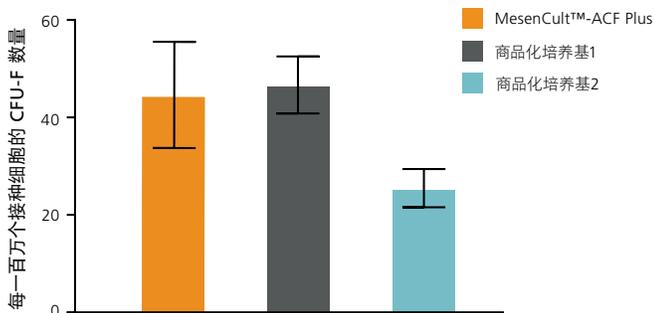


图5. MesenCult™-ACF Plus培养基无需添加人的血清即可从BM中衍生MSCs

将人BM单个核细胞接种在MesenCult™-ACF Plus培养基中,每一百万个接种细胞中平均观察到45个CFU-F (n = 4)。对于商品化培养基1 (n = 3) 和培养基2 (n = 4),每一百万个细胞中观察到的CFU-F平均数量分别是47和25个。对于无异种成分、无血清的商品化培养基1和商品化培养基2,根据其标准操作流程,需要添加2.5%的人AB血清。而使用MesenCult™-ACF Plus培养基时,则无需添加血清。误差线表示的是SEM。

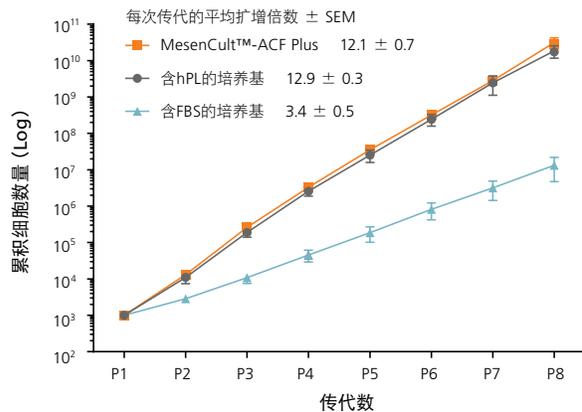
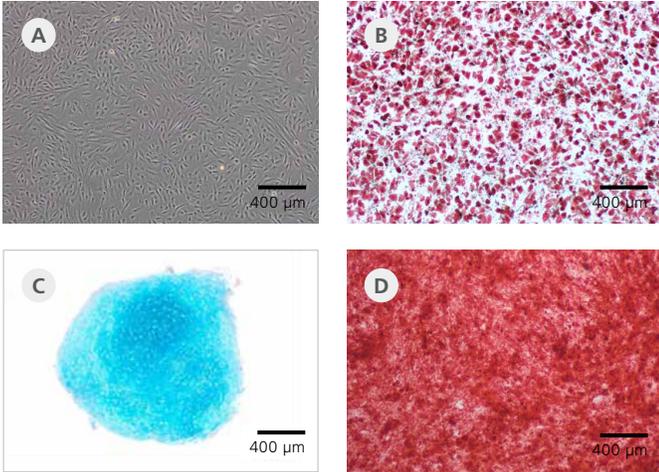


图7. 与含FBS或含hPL的培养基相比, MesenCult™-ACF Plus培养基分别具有更优异或相同的性能

人BM来源的MSCs在MesenCult™-ACF培养基中的扩增效率相当于或高于使用含hPL或FBS的培养基,如MesenCult™-hPL培养试剂盒(产品号 #05439)和MesenCult™-FBS培养试剂盒(人;产品号 #05411)。误差线表示的是SEM。



**图8.** 在MesenCult™-ACF Plus培养基中扩增的BM来源的MSCs表现出体外的三系分化潜能

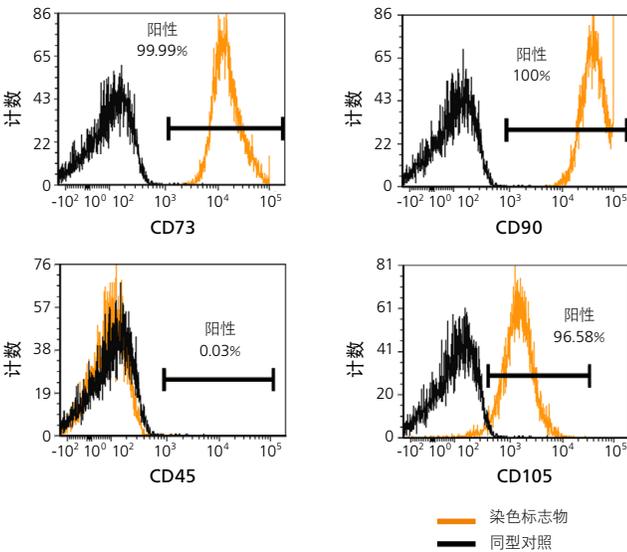
分别使用MesenCult™脂肪分化试剂盒(人)、MesenCult™-ACF软骨细胞分化试剂盒以及MesenCult™成骨细胞分化试剂盒(人), 将于MesenCult™-ACF Plus培养基中经过两代扩增(P2)的人BM来源的MSCs (A) 分化为 (B) 脂肪细胞(油红O) (C) 软骨细胞(阿尔新蓝与核固红)和 (D) 成骨细胞(黄素红S)。

## 无动物成分细胞解离试剂盒

无动物成分的细胞解离试剂盒(产品号 #05426) 是针对人干细胞和祖细胞(包括各种培养基配方中培养的MSCs) 的解离和传代进行优化。此试剂盒包括ACF酶促解离溶液和ACF酶抑制溶液, 是为MesenCult™-ACF工作流程中的一部分。

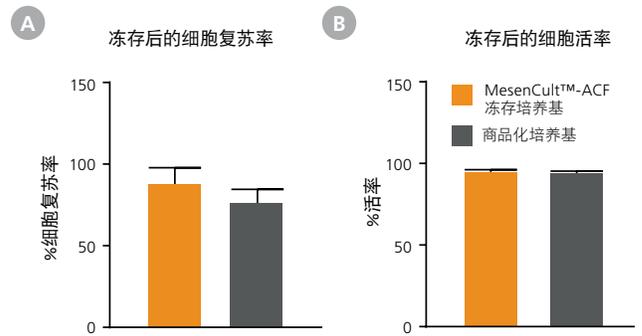
## MesenCult™-ACF冻存液

MesenCult™-ACF 冻存液(产品号 #05490) 是无动物成分的冷冻保存液, 用于冷冻保存原代MSCs和hPSCs衍生的MPCs, 是为MesenCult™-ACF工作流程中的一部分。对于在MesenCult™-ACF Plus培养基、MesenCult™扩增试剂盒(人)或MesenCult™-hPL培养基中培养的MSCs, 推荐使用这种完全且即用型的冻存液进行冷冻保存。在MesenCult™-ACF冻存液中冷冻保存的MSCs和MPCs具有很高的复苏率和细胞活性(图10), 并在复苏后保持良好的扩增和三系分化能力(数据未显示)。冻存的人MSCs应保存在-135°C(液氮)或更低的温度。



**图9.** 对MesenCult™-ACF Plus培养基中培养和扩增的BM来源的MSCs进行流式分析

使用MesenCult™-ACF Plus培养基对人BM来源的MSCs进行培养和扩增。第8代的MSCs表达高水平的CD73、CD90和CD105, 但未表达造血标志物CD45, 符合ISCT所定义的MSC表面标志物标准。



**图10.** 细胞在MesenCult™-ACF冻存液中的复苏率和存活率

使用MesenCult™-ACF冻存液冷冻保存的MSCs (A) 较使用竞品的ACF冻存液具有更高的复苏率(复苏的细胞数量/冻存的细胞数量), 并且 (B) 具有相近的细胞活性(活细胞数量/细胞总数)。误差线表示的是SEM (n = 5)。

## MesenCult™-hPL培养试剂盒

MesenCult™-hPL培养试剂盒 (产品号 #05439) 是针对源于人BM的MSCs的衍生和扩增进行优化。该培养基含专有的去掉纤维蛋白原的人血小板裂解物 (hPL), 是替代胎牛血清 (FBS) 的生长添加物。完全的MesenCult™-hPL培养试剂盒不需要添加生长因子、脂质、诸如肝素等抗凝血剂或使用基质。与含FBS的培养基相比, 该培养试剂盒能提供更优的扩增性能, 效果的一致性更高 (图11)。使用MesenCult™-hPL培养试剂盒培养和扩增的MSCs表达高水平的由ISCT定义的MSC表面标志物 (图12), 并保持三系分化潜能 (图13)。

### MesenCult™-hPL培养试剂盒的优势

- 一致性。** 无FBS的配方将提高实验重复性。
- 功能性。** 培养的MSCs会保持良好的扩增率和分化能力。
- 高效。** 与含FBS的培养基相比具有更优异的细胞扩增率。

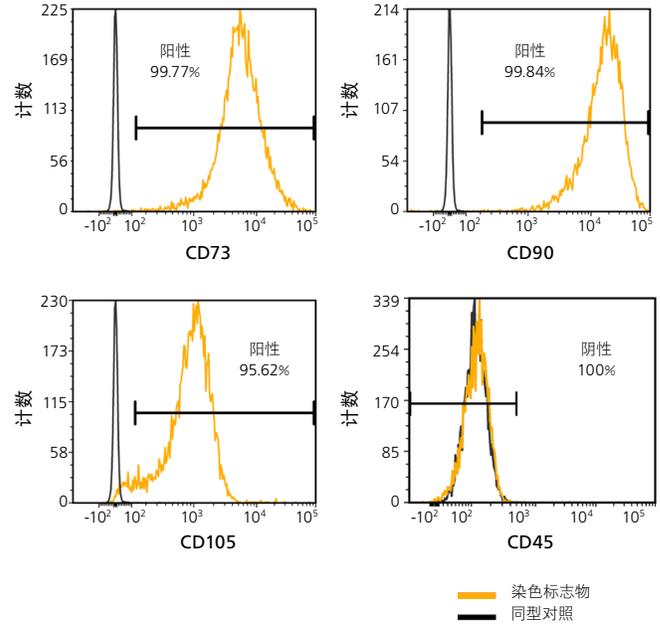


图12. 对使用MesenCult™-hPL培养试剂盒扩增的MSCs进行的流式分析

人BM来源的MSCs在MesenCult™-hPL培养试剂盒中衍生、培养和扩增, 并使用流式进行分析。这些细胞表达高水平的由ISCT定义的MSC表面标志物 (CD73、CD90和CD105), 并不表达造血标志物CD45。

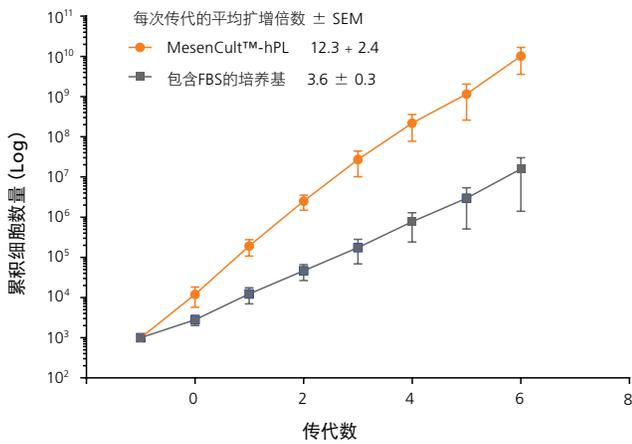


图11. 与含FBS的培养基相比, 在MesenCult™-hPL培养试剂盒中培养的BM来源的MSCs扩增速度更快

人BM单个核细胞在MesenCult™-hPL培养试剂盒或含FBS的MesenCult™扩增试剂盒中直接培养和扩增。对8次传代期间的细胞扩增进行测量 (n = 3)。误差线表示的是SEM。

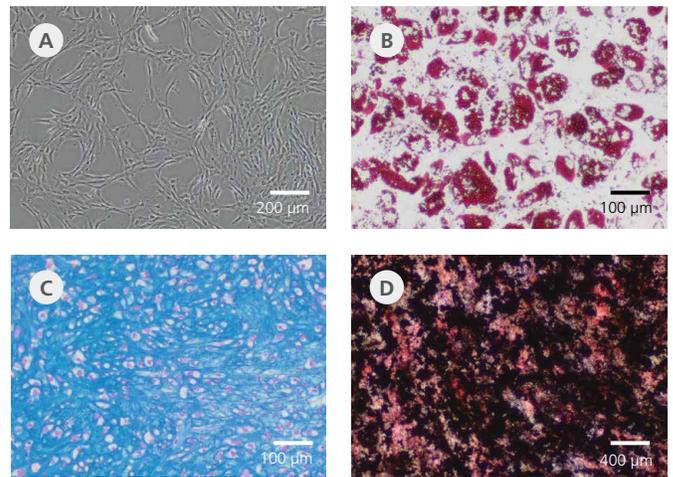


图13. 在MesenCult™-hPL培养试剂盒中衍生和培养的MSCs显示出三系分化潜能

分别使用MesenCult™脂肪分化试剂盒 (人)、MesenCult™-ACF软骨细胞分化试剂盒以及MesenCult™成骨细胞分化试剂盒 (人), 将MesenCult™-hPL培养试剂盒中扩增和培养的人BM来源的MSCs (A) 分化为 (B) 脂肪细胞 (油红O) (C) 软骨细胞 (阿尔新蓝与核固红) 和 (D) 成骨细胞 (碱性磷酸酶与硝酸银)。

## MesenCult™ 扩增试剂盒 (人)

MesenCult™ 扩增试剂盒 (人: 产品号 #05411) 是含血清的标准化试剂盒, 用于培养人MSCs。该试剂盒是针对人MSCs于体外的衍生和扩增以及CFU-F的检测和计数进行优化。使用此试剂盒, 可以从BM (图14)、UC华顿氏胶 (图15) 和脂肪组织 (数据未显示) 中获得MSCs。使用该试剂盒培养的MSCs会快速扩增 (图16), 同时表达ISCT定义的细胞表面标志物 (图17)。这些MSCs也会保持良好的三系分化潜能 (图18)。

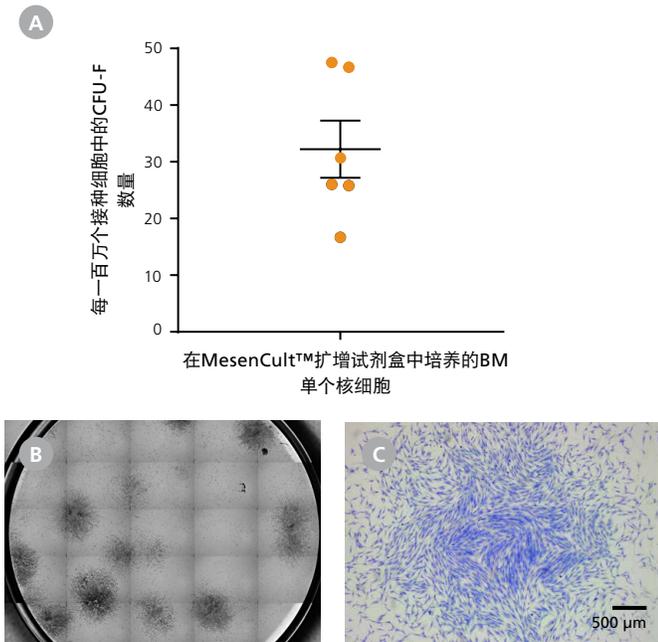


图14. MesenCult™ 扩增试剂盒 (人) 从BM中富集CFU-F

(A) 在MesenCult™ 扩增试剂盒 (人) 中培养人BM样本时, 每一百万个接种的单个核细胞中平均观察到32个CFU-Fs。(B) 将人BM单个核细胞接种到MesenCult™ 扩增试剂盒 (人) 中, 接种密度为 $3.0 \times 10^4$ 个细胞/cm<sup>2</sup>, 12天后, 培养物中可观察到很多CFU-Fs。(C) 在MesenCult™ 扩增试剂盒中扩增12天后, 单个CFU-F集落的代表性图像, 经甲苯胺蓝进行染色。误差线表示的是SEM。

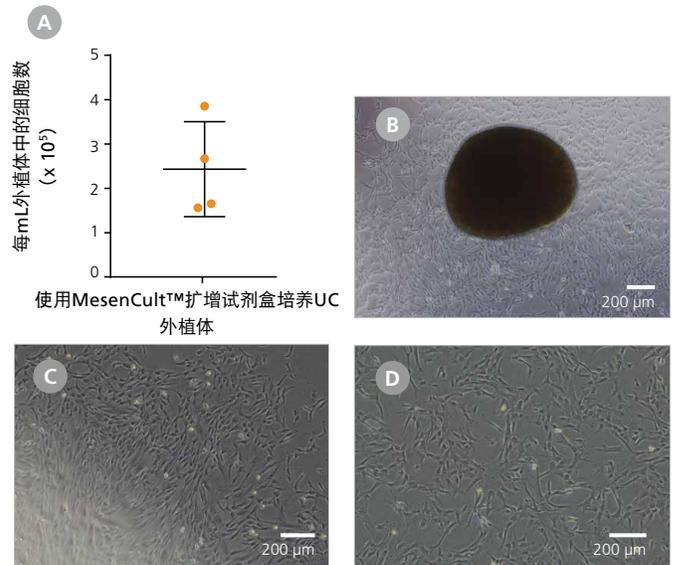


图15. 在MesenCult™ 扩增试剂盒 (人) 中培养时, UC外植体来源的MSCs扩增迅速

(A) UC外植体在MesenCult™ 扩增试剂盒 (人) 中培养10天后, 每mL外植体中的细胞平均数量可达到 $2.5 \times 10^5$ 。在MesenCult™ 扩增试剂盒 (人) 中初次培养的 (B) 第7天和 (C) 第10天, 以及 (D) 6次传代后UC来源的MSCs。

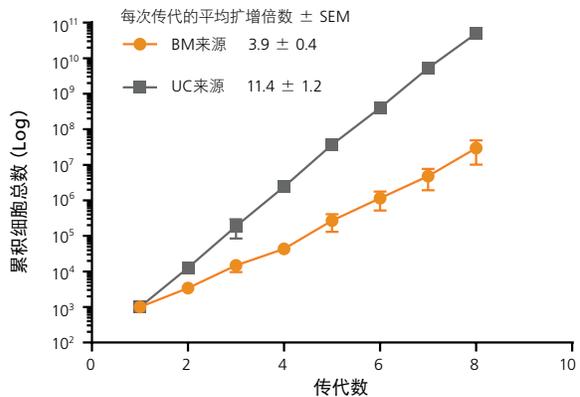


图16. 使用MesenCult™ 扩增试剂盒对人UC来源的MSCs和BM来源的MSCs进行培养扩增

从人BM或UC来源的MSCs, 通过8次传代进行扩增。对于BM与UC两种组织, 观察到的平均扩增倍数分别是3.9倍和11.4倍 (对于BM与UC, 分别是n = 5 和n = 4)。误差线表示的是SEM。

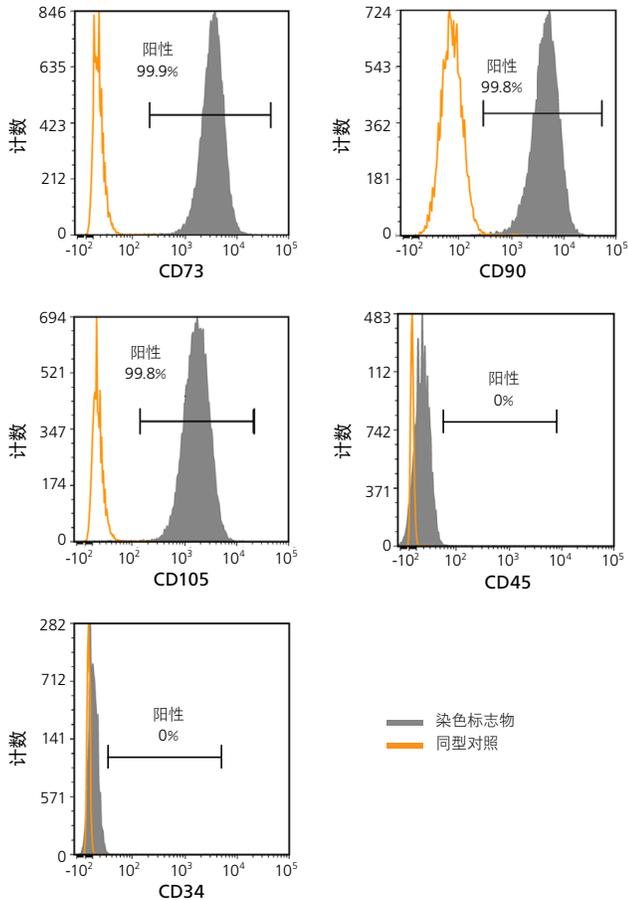


图17. 在MesenCult™扩增试剂盒（人）中扩增的MSCs表达ISCT定义的MSC表面标志物

从BM来源且使用MesenCult™扩增试剂盒（人）扩增的MSCs表达高水平的由ISCT定义的MSC标志物（CD73、CD90和CD105），但没有表达造血标志物CD34和CD45（P5）。

## MesenCult™扩增试剂盒（人）的优势

**灵活性。**能从BM、UC和脂肪组织中衍生和扩增MSCs。

**重复性。**严格的原材料筛选和质量控制可确保批次间的差异性最低。

**高效。**能快速衍生和扩增MSCs。

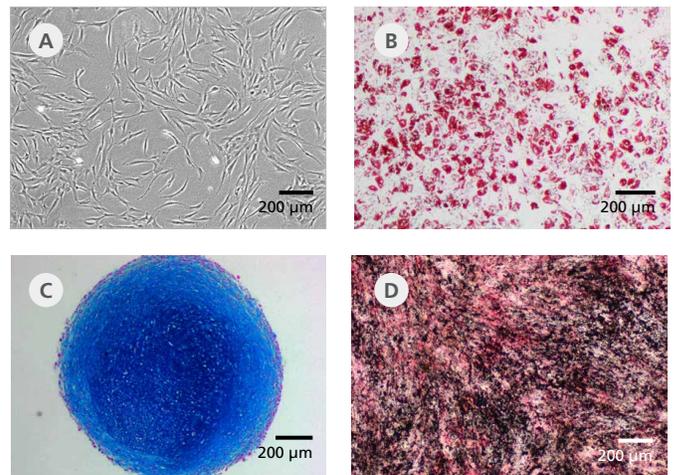


图18. 在MesenCult™扩增试剂盒（人）中扩增的MSCs保留三系分化潜能

分别使用MesenCult™脂肪分化试剂盒（人）、MesenCult™-ACF软骨细胞分化试剂盒以及MesenCult™成骨细胞分化试剂盒（人），将MesenCult™扩增试剂盒（人）中培养的人BM来源的MSCs（A）分化为（B）脂肪细胞（油红O）、（C）软骨细胞（阿尔新蓝与核固红）和（D）成骨细胞（碱性磷酸酶与硝酸银）。

# 人MSC分化

## MesenCult™脂肪分化试剂盒 (人)

MesenCult™脂肪分化试剂盒 (人; 产品号 #05412) 是针对将人MSCs于体外分化为脂肪谱系细胞而进行了优化。此试剂盒适用于将人BM、脂肪组织及UC所衍生的MSCs进行分化, 该MSCs曾在诸如MesenCult™-ACF Plus培养基 (图8B)、MesenCult™-hPL培养试剂盒 (图13B) 和MesenCult™扩增试剂盒 (人) (图18B) 等培养基内培养; 也适用于对使用STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒 (图4B) 从hPSCs衍生的MPCs进行分化。

## MesenCult™成骨细胞分化试剂盒 (人)

MesenCult™成骨细胞分化试剂盒 (人; 产品号 #05465) 是针对将人MSCs体外分化为成骨谱系细胞而研发的配方。此试剂盒适用于将人BM及脂肪组织衍生的MSCs进行分化, 该MSCs曾在诸如MesenCult™-ACF Plus培养基 (图8D)、MesenCult™-hPL培养基试剂盒 (图13D) 和MesenCult™扩增试剂盒 (人) (图18D) 等培养基内培养; 也适用于对使用STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒 (图4D) 从hPSCs衍生的MPCs进行分化。

## MesenCult™-ACF软骨细胞分化试剂盒

MesenCult™-ACF软骨细胞分化试剂盒 (产品号 #05455) 是ACF配方, 用于将人MSCs体外分化为软骨谱系细胞, 包括软骨细胞。此培养基适用于人BM及脂肪组织衍生的MSCs进行分化, 该MSCs曾在诸如MesenCult™-ACF Plus培养基 (图8C)、MesenCult™-hPL培养试剂盒 (图13C) 和MesenCult™扩增试剂盒 (人; 图18C) 等培养基内培养; 也适用于对使用STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒 (图4C) 从hPSCs衍生的MPCs进行分化。

# 小鼠MSC培养

## MesenCult™扩增试剂盒 (小鼠)

MesenCult™扩增试剂盒 (小鼠; 产品号 #05513) 是针对衍生和培养小鼠MSCs及胚胎成纤维细胞 (MEFs) 进行了优化 (图19)。完全的MesenCult™扩增培养基由基础培养基与添加物合并而成, 可以包含或不包含MesenPure™ (产品号 #05500)。与其他商品化培养基所培养的MSCs相比, 在MesenCult™扩增培养基 (小鼠) 中培养的小鼠MSCs表现出更好的长期扩增能力 (图20)。在完全培养基中添加MesenPure™可减少造血细胞污染, 从而早在第0次传代时就有富集MSC的培养物。该试剂盒可应用于由小鼠BM、脂肪组织和密质骨衍生的MSCs及MEFs。使用MesenCult™扩增试剂盒 (小鼠) 衍生和扩增的MSCs保持其三系分化潜能 (图21), 并表达小鼠MSCs的细胞表面标志物特征 (图22)。低氧小室 (产品号 #27310) 与单向流量计 (产品号 #27311) 可用于建立低氧环境, 相比在含氧量正常的条件下进行培养, 低氧环境可提高小鼠MSCs的扩增率<sup>1-2</sup>。

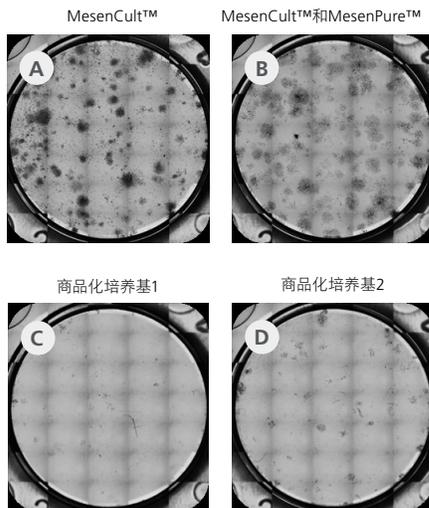


图19. MesenCult™扩增试剂盒 (小鼠) 可以从小鼠BM中衍生CFU-Fs

小鼠BM的单个核细胞在 (A) 不含MesenPure™和 (B) 含MesenPure™的MesenCult™扩增培养基 (小鼠) 中进行培养, 可观察到大量的CFU-Fs。在 (C) 商品化培养基1或 (D) 商品化培养基2中按照制造商推荐的方案进行培养时, 集落数量很少或是没有。接种密度:  $5.0 \times 10^4$  个细胞/cm<sup>2</sup>。对于由密质骨和脂肪组织衍生的MSCs, 也观察到相似结果。

## MesenCult™扩增试剂盒 (小鼠) 的优势

**高效。** 凭借早在第0次传代时就存在的强大富集, 实现小鼠MSCs的快速扩增。

**多用。** 经过优化后应用于MEF以及由小鼠BM、密质骨和脂肪组织衍生的MSCs。

**实用。** 能快速衍生和扩增MSCs。

**可靠。** 严格的原材料筛选和质量控制可将批次间的差异性降至最低, 并提高多次实验之间的再现性。

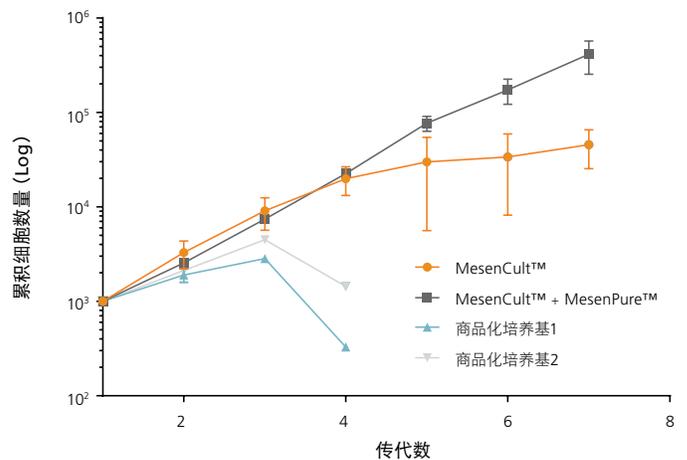
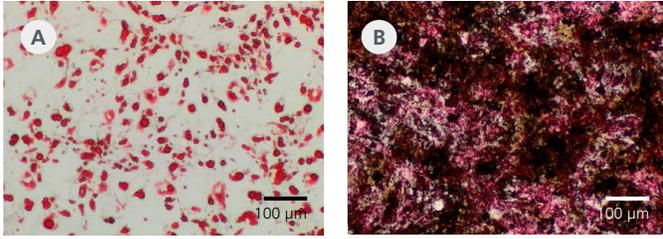


图20. 使用MesenCult™扩增试剂盒 (小鼠) 培养小鼠BM衍生的MSCs快速扩增

与商品化培养基1和2相比, 在MesenCult™扩增培养基 (小鼠) 中衍生和培养的小鼠MSCs表现出更优异的长期扩增率。添加MesenPure™可提高后期传代的扩增率, 并将MSCs的细胞数量翻倍时间从 $3.0 \pm 0.5$ 天缩短到 $2.3 \pm 0.1$ 天。使用MesenCult™扩增试剂盒 (小鼠) 的实验在低氧条件下进行。使用商品化培养基1和2的实验则遵循制造商方案的建议在含氧量正常的条件下进行。误差线表示的是SEM (对于MesenCult™和MesenCult™ + MesenPure™两种情况,  $n = 3$ )。



**图21. 在MesenCult™扩增试剂盒（小鼠）中培养小鼠BM来源的MSCs保持多系分化潜能**

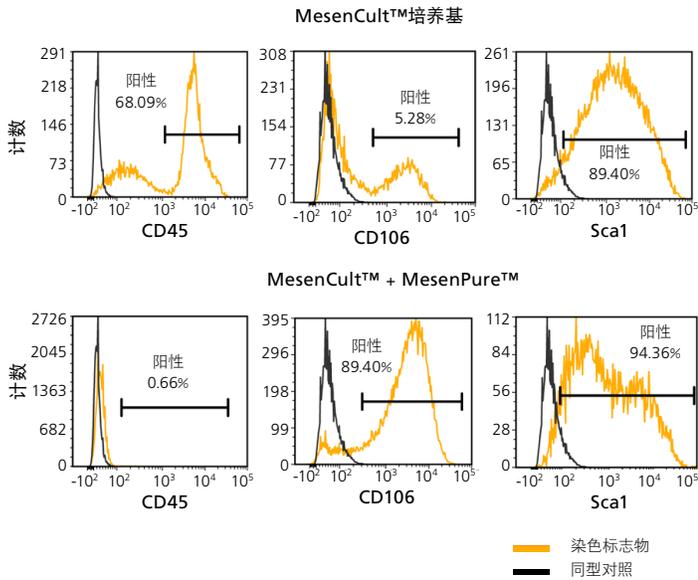
分别使用MesenCult™脂肪分化试剂盒（小鼠；产品号 #05507）和MesenCult™成骨细胞激生试剂盒（小鼠；产品号 #05504），在低氧条件下将在MesenCult™扩增培养基（小鼠）（含MesenPure™）中衍生和培养的，源于小鼠BM的MSCs分化为（A）脂肪细胞和（B）成骨谱系细胞。对脂肪细胞使用油红O染色以显示脂质，对成骨细胞使用硝酸银染色以显示钙化和碱性磷酸酶活性。在完全MesenCult™扩增培养基（含或不含MesenPure™）中培养的由密质骨与脂肪组织衍生的MSCs和MEFs也成功分化为脂肪细胞和成骨细胞（数据未显示）。

## MesenCult™脂肪分化试剂盒（小鼠）

MesenCult™脂肪分化试剂盒（小鼠；产品号 #05507）是专为将MEFs和由小鼠BM、密质骨及脂肪组织来源的MSCs体外分化为脂肪谱系细胞而研发的配方（图21A）。

## MesenCult™成骨细胞激生试剂盒（小鼠）

MesenCult™成骨细胞激生试剂盒（小鼠；产品号 #05504）是针对将MEFs和由小鼠BM、密质骨及脂肪组织来源的小鼠MSCs体外分化为成骨谱系细胞而进行优化（图21B）。该试剂盒推荐用于表征MSCs和MEFs以及骨骼发育的研究。



**图22. 使用MesenCult™扩增试剂盒（小鼠）培养小鼠BM来源的MSCs表达典型MSC细胞表面标志物**

小鼠BM单个核细胞在MesenCult™扩增培养基中或在含MesenPure™的MesenCult™扩增培养基中进行培养。对第2次传代的MSCs使用间充质表面标志物CD106和Sca1以及造血标志物CD45进行免疫标记和流式分析。在MesenCult™扩增培养基中培养的MSCs表达CD45+造血细胞和CD45- / CD106+ / Sca1+ MSCs的差异种群。将MesenPure™添加到MesenCult™扩增培养基后，获得富集而同质的CD45- (CD106+和Sca1+) MSCs群。

# 人MSC获取和分离

## RosetteSep™人间充质干细胞富集抗体混合物

RosetteSep™人间充质干细胞富集抗体混合物（产品号 #15128 / 15168）可从人BM中分离高度富集的人MSCs（图23）。抗体混合物中的抗体复合物能去除表达CD3、CD14、CD19、CD38、CD66b和血型糖蛋白A的红细胞（RBCs；图24）。被标记、不需要的细胞随着白血球和RBCs在诸如Lymphoprep™（产品号 #07801）等密度梯度离心液中沉淀，从而获得高度富集的MSCs。

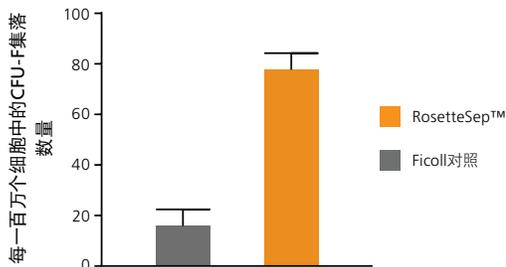


图23. RosetteSep™人间充质干细胞富集抗体混合物提高了CFU-F集落的数量

使用RosetteSep™人间充质干细胞富集抗体混合物（n = 3）对人BM样本进行富集后，每一百万个接种细胞中平均观察到78个CFU-Fs。经过RosetteSep™处理的样本，比对照组高出4.7倍的CFU-Fs数量。误差线表示的是SEM。

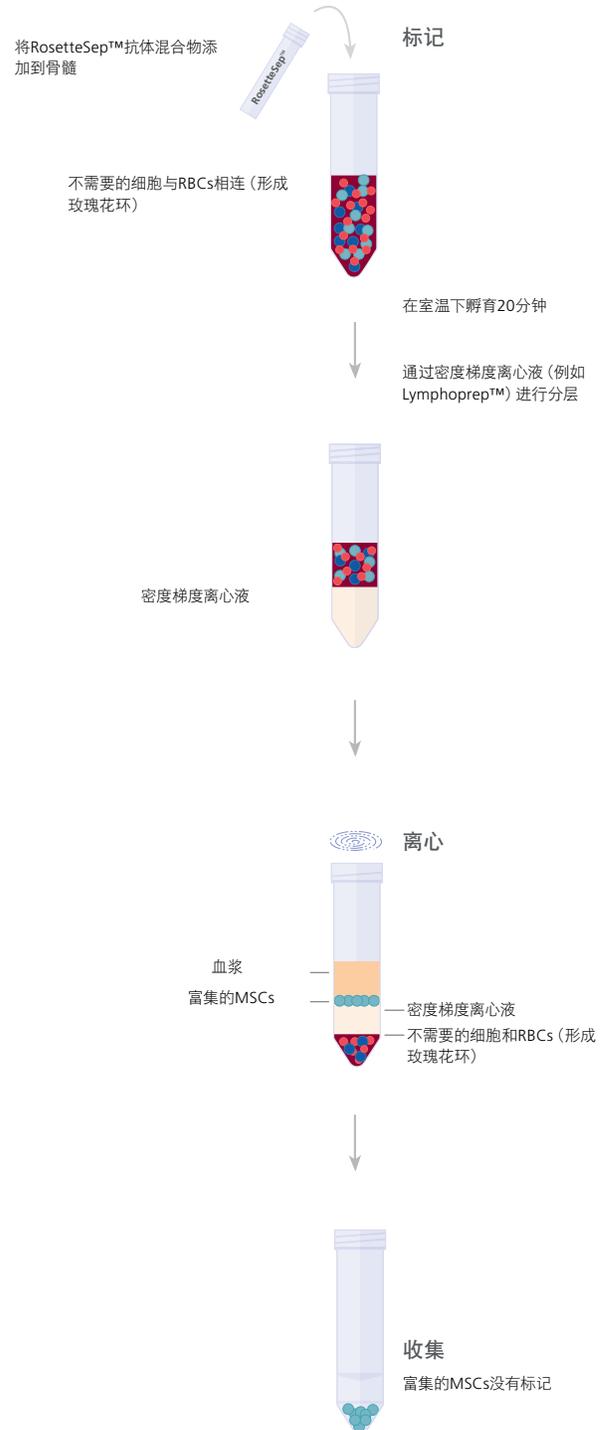


图24. RosetteSep™人间充质干细胞富集流程概览

## EasySep™人CD271正选试剂盒II

EasySep™人CD271正选试剂盒II (产品号 #17849) 可从人BM中分离MSCs, 而无需使用细胞分离柱。CD271 (也称为低亲和力神经生长受体) 是用于分离和表征人BM MSCs的高选择性标志物<sup>3-4</sup>。该试剂盒使用识别CD271的抗体复合物和磁珠对MSCs进行正选(图25)。该抗体混合物还包含针对人Fc受体的抗体, 以最大限度降低非特异性结合。

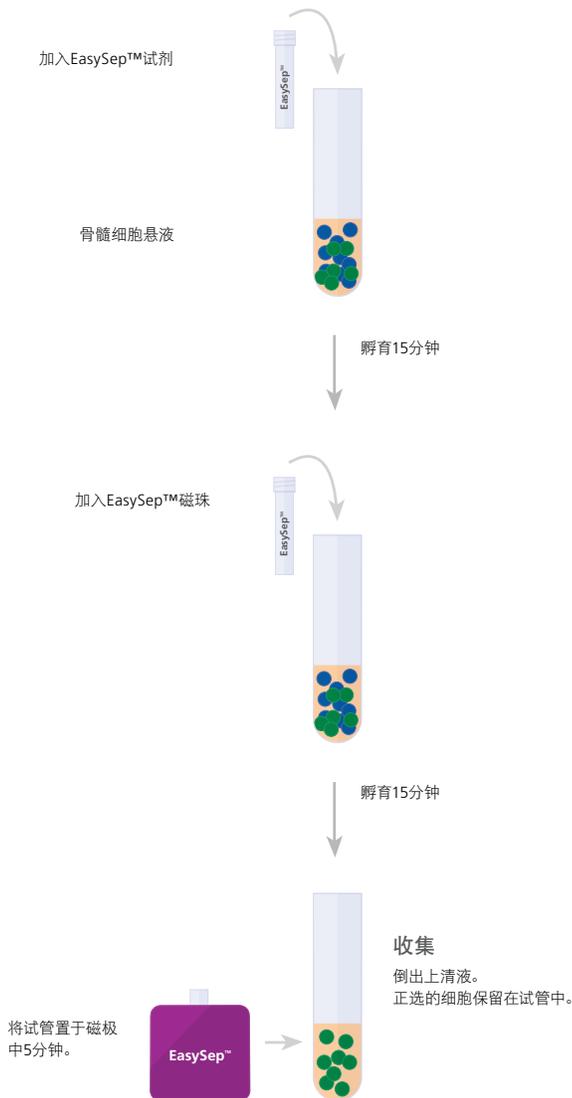


图25. EasySep™人CD271正选试剂盒II流程概览

## 基质细胞/ACF培养基中衍生的基质细胞

从人骨髓单个核细胞生成MSCs, 使用含血清的扩增培养基(产品号 #70022) 或无动物成分的扩增培养基(产品号 #70071) \*\*扩增, 并在一轮传代后将其冻存。这些基质细胞在Cryostor® CS10中冷冻保存, 表现出高的扩增能力, 同时保持良好的体外三系分化潜能。

## 全骨髓

全骨髓单个核细胞(产品号 #70502) \*\*通过对人全骨髓进行密度梯度离心而获得, 并在Cryostor® CS10中冷冻保存。这些单个核细胞可用于通过CFU-F检测对MSCs进行计数或进行扩增且/或运用MesenCult™培养基进行三系分化。

\*由FUJIFILM Cellular Dynamics, Inc.开发和制造。

\*\*产品提供受区域限制。

# 小鼠MSC获取和分离

## EasySep™小鼠间充质干/祖细胞富集试剂盒

使用EasySep™小鼠间充质干/祖细胞富集试剂盒 (产品号 #19771), 可以在不使用分离柱的情况下, 通过负选从小鼠密质骨中分离MSCs。使用靶向抗体复合物和EasySep™磁珠分选将所需的细胞富集50到200倍, 从而去除非MSC的细胞 (CD45<sup>+</sup>/TER119<sup>+</sup>)。

## 产品信息

### 人间充质相关研究产品

产品	产品号 #	组分/规格	应用
STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒*	05240	<ul style="list-style-type: none"> <li>STEMdiff™-ACF间充质诱导培养基 (100 mL)</li> <li>无动物成分基质 (1 mL)</li> <li>MesenCult™-ACF Plus 500X添加物 (1 mL)</li> <li>MesenCult™-ACF Plus培养基 (500 mL)</li> </ul>	将hPSCs分化为MSCs和将其扩增
MesenCult™-ACF Plus培养基/培养试剂盒*	05445 05448	<ul style="list-style-type: none"> <li>MesenCult™-ACF Plus培养基 (500 mL)</li> <li>MesenCult™-ACF Plus 500X添加物 (1 mL)</li> <li>无动物源成分细胞附着基底 (1 mL; 仅随05448提供)</li> </ul>	从各种组织中来源MSCs和将其培养
MesenCult™-hPL培养试剂盒	05439	<ul style="list-style-type: none"> <li>MesenCult™-hPL基础培养基 (450 mL)</li> <li>MesenCult™-hPL 10X添加物 (50 mL)</li> </ul>	
MesenCult™扩增试剂盒 (人)	05411	<ul style="list-style-type: none"> <li>MesenCult™ MSC基础培养基 (人; 450 mL)</li> <li>MesenCult™ MSC刺激添加物 (人; 50 mL)</li> </ul>	
无动物成分细胞解离试剂盒	05426	<ul style="list-style-type: none"> <li>ACF酶促解离溶液 (250 mL)</li> <li>ACF酶抑制溶液 (250 mL)</li> </ul>	人干细胞和祖细胞的解离和传代
MesenCult™-ACF冻存液	05490	<ul style="list-style-type: none"> <li>MesenCult™-ACF冻存液 (50 mL)</li> </ul>	MSCs的冷冻保存
MesenCult™脂肪分化试剂盒 (人)	05412	<ul style="list-style-type: none"> <li>MesenCult™ MSC基础培养基 (人; 225 mL)</li> <li>MesenCult™ 10X脂肪分化添加物 (人; 25 mL)</li> <li>MesenCult™ 500X脂肪分化添加物 (人; 0.5 mL)</li> </ul>	将MSCs体外分化成脂肪谱系细胞

## 人间充质研究产品 (续)

产品	产品号 #	组分	应用
MesenCult™成骨细胞分化试剂盒 (人) *	05465	<ul style="list-style-type: none"> <li>MesenCult™成骨细胞分化基础培养基 (人; 200 mL)</li> <li>MesenCult™成骨细胞分化5X添加物 (人; 50 mL)</li> </ul>	将MSCs体外分化为成骨谱系细胞
MesenCult™-ACF软骨细胞分化试剂盒	05455	<ul style="list-style-type: none"> <li>MesenCult™-ACF软骨细胞分化基础培养基 (95 mL)</li> <li>MesenCult™-ACF 20X软骨细胞分化添加物 (5 mL)</li> </ul>	将MSCs体外分化为软骨谱系细胞
RosetteSep™人间充质干细胞富集抗体混合物	15128 15168	<ul style="list-style-type: none"> <li>人间充质细胞富集抗体混合物 (2 mL / 10 mL)</li> </ul>	从骨髓中分离MSCs
EasySep™人CD271正选试剂盒II**	17849	<ul style="list-style-type: none"> <li>EasySep™人CD271正选抗体混合物II (1 mL)</li> <li>EasySep™葡聚糖RapidSpheres™ 50100 (1 mL)</li> <li>抗人CD32 (Fc gamma RII) 阻断剂, 用于正选 (1 mL)</li> </ul>	
基质细胞/ACF培养基衍生的基质细胞***	70022 70071	<ul style="list-style-type: none"> <li>7.5 x 10<sup>5</sup>个培养的细胞, 在含血清的培养基或ACF培养基中衍生并传代一次</li> </ul>	可用于多种细胞应用的原代MSC来源
全骨髓***	70502	<ul style="list-style-type: none"> <li>从成年捐赠者体内采集的 ≥ 100 mL的骨髓 (使用肝素作为抗凝血剂)</li> </ul>	

MSC: 间充质基质细胞

ACF: 无动物成分

hPSC: 人多能干细胞

hPL: 人血小板裂解物

iPS: 诱导多能干细胞

\*需要添加L-Glutamine

\*\*此试剂盒需要使用 EasySep™磁极

\*\*\*产品提供受区域限制

## 小鼠间充质研究产品

产品	产品号 #	组分	应用
MesenCult™扩增试剂盒 (小鼠) *	05513	<ul style="list-style-type: none"> <li>MesenCult™基础培养基 (小鼠; 450 mL)</li> <li>MesenCult™ 10X添加物 (小鼠; 50 mL)</li> <li>MesenPure™ (0.5 mL)</li> </ul>	小鼠MSCs和MEFs的扩增和培养
MesenCult™脂肪分化试剂盒 (小鼠) *	05507	<ul style="list-style-type: none"> <li>MesenCult™ MSC基础培养基 (小鼠; 200 mL)</li> <li>MesenCult™脂肪分化10X添加物 (小鼠; 22 mL)</li> </ul>	将小鼠MSCs和MEFs体外分化成脂肪谱系细胞
MesenCult™成骨细胞刺激试剂盒 (小鼠)	05504	<ul style="list-style-type: none"> <li>MesenCult™ MSC基础培养基 (小鼠; 200 mL)</li> <li>MesenCult™成骨细胞刺激添加物 (小鼠; 50 mL)</li> </ul>	将小鼠MSCs和MEFs体外分化为成骨谱系细胞
EasySep™小鼠间充质干/祖细胞富集试剂盒**	19771	<ul style="list-style-type: none"> <li>EasySep™小鼠间充质祖细胞富集抗体混合物 (0.4 mL)</li> <li>EasySep™生物素选择抗体混合物 (2 mL)</li> <li>EasySep™ D磁珠 (2 mL)</li> </ul>	从密质骨中分离小鼠MSCs

MSC: 间充质基质细胞

MEF: 小鼠胚胎成纤维细胞

\*需要添加L-Glutamine

\*\*此试剂盒需要使用EasySep™磁极

## 辅助产品

### 设备

产品	产品号 #	应用
低氧小室	27310	营造模拟生理条件的低氧环境
单向流量计	27311	控制气体流量, 以便在低氧小室中创造对组织进行培养的低氧环境

### 相关抗体

产品	产品号 #
抗人CD90抗体, Clone 5E10	60045
抗人CD73 (Ecto-5' -核苷酸酶) 抗体, Clone AD2	60044
抗人CD34抗体, Clone 581	60013
抗人CD45抗体, Clone HI30	60018
抗小鼠Sca1抗体, Clone E13-161.7	60032
抗小鼠CD45抗体, Clone 30-F11	60030

### 试剂、试剂盒与耗材

产品	产品号 #	规格	应用
mTeSR™1	85850 85857	500 mL 1 L	适用于hPSCs的cGMP无饲养层细胞的培养基
TeSR™-E8™	05990	1盒	适用于hPSCs的无饲养层、无动物成分的培养基
Vitronectin XF™	07180	2 mL	支持hPSCs生长和分化的无异种成分细胞培养基质
ALDEFLUOR™试剂盒	01700	1盒 (40 tests)	检测干细胞活力, 用于分离和鉴定
Lymphoprep™	07801 07851	250 mL 500 mL	密度梯度离心液, 推荐用于从外周血、脐带血和骨髓中分离单个核细胞
氯化铵溶液	07800 07850	100 mL 500 mL	裂解骨髓红细胞

## 试剂、试剂盒与耗材 (续)

产品	产品号 #	规格	应用
L-Glutamine	07100	100 mL	细胞培养添加物
Costar® 6孔平底培养板 (经组织培养处理)	38015	50块培养板	培养贴壁细胞
经组织培养处理的小皿, 100 mm	27125 27127	10块培养板 240块培养板	
3%的醋酸与亚甲基蓝	07060	100 mL	哺乳动物有核细胞计数
台盼蓝	07050	100 mL	活细胞计数
D-PBS (无Ca <sup>++</sup> 和Mg <sup>++</sup> ) D-PBS, 10X浓缩 (无Ca <sup>++</sup> 和Mg <sup>++</sup> )	37350 37354	500 mL 500 mL	各种细胞培养应用
添加有2%胎牛血清的Dulbecco的磷酸盐缓冲液	07905	500 mL	
胰蛋白酶-EDTA (0.25%) 胰蛋白酶-EDTA (0.05%)	07901 07910	500 mL 500 mL	细胞解离和脱附

cGMP: 动态药品生产管理规范

hPSCs: 人多能干细胞

D-PBS: 杜氏磷酸缓冲液

FBS: 胎牛血清

## 参考文献

1. Caroti CM et al. (2017). A novel technique for accelerated culture of murine mesenchymal stem cells that allows for sustained multipotency. *Sci Rep* 7(1): 1–17.
2. Baustian C et al (2015). Isolation, selection and culture methods to enhance clonogenicity of mouse bone marrow derived mesenchymal stromal cell precursors. *Stem Cell Res & Ther* 6 (151).
3. Quirici N et al. (2002) Isolation of bone marrow mesenchymal stem cells by anti-nerve growth factor receptor antibodies. *Exp Hematol* 30(7): 783–91.
4. Buhring HJ et al. (2007) Novel markers for the prospective isolation of human MSC. *Ann N Y Acad Sci* 1106: 262–71.

Copyright © 2020 by STEMCELL Technologies Inc. 版权所有，保留所有权利（包括图形和图像）。STEMCELL Technologies & Design、STEMCELL Shield Design、Scientists Helping Scientists、MesenCult、EasySep、RapidSpheres、RosetteSep和STEMdiff是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。TeSR、E8和mTeSR是WARF的注册商标。Lymphoprep是Alere Technologies的注册商标。Matrigel是Corning Incorporated的注册商标。Vitronectin XF是Primorigen Biosciences, Inc.的商标。Vitronectin XF由Primorigen Biosciences, Inc.开发和制造。ALDEFLUOR是ALDAGEN Inc.的注册商标。Cryosor是BioLife Solutions的注册商标。所有其他商标是其各自拥有者的资产。虽然STEMCELL已通过所有合理努力以确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，但是对于此类信息的准确性或完整性不提供任何保证或表述。

产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。有关STEMCELL质量控制的更多信息，请参阅WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE。



# MESENCHYMAL STROMAL CELLS

系列产品



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

网站: [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

微信ID: STEMCELLTech

