

TOP500当然不错，
北京友康也不会让您失望。

脂肪干细胞 (ADSCs) 无血清培养基

技术白皮书



脂肪干细胞 (ADSCs) 无血清培养基技术白皮书目录

一、ADSCs无血清培养基概述	1
二、无血清培养基分离原代ADSCs的数据与说明	1
三、无血清培养基分离原代ADSCs的照片	2
四、无血清培养基中ADSCs从原代开始连续传代的数据	3
五、无血清培养基中ADSCs从原代开始连续传代的照片	4
六、无血清培养基中ADSCs从原代连续传代的细胞表型流式分析图	14
七、复苏冻存的ADSCs	16
八、无血清培养基与血清培养基的差别	19
九、使用无血清培养基培养ADSCs细胞时，经常容易犯的错误	20
十、用户经常问的几个问题	21
十一、友康简介与产品质量保障	22

一、ADSCs无血清培养基概述

【用途概述】

1. 本产品可用于人脂肪来源的原代ADSCs的分离，也可用于人脂肪来源的ADSCs的传代。
2. 本产品使用前不需要包被培养瓶。

【性能概述】

1. **10mL脂肪组织**分离的SVF接种一个T25瓶，
分离到原代ADSCs可达 **4.0E6个~5.0E6/T25瓶**。
2. 可传代至10代以上。 (接种密度8000 cells/cm², 72小时可收获细胞)
3. 可收获3代细胞 **1547 E7** 个。
4. 可收获5代细胞 **31698 E7** 个。
5. 可收获8代细胞 **648273804 E7** 个。
6. 可收获10代细胞 **76883652516 E7** 个。

二、无血清培养基分离原代ADSCs的数据与说明

Q: 100mL脂肪能够分离、生长出多少细胞?

A: 100mL脂肪经过处理，可以接种10个T25的细胞瓶，
经过6~8天的生长，可收获原代细胞4.0E7个~5.0E7 个。

三、无血清培养基分离原代ADSCs的图片



1. SVF接种到培养瓶或培养皿中，12h会有细胞贴壁，36~48h后可进行全量换液，去除不贴壁的细胞及红细胞等；
2. 一般从接种开始到细胞汇合度长至90%左右需要6~8天，在刚开始的三天内细胞生长缓慢或基本不生长，第四天开始加速生长；
3. 传代时，细胞不要长的过满，过满会导致细胞接触抑制，后续传代效果差。

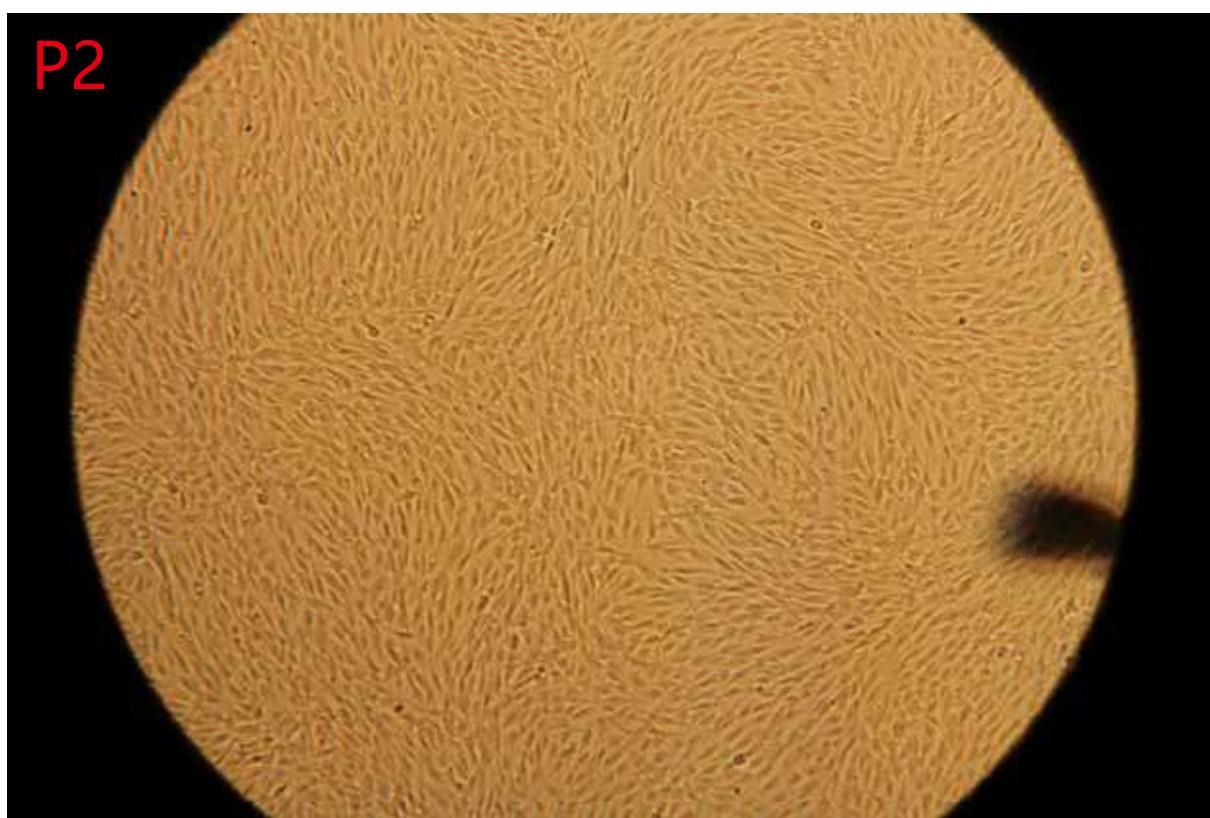
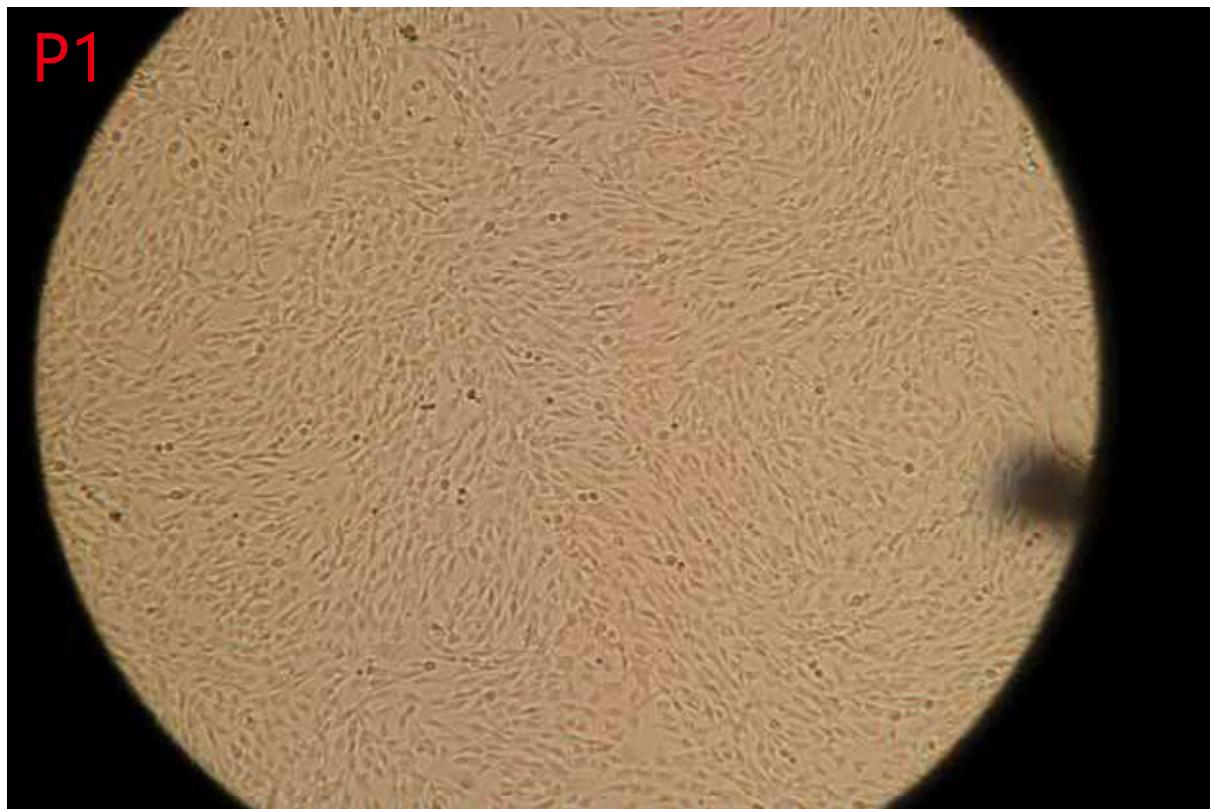
四、ADSCs从原代开始连续传代数据

将从10mL脂肪组织分离到的ADSCs进行传代培养，在无血清培养基中可以稳定传代至P20，

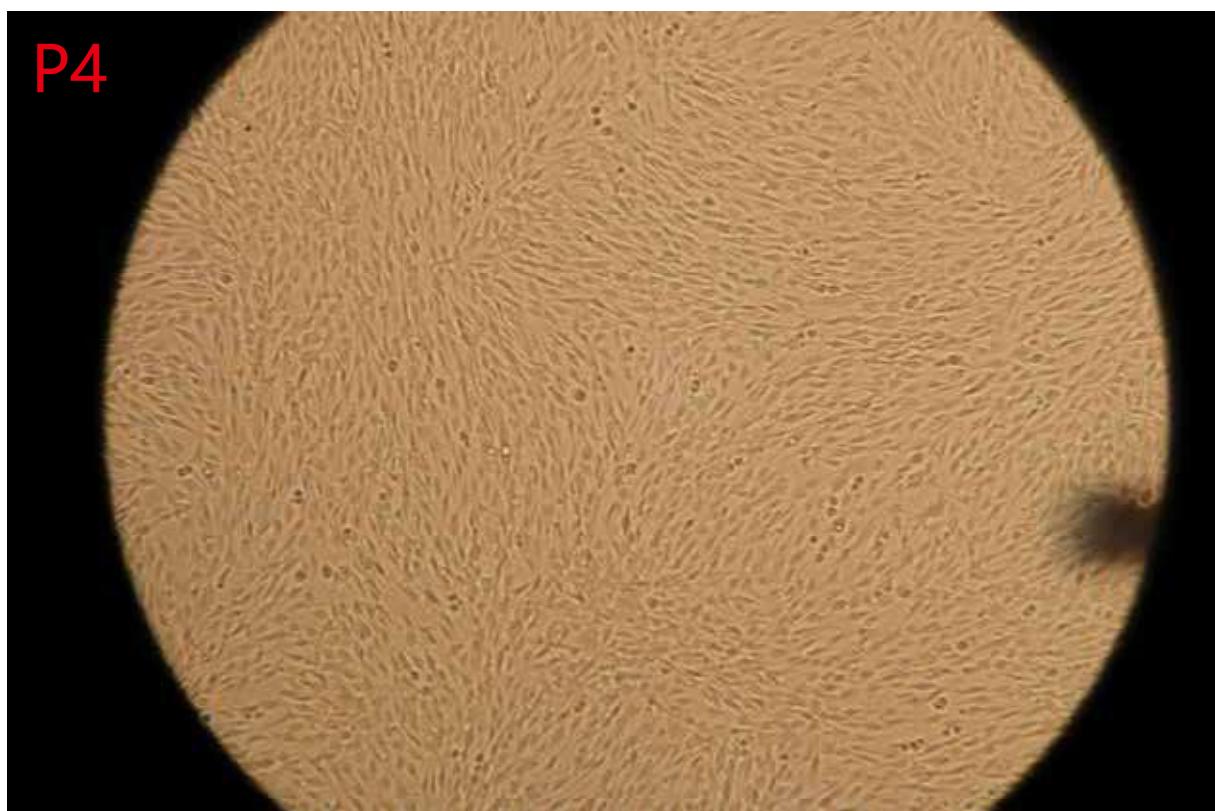
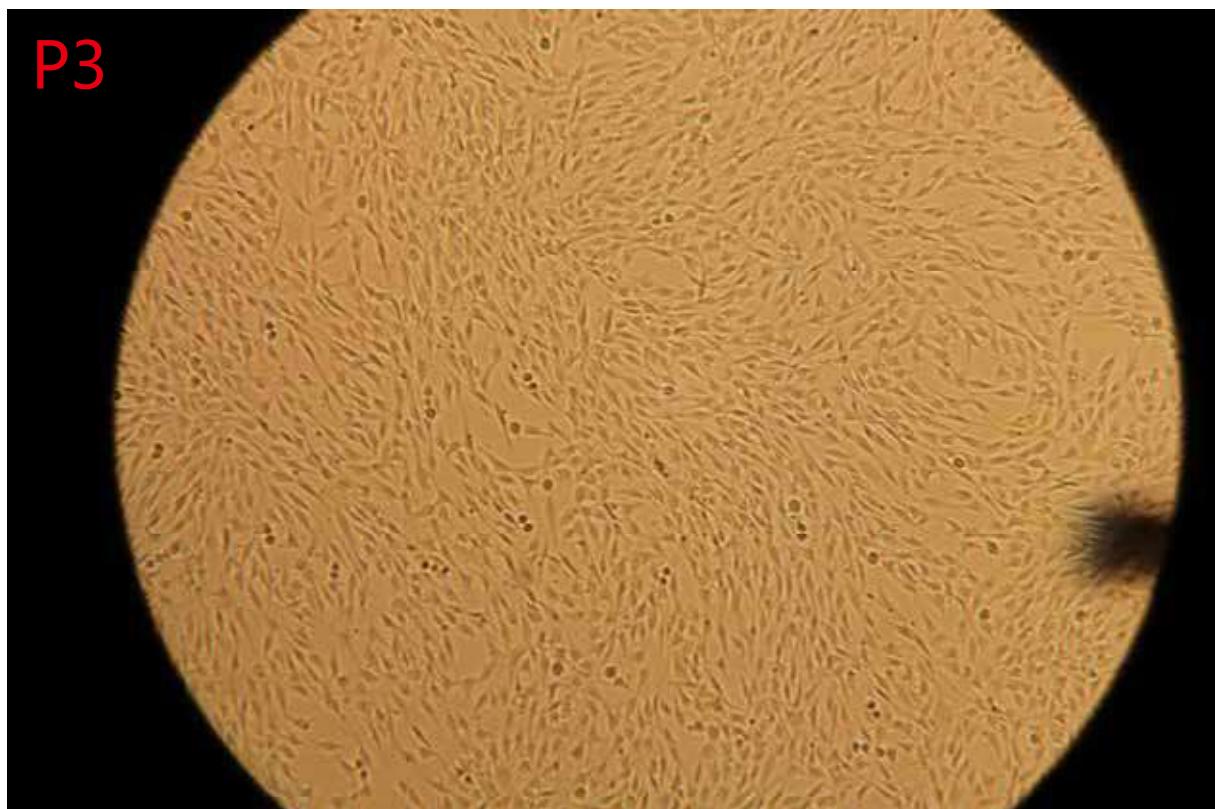
细胞数量可扩增至原代细胞数量的1.12E20倍,具体见下表:

代次	接种密度 (cells/cm ²)	时间	汇合度	收获细胞数cells/T25	扩增倍数	总收获细胞数	总扩增倍数
原代	/	6~8 天		4.50E+06	/	4.50E+06	/
P1	8000	72h	90%	2.80E+06	14.02	6.31E+07	14.02
P2				3.47E+06	17.33	1.09E+09	2.43E+02
P3				2.83E+06	14.15	1.55E+10	3.44E+03
P4				3.10E+06	15.51	2.40E+11	5.33E+04
P5				2.65E+06	13.24	3.18E+12	7.06E+05
P6				2.58E+06	12.89	4.10E+13	9.10E+06
P7				2.63E+06	13.17	5.39E+14	1.20E+08
P8				2.40E+06	12.02	6.48E+15	1.44E+09
P9				2.51E+06	12.55	8.14E+16	1.81E+10
P10				1.89E+06	9.45	7.69E+17	1.71E+11
P11				1.98E+06	9.90	7.61E+18	1.69E+12
P12				1.56E+06	7.82	5.95E+19	1.32E+13
P13				1.53E+06	7.66	4.56E+20	1.01E+14
P14				1.40E+06	7.00	3.19E+21	7.09E+14
P15				1.47E+06	7.33	2.34E+22	5.20E+15
P16				1.49E+06	7.43	1.74E+23	3.86E+16
P17				1.54E+06	7.68	1.33E+24	2.97E+17
P18				1.41E+06	7.03	9.38E+24	2.09E+18
P19				1.47E+06	7.37	6.92E+25	1.54E+19
P20		96h		1.46E+06	7.29	5.04E+26	1.12E+20

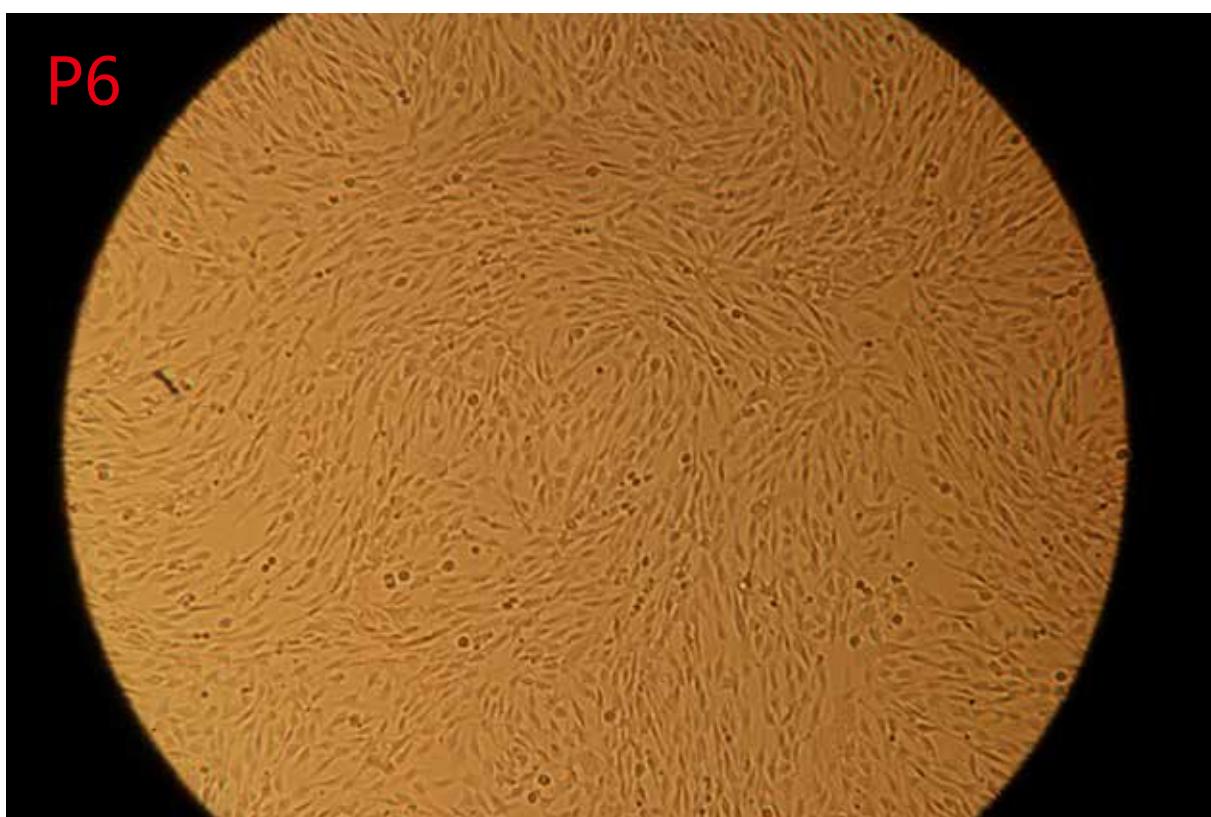
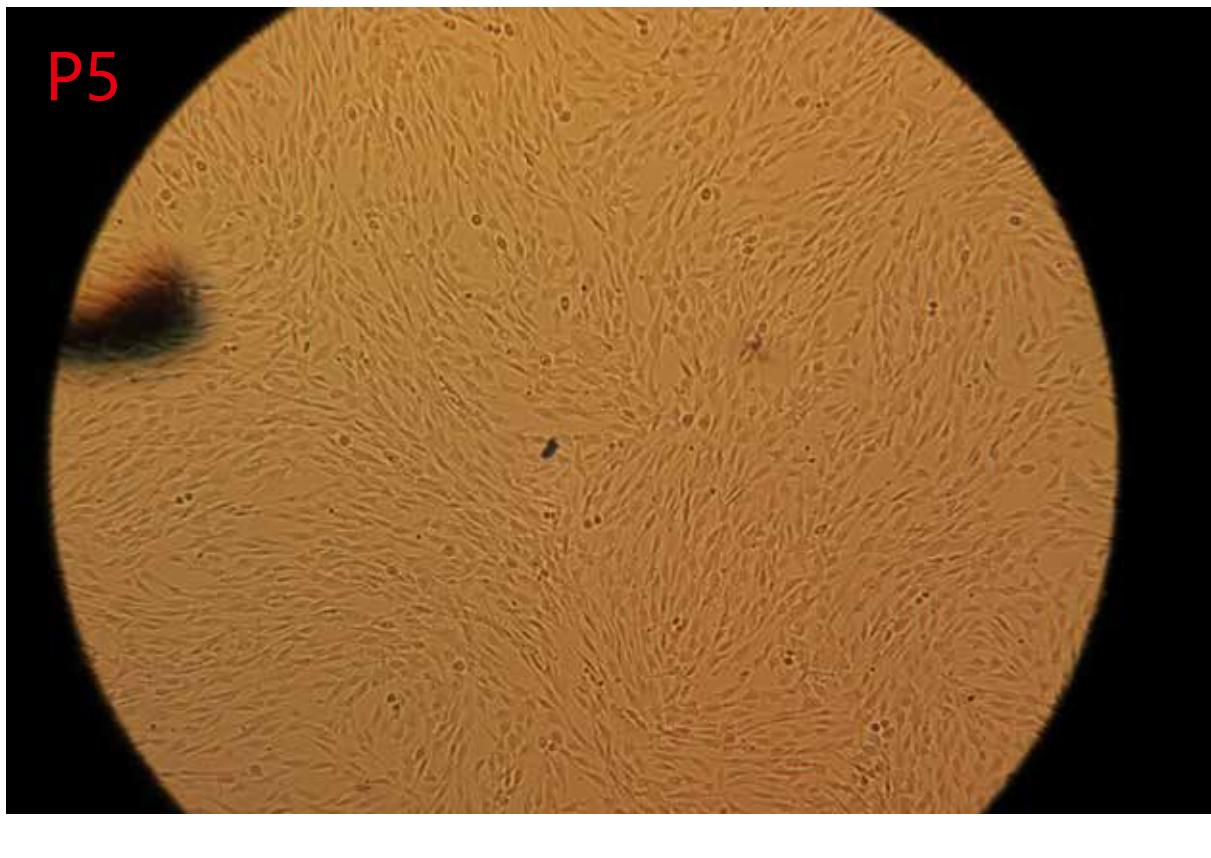
五、无血清培养基中细胞从原代连续传代的照片 (原代到 1代, 1代到 2代)



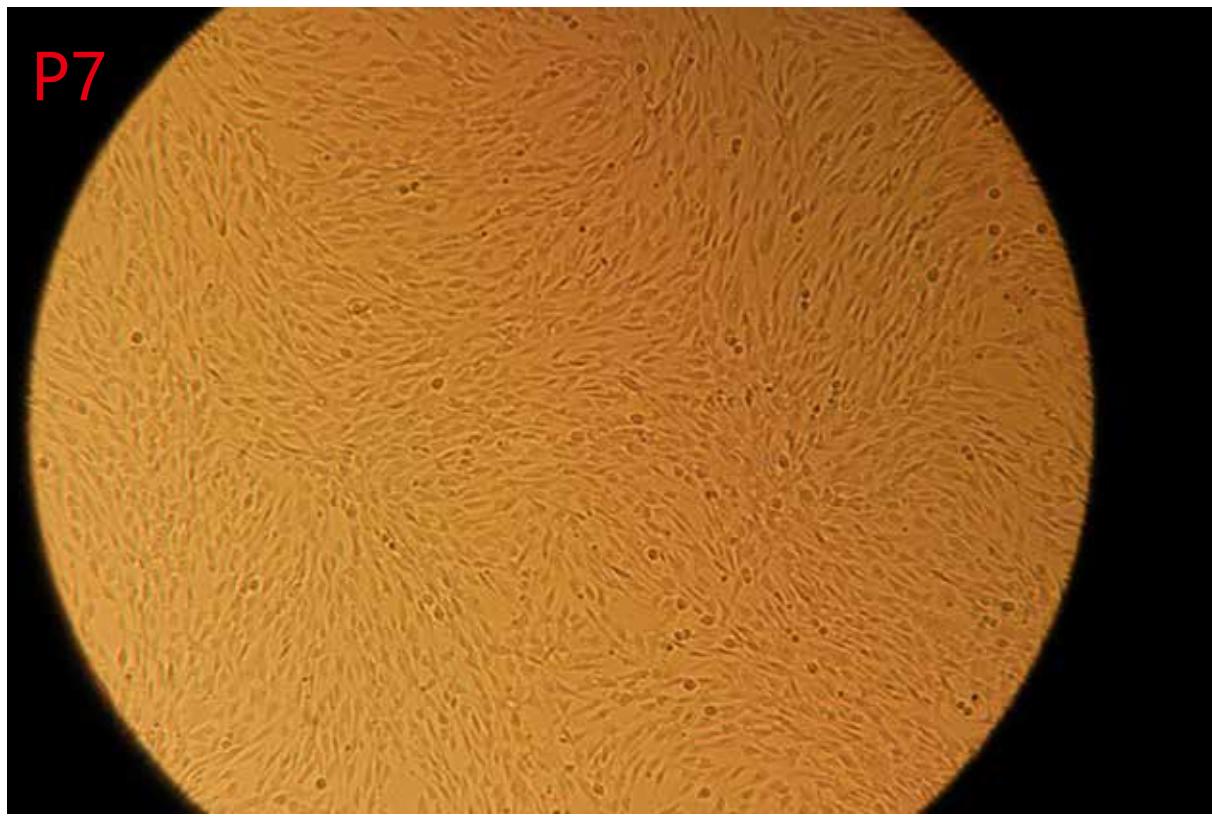
五、无血清培养基中细胞从原代连续传代的照片 (2代到 3代, 3代到 4代)



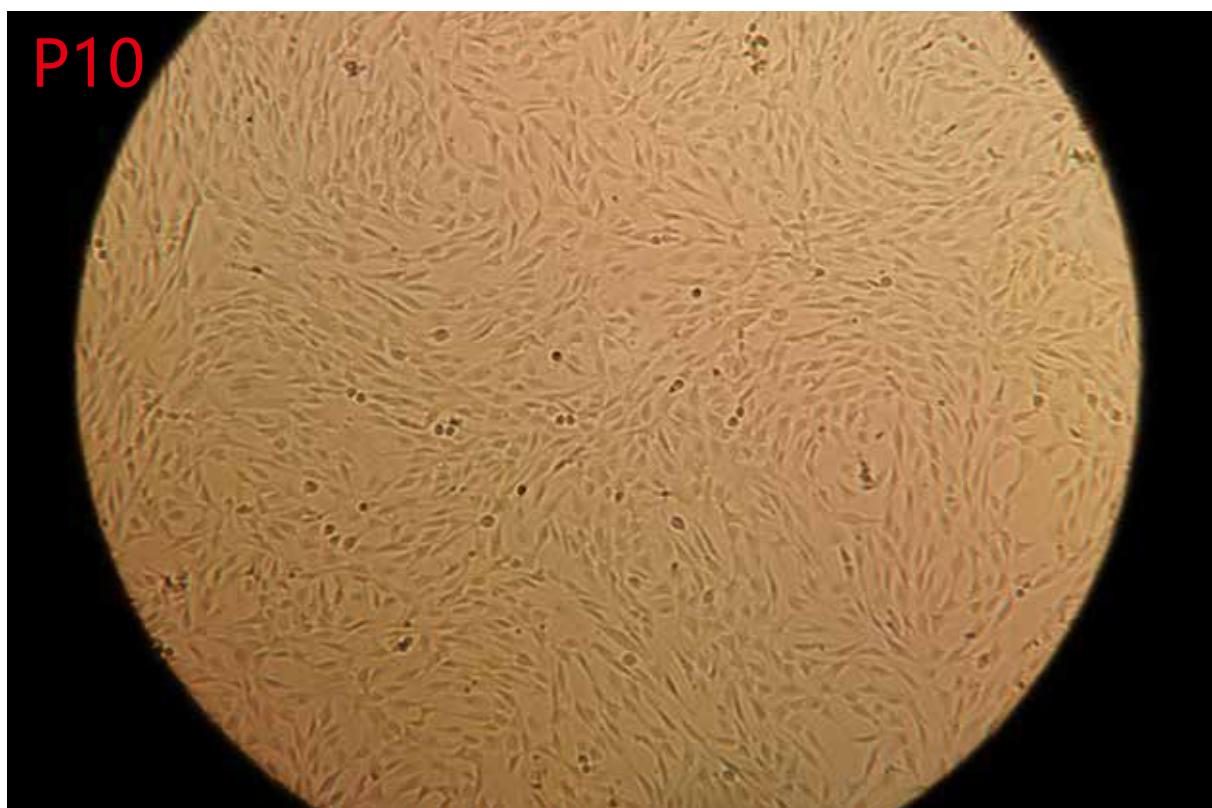
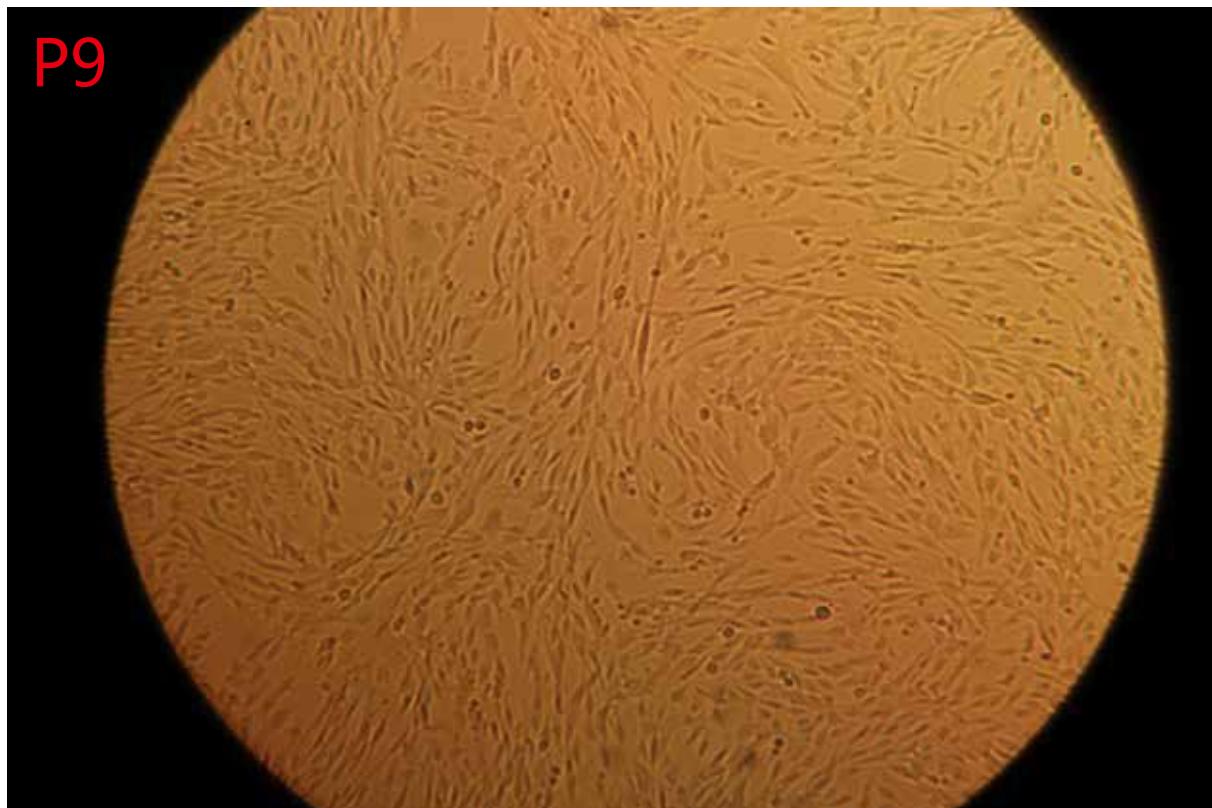
五、无血清培养基中细胞从原代连续传代的照片 (4代到 5代, 5代到 6代)



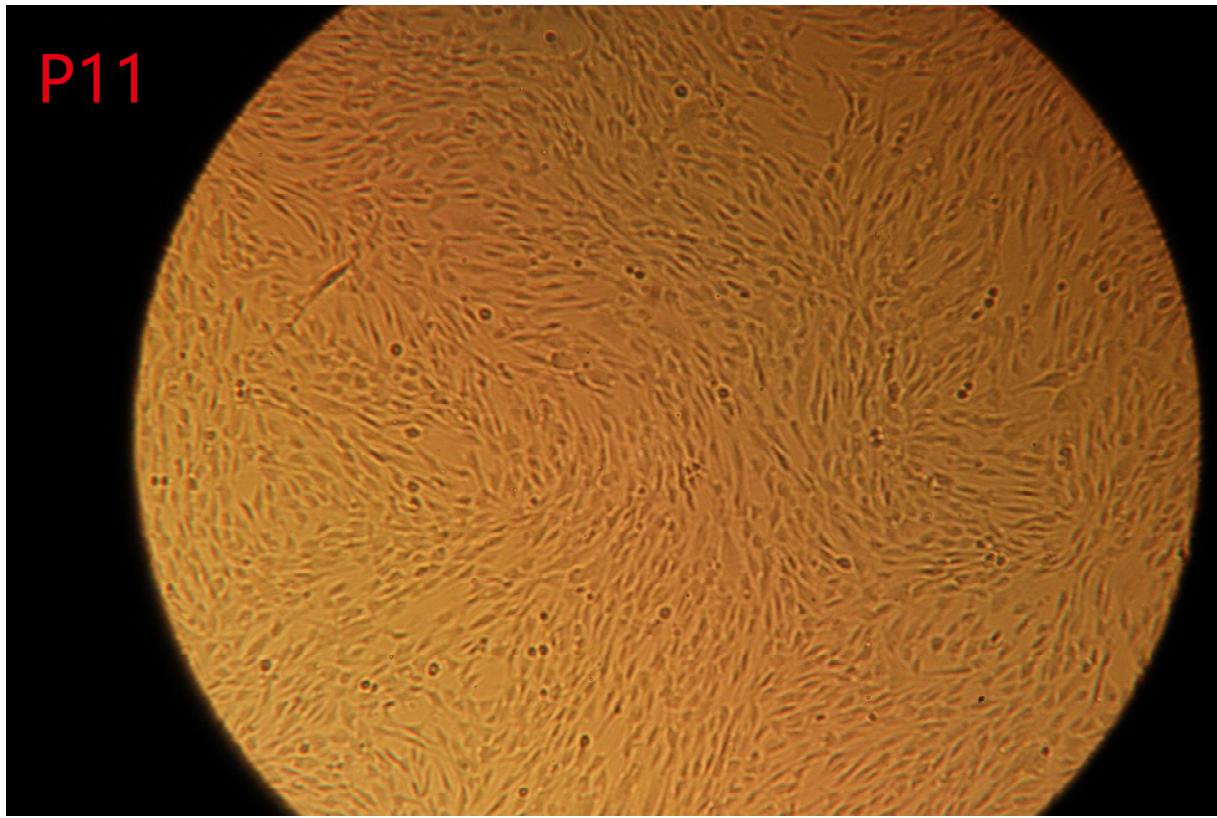
五、无血清培养基中细胞从原代连续传代的照片 (6代到 7代, 7代到 8代)



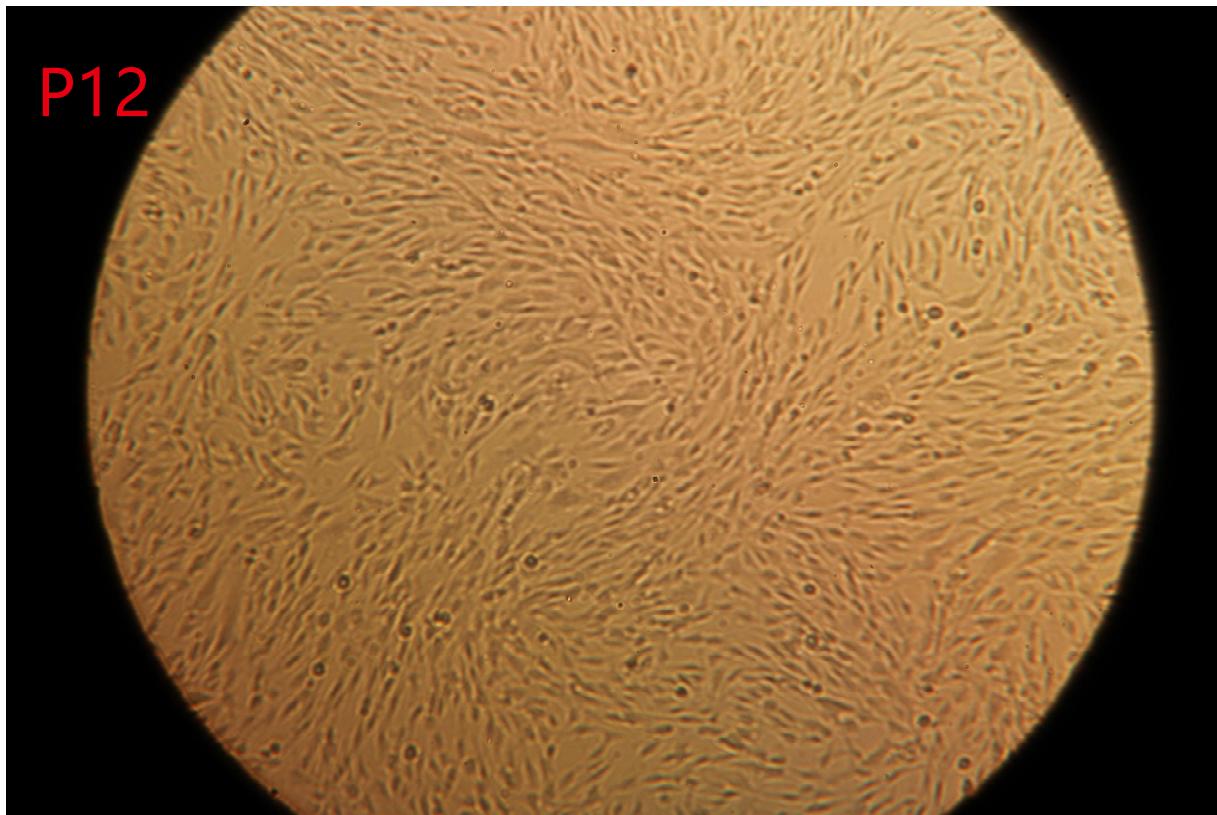
五、无血清培养基中细胞从原代连续传代的照片 (8代到 9代, 9代到 10代)



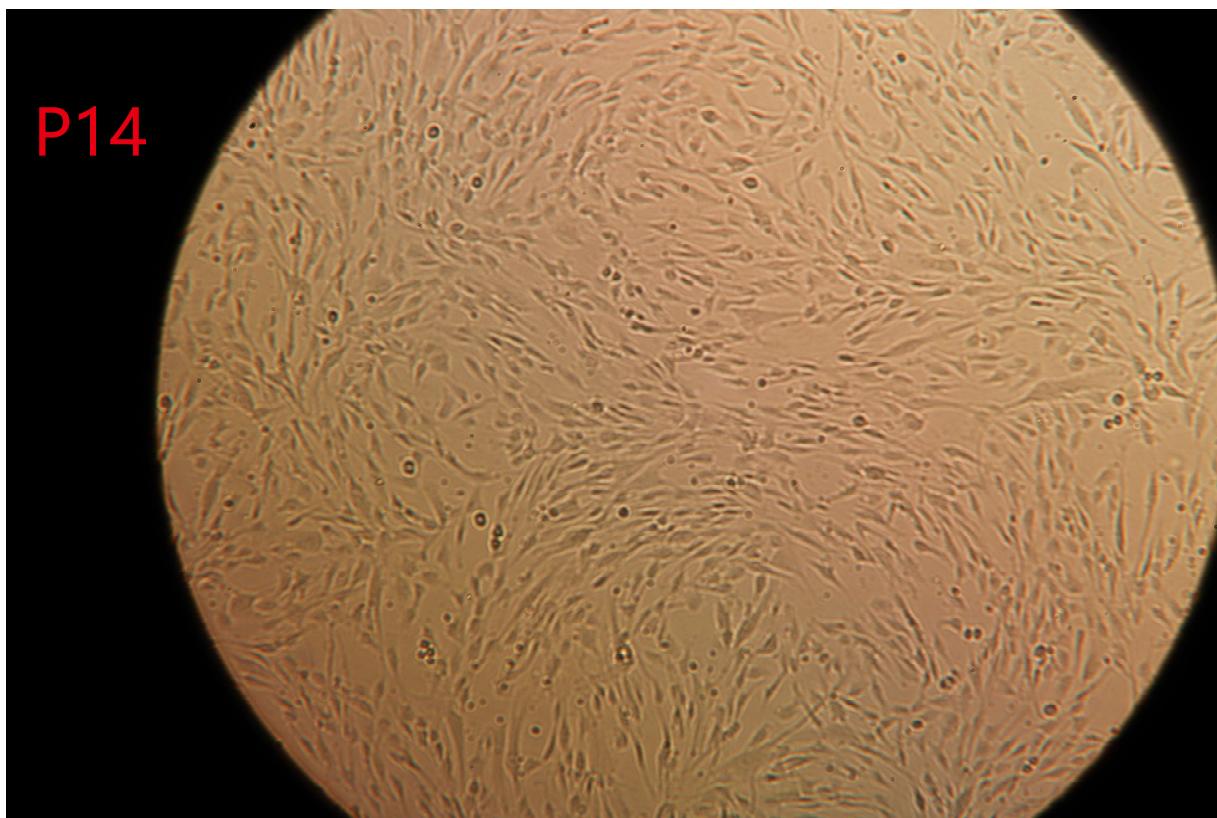
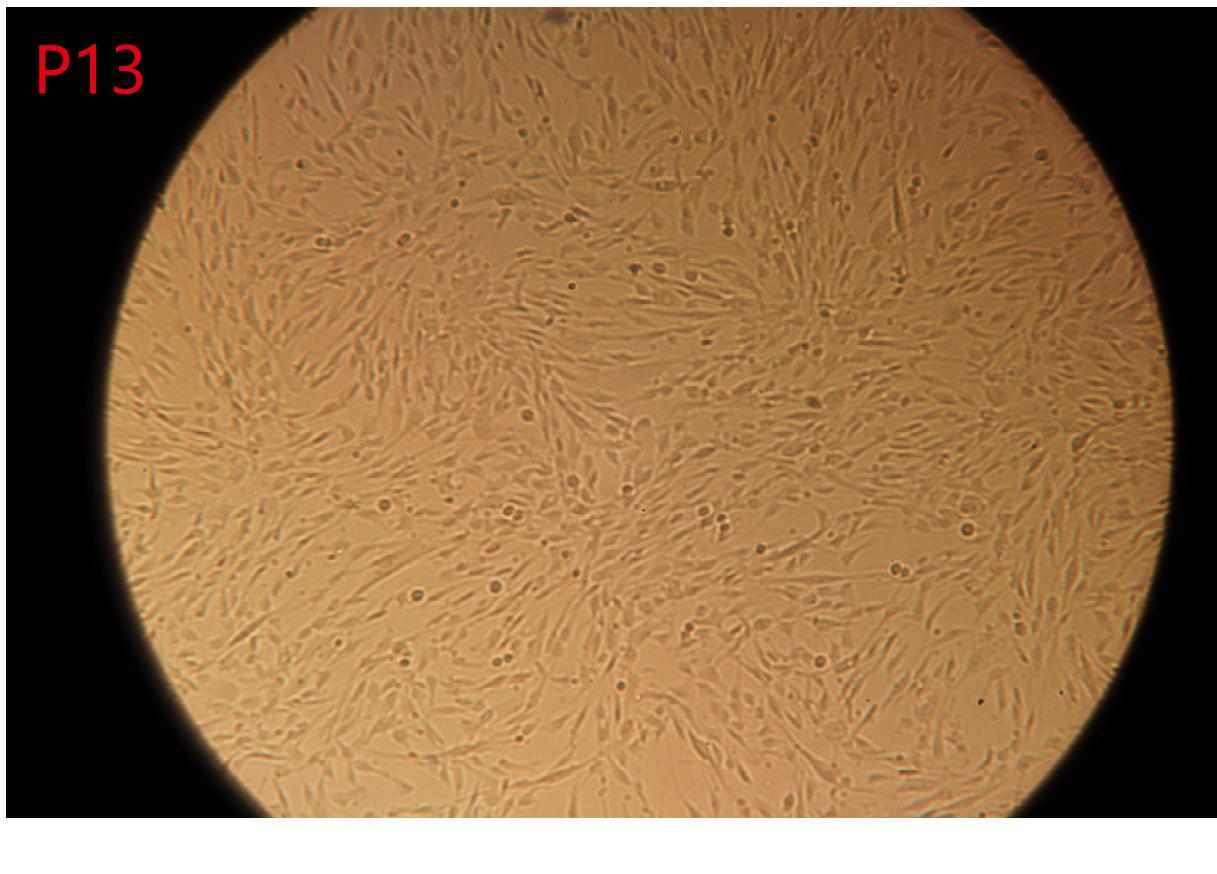
五、无血清培养基中细胞从原代连续传代的照片 (10代到 11代, 11代到 12代)



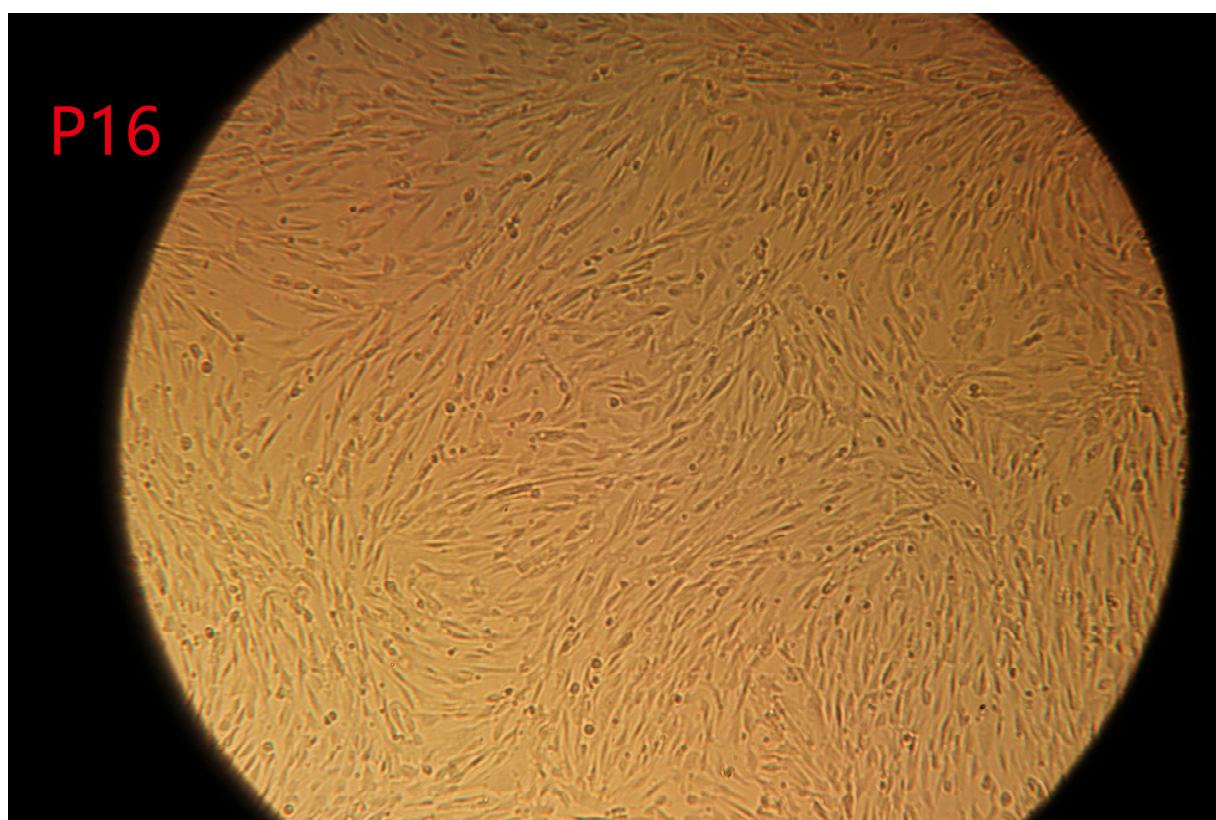
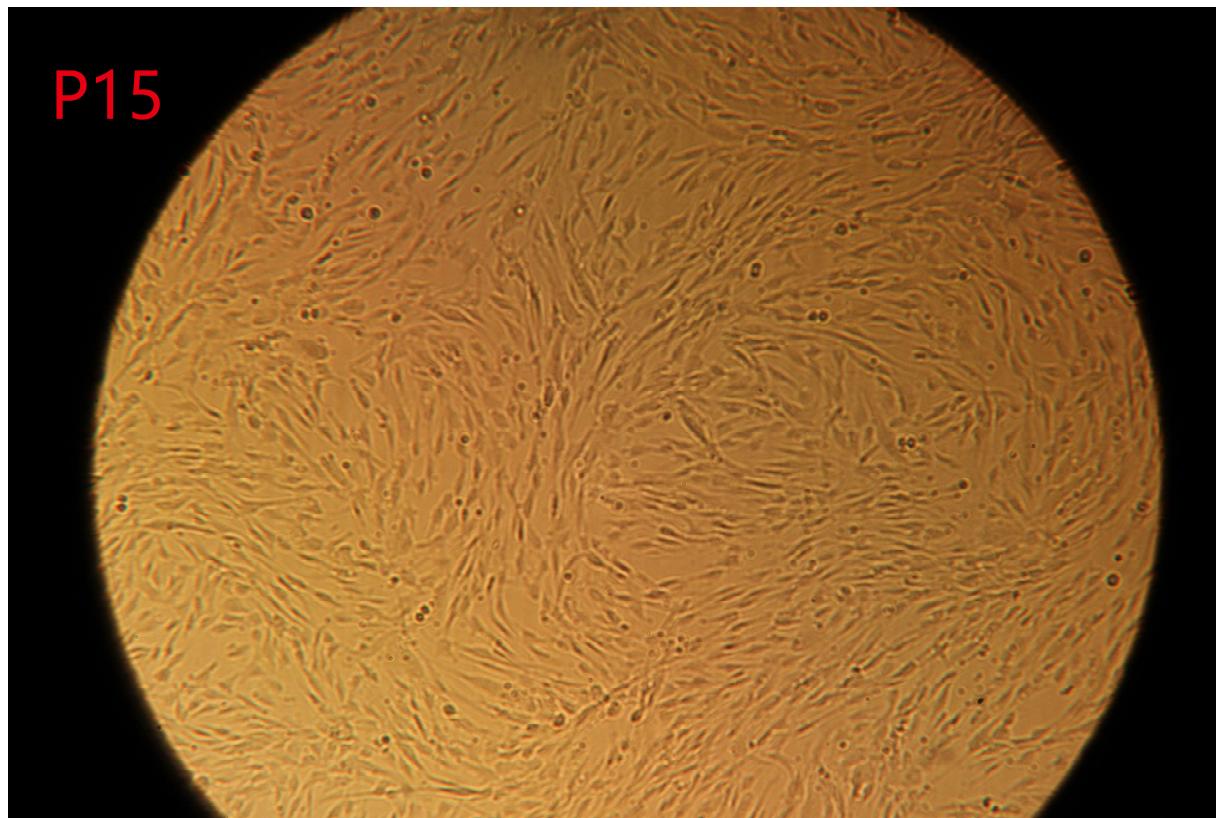
P11



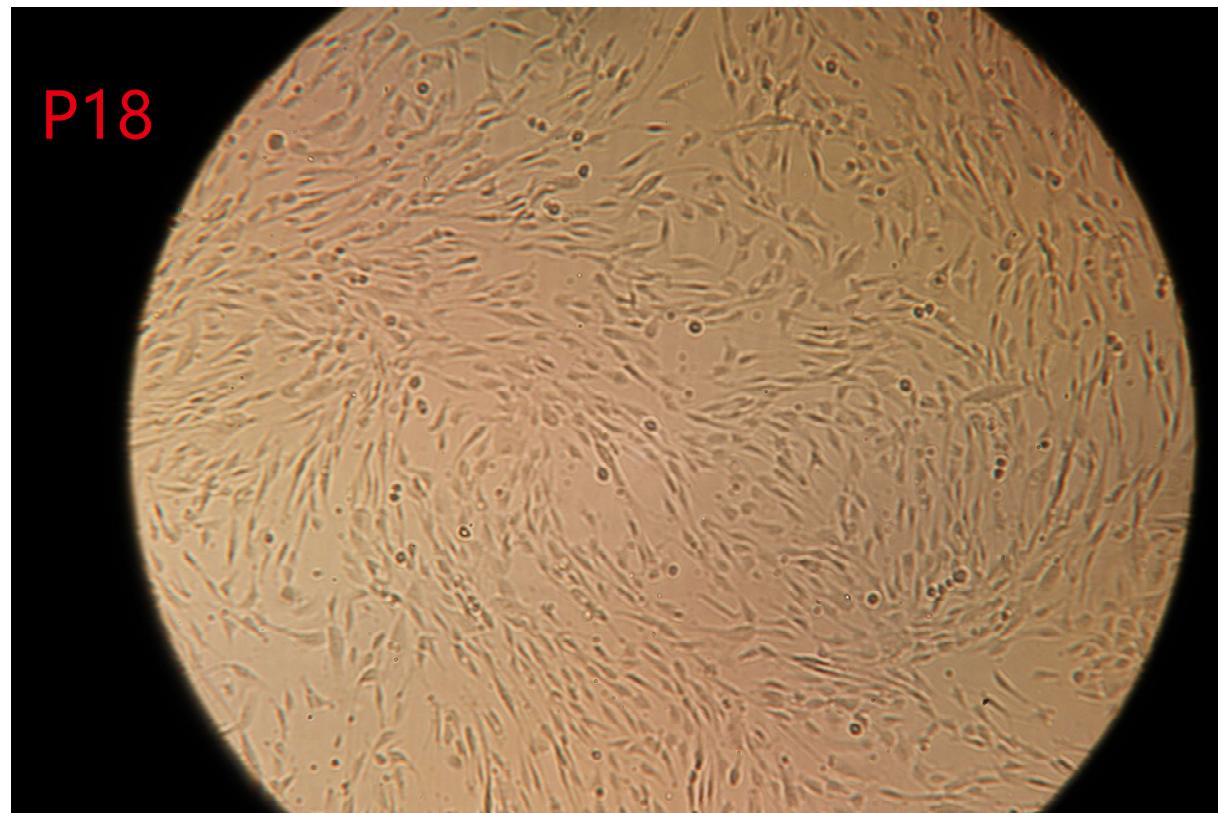
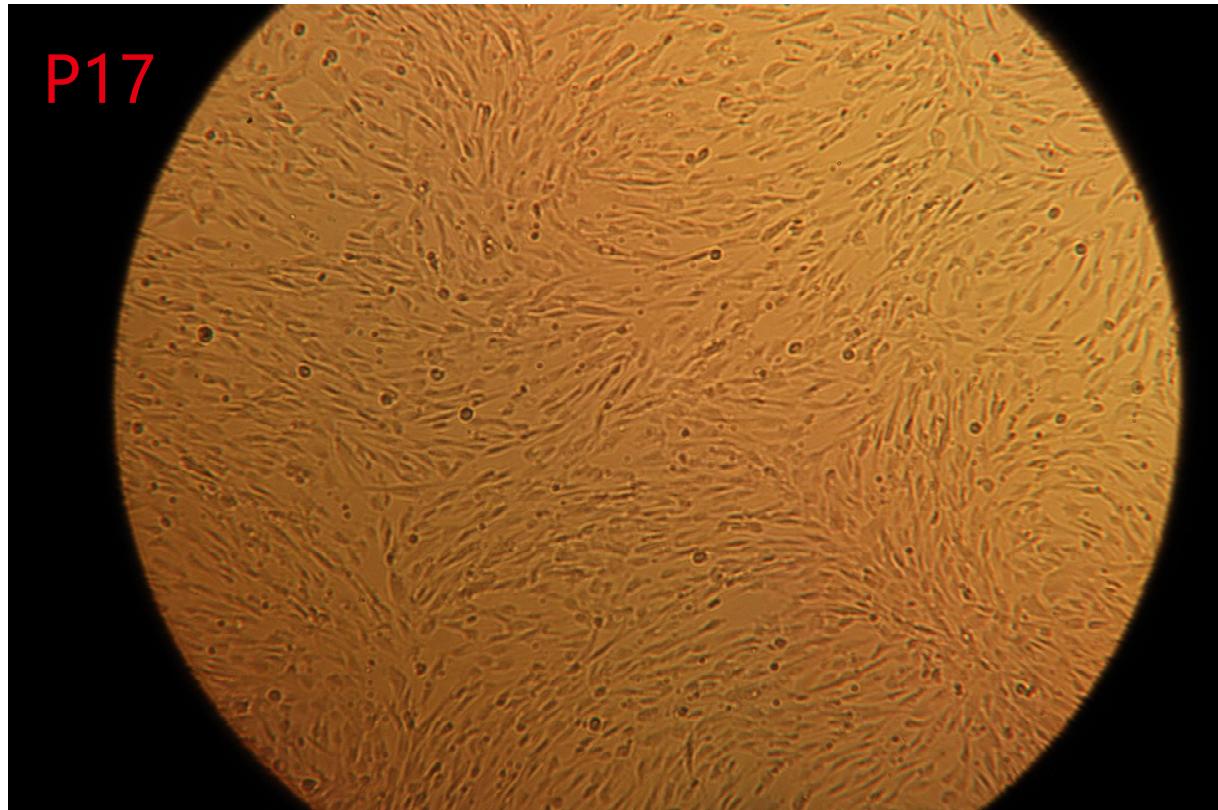
五、无血清培养基中细胞从原代连续传代的照片 (12代到 13代, 13代到 14代)



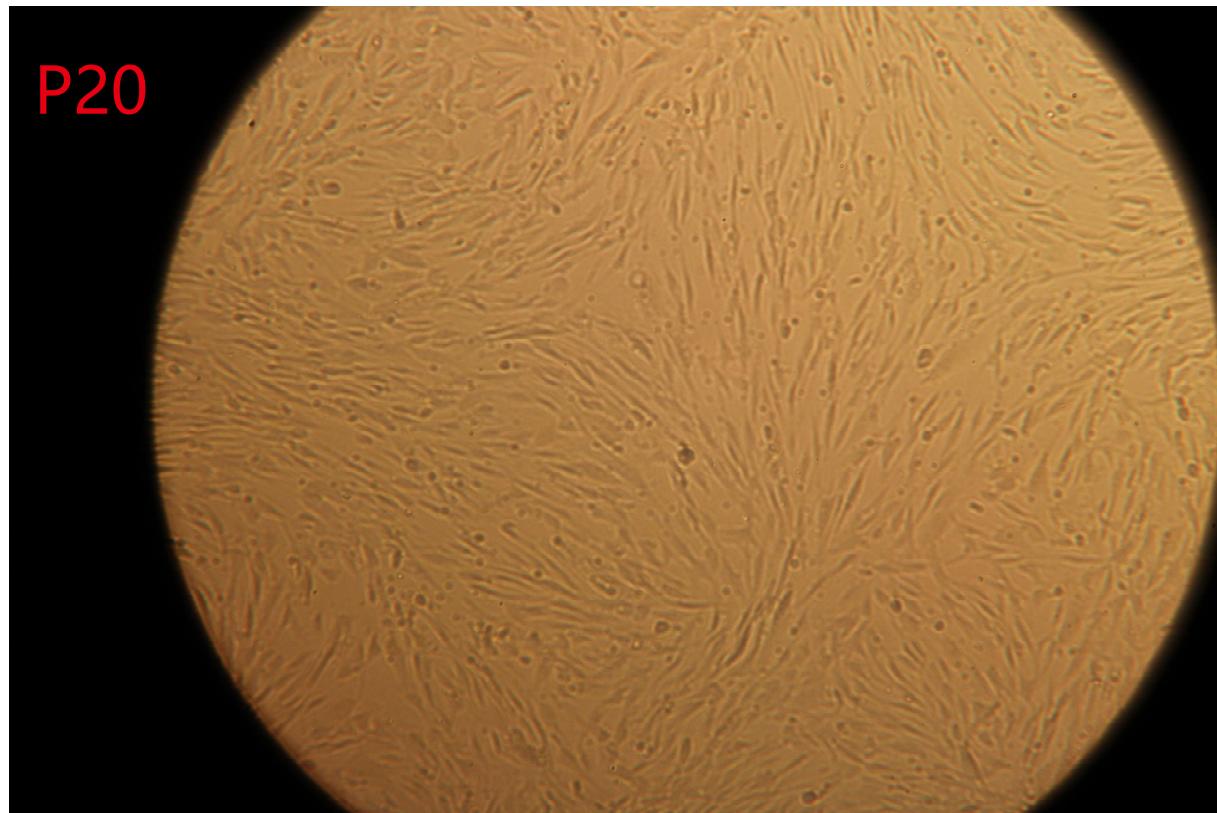
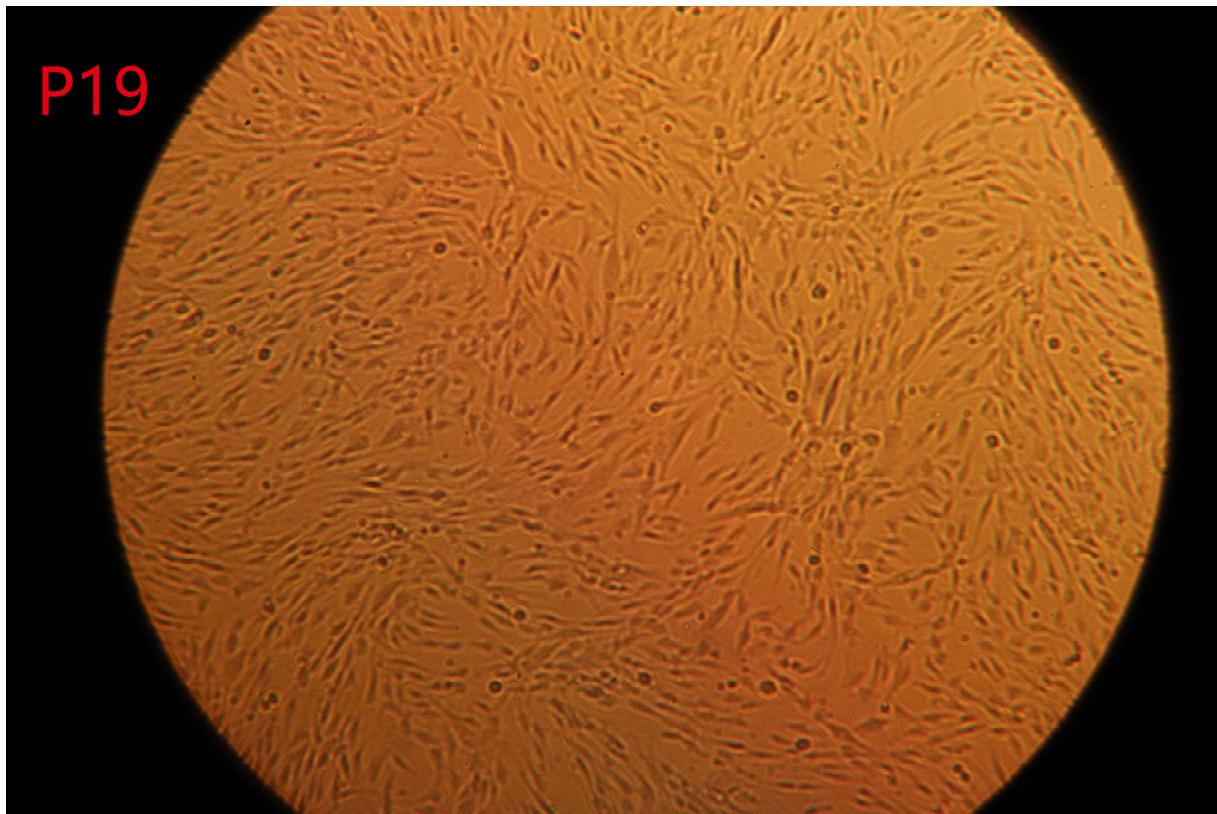
五、无血清培养基中细胞从原代连续传代的照片 (14代到 15代, 15代到 16代)



五、无血清培养基中细胞从原代连续传代的照片 (16代到 17代, 17代到 18代)

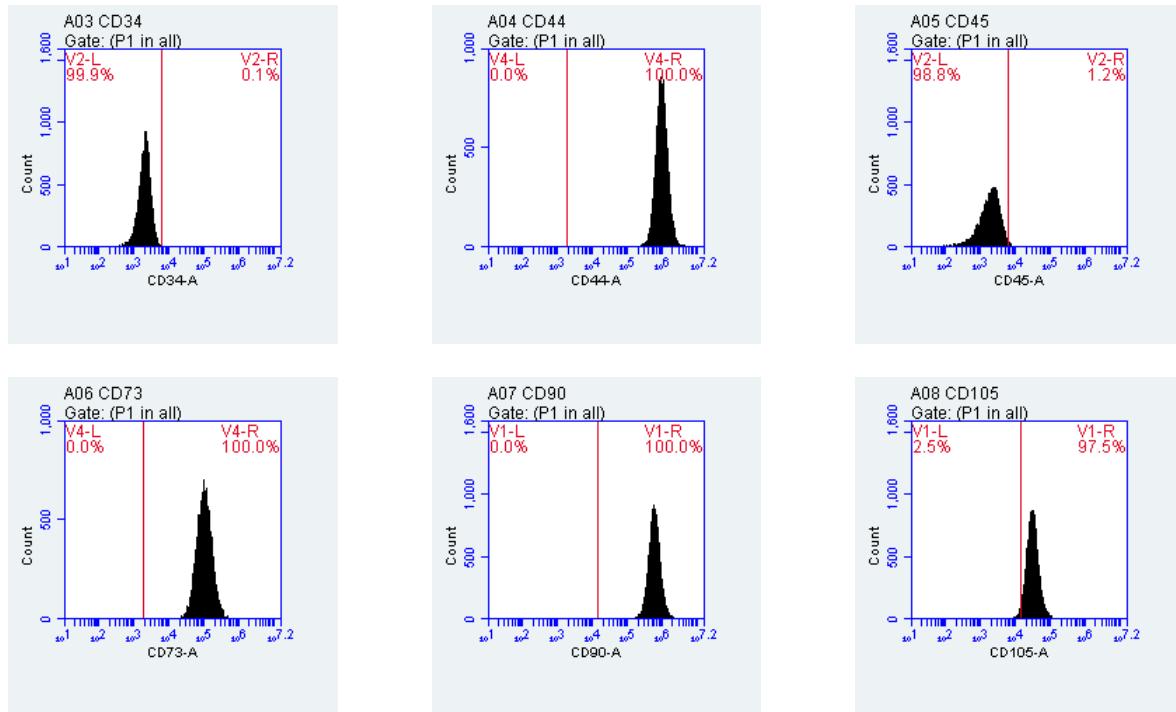


五、无血清培养基中细胞从原代连续传代的照片 (18代到 19代, 19代到 20代)



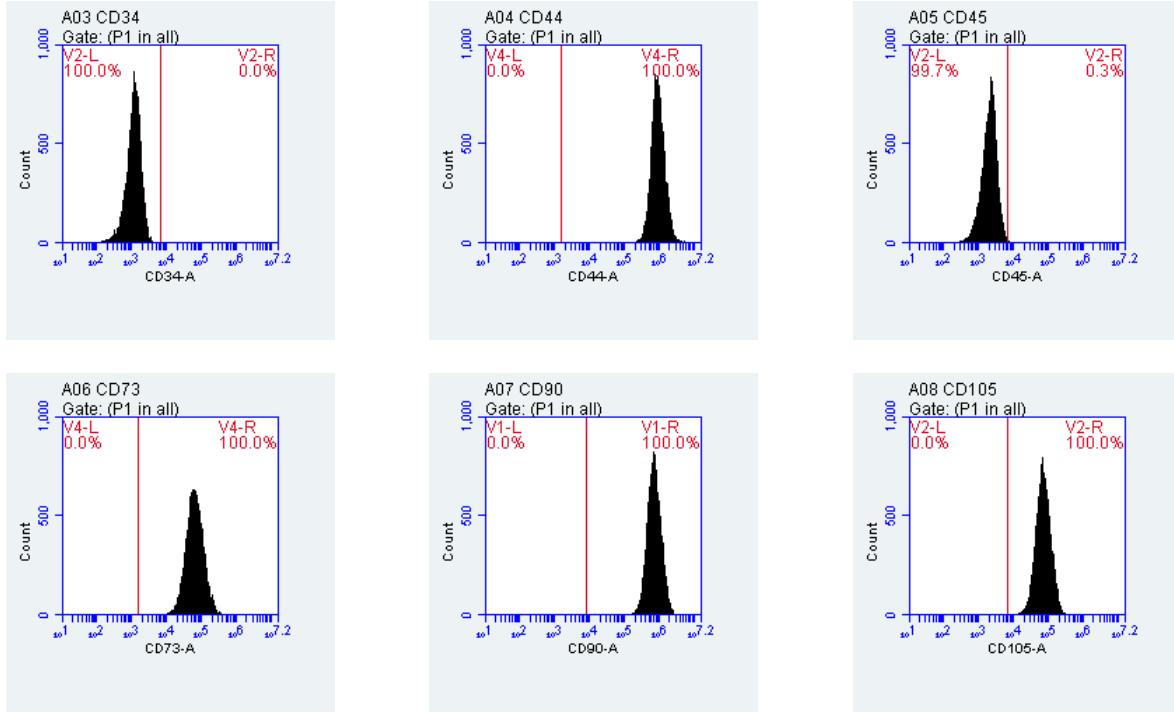
六、无血清培养基中ADSCs从原代连续传代细胞表型的流式分析图

P6代细胞表型的流式分析图



P6细胞各表型符合干细胞特征。

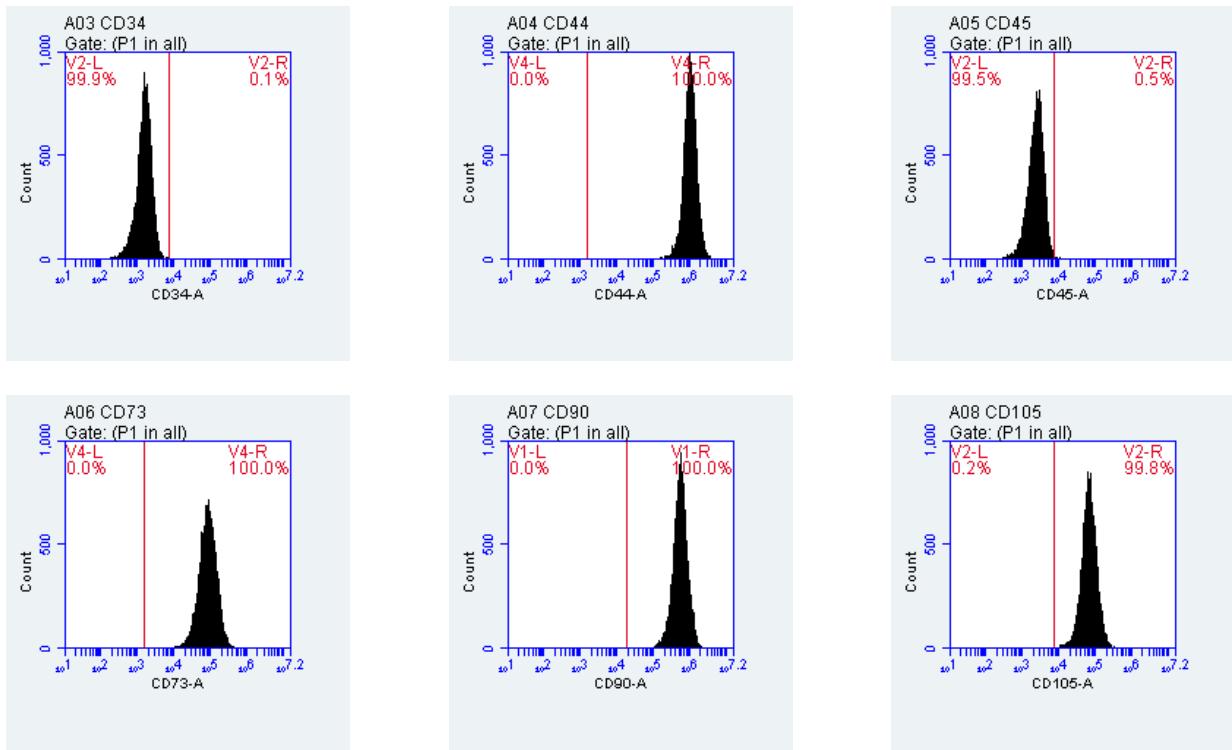
P8代细胞表型的流式分析图



P8细胞各表型符合干细胞特征。

六、无血清培养基中ADSCs从原代连续传代细胞表型的流式分析图

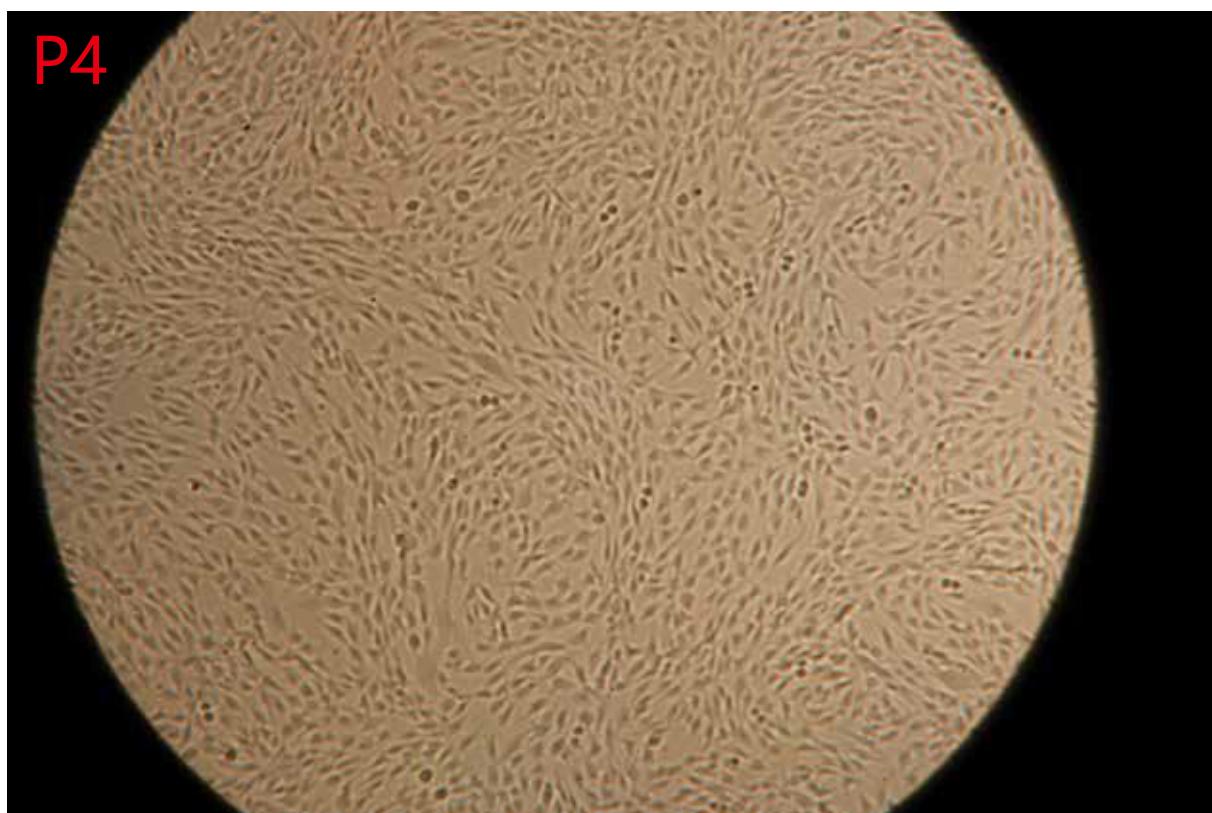
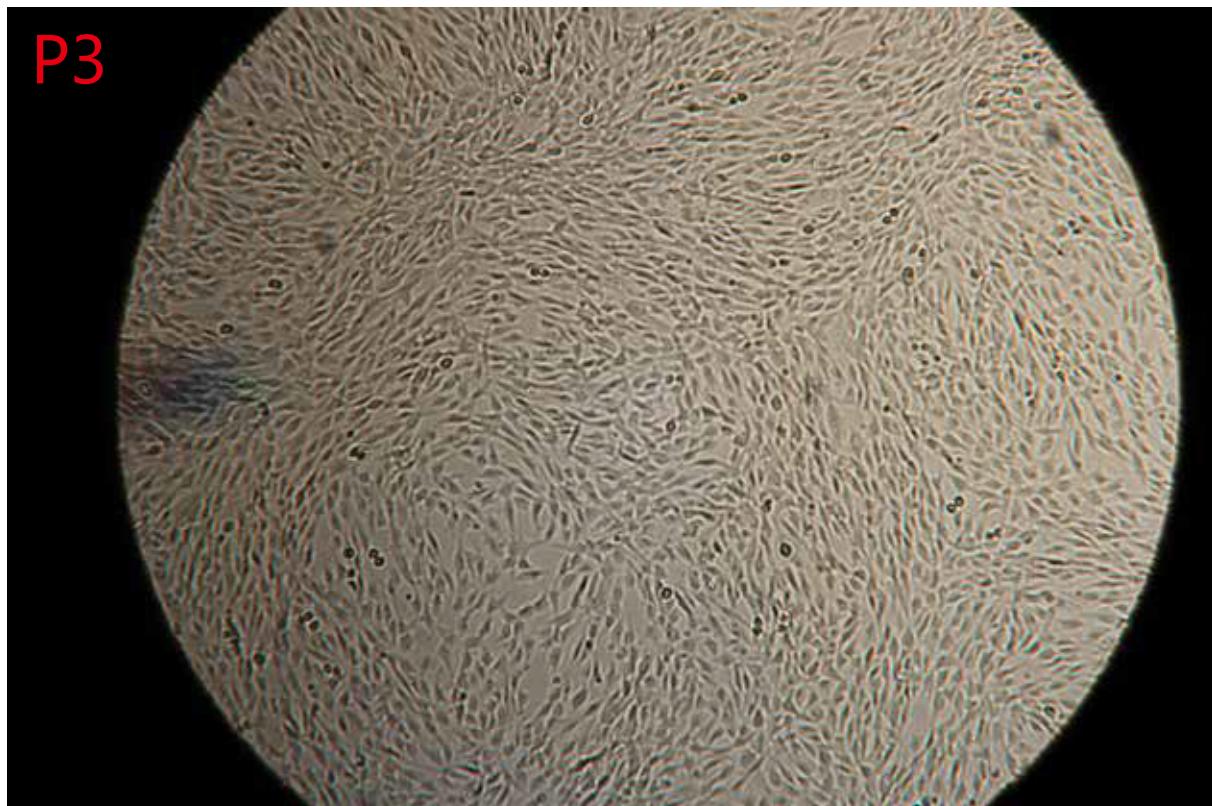
P10代细胞表型的流式分析图



各表型符合干细胞特征。

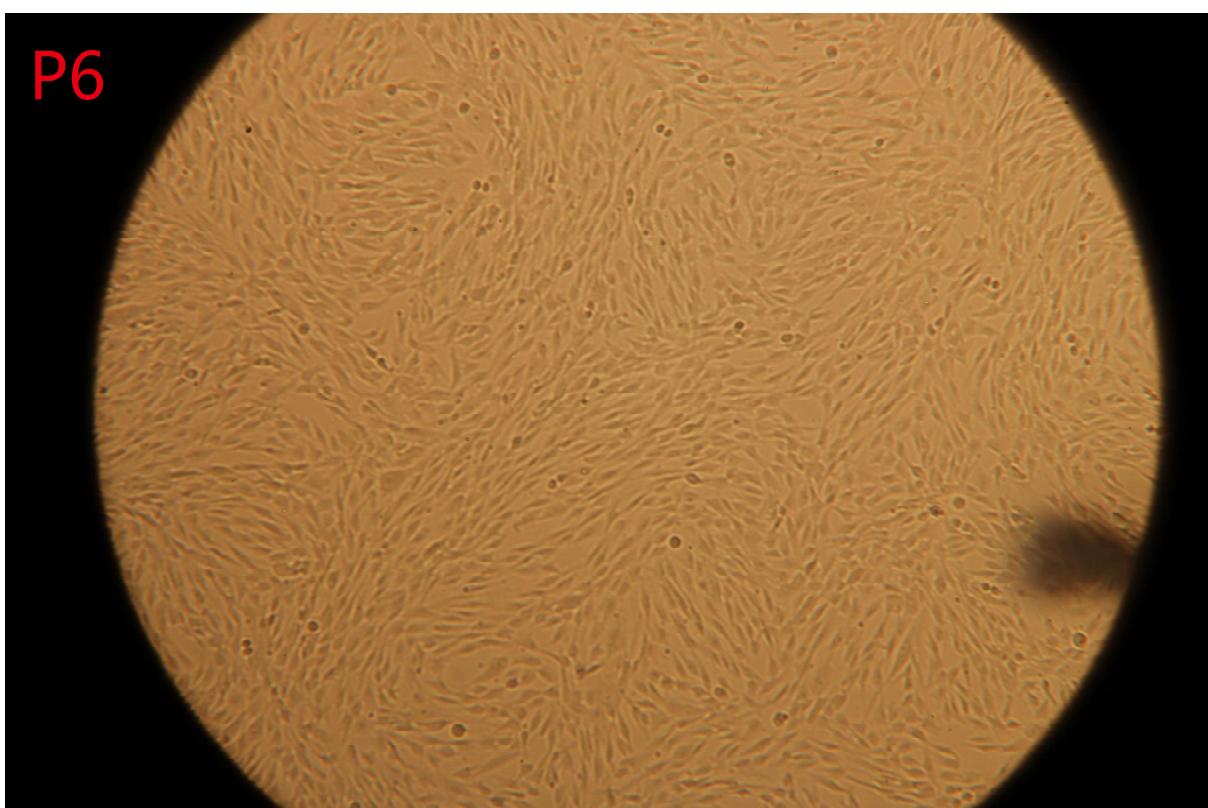
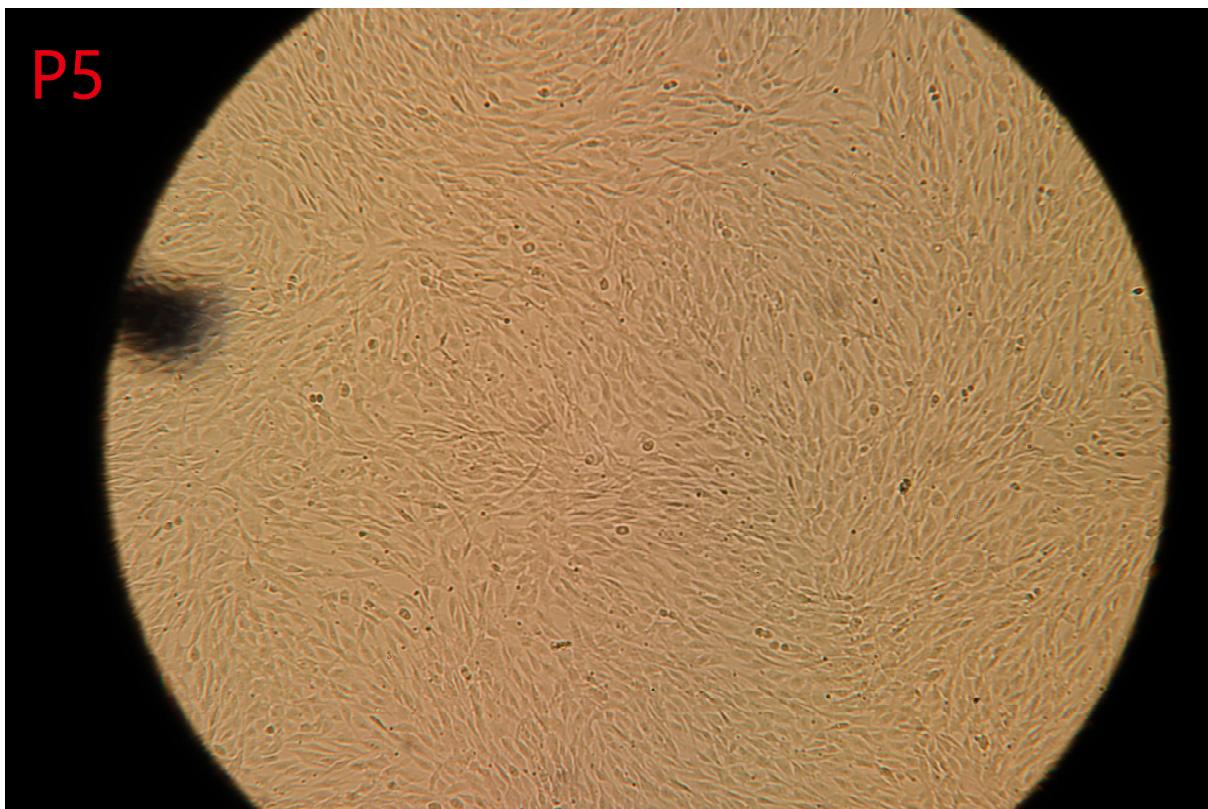
七、复苏冻存的ADSCs

无血清培养基分离、生长出的原代ADSCs，用yocon无血清细胞冻存液冻存后存于液氮中，之后用脂肪干细胞无血清培养基复苏72h后，连续传代。



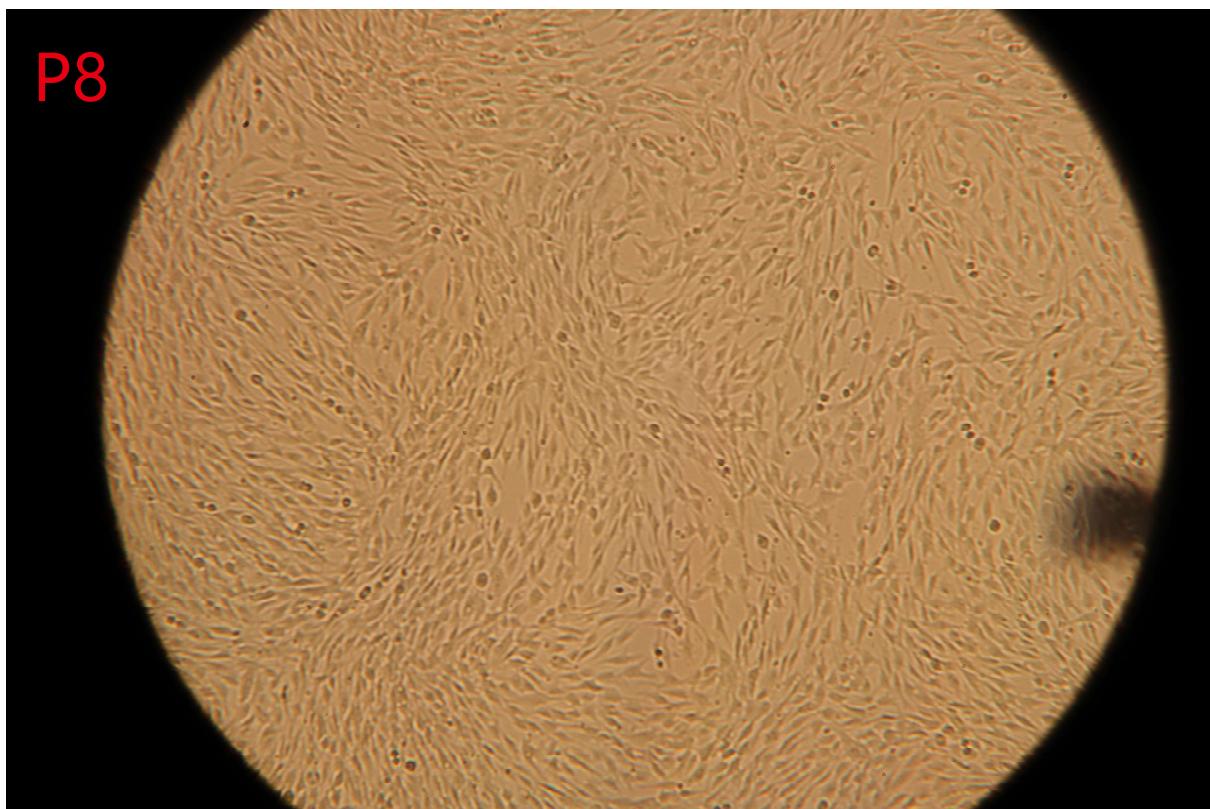
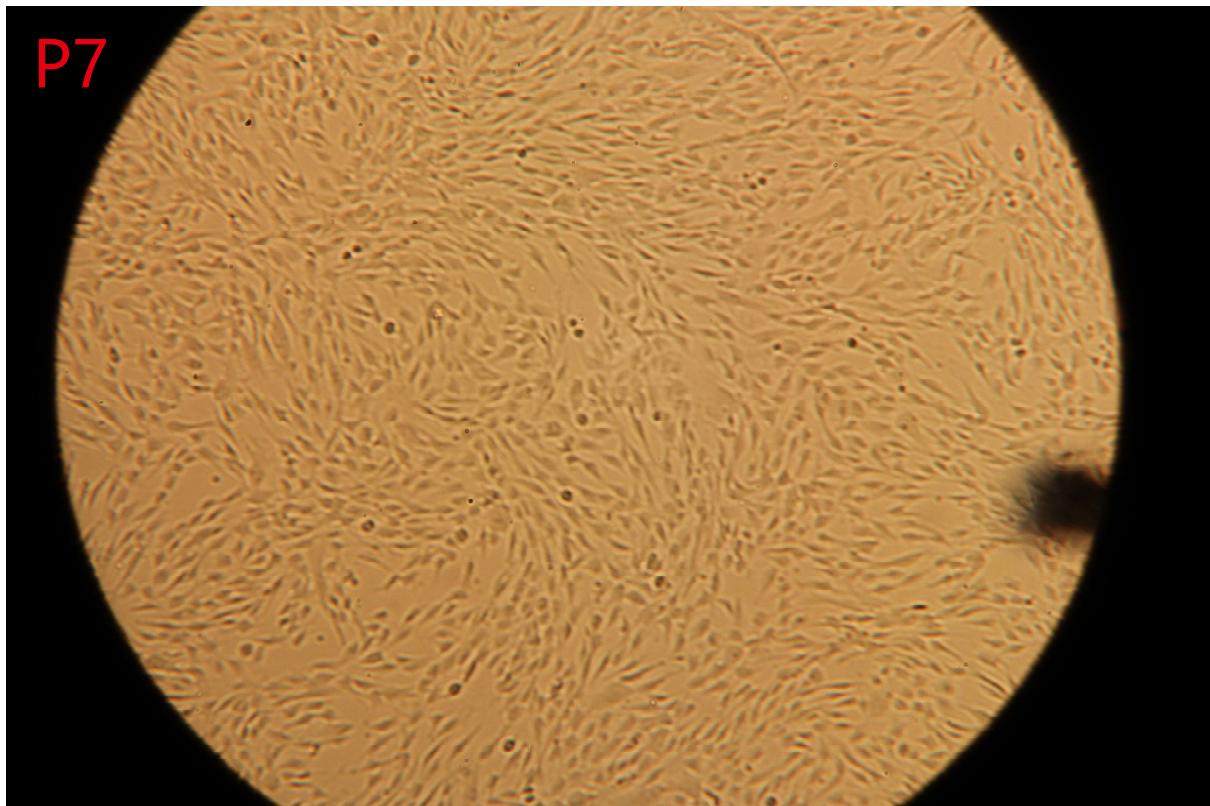
七、复苏冻存的ADSCs

无血清培养基分离、生长出的原代ADSCs，用yocon无血清细胞冻存液冻存后存于液氮中，之后用脂肪干细胞无血清培养基复苏72h后，连续传代。



七、复苏冻存的ADSCs

无血清培养基分离、生长出的原代ADSCs，用yocon无血清细胞冻存液冻存后存于液氮中，之后用脂肪干细胞无血清培养基复苏72h后，连续传代。



八、无血清培养基与血清培养基的差别

培养基类型	血清培养基	血清替代物培养基	无血清培养基
是否有明确的配方	否	否	是
是否无动物源	否	否	是
产品批间差	大	大	极小
消化酶	胰蛋白酶	胰蛋白酶	干细胞温和消化酶
终止消化方式	完全培养基	完全培养基	培养上清液或完全培养基

注：推荐yocon干细胞温和消化酶（货号：NC1004.1）可以替代胰蛋白酶，该酶对细胞损伤小，收获的细胞活率高，传代后能维持较高的细胞扩增倍数。消化时间约2~3min，且10min之内对细胞基本无损伤，用培养上清液或完全培养基停止消化，仅需2~5倍体积稀释后离心即可。

九、使用脂肪干细胞无血清培养基培养ADSCs时，容易犯的错误

1. 消化过度

是指选用胰酶浓度过大及消化时间过长，对细胞造成了损伤，导致传代后，细胞生长不佳的后果。推荐yocon干细胞温和消化酶（货号：NC1004）可以替代胰蛋白酶，该酶对细胞损伤小，收获的细胞活率高，传代后能维持较高的细胞扩增倍数。消化时间约2~3min，且10min之内对细胞基本无损伤，用培养上清或完全培养基停止消化，仅需2~5倍体积稀释后离心去除即可。

2. 细胞生长过密

有的实验人员或习惯了让细胞融合度超过了95%，或为了节约培养瓶用量，让细胞汇合度长的高一点，这种做法不可取，因为这会导致细胞接触抑制，降低细胞活性，致使细胞传代后，生长缓慢或扩增倍数下降，另外接触抑制产生后会促进ADSCs的分化。

十、客户经常问的问题

1. 使用前需要包被培养瓶吗？

不需要，培养基中添加有促贴壁组分，可以有效地使细胞良好贴壁，不过使用预包被培养瓶不会对细胞生长有不利影响。

2. 建议细胞的接种密度是多少？

建议细胞的接种密度为8000cells/cm²。

3. 为什么细胞融合度不可超过100%？

细胞生长过密，会出现接触抑制，继而细胞活性会受到影响，导致后续传代细胞生长缓慢或扩增倍数较低；并且产生接触抑制后ASCs容易分化。

4. 在MSC细胞培养的过程中，可不可以添加抗生素来预防细菌污染？

可以添加，但是如果是用于细胞治疗，添加抗生素会有致敏的风险。

5. 有的文献中说接种SVF后12h进行换液，为什么你们的培养基要到48h换液？

SVF接种后，细胞贴壁需要一定的时间，12h时仍有许多细胞未贴壁，此时换液会造成细胞损失，贴壁细胞数量减少，所以不建议在此时换液；48h时细胞贴壁完全，此时换液不会造成贴壁细胞数量减少。

6. 你们的培养基可以4°C存放多久？

脂肪干细胞无血清培养基分为基础培养基和添加剂，添加剂需-20°C冻存，配制成完全培养基后2~3周内用完；如用量不大，可将添加剂融化后分装，每次少量配制，避免添加剂反复冻融，应注意分装后，总体积往往少于5mL，这是因为在枪头及瓶中有残留导致的，如非必要，不建议分装。

7. 传代前细胞融合度已经达到80~90%，为什么收获的细胞计数后很少，导致各代次细胞扩增倍数不高？

导致细胞计数少最可能的原因就是传代时，酶消化后中和液选用了PBS，实验证明脂肪干细胞在PBS等缓冲液中形态维持较差，大小不均，还会发生细胞聚团现象。建议使用yocon高效回收液（货号：NC1008），本产品专门解决此类现象，可以很好的分散细胞，维持细胞形态，使计数结果更加准确。

十一、友康简介与产品质量保障 2-1

我们认为，质量对产品选择有一票否决权。

细胞培养基的质量，最核心的有 2 点：

1、无菌。

污染的培养基，不仅会带来样本的损失、因子的损失、人工成本的损失等直接损失。还会带来诸多间接损失。

解读：

凡是不能将产品污染概率降低到 0% 的生产工艺，为有缺陷的生产工艺。避免不了产品污染。

我们

- 1、全国首条液体培养基全自动无菌机器人灌装线于 2015 年 6 月底投入使用，批次产能 1000L 液、灌装均为设备在百级层流空间自动完成。
- 2、遍布生产线灌装区的 20 多个尘埃粒子计数仪，实时记录打印灌装区内的尘埃粒子情况；
- 遍布 CIP 系统的上百个温度压力监测仪，精准指示工艺管线灭菌效果；
- 直连除菌系统的在线测试仪，实时监测大口径滤器完整性；
- 三套监测系统结合使用，做到了仅凭过程监测数据就可知产品是否无菌。



1000L配液罐与250L配液罐

适应不同生产批次需要



在线清洗与在线灭菌系统 (CIP+SIP)



全自动无菌灌装系统，
小时产能500瓶，完全不需人工干预。



遍布生产线的控制与监测系统，
实现了过程控制而不是结果控制。

十一、友康简介与产品质量保障 2-1

2、内毒素

培养液的内毒素过高，会带来其中的细胞的内毒素过高，内毒素负载过高的细胞进入动物体内，必然引起发烧等症状。

解读：

凡是沒有组合降低内毒素的设备，产品內毒素要低于 0.25EU/mL，沒有任何实现的可能性。

我们提供用户的间充质干细胞无血清培养基，内毒素低于 0.25EU/ml。与国外最著名品牌指标完全一致。



应用了注射针剂专用蒸馏水系统，
没有采用成本更低的超纯水系统
内毒素更低。



专门的内毒素去除组合工艺
进一步降低内毒素。

10 年的经历，给了我们保障质量的软件条件；国外先进制药装备企业开拓中国市场的努力，给了我们保障质量的硬件条件。我们现在液体细胞培养基产品的质量水准已经达到与国外产品完全一致的水准。



ISO9001



ISO13485



体外诊断试剂注册证书（15个）

2018 年，全国已有超过100多家著名的临床与工业的用户参观了我们的生产线。我们也期待更多的用户能够实地感受下我们的质量保障与质量水准。





生产企业:

友康恒业生物科技（北京）有限公司

地址：北京市海淀区丰贤中路7号A座三层、B座一层

电话：010-58711655

网址：www.yocon.com.cn

ISO9001、ISO13485质量体系认证企业

国家高新技术企业

文件版本号:

2019 -V2.0



友康生物微信公众号



实操培养-视频直播