

OriCell®

## 细胞产品手册

# OriCell® 成人骨髓间充质干细胞 成肝细胞诱导分化试剂盒

产品货号: HUXMX-90101



*We help you discover life*

## 产品介绍

肝实质细胞体外模型在毒理学和生物人工肝等研究领域具有重要的科学价值。而体外条件下肝细胞原代培养寿命短和肝功能迅速丧失是阻碍其研究的重要原因。

成人骨髓间充质干细胞（hMSCs）是一类来源于中胚层的成体干细胞，具有自我更新能力和多向分化的潜能。该细胞向肝方向诱导分化的潜能可用于肝细胞的定向治疗和移植。

OriCell®成人骨髓间充质干细胞成肝诱导分化试剂盒可增强间充质干细胞（MSC）向肝细胞方向诱导分化的能力。试剂盒包括预处理培养基、成肝诱导培养基和成熟肝细胞培养基。

**注意：**本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

## 试剂盒成分

预处理培养基成分	货号	体积
OriCell® Basal Medium For Cell Culture A OriCell®细胞基础培养基 A	BLDM-03011	50 mL
OriCell® Supplement For Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Hepatogenic Differentiation A OriCell®成人骨髓间充质干细胞成肝细胞诱导分化添加物 A	HUXMX-04101-a	100 µL

成肝诱导培养基成分	货号	体积
OriCell® Basal Medium For Cell Culture B OriCell®细胞基础培养基 B	BLDM-03011	100 mL
OriCell® Supplement For Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Hepatogenic Differentiation B OriCell®成人骨髓间充质干细胞成肝细胞诱导分化添加物 B	HUXMX-04101-b	200 µL

成熟肝细胞培养基成分	货号	体积
OriCell® Basal Medium For Cell Culture C OriCell® 细胞基础培养基 C	BLDM-03011-197	197 mL
OriCell® Supplement For Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Hepatogenic Differentiation C OriCell® 成人骨髓间充质干细胞成肝细胞诱导分化添加物 C	HUXMX-04101-c	3 mL

## 质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过渗透压、pH 检测。
- 通过产品性能检测。

详情见《产品检测报告》。

## 处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体和操作区域的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 各成分需按照保存条件妥善存放，并尽快使用。
4. 若短期内无法用完整套培养基，应按套装内各成分体积比例分批配制并分装保存。

## 产品稳定性及保存条件

---

1. 套装内所有成分均需避光保存。
2. 套装内基础培养基需置于 4°C 冰箱保存，保质期为 1 年；其他成分需置于 -20°C 保存，保质期为 2 年。
3. 配制后的完全培养基，需放置 4°C 保存，保质期为 1 个月；若能保证培养条件稳定，容器密封性能良好，避免冷热交替，则保质期可适当延长，但不得超过 45 天。
4. 所有产品请于保质期内使用；过期的成分可能严重影响培养效果。

## 完全培养基的配制

---

### 所需材料

- OriCell®成人骨髓间充质干细胞成肝细胞诱导分化试剂盒
- 清洁、无菌、质量稳定的一次性耗材（移液管、移液器吸头、离心管等）
- 洁净的封口膜
- 铝箔纸等避光材料

### 操作步骤

#### 预处理培养基的配制

1. 配制前至少 30 min，将套装中 OriCell®成人骨髓间充质干细胞成肝细胞诱导分化添加物 A（以下简称成肝分化添加物 A）放置于 4°C 冰箱内，直至完全融化。
2. 上下颠倒或轻弹试剂管以混匀试剂。
3. 短暂离心成肝分化添加物 A 试剂管，确保试剂集中在管底便于收集。
4. 用 75% 医用酒精仔细擦拭所有成分外包装。在超净台内打开包装。
5. 将成肝分化添加物 A 全部加入 OriCell®细胞基础培养基 A 中。
6. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。

**注意：**若短期内无法用完全培养基，我们建议分批配制；请按照套装内各成分比例，配制所需量；但剩余的成分必须严格按照各自的保存条件妥善保存，并且不可多次冻融。

7. 用封口膜密封瓶口，用铝箔纸包裹瓶身，并标注名称、配制日期等信息。

**注意：**OriCell®成人骨髓间充质干细胞成肝细胞诱导分化试剂盒内的所有成分都严格控制无菌，一般情况下我们不建议再次除菌。若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。

### 成肝诱导培养基的配制

1. 配制前至少 30 min，将套装中 OriCell®成人骨髓间充质干细胞成肝细胞诱导分化添加物 B（以下简称成肝分化添加物 B）放置于 4°C冰箱内，直至完全融化。
2. 上下颠倒或轻弹试剂管以混匀试剂。
3. 短暂离心成肝分化添加物 B 试剂管，确保试剂集中在管底便于收集。
4. 用 75%医用酒精仔细擦拭所有成分外包装。在超净台内打开包装。
5. 将成肝分化添加物 B 全部加入 OriCell®细胞基础培养基 B 中。
6. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。

**注意：**配好的成肝诱导培养基置于 4°C保质期为 2-7 天，我们建议分批配制；请按照套装内各成分比例，配制所需量；但剩余的成分必须严格按照各自的保存条件妥善保存，并且不可多次冻融。

7. 用封口膜密封瓶口，用铝箔纸包裹瓶身，并标注名称、配制日期等信息。

**注意：**OriCell®成人骨髓间充质干细胞成肝细胞诱导分化试剂盒内的所有成分都严格控制无菌，一般情况下我们不建议再次除菌。若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。

### 成熟肝细胞培养基的配制

8. 配制前至少 30 min，将套装中 OriCell®成人骨髓间充质干细胞成肝细胞诱导分化添加物 C（以下简称成肝分化添加物 C）放置于 4°C冰箱内，直至完全融化。
9. 上下颠倒或轻弹试剂管以混匀试剂。
10. 用 75%医用酒精仔细擦拭所有成分外包装。在超净台内打开包装。
11. 将成肝分化添加物 C 全部加入 OriCell®细胞基础培养基 C 中。
12. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。

**注意：**配好的成熟肝细胞培养基置于 4°C保质期为 2-7 天，我们建议分批配制；请按照套装内各成分比例，配制所需量；但剩余的成分必须严格按照各自的保存条件妥善保存，并且不可多次冻融。

13. 用封口膜密封瓶口，用铝箔纸包裹瓶身，并标注名称、配制日期等信息。

**注意：**OriCell®成人骨髓间充质干细胞成肝细胞诱导分化试剂盒内的所有成分都严格控制无菌，一般情况下我们不建议再次除菌。若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。

## 诱导分化操作规程

---

### 所需材料

- OriCell®成人骨髓间充质干细胞成肝细胞诱导分化试剂盒
- OriCell® 0.1%明胶溶液（货号：GLT-11301）
- OriCell® 0.25%Trypsin-0.04%EDTA（货号：TEDTA-10001）
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS)（货号：PBS-10001）

### 操作步骤

#### 培养器皿表面的明胶包被

1. 加适量 0.1%明胶到培养器皿中，能覆盖整个培养器皿底面的量即可。
2. 摇匀液体使其覆盖整个培养器皿的底面。
3. 将铺有明胶的培养器皿放置在超净台至少 30 min。
4. 30 min 后弃去明胶，待培养器皿晾干后，即可用于接种细胞。

**注意：**1) 为避免诱导过程中出现细胞漂浮现象，建议对使用的培养器皿进行明胶包被；

2) 包被明胶的培养器皿在无菌和明胶不蒸干的条件下，可以在 4°C保存两周。

#### 细胞处理

**注意：**本操作规程以六孔板为例

1. 将 OriCell®成人骨髓间充质干细胞置于 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。
2. 当细胞融合度达到 80-90%时，用 0.25%Trypsin-0.04%EDTA 进行消化。
3. 将消化下来的细胞按照 2×10<sup>4</sup> cells/cm<sup>2</sup>的细胞密度接种在事先包被 0.1%明胶的六孔板中。
4. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中进行培养。

### 预处理阶段（持续时间为 2 天）

1. 当细胞融合度达到 80%-90%时，小心吸掉六孔板中的完全培养基，每孔加入 2 mL 预处理培养基。
2. 将细胞置于 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 2 天。

### 成肝诱导阶段（持续时间为 7 天）

1. 经过 2 天的预处理阶段后，小心吸掉六孔板中的预处理培养基，每孔加入 2 mL 新鲜的成肝诱导完全培养基。
2. 持续培养 7 天，期间每 3 天更换一次新鲜的成肝诱导培养基。

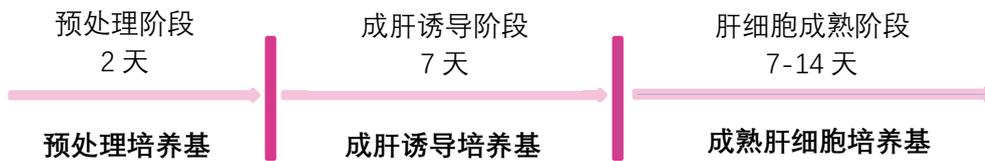
### 肝细胞成熟阶段（持续时间为 7-14 天）

1. 经过 7 天的成肝诱导阶段后，小心吸掉六孔板中的成肝诱导完全培养基，每孔加入 2 mL 新鲜的成熟肝细胞培养基。
2. 持续培养 7-14 天，期间每 3 天更换一次新鲜的成熟肝细胞培养基。
3. 肝细胞成熟阶段结束之后即可进行鉴定测试。

**注意：**肝细胞成熟阶段可以通过细胞形态的变化初步判断，当细胞形态表现为多边形的肝样细胞，表示诱导已完成，此时需要尽快做各类检测，因为成熟的肝细胞会在 2-3 天内开始凋亡。

### 重要提示：

1. 成肝诱导过程概述：成人骨髓间充质干细胞成肝诱导过程持续 16-23 天。



2. 由于 MSCs 在无血清条件下贴壁不牢固，换液时需要极其小心，以免细胞被冲离培养板表面。
3. hMSC 在诱导之前的形态为成纤维细胞样，成肝诱导初期细胞形态并未出现显著的变化。诱导 12 天左右，细胞形态相比之前会变得宽大、扁平。进入肝细胞成熟阶段后，细胞形态逐渐表现为多边形。
4. 将诱导分化形成的成熟肝细胞重新接种于经过 Laminin 或基质胶预包被的组织培养表面可继续培养。
5. 强烈建议使用 8 代以内的 MSCs 进行成肝诱导分化实验，MSCs 随着代数的增加其多向分化潜能会逐渐减弱。

赛业（广州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业（广州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，

不得改编或转载用作其他商业用途。