

Product	Catalog #	Grade	Size	Storage	Shelf Life*
CellCor™ SFD MSC	YSP010	GMP	500 mL	Under -20°C	Expiry date on label

* Shelf Life is 12 months from Date of Manufacture.

Product Description

CellCor™ SFD MSC is a Serum-free defined medium for expansion and growth of human mesenchymal stem cells (hMSCs, i.e. derived from adipose tissue, bone marrow, umbilical cord blood; AdMSC, BMSC, UCSC). CellCor™ SFD MSC does not contain serum such as fetal bovine serum (FBS). This product conducts Quality Control tests including sterility, mycoplasma, and endotoxin test.

※ Coating agent may be used if needed.

※ This product does not contain antibiotics.

Intended Use

For Research Use or Further Manufacturing Use Only. Not intended for diagnostic use or as for direct therapeutic human and veterinary use.

Safety Information

Read and follow the instructions on the Material Safety Data Sheet (MSDS). Be sure to wear appropriate protective eyewear, clothes and gloves.

Medium Preparation

1. CellCor™ SFD MSC should be thawed at room temperature for 1 hour, then completely thawed in a 37°C water bath.
2. Thawed CellCor™ SFD MSC is stable at 4°C for 4 weeks.
3. Before using CellCor™ SFD MSC for cell culture, aliquot and warm the medium in a 37°C water bath for 30 minutes.
 - ※ Use immediately after thawing. Avoid additional freeze-thaw cycles.

hMSC Culture Protocol

Cell Type: human mesenchymal stem cells (i.e. AdMSC)

Culture Condition: 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂

Culture Vessel: T-75 flask (i.e. Corning, Catalog #430641U)

[Recovery]

1. Disinfect the interior of BSC with 70% ethanol, and prepare warmed CellCor™ SFD MSC. Add 9 mL of pre-warmed CellCor™ SFD MSC into a 15 mL tube.
2. Thaw cryovial in a 37°C water bath for 1-2 minutes.
3. Disinfect the surface of the cryovial with 70% ethanol and place it in the BSC.
4. Carefully transfer the thawed cells to the 15 mL tube containing CellCor™ SFD MSC.
5. Centrifuge the tube at 230 x g, 20°C for 3 minutes.
6. Remove the supernatant and suspend cells with CellCor™ SFD MSC. Count cells and seed to flask at density 4,000-5,000 cells/cm² (i.e. AdMSC) with 15 mL of CellCor™ SFD MSC.
7. Incubate at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂.

[Subculture]

1. Remove the cultured medium and wash with 10 mL of PBS.
2. Add 2 mL of Accutase (Life Technologies, Catalog #A1110501) or TrypLE Express (Life Technologies, Catalog #12604013) to the flask and incubate cells for 1-3 minutes at room temperature.
 - ※ When using detachment reagents such as Trypsin, appropriate inhibitors such as Trypsin inhibitors are required to inactivate enzymes.
3. Observe the cell under the microscope for cell detachment.
 - ※ Gently tap the flask when cells do not detach.
4. Using CellCor™ SFD MSC, collect cells and transfer to the tube.
5. Centrifuge cells at 230 x g, 20°C for 3 minutes.
6. Remove the supernatant and suspend the cell pellets with CellCor™ SFD MSC. Count cells and seed to flask at density 4,000-5,000 cells/cm² (i.e. AdMSC) with 15 mL of CellCor™ SFD MSC.
7. Incubate at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂.
8. Subculture when cells reach up to 75-85% confluence. (Figure 1, usually 3-4 days post seeding)

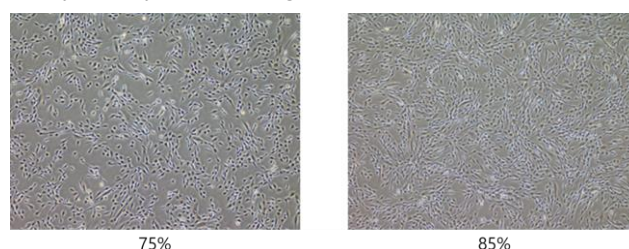


Figure 1. Cell Confluency (75-85%)

[Cryopreservation]

1. Remove the supernatant and suspend cell pellets with 1 mL of cryopreservation medium (e.g. Cell-banker2, Masbio, Catalog #11891).
2. Immediately place cryovials in a freezing container and place at -80°C for overnight. After 24 hours, place and store cryovials in a LN₂ tank.

[Adaptation from medium to CellCor™ SFD MSC]

1. After culturing with a prior medium for 24 hours, remove half of the medium and replace the same amount with CellCor™ SFD MSC.
 - ※ i.e. In a T-75 flask, Culture with 15 mL of the prior medium for 24 hours. Remove 7.5 mL of prior medium and add 7.5 mL of CellCor™ SFD MSC.
2. When cells reach up to 75-85% confluency, subculture using CellCor™ SFD MSC.

제품명	카탈로그#	등급	용량	저장방법	유효 기간*
CellCor™ SFD MSC	YSP010	GMP	500 mL	-20°C 이하	라벨에 별도 표기

* 제조일자로부터 12개월

제품 설명

CellCor™ SFD MSC는 인간유래 중간엽 줄기세포 (hMSC; 지방, 골수, 제대혈 등 유래물질; AdMSC, BMSC, UCSC) 성장과 증식을 위한 무혈청 배양배지이며, 혈청(i.e. FBS)이 포함되어 있지 않음. 본 제품은 bioactivity, endotoxin, mycoplasma 등의 품질검사가 수행되었음.

※ 특정 유래 세포의 경우, 코팅제가 필요할 수 있음.

※ 본 제품에 항생제가 포함되어있지 않음.

사용 목적

연구 및 제조용 시약. 인체 또는 동물 진단이나 직접적인 치료용으로 사용하지 말 것.

안전 정보

물질 안전 보건 자료 (MSDS)를 읽고 취급 지침을 따를 것.

적절한 보호 안경, 의류 및 장갑을 착용할 것.

배지 준비 및 보관

1. CellCor™ SFD MSC 를 상온에서 1 시간 해동한 후 37°C 항온조에서 완전히 녹여 사용함.
2. 사용 후 남은 CellCor™ SFD MSC 는 4°C 냉장 보관하며 보관 기간이 4 주를 넘기지 않도록 함.
3. 4°C에 보관된 CellCor™ SFD MSC 를 사용할 때, 필요한 양을 덜어 37°C 항온조에서 30 분 가온하여 사용함.
※ 해동 후 즉시 사용할 것을 권장하며 다시 얼리지 않음.

배양 방법

세포 종류: 인체유래 중간엽줄기세포 (i.e. AdMSC)

배양 조건: 37°C, 5% CO₂

배양 플라스크: T-75 flask (i.e. Corning, Catalog #430641U)

[세포 해동]

1. BSC 의 내부를 70% 에탄올로 닦고, 가온된 CellCor™ SFD MSC 를 준비함. 15 mL tube 에 가온된 CellCor™ SFD MSC 9 mL 을 넣음.
2. 세포가 동결되어 있는 cryovial 을 37°C 항온조에서 1-2 분 해동함.
3. 70% 에탄올로 cryovial 표면을 닦고 BSC 에 넣음.
4. CellCor™ SFD MSC 가 담겨있는 15 mL tube 에 해동된 세포 1 mL 을 옮겨 담음.
5. 230 x g, 20°C, 3 분 조건에서 원심분리함.
6. 상층액을 제거한 후 남아있는 세포를 CellCor™ SFD MSC 로 현탁하여 세포 수를 셈. CellCor™ SFD MSC 15 mL 로 flask 를 채우고 4,000-5,000 cells/cm² (i.e. AdMSC)로 분주함.
7. 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 배양함.

[세포 계대배양]

1. Flask 에서 배양된 배지를 제거하고 PBS 10 mL 으로 세포를 세척함.
2. Accutase (Life technologies, Catalog #A1110501) 혹은 TrypLE Express (Life technologies, Catalog #12604013)를 2 mL 첨가하여 세포 표면을 고르게 점적한 뒤, 1-3 분 동안 상온에서 반응함.
※ 트립신 보다는 Accutase 혹은 TrypLE Express 를 사용하는 것을 권장함. 트립신 사용 시, 효소 불활성화에 필요한 별도의 트립신 저해제가 필요함.
3. 현미경을 이용하여 세포가 flask 표면에서 떨어진 것을 확인함.
※ 떨어지지 않은 세포가 있는 경우 flask 를 가볍게 쳐줌.
4. 세포를 CellCor™ SFD MSC 로 회수하여 tube 에 옮김.
5. 230 x g, 20°C, 3 분 조건에서 원심분리함.
6. 상층액을 제거한 후, 남아있는 세포를 CellCor™ SFD MSC 로 현탁하여 세포 수를 셈. CellCor™ SFD MSC 15 mL 로 flask 를 채우고 4,000-5,000 cells/cm² (i.e. AdMSC)로 분주함.
7. 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 배양함.
8. 세포의 confluency 가 75-85% 에 도달했을 시, 계대배양 진행함. (Figure 1, 배양 후 3-4 일)

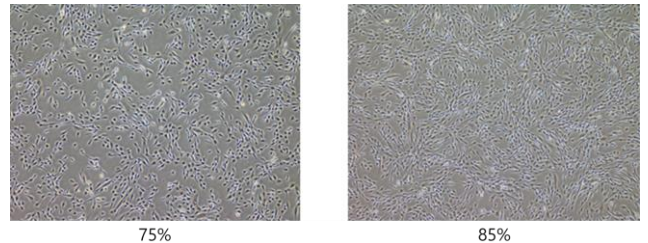


Figure 1. Cell Confluency (75-85%)

[세포 동결 보존]

1. 상층액을 제거한 후, 남아있는 세포를 세포동결보존액 (e.g. Cell-banker2, Amsbio, Catalog #11891, 무혈청보존액) 1 mL 으로 풀어 cryovial 에 담음.
2. 즉시 Cryovial 을 freezing container 에 담아 deep freezer (-80°C) 에서 overnight 함. 다음 날, cryovial 을 LN₂ tank 에 넣어 보관함.

[기존 배지에서 배양하던 세포를 CellCor™ SFD MSC 로 옮기는 경우 (adaptation 과정 필요)]

1. 세포를 기존 배지로 24 시간 배양한 후 세포 배양액의 절반을 제거하고 CellCor™ SFD MSC 로 절반을 첨가하여 배양함.
※ 예시) T-75 flask 기준으로 기존배지 15 ml 로 24 시간 배양한 후 기존배지 7.5 mL 을 제거하고 CellCor™ SFD MSC 7.5 mL 을 첨가함.
2. 세포의 confluency 가 75-85% 에 도달했을 시, CellCor™ SFD MSC 를 이용하여 계대배양 진행함.