

SperiMesen™ CD Human MSC Expansion Medium

斯博利康 SperiMesen™ CD 无异源人间充质干细胞扩增培养基

一、产品描述

SperiMesen™ CD Human MSC Expansion Medium 是一款**化学成分限定 (CD)** 即开即用型无血清培养基, 专为多种来源的间充质干细胞建库与高效扩增而设计。本品**完全不含异源动物组分、人血清及血液替代物 (如血小板裂解物等)**。可完美维持细胞生物学特性与多向分化潜能, 此外 SperiMesen™ CD **属于无外泌体培养基**, 极低的内源外泌体背景可为高质量的干细胞外泌体收集与下游应用提供了极其纯净的理想平台。

二、产品组分与储存

目录号	产品名称	规格	储存条件
SP04005	SperiMesen™ CD Human MSC Expansion Medium	500 mL	2~8°C
SP04006	SperiMesen™ CD Human MSC Expansion Medium(without Phenol Red)	500 mL	2~8°C

三、试剂及材料

试剂	耗材
SperiMesen™ CD Human MSC Expansion Medium	T25/T75 瓶
PBS, pH 7.4, Basic (1×)	15 mL/50 mL 离心管
Recombinant Trypsin-EDTA Solution	1.5 mL/2 mL 冻存管

四、试剂准备

SperiMesen™ CD Human MSC Expansion Medium 为即用型完全培养基，**无需任何配制即可直接使用**。请于 2-8°C 避光保存。未开封状态下有效期为 12 个月；为确保最佳培养效果**开封后建议在 1 个月内使用完毕**。

五、操作流程

（一）原代细胞培养（组织块贴壁法）：

1. 将脐带、羊膜等来源的组织去除血液、血管及上皮等杂质，使用 PBS 或生理盐水充分清洗。随后用无菌剪刀将组织块剪碎至 1-3 mm³ 大小。
2. 将 SperiMesen™ CD 从 2-8°C 取出，室温至复温，使用适量复温后的培养基重悬组织块。建议接种比例为：每 0.5 g 组织块添加 8 mL 培养基/T75cm² 培养瓶，轻柔混匀，置于细胞培养箱（37°C，5% CO₂）培养，接种后 48 小时内请勿移动培养器皿。
3. 根据组织块细胞爬出情况进行换液，整个过程建议进行 2-3 次换液。通常原代细胞在第 6-9 天开始爬出生长，培养 10-14 天收获原代细胞。
4. 吸去培养上清和组织块，加入 PBS 清洗 1 次，吸弃。使用重组胰蛋白酶消化液消化原代细胞，37°C 消化 3-5 分钟，观察大部分细胞从培养皿底部脱落后立即加入细胞培养基来终止消化。添加体积与重组胰蛋白酶消化液的体积比例为 3:1，300 × g，离心 3 分钟，弃上清，收获 P0 原代细胞。

NOTE：切勿过渡消化，收获的原代细胞建议用 100 μm 的细胞筛过滤一次；

（二）原代细胞培养（酶解消化法）

1. 获取单细胞悬液（可通过胰酶、胶原酶、分散酶等消化法处理脐带、羊膜、脂肪等组织获得；或通过离心法直接从羊水、全血、骨髓等样本中获取）。



2. 将 SperiMesen™ CD 从 2-8°C 取出，恢复至室温。
3. 原代接种：酶解的细胞，经 100 μm 细胞筛过滤后，300 × g 离心 3 分钟收集细胞沉淀，用 PBS 缓冲液清洗细胞 2-3 次，以去除消化酶的残留。随后加入适量培养基，轻柔混匀后接种细胞培养。细胞密度（建议 10000-50000 个/cm²。
4. 根据细胞生长情况，每 2-3 天更换新鲜培养基。消化法原代细胞一般在第 2-5 天开始贴壁生长，培养 7-10 天收获原代细胞。
5. 细胞消化与收获：方法同上。

NOTE：细胞培养使用的培养瓶，培养皿等都应选择 TC 表面处理的。

（三）细胞传代

1. 细胞复苏以及计数，细胞活率建议在 95%以上可进行传代；间充质干细胞如果来源于含血替或血清的培养基体系，在细胞接种之前，用 PBS 缓冲液将细胞沉淀清洗 2-3 次，彻底去除残留后，可以直接替换成 SperiMesen™ CD，无须驯化。
2. 按 8,000-10,000 cells/cm² 的活细胞密度接种。加入适量培养基，轻柔充分混匀后，置于 37°C、5% CO₂ 培养箱内静置培养。

NOTE：培养基添加量应大于 0.3mL/cm² 培养皿的底表面积。

培养皿类型	T25	100 mm 培养皿	T75	T175	T225
培养基添加量	7.5-8.5 mL	16.5-18 mL	22.5-25 mL	52.5-58 mL	67.5-75 mL

3. 在显微镜下观察细胞，当细胞融合度达到 80-90%左右，即可进行传代。一般为 2-3 天（约为 60 h-72 h）



左右。

NOTE:不同 hMSC 的生长速度有差异, 首次使用本公司这款产品时, 需要每天观察记录细胞状态和细胞密度, 以精准掌握培养规律。

4. 当细胞达到适宜传代汇合度后, 吸弃旧培养基。使用无钙镁离子 (w/o Ca^{2+} , Mg^{2+}) 的 PBS 缓冲液清洗细胞 1-2 次。随后加入适量重组胰蛋白酶消化液, 确保液面完全覆盖培养器皿底部, 进行后续消化及传代操作。
5. 室温或 37°C 孵育 3-5 分钟, 显微镜下观察到大部分细胞收缩变圆并脱落时, 立即准备终止消化。

NOTE:切勿过度消化。孵育后可轻叩培养器皿底部, 或在加入终止液后使用移液器轻柔吹打, 促使细胞完全脱落。

6. 加入完全培养基 (或细胞培养上清) 终止消化, 培养基与消化液的添加体积比建议为 3:1。收集细胞悬液, $300 \times g$ 离心 3 分钟。弃去上清, 收集细胞沉淀。
7. 加入适量 SperiMesen™ CD, 使用移液器轻柔吹打以充分重悬细胞沉淀。随后取样进行细胞计数及活率测定。
根据实验规划, 按前述推荐密度进行下一代的传代接种; 或进行细胞冻存操作。

(四) 细胞复苏

1. 从液氮中取出冻存的细胞, 迅速放入复苏装置或 37°C 水浴快速融化。
2. 向解冻后的细胞悬液中缓慢加入 5-10 倍冻存体积的 SperiMesen™ CD, 轻柔混匀。 $300 \times g$ 离心 3 分钟, 弃去上清, 再次加入适量 SperiMesen™ CD 充分重悬细胞沉淀。
3. 取样进行细胞计数及活率测定。

NOTE: 为保障复苏后的良好生长状态, 建议细胞活率须 $\geq 90\%$, 以 $\geq 95\%$ 为佳)。随后按 8,000-10,000 cells/cm² 的活细胞密度进行接种, 置于 37°C 、5% CO_2 培养箱内静置培养。



（五）细胞冻存

1. 当细胞融合度达到 80-90%左右，即可准备冻存。
2. 细胞的洗涤、消化及离心收集等操作，请严格参照前述“细胞传代”标准流程执行。
3. 离心收集细胞并弃去上清。取出冷藏的细胞冻存液，根据前期的细胞计数结果及实际冻存密度需求，加入适量冻存液重悬细胞沉淀。使用移液器轻柔吹打混匀后，按需分装至细胞冻存管中。冻存管上标识细胞信息，立即放置于梯度降温盒中并转移至-80℃冰箱中进行程序冻存。并及时将细胞转移入液氮长期保存。

NOTE:我们建议在-80℃冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

六、相关产品推荐

推荐试剂&材料	品牌	货号
SperiMesen™ CD Human MSC Expansion Medium	SPERIKON	SP04005
PBS, pH 7.4, Basic (1×)	SPERIKON	SP00104
Recombinant Trypsin-EDTA Solution	SPERIKON	SP00213

七、免责声明与客户服务

本产品适用于间充质干细胞 (MSC) 以及外泌体开发，此外 SPERIKON 也可提供在 ISO 13485 及 cGMP 质量管理体系下生产的等效培养基以及详尽的无动物源声明 (Xeno-free)、质检分析报告 (CoA)、安全合规数据及监管文件，确保实现从实验室到临床的无缝转化。如需更多信息，请联系 SPERIKON。

