

SperiMesen™ CD Human MSC Expansion Medium

SperiMesen™ CD 无异源人间充质干细胞扩增培养基

产品说明书

一、产品描述

SperiMesen™ CD 无异源人间充质干细胞扩增培养基是一款化学成分限定（CD）、无血清、无异源成分的即用型完全培养基，专为多种来源的间充质干细胞（MSC）建库与规模化扩增而设计。本品不包含动物源血清、人血清或人血小板裂解物（hPL）等血液衍生物。在有效维持 MSC 的生物学特性与多向分化潜能的同时，凭借低外源性 EV 背景和无血清/无 hPL 来源干扰，本品可为 MSC-EV 制备、鉴定及下游功能评价提供更纯净、可控的培养基础。

二、产品信息

目录号	产品名称	规格
SP04006-0500	SperiMesen™ CD Human MSC Expansion Medium(without Phenol Red)	500 mL

三、试剂指南

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℃ 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。

四、操作流程

（一）原代细胞培养（组织块贴壁法）：

1. 将新鲜脐带、羊膜等来源的组织剔除血管、上皮及结缔组织等杂质，使用含 1%双抗的 PBS 或生理盐水充分润洗 3 次。使用无菌剪刀将组织剪碎至 1-2 mm³ 大小。
2. 将 SperiMesen™ CD 培养基从 2-8℃ 取出，室温复温（15 - 30 分钟），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，接种在 T75 cm² 培养瓶中，轻柔混匀，使组织块均匀分布。置于细胞培养箱（37℃，5% CO₂）中培养，接种后 48 小时内请勿移动培养器皿，确保组织块充分贴壁。
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，细胞汇合度达 70%-80%。

NOTE：换液操作，轻柔吸弃旧培养基，沿瓶壁缓慢加入新鲜 SperiMesen™ CD 培养基。

4. 吸弃培养上清和组织块，加入适量 PBS 缓冲液清洗 1-2 次，吸弃。使用重组胰蛋白酶消化液消化原代细胞，T75 瓶推荐 3-5 mL，室温消化 3-5 分钟，显微镜下观察细胞变圆、大部分脱落后，立即加入 3 倍体积的 SperiMesen™ CD 培养基终止消化。收集细胞悬液， $300 \times g$ ，离心 3-5 分钟，弃上清，收获 P0 原代细胞。

NOTE：切勿过度消化，收获的原代细胞建议用 100 μ m 细胞筛过滤一次。

（二）原代细胞培养（酶解消化法）

1. 单细胞悬液制备，根据组织或样本类型，采用以下方法获得单细胞悬液：
 实体组织（如脐带、羊膜、脂肪等）：使用胰酶、胶原酶或分散酶等进行消化处理，获得单细胞悬液。
 液体样本（如羊水、全血、骨髓等）：直接离心收集细胞。
2. 将 SperiMesen™ CD 培养基从 2-8℃ 取出，室温复温（15 - 30 分钟）。
3. 酶解消化后的细胞悬液，经 100 μ m 细胞筛过滤，去除未消化组织块， $300 \times g$ 离心 3-5 分钟，收集细胞沉淀，用 PBS 缓冲液清洗细胞 2-3 次，以彻底去除消化酶残留。随后加入适量培养基，轻柔混匀后接种细胞培养。推荐接种密度为 10,000-50,000 cells/cm²。
4. 接种后第 2-5 天，细胞开始贴壁生长。根据细胞生长情况，每 2-3 天更换一次新鲜 SperiMesen™ CD 培养基。培养 7-10 天，当细胞汇合度达到 70%-80%时，即可进行原代细胞收获。
5. 细胞消化与收获：方法同上。

NOTE：所有培养瓶、培养皿等必须使用 TC 表面处理（组织培养处理）的产品，以确保细胞的有效贴壁。

（三）细胞传代

1. 当细胞融合度达到 80%-90%且细胞活率在 90%以上时，即可进行传代（以 95%为佳）。一般情况下，传代间隔为 2-3 天（约 60-72 小时）。

NOTE：如果细胞来源于含血清或血小板裂解物（hPL）的培养基体系，在替换为 SperiMesen™ CD 培养基之前，需用 PBS 缓冲液将细胞沉淀清洗 2-3 次，彻底去除残留成分后，即可直接替换为本产品，无需驯化。

2. 按 10,000-12,000 cells/cm² 的密度接种。加入适量培养基，轻柔充分混匀后，置于 37℃、5% CO₂ 培养箱内静置培养。不同来源或供体的间充质干细胞生长速度可能存在差异，首次使用本产品时建议每天观察记录细胞状态及密度，以精准掌握培养规律。

NOTE：建议培养基添加量建议不低于 0.3 mL/cm² 培养面积。



（四）不同规格培养器皿的推荐添加量如下：

规格	建议培养基添加量
100 mm 培养皿	16.5-18 mL
T 25 培养瓶	7.5-8.5 mL
T 75 培养瓶	22.5-25 mL
T 175 培养瓶	52.5-58 mL
T 225 培养瓶	67.5-75 mL

- 当细胞达到适宜传代汇合度后，吸弃旧培养基。使用 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。

NOTE: SperiMesen™ CD 培养基不含胰蛋白酶抑制剂，建议将重组胰蛋白酶与 PBS 按 1:1 比例稀释使用，切勿过度消化。

- 室温孵育 3-5 分钟，显微镜下观察到大部分细胞收缩变圆并脱落时，立即加入完全培养基终止消化，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 × g 离心 3-5 分钟，弃去上清，收集细胞沉淀。
- 加入适量 SperiMesen™ CD 培养基，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

- 从液氮中取出冻存的细胞，迅速放入复苏装置或 37℃ 水浴中，快速融化。
- 向解冻后的细胞悬液中缓慢加入 5-10 倍冻存体积的 SperiMesen™ CD 培养基，轻柔混匀。300 × g 离心 3-5 分钟，弃去上清。再次加入适量 SperiMesen™ CD 培养基，充分重悬细胞沉淀。
- 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，建议细胞活率须满足 ≥ 90%，以 ≥ 95% 为佳。细胞则按照 10,000-12,000 cells/cm² 的密度进行接种，置于 37℃、5% CO₂ 培养箱内静置培养。

（五）细胞冻存

- 当细胞融合度达到 80-90% 左右，即可准备冻存。
- 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。
- 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。推荐冻存密度为 1×10⁶ - 5×10⁶ cells/mL。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°C冰箱中进行程序降温，并及时将细胞转移至液氮长期保存。

NOTE：对于化学成分限定（CD）培养体系，请勿使用含血清的传统冻存液（如 90% FBS + 10% DMSO），否则会破坏“无异源/无血清”的建库初衷。建议使用无血清、无蛋白细胞冻存液。

（七）五、相关产品推荐

推荐试剂&材料	品牌	货号
PBS, pH 7.4, Basic (1×)	SPERIKON	SP00104
Recombinant Trypsin-EDTA Solution without Phenol Red	SPERIKON	SP00213
SperiMesen™ 无蛋白间充质干细胞冻 存液	SPERIKON	SP00853

四、免责声明与客户服务

本产品适用于人源间充质干细胞（MSC）的体外扩增、工艺开发及 MSC 来源外泌体制备等研究应用。本品在符合 ISO 13485 及 cGMP 相关质量管理体系要求的生产条件下制备，并可根据客户需求提供无动物源声明（Xeno-free Statement）、质检分析报告（CoA）、TSE/BSE 声明、成分来源声明、批次检测报告及其他质量支持文件。

本产品不直接用于人体诊断或治疗。若用于细胞治疗相关工艺开发、质量研究或临床前研究，建议结合具体应用场景、法规要求及终端产品注册路径进行适用性评估。如需更多质量文件或技术支持，请联系 SPERIKON。

