

产品名称:	QuaCell® EV CD Medium
货号:	C11002
规格:	500mL
形式:	液体
储存温度:	2°C ~ 8°C
有效期:	8个月 (失效日期见产品包装)

简介

QuaCell® EV CD Medium 是一款化学成分明确的限定性无血清培养基，不含任何动物源成分及内源性外泌体，背景干扰极低。专为间充质干细胞外泌体规模化生产设计，可确保 EV 产量高、批次间稳定性优异，同时简化下游纯化流程，是外泌体研究与生产的理想选择。

产品用途

在处理或补充培养基时使用无菌技术。本产品用于研究或进一步制造使用。

警告：不用于人类或动物治疗用途。超出规定范围的使用可能会触犯当地法律。

安全信息

阅读物料安全数据表 (MSDS) 并依据相关的安全操作规范，佩戴护目镜，洁净服，口罩和手套等。

细胞培养

第一阶段：MSC 细胞扩增培养

1. 细胞复苏与接种

1.1 准备工作

1.1.1 准备完全培养基 (用户自备的 MSC 扩增用培养基，一般含 5% 血清或 FBS 的培养基)；

1.1.2 37°C 水浴预热培养基；

1.1.3 生物安全柜紫外消毒 30 分钟。

1.2 操作步骤

1.2.1 从液氮中取出冻存的 MSC 细胞，迅速置于 37°C 水浴中融化；

1.2.2 将细胞悬液转移至 15 mL 离心管，缓慢加入 10 mL 预温完全培养基，200×g 离心 5 分钟，弃上清，用适量完全培养基重悬细胞，进行细胞计数；

1.2.2 按适宜密度接种至培养瓶/皿，建议 $(0.8\sim 1) \times 10^4$ cells/cm²，置于 37°C、5% CO₂ 培养箱中培养。

2. 细胞扩增 (约 72 小时传一代)

2.1 培养条件

温度：37°C

CO₂ 浓度：5%

湿度：饱和湿度

2.2 传代操作 (如需要)

2.2.1 吸除旧培养基，用 PBS 洗涤细胞 1-2 次；加入适量胰酶-EDTA 消化液，37°C 孵育 2-3 分钟

2.2.2 加入完全培养基终止消化，收集细胞悬液，200 × g 离心 5 分钟，弃上清，用完全培养基重悬；

2.2.3 按适宜密度接种传代，建议 $(0.8\sim 1) \times 10^4$ cells/cm²；继续培养至细胞状态良好、数量充足

第二阶段：外泌体生产培养

3. 培养基更换

3.1 更换时机

3.1.1 细胞汇合度达到 70-80%；

3.1.2 细胞状态良好，呈典型 MSC 形态 (纺锤形、成纤维样)；

3.1.3 细胞数量满足实验需求。

3.2 操作步骤

3.2.1 吸除原完全培养基，用 37°C 预温的 PBS 轻柔洗涤细胞 2 次，去除残留培养基；

3.2.3 加入 QuaCell® EV CD Medium (用量与原培养基相同)，置于 37°C、5% CO₂ 培养箱中继续培养

注意：洗涤步骤至关重要，需彻底清除残留血清或者 FBS，避免外源外泌体引入。

4. 外泌体分泌培养 (24~48 小时)

4.1 培养条件

温度：37°C

CO₂ 浓度：5%

培养时间：24~48 小时 (可根据具体实验情况优化)

4.2 过程监控

4.2.1 更换后 4~6 小时，观察细胞贴壁及形态是否正常；

4.2.2 24 小时 观察细胞状态，如无异常可继续培养

4.2.3 48 小时，收集培养上清 (推荐时间点)

注意：培养时间可根据细胞类型调整。部分细胞在 24 小时即可收获，部分可延长至 48-72 小时，但需注意细胞活力变化。

第三阶段：培养上清收集

5. 收集前准备

5.1 准备工作

5.1.1 预冷离心机至 4°C

5.1.2 准备无菌离心管（15 mL 或 50 mL）

5.1.3 准备 0.22 μm 或 0.45 μm 滤器（可选）

5.2 操作步骤

5.2.1 将培养瓶/皿从培养箱取出，保持无菌操作，轻轻摇晃培养容器，使上清均匀；

5.2.2 用移液器收集培养上清至离心管，4°C 条件下，1000×g 离心 10 分钟，去除细胞碎片；

5.2.3（可选）0.22 μm 滤膜过滤，进一步去除碎片杂质；

5.2.4 将上清分装至新离心管，标记日期、样品信息，立即进行外泌体纯化，或-80°C 冻存备用；

注意：如暂不外泌体纯化，上清应尽快冻存于-80°C，避免反复冻融

常见问题与建议

问题	可能原因	解决方案
细胞更换培养基后死亡	PBS 洗涤过度或机械损伤	轻柔操作，缩短洗涤时间
外泌体产量低	细胞状态不佳或培养时间短	优化细胞培养条件，延长培养时间
外泌体纯度低	血清残留或细胞碎片污染	加强 PBS 洗涤步骤，增加离心步骤
外泌体活性差	冻融损伤或储存不当	避免反复冻融，分装保存

储存与稳定性

项目	条件
QuaCell® EV CD Medium	2-8°C 避光保存，勿冷冻
培养上清（待纯化）	4°C 短期 (<24h)，-80°C 长期
纯化后外泌体	-80°C 保存，避免反复冻融

注意：具体操作可根据实际细胞类型和实验需求优化调整。