

# 人血小板裂液（hPL）显著提升MSC扩增效率

## 基于PRIME-XV MSC Expansion XSFM培养基

### 引言

间充质基质/干细胞（Mesenchymal Stromal/Stem Cells, MSCs）具有卓越的免疫调节特性，使其成为细胞治疗药物开发的理想选择。传统MSC培养通常采用添加血清（多为牛或人源）的培养基体系。研究表明，相较于牛血清，人血小板裂解液（Human Platelet Lysate, hPL）能显著促进细胞增殖、迁移及分化，从而获得更优的培养效果。hPL富含更高浓度的生长因子，包括血小板衍生生长因子（Platelet-Derived Growth Factor, PDGF）、转化生长因子- $\beta$ （Transforming Growth Factor-beta, TGF- $\beta$ ）和胰岛素样生长因子（Insulin-Like Growth Factor, IGF）——这些因子在细胞生长与增殖过程中发挥关键作用。此外，hPL可有效促进细胞黏附，无需使用纤连蛋白（fibronectin）等黏附蛋白进行培养表面预包被处理。

本研究探讨了在PRIME-XV MSC Expansion XSFM培养基中添加0.5%至5% hPL对MSCs扩增的影响。研究采用标准组织培养（Tissue Culture, TC）板进行，除对照组使用纤连蛋白（fibronectin）外，未添加任何黏附蛋白。评估了hPL添加对细胞生长、存活率以及标志物表达的影响。研究结果表明，在PRIME-XV MSC Expansion XSFM中添加hPL可促进MSC的黏附与扩增。

PRIME-XV MSC Expansion XSFM是一种无异源、无血清的完整培养基，专为纯化后人MSC的维持与扩增而优化。该培养基支持源自人脂肪、人骨髓和人脐带的MSC扩增，并在长期培养后仍能保持细胞质量。PRIME-XV MSC Expansion XSFM以即用型形式提供，但可根据特定应用需求补充细胞因子、生长因子或其他成分。



材料

| 试剂与耗材                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>PRIME-XV MSC Expansion XSFM</b><br/>(FUJIFILM Biosciences, Catalog # 91149),</li><li>• <b>PRIME-XV Human Fibronectin</b><br/>(FUJIFILM Biosciences, Catalog # 31002)</li><li>• <b>Bone Marrow–Derived Mesenchymal Stem Cells (BM-MS C)</b><br/>(American Type Culture Collection, Catalog # PCS-500-010)</li><li>• <b>PLTGold-GI Clinical Grade Human Platelet Lysate</b><br/>(Mill Creek Life Sciences, Catalog # PLTGold27GMP-GI)</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Invitrogen LIVE/DEAD Fixable Blue Dead Cell Stain</b><br/>(Thermo Fisher Scientific, Catalog # L34962)</li><li>• <b>ViaStain AOPI Staining Solution</b><br/>(Revvity, Catalog # CS2-0106-25ML)</li><li>• <b>Cellaca MX High-throughput Cell Counter</b> (Revvity)</li><li>• <b>BD FACSymphony A5 Cell Analyzer</b><br/>(BD Bioscience)</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>CD105</b> (BioLegend, Catalog # 323206)</li><li>• <b>CD90</b> (BioLegend, Catalog # 328114)</li><li>• <b>CD73</b> (BioLegend, Catalog # 344010)</li><li>• <b>CD34</b> (BioLegend, Catalog # 343604)</li><li>• <b>HLA-DR</b> (BioLegend, Catalog # 307645)</li><li>• <b>CD14</b> (BioLegend, Catalog # 612763)</li><li>• <b>CD45</b> (BioLegend, Catalog # 304028)</li></ul> |

方法

培养基制备

将PRIME-XV MSC Expansion XSFM 分装后，分别添加0.5%、1%、2%和5%浓度的人血小板裂解液（Human Platelet Lysate, hPL）制备实验样品，同时设置不添加hPL的对照样品。

细胞扩增与传代

使用对照样品和hPL补充的 PRIME-XV MSC Expansion XSFM 样品，将MSCs接种于组织培养（Tissue Culture, TC）处理板中。纤连蛋白（fibronectin）对照组孔板预先以 2 µg/cm² 浓度包被。每种条件设置三个重复孔。MSCs在37°C、5% CO₂ 湿润培养箱中培养，持续维持5个传代周期，每2至3天更换新鲜培养基，扩增培养最长4天后进行传代。

细胞计数与活率检测

扩增后的MSCs用不含 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 的Dulbecco's磷酸盐缓冲液（Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline, DPBS）清洗，随后采用 TrypLE 进行消化。消化后的细胞用对应XSFM样品中和，300×g 离心5分钟。细胞重悬于对应XSFM样品中，分装用于细胞计数和存活率检测。细胞悬液与ViaStain AOPI染色溶液混合后，使用 Cellaca MX高通量细胞计数仪进行计数。

标志物表达分析

为进行流式细胞术检测标志物表达，细胞先用流式缓冲液清洗，并以 1:100 比例稀释的 LIVE/DEAD Fixable Blue 死细胞染色剂染色。细胞于 4°C 孵育30分钟后，用流式缓冲液清洗，继而以 1:500 比例稀释的CD105、CD90、CD73、CD34、HLA-DR、CD14 和 CD45 抗体进行染色。细胞于 4°C 孵育 30 分钟，用流式缓冲液清洗3次，最后重悬于流式缓冲液中。使用 BD FACSymphony A5 流式细胞仪对样本进行检测，定量分析标志物表达。

结果

MSCs 采用 PRIME-XV MSC Expansion XSFM 培养基进行培养，实验组设置包括：不添加hPL（含纤连蛋白包被孔板与未包被孔板条件）及添加 0.5%–5% hPL（所有组均未使用纤连蛋白包被孔板）。连续5代培养期间细胞的总群体倍增水平（Population Doubling Levels, PDL）与存活率百分比数据分别呈现在图1A与图1B中。

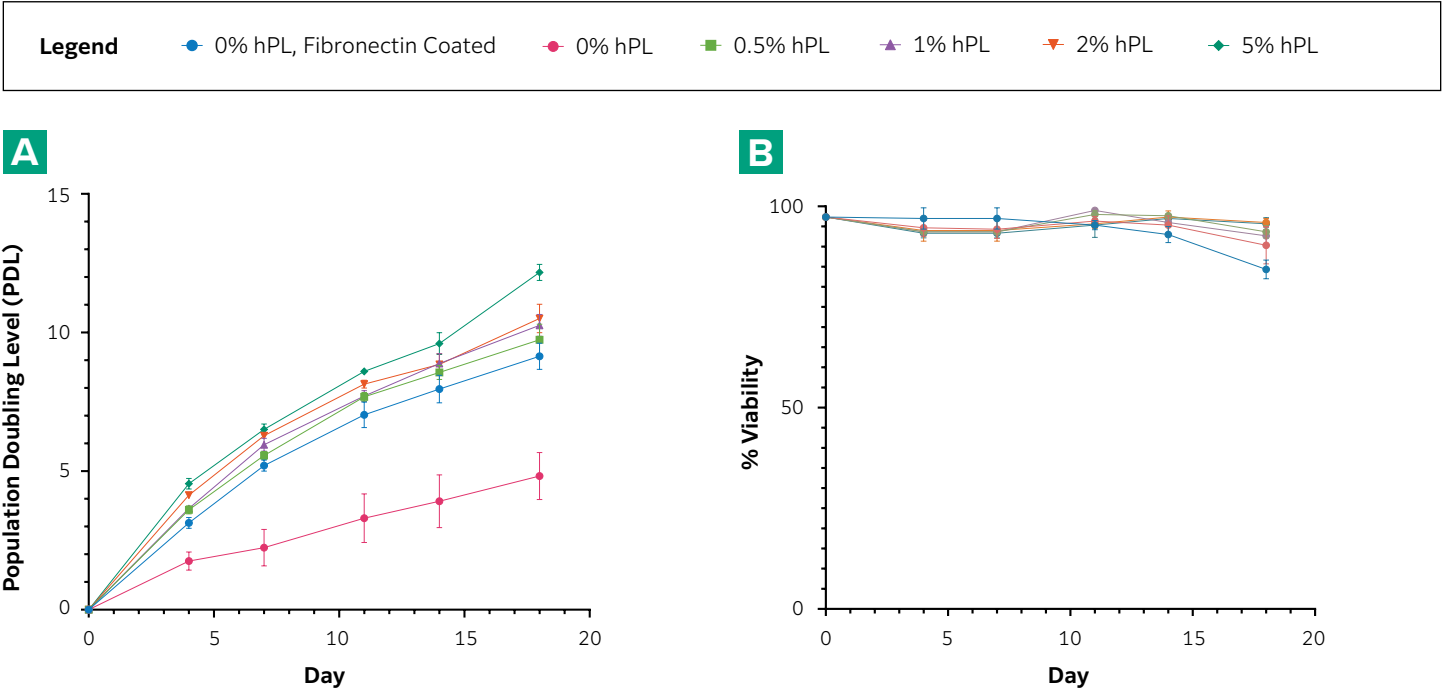


图1A. 连续5代培养期间细胞总群体倍增水平

基于活细胞密度计数计算总群体倍增数。群体倍增水平计算公式：群体倍增水平 =  $\log_2(C_f/C_i)$ ，其中C<sub>f</sub>为收获时细胞总数，C<sub>i</sub>为接种时细胞总数。

图1B. 连续5代培养期间MSC存活率变化

每代培养均进行细胞存活率检测分析。

采用抗体标记与流式细胞术对细胞表面标志物表达水平进行检测。通过CD73、CD90、CD105、CD14、CD34、CD45及HLA-DR表达特性对特定细胞群体进行设门分析，实现MSCs群体的定量评估。标志物表达分析结果见表1。

表1. 流式细胞术标志物表达分析

|                             | Positive Markers |       |       | Negative Markers |      |      |        |
|-----------------------------|------------------|-------|-------|------------------|------|------|--------|
| Sample                      | CD73             | CD90  | CD105 | CD14             | CD34 | CD45 | HLA-DR |
| Day 0 Control               | 99.9%            | 99.9% | 99.8% | 0.0%             | 0.0% | 0.0% | 0.0%   |
| 0% hPL, Fibronectin Coating | 99.8%            | 99.8% | 98.4% | 0.1%             | 0.4% | 0.2% | 0.4%   |
| 0% hPL                      | 99.5%            | 99.4% | 97.8% | 0.1%             | 0.4% | 0.2% | 0.5%   |
| 0.5% hPL                    | 99.9%            | 99.6% | 96.4% | 0.4%             | 0.0% | 0.0% | 0.0%   |
| 1% hPL                      | 100.0%           | 99.6% | 97.1% | 0.8%             | 0.0% | 0.0% | 0.0%   |
| 2% hPL                      | 100.0%           | 99.7% | 96.4% | 1.2%             | 0.0% | 0.0% | 0.0%   |
| 5% hPL                      | 100.0%           | 99.1% | 97.0% | 1.7%             | 0.0% | 0.0% | 0.0%   |

细胞经5代培养后采用阴/阳性标志物组合进行分析。Day 0对照组指初始接种前进行标记分析的细胞。



## 总结

本研究考察了在 PRIME-XV MSC Expansion XSFM 培养基中添加 0.5%-5% 人血小板裂解液 (hPL) 对 MSC 黏附与扩增能力的影响。结果显示, 添加 hPL 的 PRIME-XV MSC Expansion XSFM 相较于无 hPL 的纤连蛋白包被组, 群体倍增水平 (PDL) 呈现剂量依赖性显著提升; 而无 hPL 且无纤连蛋白包被组的 PDL 显著偏低。综合数据表明, 即使最低测试浓度的 hPL 添加即可免除培养表面预包被需求, 并以剂量依赖方式提升 MSC 黏附和/或增殖能力。所有 hPL 添加组在 5 代培养中均表现出相当的细胞存活率与生长一致性, 且含 hPL 培养基所扩增细胞的表面标志物表达与无 hPL 培养的细胞相当。研究证实, 在 PRIME-XV MSC Expansion XSFM 中添加 hPL 可显著改善 MSC 黏附与扩增效果, 且不改变细胞表型特征。

---

**FUJIFILM**  
FUJIFILM Biosciences

**富士胶片(中国)投资有限公司**

地址: 上海市浦东新区平家桥路36号晶耀前滩T5-2003室

网址: <https://fujifilmbiosciences.fujifilm.com/>

销售咨询: 021-50106000 转生命科学事业部