

间充质干细胞成软骨分化说明书

产品介绍

由研发团队精心研制的间充质干细胞成软骨诱导分化试剂盒，包含适合间充质干细胞生长的基础培养基、优级胎牛血清及诱导细胞分化所需的添加物。

本产品适用于间充质干细胞的成软骨诱导分化。大量细胞培养数据验证，本产品可稳定、高效诱导上述细胞分化为软骨细胞。

注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

成软骨分化套装

成软骨分化套装成分	货号	体积
Mesenchymal Stem Cells Chondrogenic Differentiation Medium MSC-CDM	IMC-013-M	180mL
Fetal Bovine Serum (Superior-Quality) 优级胎牛血清	IMC-101-10	20mL
Supplement For Mesenchymal Stem Cells Chondrogenic Differentiation A 间充质干细胞成软骨诱导分化添加物 A	IMC-013-A	1mL
Supplement For Mesenchymal Stem Cells Chondrogenic Differentiation B 间充质干细胞成软骨诱导分化添加物 B	IMC-013-B	1mL
Alcian Blue 8GX Soluttion 阿利新蓝 (pH=2.2)	IMC-904	10mL
Nuclear Fast Red Staining Solution 核固红	IMC-905	10mL

质量控制

通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。

通过渗透压、pH 检测。

通过产品性能检测

处理原则

- 1.严格的无菌环境。务必保证实验室整体和操作区域的清洁。
- 2.规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
- 3.各成分需按照保存条件妥善存放，并尽快使用。
- 4.若短期内无法用完整套培养基，应按套装内各成分体积比例分批配制并分装保存。

产品稳定性及保存条件

- 1.套装内所有成分均需避光保存。
- 2.套装内基础培养基需置于 4℃ 冰箱保存，保质期为 1 年；其他成分需置于 -20℃ 保存，保质期为 2 年。
- 3.配制后的完全培养基，需放置 4℃ 保存，保质期为 1 个月；若能保证培养条件稳定，容器密封性能良好，避免冷热交替，则保质期可适当延长，但不得超过 45 天。
- 4.所有产品请于保质期内使用；过期的成分可能严重影响培养效果。

完全培养基的配制

所需材料

- 1.间充质干细胞成软骨诱导分化试剂盒
- 2.清洁、无菌、质量稳定的一次性耗材（移液管、移液器吸头、离心管等）
- 3.洁净的封口膜
- 4.铝箔纸等避光材料

操作步骤

- 1.配制前至少 30min，将套装中间充质干细胞成软骨诱导分化添加物（以下简称添加物）放置于 4℃ 冰箱内，直至完全融化。
- 2.上下颠倒或轻弹试剂管以混匀试剂。
- 3.用 75% 医用酒精仔细擦拭所有成分外包装。在超净台内打开包装。
- 4.将添加物全部加入细胞基础培养基（以下简称基础培养基）中。
- 5.取少量基础培养基，洗涤添加物 1 试剂管，尽可能将所有成分全部加入基础培养基中。
- 6.拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。
- 7.用封口膜密封瓶口，用铝箔纸包裹瓶身，并标注名称、配制日期等信息。

特别提醒

- 1.若短期内无法用完全培养基，我们建议分批配制；请按照套装内各成分比例，配制所需量；但剩余的成分必须严格按照各自的保存条件妥善保存，并且不可多次冻融。
- 2.间充质干细胞成软骨诱导分化试剂盒内的所有成分都严格控制无菌，一般情况下我们不建议再次除菌。若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。
- 3.配制完成的成软骨诱导分化培养基，请分装为小份，避免整瓶培养基反复温浴和冷藏交替

诱导分化操作流程

所需材料

- 1.间充质干细胞成软骨诱导分化试剂盒
2. 4%多聚甲醛溶液或 10%福尔马林溶液

操作步骤

注意：1）本操作规程以六孔板为例，请根据实际情况选用合适的培养容器；

2）诱导培养基在使用前均需预热至 37℃。

1. 将待诱导的间充质干细胞按照 2×10^4 cells/cm² 的细胞密度接种于六孔板中，每孔加入 2mL 普通完全培养基。
2. 细胞置于 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中培养。
3. 当细胞融合度达到 70%时，小心地将孔内完全培养基吸走，向六孔板中加入 2mL 间充质干细胞成软骨诱导分化培养基。
4. 每隔 3 天换用新鲜的间充质干细胞成骨诱导分化培养基。
5. 持续诱导，直至管内形成软骨球。
6. 诱导 2~4 周后，视细胞的形态变化及生长情况，用阿利辛蓝进行染色。

注意：1）小心操作，不要吸出软骨球；

2）后续细胞形成细胞团，换液时尽量小心，可每两天进行半换液更换新成软骨诱导培养基。

软骨球染色

所需材料

1. Phosphate-Buffered Saline (1×PBS)

2.4%多聚甲醛溶液或 10%福尔马林溶液

3.阿利辛蓝

操作步骤

1. 对于培养细胞，用 4%多聚甲醛固定 10 min 以上；PBS 洗涤 2 min×2 次。
2. 1%阿利新蓝染色液（pH2.5）室温染色 30 min。
3. 流水冲洗 2 min，去离子水浸泡 2 min×2 次。
4. 0.1%核固红染色液室温染色 5~10 min。
5. 流水冲洗 2 min，去离子水浸泡 2 min×2 次。
6. 显微镜观察。

染色效果图

