

间充质干细胞成骨分化说明书

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成骨细胞。

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。

成骨分化套装

成骨分化套装成分	货号	体积
Mesenchymal Stem Cells Osteogenic Differentiation Medium MSC-ODM	IMC-011-M	180mL
Fetal Bovine Serum (Superior-Quality) 优级胎牛血清	IMC-101-10	20mL
Supplement For Mesenchymal Stem Cells Osteogenic Differentiation A 间充质干细胞成骨诱导分化添加物 A	IMC-011-A	1mL
Alizarin Red Solution 茜素红	IMC-901	10mL
Gelatin 明胶	IMC-902	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

- 严格的无菌环境。务必保证实验室整体和操作区域的清洁。
- 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 6h，将套装中的优级胎牛血清（以下简称血清）放置于 4℃ 冰箱内完全融化。
注意：融化后的血清中可能出现絮状物，其主要成分为析出的血纤蛋白，这不会影响产品使用效果。若不是对细胞培养体系的纯净度要求极高，我们不建议过滤或离心去除絮状物。
- 2.配制前至少 30min，将套装中间充质干细胞成骨诱导分化添加物（以下简称添加物）放置于 4℃ 冰箱内，直至完全融化。
- 3.上下颠倒或轻弹试剂管以混匀试剂。
- 4.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。
- 5.将血清、添加物全部加入细胞基础培养基（以下简称基础培养基）中。
- 6.取少量基础培养基，洗涤各瓶、管，尽可能将所有成分全部加入基础培养基中。
- 7.拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。
- 8.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.间充质干细胞成骨诱导分化试剂盒
- 2.0.1%明胶溶液
- 3.Phosphate-Buffered Saline(1×PBS)

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) 为减少诱导过程细胞漂起、不贴壁，建议使用明胶包被培养容器；
 - 3) 诱导培养基在使用前均需预热至 37℃。

- 1.加 1mL 0.1%明胶到六孔板中，摇匀，使其能均匀覆盖各孔底面。
- 2.将铺有 0.1%明胶的六孔板放置在超净台或 CO₂ 培养箱至少 30min。
- 3.30min 后吸去明胶即可用于接种细胞，或等待六孔板晾干再接种。
- 4.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。
- 5.细胞置于 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中培养。
- 6.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 间充质干细胞成骨诱导分化培养基。
- 7.每隔 3 天换用新鲜的间充质干细胞成骨诱导分化培养基。
- 8.诱导 2~4 周后，视细胞的形态变化及生长情况，用茜素红进行染色。

注意：为防止成骨细胞脱落、钙结节损失，建议成骨过程中出现明显钙结节之后，每三天半量换液一次

茜素红染色分析

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.茜素红染色液

操作步骤

注意：1) 为防止钙结节脱落，所有操作尽可能轻缓；

2) 茜素红使用前请恢复至室温；如果染色效果较差，可适当延长染色时间；

3) 请确认出现钙结节后再进行染色。

1.成骨诱导分化结束后，吸去六孔板中的成骨诱导分化完全培养基，用 1×PBS 轻柔洗涤 2~3 次。

2.每孔加入 2mL4%多聚甲醛溶液（或 10%福尔马林），室温固定 30min。

3.吸去固定液，用 1×PBS 轻柔洗涤 2~3 次，确保将固定液清洗彻底。

4.每孔加入 2mL 茜素红工作液，室温染色 5~10min。

5.吸去茜素红染色液，用 1×PBS 轻柔洗涤 2~3 次，充分洗去多余染色液。

6.每孔加入 2mL1×PBS，将培养板置于显微镜下观察成骨染色效果。

7.染色后的六孔板用封口膜封装后，置于 4℃可保存 2 周。

染色效果图

