

DeIf 间充质干细胞成骨诱导分化试剂盒

产品描述

本产品为精心优化的间充质干细胞成骨诱导分化试剂盒，可增强间充质干细胞向成骨细胞分化的能力。

本产品仅用于科研用途，不可用于诊断、治疗、临床、家庭及其他用途。

产品组成成分及保存

试剂名称	体积（100mL 规格/200mL 规格）	保存条件及有效期
诱导分化添加剂	5mL / 10mL	-20℃，1 Year
优质胎牛血清	10mL / 20mL	-20℃，1 Year
细胞基础培养基	85mL / 170mL	4℃，1 Year
茜素红染色液	5mL / 10mL	RT（室温），1 Year

注意：1. 为保证产品的有效性，请避免反复冻融。

2. 配制好的诱导培养基保存于 2-8℃，有效期为 2 周，请根据实验用量合理配制。

产品使用说明

1. 间充质干细胞成骨诱导分化完全培养基的配制

① 室温条件下融化添加剂及血清。（**注意：若添加剂或血清中有沉淀物，属正常现象，无须过滤，避免成分丢失。**）

② 根据实验用量，于无菌操作台中配制完全培养基，建议每次配制 50mL，先加细胞基础培养基和胎牛血清，再加诱导分化添加剂。（配制比例见表一）

试剂成分	配制比例	50mL 配制体系
诱导分化添加剂	5%	2.5mL
优质胎牛血清	10%	5mL
细胞基础培养基	85%	42.5mL

表一

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218



2. 间充质干细胞成骨诱导分化实验步骤

①包被细胞培养瓶/板：向细胞培养器皿中加入 0.1%明胶溶液，轻微晃动，使包被液完全覆盖培养器皿底面，置于 37℃培养箱中孵育 30min，吸除液体即可使用。

②建议取第 3~5 代、纯度达 90%以上、状态良好的间充质干细胞，将其消化收集，使用含 10%FBS 的完全培养基调整细胞浓度，均匀铺于包被好的培养瓶/板中，置于 37℃，5%CO₂，饱和湿度的培养箱中培养。（细胞接种详情参考表二）

培养器皿	底面积	细胞量	培养液体积
24 孔培养板	2cm ² /孔	2×10 ⁵ cell/孔	1mL/孔
12 孔培养板	4.5cm ² /孔	4.5×10 ⁵ cell/孔	2mL/孔
6 孔培养板	9.6cm ² /孔	9.6×10 ⁵ cell/孔	2mL/孔
T25 培养瓶	25cm ²	25×10 ⁵ cell	5mL
6cm 培养皿	21cm ²	21×10 ⁵ cell	5mL
10cm 培养皿	55cm ²	55×10 ⁵ cell	10mL

表二

③待细胞汇合度达约 90%时，即可进行诱导分化。

④小心吸弃细胞培养上清，沿孔壁缓慢加入提前配制好的诱导分化完全培养基，置于 37℃恒温细胞培养箱中培养。

（**注意：完全培养基加入细胞前需提前置于 37℃预热。**）

⑤每 2~3day 换用新鲜的诱导分化完全培养基。换液时，若细胞培养上清颜色变为澄清的黄色，是由于细胞量较大，营养消耗较快导致的，请及时缩短换液周期。

⑥细胞诱导 2~4 周后，即可进行茜素红染色鉴定。（**注意：请在显微镜下确认钙结节形成后，再进行染色鉴定。**）

3. 茜素红染色分析

① 细胞诱导分化结束后，小心吸弃细胞培养上清，1×PBS 润洗 1~2 次，室温固定 30 min。（细胞固定液为 4%中性甲醛溶液等，体积参考表二）

② 吸弃细胞固定液，1×PBS 润洗 2 次。沿孔壁缓慢加入茜素红染色液，染液体积请参考表二，室温染色 30min。（**注意：染色液底部可能会有沉淀，吸取时尽量不要触及底部。若细胞染色后有沉淀，1×PBS 洗去即可。**）

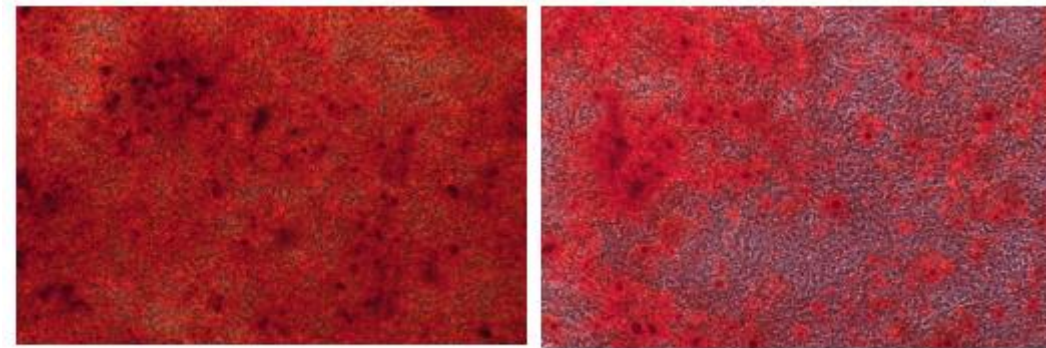
发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218



③ 吸出染色液，1×PBS 润洗，去掉浮色。显微镜下观察细胞染色效果，钙盐呈较深的橙红色。（**注意：**
染色液可重复使用，建议收集。）



成骨细胞茜素红染色-100倍（图片仅供参考）

质量控制

- ü 无菌检测（细菌、真菌和支原体检测）
- ü pH 测试
- ü 渗透压检测
- ü 内毒素

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218

