

人间充质干细胞
成骨诱导分化试剂盒使用说明书

【产品简介】

本产品可用于人脐带及脂肪间充质干细胞成骨分化鉴定。根据人间充质干细胞的特性，对培养基及诱导试剂进行组合优化，人脐带和脂肪间充质干细胞的成骨分化效果优良。

本产品含血清成分，仅用于科研用途，不可用于诊断、治疗、临床及其他用途。

【产品组成】

货号	产品名称	规格	保存条件	有效期
NC0701	人间充质干细胞 成骨诱导分化培养基	90mL/瓶	2~8℃，避光	12个月
TL0001.S	胎牛血清	10mL/瓶	-20℃，避光	12个月
NC0701.S1	人间充质干细胞 成骨诱导分化添加物	1mL/支	-20℃，避光	12个月
NC0701.S2	茜素红染色液（PH=4.3）	10mL/瓶	2~8℃，避光	12个月

注：各试剂请按相应标签储存条件储存。

【完全培养基配制】

完全培养基由基础培养基、血清、添加物构成，将血清及添加物置于4℃冰箱解冻，解冻完全后可轻轻颠倒混匀添加物。

根据实验所需液量按照上述产品组成等比例结合基础培养基配制所需的诱导分化完全培养基。

（注：以六孔板为例每孔干细胞诱导成骨实验需要完全培养基约20mL，建议将添加物分装，避免反复冻融）

【操作步骤】

一、诱导分化

1. 将准备诱导分化的人间充质干细胞培养至细胞融合达80%以上，正常消化收集细胞。
2. 按 2×10^4 cells/cm²的细胞量接种于6孔板，置于含5%CO₂，37℃温箱中培养。24h后将培养基更换为2mL诱导成骨完全培养基，更换培养基时操作要尽可能轻柔。
3. 持续用成骨诱导完全培养基培养，每3天进行一次换液，第3次换液后可执行半量换液操作，即吸弃1mL培养液，加入1mL新鲜成骨诱导培养基。
4. 持续诱导2-4周，在此期间，钙结节的量会持续增多，根据您所需要的实验结果选择适宜的染色鉴定时间。

二、染色

1. 洗涤

诱导培养结束，吸弃6孔板里的成骨诱导分化培养基，用DPBS轻轻润洗1-2遍。

2. 固定

加入4%中性甲醛溶液，液量覆盖细胞表面即可，固定30分钟。

3. 洗涤

吸弃4%中性甲醛溶液，用DPBS或纯化水冲洗1-2遍。

4. 染色

每孔加入1mL过滤后的染色液，室温避光染色10-20分钟

（注：染色时间可以根据实际情况适当延长或缩减）。

5. 镜检

吸弃染色液，用DPBS或纯化水润洗1-2次，把背景杂质洗干净，即可在显微镜下观察钙结节生成情况及染色效果。

（清洗液可以是DPBS或者纯化水，对实验结果无显著影响）

【产品使用注意事项】

1.试剂盒完全培养基的配制和使用须在无菌操作下进行。

2.为避免钙结节丢失，换液和润洗操作尽可能轻柔，吸弃液面枪尖应从培养液上液面，避免给细胞生长面施加外力。

3.本产品有效期1年，配制的完全培养基2-8℃保存效期1个月，请按照试剂盒试剂存放要求储存并在有效期内使用。

【分化效果（50X）】

