

人间充质干细胞
成软骨诱导分化试剂盒使用说明书

【产品简介】

人间充质干细胞成软骨诱导分化试剂盒专门为人脐带和脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化而开发，针对人脐带和脂肪间充质干细胞的特性优化分化试剂的配方，可增加人脐带和脂肪间充质干细胞的成软骨分化效果。

【产品组成】

货号	产品名称	体积	保存条件	有效期
NC0501	人间充质干细胞成软骨诱导分化培养基	100 mL	2~8℃，避光	12个月
NC0501. S1	人间充质干细胞成软骨诱导分化添加物1	1 mL	-20℃，避光	12个月
NC0501. S2	人间充质干细胞成软骨诱导分化添加物2	0.2 ml	-20℃，避光	12个月
NC0501. S3	人间充质干细胞成软骨诱导分化添加物3	0.2 ml	-20℃，避光	12个月
NC0501. S4	阿利新蓝染色液	10 mL	2~8℃，避光	12个月

【产品稳定性及保存条件】

- 1、试剂盒内所有成分均需避光保存。
- 2、试剂盒内基础培养基、阿利新蓝染色液需置于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1年。
- 3、配制好的诱导分化完全培养基，需置于4℃冰箱保存，保质期为1个月，请按需配制。
- 4、所有产品请于保质期内使用；过期的成分可能严重影响诱导分化效果。

人间充质干细胞成软骨诱导分化操作步骤

- 1、当正常培养的人间充质干细胞的融合度达到80~90%时，即可用温和酶进行消化。
- 2、将消化下来的细胞进行计数，根据计数结果，取3~4×10⁵个待诱导细胞转移到15ml离心管中，250g离心5分钟。
- 3、弃上清，加入1mL成软骨诱导分化基础培养基，重悬细胞，150g离心5分钟。
- 4、弃上清，加入0.5mL成软骨诱导分化完全培养基，重悬细胞，150g离心5分钟。

注意：成软骨诱导时每管细胞的总数在 5×10⁴ 至 3×10⁵ 之间，细胞数过少形成的软骨团块可能较小，细胞数过多则倾向于分成块。

- 5、离心后不可摇动或吹打细胞团，小心地将离心管盖拧松，以便于气体交换。放入37℃，5%CO₂，饱和湿度的CO₂培养箱中培养。

注意：24小时内不要摇动离心管，保持离心管静置。

- 6、每3天更换新鲜的软骨分化完全培养基，每管0.5mL，换液后轻弹细胞团使其能脱离管底悬浮在液体中。

注意：1) 换液时动作轻柔，以免吸出软骨球

2) 每次更换完全培养基后，都需轻弹离心管，使软骨球脱离管底悬浮在液体中

3) 每次更换完全培养基后，务必拧松离心管盖再放入培养箱中

7、持续诱导，诱导过程中，细胞团直径会有所增大，表面会变得光滑；持续诱导20~30天后，软骨球直径达1.5~2mm，即可准备固定和切片染色。

阿利新蓝染色分析

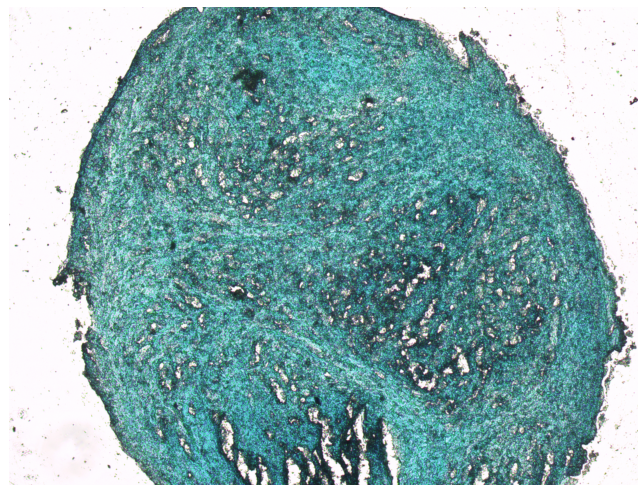
1、诱导培养结束时，弃去培养上清，DPBS清洗细胞两次，4%中性多聚甲醛溶液2mL/管，室温固定细胞1小时以上。

2、弃去固定液，DPBS清洗2次，脱水、石蜡包埋后切片。

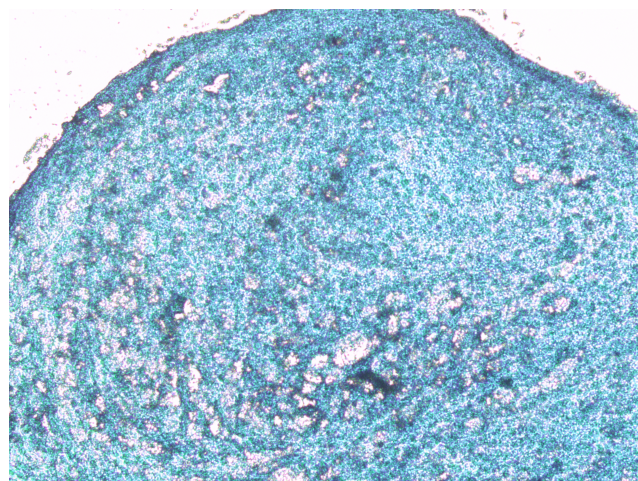
注意：包埋切片过程中一定要轻柔、小心，以免软骨球破碎或丢失

3、阿利新蓝染色：切片脱蜡后，在晾干的切片上滴加阿利新蓝染液，室温染色1h，流水冲洗载玻片5min，晾干，显微镜下观察、拍照。

【分化效果】



(50X)



(100X)