

产品货号	产品规格	储存条件	运输条件	有效期
SP04023-0100 SP04023-0200	100ml/200 mL	按标签所示温度保存，避光储存	冰袋冷藏运输	一年

人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化培养基

操作手册

产品说明：

人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化培养基是专为人类脂肪间充质干细胞（hASCs）研究设计的培养基，其主要目的是引导这些干细胞向软骨细胞分化。培养基中包含经过精心调配的成分，如特定的生长因子和激素，以模拟体内环境，为研究人员提供一个有效的工具，以深入研究人类脂肪间充质干细胞在形成软骨细胞过程中的分化机制。

人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化培养基的应用场景涵盖了多个领域，包括深入了解人类软骨组织的发育过程、研究相关疾病模型，以及进行药物筛选和治疗研究。科研人员可以利用这种培养基推动对人类脂肪间充质干细胞行为的深入研究，为软骨组织的发育、疾病治疗等方面的研究提供支持。选择适当的培养基对于实验成功和获得可靠研究结果至关重要，而该培养基为这一过程提供了可靠的基础。

产品成分：

人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化培养基：

成分名称	100mL	200mL
人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化培养基	87.6 mL	175.2 mL
FBS	10 mL	20 mL
添加物	2.4 mL	2.4 mLx2
阿尔新兰染色液	10 mL	20 mL
明胶包被液	10 mL	20 mL

注意：

- 1、在操作过程中，请确保培养细胞的无菌条件，以防止细胞的污染。
- 2、本产品含有血清和双抗，如无特别需要不用额外再添加血清和双抗，可以直接使用。
- 3、为保持本产品的最佳使用效果，不宜将其长时间放置于室温或较高的温度环境中。
- 4、遵循实验室安全操作规程，使用个人防护设备，并在必要时采取相应的生物安全级别。
- 5、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。

操作流程：

一、人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化培养基的准备

1. 前言：本品为试剂盒型，使用前需将试剂盒内各成分试剂混匀。
2. 准备工作：将血清于4℃解冻至完全融化；将添加物于室温解冻至完全融化，轻轻摇晃混匀。
3. 配置【血清-添加物】：将血清、添加物混合摇匀，分装为若干份冻存于-20℃，现用现取。
4. 完培配置：将1体积【血清-添加物】添加到7体积基础培养基中，混匀做标识，即可使用。

注：配制好的成软骨诱导诱导分化完全培养基必须在当天使用。

二、人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化操作指导

1. 当您的人脂肪间充质干细胞的融合度达到 80~90% 时，即可用0.25%胰酶进行消化。
2. 将消化下来的人脂肪间充质干细胞进行计数，根据计数结果，按 7.5×10^5 cells/mL 的量加入成软骨诱导完全培养基重悬细胞，然后 150g 离心5分钟；
3. 弃上清，按 5.0×10^5 cells/mL 的量加入成软骨诱导分化完全培养基（现配现用），重悬细胞。
4. 吸取 500u L细胞悬液（即 2.5×10^5 个细胞）转入15mL离心管中，150g 离心 5 分钟；
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 中孵育。

注：48小时内不要摇动离心管，保持离心管静置。

6. 48h后每2~3天换新鲜的软骨分化诱导液，每管0.5mL，换液后轻弹细胞团使其能脱壁漂浮。
 7. 拧松管盖，放入37℃，5% CO₂ 中继续诱导；诱导过程中，细胞团直径会有所增大，表面会变得光滑呈胶质。
- 注：为了使细胞更容易聚拢成球，可选择底部更圆的离心管。

8. 持续诱导 20~30 天后，可对软骨球进行中性甲醛固定和石蜡包埋切片，切片后根据实验需要可进行染色鉴定。（本试剂盒提供阿尔辛蓝染液Alcian Blue 8GX Solultion）

注：阿尔辛蓝染液 Alcian Blue 8GX Solution 又名阿利新蓝染液。

三、阿尔新兰染色分析

1. 固定：中性甲醛固定，石蜡包埋切片。
2. 染色步骤：
 - 1) 石蜡切片脱蜡至水，蒸馏水冲洗。（不要直接冲洗组织，以防脱片，破坏组织）；
 - 2) 阿尔辛蓝染色液浸染30分钟；
 - 3) 用自来水冲洗2分钟；
 - 4) 蒸馏水终止染色；
 - 5) 显微镜下观察染色程度，拍照。
3. 结果判读：软骨、酸性粘液物质呈蓝色。

注意事项

1. 因为培养基的成分较多，请在配制过程中严格注意无菌操作；若担心混匀过程中出现不良操作，请在混匀试剂后，对完全培养基进行0.22μm的滤膜过滤除菌。
2. 成软骨分化添加物中含细胞生长因子，切记现配现用，配好的完全培养基必须当天用完。