

人骨髓间充质干细胞成骨诱导分化培养基

产品名称	目录号	产品规格	储存条件	保质期
人骨髓间充质干细胞成骨诱导分化培养基	SP06011	1 Kit	基培 2-8°C 补料 -20°C	12 个月

1 产品说明:

人骨髓间充质干细胞 (hBMSCs) 是该培养基的主要适用细胞类型。这些干细胞来源于人骨髓组织, 具有多能干细胞的特性, 可以向多个细胞系分化, 包括成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞等。成骨诱导分化培养基的设计旨在促使这些干细胞朝向成骨细胞的方向分化, 为骨组织工程、骨生物学和相关领域的研究提供有力的支持。通过使用这种培养基, 研究人员可以模拟和促进骨髓间充质干细胞向骨细胞的分化过程, 为理解骨组织发育和再生提供一个有用的工具。

2 使用说明:

套装成分:

成分名称	添加体积
人骨髓间充质干细胞诱导分化基础培养基	175 mL
FBS	20 mL
谷氨酰胺	2 mL
青链霉素	2 mL
β -甘油磷酸钠	2 mL
抗坏血酸	400 μ L
地塞米松 B	200 μ L

操作流程:

一、人骨髓间充质干细胞成骨诱导分化培养基的准备

- 本品为试剂盒型, 使用前需将试剂盒内各成分试剂混匀。
- 准备工作: 将血清于4°C解冻至完全融化; 将各添加物于室温解冻至完全融化, 轻轻摇晃使试剂混匀; 为了保证微量试剂的使用效果, 地塞米松B须短暂离心, 使试剂能全部收集至管底。
- 培养基配制: 将完全溶解的FBS、谷氨酰胺、青链霉素、 β -甘油磷酸钠、抗坏血酸及地塞米松B按体积大小先后加入到诱导分化基础培养基中; 混匀并做好标识, 待用。(注: β -甘油磷酸钠溶解性较差, 必须确保完全溶解后再加入诱导培养基中)。

注：步骤3中无菌吸取试剂管中的试剂成分，将枪头伸至培养基液面下方快速注入，轻微吹打洗涤枪头。再吸取少量培养基洗涤试剂管，尽可能将所有组分完整地加到基础培养基中，可以更好的保证培养基的效果。

二、人骨髓间充质干细胞成骨诱导分化操作指导

注意事项：

- 1.试剂准备：此过程需要准备小鼠骨髓间充质干细胞完全培养基、0.25% 胰酶、1×PBS、0.1% 明胶以及小鼠骨髓间充质干细胞成骨诱导分化培养基。
- 2.明胶包被：若培养过程中容易发生干细胞漂浮或干细胞回缩等现象，可在接种干细胞进行诱导之前对培养板进行 0.1% 明胶（本试剂盒不提供明胶）的包被处理。明胶包被有助于减少细胞诱导过程中的细胞回缩、飘起、卷边、贴壁不牢等现象。操作步骤为：加适量明胶包被液，覆盖六孔板底部即可，于超净台或细胞培养箱孵育 30min，吸除明胶包被液，在生物安全柜中自然风干 30min，即可用于实验接种。
- 3.温度：细胞培养基温度变化是引发细胞诱导过程中的飘起、卷边的主要影响因素。因此诱导培养基在换液前一定要预热至 37°C，在外观察细胞时间不可过长（建议 10 分钟以内）。
- 4.换液：同时操作孔数不可过多，换液时建议沿孔板侧壁轻柔缓慢得注入，不可将液体打到细胞表面。（地塞米松B 用无水乙醇配制，易挥发，注意拧紧盖子。）

本成骨诱导操作指导以六孔板为例：

- 1.细胞计数：当待测小鼠骨髓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，并计数。
- 2.细胞接种：根据计数结果，按 2×10^4 cells/cm² 的细胞密度接种于6孔板，每孔加入 2mL 的小鼠骨髓间充质干细胞完全培养基，置于 37 °C，5% CO₂ 的培养箱中进行培养。
- 3.待细胞融合度达到 70%~80% 时，小心弃去孔内完全培养基后，每孔加入 2mL 配制好的小鼠骨髓间充质干细胞成骨诱导分化培养基。
- 4.每隔3天左右进行换液，换液前，需将小鼠骨髓间充质干细胞成骨诱导分化培养基预热至室温以上。（注意：成骨诱导过程中，换液时注意不要把液体打到细胞表面，防止细胞层脱落。）
- 5.诱导 2~4 周后，观察细胞的形态变化及生长情况，用茜素红进行染色。

茜素红染色液的使用

- 1.试剂准备：此过程需准备茜素红S染色液、4% 中性甲醛溶液、1×PBS 溶液。
当成骨诱导实验结束后，可进行茜素红染色确定诱导效果。吸走孔板里的成骨诱导分化完全培养基，用 1×PBS 润洗 1~2 次。
- 2.于 6 孔板中每孔加入 1mL 4% 中性甲醛溶液，固定细胞 30 分钟。
- 3.弃去 4% 中性甲醛溶液，加入1×PBS 润洗 1~2 次。
- 4.每孔加入 1mL 茜素红染色液，室温染色 20~30分钟（染色时间可以根据实际情况适当延长或缩减）。
- 5.弃去茜素红染色液，用 1×PBS润洗 2~3 次，把背景杂质洗净，即可在显微镜下观察诱导和染色效果。

3 注意和声明：

- 1、在操作过程中，请确保无菌条件；
- 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、仅用于研究和进一步生产，不得直接用于人或动物；
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

