

人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化培养基

产品说明书

一、产品描述

人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化培养基是专为人脂肪间充质干细胞（hAD-MSCs）体外成软骨诱导研究设计的培养体系，可用于引导 hAD-MSCs 向软骨细胞方向分化。

本产品通过成软骨诱导基础培养基、专用血清及成软骨分化补料等组分协同作用，为软骨分化过程提供适宜的营养和诱导环境。产品适用于软骨组织发育、软骨相关疾病模型、药物筛选及组织工程等研究场景。

二、产品信息

产品名称	目录号	产品规格	储存条件	保质期
人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化培养基	SP06023	1 Kit	基培 2~8℃ 补料 -20℃	12 个月

套装成分：

成分名称	100 mL 体系	200 mL 体系	储存条件
人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化基础培养基	87.6 mL	175.2 mL	2~8℃ 避光保存
成软骨诱导分化专用 FBS	10 mL	20 mL	-20℃ 避光保存
人脂肪间充质干细胞成软骨分化补料	2.4 mL	2.4 mL×2	-20℃ 避光保存
阿尔新蓝染色液	10 mL	10 mL	2~8℃ 避光保存
明胶包被液	10 mL	10 mL	2~8℃ 避光保存

三、使用说明

（一）人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化培养基的准备

本品为试剂盒型产品，使用前需将试剂盒内相关组分按比例混匀，包括成软骨诱导分化基础培养基、成软骨诱导分化专用 FBS 和成软骨分化补料。

1. 准备工作：将血清于 4℃ 解冻至完全融化；将各添加物于室温解冻至完全融化后，轻轻摇晃混匀。
2. 配制好的完全培养基应置于 4℃ 避光保存，并建议在 1 个月内使用完毕。



3. 若短期内无法用完全培养基，建议分批配制。可先将试剂按套装内各组分比例分装，建议分装不超过 4 份；取其中一份按比例配制完全培养基，剩余组分严格按各自储存条件保存，避免多次冻融。
4. 血清离心：血清中可能存在白色絮状沉淀物，通常由胆固醇、脂肪酸酯及部分蛋白析出导致，属常见现象，一般不影响细胞培养和诱导分化。如需去除絮状沉淀物，可将血清分装至无菌离心管内，以 $400 \sim 600 \times g$ 离心 5 min 后取上清使用。不建议采用过滤方式去除沉淀，以免堵塞滤膜或造成部分营养成分损失。
5. 完全培养基配置：将血清和成软骨分化补料全部加入成软骨诱导分化基础培养基中，轻轻混匀后即可使用。

（二）人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化操作指导

以下操作以六孔板和离心管微团培养为例，具体接种密度、诱导时间和换液频率可根据细胞状态、供体来源及实验目的进行适当优化。

注意事项：

1. 试剂准备：实验需准备人脂肪间充质干细胞完全培养基、0.25% 胰酶（含 EDTA）、 $1 \times$ PBS、明胶包被液以及人脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化培养基。
2. 明胶包被：若培养过程中容易发生干细胞漂浮、回缩、卷边或贴壁不牢等现象，可在接种细胞前进行明胶包被。操作时加入适量明胶包被液覆盖孔底，于超净台或细胞培养箱孵育 30 min，吸除明胶包被液后在生物安全柜中自然风干 30 min，即可用于细胞接种。
3. 温度：培养基温度变化是诱导过程中细胞飘起或卷边的重要因素。换液前应将诱导培养基预热至 37°C ；在培养箱外观察细胞时间不宜过长，建议控制在 10 min 以内。
4. 换液：同时操作样本数量不宜过多，换液时应轻柔操作，避免直接吹打细胞团或造成细胞团破碎。

操作步骤：

1. 当人脂肪间充质干细胞融合度达到 $80\% \sim 90\%$ 时，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 的细胞密度加入成软骨诱导完全培养基重悬细胞，然后以 $150 \times g$ 离心 5 min。
3. 弃上清，按 5.0×10^5 cells/mL 的细胞密度加入现配现用的成软骨诱导分化完全培养基，重悬细胞。
4. 吸取 500 μL 细胞悬液（约 2.5×10^5 个细胞）转入 15 mL 离心管中，以 $150 \times g$ 离心 5 min。
5. 离心后不可摇动或吹打细胞团，小心将离心管盖拧松，以利于气体交换，置于 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 培养箱中孵育。48 h 内不要摇动离心管，应保持离心管静置。
6. 48 h 后每 2 ~ 3 天更换新鲜成软骨诱导分化培养基，每管 0.5 mL；换液后可轻弹细胞团，使其脱壁并保持漂浮状态。
7. 拧松管盖后继续置于 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 培养箱中诱导。诱导过程中细胞团直径可逐渐增大，表面可逐渐变得光滑并呈胶质状。为使细胞更易聚拢成球，可选择底部较圆的离心管。
8. 持续诱导 20 ~ 30 天后，可对软骨球进行中性甲醛固定、石蜡包埋和切片，并根据实验需要进行染色鉴定。



（三）阿尔新蓝染色分析

1. 固定：软骨球经中性甲醛固定后，进行石蜡包埋和切片。
2. 染色：石蜡切片脱蜡至水后，用蒸馏水冲洗。冲洗时避免直接冲击组织，以防脱片或破坏组织结构。
3. 将切片置于阿尔新蓝染色液中浸染 30 min。
4. 用自来水冲洗 2 min 后，以蒸馏水终止染色。
5. 在显微镜下观察染色程度并拍照记录。
6. 结果判读：软骨及酸性黏液物质通常呈蓝色。

四、注意和声明

1. 操作过程中请确保无菌条件。
2. 成软骨分化添加物中含细胞生长因子，建议现配现用；配制好的完全培养基应尽快使用。
3. 为保持产品最佳使用效果，不宜将其长时间放置于室温或较高温度环境中。
4. 本产品仅用于研究和进一步生产，不得直接用于人或动物。
5. 为了安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

五、免责声明与客户服务

本产品应按照产品说明书所载明的适用范围、操作方法及储存条件使用。由于不同实验体系、样本来源及操作条件可能存在差异，用户在使用前应结合自身实验目的对产品适用性进行评估与验证。对于未按说明书要求使用、超出产品适用范围使用，或因操作条件变更而导致的实验结果差异或相关影响，本公司不承担相应责任。如需技术支持或更多产品信息，请联系 SPERIKON。

