

人脂肪间充质干细胞成骨诱导分化培养基

产品说明书

一、产品描述

人脂肪间充质干细胞（hAD-MSCs）是本培养基的主要适用细胞类型。该类细胞来源于人脂肪组织，具有多向分化潜能，可向成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞等方向分化。

人脂肪间充质干细胞成骨诱导分化培养基用于促进 hAD-MSCs 向成骨细胞方向分化，可为骨组织工程、骨生物学及相关研究提供实验支持。通过使用本培养基，研究人员可在体外模拟和促进 hAD-MSCs 的成骨分化过程，用于观察细胞形态变化、矿化结节形成及茜素红染色等诱导效果评价。

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 成骨诱导分化培养基	SP06021	1 Kit	基培 2~8℃ 补料 -20℃	12 个月
人脂肪间充质干细胞 成骨诱导分化基础培 养基		177 mL	2~8℃ 避光保存	12 个月
成骨诱导分化专用 FBS		20 mL	-20℃ 避光保存	12 个月
人脂肪间充质干细胞 成骨分化补料		3 mL	-20℃ 避光保存	12 个月
茜素红 S 染色液		10 mL	2~8℃ 避光保存	12 个月
明胶包被液		10 mL	2~8℃ 避光保存	12 个月

三、使用说明

（一）人脂肪间充质干细胞成骨诱导分化培养基的准备

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

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部培养基，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 ~ 600×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：将血清和成骨分化补料全部加入成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骨诱导分化操作指导

以下操作以六孔板为例，具体接种密度、诱导时间和换液频率可根据细胞状态、供体来源和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×PBS、明胶包被液以及人脂肪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、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影响因素。换液前应将诱导培养基预热至 37℃；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：同时操作孔数不宜过多，换液时建议沿孔板侧壁轻柔、缓慢加入培养基，避免液体直接冲击细胞表面。

操作步骤：

1. 细胞计数：当待测 hAD-MSCs 融合度达到 80% ~ 90% 时，可用 0.25% 胰酶（含 EDTA）进行消化，并完成细胞计数。
2. 细胞接种：根据计数结果，按 2×10^4 cells/cm² 的细胞密度接种于六孔板，每孔加入 2 mL 人脂肪间充质干细胞完全培养基，置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。
3. 待细胞融合度达到 80% ~ 90% 时，小心弃去孔内完全培养基，每孔加入 2 mL 配制好的人脂肪间充质干细胞成骨诱导分化培养基。
4. 每隔约 3 天换液一次。换液前需将成骨诱导分化培养基预热至室温以上，推荐预热至 37℃。换液时注意不要将液体直接打到细胞表面，防止细胞层脱落。
5. 诱导 2 ~ 4 周后，观察细胞形态变化及生长情况，并可使用茜素红 S 染色液进行染色评价。

（三）茜素红 S 染色液的使用

1. 试剂准备：需准备茜素红 S 染色液、4% 中性甲醛溶液（用户自备）和 1×PBS 溶液。
2. 成骨诱导实验结束后，吸走孔板内的成骨诱导分化完全培养基，用 1×PBS 润洗 1 ~ 2 次。



3. 于六孔板中每孔加入 1 mL 4% 中性甲醛溶液，固定细胞 30 min。
4. 弃去 4% 中性甲醛溶液，加入 1×PBS 润洗 1~2 次。
5. 每孔加入 1 mL 茜素红 S 染色液，室温染色 20~30 min；染色时间可根据实际情况适当延长或缩短。
6. 弃去茜素红 S 染色液，用 1×PBS 润洗 2~3 次，洗净背景杂质后，即可在显微镜下观察诱导和染色效果。

注意：成骨诱导实验过程中，较难仅通过镜下观察或白光照片判断诱导是否完成，而孔板一经染色通常无法继续诱导。因此，建议实验开始时在另外孔板上设置 1~3 份平行实验，或仅将“正常诱导组”额外设置 1~3 份，用于诱导后期通过茜素红 S 染色判断正式实验的诱导进度。

四、注意和声明

1. 操作过程中请确保无菌条件。
2. 本产品补料融化后如有轻微白色沉淀，主要为 L-谷氨酰胺相关成分，不影响正常使用；使用前请轻轻混匀。
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。

