

# 大鼠骨髓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

本产品适用于大鼠骨髓间充质干细胞（rBMSCs）的成骨诱导分化培养。大鼠骨髓间充质干细胞具有多向分化潜能，在适宜的诱导条件下可向成骨、成脂、成软骨等方向分化。本培养基通过提供成骨诱导所需的营养成分和功能性添加物，促进 rBMSCs 向成骨细胞方向分化，适用于骨组织工程、骨代谢、骨再生及间充质干细胞分化机制等相关体外研究。

### 二、产品信息

| 目录号          | 产品名称                | 规格    | 储存条件                                        | 保质期   |
|--------------|---------------------|-------|---------------------------------------------|-------|
| SP06211-0200 | 大鼠骨髓间充质干细胞成骨诱导分化培养基 | 1 Kit | 基础培养基、染色液及包被液：2~8℃避光保存；<br>FBS 及补料：-20℃避光保存 | 12 个月 |

### 三、试剂指南

#### （一）套装成分

| 成分名称                  | 添加体积   | 储存条件     |
|-----------------------|--------|----------|
| 大鼠骨髓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 |
| 成骨诱导分化专用 FBS          | 20 mL  | -20℃避光保存 |
| 大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化补料      | 3 mL   | -20℃避光保存 |
| 茜素红 S 染色液             | 10 mL  | 2~8℃避光保存 |
| 明胶包被液                 | 10 mL  | 2~8℃避光保存 |

#### （二）保存与使用要求

1. 本品为试剂盒型，使用前需将试剂盒内相关成分按比例混匀，配制为成骨诱导分化完全培养基。
2. 配制好的完全培养基需 4℃避光保存，建议 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。分装时应按套装内各组分比例进行，建议分装不超过 4 份；剩余组分按各自储存条件保存，避免反复冻融。
4. 为保持产品最佳使用效果，不宜将本品长时间放置于室温或较高温度环境中。



## 四、操作流程

### （一）大鼠骨髓间充质干细胞成骨诱导分化培养基的准备

1. 将成骨诱导分化专用 FBS 于 4℃ 解冻至完全融化；将成骨分化补料于室温解冻至完全融化，并轻轻摇晃混匀。
2. 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质析出导致，属于正常现象，不影响细胞培养和诱导分化。若需去除絮状沉淀，可将血清分装至无菌离心管内，以 400 ~ 600 g 离心 5 min，取上清液使用。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流失。
3. 将成骨诱导分化专用 FBS、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）大鼠骨髓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。实验前需准备大鼠骨髓间充质干细胞完全培养基、0.25% 胰酶（含 EDTA）、1×PBS、明胶包被液以及配制好的大鼠骨髓间充质干细胞成骨诱导分化培养基。

1. 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处理。加入适量明胶包被液覆盖六孔板底部，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，即可用于实验接种。
2. 温度控制：培养基温度变化是诱导过程中细胞飘起、卷边的重要因素。换液前应将诱导培养基预热至 37℃；镜下观察时间不宜过长，建议控制在 10 min 以内。
3. 换液操作：同时操作孔数不宜过多，换液时建议沿孔板侧壁轻柔、缓慢加入液体，避免直接冲击细胞表面。
4. 细胞计数：当待测大鼠骨髓间充质干细胞融合度达到 80% ~ 90% 时，用 0.25% 胰酶（含 EDTA）消化并计数。
5. 细胞接种：根据计数结果，按  $2 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> 的细胞密度接种于 6 孔板，每孔加入 2 mL 大鼠骨髓间充质干细胞完全培养基，置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。
6. 当细胞融合度达到 80% ~ 90% 时，小心弃去孔内完全培养基，每孔加入 2 mL 配制好的大鼠骨髓间充质干细胞成骨诱导分化培养基。
7. 每隔约 3 天换液一次。换液前应预热诱导分化培养基；成骨诱导过程中换液应避免将液体直接打到细胞表面，以防细胞层脱落。
8. 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. 染色前需准备茜素红 S 染色液、4% 中性甲醛溶液（自行准备）和 1×PBS 溶液。
2. 成骨诱导实验结束后，吸弃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 6 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。



## 五、附加说明

1. 成骨诱导实验过程中，通常较难仅通过镜下观察或白光照片判断诱导是否完成；而孔板一经染色后通常无法继续诱导。建议实验开始时，在另外的孔板上设置 1~3 份平行实验，或仅将“正常诱导组”在另外孔板上多做 1~3 份，以便诱导后期通过茜素红染色判断正式实验的诱导进度。
2. 操作过程中请确保无菌条件。
3. 本产品补料融化后如出现轻微白色沉淀，来源于配方组分，不影响正常使用；使用前轻轻混匀即可。
4. 本产品仅供科研或进一步生产使用，不得直接用于人体或动物。
5. 为保证实验安全，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

## 六、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。

