

狗间充质干细胞成骨诱导分化与染色试剂盒

产品编号：PWL156 规格：200mL/Kit

产品内容

序号	产品组成	PWL156
A	狗间充质干细胞成骨诱导分化基础培养基	175mL
B	狗间充质干细胞成骨诱导分化培养基专用血清	20mL
C	双抗	2mL
D	抗坏血酸	400uL
E	β -甘油磷酸钠	2mL
F	地塞米松	20uL
G	茜素红染液	10mL
H	0.1%明胶	15mL
	说明书	1 份

产品简介

间充质干细胞（mesenchymal stem cell, MSC）是中胚层来源的多能干细胞，具有高度自我更新能力和多项分化潜能，体外在一定的条件下可以被诱导分化成脂肪细胞、成骨细胞、成软骨细胞。2006年国际细胞治疗协会（ISCT）将此三项检测指标确定为MSC鉴定的必检项目，以MSC为基础的研究报道均会对此三项指标进行鉴定。

MSC能够分化为成骨细胞，沉积并矿化胞外基质蛋白，这是新生骨骼所必需的。分化成骨后会矿化形成钙结节且有钙分泌，可以利用茜素红S (Alizarin Red S) 染色检视分化的成骨细胞。不同的细胞来源（类型、年龄、代数）所得到的分化效果会有差异。MeilunCell®狗间充质干细胞成骨诱导分化与染色试剂盒包括成骨诱导培养体系所有成分以及鉴定所用的茜素红染色液，提供了一种稳定有效的将狗间充质干细胞诱导分化成骨的方法。

本产品可用于狗骨髓、脂肪等组织来源的间充质干细胞的成骨诱导分化与染色，兼容诱导分化过程中的其他检测，如mRNA检测、蛋白表达检测、免疫组化检测等。

产品特点

- 诱导分化程序简单便捷。
- 诱导成骨细胞效率高。
- 提供包被液、诱导培养基及添加物、染色液等全套试剂。

使用方法

（一）狗间充质干细胞成骨诱导分化完全培养基配制

1. 2-8℃解冻组分B~E，室温解冻组分F，至完全溶解，轻晃摇匀；
2. 用75%乙醇擦拭消毒试剂盒中各瓶/管表面。
3. 将组分B~F全部加入成骨诱导分化基础培养基A中，制备成骨诱导分化完全培养基。可以吸取少量基础培养基A润洗各管1-2次，尽量将所有组分全部加入到基础培养基中。
4. 轻轻颠倒摇晃配制好的成骨诱导分化完全培养基，使其混合均匀。

（二）明胶包被培养器皿表面

为了避免诱导过程中细胞漂浮，建议对成骨诱导使用的培养器皿表面进行明胶包被。

1. 取能覆盖整个培养皿/板底面量的0.1%明胶入到培养皿/板中，如6孔板中加2mL/孔。
2. 摇匀液体使其覆盖整个培养皿/板的底面。
3. 将铺有0.1%明胶的培养皿/板室温放置（生物安全柜或超净工作台中）至少30min以上。
4. 吸弃明胶，待培养皿/板晾干后，1×PBS洗2次，即可用于接种细胞。

注意：包被明胶的培养皿/板在无菌和明胶不蒸干的条件下，可以在4℃保存两周。

（三）成骨诱导分化操作规程（以6孔板为例）

1. 当MSC融合度达到80-90%时，消化细胞并计数；
2. 将细胞按照 1×10^5 cells/mL的密度接种在包被0.1%明胶的六孔板中，每孔加入2 mL正常培养用完全培养基。
3. 将细胞置于37℃，5% CO₂的培养箱中进行培养。
4. 当细胞融合度达到60%-70%时，吸弃上清，PBS洗2次，每孔加入2 mL恢复至室温的狗间充质干细胞成骨诱导分化完全培养基；
5. 每3天全换液狗间充质干细胞成骨诱导分化完全培养基（使用前需预热至37℃）；
6. 诱导2-4周后，视细胞的形态变化及生长情况，用茜素红染液进行染色。

注意：为防止成骨细胞脱落，建议成骨过程中出现大量钙结节之后，换液形式变为每两天一次半量换液。

（四）茜素红染色（以6孔板为例）

1. 诱导成骨分化结束后，吸弃上清，PBS清洗1-2遍，每孔加入2 mL 4%多聚甲醛溶液，固定30 min；
2. 将4%多聚甲醛吸净，PBS清洗2遍。每孔中加入1 mL茜素红染液，染色5-10min；
3. 吸净茜素红染液，PBS清洗2-3遍。
4. 每孔加入1mL PBS，倒置显微镜下观察成骨染色效果。
5. 显微镜下可观察到成骨分化细胞形成大量染成红色的钙结节，呈现典型的成骨分化（图1）。

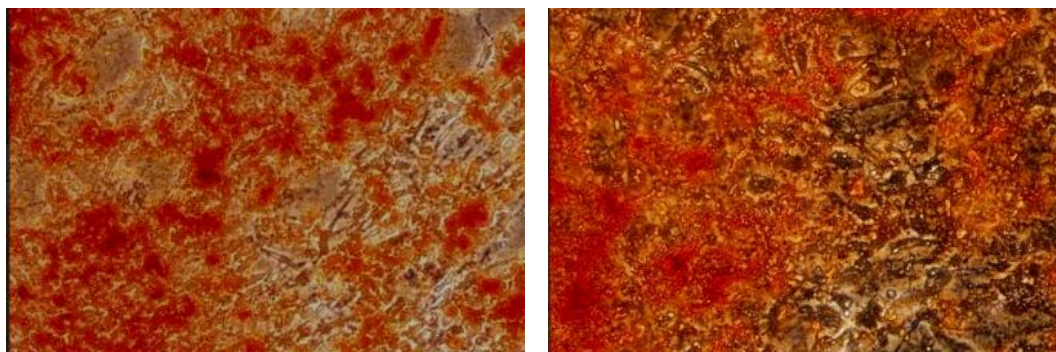


图1 狗间充质干细胞在诱导成骨后茜素红染色效果

保存条件

所有产品均需避光保存，请避免反复冻融相关产品，保存条件及有效期如下：

试剂名称	保存条件	有效期
狗间充质干细胞成骨诱导分化基础培养基	2-8℃	1年
狗间充质干细胞成骨诱导分化培养基专用血清	-20℃	2年
双抗	-20℃	1年
抗坏血酸	-20℃	1年
β-甘油磷酸钠	-20℃	1年
地塞米松	-20℃	1年
茜素红染液	2-8℃	6个月
0.1%明胶	2-8℃	1年
狗间充质干细胞成骨诱导分化完全培养基	2-8℃	1个月

质量控制

本产品已经过无菌检测、pH测试、渗透压检测、内毒素检测。

注意事项

1. 本产品所有组分均为无菌包装，在使用过程中请注意无菌操作，避免微生物污染。
2. 成骨分化容易使细胞卷起，应使用试剂盒中0.1%明胶包被培养皿/板。
3. 解冻后的血清出现少量絮状沉淀为正常现象，这些物质对产品质量无影响。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。