

产品名称：人牙髓间充质干细胞成软骨诱导分化培养套装
产品货号：RC0027



人牙髓间充质干细胞成软骨诱导分化培养套装

产品简介

本产品是 EnkiLife 专为人牙髓间充质干细胞研制优化的成软骨诱导分化培养基试剂盒，用于增强人牙髓间充质干细胞向成软骨细胞方向诱导分化的能力。在库产品均通过生物安全检测 and 产品质量检测，体系稳定有效，现货发送，性价比高。EnkiLife 专业的研发团队可提供最有效的技术指导，保证售后品质。

基本信息

成软骨诱导分化培养基-预混液

试剂盒组分	100 mL/kit	200 mL/kit	保存条件	有效期
Human Dental Pulp Stem Cells Chondrogenic Differentiation Basal Medium	97ml	194 mL	2~8℃	12 个月
ITS Supplement ITS 添加物	1ml	2 mL	2~8℃	12 个月
Ascorbate Acid 抗坏血酸	300 μL	600 μL	-20℃	12 个月
Sodium Pyruvate 丙酮酸钠	100 μL	200 μL	-20℃	12 个月
Proline 脯氨酸	100 μL	200 μL	-20℃	12 个月
Dexamethasone 地塞米松	10 μL	20 μL	-20℃	12 个月

成软骨诱导分化培养基——诱导液

试剂盒组分	100 mL/kit	200 mL/kit	保存条件	有效期
TGF-β3	1mL	2 mL	-20℃	12 个月

注：每 1 mL 预混液添加 10 μL TGF-β3，混匀即为诱导液，现配现用，12~24h 内使用完毕。TGF-β3 建议分装使用。

其他组分

试剂盒组分	100 mL/kit	200 mL/kit	保存条件	有效期
Alcian Blue Solution 阿利辛蓝染色液	5mL	10mL	2~8℃	12 个月
0.1.% Gelatin 明胶	7.5mL	15mL	2~8℃	12 个月

质检标准

pH：7.2~7.4
内毒素含量：< 10 EU/mL
生物安全：细菌、真菌、支原体检测阴性
质量检测：诱导测试合格

检验原理

阿利辛蓝广泛用于酸性多糖的染色，如软骨或组织中的糖胺聚糖和细胞分泌的外被多糖的染色等。干细胞在诱导培养基的作用下，会逐渐向软骨细胞方向分化。软骨细胞外具有一层富含蛋白多糖的基质，是成软骨分化的标志物，可被阿利辛蓝染成蓝绿色。

使用说明

成软骨诱导分化操作（平面诱导）

1. 细胞分化诱导

将对数生长期的细胞消化下来计数，成软骨诱导分化培养基诱导液重悬细胞，离心后调整细胞密度密度 $1.0 \sim 2.0 \times 10^7 \text{ cells/mL}$ 。

吸取 $20 \mu\text{L}$ 细胞悬液（约 $2.0 \sim 4.0 \times 10^5$ 个细胞）悬滴至 24 孔板中央。置于 37°C ，5% CO_2 培养环境下培养 2~3 h 使细胞贴壁。

2~3 h 后补充 1 mL 成软骨诱导分化培养基诱导液正常培养。每隔 2~3 天换液一次。按照以上换液频率诱导 21~28 天，并注意观察细胞形态变化。

2. 染色鉴定

2.1 细胞固定

吸去培养基使用适量 $1 \times \text{PBS}$ 清洗一次，弃去后取适量 4% 中性甲醛溶液覆盖培养器皿底面，室温固定 30~60 min 后，弃去固定液再使用 $1 \times \text{PBS}$ 清洗两次。

2.2 阿利辛蓝染色

向清洗干净的诱导孔内加入适量染色液，避光静置染色 30 min。

吸去阿利辛蓝染色液，用 $1 \times \text{PBS}$ 清洗两次，并加入适量 $1 \times \text{PBS}$ 避免细胞干燥。

2.3 诱导评估

显微镜下观察成软骨染色效果，并进行图像采集和诱导评估。诱导成功时，软骨组织中的内酸性粘多糖可被阿利辛蓝染成蓝绿色。

成软骨诱导分化操作（三维培养）

1. 干细胞的准备

将对数生长期的细胞消化下来计数，取 3×10^5 个细胞转移到 15 mL 离心管中， 250 g 离心 4 min。

弃上清，加入 0.5 mL 成软骨诱导分化培养基预混液，重悬细胞， 150 g 离心 5 min。小心弃去上清，加入 0.5 mL 成软骨诱导分化培养基诱导液，重悬细胞， 150 g 离心 5 min。

将 15 mL 离心管的管盖稍稍旋开，放置于 37°C ，5% CO_2 培养环境下培养。

2. 细胞分化诱导

24 h 后观察细胞沉淀形变团聚的情况，如有明显的变化，则小心轻柔地拨动管底，尝试让细胞团脱离管底，全部浸润在诱导液中。

置于 37°C ，5% CO_2 培养环境下培养约 21 天，通常每 2 天更换一次新鲜配制的成软骨诱导分化培养基诱导液。注意观察细胞团成球情况及表面光滑度，决定终止细胞诱导的时间，并进行染色鉴定。

3. 染色鉴定

3.1 软骨球固定

将软骨球从离心管中转移至 EP 管，并使用 $1 \times \text{PBS}$ 清洗两次，最后置于适量的 4% 中性甲醛溶液中。

3.2 石蜡包埋切片

软骨球经石蜡包埋后切片。

3.3 阿利辛蓝染色

将石蜡切片脱蜡和脱水，使用阿利辛蓝染色液染色 30 min，用自来水冲洗 2 min，蒸馏水冲洗 1 次。

3.4 诱导评估

显微镜下观察成软骨染色效果，并进行图像采集和诱导评估。诱导成功时，软骨组织中的内酸性粘多糖可被阿利辛蓝染成蓝绿色。

NOTE: 干细胞的成软骨分化水平因细胞类型、细胞供体来源，培养条件、细胞代次、细胞状态和分化时间等因素而异。

注意事项

1. 本产品组分均为无菌分装，可直接配制成完全培养基使用；染色液为独立包装组分，请勿与培养基混用
2. 配制诱导液前，请瞬时离心各管小剂量试剂以免损失，配制后请在有效期内使用完毕。
3. 预混液储存条件：2~8℃，避光；配制后有效期为 3 个月。诱导液现配现用。
4. 本产品仅用于科研实验，不可用于临床治疗。