

产品名称: 成人骨髓间充质干细胞成软骨诱导分化培养套装 (即用型)
产品货号: RC0108



成人骨髓间充质干细胞成软骨诱导分化培养套装 (即用型)

产品简介

本产品是 EnkiLife 专为成人骨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，用于增强成人骨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	规格	保存条件	有效期
H BMSCs Chondrogenic Differentiation Premixed Medium (Contains Inducible Factors)	99 mL	2~8℃，避光	3 个月

成软骨诱导分化培养基——诱导液

试剂盒组分	规格	保存条件	有效期
TGF-β3	1 mL	-20℃	12 个月

NOTE: 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	规格	保存条件	有效期
Alcian Blue Solution 阿利辛蓝染色液	5mL	2~8℃，避光	12 个月
0.1.% Gelatin 明胶	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 μL 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

产品名称：成人骨髓间充质干细胞成软骨诱导分化培养套装（即用型）

产品货号：RC0108



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. 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。