

产品名称：人脐带间充质干细胞成软骨诱导分化培养套装  
产品货号：RC0139



## 人脐带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 专为人脐带间充质干细胞研制优化的成软骨诱导分化培养基试剂盒，用于增强人脐带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   |
|----------------------------------------------------|-------------|-------------|------|-------|
| H UCMSCs 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 $\mu$ L | 600 $\mu$ L | -20℃ | 12 个月 |
| Sodium Pyruvate 丙酮酸钠                               | 100 $\mu$ L | 200 $\mu$ L | -20℃ | 12 个月 |
| Proline 脯氨酸                                        | 100 $\mu$ L | 200 $\mu$ L | -20℃ | 12 个月 |
| Dexamethasone 地塞米松                                 | 10 $\mu$ L  | 20 $\mu$ L  | -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- $\beta$ 3 | 1mL        | 2 mL       | -20℃ | 12 个月 |

注：每 1 mL 预混液添加 10  $\mu$ L TGF- $\beta$ 3，混匀即为诱导液，现配现用，12~24h 内使用完毕。TGF- $\beta$ 3 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  $37^\circ\text{C}$ ，5%  $\text{CO}_2$  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  $3 \times 10^5$  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  $37^\circ\text{C}$ ，5%  $\text{CO}_2$  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  $37^\circ\text{C}$ ，5%  $\text{CO}_2$  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。