

兔间充质干细胞 成骨诱导分化培养基操作手册

 产品规格：200mL

产品货号：BGM-3022

产品描述

BG sciences 兔间充质干细胞成骨诱导分化培养基专为兔间充质干细胞（Rabbit Mesenchymal Stem Cells, MSCs）成骨诱导分化而研发，针对兔来源间充质干细胞的特性优化分化试剂的配方，可增加兔间充质干细胞的成骨分化效果。

本产品含血清成分，仅用于科研用途，不可用于诊断、治疗、临床及其他用途。

试剂盒组成成分

兔间充质干细胞成骨诱导分化培养基：

成分名称	体积
兔间充质干细胞成骨诱导分化基础培养基	175 mL
兔间充质干细胞成骨诱导分化专用胎牛血清 FBS	20 mL
谷氨酰胺 Glutamine	2 mL
青链霉素 Pennicillin-Streptomycin	2 mL
β-甘油磷酸钠 β-Glycerophosphate	2 mL
抗坏血酸 Ascorbate Acid	400 μL
地塞米松 Dexamethasone	20 μL

注：各成分请根据试剂管上标签标示温度保存。

操作流程

一、兔间充质干细胞成骨诱导分化培养基的准备

1. 本产品为试剂盒型，使用前需将试剂盒内各成分试剂混匀。
2. 使用前，请将血清置于 4℃解冻，直至血清完全溶解；待血清完全溶解后，将所有添加物置于室温溶解。待试剂完全溶解后，轻轻摇晃使试剂混合均匀（低于 500μL 体积的试剂无需此操作）。

注：为了保证微量试剂的使用效果，请将低于 200μL 的试剂管进行**短暂离心**，使试剂能全部收集至管底。

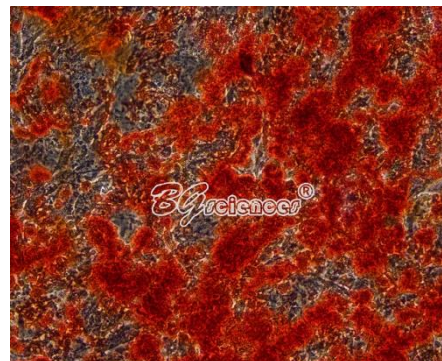
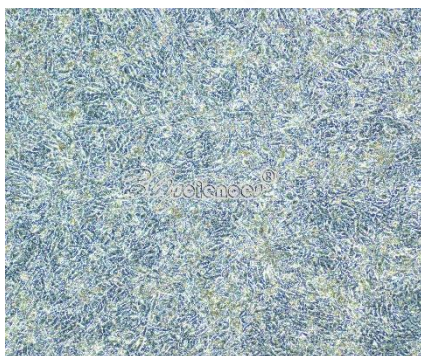
- 按上述成分表，将充分溶解混匀的 FBS、青链霉素、谷氨酰胺、 β -甘油磷酸钠、抗坏血酸和地塞米松等试剂按体积大小先后加入到诱导基础培养基中；混合均匀后做好标识，培养基即可使用。（ **β -甘油磷酸钠溶解性较差，必须确保完全溶解后再加入诱导培养基中**）

注：无菌吸取试剂管中的试剂成分，将枪头伸至培养基液面下方注入，轻微吹打洗涤枪头。再吸取少量培养基洗涤试剂管，尽可能将所有组分完整地加到基础培养基中，保证培养基的效果。

二、兔间充质干细胞成骨诱导分化操作指导

此过程需要准备兔间充质干细胞完全培养基（BGM-3011）、0.25%胰酶（含0.04%EDTA）、1×PBS以及兔间充质干细胞成骨诱导分化培养基（BGM-3022），本操作推荐使用六孔细胞培养板：

- 当您的兔间充质干细胞的融合度达到 90%左右时，即可用 0.25%胰酶进行消化。
- 将消化下来的兔间充质干细胞进行计数，根据计数结果，按 2×10^4 cells/cm² 的细胞密度（**根据细胞生长速度，使得在 6 孔板接种后第二天的细胞汇合度达到 70%-80%即可**）接种在六孔板中，每孔加入 2 mL 的兔间充质干细胞完全培养基。
- 将均匀接种好的兔间充质干细胞置于 37°C，5% CO₂ 的培养箱中进行培养。
- 当细胞融合度达到 70%-80%时，小心的将孔内完全培养基吸走，向六孔板中加入 2 mL BG sciences 兔间充质干细胞成骨诱导分化培养基。
- 每隔 3 天换用新鲜的 BG sciences 兔间充质干细胞成骨诱导分化培养基（使用前需预热至室温以上）。注意：成骨诱导换液过程中，注意不要直接把液体打到细胞表面，防止细胞层脱落。
- 诱导 2-4 周后，视细胞的形态变化及生长情况，根据您的实验需要进行鉴定。



间充质干细胞成骨诱导茜素红染色前后对比图

三、茜素红染色液的使用

当成骨诱导实验结束后，可进行茜素红染色确定诱导效果（本试剂盒提供茜素红 S 染色液）。

1. 吸走孔板里的成骨诱导分化培养基，用 1×PBS 冲洗 1-2 遍。
2. 加入 4%中性甲醛溶液（覆盖细胞表面即可），对细胞固定 30 分钟。
3. 吸走 4%中性甲醛溶液，用 1×PBS 冲洗 1-2 遍。
4. 以六孔板为例，每孔加入 1mL 茜素红染色液，室温染色 30 分钟（**染色时间可以根据实际情况适当延长或缩减**）。
5. 吸走茜素红染色液，用 1×PBS 冲洗 1-2 次，把背景杂质洗干净，即可在显微镜下观察诱导和染色效果。

注意事项

1. 因为试剂盒的成分较多，请在配制过程中严格注意无菌操作；若担心混匀过程中出现不良操作，请在混匀试剂后，对培养基进行 0.22μm 的滤膜过滤除菌。
2. **若培养过程中容易发生干细胞漂浮或干细胞回缩等现象，可在接种干细胞进行诱导之前对培养板进行 0.1%明胶的包被处理。**
3. 地塞米松 Dexamethasone 用无水乙醇配制，易挥发，注意拧紧盖子，按量添加。

推荐产品

产品名称	产品货号	规格
兔间充质干细胞成软骨诱导分化培养基	BGM-3044	100mL/200mL
兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基	BGM-3033	400mL
兔间充质干细胞完全培养基	BGM-3011	500ml

