

## 产品中文说明书

# **OriCell C57BL/6**小鼠骨髓间质干细胞 成骨诱导分化培养基试剂盒

货号: **MUBMX-90021**

## 产品描述

由Cyagen团队精心优化的OriCell C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成骨诱导分化培养基试剂盒，试剂盒包括适合C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成骨诱导分化的基础培养基、经甄选的胎牛血清及添加物。

本产品可增强C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞向成骨细胞方向诱导分化的能力。

本产品仅用于科研用途，不可用于诊断、治疗、临床、家庭及其他用途。

## 试剂盒组成成分

C57BL/6 Mouse Mesenchymal Stem Cell Osteogenic Differentiation Basal Medium C57BL/6 小鼠骨髓间质干细胞成骨诱导分化基础培养基	175 mL
C57BL/6 Mouse Mesenchymal Stem Cell Osteogenic Differentiation Fetal Bovine Serum C57BL/6 小鼠骨髓间质干细胞成骨诱导分化培养基专用血清	20 mL
Penicillin-Streptomycin 双抗	2 mL
Glutamine 谷氨酰胺	2 mL
Ascorbate 抗坏血酸	400 $\mu$ L
$\beta$ -Glycerophosphate $\beta$ -甘油磷酸钠	2 mL
Dexamethasone 地塞米松	20 $\mu$ L
茜素红染液	10 mL

## 使用说明

### 成骨诱导分化完全培养基的配制

- 使用前，请将血清置于2-8 $^{\circ}$ C环境中过夜解冻直至血清完全溶解，轻晃试剂瓶以确保血清混合均匀。本公司血清经热灭活处理，解冻后即可使用。



**注意：**解冻后的血清中可能会含有少量絮状沉淀，这些物质对产品质量无影响。不建议

采取过滤的方法去除沉淀物，此操作会导致血清中部分营养物质流失。

2. 配制前30 min左右，室温溶解抗坏血酸， $\beta$ -甘油磷酸钠，双抗和谷氨酰胺，轻轻地上下颠倒试剂管以确保试剂混合均匀。



**注意：**在打开盖子前先短暂离心（2400 g），以确保添加试剂能全部收集。

3. 使用前10 min，室温溶解地塞米松。



**注意：**在打开盖子前先短暂离心（2400 g），以确保添加试剂能全部收集。

4. 用70%乙醇擦拭试剂盒中各瓶/管的开口外壁，室温放置数秒使酒精挥发。
5. 在超净台中无菌地打开以上各瓶/管。
6. 将抗坏血酸、 $\beta$ -甘油磷酸钠、C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞专用胎牛血清、双抗和谷氨酰胺全部加入C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成骨诱导分化基础培养基中。
7. 无菌吸取少量基础培养基洗涤各瓶/管，尽可能的将所有组分完整的加入基础培养基中。
8. 最后将地塞米松加入基础培养基中，吸取0.5 mL基础培养基洗涤试剂管，将混合物一同加入基础培养基中。
9. 重复操作步骤8。
10. 轻晃配制好的完全培养基，确保混合均匀之后即可使用。



**注意：**本公司完全培养基试剂盒中的每个成分均为无菌分装，但为确保完全无菌，也可以将混合后的完全培养基进行再次过滤除菌（0.22  $\mu$ m 滤膜）。

### 培养器皿表面的明胶包被

为了避免诱导过程中间质干细胞出现漂浮现象，建议对成骨诱导使用的培养器皿表面进行明胶包被。

### 所需材料

- 明胶溶液（货号：GLT-11301）

### 操作

1. 加适量0.1%明胶到培养器皿中，能覆盖整个培养器皿底面的量即可。
2. 摇匀液体使其覆盖整个培养器皿的底面。
3. 将铺有0.1%明胶的培养器皿放置在超净台至少30min。
4. 30 min后弃去明胶，待培养器皿晾干后，即可用于接种细胞。



**注意：**包被明胶的培养器皿在无菌和明胶不蒸干的条件下，可以在4℃保存两周。

## 成骨诱导分化操作规程

### 所需材料

- 0.25%Trypsin-0.04%EDTA（货号：TEDTA-10001）
- Phosphate-BufferedSaline (1×PBS)（货号：PBS-10001）
- OriCell C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞完全培养基（货号：MUBMX-90011）
- OriCell C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成骨诱导分化完全培养基（货号：MUBMX-90021）

### 操作



**注意：**本操作规程以六孔板为例

1. 将OriCell C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞置于37℃，5% CO<sub>2</sub>的培养箱中培养。
2. 当细胞融合度达到80-90%时，用0.25%Trypsin-0.04%EDTA进行消化。
3. 将消化下来的C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞按照 $2 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>的细胞密度接种在事先包被0.1%明胶的六孔板中，每孔加入2 mL完全培养基。。
4. 将细胞置于37℃，5% CO<sub>2</sub>的培养箱中进行培养。
5. 当细胞融合度达到60%-70%时，小心的将孔内完全培养基吸走，向六孔板中加入2 mL OriCell C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成骨诱导分化完全培养基。
6. 每隔3天换用新鲜的OriCell C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成骨诱导分化完全培养基（使用前需预热至37℃）
7. 诱导2-4周后，视细胞的形态变化及生长情况，用茜素红进行染色。



**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。

## 茜素红染色分析

### 所需材料

- Phosphate-BufferedSaline (1×PBS)（货号：PBS-10001）
- 4%中性甲醛溶液
- 茜素红染液

### 操作

1. 成骨诱导分化结束后，吸走六孔板中的成骨诱导分化完全培养基，用1×PBS冲洗1-2次。每孔加入2 mL 4%中性甲醛溶液，固定30 min。
2. 吸走中性甲醛溶液，用1×PBS冲洗2次。每孔中加入1 mL茜素红染液染3-5 min。
3. 吸走茜素红染液，用1×PBS冲洗2-3次。
4. 将培养板置于显微镜下观察成骨染色效果。

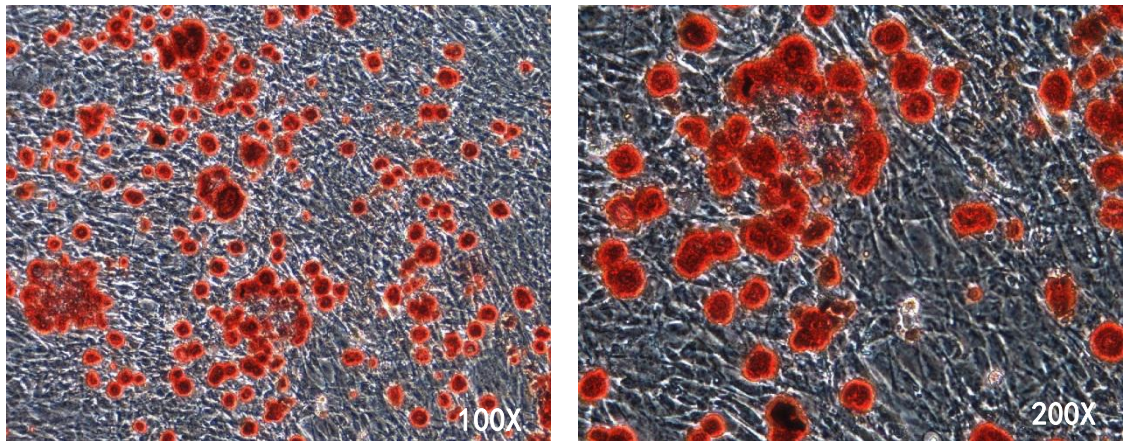


图1 OriCell C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成骨诱导分化茜素红染色效果

## 产品稳定性及保存条件

1. 所有产品均需避光保存。
2. 间质干细胞成骨诱导分化基础培养基和茜素红置于2-8℃保存，保质期为1年；其他成分置于-20℃保存，保质期为2年；完全培养基配制好后于2-8℃保存，保质期为1个月。
3. 所有产品请于保质期内使用，超过保质期，必须放弃使用。
4. 为确保产品质量，请避免反复冻融相关产品。

## 质量控制

OriCell C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成骨诱导分化培养基已使用OriCell C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞进行性能测试。

主要的鉴定标准包括：

- 无菌检测（细菌、真菌和支原体检测）
- pH测试
- 渗透压检测

- 内毒素检测

**Cyagen Biosciences**保留OriCell细胞培养产品技术文件的所有权利。

未经**Cyagen Biosciences**书面许可，本文的任何部分，不得改编或转载用作其他商业用途。