

## 产品中文说明书

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

货号: **MUBMX-90041 (200 mL)**  
**MUBMX-90042 (100 mL)**

## 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软骨诱导分化培养基试剂盒，包括适合C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成软骨诱导分化的基础培养基和添加物。

本产品可增强C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞向成软骨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

	200 mL/Kit	100 mL/Kit
C57BL/6 Mouse Mesenchymal Stem Cell Chondrogenic Differentiation Basal Medium C57BL/6 小鼠骨髓间质干细胞成软骨诱导分化基础培养基	194 mL	97 mL
Dexamethasone 地塞米松	20 µL	10 µL
Ascorbate 抗坏血酸	600 µL	300 µL
ITS+Supplement ITS 添加物	2 mL	1 mL
Sodium Pyruvate 丙酮酸钠	200 µL	100 µL
Proline 脯氨酸	200 µL	100 µL
TGF-β3	2 mL	1 mL
阿利辛蓝染液	10 mL	5 mL

## 使用说明

### 成软骨诱导分化完全培养基的配制

1. 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。
  - a) 地塞米松
  - b) 抗坏血酸
  - c) ITS添加物

- d) 丙酮酸钠
  - e) 脯氨酸
  - f) C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成软骨诱导分化基础培养基
2. 超净工作台中将以上(a)~(e)全部加入C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成软骨诱导分化基础培养基(f)中, 制备成软骨诱导分化完全培养基的预混液。
  3. 无菌吸取少量成软骨诱导分化基础培养基洗涤各瓶/管, 尽可能将所有组分完整地加入基础培养基中, 少量残留可能会影响产品性能。
  4. 轻晃配制好的预混液, 混合均匀之后即可使用。

### TGF- $\beta$ 3的稀释

1. 将TGF- $\beta$ 3小量分装至耐低温储样管中, 保存在-20°C或更低的温度下并于6个月之内使用完毕。试剂过期请务必放弃使用。



**注意:** 吸取 TGF- $\beta$ 3 之前需短暂离心 (2400 g) 试剂管, 使试剂聚集于管底以便取用。

2. 按照比例 (1 mL 预混液中加入 10  $\mu$ L TGF- $\beta$ 3), 吸取实验所需剂量的 TGF- $\beta$ 3, 加入相应体积的预混液中配制成软骨诱导分化完全培养基, 轻轻地上下颠倒试剂管以确保试剂混合均匀。



**重要提示:** 配制好的成软骨诱导分化完全培养基必须在 12 小时之内使用。

### 成软骨诱导分化操作规程

1. 进行成软骨诱导分化实验之前, 需要对常规消化后的细胞进行计数。
2. 将 $3-4 \times 10^5$ 个细胞转移到15 mL离心管中, 250 g离心4 min。
3. 吸去上清。加入0.5 mL预混液, 重悬上一步离心所得沉淀, 以清洗C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞, 室温下150 g离心5 min。
4. 重复步骤3, 再次清洗细胞。
5. 将上一步所得沉淀用0.5 mL C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成软骨诱导分化完全培养基重悬。
6. 室温下150 g离心5 min。
7. 拧松离心管盖以便于气体交换, 将其放置于37°C, 5% CO<sub>2</sub>的培养箱中培养。



**注意:**

- ① 此步骤不需要吸掉上清并重悬细胞。
- ② 24 小时之内不要摇动离心管。

8. 当细胞团出现聚拢现象时（一般为24 h或48 h后，实际视细胞生长情况而定）轻弹离心管底部使软骨球脱离管底悬浮在液体中。
9. 自接种开始计算，每隔2-3 d 给细胞换用新鲜的成软骨诱导分化完全培养基，每管约0.5 mL成软骨诱导分化完全培养基。



**注意：**小心操作，不要吸出软骨球。

10. 换液之后，轻弹离心管底部使软骨球脱离管底悬浮在液体中。稍加拧松离心管盖放入37℃，5% CO<sub>2</sub>的培养箱中继续诱导培养。
11. 一般持续诱导21-28天后，可对软骨球进行福尔马林固定和石蜡包埋切片，最后进行阿利辛蓝染色。

## 阿利辛蓝染色分析

1. 软骨球经石蜡包埋后切片。
2. 染色步骤：
  - a) 脱蜡和脱水；
  - b) 阿利辛蓝染液染色30 min；
  - c) 自来水冲洗2 min；
  - d) 蒸馏水冲洗1次。
3. 显微镜下观察阿利辛蓝染色效果，阿利辛蓝染色部分显示的是软骨组织中的内酸性粘多糖。

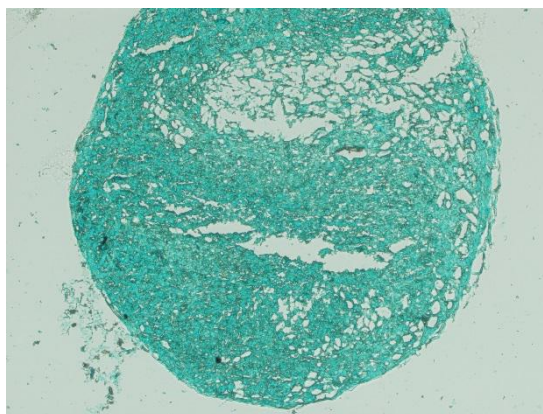


图1 OriCell C57BL/6小鼠骨髓间质干细胞成软骨诱导分化阿利辛蓝染色效果

## 产品稳定性及保存条件

1. 所有产品均需避光保存。
2. 保存条件及有效期

试剂名称	保存条件	有效期
C57BL/6 小鼠骨髓间质干细胞成软骨诱导分化基础培养基	2-8°C	1 Year
ITS 添加物	2-8°C	1 Year
TGF-β3	-20°C	1 Year
其他成分	-20°C	2 Years
配制好的预混液	2-8°C	1 month
配制好的完全培养基	2-8°C	12 hours

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软骨诱导分化培养基已用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**公司保留OriCell细胞培养产品技术文件的所有权利。

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