

## 产品中文说明书

**OriCell** 人牙髓干细胞  
成骨诱导分化培养基试剂盒

货号: **HUXDP-90021**

## 产品描述

由Cyagen团队精心优化的OriCell人牙髓干细胞成骨诱导分化培养基试剂盒，试剂盒包括适合人牙髓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。

本产品可增强人牙髓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

Human Dental Pulp Stem Cell Osteogenic Differentiation Basal Medium 人牙髓干细胞成骨诱导分化基础培养基	175 mL
Human Dental Pulp Stem Cell Osteogenic Differentiation Fetal Bovine Serum 人牙髓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

1. 使用前，请将血清置于2~8℃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  $\times g$ ），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  $\times g$ ），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、人牙髓干细胞专用胎牛血清、双抗和谷氨酰胺全部加入人牙髓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30 min。

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-Buffered Saline (1×PBS)（货号：PBS-10001）
- OriCell 人牙髓干细胞完全培养基（货号：HUXDP-90011）
- OriCell 人牙髓干细胞成骨诱导分化完全培养基（货号：HUXDP-90021）

### 操作



**注意：**本操作规程以六孔板为例

1. 将人牙髓干细胞置于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. 将消化下来的人牙髓干细胞按照 $2 \times 10^4$  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 人牙髓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 人牙髓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-Buffered Saline (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。

### 产品稳定性及保存条件

1. 所有产品均需避光保存。
2. 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 人牙髓干细胞成骨诱导分化培养基已使用人牙髓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。**