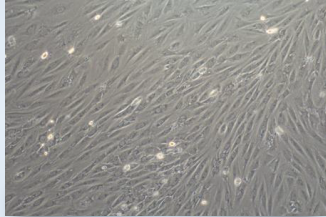


大鼠间充质干细胞 成骨诱导分化与染色试剂盒使用说明书

上海瑾原生物技术有限公司的大鼠间充质干细胞成骨诱导分化与染色试剂盒，是利用生物诱导剂在体外将大鼠骨髓、脂肪等组织来源的间充质干细胞诱导分化为成骨细胞，为研究骨再生、骨代谢、成骨细胞发育与矿化以及间充质干细胞三项诱导分化基本属性的鉴定提供方便。

染色数据


货号：JY-H1023
规格：200 mL/Kit

材料名称	剂量	保存温度
大鼠间充质干细胞成骨诱导分化专用培养基	175mL	4°C
特级胎牛血清	20mL	4°C
成骨诱导添加物	2mL	4°C
0.1%明胶	10mL	4°C
茜素红染色液	10mL	4°C

成骨诱导分化完全培养基的配制方法

1. 配制前将特级胎牛血清及成骨诱导添加物放置于4°C冰箱内完全融化；
2. 用75%医用酒精擦拭消毒试剂盒中各瓶/管表面；
3. 将血清、成骨诱导添加物全部加入大鼠间充质干细胞成骨诱导分化专用培养基中；
4. 轻轻颠倒摇晃配制好的成骨诱导分化完全培养基，使其混合均匀。

明胶包被培养器皿表面

1. 为了避免诱导过程中细胞漂浮，建议对成骨诱导使用的培养器皿表面进行明胶包被；
2. 取能覆盖整个培养皿/板底面量的0.1%明胶加入到培养皿/板中，如6孔板中加2mL/孔；
3. 摇匀液体使其覆盖整个培养皿/板的底面；
4. 将铺有0.1%明胶的培养皿/板室温放置（生物安全柜或超净工作台中）至少30min 以上。
5. 吸弃明胶，待培养皿/板晾干后，PBS 洗2次，即可用于接种细胞；

注意：包被明胶的培养皿/板在无菌和明胶不蒸干的条件下，可以在4°C保存两周。

成骨诱导分化操作规程（以6孔板为例）

1. 当MSC融合度达到80-90%时，消化细胞并计数；
2. 将细胞按照 1×10^5 cells/mL 的密度接种在包被0.1%明胶的六孔板中，每孔加入2 mL正常培养用完全培养基，置37°C 5% CO₂ 培养箱中培养；
3. 当细胞汇合度达到60%-70%时，吸弃上清，PBS洗2次，每孔加入2 mL成骨诱导分化完全培养基，每2天换液；
4. 约6-7天镜下可见开始形成矿化结节，14天后结节更加明显。通常诱导2-4周后，视细胞的形态变化及生长情况，采用4%多聚甲醛固定细胞，茜素红染色液进行染色。

茜素红染色（以6孔板为例）

1. 诱导成骨分化结束后，吸弃上清，PBS清洗1-2遍，每孔加入2 mL 4%多聚甲醛溶液，固定30min；
2. 吸净4%多聚甲醛，PBS清洗2遍。每孔中加入1 mL茜素红染色液，染色2-4h，也可染色过夜。吸净茜素红染色液，PBS清洗2-3遍；
3. 每孔加入1mL PBS，倒置显微镜下观察成骨染色效果；
4. 茜素红可与钙盐形成橙红色螯合物，显微镜下可观察到间充质干细胞被诱导分化为成骨细胞，沉积的钙盐形成大量染成橙红色的矿化钙结节，呈现典型的成骨分化。

声明：本产品供科学研究和生产使用，用于组织和细胞的体外培养，禁止临床使用。