

## 人脐带间充质干细胞成骨分化试剂盒

### 产品信息

产品名称：人脐带间充质干细胞成骨分化试剂盒

货号：TBD20190002

批号：见包装

试剂清单：

序号	名称	数量	货号	装量
A	人脐带间充质干细胞成骨分化培养基	2	TBD20190002-A	88ml
B	人脐带间充质干细胞成骨分化血清	2	TBD20190002-B	10ml
C	双抗	2	TBD20190002-C	1ml
D	抗坏血酸	2	TBD20190002-D	200ul
E	$\beta$ -甘油磷酸钠	2	TBD20190002-E	500ul
F	地塞米松	2	TBD20190002-F	10ul
G	茜素红染液	1	TBD20190002-G	10ml
H	明胶溶液	1	TBD20190002-20ML	20ml

存储与有效期：

A、G、H 液于 2-8℃ 避光保存，B-F 液于 -20℃ 避光保存。所有组分均需要避免反复冻融及复温，各组分在所需要的温度下有效期为 1 年，配制完成的完全培养基于 2-8℃ 保存，有效期为 2 个月。

### 产品介绍

人脐带间充质干细胞 (hUMSC) 具有多向分化的潜能，体外在一定条件下可以诱导分化为成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞。2006年国际细胞治疗协会 (ISCT) 确定此三项检测指标是 MSC 鉴定的必检项目，目前以 MSC 为基础的研究报道均会对该三个指标进行鉴定。

为方便科研用户鉴定 MSC 的分化能力，麒盟干细胞研究中心精心优化 hUMSC 成骨诱导分化试剂盒，其中包括成骨诱导培养体系和鉴定所需要的染色液，让用户可以稳定有效地鉴定 hUMSC 的分化潜能。该试剂盒提供的实验方法为常规鉴定方法，用于鉴定 hUMSC 是否具有成骨分化能力。除此以外，试剂盒的诱导培养基还可用于诱导分化过程中的其他检测，如 mRNA 检测、lncRNA 检测、microRNA 检测、蛋白表达检测、免疫组化检测等。但若用于免疫荧光检测需注意钙沉积导致的自发荧光问题。



本产品仅适用于科研。

## 操作方法

### 实验准备

#### ◇ 试剂配制：

2-8℃冰箱中过夜溶解B 液 1 支。

**注意：**解冻后的血清有时会出现沉淀，这些沉淀不影响血清的质量，不必做过滤等处理。

室温融化 C、D、E、F 溶液各 1 支，将融化的溶液全部加入 1 瓶A 液中，然后将 B 液加入 A 液中，充分混匀。

**注意：**C、D、E 液先于F 液 20 分钟溶解、溶解后旋涡混匀、1000g 短时离心以使溶液集中于管底。将管内溶液加入 A 液后，吸取 A 液洗涤溶液瓶两次，将洗涤液加入 A 液中。所有液体混合成诱导完全培养基后必须充分混匀，2-8℃保存。整个过程需无菌操作，适当以 75%酒精擦拭表面。

#### ◇ 培养皿处理：

加适量明胶溶液到培养器皿中，轻轻摇动使其覆盖整个培养器皿底面，室温静置 30-60 分钟。弃去明胶溶液，室温晾干。

**注意：**本试剂盒建议使用六孔板操作，每孔加明胶溶液 1mL，使用其他培养器皿时需考虑实验结果的稳定性。整个过程需在超净工作台中操作，避免污染。

#### ◇ 自备试剂：

- 消化液（0.25% Trypsin-0.04% EDTA）
- 磷酸盐缓冲液（DPBS）
- hUMSC 完全培养基
- 4%中性多聚甲醛溶液

**注意：**若 hUMSC 完全培养基不含血清，则需要准备胰酶抑制剂。hUMSC 消化极易过度，建议稀释消化液一倍，且严格控制消化时间。

### 操作步骤

- 1 准备所需诱导分化的hUMSC，当细胞融合达 85%左右时，用消化液消化细胞，并用 hUMSC 完全培养基重悬。
- 2 按照  $4 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> 的密度将细胞接种于已明胶处理的六孔板中，每孔 hUMSC 完全培养基 2 mL，37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。

**注意：**细胞密度为该试剂盒的标准密度，若修改细胞接种密度则需要考虑实验结果的稳定性。



3 当细胞融合达 60%时，弃去培养上清，每孔添加 hUMSC 成骨诱导分化完全培养基 2 mL/well，37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。

**注意：**成骨诱导后细胞极易脱壁，换液时完全培养基必须经 37℃复温。添加培养基时动作要轻柔，避免吹起细胞。

4 每3 天更换新鲜的 hUMSC 成骨诱导分化完全培养基，持续培养 2-4 周。

**注意：**一般 10 天左右出现钙沉淀，培养液会较原先浑浊。根据需要可以选择培养终止时间，但不易超过 4 周。

5 诱导培养结束时，弃去培养上清，DPBS 洗细胞两次，4%中性多聚甲醛溶液 2 mL/well 室温固定细胞 20 分钟。

**注意：**培养结束时或中途可以选择其他检测方法，如基因表达检测等，若采用自己拟定的检测方法则后续方案需要自己拟定。

6 弃去固定液，DPBS 洗2 次，加入茜素红染液 1 mL/well 染色 15 分钟。

**注意：**该步骤适用于鉴定成骨能力，若出现钙沉积则会呈现红色着色。若需要得到美观的图片，则染色时间需自己掌握。

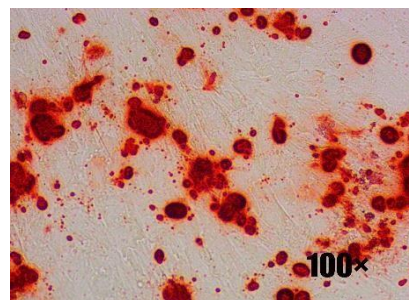
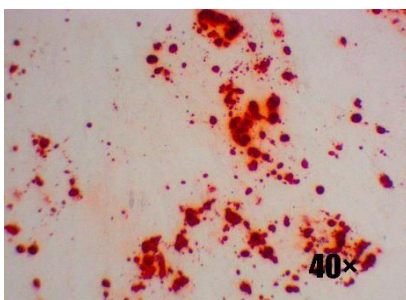
7 弃去茜素红染液，DPBS洗3次。

8 显微镜下观察并拍照。

### 结果判定

按照程序操作完毕，低倍镜下观察可见红色着色点，此处为钙结节，说明实验所用的 hUMSC 具有成骨能力。否则，所使用的 hUMSC 无成骨能力。

### 结果展示



### 相关产品

名称	货号
人脐带间充质干细胞成脂分化试剂盒	CHEM-200008





[www.tbdsience.com](http://www.tbdsience.com)

天津市灏洋生物制品科技有限责任公司

天津灏洋华科生物科技有限公司

人脐带间充质干细胞成软骨分化试剂盒

CHEM-200009



天津市灏洋生物制品科技有限责任公司 天津灏洋华科生物科技有限公司  
天津滨海高新区华苑产业区（环外）海泰华科一路15号润丰科技3幢5层  
技术服务 Tel: 15822121119 15822691119 13920701119 ◆ Fax: 022-58921250  
◆ QQ: 2768676807 ◆ [www.tbdsience.com](http://www.tbdsience.com) ◆ E-mail: [gx15822121119@163.com](mailto:gx15822121119@163.com)

4



灏洋生物 TBDSience