



弗元（上海）生物科技有限公司

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

产品说明书

# 人间充质干细胞成骨诱导试剂盒

货号：FY200006

仅用于科学研究

Version 1.2



# 人间充质干细胞成骨诱导试剂盒

仅用于科学研究

## 产品信息

产品名称：人间充质干细胞成骨诱导试剂盒

货号：FY200006

批号：见包装

试剂清单：

序号	名称	数量	货号	存储
A	人间充质干细胞成骨诱导基础培养基	90 ml ×1	FY200006-A	2-8 °C
B	成骨诱导添加物 B	10 ml ×1	FY200006-B	-20 °C
C	包被溶液	10 ml ×1	FY200006-C	2-8 °C
D	茜素红染液	5 ml ×1	FY200006-D	2-8 °C

存储与有效期：

组分 A、C、D 于 2-8 °C 避光保存，组分 B 于 -20 °C 避光保存。所有组分均须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 °C 保存，有效期 1 个月。

适用细胞：

人骨髓间充质干细胞、人脂肪间充质干细胞、人脐带间充质干细胞、人羊膜间充质干细胞、人牙髓间充质干细胞、人脐带血间充质干细胞，其他组织来源的人间充质干细胞。

## 产品介绍

间充质干细胞（MSC）具有多向分化的潜能，体外在一定条件下可以诱导分化为脂肪细胞、成骨细胞、成软骨细胞。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。在多种组织来源和制作方法的 MSC 药品质量控制中，成骨、成脂、成软骨也是必检指标。

为满足科研和制药对 MSC 分化能力的鉴定，弗元生物结合多年 MSC 研究经验优化 MSC 诱导试剂盒，在稳定性、易用性上大幅改进，采用了独创的小包装。该试剂盒的设计用途，首先，用于鉴定人 MSC 是否具有成骨分化能力，满足 MSC 质量控制的要求。其次，在再生医学和组织工程研究中，诱导培养基也可作为除支架以外的培养体系。另外，诱导培养基还可用于研究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、钙沉积量检测、免疫组化检测等。

本产品仅适用于科学研究。

## 操作方法

### 实验准备

#### ◆ 试剂配制：

室温融化添加物 B 液，将融化的溶液加入基础培养基 A 液中，充分混匀。

**注意：**混合成诱导完全培养基后必须充分混匀，2-8 °C 保存。整个过程须确保无菌操作，各试剂开封前以 75% 酒精擦拭表面。

#### ◆ 培养皿处理：

加适量包被溶液 C 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。弃去溶液，室温晾干。

**注意：**包被液 C 使用前必须进行室温复温。建议使用六孔板，每孔加 C 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 或其他）
- 磷酸盐缓冲液（DPBS）
- MSC 完全培养基



● 4%中性多聚甲醛溶液

**注意：**若 MSC 完全培养基不含血清，则需要准备胰酶抑制剂。MSC 消化极易过度，建议稀释 0.25% 胰酶消化液一倍，且严格控制消化时间。

### 操作步骤

1. 准备所需诱导分化的 MSC，当细胞融合达 85% 左右时，用消化液消化细胞，并用 MSC 完全培养基重悬。
2. 按照  $2 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> 的密度将细胞接种于已包被处理的六孔板中，每孔 MSC 完全培养基 2 ml，37°C、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，可根据实验室情况进行调整，调整依据参照所检测 MSC 正常传代的密度接种，过夜培养后添加诱导培养完全培养基；或接种密度低，待细胞生长至下一步要求的密度后进行诱导。
3. 当细胞融合达 60% 时，弃去培养上清，每孔添加 MSC 成骨诱导完全培养基 2 ml/孔，37°C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。  
**注意：**成骨诱导后细胞易脱壁，换液时完全培养基必须经室温复温 30 分钟。添加培养基时动作要轻柔，沿培养器皿侧壁缓缓加入，切记避免吹起细胞。
4. 每 3 天更换新鲜的 MSC 成骨诱导完全培养基，持续培养 2-4 周。  
**注意：**细胞状态良好一般 5 天后培养液出现浑浊，不可与污染混淆，换液时尽量轻柔；7-10 天左右出现钙沉积。一般 2 周内出现较大的较厚的钙沉积，透光性变差。有些细胞钙沉积出现较晚，一般不超过 3 周，超过 3 周末出现明显沉积，请注意分析操作步骤与其他原因。可根据具体实验需求选择终止时间，但不易超过 4 周。具体时间请根据自己实验室细胞等条件自行确定。
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/孔室温固定细胞 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行确定。
6. 弃去固定液，DPBS 洗 2 次，加入茜素红染液 1 ml/孔染色 15 分钟。



7. 弃去茜素红染液，DPBS 洗 3 次，添加新鲜 DPBS。

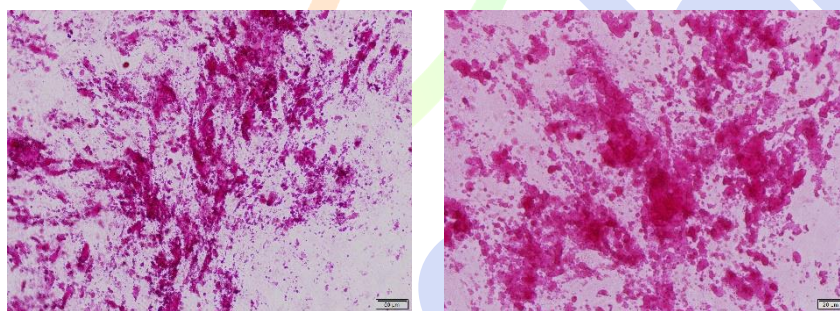
**注意：**染色后肉眼可见孔内明显染红。染色过程中一定要避免组织细胞被风干，风干会影响显微观察效果。

8. 显微镜下观察并拍照。

**注意：**拍照一般选用高倍镜，请根据需要确认选择。

9. **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 MSC 具有成骨能力。否则，所使用的 MSC 无成骨能力。

结果展示



## 相关产品

名称	货号
人间充质干细胞无血清培养基	RC200101
细胞冻存液 II	RC200106
间充质干细胞消化液	RC200108
人间充质干细胞成脂诱导试剂盒	FY200007
人间充质干细胞成软骨诱导试剂盒	FY200008



