



## 细胞产品手册

# OriCell<sup>®</sup> RAW 264.7 细胞 成破骨诱导分化试剂盒(Pro 款)

产品货号: CLROP-90401

## 产品介绍

由 OriCell®研发团队精心研制的 OriCell®RAW 264.7 细胞成破骨诱导分化试剂盒 (Pro 款) 是一种适用于 RAW 264.7 细胞分化成破骨细胞的培养, 包含适合破骨细胞生长的分化培养基、诱导细胞分化所需的添加物及染色液。本产品适用于 RAW 264.7 细胞诱导成破骨分化。经细胞培养数据验证, 本产品可稳定、高效诱导上述细胞分化为破骨细胞。

**注意:** 本产品仅提供给进一步科研使用, 不可用于临床治疗等其他用途。

**使用本产品发表的文献需注明:** (OriCell, Cat.No. CLROP-90401) from Cyagen.

## 套装成分

诱导培养基套装成分	货号	体积
OriCell®Basal Medium For Cell Culture OriCell®细胞基础培养基	BAME-03011	45 mL
OriCell®Supplements For Osteoclast Differentiation I OriCell®成破骨诱导添加物I	CLROP-04401	5 mL
OriCell®Supplements For Osteoclast Differentiation II OriCell®成破骨诱导添加物II	CLROP-04402	25 µL
OriCell®Supplements For Osteoclast Differentiation III OriCell®成破骨诱导添加物III	CLROP-04403	12.5 µL

TRAP 染色液套装成分	货号	体积
OriCell®TRAP Staining Solution Component I OriCell®TRAP 染色液成分I	TRAP-10001	1 mL
OriCell®TRAP Staining Solution Component II OriCell®TRAP 染色液成分II	TRAP-10002	100 µL
OriCell®TRAP Staining Solution Component III OriCell®TRAP 染色液成分III	TRAP-10003	9 mL

## 质量控制

---

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过渗透压、pH 检测。
- 通过产品性能检测。

详情见《产品检测报告》。

## 处理原则

---

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体和操作区域的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 各成分需按照保存条件妥善存放，并尽快使用。
4. 若短期内无法用完整套培养基，应按套装内各成分体积比例分批配制并分装保存。

## 产品稳定性及保存条件

---

1. 套装内所有成分均需避光保存。
2. 套装内基础培养基需置于 4°C 冰箱保存，保质期为 1 年；成骨诱导添加物成分需置于 -20°C 保存，保质期为 1 年；染色液组分中的 I 和 II 需置于 -20°C 保存，组分 III 需置于 4°C 冰箱保存，保质期为 6 个月。
3. 配制后的完全培养基，需放置 4°C 保存，保质期为 1 个月。
4. 所有产品请于保质期内使用；过期的成分可能严重影响培养效果。

## 完全培养基的配制

### 所需材料

- OriCell®RAW 264.7 细胞成破骨诱导分化试剂盒
- 清洁、无菌、质量稳定的一次性耗材（移液管、移液器吸头、离心管等）
- 洁净的封口膜
- 铝箔纸等避光材料

### 操作步骤

1. 配制前至少 3 h，将套装中的 OriCell®RAW 264.7 细胞成破骨诱导添加物放置于 4°C 冰箱内完全融化。
2. 用 75% 医用酒精仔细擦拭所有成分外包装。在超净台内打开包装。
3. 将成破骨诱导添加物 I、II、III 全部加入 OriCell®细胞基础培养基（以下简称基础培养基）中。
4. 取少量基础培养基，洗涤各瓶、管，尽可能将所有成分全部加入基础培养基中。
5. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。
6. 用封口膜密封瓶口，用铝箔纸包裹瓶身，并标注名称、配制日期等信息。

### 特别提醒

- 若短期内无法用完全部培养基，我们建议分批配制；请按照套装内各成分比例，配制所需量；但剩余的成分必须严格按照各自的保存条件妥善保存，并且不可多次冻融。
- OriCell®RAW 264.7 细胞成破骨诱导分化试剂盒内的所有成分都严格控制无菌，一般情况下我们不建议再次除菌。若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。
- 配制完成的成破骨诱导分化培养基，请分装为小份，避免整瓶培养基反复温浴和冷藏交替。

## 诱导分化操作规程

### 所需材料

- OriCell®RAW 264.7 细胞成破骨诱导分化试剂盒
- OriCell®RAW 264.7 细胞系 (货号: M3-0101)
- OriCell®RAW 264.7 细胞系完全培养基 (货号: CMM3-0101)
- OriCell®Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001)

### 操作步骤

**注意:** 1) 本操作规程以十二孔板为例, 请根据实际情况选用合适的培养容器;

2) 诱导培养基在使用前均需预热至 37°C。

3) 本实验以 RAW 264.7 为例进行实验。

1. 将待诱导的 RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞白血病细胞按照  $1 \times 10^4$  cells/孔的细胞密度接种于十二孔板中, 每孔加入 1 mL 普通完全培养基。
2. 细胞置于 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。
3. 48 h 后, 小心地将孔内完全培养基吸走, 每孔中加入 1 mL OriCell®RAW 264.7 细胞成破骨诱导分化培养基。
4. 每隔 1 天换用新鲜的 OriCell®RAW 264.7 细胞成破骨诱导分化培养基。
5. 诱导 4-7 天后, 视细胞的形态变化及生长情况, 用 TRAP 染色液进行染色。

## TRAP 染色分析

### 所需材料

- OriCell®Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001)
- 4%多聚甲醛溶液或 10%福尔马林溶液
- OriCell®TRAP 染色液

### 操作步骤

**注意:** 1) 为防止细胞脱落, 所有操作尽可能轻缓;

2) 如果染色效果较差, 可适当延长染色时间;

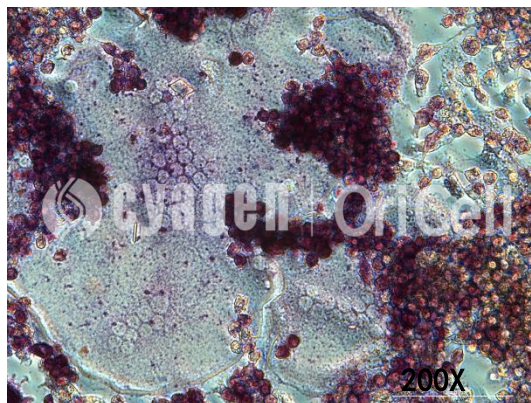
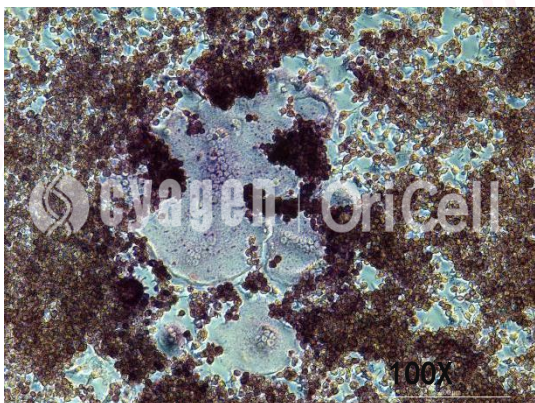
3) 请确认出现破骨细胞后再进行染色。

4) 染色液需现配现用。

1. RAW 264.7 细胞成破骨诱导分化结束后, 吸去十二孔板中的 RAW 264.7 细胞成破骨诱导分化培养基, 用 1×PBS 轻柔洗涤 1~2 次。
2. 每孔加入 1 mL 4%多聚甲醛溶液 (或 10%福尔马林), 室温固定 10~30 min。
3. 吸去固定液, 用 1×PBS 轻柔洗涤 1~2 次, 确保将固定液清洗彻底。
4. 染色液组分按比例 I: II: III=10: 1: 90 配制成工作液。
5. 每孔加入约 1 mL TRAP 工作液, 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中染色 1-2 h。
6. 吸去 TRAP 染色液, 用 1×PBS 轻柔洗涤 2~3 次, 充分洗去多余染色液。
7. 每孔加入 1 mL 1×PBS, 将培养板置于显微镜下观察破骨细胞染色效果 (染色效果请参考下页图)。
8. 染色后的十二孔板用封口膜封装后, 置于 4°C可保存 2 周。

## 破骨细胞染色案例

OriCell®RAW 264.7细胞诱导破骨后TRAP染色效果



赛业（苏州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业（苏州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，

不得改编或转载用作其他商业用途。