

OriCell®

## 细胞产品手册

### OriCell®人相关干细胞 成骨诱导分化试剂盒

产品货号：HUXXC-90021



*We help you discover life*

## 产品介绍

由 OriCell®研发团队精心研制的 OriCell®人相关干细胞成骨诱导分化试剂盒，包含适合人相关干细胞生长的基础培养基、OriCell®优级胎牛血清及诱导细胞分化所需的添加物。

本产品适用于人牙髓、人脐血、人尿源等间充质干细胞的成骨诱导分化。大量细胞培养数据验证，本产品可稳定、高效诱导上述细胞分化为成骨细胞。

**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。

## 试剂盒成分

试剂盒成分	货号	体积
OriCell® Basal Medium For Cell Culture OriCell®细胞基础培养基	BLDM-03011	177 mL
OriCell® Fetal Bovine Serum ( Superior-Quality ) OriCell®优级胎牛血清	FBSSR-01021	20 mL
OriCell® Supplement For Human Related Stem Cells Osteogenic Differentiation OriCell®人相关干细胞成骨诱导分化添加物	HUXXC-04021	3 mL
Alizarin Red S 茜素红 (pH=5.1~5.3)	ALIR-10001	10 mL
Gelatin 明胶	GLT-11301	10 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；其他成分需置于 -20°C 保存，保质期为 2 年。
3. 配制后的完全培养基，需放置 4°C 保存，保质期为 1 个月；若能保证培养条件稳定，容器密封性能好，避免冷热交替，则保质期可适当延长，但不得超过 45 天。
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®人相关干细胞成骨诱导分化试剂盒
- 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 6 h，将套装中的 OriCell®优级胎牛血清（以下简称血清）放置于 4°C 冰箱内完全融化。

**注意：**融化后的血清中可能出现絮状物，其主要成分为析出的血纤蛋白，这不会影响产品使用效果。

若不是对细胞培养体系的纯净度要求极高，我们不建议过滤或离心去除絮状物。

2. 配制前至少 30 min，将套装中 OriCell®人相关干细胞成骨诱导分化添加物（以下简称添加物）放置于 4°C 冰箱内，直至完全融化。
3. 上下颠倒或轻弹试剂管以混匀试剂。
4. 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。
5. 将血清、添加物全部加入 OriCell®细胞基础培养基（以下简称基础培养基）中。
6. 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。
7. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。
8. 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®人相关干细胞成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®人相关干细胞成骨诱导分化试剂盒
- OriCell® 0.1%明胶溶液（货号：GLT-11301）
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS)（货号：PBS-10001）

### 操作步骤

**注意：**1) 本操作规程以六孔板为例，请根据实际情况选用合适的培养容器；

2) 为减少诱导过程细胞漂起、不贴壁，建议使用明胶包被培养容器；

3) 诱导培养基在使用前均需预热至 37°C。

1. 加 1 mL 0.1%明胶到六孔板中，摇匀，使其能均匀覆盖各孔底面。
2. 将铺有 0.1%明胶的六孔板放置在超净台或 CO<sub>2</sub> 培养箱至少 30 min。
3. 30 min 后吸去明胶即可用于接种细胞，或等待六孔板晾干再接种。
4. 将待诱导的人相关干细胞按照  $2 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> 的细胞密度接种于六孔板中，每孔加入 2 mL 普通完全培养基。
5. 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。
6. 当细胞融合度达到 70%时，小心地将孔内完全培养基吸走，向六孔板中加入 2 mL OriCell®人相关干细胞成骨诱导分化培养基。
7. 每隔 3 天换用新鲜的 OriCell®人相关干细胞成骨诱导分化培养基。
8. 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、钙结节损失，建议成骨过程中出现明显钙结节之后，每两天半量换液一次。

## 茜素红染色分析

---

### 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
- 茜素红染色液

### 操作步骤

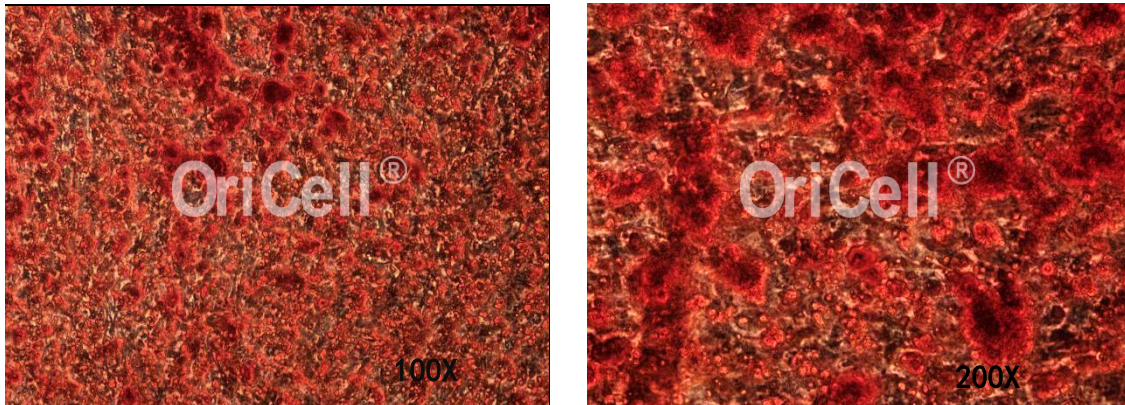
**注意:** 1) 为防止钙结节脱落, 所有操作尽可能轻缓;

2) 茜素红使用前请恢复至室温; 如果染色效果较差, 可适当延长染色时间;

3) 请确认出现钙结节后再进行染色。

1. 成骨诱导分化结束后, 吸去六孔板中的成骨诱导分化完全培养基, 用 1×PBS 轻柔洗涤 2~3 次。
2. 每孔加入 2 mL 4%多聚甲醛溶液 (或 10%福尔马林), 室温固定 30 min。
3. 吸去固定液, 用 1×PBS 轻柔洗涤 2~3 次, 确保将固定液清洗彻底。
4. 每孔加入 2 mL 茜素红工作液, 室温染色 5~10 min。
5. 吸去茜素红染色液, 用 1×PBS 轻柔洗涤 2~3 次, 充分洗去多余染色液。
6. 每孔加入 2 mL 1×PBS, 将培养板置于显微镜下观察成骨染色效果。
7. 染色后的六孔板用封口膜封装后, 置于 4°C可保存 2 周。

OriCell®人脐血间充质干细胞成骨诱导分化茜素红染色效果



赛业（广州）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（广州）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。