cyagen | OriCell

细胞产品手册

OriCell®大鼠骨髓间充质干细胞成骨诱导分化试剂盒

产品货号：RAXMX-90021

We help you discover life

产品介绍

由 OriCell®研发团队精心研制的 OriCell®大鼠骨髓间充质干细胞成骨诱导分化试剂盒，包含适合大鼠骨髓间充质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。

本产品适用于大鼠骨髓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 Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Osteogenic Differentiation OriCell®大鼠骨髓间充质干细胞成骨诱导分化添加物	RAXMX-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，容器密封性能良好，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®大鼠骨髓间充质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®大鼠骨髓间充质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®大鼠骨髓间充质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®大鼠骨髓间充质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_2 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. 将待诱导的大鼠骨髓间充质干细胞按照 2×10^4 cells/cm^2 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_2、饱和湿度的 CO_2 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®大鼠骨髓间充质干细胞成骨诱导分化培养基。
7. 每隔 3 天换用新鲜的 OriCell®大鼠骨髓间充质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

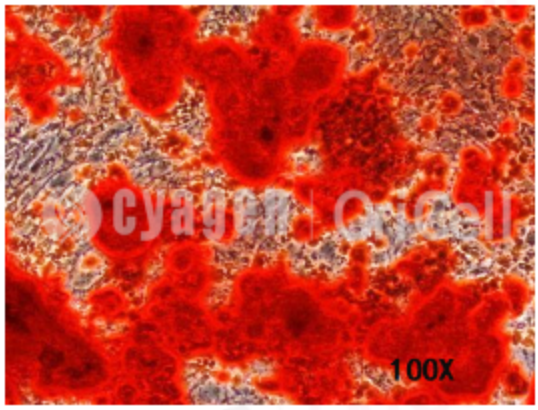
注意：1）为防止钙结节脱落，所有操作尽可能轻缓；

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®大鼠骨髓间充质干细胞成骨诱导分化茜素红染色效果



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。