

hMSC 成骨分化试剂盒

使用说明书

一、产品简介

hMSC 成骨分化试剂盒具有高效成骨定向分化能力，可用于人类间充质干细胞向成骨诱导分化。

二、产品信息

表一：hMSC 成骨分化试剂盒产品说明

| 产品信息 | 货号 | 规格 | 储存条件 |
|---|-------------|-------|-------------|
| hMSC成骨分化试剂盒包含: | RP02014-C | 1 Kit | 2°C ~ 8°C* |
| Osteogenic differentiation Basal Medium | RP02014-C-1 | 80 mL | 2°C ~ 8°C |
| Osteogenic differentiation Supplement | RP02014-C-2 | 20 mL | -20°C至-80°C |

*将基础液和添加物混匀配置成完全培养基，可在 2°C ~ 8°C中存储，2 周内用完。

三、试剂材料

表二：推荐试剂&材料

| 试剂&材料 | 品牌 (e.g.) | 货号 (e.g.) |
|---|-------------|-----------|
| ncMission hMSC Medium | 首宁生物 | RP02010 |
| 茜素红染液 2% Alizarin Red S | Sciencell | 0223 |
| 1×DPBS w/o Ca ²⁺ /Mg ²⁺ | Thermo Sci. | 14190250 |
| 6孔板 | Thermo Sci. | 140685 |
| 1 mL/5 mL/10 mL/25 mL移液管 | Thermo Sci. | N/A |
| 1.5/2 mL冻存管 | Thermo Sci. | N/A |
| 10 μl/200 μl/1000 μl吸头 | Rainin . | N/A |

四、试剂准备

(一) hMSC 成骨分化试剂盒配制

- 在 4°C解冻 Osteogenic differentiation Supplement, **不要在 37°C条件下解冻。**
- 在生物安全柜中，使用无菌移液管配制 100 mL 分化完全培养基。

Osteogenic differentiation Basal Medium: 80 mL

Osteogenic differentiation Supplement: 20 mL

- 完全培养基可置于 4°C储存，2 周内使用。

TIPS: 可根据实际用量将 Supplement 分装后冷冻保存。冻融总次数不超过 2 次。

(三) 茜素红工作液的配制

- 1、茜素红储存液含量为 2%，常温保存。临用时，按茜素红储存液：去离子水=1:20
- 2、比例稀释为 0.1%的工作液，工作液应为黄褐色的澄清液体。

五、间充质干细胞成骨分化

(一) 间充质干细胞培养

1. **hMSC 的培养**：详见 ncMission hMSC Medium 使用说明书。
2. 用 ncMission hMSC Medium 培养间充质干细胞，将间充质干细胞按 5000-10000/cm² 的密度接种到六孔板中，水平十字摇匀三次，置于 37°C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中，再次水平十字摇匀三次，培养。

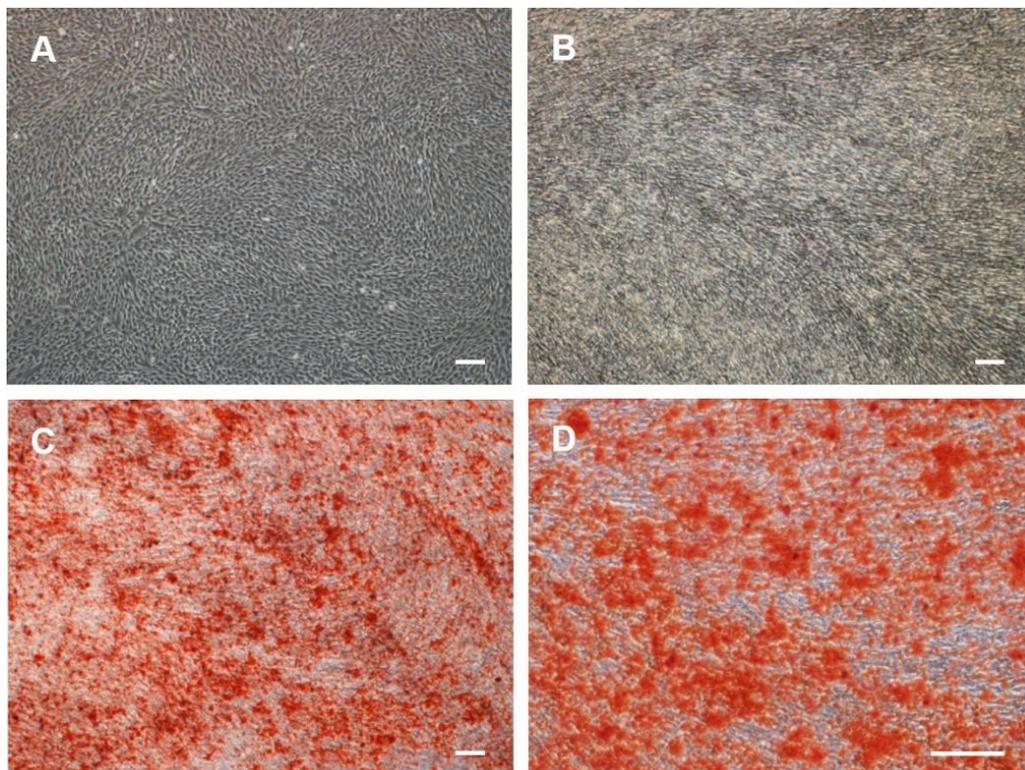
(二) 间充质干细胞成骨分化

- 1、hMSC 汇合度在 85%左右时，开启分化：吸去上清，设置实验组和对照组。实验组加入 hMSC 成骨分化完全培养基；对照组加入 ncMission hMSC Medium。

TIPS：为了防止 hMSC 成骨分化过程中，出现细胞卷边、漂起等现象，建议使用 Matrigel 包被培养板。

(Matrigel 使用方法：<http://www.nuwacell.com/index.php?c=content&a=list&catid=211>)。

- 2、每 3-4 天换液一次，每次 2-3 ml/孔，连续培养至第 21 天。
- 3、第 21 天，吸弃上清液，加入固定液（4%多聚甲醛）固定 30 分钟。
- 4、将分化组和对照组吸去上清，加入合适体积的茜素红工作液，室温避光孵育 20~60 分钟，然后吸去染液，用生理盐水或 DPBS 洗涤至未见背景色，每孔再加入生理盐水或 DPBS 浸润，显微镜下观察，拍照。



hMSC 成骨分化试剂盒分化过程中细胞形态图示。标尺：200 μm 。

A、B 分别为分化第 1、21 天时的细胞形态图示；C、D 为分化第 21 天镜下染色结果图示。