

# HyCyte™ 肌腱干细胞成软骨诱导分化试剂盒

## Tendon Stem Cells Chondrogenic Differentiation Kit

货号: TSGU-D203

规格: 100 mL/Kit 或 200 mL/Kit

### 产品组分

#### 成软骨诱导分化培养基——预混液

试剂盒组分	100 mL/kit	200 mL/kit	保存条件	有效期
Tendon Stem Cells Chondrogenic Differentiation Basal Medium	97 mL	194 mL	2~8°C	12 months
ITS Supplement ITS 添加物	1 mL	2 mL	2~8°C	12 months
Ascorbate Acid 抗坏血酸	300 µL	600 µL	-20°C	12 months
Sodium Pyruvate 丙酮酸钠	100 µL	200 µL	-20°C	12 months
Proline 脯氨酸	100 µL	200 µL	-20°C	12 months
Dexamethasone 地塞米松	10 µL	20 µL	-20°C	12 months

#### 成软骨诱导分化培养基——诱导液

TGF-β3	1 mL	2 mL	-20°C	12 months
--------	------	------	-------	-----------

每 1 mL 预混液添加 10 µL TGF-β3，混匀即为诱导液，现配现用，12~24h 内使用完毕。  
TGF-β3 建议分装使用。

#### 染色液

Dye Liquor: Alcian Blue Solution 阿利辛蓝染色液	5 mL	10 mL	2~8°C	12 months
--	------	-------	-------	-----------

- NOTE:** a. 本产品组分均为无菌分装，可直接配制成完全培养基使用；染色液为独立包装组分，请勿与培养基混用。  
 b. 配制诱导液前，请瞬时离心各管小剂量试剂以免损失，配制后请在有效期内使用完毕。  
 c. 预混液储存条件：2~8°C，避光；配制后有效期：3 months。诱导液现配现用。  
 d. 本产品仅用于科研实验，不可用于临床治疗。

### 产品描述

本产品是海星生物专为肌腱干细胞研制优化的HyCyte™成软骨诱导分化培养基试剂盒，用于增强肌腱干细胞向成软骨细胞方向诱导分化的能力。在库产品均通过生物安全检测和产品质量检测，体系稳定有效，现货发送，性价比高。海星生物专业的研发团队可提供最有效的技术指导，保证售后品质。

### 质检标准

pH: 7.2~7.4

内毒素含量: < 10 EU/mL

生物安全: 细菌、真菌、支原体检测阴性

质量检测: 诱导测试合格

### 运输方式

产品冰袋冷藏运输

为科研加速，为工业赋能！

CRISPR/Cas9细胞基因编辑

载体构建/病毒包装 PDO类器官/动物模型CDX

稳转细胞株 HyCyte™干细胞/原代细胞 HyCyte™培养试剂盒



关注海星公众号



关注海星视频号



## 检验原理

阿利辛蓝广泛用于酸性多糖的染色，如软骨或组织中的糖胺聚糖和细胞分泌的外被多糖的染色等。干细胞在诱导培养基的作用下，会逐渐向软骨细胞方向分化。软骨细胞外具有一层富含蛋白多糖的基质，是成软骨分化的标志物，可被阿利辛蓝染成蓝绿色。

## 使用说明

### 成软骨诱导分化操作（平面诱导）

#### 1. 细胞分化诱导

将对数生长期的细胞消化下来计数，成软骨诱导分化培养基诱导液重悬细胞，离心后调整细胞密度密度 $1.0\sim2.0\times10^7\text{cells/mL}$ 。

吸取 $20\mu\text{L}$ 细胞悬液（约 $2.0\sim4.0\times10^5$ 个细胞）悬滴至24孔板中央。置于 $37^\circ\text{C}$ ， $5\%$   $\text{CO}_2$ 培养环境下培养 $2\sim3$  h使细胞贴壁。

$2\sim3$  h后补充 $1\text{mL}$ 成软骨诱导分化培养基诱导液正常培养。每隔 $2\sim3$ 天换液一次。按照以上换液频率诱导 $21\sim28$ 天，并注意观察细胞形态变化。

#### 2. 染色鉴定

##### 2.1 细胞固定

吸去培养基使用适量 $1\times\text{PBS}$ 清洗一次，弃去后取适量 $4\%$ 中性甲醛溶液覆盖培养器皿底面，室温固定 $30\sim60$  min后，弃去固定液再使用 $1\times\text{PBS}$ 清洗两次。

##### 2.2 阿利辛蓝染色

向清洗干净的诱导孔内加入适量染色液，避光静置染色 $30$  min。

吸去阿利辛蓝染色液，用 $1\times\text{PBS}$ 清洗两次，并加入适量 $1\times\text{PBS}$ 避免细胞干燥。

##### 2.3 诱导评估

显微镜下观察成软骨染色效果，并进行图像采集和诱导评估。诱导成功时，软骨组织中的内酸性粘多糖可被阿利辛蓝染成蓝绿色。

### 成软骨诱导分化操作（三维培养）

#### 1. 干细胞的准备

将对数生长期的细胞消化下来计数，取 $3\times10^5$ 个细胞转移到 $15\text{mL}$ 离心管中， $250\text{g}$  离心 $4$  min。

弃上清，加入 $0.5\text{mL}$ 成软骨诱导分化培养基预混液，重悬细胞， $150\text{g}$  离心 $5$  min。小心弃去上清，加入 $0.5\text{mL}$ 成软骨诱导分化培养基诱导液，重悬细胞， $150\text{g}$  离心 $5$  min。

将 $15\text{mL}$ 离心管的管盖稍稍旋开，放置于 $37^\circ\text{C}$ ， $5\%$   $\text{CO}_2$ 培养环境下培养。

#### 2. 细胞分化诱导

$24\text{h}$ 后观察细胞沉淀形变团聚的情况，如有明显的变化，则小心轻柔地拨动管底，尝试让细胞团脱离管底，全部浸润在诱导液中。

置于 $37^\circ\text{C}$ ， $5\%$   $\text{CO}_2$ 培养环境下培养约 $21$ 天，通常每 $2$ 天更换一次新鲜配制的成软骨诱导分化培养基诱导液。注意观察细胞团成球情况及表面光滑度，决定终止细胞诱导的时间，并进行染色鉴定。

#### 3. 染色鉴定

##### 3.1 软骨球固定

将软骨球从离心管中转移至EP管，并使用 $1\times\text{PBS}$ 清洗两次，最后置于适量的 $4\%$ 中性甲醛溶液中。

##### 3.2 石蜡包埋切片

软骨球经石蜡包埋后切片。

##### 3.3 阿利辛蓝染色

将石蜡切片脱蜡和脱水，使用阿利辛蓝染色液染色 $30$  min，用自来水冲洗 $2$  min，蒸馏水冲洗 $1$ 次。

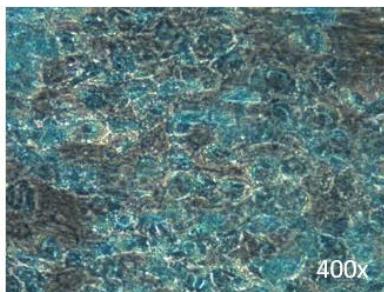
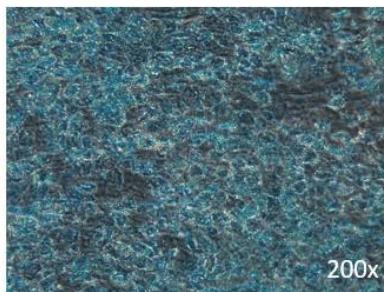
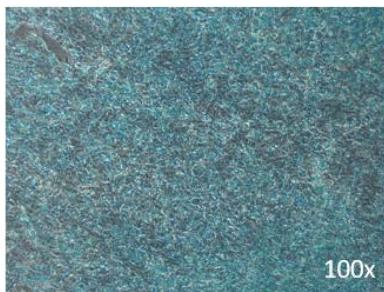
##### 3.4 诱导评估

显微镜下观察成软骨染色效果，并进行图像采集和诱导评估。诱导成功时，软骨组织中的内酸性粘多糖可被阿利辛蓝染成蓝绿色。

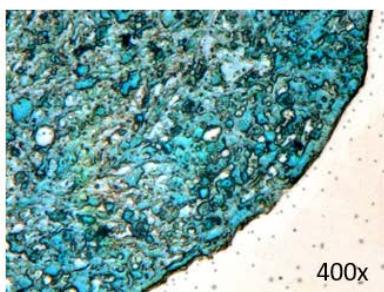
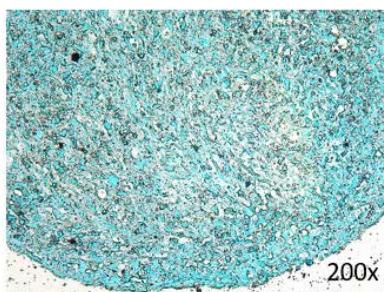
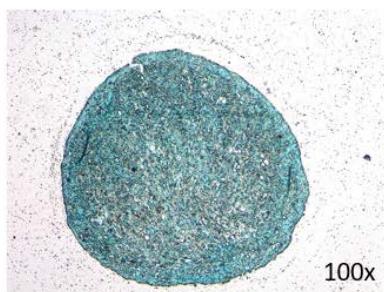
**NOTE:** 干细胞的成软骨分化水平因细胞类型、细胞供体来源，培养条件、细胞代次、细胞状态和分化时间等因素而异。

为科研加速，为工业赋能！





Human BMSC 成软骨平面诱导-21d



Human BMSC 成软骨三维诱导-21d

## 相关产品

试剂盒	规格	货号
HyCyte™ 肌腱干细胞成软骨诱导分化培养基	200 mL	TSGU-D203-200
	100 mL	TSGU-D203-100
	100 mL 即用型	TSGU-D203R

为科研加速，为工业赋能！

CRISPR/Cas9细胞基因编辑

载体构建/病毒包装 PDO类器官/动物模型CDX

稳转细胞株 HyCyte™干细胞/原代细胞 HyCyte™培养试剂盒



关注海星公众号



关注海星视频号

