

# HyCyte™ 兔骨髓间充质干细胞成软骨诱导分化试剂盒

## Rabbit Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Chondrogenic Differentiation Kit

货号: BMRB-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
Rabbit BMSCs 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:**
- 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。
  - 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。
  - 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。
  - 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兔骨髓间充质干细胞研制优化的HyCyte™成软骨诱导分化培养基试剂盒, 用于增强兔骨髓间充质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 and 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!



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 $1.0\sim 2.0\times 10^7$ cells/mL。

吸取20  $\mu$ L细胞悬液（约 $2.0\sim 4.0\times 10^5$ 个细胞）悬滴至24孔板中央。置于37°C，5% CO<sub>2</sub>培养环境下培养2~3 h使细胞贴壁。

2~3 h后补充1 mL成软骨诱导分化培养基诱导液正常培养。每隔2~3天换液一次。按照以上换液频率诱导21~28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×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30~60 min后，弃去固定液再使用1×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×PBS清洗两次，并加入适量1×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 $3\times 10^5$ 个细胞转移到15 mL离心管中，250 g离心4 min。

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

将15 mL离心管的管盖稍稍旋开，放置于37°C，5% CO<sub>2</sub>培养环境下培养。

#### 2. 细胞分化诱导

24 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°C，5% CO<sub>2</sub>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×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！

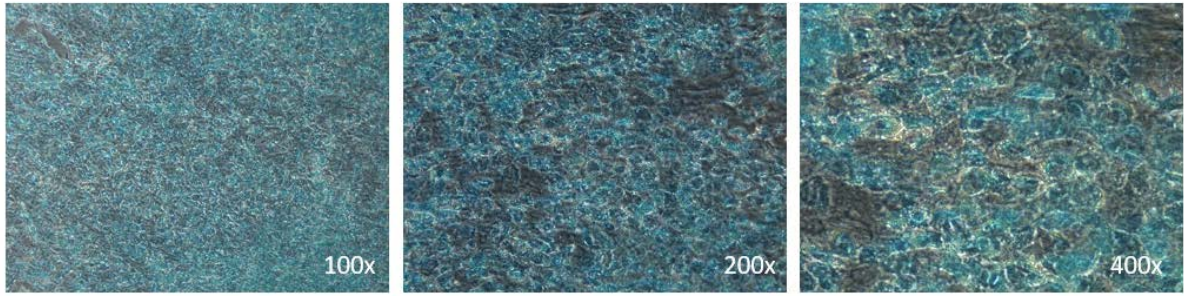


关注海星公众号

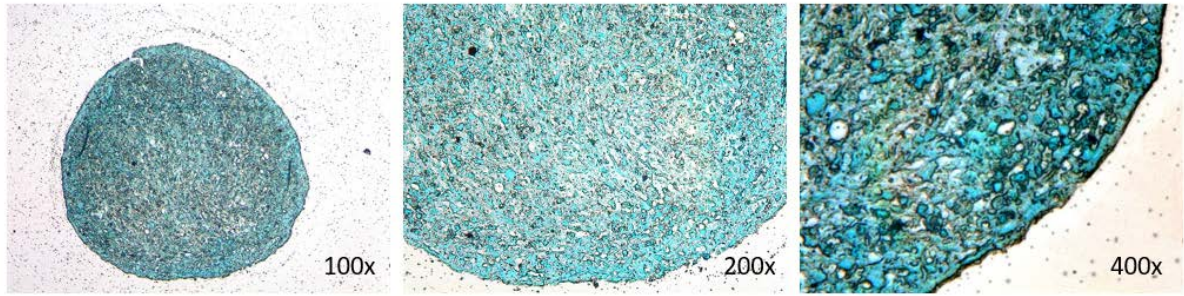


关注海星视频号





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™ 兔骨髓间充质干细胞	200 mL	BMRB-D203-200
成软骨诱导分化培养基	100 mL	BMRB-D203-100
	100 mL 即用型	BMRB-D203R

为科研加速，为工业赋能！



关注海星公众号



关注海星视频号

