

# HyCyte™ 犬脂肪间充质干细胞成软骨诱导分化试剂盒

# Dog Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells Chondrogenic Differentiation Kit

货号: ADDG-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
Dog ADSCs Chondrogenic Differentiation Basal Medium	97 mL	194 mL	2~8℃	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

**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。

#### 染色液

TGF-β3

TGF-β3 建议分装使用。

Dye Liquor: Alcian Blue Solution 阿利辛蓝染色液

5 mL

1 mL

10 mL

2 mL

2~8°C

-20°C

12 months

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℃, 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犬脂肪间充质干细 胞研制优化的HyCyte™成软骨诱导分化培养基试 剂盒, 用于增强犬脂肪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,为工业赋险!









# 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1.0~2.0×10e7cells/mL。

吸取20 μL细胞悬液 (约2.0~4.0×10e5个细胞) 悬滴至24孔板中央。置于37℃, 5% CO₂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 3×10e5 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℃, 5% CO₂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℃, 5% CO₂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。

る科研加速, る工业赋能!







海星商城二维码

HyCyte®干细胞/原代细胞/细胞系