HyCyte™ 兔骨髓间充质干细胞
成软骨诱导分化试剂盒（即用型）

Rabbit Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Chondrogenic Differentiation Kit

货号：BMRB-D203R　　规格：100 mL/Kit

产品组分

试剂盒组分	规格	保存条件	有效期
成软骨诱导分化培养基——预混液			
Rabbit BMSCs Chondrogenic Differentiation Premixed Medium (Contains Inducible Factors)	99 mL	2~8℃，避光	**3 months**
成软骨诱导分化培养基——诱导液			
TGF-β3	1 mL	-20℃	12 months
染色液			
Dye Liquor: Alcian Blue Solution　阿利辛蓝染色液	5 mL	2~8℃，避光	12 months

NOTE：每 1 mL 预混液添加 10 μLTGF-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。

NOTE：a. 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；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。

运输方式

产品冰袋冷藏运输

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

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% CO_2培养环境下培养2-3h使细胞贴壁。

2~3h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% CO_2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% 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×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。