

TransDiffer® Human Mesenchymal Stromal Cell Osteogenic Differentiation Medium

人间充质干细胞成骨分化培养基

使用前请仔细阅读说明书

目录号: MM301

保存: 各组分在相应温度下保存一年。

产品说明

TransDiffer® Human Mesenchymal Stromal Cell Osteogenic Differentiation Medium是一种含血清的完全培养基, 适用于将人间充质干细胞 (Human Mesenchymal Stromal Cells, MSCs) 向成骨细胞分化。本试剂盒普适性强, 适用于多种培养体系 (含血清及无血清) 培养的不同来源 (人多能性干细胞衍生、骨髓、脐带、脂肪来源) 的MSCs。本产品稳定性好, 配制好的完全培养基可于2-8℃稳定保存1个月。本产品分化效率高, 可用于间充质干细胞多向分化潜能鉴定中成骨分化的鉴定。

试剂盒组成

Component	MM301-01	Storage
TransDiffer® Human Mesenchymal Stromal Cell Osteogenic Differentiation Basal Medium	180 ml	2-8℃
TransDiffer® Human Mesenchymal Stromal Cell Osteogenic Differentiation Supplement	20 ml	-18℃及其以下避光保存 避免反复冻融

操作步骤

自备

Product Name	Catalog
PBS(1×)	TransGen, Cat. FG701-01
Recombinant Trypsin-EDTA Solution (1×)	TransGen, Cat. FG302-01
TransStem® Serum-Free, Xeno-Free Human Mesenchymal Stromal Cell Medium	TransGen, Cat. MM101-01
Gelatin	Sigma, Cat. 1288485
TransDetect® Alizarin Red S Staining Kit (1%, pH4.2)	TransGen, Cat. MM302

1、MSCs成骨诱导分化完全培养基的配制

将20 ml TransDiffer® Human Mesenchymal Stromal Cell Osteogenic Differentiation Supplement充分融化, 平衡至室温后加入到 180 ml TransDiffer® Human Mesenchymal Stromal Cell Osteogenic Differentiation Basal Medium中, 充分混匀。

2、0.1%明胶配制

取5g明胶溶解到500 ml PBS中, 120℃高压灭菌20分钟, 配置成1%的明胶, 冷却后, -18℃及其以下保存。铺板时根据0.1% 明胶的使用量, 用PBS进行稀释。

3、培养皿的包被

将0.1%明胶加入到待包被培养皿中, 加入量参考下表, 摇匀液体使其覆盖整个底面。然后放置在37℃培养箱中至少30 分钟。30 分钟后, 弃去明胶, 待培养皿晾干后, 用于接种细胞。

注: 包被明胶的培养皿在无菌和明胶未干的条件下, 可以在2-8℃保存两周。



细胞培养板（皿）	面积	单孔包被量
24-well	2 cm ²	0.25 ml
12-well	4 cm ²	0.5 ml
6-well	10 cm ²	1 ml
35 mm	10 cm ²	1 ml
60 mm	20 cm ²	2 ml
100 mm	60 cm ²	6 ml

4、分化流程

(1) 将生长状态良好的MSCs用Recombinant Trypsin-EDTA Solution (1×) 消化成单细胞，以 1×10^4 个细胞/cm²的密度接种至预先包被明胶的培养皿中，用TransStem® Serum-Free, Xeno-Free Human Mesenchymal Stromal Cell Medium (TransGen, Cat. MM101-01)培养基进行培养，每天更换一次培养基。

(2) 当MSCs汇合度达70%时，吸弃培养基，加入平衡至室温的MSCs成骨诱导分化完全培养基（1 ml /12孔板孔），起始分化。

注：起始分化的时间一般在接种后48-72小时，如果时间过长，提示细胞增殖能力不好，不宜用来进行成骨诱导分化。

(3) 每5天更换预热至37°C的MSCs成骨诱导分化完全培养基。

注：换液时需要快而轻柔，每次换液时留一点培养基覆盖住细胞，防止细胞卷边脱壁。

(4) 镜下观察钙结节析出情况，进行MSCs成骨分化鉴定。

不同来源的MSCs使用TransDiffer® Human Mesenchymal Stromal Cell Osteogenic Differentiation Medium进行成骨分化的时程不同，如下表所示：

来源	分化时程（天）
人多能性干细胞衍生	21+
骨髓	7-21
脂肪	14-21
脐带	14-32

5、成骨分化鉴定

推荐使用产品TransDetect® Alizarin Red S (1%, pH4.2) Staining Kit (TransGen, Cat. MM302) 进行成骨分化鉴定。

注意事项

- 用于分化的MSCs细胞状态是影响成骨分化成功及效率高低的因素。请使用生长状态良好的MSCs进行成骨分化。
- TransDiffer® Human Mesenchymal Stromal Cell Osteogenic Differentiation Supplement不能反复冻融，使用前充分融化，平衡至室温。配制好的完全培养基在2°C-8°C温度下保存1个月，如果一次用不完，请分装后，-18°C及其以下温度下避光保存，避免反复冻融。
- 间充质干细胞诱导过程中，容易出现卷边脱壁情况，如果出现卷边脱壁情况，建议降低起始诱导融合度重新进行诱导。诱导过程中，用预热培养基换液，手法轻柔，换液时不要吸干培养基，留一点覆盖住细胞，可以降低细胞脱壁的概率。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202111

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

