



成骨诱导分化培养基使用说明书

产品介绍

间充质干细胞成骨诱导分化培养基适用于不同来源的间充质干细胞(Mesenchymal Stem Cells, MSCs)，如脂肪(ADSCs)、脐带(UC-MSCs)、骨髓(BMSCs)。该培养基基于ISCT 2025年最新共识标准对“干细胞”术语的严格定义，专为满足其干性评估所需的三向分化实验中成骨诱导分化而设计。在成骨诱导分化培养基作用下，钙离子以钙盐方式沉淀下来形成钙结节，通过茜素红 S 染色（茜素红 S 和钙发生显色反应，产生一种深红色化合物），将钙结节染成深红色，即证明所诱导细胞具有成骨分化的能力，亦可通过着色物面积和深浅判定成骨分化的强弱。

试剂盒组成

套装名称	套装货号	组分信息	组分货号	规格	保存温度	保质期
成骨诱导分化培养基套装	KC050501	间充质干细胞成骨诱导分化基础培养基	KC050501-A	170mL	2-8℃	12个月
		间充质干细胞成骨诱导分化添加剂	KC050501-B	30mL	-20℃	12个月
		茜素红S染色液	KC050501-C	10mL	2-8℃	12个月

成骨诱导完全培养基配置和保存

1. 配制前至少6h，将套装中的成骨诱导分化添加剂（以下简称添加剂）放置于2-8℃冰箱内完全融化。
2. 将间充质干细胞成骨诱导分化添加剂加入到间充质干细胞成骨诱导分化基础培养基，尽可能将添加剂瓶中所有成分全部加入基础培养基中，拧紧基础培养基瓶盖，轻柔摇匀，标注名称和配制日期等信息，配制为成骨诱导分化完全培养基。

（注意：配制好的成骨诱导完全培养基需放置于2-8℃保存，保质期为1个月，所有试剂请于保质期内使用，过期成分可能影响诱导培养效果。若短期内无法用完全培养基，可按照套装内各成分体积比例配制所需量，剩余成分严格按照各自保存条件妥善保管，避免多次冻融。）

成骨诱导分化实验步骤

注意：1) 本操作步骤以六孔板为例，请根据实际情况选择合适的培养容器；

- 2) 诱导完全培养基使用前可放置室温平衡30分钟；
- 3) 诱导过程中为防止贴壁细胞和钙结节脱落，所有操作尽可能轻缓；
- 4) 诱导完成后，请确认钙结节后再进行染色，如果染色效果较差，可适当延长染色时间。

1. 消化收集 MSCs 计数，按照5000-8000cells/cm² 的密度接种6孔细胞培养板，MSCs 完全培养基2mL/孔，37℃、5%CO₂培养箱中培养。
2. 当细胞融合达到80%–90%时，弃去培养上清，每孔沿孔壁缓缓加入配制好的成骨诱导分化完全培养基2mL，对照组细胞培养孔加入2mL对照培养基，37℃、5%CO₂培养箱中培养。
3. 诱导组每隔3~4天更换新鲜的成骨诱导分化完全培养基，对照组更换等体积的对照培养基，37℃、5%CO₂培养箱中继续培养。



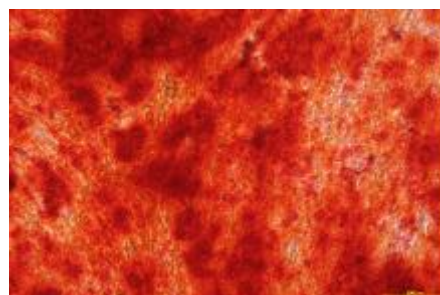
- 4.诱导2~3周后，显微镜下可见较多的钙结节（棕色颗粒状聚集物），结束诱导培养，用茜素红 S 进行染色。
- 5.诱导培养结束后，弃去培养上清，用1×PBS 洗涤细胞2-3次，每孔加入1mL 4%中性多聚甲醛溶液，室温固定30分钟（通风橱内进行）。
- 6.弃去固定液，用1×PBS 洗涤2-3次，每孔加入1mL 茜素红 S 染色液，室温染色5-10分钟。
- 7.弃去茜素红 S 染色液，用1×PBS 洗涤2-3次，充分洗去多余的染色液。
- 8.每孔加入1×1mL PBS，显微镜下观察茜素红染色效果并拍照。

结果分析

镜下观察可见较大面积深红色着色点，此处为钙结节，说明 MSCs 具有成骨能力。



人ADSCs, 20×



人UC-MSCs, 20×

注意事项

- 1.由于诱导培养时间较长，细胞初始接种密度不宜过高，避免诱导分化过程中过度增殖导致的细胞脱落。
- 2.对照组及实验组根据日常细胞的贴壁情况，贴壁较弱的细胞可以通过胶原包被的处理，增加细胞在诱导过程中的贴壁性。
- 3.染色过程中避免细胞被风干，影响显微观察效果。
- 4.本试剂盒仅用于科研。
- 5.如与皮肤、粘膜接触，请立即用自来水冲洗。