

Nuwacell™ hMSC 成骨分化试剂盒

一、产品简介

Nuwacell™ hMSC 成骨分化试剂盒是由安徽中盛溯源生物科技有限公司开发，该试剂盒具有高效成骨定向分化能力，可用于人类间充质干细胞向成骨诱导分化。

二、产品信息

表一：Nuwacell™ hMSC 成骨分化试剂盒产品说明

产品信息	货号	规格	储存条件
Nuwacell™ hMSC成骨分化试剂盒包含：	RP01014-C	1 Kit	2℃~8℃*
Nuwacell™ Osteogenic differentiation Basal Medium	RP01014-C-1	80 mL	2℃~8℃
Nuwacell™ Osteogenic differentiation Supplement	RP01014-C-2	20 mL	-20℃至-80℃

*将基础液和添加物混匀配置成完全培养基，可在 2℃~8℃中存储，2 周内用完。

三、试剂材料

表二：推荐试剂&材料

试剂&材料	品牌 (e.g.)	货号 (e.g.)
Nuwacell™ ncMission hMSC Medium	中盛溯源	RP02010
茜素红染液 2% Alizarin Red S	Sciencell	0223
1×DPBS w/o Ca ²⁺ /Mg ²⁺	Thermo Sci.	14190250
6孔板	Thermo Sci.	140685
1 mL/5 mL/10 mL/25 mL移液管	Thermo Sci.	N/A
1.5/2 mL冻存管	Thermo Sci.	N/A
10 μl/200 μl/1000 μl吸头	Rainin .	N/A

四、试剂准备

(一) Nuwacell™ hMSC 成骨分化试剂盒配制

- 在 4℃解冻 Osteogenic differentiation Supplement, 不要在 37℃条件下解冻。
- 在生物安全柜中，使用无菌移液管配制 100mL 分化完全培养基。

Nuwacell™ Osteogenic differentiation Basal Medium: 80 mL

Nuwacell™ Osteogenic differentiation Supplement: 20 mL

- 完全培养基可置于 4℃储存，2 周内使用。

TIPS: 可根据实际用量将 Supplement 分装后冷冻保存。冻融总次数不超过 2 次。

(三) 茜素红工作液的配制

- 1、茜素红储存液含量为 2%，常温保存。临用时，按茜素红储存液：去离子水=1:20
- 2、比例稀释为 0.1%的工作液，工作液应为黄褐色的澄清液体。

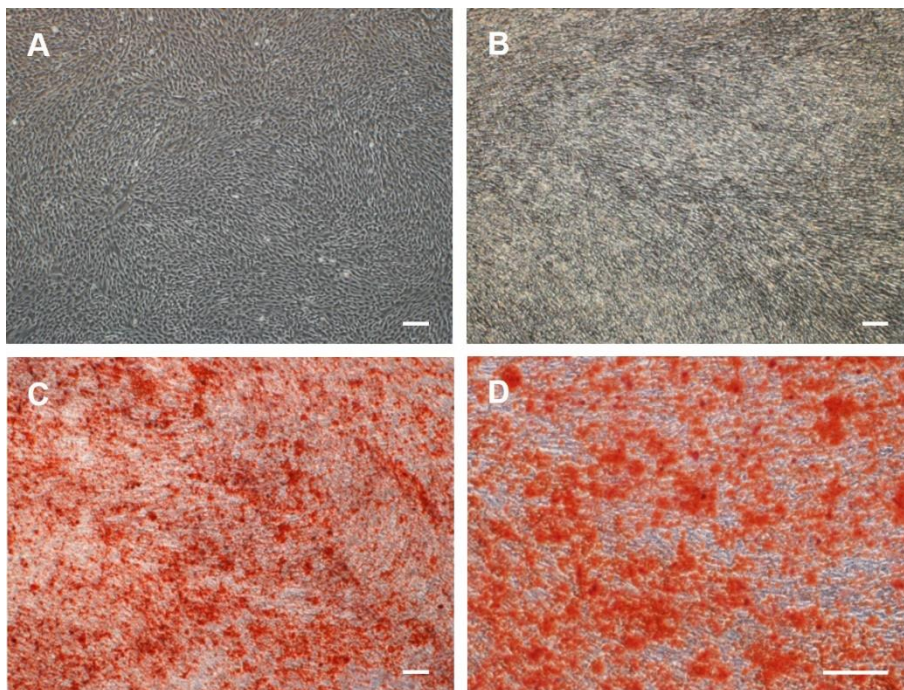
五、间充质干细胞成骨分化

(一) 间充质干细胞培养

1. **hMSC 的培养**：详见 **Nuwacell™ ncMission hMSC Medium** 使用说明书。
2. 用 **Nuwacell™ ncMission hMSC Medium** 培养间充质干细胞，将间充质干细胞按 5000-10000/cm² 的密度接种到六孔板中，水平十字摇匀三次，置于 37℃、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中，再次水平十字摇匀三次，培养。

(二) 间充质干细胞成骨分化

- 1、hMSC 汇合度达到 85%左右时，开启分化：吸去上清，设置实验组和对照组。实验组加入 **hMSC 成骨分化完全培养基**；对照组加入 **ncMission hMSC Medium**。
- 2、每 3-4 天换液一次，每次 2-3ml/孔，连续培养至第 21 天。
- 3、第 21 天，吸弃上清液，加入**固定液（4%多聚甲醛）**固定 30 分钟。
- 4、将分化组和对照组吸去上清，加入合适体积的**茜素红工作液**，室温避光孵育 20~60 分钟，然后吸去染液，用生理盐水或 DPBS 洗涤至未见背景色，每孔再加入生理盐水或 DPBS 浸润，显微镜下观察，拍照。



Nuwacell™hMSC 成骨分化试剂盒分化过程中细胞形态图示。200um。

A、B 分别为分化第 1、21 天时的细胞形态图示。C、D 为分化第 21 天镜下染色结果图示；标尺：