

小鼠 MC3T3-E1 成骨诱导分化试剂盒

货号：CSP080

一、产品描述

本产品由中乔新舟团队精心优化的小鼠 MC3T3-E1 细胞成骨诱导分化试剂盒，内包含适合小鼠 MC3T3-E1 细胞生长的基础培养基、优级胎牛血清、双抗及诱导细胞分化所需的添加物。

本产品仅用于科研用途，不可用于诊断、治疗、临床、家庭及其他用途。

二、产品组成成分及保存

货号	试剂名称	体积	保存条件	有效期
Csp080-a	地塞米松	200 μ L	-20 $^{\circ}$ C	1 Year
CSP080-b	抗坏血酸	2ml	-20 $^{\circ}$ C	1 Year
CSP080-c	β -甘油磷酸钠	2mL	-20 $^{\circ}$ C	1 Year
CSP080-d	双抗	2mL	-20 $^{\circ}$ C	1 Year
Csp080-e	胎牛血清	20mL	-20 $^{\circ}$ C	1 Year
Csp080-f	基础培养基	200mL	2-8 $^{\circ}$ C	1 Year
CSP080-g	茜素红染色液	30mL	RT (室温)	1 Year
Csp080-h	明胶	10ml	2-8 $^{\circ}$ C	1 Year
CSP080-I	L-丙胺酰-谷氨酰胺溶液 ALA-GLN	2ml	2-8 $^{\circ}$ C	1 Year

注意：

1. 为保证产品的有效性，请避免反复冻融。
2. 配制好的诱导培养基保存于 2-8℃，有效期为 2 周，请根据实验用量合理配制。
3. 建议每次每次配置 50ml 诱导剂为佳。

三、产品使用说明

1. 成骨诱导分化完全培养基的配制

① 室温条件下融化各因子及血清。各因子融化后，瞬时离心，使溶液集中于离心管底部。

(注意：若因子或血清中有沉淀物，属正常现象，无须过滤，避免成分丢失。)

② 根据实验用量，于无菌操作台中配制诱导分化完全培养基，建议每次配制 50mL，配制

比例见下表：

试剂成分	配制比例	50mL 配制体系
地塞米松	0.1%	50μL
抗坏血酸	1%	500μL
β-甘油磷酸钠	1%	500μL
ALA-GLN	1%	500ul
双抗	1%	500μL
胎牛血清	10%	5mL
基础培养基	补充至所需体积	补充至总体积为 50mL

四、成骨诱导分化实验步骤

①由于诱导时间比较长，建议提前使用明胶包被 6 孔板。（**注意此处是为了减少诱导过程**

细胞漂起、不贴壁）

方法：加 1 mL 0.1%明胶到六孔板中，摇匀，使其能均匀覆盖各孔底面。将铺有 0.1%明胶的六孔板放置在超净台或 CO₂ 培养箱至少 30 min 以上。在 30 min 后吸去明胶、即可用于接种细胞，或等待六孔板晾干再接种。

②建议取第 3~5 代、纯度达 90%以上、状态良好的 MC3T3-E1 细胞，将其消化下来，离心收集，使用 MC3T3-E1 细胞完全培养基调整细胞密度为 $1\sim 5 \times 10^5$ 个 cell/mL，均匀铺于 6 孔板中，每孔 2mL，置于 37℃ 恒温细胞培养箱中培养。（**注意：此处细胞密度及培养液体积以 6 孔板为例，若为其它培养器皿，请根据实际情况调整细胞密度及培养液体积。**）

③待细胞汇合度达 80%~100%时，即可进行诱导分化。

④小心吸弃细胞培养上清，沿孔壁缓慢加入提前配制好的诱导分化完全培养基，每孔 2mL，置于 37℃ 恒温细胞培养箱中培养。

（注意：完全培养基加入细胞前需提前置于 37℃ 预热。）

⑤每 2day 换用新鲜的诱导分化完全培养基。由于细胞量比较大，培养液颜色会偏黄色属于正常现象，及时换液即可。（**注意：完全培养基加入细胞前需提前置于 37℃ 预热。**）

⑥细胞诱导 3 周后，即可进行茜素红染色鉴定。

⑦诱导过程中，已经成骨的 MC3T3-E1 细胞会变褐色和变圆。

五、茜素红染色分析

① 细胞诱导分化结束后，小心吸弃细胞培养上清，1×PBS 润洗 1~2 次。每孔加入 1mL 细胞固定液（4%中性甲醛溶液等），室温固定 15-30 min。

（注意：操作一定要轻柔。）

② 吸弃细胞固定液，1×PBS 润洗 2 次。沿孔壁缓慢加入茜素红染色液，每孔 1mL，室温染色 30min。

（注意：染色液底部可能会有沉淀，吸取时尽量不要触及底部。若细胞染色后有沉淀，1×PBS 洗去即可。）

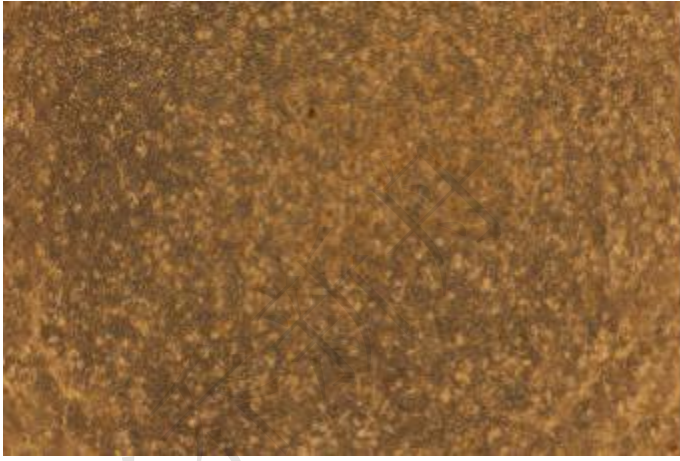
③ 吸出染色液，1×PBS 润洗，去掉浮色。显微镜下观察细胞染色效果，钙盐呈较深的橙红色。

④ 光镜拍照建议留一些 pbs,减少光圈的出现，以便呈现更好的成骨效果。

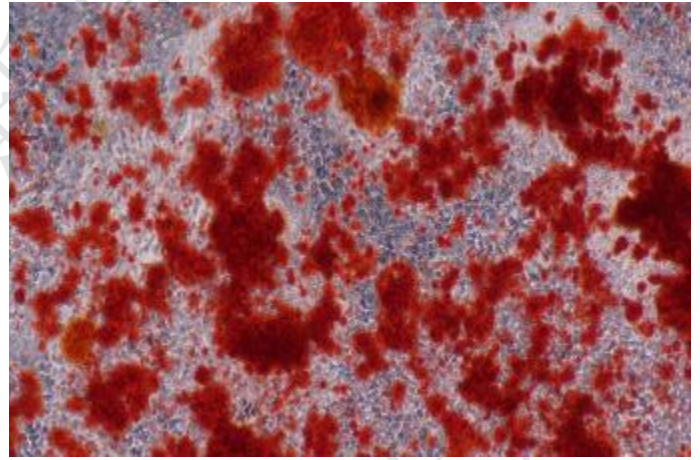
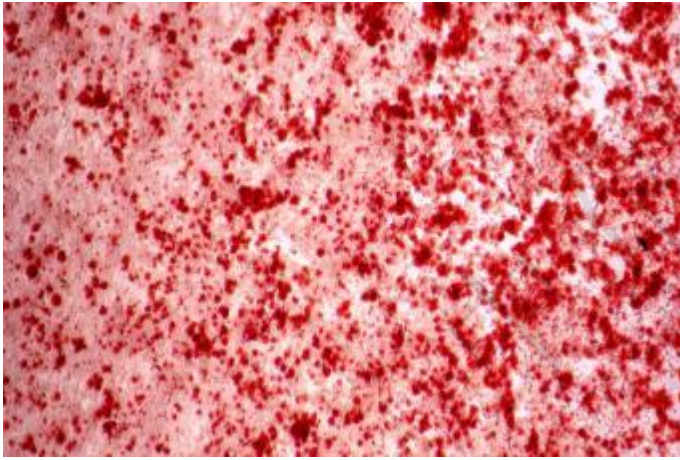
质量控制

无菌检测（细菌、真菌和支原体检测）、pH 测试、渗透压检测、内毒素。

21D 成骨分化光镜



茜素红染色



21D 4X

21D 10X