

## MC3T3-E1 成骨诱导分化与检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装规格
NBS6004	MC3T3-E1 成骨诱导分化与检测试剂盒	200ml/Kit

### 产品简介：

MC3T3-E1 成骨诱导分化与检测试剂盒是专为骨细胞研究设计的实验工具，适用于体外诱导 MC3T3-E1 细胞向成骨细胞分化及检测其分化进程。该试剂盒包含标准化诱导培养基、特异性染色试剂及定量检测组分，可完整支持细胞形态学观察、碱性磷酸酶活性检测及钙结节形成分析，为骨代谢研究提供可靠实验方案。

MC3T3-E1 成骨诱导分化完全培养基包括成骨诱导培养体系所有成分以及鉴定所用的茜素红染色液，可用于 MC3T3-E1 成骨诱导分化与染色。

### 特点优势：

诱导分化程序简单便捷

成骨诱导效率高

本产品已经过无菌检测、 pH 测试、渗透压检测、内毒素检测。

### 产品组成：

组分	名称	规格	保存	有效期
NBS6004-A	DMEM 低糖基础培养基	175 mL	2-8°C	1 年
NBS6004-B	特级胎牛血清	20mL	-20°C	6 年
NBS6004-C	成骨诱导添加物	5mL	-20°C	1 年
NBS6004-D	茜素红染色液	10mL	2-8°C	1 年
NBS6004-E	0.1%明胶溶液	10mL	2-8°C	1 年

注意：MC3T3-E1 成骨诱导分化完全培养基 2-8°C 保存，1 个月有效，请尽快使用。

**产品使用:****一：完全培养基的配制方法：**

1. 配制前将特级胎牛血清及成骨诱导添加物放置于 4°C 冰箱内完全融化。

**注意：**融化后的血清中可能出现絮状物，其主要成分为析出的血纤蛋白，这不会影响产品使用效果；如絮状物较多，可离心去除（不建议过滤，过滤会造成部分营养物质丢失）。

2. 用 75% 医用酒精擦拭消毒试剂盒中各瓶/管表面。

3. 将血清和成骨诱导添加物全部加入 DMEM 低糖培养基中。

4. 轻轻颠倒摇晃配制好的成骨诱导分化完全培养基，使其混合均匀。

**特别建议：**如短时间内无法使用完全部的培养基，建议按照上述配方比例分批配制；剩余成分可以分装为合格规格，按各自保存条件储存，切勿反复冻融。

**二：明胶包被培养器皿表面：**

1. 为了避免诱导过程中细胞漂浮，建议对成骨诱导使用的培养器皿表面进行明胶包被。

2. 取能覆盖整个培养皿/板底面量的 0.1% 明胶入到培养皿/板中，如 6 孔板中加 2mL/孔。

3. 摆匀液体使其覆盖整个培养皿/板的底面。

4. 将铺有 0.1% 明胶的培养皿/板室温放置（生物安全柜或超净工作台中）至少 30min 以上。

5. 吸弃明胶，待培养皿/板晾干后，1×PBS 洗 2 次，即可用于接种细胞。

**注意：**包被明胶的培养皿/板在无菌和明胶不蒸干的条件下，可以在 4°C 保存两周。

**三：成骨诱导分化操作规程（以 6 孔板为例）：**

1. 当细胞融合度达到 80-90% 时，消化细胞并计数；

2. 将细胞按照  $1 \times 10^5$  cells/mL 的密度接种在包被 0.1% 明胶的六孔板中，每孔加入 2mL 正常培养用完全培养基。

3. 将细胞置于 37°C，5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中进行培养。

4. 当细胞汇合度达到 60%-70% 时，吸弃上清，PBS 洗 2 次，每孔加入 2mL MC3T3-E1 成骨诱导分化完全培养基；

5. 每 3 天全换液 MC3T3-E1 成骨诱导分化完全培养基（使用前需预热至 37°C）；

6. 诱导 2-4 周后，视细胞的形态变化及生长情况，用茜素红染液进行染色。

**注意：**为防止成骨细胞脱落，建议成骨过程中出现大量钙结节之后，换液形式变为每两天一次半量换液。

**四：茜素红染色（以 6 孔板为例）：**

1. 诱导成骨分化结束后，吸弃上清，PBS 清洗 1-2 遍，每孔加入 2mL 4% 多聚甲醛溶液，固定 30min；

2. 将 4% 多聚甲醛吸净，PBS 清洗 2 遍。每孔中加入 1mL 茜素红染液，染色 5-10min；3.

吸净茜素红染液，PBS 清洗 2-3 遍。

3. 每孔加入 1mLPBS，倒置显微镜下观察成骨染色效果。
4. 显微镜下可观察到成骨分化细胞形成大量染成红色的钙结节，呈现典型的成骨分化。

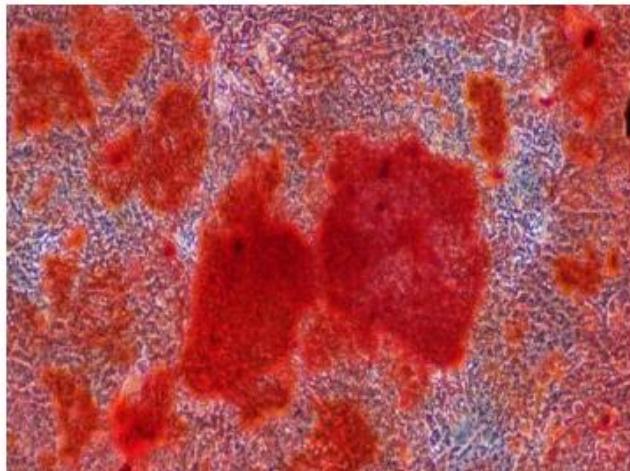


图 1

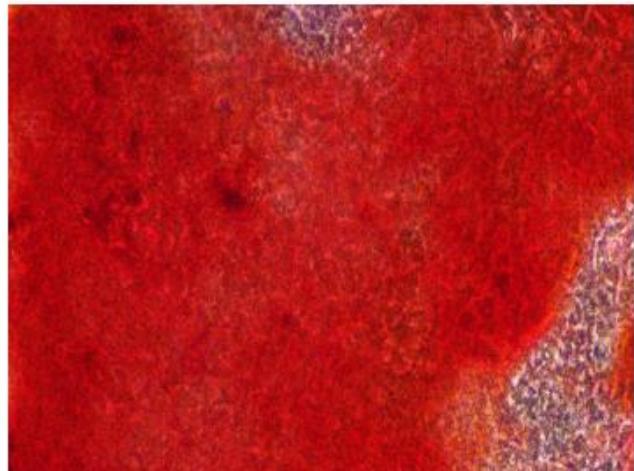


图 2

图 1: MC3T3-E1 成骨诱导 10d 染色效果 (100X)

图 2: MC3T3-E1 成骨诱导 10d 染色效果 (200X)

#### 注意事项：

1. 本产品所有组分均为无菌包装，在使用过程中请注意无菌操作，避免微生物污染；若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。
2. 本产品发货时使用冰袋运输，若收到货后暂时不使用，请按照保存条件将各组分保存。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其他用途！