

# TransDiffer<sup>®</sup> Human Mesenchymal Stromal Cell Chondrogenic Differentiation Medium

使用前请仔细阅读说明书

目录号: MM401

保存: 各组分在相应温度下保存一年。

## 产品说明

本试剂盒适用于人间充质干细胞 ( Human Mesenchymal Stromal Cells, MSCs ) 向软骨细胞的定向分化。本试剂盒培养基成分稳定, 分化效率高, 且普适性强, 适用于骨髓, 脐带, 脂肪, 人多能性干细胞衍生等多种来源的间充质干细胞向软骨细胞的分化。

## 产品组成

Component	MM401-01	Storage
TransDiffer <sup>®</sup> Human Mesenchymal Stromal Cell Chondrogenic Differentiation Basal Medium	95 ml	2-8°C
TransDiffer <sup>®</sup> Human Mesenchymal Stromal Cell Chondrogenic Differentiation Supplement	5 ml	-20°C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
多聚甲醛	Sigma, Cat. P6148
TransDetect <sup>®</sup> Alcian Blue Staining Solution (pH 2.5)	TransGen, Cat. MM402

### 1、MSCs成软骨诱导分化完全培养基的配制

将5 ml TransDiffer<sup>®</sup> Human Mesenchymal Stromal Cell Chondrogenic Differentiation Supplement融化后加入到 95 ml TransDiffer<sup>®</sup> Human Mesenchymal Stromal Cell Chondrogenic Differentiation Basal Medium中, 充分混匀。

### 2、4%多聚甲醛配制:

20 g多聚甲醛加入至500 ml PBS, 在水浴锅中60°C加热溶解, 调整pH至7.2-7.4。分装后-20°C保存备用, 使用时2-8°C解冻。2-8°C存放不超过2周。

### 3、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, 取 $3 \times 10^5$ 细胞转移到15 ml离心管中, 300×g离心5分钟。
- (2) 吸去上清。加入 0.5 ml MSCs 成软骨诱导分化完全培养基重悬沉淀, 清洗细胞, 300×g 离心 5 分钟。
- (3) 重复步骤 (2)。
- (4) 将步骤 (3) 获得的沉淀, 用 0.5 ml MSCs 成软骨诱导分化完全培养基重悬。300×g 离心 5 分钟。
- (5) 拧松离心管盖以便于气体交换, 将其放置于 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养 (24 小时之内不要摇动离心管)。
- (6) 当细胞团出现聚拢现象时 (一般为 24 小时或 48 小时后) 轻弹离心管底部使软骨球脱离管底悬浮在液体中。
- (7) 细胞每 2-3 天, 更换一次培养基, 换液时避开软骨球。14 天之前, 每次更换 0.5 ml 诱导分化培养基, 14 天后, 每次更换 1 ml 诱导分化培养基。
- (8) 持续诱导 21-28 天, 弃掉诱导分化培养基, 用 3 ml 1× PBS 清洗软骨球两次, 然后用 3 ml 4% 多聚甲醛固定软骨球。

### 4、成软骨分化鉴定

- (1) 固定后的软骨球进行石蜡或冰冻包埋。



(2) 推荐使用产品 *TransDetect*<sup>®</sup> Alcian Blue Staining Solution (pH 2.5) (TransGen, Cat. MM402) 进行成软骨分化鉴定。

#### 注意事项

- 用于分化的MSCs细胞状态是影响成软骨分化成功的重要因素。请使用生长状态良好、代次较早的MSCs进行成软骨分化。
- *TransDiffer*<sup>®</sup> Human Mesenchymal Stromal Cell Chondrogenic Differentiation Supplement不能反复冻融，使用前于2-8°C充分融化。配制好的完全培养基可于2-8°C稳定保存1个月，如果一次用不完，请充分混匀后分装，-20°C保存，避免反复冻融。

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](mailto:complaints@transgen.com)

