

成骨细胞矿化结节染色液(四环素法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

骨代谢是破骨细胞骨吸收与成骨细胞骨形成的动态平衡过程。成骨细胞负责骨基质的合成、分泌、矿化，是骨重建激活或终止的控制者，它在骨组织的创伤修复、骨组织的生长发育、骨量平衡中起着重要作用，是骨质疏松、骨折等骨病研究的主要焦点。成骨细胞分化是其主导骨形成的前提与基础。在成骨分化过程中，其基本的生物学特征是骨基质合成、分泌、矿化及成熟，而矿化结节是成骨细胞分化成熟的标志，同时也是成骨细胞行使成骨功能的主要形态学表现，观察成骨细胞的矿化结节是研究成骨细胞分化的常用手段之一。

成骨细胞矿化结节染色常用方法有四环素法和茜素红 S 法，四环素染色法是利用四环素与矿化结节中的钙盐形成荧光的磷酸复合物，可用荧光显微镜观察。

自备材料：

- 1、磷酸缓冲盐溶液(1×PBS,无钙镁)
- 2、培养基
- 3、蒸馏水
- 4、荧光显微镜

操作步骤(仅供参考)：

- 1、成骨细胞经培养，胰酶消化，接种培养于 6 孔板中，每孔有 1×10^5 个细胞。
- 2、培养基中添加 1%-2%四环素溶液，细胞连续观察、换液，培养 14 天。
- 3、小心吸除培养液，磷酸缓冲盐溶液(1×PBS)洗涤 2 次,每次 3min。
- 4、加入足量 Ob 固定液固定 15min。
- 5、磷酸缓冲盐溶液(1×PBS)洗涤 2 次,每次 3min。
- 6、加入 DAPI 染色液染色 5-8min。
- 7、轻轻吸除染色液,用磷酸缓冲盐溶液(1×PBS)洗涤 2 次,每次 3min。
- 8、直接在荧光显微镜快速观察，或抗荧光封片剂封片后再观察。

注意事项：

- 1、四环素溶液为无菌溶液，可以一次性分装小份保存，注意避免染菌；使用时常温溶解后与培养基按 1:100 比例混合后使用。
- 2、Ob 固定液宜挥发，开启后应密封保存。
- 3、DAPI 染色后应尽快观察，以免荧光消失，影响观察。也可以用抗荧光淬灭封片剂处理。

- 4、DAPI 不宜反复冻融，否则容易失效。且对人体有刺激性，请注意做好防护。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。