

人间充质干细胞 成脂诱导分化试剂盒使用说明书

【产品简介】

本产品可用于人脐带和脂肪间充质干细胞成脂诱导分化鉴定，针对人脐带和脂肪间充质干细胞的特性优化配方，人脐带和脂肪间充质干细胞的成脂分化效果优良。

本产品含血清成分，仅用于科研用途，不可用于诊断、治疗、临床及其他用途。

【产品组成】

人间充质干细胞成脂诱导分化培养基A液成分表

货号	产品名称	规格	保存条件	有效期
NC0601	人间充质干细胞成脂诱导分化培养基A	90 mL	2~8℃，避光	12个月
TL0001.S	胎牛血清	10 mL	-20℃，避光	12个月
NC0601.S1	人间充质干细胞成脂诱导分化添加物A1	0.5 ml	-20℃，避光	12个月
NC0601.S2	人间充质干细胞成脂诱导分化添加物A2	0.5 ml	2~8℃，避光	12个月

人间充质干细胞成脂诱导分化培养基B液成分表

货号	产品名称	规格	保存条件	有效期
NC0602	人间充质干细胞成脂诱导分化培养基B	90 mL	2~8℃，避光	12个月
TL0001.S	胎牛血清	10 mL	-20℃，避光	12个月
NC0602.S1	人间充质干细胞成脂诱导分化添加物B	0.5 mL	2~8℃，避光	12个月

其他组分

货号	产品名称	规格	保存条件	有效期
NC0602.S2	油红O染色液（储液）	10mL	2~8℃，避光	12个月

【注意事项】

- 1、该培养基A需要添加配套血清、添加物A1和A2后方可使用；该培养基B需要添加配套血清和添加物B后方可使用。
- 2、试剂盒内基础培养基、添加物A2、添加物B、染色液需置于4℃冰箱保存，保质期为1年；其他成分需置于-20℃保存，保质期为1年。
- 3、配制好的诱导分化完全培养基，需置于2~8℃冰箱保存，保质期为1个月，请按需配制。
- 4、所有产品请于保质期内使用；过期的成分可能严重影响诱导分化效果。
- 5、各类、各批次细胞在诱导过程中可能出现多种情况，请灵活调整A、B液的使用比例。

【操作流程】

人间充质干细胞成脂诱导分化培养基的配制

- 1、使用前，请将血清和所有添加物置于室温溶解。待试剂完全溶解后，轻轻摇晃使试剂混合均匀。
- 2、A液配制：按顺序将FBS、A1、A2先后加入到基础培养基A中，混匀做标识，即可使用。
- 3、B液配制：按顺序将FBS、B先后加入到基础培养基B中，混匀做标识，即可使用。

注意：配制好的完全培养基，需置于4℃冰箱保存，保质期为1个月，请按需配制。

人间充质干细胞成脂诱导分化操作步骤

本操作以六孔板为例：

- 1、当正常培养的细胞的融合度达到80~90%时，即可用温和酶进行消化。
- 2、将消化下来的细胞进行计数，根据计数结果，按 2×10^4 cells/cm² 的细胞密度接种在六孔板中，每孔加入2mL的间充质干细胞无血清培养基（货号：NC0103 & NC0103.S）。
- 3、将均匀接种好的细胞置于37℃，5% CO₂的培养箱中进行培养。
- 4、当细胞融合度达到100%时（细胞过饱和和有利于激发干细胞的成脂潜能），小心吸弃孔内完全培养基，向六孔板中加入2mL成脂

诱导分化完全培养基A液，操作时动作要轻，避免细胞发生脱落。

5、使用A液连续培养，每3~4天换液，分化期间，若部分细胞开始变圆、不贴壁或者出现较为严重的细胞收缩、死亡现象，更换为成脂诱导分化完全培养基B液，培养至细胞状态恢复。

6、再重复诱导分化步骤，直至观察到干细胞内出现明显的、足够多的脂滴后，可用B液维持培养基继续培养3~6天（每三天换液一次），直至脂滴大而饱满，即可结束诱导，根据实验需求对细胞进行染色和后续鉴定。

注意：

1、若培养过程中容易发生干细胞漂浮或干细胞回缩等现象，可在接种干细胞进行诱导之前对培养板进行0.1%明胶的包被处理。

2、A液刺激脂滴形成；B液促进脂滴增大；若在A液诱导过程中出现较为严重的细胞收缩、死亡现象，请及时更换为B液，直至细胞状态恢复。

油红O染色

注意：为防止脂滴脱落，所有操作尽可能轻柔

1、成脂诱导分化结束后，吸去六孔板中的成脂诱导分化培养基，用PBS 轻柔洗涤2-3次。

2、每孔加入2mL 4%多聚甲醛溶液，固定30min。

3、配制油红O工作液。油红O：纯化水=3:2，室温静置20min，过滤。室温可保存3h。（必须过滤或离心，因为油红O不溶于水，加入水后会快速析出，沉淀会影响染色观察；且加入水配成工作液后必须现用现配，不能存放）。

4、吸弃固定液，PBS轻柔洗涤2-3次。

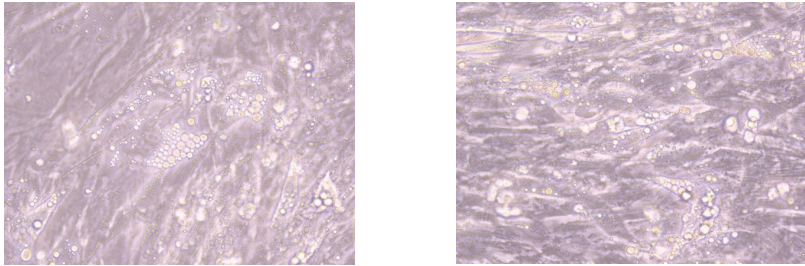
5、每孔加入2mL油红O工作液，室温染色30min。（30min即可，不可过夜，因为油红O会析出）

6、吸弃油红O，用PBS轻柔洗涤2-3次，直至视野中没有明显杂质。

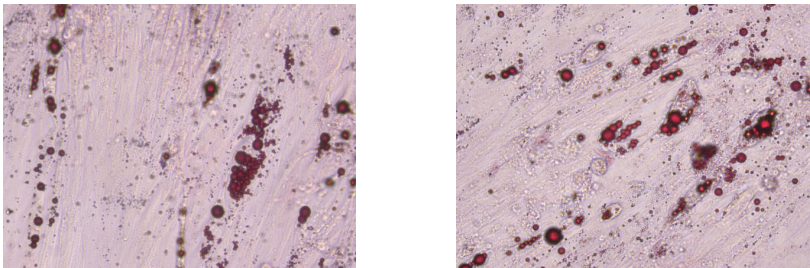
7、每孔加入2mL PBS，将培养板置于显微镜下观察成脂染色效果。

【分化效果】

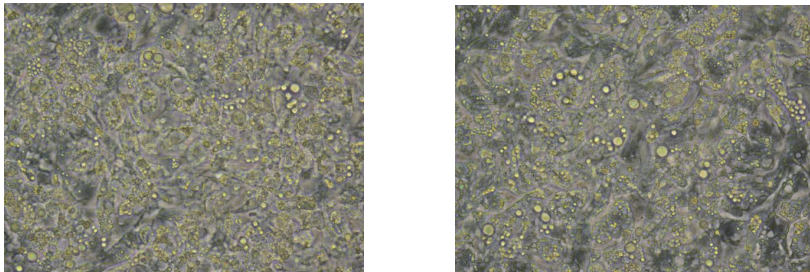
人脐带间充质干细胞诱导分化12天时显微镜下观察已经可见明显大脂滴形成



人脐带间充质干细胞诱导分化12天油红O染色后，显微镜下观察脂滴着色



人脂肪间充质干细胞诱导分化9天时显微镜下观察已经可见明显大脂滴形成



人脂肪间充质干细胞诱导分化9天油红O染色后，显微镜下观察脂滴着色

