

间充质干细胞成脂诱导分化试剂盒

货号：M-CH100571

产品描述

本产品精心优化的间充质干细胞成脂诱导分化试剂盒，可增强间充质干细胞向成脂细胞分化的能力。

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。

产品组成成分及保存

试剂名称	体积	保存条件	有效期
地塞米松	200 μ L	-20 $^{\circ}$ C	1 Year
IBMX	200 μ L	-20 $^{\circ}$ C	1 Year
罗格列酮	200 μ L	-20 $^{\circ}$ C	1 Year
胰岛素	400 μ L	-20 $^{\circ}$ C	1 Year
谷氨酰胺	2mL	-20 $^{\circ}$ C	1 Year
双抗	2mL	-20 $^{\circ}$ C	1 Year
胎牛血清	20mL	-20 $^{\circ}$ C	1 Year
基础培养基	200mL	2-8 $^{\circ}$ C	1 Year
油红O贮存液	5mL	2-8 $^{\circ}$ C（避光）	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 $^{\circ}$ C，有效期为2周，请根据实验用量合理配制。

产品使用说明

1. 成脂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
IBMX	0.1%	50μL
罗格列酮	0.1%	50μL
胰岛素	0.2%	100μL
谷氨酰胺	1%	500μL
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

表一

2. 成脂诱导分化实验步骤

- ①建议取第3~5代、纯度达90%以上、状态良好的间充质干细胞，将其消化下来，离心收集，使用含10%FBS的完全培养基调整细胞密度，均匀铺于培养瓶/板中，置于37℃恒温细胞培养箱中培养。（接种细胞量与接种面积按照 $1 \times 10^5 \text{cell/cm}^2$ 计算，可参考表二）

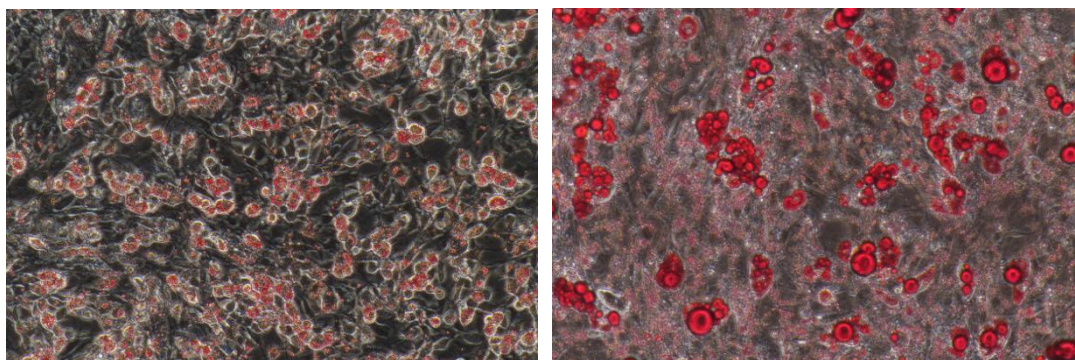
培养器皿	底面积	细胞量	培养液体积
24孔培养板	2cm/孔	$2 \times 10^5 \text{cell/孔}$	1mL/孔
12孔培养板	4.5cm/孔	$4.5 \times 10^5 \text{cell/孔}$	2mL/孔
6孔培养板	9.6cm/孔	$9.6 \times 10^5 \text{cell/孔}$	2mL/孔
T25培养瓶	25cm	$25 \times 10^5 \text{cell}$	5mL
6cm培养皿	21cm	$21 \times 10^5 \text{cell}$	5mL
10cm培养皿	55cm	$55 \times 10^5 \text{cell}$	10mL
培养器皿	底面积	细胞量	培养液体积
24孔培养板	2cm/孔	$2 \times 10^5 \text{cell/孔}$	1mL/孔

表二

- ②待细胞汇合度达80%~100%时，即可进行诱导分化。
- ③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，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。）
- ③每2day换用新鲜的诱导分化完全培养基。换液时，若细胞培养上清颜色变为澄清的黄色，是由于细胞量较大，培养基消耗较快导致的，请及时调整为每日换液。（注意：完全培养基加入前需提前置于37℃预热。）
- ④细胞诱导3周后，即可进行油红O染色鉴定。

3. 油红染色分析

- ①细胞诱导分化结束后，小心吸弃细胞培养上清， $1\times$ PBS润洗1~2次。加入适量细胞固定液，室温固定30 min。（细胞固定液为4%中性甲醛溶液等，体积参考表二）
- ②配制油红O工作液：油红O贮存液与蒸馏水按照3：2配制，（例：油红O贮存液3mL，蒸馏水2mL），混匀。使用滤纸过滤，收集滤液，即为油红O工作液。（注意：成脂细胞内的油滴极易脱落，操作时须谨慎。）
- ③细胞固定完成后，吸弃细胞固定液， $1\times$ PBS润洗2次。沿孔壁缓慢加入油红O染色液，每孔1mL，室温染色30min。（注意：油红O工作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，PBS洗去即可。）
- ④吸出染色液，PBS润洗，去掉浮色。显微镜下观察细胞染色效果。细胞内油滴着色，呈红色。（注意：油红O工作液不可重复使用，不建议回收。）



图片仅供参考

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