

# 人骨髓间充质干细胞成脂诱导分化培养基

产品名称	目录号	产品规格	储存条件	保质期
人骨髓间充质干细胞成脂诱导分化培养基	SP06012	1 Kit	基培 2-8°C 补料 -20°C	12 个月

## 1 产品说明:

人骨髓间充质干细胞成脂诱导分化培养基主要适用于人骨髓间充质干细胞。这些干细胞源自人的骨髓组织，具有多能干细胞的特性，可以向多个细胞系分化，包括成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞等。成脂诱导分化培养基的设计旨在促使这些人骨髓间充质干细胞朝向脂肪细胞的方向分化。这对于研究脂肪组织发育、代谢调节以及与肥胖相关的机制具有重要意义。通过使用成脂诱导分化培养基，研究人员可以模拟和促进人骨髓间充质干细胞向脂肪细胞的分化过程，为相关领域的实验研究提供支持。

## 2 使用说明:

### 套装A液成分:

成分名称	添加体积	储存条件
间充质干细胞成脂诱导分化基础培养基 A	177 mL	2-8°C避光保存
成脂诱导分化专用 FBS	20 mL	-20°C避光保存
人骨髓间充质干细胞成脂分化补料 A1	2.8 mL	-20°C避光保存
人骨髓间充质干细胞成脂分化补料 A2	200 $\mu$ L	-20°C避光保存

### 套装B液成分:

成分名称	添加体积	储存条件
间充质干细胞成脂诱导分化基础培养基 B	177.2 mL	2-8°C避光保存
成脂诱导分化专用 FBS	20 mL	-20°C避光保存
人骨髓间充质干细胞成脂分化补料 B	2.8 mL	-20°C避光保存

### 套装辅助试剂:

成分名称	添加体积	储存条件
油红 O 染色液	10 mL	2-8°C避光保存
明胶包被液	10 mL	2-8°C避光保存

## 操作流程：

### 一、人骨髓间充质干细胞成脂诱导分化培养基的准备

1. 本品为试剂盒型，使用前需将试剂盒内各成分试剂混匀。（请勿将A液与B液混淆）
2. 准备工作：将血清于 4℃ 解冻至完全融化；将各添加物于室温解冻至完全融化，轻轻摇晃 A①、B混匀；A②短暂离心，使试剂能全部收集至管底。（配制好的完全培养基请 4℃ 避光保存，1个月内用完）
3. A液配置：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。
4. B液配置：按顺序将 FBS、B 先后后加入到基础培养基B中；混匀做标识，即可使用。

注意：步骤 3、4 中无菌吸取试剂管中的试剂成分，将枪头伸至培养基液面下方快速注入，轻微吹打洗涤枪头。再吸取少量培养基洗涤试剂管，尽可能将所有组分完整地加到基础培养基中，可以更好得保证培养基的效果。

### 二、人骨髓间充质干细胞成脂诱导分化操作指导

#### 注意事项：

1. 试剂准备：此过程需要准备人骨髓间充质干细胞完全培养基、0.25% 胰酶、1×PBS 以及人骨髓间充质干细胞成脂诱导分化培养基。
2. 明胶包被：明胶包被有助于减少细胞诱导过程中的细胞回缩、飘起、卷边、贴壁不牢等现象。操作步骤为：加适量明胶包被液，覆盖孔板底部即可，于超净台或细胞培养箱孵育 30min，吸除明胶包被液，即可用于实验接种。
3. 温度：细胞培养基温度变化是引发细胞诱导过程中的飘起、卷边的主要影响因素。因此诱导培养基在换液前一定要预热至 37℃，在外观察细胞时间不可过长（建议 10 分钟以内）。
4. 换液：同时操作孔数不可过多（建议6孔以内），换液时建议沿孔板侧壁轻柔缓慢得注入。

#### 本成脂诱导操作指导以六孔板为例：

1. 当您的人骨髓间充质干细胞的融合度达到 80~90% 时，即可用0.25%胰酶进行消化。
2. 将消化下来的人骨髓间充质干细胞进行计数，根据计数结果，按  $2\sim3 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> 的细胞密度接种在六孔板中，每孔加入 2mL 的人骨髓间充质干细胞完全培养基。
3. 将均匀接种好的人骨髓间充质干细胞置于 37℃，5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中进行培养。
4. 当细胞融合度达到100%时（细胞过饱和有利于激发干细胞的成脂潜能），小心的将孔内完全培养基吸走，向六孔板 中加入 2mL 人骨髓间充质干细胞成脂诱导分化培养基 A 液完全培养基。
5. A 液诱导 2~3 天后，吸走六孔板的诱导完全培养基，每孔加入 2mL 人骨髓间充质干细胞成脂诱导分化培养基B液完全培养基维持 1 天。

注：A 液诱导时长 2~3 天均可，诱导期间细胞出现形态变化为正常现象；“A 2天+B 1天”的方案对细胞的刺激更温和，新手使用较为稳妥；“A 3天+B 1天”的方案对细胞的刺激更强，在细胞状态优秀、操作者经验丰富的情况下可以加快实验进程。

6. A、B 两种培养基交替诱导 3~5 次后，当观察到干细胞内出现明显的、足够多的脂滴后，可用 B 液继续培养 3~6 天（每 2~3 天换液一次），至直脂滴变得足够大和饱满，即可结束诱导，根据实验需求对细胞进行染色和后续鉴定。

### 三、油红O染色液的使用

1. 当您的成脂诱导实验结束后，可进行油红O染色确定诱导效果（本试剂盒提供饱和油红O染色液，需配制成工作液后使用）。
2. 吸走孔板里的成脂诱导分化完全培养基，用 1×PBS 冲洗 1~2 遍。
3. 加入4%中性甲醛溶液（覆盖细胞表面即可），对细胞固定 30 分钟。
4. 细胞固定期间，可配制油红O工作液。饱和油红O溶液：蒸馏水 =3:2，混匀后用中性滤纸或尼龙材质滤膜过滤除去杂质。
5. 吸走4%中性甲醛溶液，用 1×PBS 冲洗 1~2 遍。
6. 以六孔板为例，每孔加入1mL 油红O工作液，室温染色 30 分钟。
7. 吸走油红O工作液，用 1×PBS 冲洗 1~2 次，把背景杂质洗干净，即可在显微镜下观察诱导和染色效果。



### 3 注意和声明:

- 1、在操作过程中，请确保无菌条件；
- 2、本产品补料融化后有轻微白色沉淀，该成分为L-谷氨酰胺，不影响正常使用；
- 3、为保持本产品的最佳使用效果，不宜将其长时间放置于室温或较高的温度环境中；
- 4、仅用于研究和进一步生产，不得直接用于人或动物；
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

