

人脂肪间充质干细胞成脂诱导分化培养基

产品说明书

一、产品描述

人脂肪间充质干细胞成脂诱导分化培养基主要适用于人脂肪间充质干细胞（hAD-MSCs）体外成脂诱导分化研究。人脂肪间充质干细胞来源于脂肪组织，具有多向分化潜能，可向成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞等方向分化。

本产品通过成脂诱导分化 A 液与 B 液交替作用，促进 hAD-MSCs 向脂肪细胞方向分化，可用于脂肪组织发育、脂代谢调控、肥胖相关机制以及药物筛选等研究。

二、产品信息

产品名称	目录号	产品规格	储存条件	保质期
人脂肪间充质干细胞成脂诱导分化培养基	SP06022	1 Kit	基培 2~8℃ 补料 -20℃	12 个月

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℃ 避光保存
成脂诱导分化专用 FBS	20 mL	-20℃ 避光保存
人脂肪间充质干细胞成脂分化补料 A1	2.8 mL	-20℃ 避光保存
人脂肪间充质干细胞成脂分化补料 A2	200 μ L	-20℃ 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℃ 避光保存
成脂诱导分化专用 FBS	20 mL	-20℃ 避光保存
人脂肪间充质干细胞成脂分化补料 B	2.8 mL	-20℃ 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℃ 避光保存
明胶包被液	10 mL	2~8℃ 避光保存

三、使用说明

（一）人脂肪间充质干细胞成脂诱导分化培养基的准备

- 本品为试剂盒型产品，使用前需将试剂盒内各组分充分混匀。请勿将 A 液与 B 液混淆。
- 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 和 B 组分混匀；A2 可短暂离心，使试剂全部收集至管底。配制好的完全培养基应置于 4℃ 避光保存，并建议 1 个月内使用完毕。
- A 液配置：按顺序将 FBS、A1、A2 依次加入基础培养基 A 中，轻轻混匀并做好标识，即可使用。
- B 液配置：按顺序将 FBS、B 依次加入基础培养基 B 中，轻轻混匀并做好标识，即可使用。
- 无菌吸取试剂管中组分时，可将枪头伸至培养基液面下方快速注入，并轻微吹打洗涤枪头；也可吸取少量基础培养基洗涤试剂管，尽可能将所有组分完整加入基础培养基中，以保证培养基使用效果。

（二）人脂肪间充质干细胞成脂诱导分化操作指导

注意事项：

- 试剂准备：实验需准备人脂肪间充质干细胞完全培养基、0.25% 胰酶、1×PBS 以及人脂肪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、卷边和贴壁不牢等现象。操作时加入适量明胶包被液覆盖孔板底部，于超净台或细胞培养箱孵育 30 min，吸除明胶包被液后即可用于细胞接种。
3. 温度：培养基温度变化是诱导过程中细胞飘起或卷边的重要因素。换液前应将诱导培养基预热至 37℃；在培养箱外观察细胞时间不宜过长，建议控制在 10 min 以内。
4. 换液：同时操作孔数不宜过多，建议不超过 6 孔；换液时应沿孔板侧壁轻柔、缓慢加入，不要直接冲击细胞层。

操作步骤：

1. 当人脂肪间充质干细胞融合度达到 80%~90% 时，可用 0.25% 胰酶进行消化。
2. 将消化下来的人脂肪间充质干细胞进行计数，根据计数结果，按 $2\sim3\times10^4$ cells/cm² 的细胞密度接种于六孔板中，每孔加入 2 mL 人脂肪间充质干细胞完全培养基。
3. 将均匀接种好的细胞置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。
4. 当细胞融合度达到 100% 时，吸去孔内完全培养基，向六孔板中每孔加入 2 mL 人脂肪间充质干细胞成脂诱导分化培养基 A 液完全培养基。细胞过饱和和有利于激发干细胞的成脂潜能。
5. A 液诱导 2~3 天后，吸去诱导完全培养基，每孔加入 2 mL 人脂肪间充质干细胞成脂诱导分化培养基 B 液完全培养基，维持培养 1 天。A 液诱导 2 天方案刺激较温和，适合新手；A 液诱导 3 天方案刺激较强，可在细胞状态良好且操作者经验较丰富时使用。
6. A、B 两种培养基交替诱导 3~5 次后，当观察到细胞内出现明显且足够多的脂滴时，可继续用 B 液培养 3~6 天，每 2~3 天换液一次，直至脂滴足够大且饱满。随后可结束诱导，并根据实验需求进行染色和后续鉴定。

（三）油红 O 染色液的使用

1. 成脂诱导实验结束后，可进行油红 O 染色以确定诱导效果。本试剂盒提供饱和油红 O 染色液，使用前需配制为工作液。
2. 吸去孔板中的成脂诱导分化完全培养基，用 1×PBS 冲洗 1~2 次。
3. 加入 4% 中性甲醛溶液，以覆盖细胞表面为宜，固定细胞 30 min。
4. 细胞固定期间配制油红 O 工作液。按饱和油红 O 溶液:蒸馏水 = 3:2 混匀，并用中性滤纸或尼龙材质滤膜过滤除去杂质。
5. 吸去 4% 中性甲醛溶液，用 1×PBS 冲洗 1~2 次。
6. 以六孔板为例，每孔加入 1 mL 油红 O 工作液，室温染色 30 min。
7. 吸去油红 O 工作液，用 1×PBS 冲洗 1~2 次，将背景杂质洗净后，即可在显微镜下观察诱导和染色效果。

四、注意和声明

1. 操作过程中请确保无菌条件。
2. 本产品补料融化后如有轻微白色沉淀，通常为 L-谷氨酰胺，不影响正常使用。
3. 为保持产品最佳使用效果，不宜将其长时间放置于室温或较高温度环境中。
4. 本产品仅用于研究和进一步生产，不得直接用于人或动物。
5. 为了安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

五、免责声明与客户服务

本产品应按照产品说明书所载明的适用范围、操作方法及储存条件使用。由于不同实验体系、样本来源及操作条件可能存在差异，用户在使用前应结合自身实验目的对产品适用性进行评估与验证。对于未按说明书要求使用、超出产品适用范围使用，或因操作条件变更而导致的实验结果差异或相关影响，本公司不承担相应责任。如需技术支持或更多产品信息，请联系 SPERIKON。