

## 产品中文说明书

# **OriCell C57BL/6**小鼠脂肪间质干细胞 成脂诱导分化培养基试剂盒

货号：**MUBMD-90031**

## 产品描述

由Cyagen团队精心优化的OriCell C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化培养基试剂盒，试剂盒包括适合C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化的基础培养基、经甄选的胎牛血清及添加物。

本产品可增强C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞向脂肪方向诱导分化的能力。

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。

## 试剂盒组成成分

### C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化培养基 A液（诱导培养基）：

C57BL/6 Mouse Adipose-derived Stem Cell Adipogenic Differentiation Basal Medium A C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化培养基 A 液基础培养基	175 mL
C57BL/6 Mouse Adipose-derived Stem Cell Adipogenic Differentiation Fetal Bovine Serum C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化专用胎牛血清	20 mL
Penicillin-Streptomycin 双抗	2 mL
Glutamine 谷氨酰胺	2 mL
Insulin 胰岛素	400 $\mu$ L
IBMX 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤	200 $\mu$ L
Rosiglitazone 罗格列酮	200 $\mu$ L
Dexamethasone 地塞米松	200 $\mu$ L

## C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化培养基 B 液（维持培养基）：

C57BL/6 Mouse Adipose-derived Stem Cell Adipogenic Differentiation Basal Medium B C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化培养基 B 液基础培养基	175 mL
C57BL/6 Mouse Adipose-derived Stem Cell Adipogenic Differentiation Fetal Bovine Serum C57BL/6 小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化专用胎牛血清	20 mL
Penicillin-Streptomycin 双抗	2 mL
Glutamine 谷氨酰胺	2 mL
Insulin 胰岛素	400 $\mu$ L
油红 O 染液	5 mL

## 使用说明

### 成脂诱导分化培养基 A 液的配制

- 使用前，请将血清置于2-8℃环境中过夜解冻直至血清完全溶解，轻晃试剂瓶以确保血清混合均匀。本公司血清经热灭活处理，解冻后即可使用。



**注意：**解冻后的血清中可能会含有少量絮状沉淀，这些物质对产品质量无影响。不建议采取过滤的方法去除沉淀物，此操作会导致血清中部分营养物质流失。

- 配制前30 min左右，室温溶解地塞米松、胰岛素、IBMX、罗格列酮、双抗和谷氨酰胺，轻轻地上下颠倒试剂管以确保试剂混合均匀。



**注意：**在打开盖子前先短暂离心（2400 g），以确保添加试剂能全部收集。



**注意：**为了确保溶解效果良好，请将 IBMX 放置于 37℃ 水浴锅中温热直至完全溶解。

- 用70%乙醇擦拭试剂盒中各瓶/管的开口外壁，室温放置数秒使酒精挥发。
- 超净工作台将C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞专用胎牛血清、双抗和谷氨酰胺全部加入C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化培养基 A 液基础培养基中。
- 无菌吸取少量A液基础培养基洗涤各瓶/管，尽可能的将所有组分完整的加入A液基础培养基中。
- 将地塞米松、胰岛素、IBMX和罗格列酮全部加入A 液基础培养基中。

7. 无菌吸取少量A液基础培养基洗涤各瓶/管，尽可能的将所有组分完整的加入A液基础培养基中。
8. 重复操作步骤7。
9. 轻晃配制好的完全培养基，确保混合均匀之后即可使用。

### 成脂诱导分化培养基 B液的配制

1. 使用前，请将血清置于2-8℃环境中过夜解冻直至血清完全溶解，轻晃试剂瓶以确保血清混合均匀。本公司血清经热灭活处理，解冻后即可使用。
2. 配制前30 min左右，室温溶解胰岛素、双抗和谷氨酰胺，轻轻地上下颠倒试剂管以确保试剂混合均匀。



**注意：**在打开盖子前先短暂离心（5000 g），以确保添加试剂能全部收集。

3. 用70%乙醇擦拭试剂盒中各瓶/管的开口外壁，室温放置数秒使酒精挥发。
4. 超净工作台将C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞专用胎牛血清、双抗和谷氨酰胺全部加入间质干细胞成脂诱导分化培养基 B 液基础培养基中。
5. 无菌吸取少量 B 液基础培养基洗涤各瓶/管，尽可能的将所有组分完整的加入 B 液基础培养基中。
6. 将胰岛素加入B 液基础培养基中。
7. 无菌吸取少量 B 液基础培养基洗涤试剂管，尽可能的将所有组分完整的加入 B 液基础培养基中。
8. 重复操作步骤7。
9. 轻晃配制好的完全培养基，确保混合均匀之后即可使用。



**注意：**本公司完全培养基试剂盒中的每个成分均为无菌分装，但为确保完全无菌，也可以将混合后的完全培养基进行再次过滤除菌（0.22 μm 滤膜）。

## 成脂诱导分化操作规程

### 所需材料

- 0.25%Trypsin-0.04%EDTA（货号：TEDTA-10001）
- Phosphate-BufferedSaline (1×PBS)（货号：PBS-10001）
- OriCell C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞完全培养基（货号：MUBMD-90011）
- OriCell C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化完全培养基（货号：MUBMD-90031）



## 操作

**注意：**本操作规程以六孔板为例

1. 将OriCell C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞置于37°C，5% CO<sub>2</sub>的培养箱中培养。
2. 当细胞融合度达到80%-90%时，用0.25%Trypsin-0.04%EDTA进行消化。
3. 将消化下来的间质干细胞按照 $2 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>的细胞密度接种在六孔板中，每孔加入2 mL完全培养基。
4. 将细胞置于37°C，5% CO<sub>2</sub>的培养箱中进行培养。
5. 每隔三天换液，直到细胞融合度达到100%或者过融合。
6. 小心地将间质干细胞完全培养基吸走，向六孔板中加入2 mL OriCell C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化培养基 A 液。
7. 诱导3天后，吸走六孔板中的A液，加入2 mL OriCell C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化培养基B液。
8. 24h后，吸走B液，换回A液进行诱导。
9. A液和B液交替作用3-5次后（12-20天），继续用 B 液维持培养4-7天直到脂滴变得足够大、圆。B 液维持培养期间，每隔2-3天需要换用新鲜的B液。

## 油红 O 染色分析

### 所需材料

- Phosphate-Buffered Saline (1×PBS)（货号： PBS-10001）
- 4%中性甲醛溶液
- 油红O染液

### 操作

1. 成脂诱导分化结束后，吸走六孔板中的间质干细胞成脂诱导分化培养基，用1×PBS冲洗1-2次。每孔加入2 mL 4%中性甲醛溶液，固定30 min。
2. 吸走中性甲醛溶液，用1×PBS冲洗2次。每孔中加入1 mL油红O染料工作液染色30min（工作液配制方法：油红O贮存液:蒸馏水=3:2，混匀后用中性滤纸过滤即可）。
3. 吸走油红O染液，用1×PBS冲洗2-3次。
4. 将培养板置于显微镜下观察成脂染色效果。

## 产品稳定性及保存条件

1. 所有产品均需避光保存。
2. 间质干细胞成脂诱导分化 A 液和 B 液的基础培养基和油红O置于2-8℃保存，保质期为1年；其他成分置于-20℃保存，保质期为2年；完全培养基配制好后于2-8℃中保存，保质期为1个月。
3. 所有产品请于保质期内使用，超过保质期，必须放弃使用。
4. 为确保产品质量，请避免反复冻融相关产品。

## 质量控制

OriCell C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞成脂诱导分化培养基已用OriCell C57BL/6小鼠脂肪间质干细胞进行性能测试。

主要的鉴定标准包括：

- 无菌检测（细菌、真菌和支原体检测）
- pH测试
- 渗透压检测
- 内毒素检测

**Cyagen Biosciences保留OriCell细胞培养产品技术文件的所有权利。**

**未经Cyagen Biosciences的书面许可，本文的任何部分，不得改编或转载用作其他商业用途。**