

## 产品中文说明书

**OriCell** 人尿源性干细胞  
成脂诱导分化培养基试剂盒

货号: **HUXUD-90031**

## 产品描述

由Cyagen团队精心优化的OriCell 人尿源性干细胞成脂诱导分化培养基试剂盒，试剂盒包括适合人尿源性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。

本产品可增强人尿源性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

### 人尿源性干细胞成脂诱导分化培养基 A液（诱导培养基）：

Human Urine-Derived Stem Cell Adipogenic Differentiation Basal Medium A 人尿源性干细胞成脂诱导分化培养基 A 液基础培养基	175 mL
Human Urine-Derived Stem Cell Adipogenic Differentiation Medium Fetal Bovine Serum 人尿源性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

## 人尿源性干细胞成脂诱导分化培养基 B 液（维持培养基）：

Human Urine-Derived Stem Cell Adipogenic Differentiation Basal Medium B 人尿源性干细胞成脂诱导分化培养基 B 液基础培养基	175 mL
Human Urine-Derived Stem Cell Adipogenic Differentiation Medium Fetal Bovine Serum 人尿源性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

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。



**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。

2. 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  $\times$ 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。

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. 超净工作台中将人尿源性干细胞专用胎牛血清、双抗和谷氨酰胺全部加入人尿源性干细胞成脂诱导分化培养基 A 液基础培养基中。

5. 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。

6. 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. 超净工作台中将人尿源性干细胞专用胎牛血清、双抗和谷氨酰胺全部加入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-Buffered Saline (1×PBS)（货号： PBS-10001）
- OriCell 人尿源性干细胞完全培养基（货号： HUXUD-90011）
- OriCell 人尿源性干细胞成脂诱导分化完全培养基（货号： HUXUD-90031）



## 操作

**注意：**本操作规程以六孔板为例

1. 将人尿源性干细胞置于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. 小心地将细胞完全培养基吸走，向六孔板中加入2 mL OriCell 人尿源性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 人尿源性干细胞成脂诱导分化培养基B液。
8. 24 h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. 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 人尿源性干细胞成脂诱导分化培养基已用人尿源性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。**