

## 兔间充质干细胞成脂诱导分化与染色试剂盒

产品编号: **PWL154** 规格: **2x200mL/Kit**

### 产品内容

序号	产品组成	PWL154
A	兔间充质干细胞成脂诱导分化基础培养基	2x175mL
B	兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基专用血清	2x20mL
C	双抗	2x2mL
D	重组人胰岛素	2x200uL
E	IBMX	200uL
F	罗格列酮	200uL
G	地塞米松	200uL
H	饱和油红 O 染色液	5mL
	说明书	1 份

### 产品简介

间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 是中胚层来源的多能干细胞, 具有高度自我更新能力和多项分化潜能, 体外在一定的条件下可以被诱导分化成脂肪细胞、成骨细胞、成软骨细胞。2006年国际细胞治疗协会 (ISCT) 将此三项检测指标确定为MSC鉴定的必检项目, 以MSC为基础的研究报道均会对此三项指标进行鉴定。

在成脂分化作用下, MSC会先后诱导分化为前成脂细胞 (preadipocytes) 和脂肪细胞 (adipocytes), 后者聚集着大大小小的脂肪滴 (lipid droplets)。油红O在脂肪中的溶解度大于其在染液中的溶解度, 因而使脂肪着色, 呈现红色或橘红色。被染色的脂肪滴数量和深度会受到多种因素的影响, 例如细胞类型、细胞代数、分化时间和培养条件等。MeilunCell®兔间充质干细胞成脂诱导分化与染色试剂盒包括成脂诱导培养体系所有成分以及鉴定所用的油红O染色液, 提供了一种稳定有效的将兔间充质干细胞诱导分化成脂的方法。

本产品可用于兔骨髓、脂肪等组织来源的间充质干细胞的成脂诱导分化与染色, 兼容诱导分化过程中的其他检测, 如mRNA检测、蛋白表达检测、免疫组化检测等。

### 产品特点

- 诱导分化程序简单便捷。
- 诱导成脂细胞效率高。
- 提供诱导培养基及添加物、染色液等全套试剂。

## 使用方法

### （一）兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基 A 液的配制

1. 2-8℃解冻一份兔间充质干细胞成脂分化专用血清、双抗、重组人胰岛素，室温解冻IBMX、罗格列酮、地塞米松，至完全溶解，轻晃摇匀；
2. 用75%乙醇擦拭消毒试剂盒中各瓶/管表面。
3. 将一份专用血清、双抗、重组人胰岛素、IBMX、罗格列酮、地塞米松全部加入一份恢复至室温的成脂诱导分化基础培养基中。可以吸取少量基础培养基润洗各管1-2次，尽量将所有组分全部加入到基础培养基中。
4. 轻轻颠倒摇晃配制好的兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基 A 液，使其混合均匀。

**注意：试剂盒中包含 2 份基础培养基、专用血清、双抗、重组人胰岛素，只取其中 1 份用于本次配制。**

### （二）兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基 B 液的配制

1. 2-8℃解冻一份兔间充质干细胞成脂分化专用血清、双抗、重组人胰岛素至完全溶解，轻晃摇匀；
2. 用75%乙醇擦拭消毒试剂盒中各瓶/管表面。
3. 将一份专用血清、双抗、重组人胰岛素全部加入到一份成脂诱导分化基础培养基中。可以吸取少量基础培养基润洗各管1-2次，尽量将所有组分全部加入到基础培养基中。
4. 轻轻颠倒摇晃配制好的兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基 B 液，使其混合均匀。

### （三）成脂诱导分化操作规程（以6孔板为例）

1. 当MSC融合度达到80-90%时，消化细胞并计数；
2. 将细胞按照 $1 \times 10^5$  cells/mL的密度接种到的六孔板中，每孔加入2 mL正常培养用完全培养基。
3. 将细胞置于37℃，5% CO<sub>2</sub>的培养箱中进行培养。
4. 每隔3天换液，待细胞融合度达到100%时继续培养1-3天再进行诱导操作；
5. 小心地吸弃上清，每孔加入2 mL恢复至室温的兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基A液；
6. 诱导培养3天后，吸去六孔板中的A液，加入2 mL兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基B液；
7. 诱导培养1天后，吸去B液，换回A液继续诱导；
8. 重复以上A液和B液“3+1”交替程序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。

### （四）油红O染色（以6孔板为例）

1. 诱导成脂分化结束后，吸弃上清，PBS 清洗2-3遍，每孔加入2 mL 4%多聚甲醛溶液，固定30 min；
2. 油红O染色工作液配制方法：饱和油红O染液：蒸馏水=3:2，混匀后用中性滤纸过滤即可。

3. 将4%多聚甲醛吸净，PBS清洗2遍。每孔中加入1 mL油红O染色工作液，染色30min；
4. 吸净油红O染色工作液，PBS清洗2-3遍。
5. 每孔加入1mL PBS，倒置显微镜下观察成脂染色效果。
6. 显微镜下可观察，成脂分化细胞可见染成橘红至红色的脂质空泡，呈现典型的成脂分化（图1）。

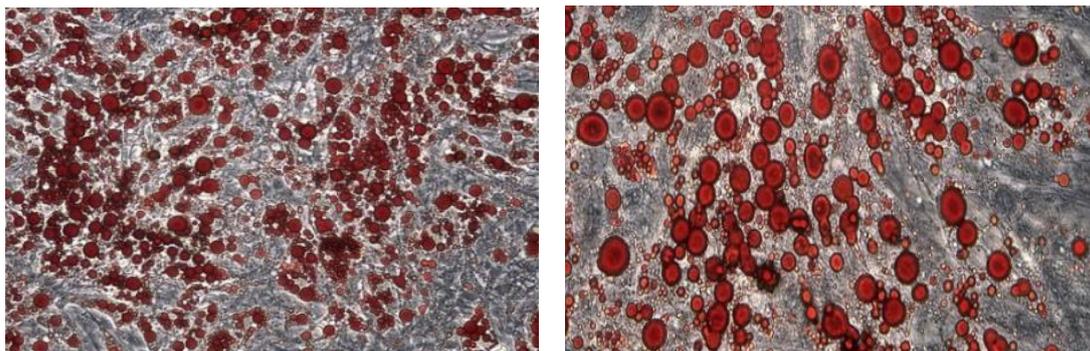


图1 兔间充质干细胞在诱导成脂后油红O染色效果

## 保存条件

所有产品均需避光保存，请避免反复冻融相关产品，保存条件及有效期如下：

试剂名称	保存条件	有效期
兔间充质干细胞成脂诱导分化基础培养基	2-8℃	1年
兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基专用血清	-20℃	2年
双抗	-20℃	1年
重组人胰岛素	-20℃	1年
IBMX	-20℃	1年
罗格列酮	-20℃	1年
地塞米松	-20℃	1年
饱和油红O染液	2-8℃	1年
油红O染色工作液	2-8℃	1个月
兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基A液	2-8℃	1个月
兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基B液	2-8℃	1个月

## 质量控制

本产品已经过无菌检测、pH测试、渗透压检测、内毒素检测。

## 注意事项

1. 本产品所有组分均为无菌包装，在使用过程中请注意无菌操作，避免微生物污染。
2. 解冻后的血清出现少量絮状沉淀为正常现象，这些物质对产品质量无影响。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

S240502