

hMSC 成脂分化试剂盒

操作使用说明

一、产品简介

hMSC 成脂分化试剂盒具有高效成脂定向分化能力，可用于人类间充质干细胞向成脂诱导分化。

二、产品信息

表一：hMSC 成脂分化试剂盒产品说明

产品信息	货号	规格	储存条件
hMSC成脂分化试剂盒包含：	RP02014-A	1 Kit	*
Adipogenic Differentiation Basal Medium	RP02014-A-01	80 mL	2-8 °C
Adipogenic Differentiation Supplement	RP02014-A-02	20 mL	-80°C 至 -20°C

*将基础液和添加物混匀配置成完全培养基，可在 2°C ~ 8°C 中存储，2 周内用完。

三、试剂材料

表二：推荐试剂&材料

试剂&材料	品牌 (e.g.)	货号 (e.g.)
NcMission™ hMSC Medium V3.0	首宁生物	RP02010
油红 O (Oil Red O)	Sigma	O0625
1 × DPBS w/o Ca ²⁺ /Mg ²⁺	Thermo Sci.	14190250
6孔板	Thermo Sci.	140685
1 mL/5 mL/10 mL/25 mL移液管	Thermo Sci.	N/A
15 mL/50 mL离心管	Thermo Sci.	N/A
10 μL/200 μL/1000 μL吸头	Rainin .	N/A

四、试剂准备

(一) hMSC 成脂分化完全培养基配制

- 在 4°C 解冻 Adipogenic Differentiation Supplement, 不要在 37°C 条件下解冻。
- 在生物安全柜中，使用无菌移液管混匀下列成分分配制成 100 mL 分化完全培养基。

Adipogenic Differentiation Basal Medium: 90 mL

Adipogenic Differentiation Supplement: 10 mL

- 完全培养基可置于 4°C 储存，2 周内使用。

Tips: 可根据实际用量将 Supplement 分装后冷冻保存。冻融总次数不能超过 2 次。

(二) 油红工作液的配制

- 1、**油红饱和储存液**: 18 mg 油红粉末+50 mL 异丙醇, 常温保存。
- 2、**油红工作液**: 储存液: 生理盐水=6:4 比例稀释, 观察稀释液有无颗粒析出, 如有粒可用 0.22 μm 的滤膜过滤去除。工作液根据需要, 现配现用。

五、间充质干细胞成脂分化

(一) 间充质干细胞培养

1. **hMSC 的培养和准备**: 详见 **NcMission™ hMSC Medium V3.0** 使用说明书。
2. 用 **NcMission™ hMSC Medium V3.0** 培养间充质干细胞, 将间充质干细胞按 5000-10000 / cm^2 的密度接种到六孔板中, 水平十字摇匀三次, 置于 37°C、5% CO_2 、饱和湿度的培养箱中, 再次水平十字摇匀三次, 培养。

(二) 间充质干细胞成脂分化

- 1、hMSC 汇合度达到 85%左右时, 开启分化: 吸去上清, 设置实验组和对照组。实验组加入 **hMSC 成脂分化完全培养基**; 对照组加入 **NcMission™ hMSC Medium V3.0**。
- 2、每 3-4 天换液一次, 每次 2-3 mL/孔, 连续培养至第 21 天。
- 3、第 21 天, 吸弃上清液, 加入**固定液 (4%多聚甲醛)** 固定 30 分钟。
- 4、将分化组和对照组吸去上清, 加入合适体积的**油红工作液**, 室温避光孵育 20~60 分钟, 然后吸去染液, 用生理盐水或 DPBS 洗涤至未见背景色, 每孔再加入生理盐水或 DPBS 浸润, 显微镜下观察, 拍照。

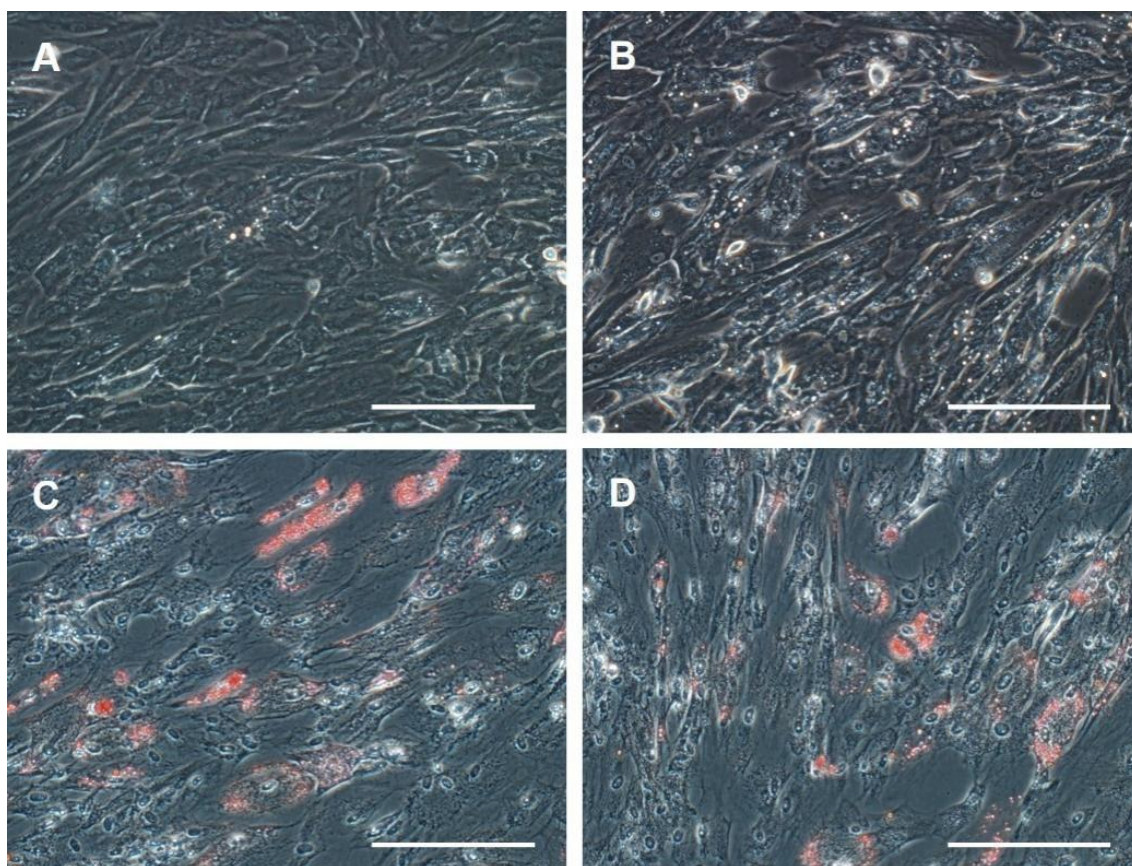


图 A、B 分别为 hMSC 成脂分化试剂盒分化 Day10 和 Day21 细胞形态图示;

图 C、D 为 hMSC 成脂分化试剂盒分化第 21 天, 油红染液染色结果图示。标尺: 200 μm 。