hMSC 成脂分化试剂盒

使用说明书

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 ℃
Adipogenic Differentiation Supplement	RP02014-A-02	20 mL	-80℃ 至 -20℃

*将基础液和添加物混匀配置成完全培养基，可在 2℃ ~ 8℃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

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

   Adipogenic Differentiation Basal Medium：80 mL

   Adipogenic Differentiation Supplement：20 mL
3. 完全培养基可置于 4℃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）间充质干细胞准备

1. 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℃、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。

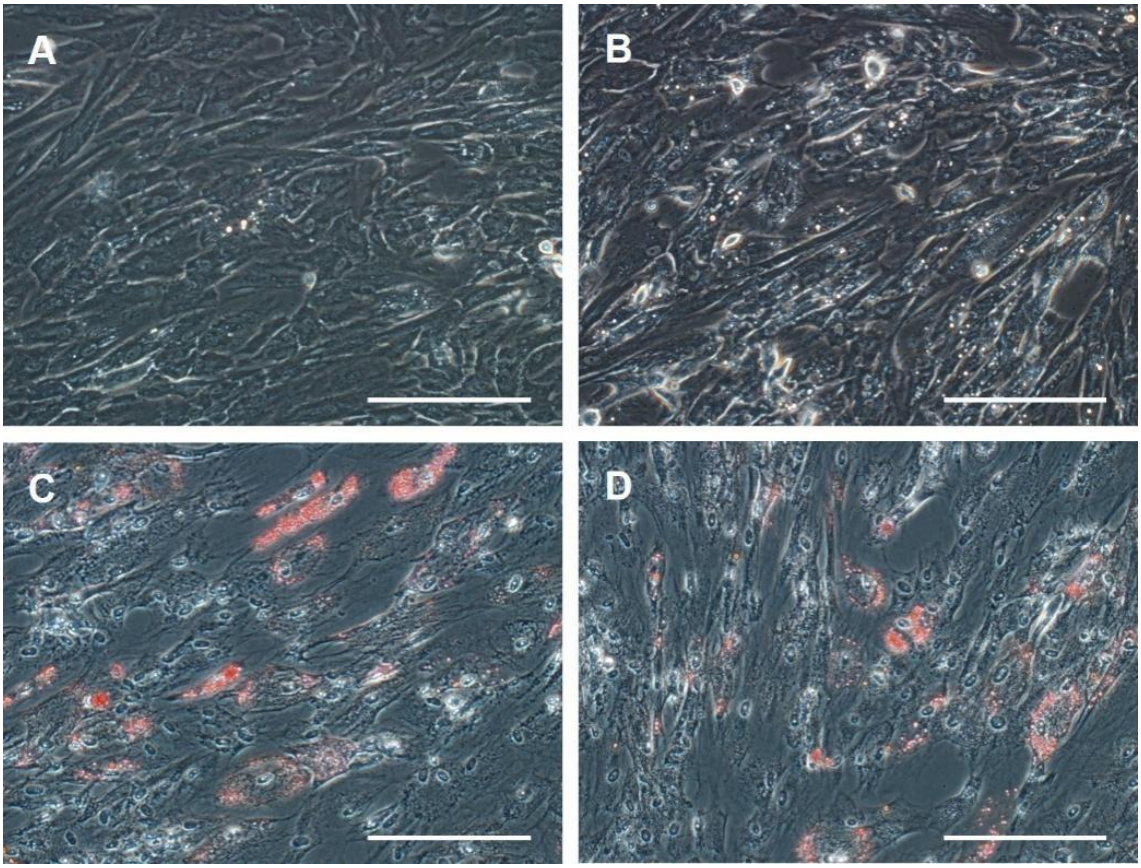

图 A、B 分别为 hMSC 成脂分化试剂盒分化 Day 10 和 Day 21 细胞形态图示；

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。