

兔间充质干细胞 成脂诱导分化培养基操作手册

产品规格：400mL

产品货号：BGM-3033

产品描述

BG sciences 兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基专门为兔间充质干细胞（Rabbit Mesenchymal Stem Cells, MSCs）成脂诱导分化而开发，针对兔间充质干细胞的特性优化分化试剂的配方，可增加兔间充质干细胞的成脂分化效果。

本产品含血清成分，仅用于科研用途，不可用于诊断、治疗、临床及其他用途。

培养基组成成分

兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基 ADP1：

成分名称	添加体积
兔间充质干细胞成脂诱导分化基础培养基 ADP1	175 mL
兔间充质干细胞成脂诱导分化专用胎牛血清 FBS	20 mL
谷氨酰胺 Glutamine	2 mL
青链霉素 Pennicillin-Streptomycin	2 mL
胰岛素 Insulin	400 μL
IBMX	200 μL
罗格列酮 Rosiglitazone	200 μL
地塞米松 Dexamethasone	200 μL

注：各成分请根据试剂管上标签标示温度保存。

兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基 ADP2（维持培养基）

成分名称	添加体积
兔间充质干细胞成脂诱导分化基础培养基 ADP2	175 mL
兔间充质干细胞成脂诱导分化专用胎牛血清 FBS	20 mL
谷氨酰胺 Glutamine	2 mL
青链霉素 Pennicillin-Streptomycin	2 mL
胰岛素 Insulin	400 μL

注：各成分请根据试剂管上标签标示温度保存。

操作流程

一、兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基的准备

1. 本产品为试剂盒型，使用前需将试剂盒内各成分试剂混匀。（**请勿将 ADP1 与 ADP2 混淆**）
 2. 使用前，请将血清置于 4°C解冻，直至血清完全溶解；待血清完全溶解后，将所有添加物置于室温溶解。待试剂完全溶解后，轻轻摇晃使试剂混合均匀（低于 500μL 体积的试剂无需此操作）。
- 注：为了保证微量试剂的使用效果，请将低于 200μL 的试剂管进行**短暂离心**，使试剂能全部收集至管底。
3. 按上述两个成分表，将表一 ADP1 中的 FBS、青链霉素、谷氨酰胺、胰岛素、IBMX、罗格列酮、地塞米松等试剂按体积大小先后加入到诱导基础培养基中；混合均匀后做好标识，培养基即可使用。（**请将以上试剂分别室温溶解混匀后，再加入到 ADP1 基础培养基中**）
 4. 将表二 ADP2 中的 FBS、青链霉素、谷氨酰胺、胰岛素等试剂加入 ADP2 基础培养基中。混合均匀后做好标识，培养基即可使用。

注：无菌吸取试剂管中的试剂成分，将枪头伸至培养基液面下方注入，轻微吹打洗涤枪头。再吸取少量培养基洗涤试剂管，尽可能将所有组分完整地加到基础培养基中，保证培养基的效果。

二、兔间充质干细胞成脂诱导分化操作指导

此过程需要准备兔间充质干细胞完全培养基(BGM-0111)、0.25%胰酶(含 0.04%EDTA)、1×PBS 以及兔间充质干细胞成脂诱导分化培养基(BGM-0133)，本操作推荐使用六孔细胞培养板：

1. 当您的兔间充质干细胞的融合度达到 90%左右时，即可用 0.25%胰酶进行消化。
2. 将消化下来的兔间充质干细胞进行计数，根据计数结果，按 $2\text{-}3\times10^4 \text{ cells/cm}^2$ 的细胞密度接种在六孔板中，每孔加入 2 mL 的兔间充质干细胞完全培养基。
3. 将均匀接种好的兔间充质干细胞置于 37°C，5% CO₂ 的培养箱中进行培养。
4. 当细胞融合度达到 100%时（**细胞过饱和有利于激发干细胞的成脂潜能**），小心的将孔内完全培养基吸走，向六孔板中加入 2 mL BG sciences 兔间充质干细胞成脂诱导分化 ADP1 培养基。

5. 诱导三天后，吸走六孔板的诱导完全培养基，每孔加入 2 mL BG sciences 兔间充质干细胞成脂诱导分化 ADP2 培养基。
6. ADP2 诱导一天后，吸走 ADP2 培养基，更换为 ADP1 诱导分化培养基继续进行诱导。
7. ADP1-ADP2 两种培养基交替诱导 3-5 次后，当观察到干细胞内出现明显的、足够多的脂滴后，可用 ADP2 维持培养基继续培养 3-6 天（每三天换液一次），直至脂滴变得足够大和饱满，即可结束诱导，根据实验需求对细胞进行染色和后续鉴定。



间充质干细胞成脂诱导油红 O 染色前后对比图

油红 O 染色液的使用

1. 当您的成脂诱导实验结束后，可进行油红 O 染色确定诱导效果（本试剂盒提供饱和油红 O 染色液，**不可直接使用**）。
2. 吸走孔板里的成脂诱导分化完全培养基，用 1×PBS 冲洗 1-2 遍。
3. 加入 4% 中性甲醛溶液（覆盖细胞表面即可），对细胞固定 30 分钟。
4. 细胞固定期间，可配制油红 O 工作液。工作液的配制方法如下，饱和油红 O 溶液：蒸馏水 =3:2，混匀后用中性滤纸过滤。
5. 吸走 4% 中性甲醛溶液，用 1×PBS 冲洗 1-2 遍。
6. 以六孔板为例，每孔加入 1mL 油红 O 工作液，室温染色 30 分钟。
7. 吸走油红 O 工作液，用 1×PBS 冲洗 1-2 次，把背景杂质洗干净，即可在显微镜下观察诱导和染色效果。

注意事项

1. 因为试剂盒的成分较多, 请在配制过程中严格注意无菌操作; 若担心混匀过程中出现不良操作, 请在混匀试剂后, 对培养基进行 0.22μm 的滤膜过滤除菌。
2. ADP1-ADP2 交替诱导是为了减轻 ADP1 中试剂对干细胞的影响, 如果您的干细胞状态较好, 可在前 7 天先只使用 ADP1 培养基进行刺激诱导, 待脂滴快速出现后, 再进行两种培养基交替诱导的操作。
3. **若培养过程中容易发生干细胞漂浮或干细胞回缩等现象, 可在接种干细胞进行诱导之前对培养板进行 0.1%明胶的包被处理。**
4. 地塞米松 Dexamethasone 用无水乙醇配制, 易挥发, 注意拧紧盖子, 按量添加。

推荐产品

产品名称	产品货号	规格
兔间充质干细胞成软骨诱导分化培养基	BGM-3044	100mL/200mL
兔间充质干细胞成骨诱导分化培养基	BGM-3022	200mL
兔间充质干细胞完全培养基	BGM-3011	500ml