



细胞产品手册

OriCell[®]成肌管诱导分化试剂盒

产品货号：GUXMC-90401

产品介绍

由 OriCell®研发团队精心研制的 OriCell®成肌管诱导分化试剂盒是一种适用于肌细胞分化成肌管的培养，包含适合肌细胞生长的分化培养基、诱导细胞分化所需的添加物及染色液。本产品适用于肌细胞的成肌管诱导分化。大量细胞培养数据验证，本产品可稳定、高效诱导上述细胞分化为成肌管细胞，例如常见的 C2C12 细胞系、骨骼肌细胞等，经过该试剂盒诱导实验后均可形成肌管。

注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

使用本产品发表的文献需注明： (OriCell, Cat.No. GUXMC-90401) from Cyagen.

套装成分

套装成分	货号	体积
OriCell®Basal Medium For Cell Culture OriCell®细胞基础培养基	BHDM-03011	98 mL
OriCell®Supplements For Myotube Differentiation OriCell®成肌管诱导添加物	GUXMC-04401	2 mL
OriCell®Giemsa Solution OriCell®吉姆萨染色液	GMSA-10001	10 mL

质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过渗透压、pH 检测。
- 通过产品性能检测。

详情见《产品检测报告》。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体和操作区域的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 各成分需按照保存条件妥善存放，并尽快使用。
4. 若短期内无法用完整套培养基，应按套装内各成分体积比例分批配制并分装保存。

产品稳定性及保存条件

1. 套装内所有成分均需避光保存。
2. 套装内基础培养基需置于 4°C 冰箱保存，保质期为 1 年；其他成分需置于 -20°C 保存，保质期为 2 年。
3. 配制后的完全培养基，需放置 4°C 保存，保质期为 1 个月；若能保证培养条件稳定，容器密封性能良好，避免冷热交替，则保质期可适当延长，但不得超过 45 天。
4. 所有产品请于保质期内使用；过期的成分可能严重影响培养效果。

完全培养基的配制

所需材料

- OriCell®成肌管诱导分化试剂盒
- 清洁、无菌、质量稳定的一次性耗材（移液管、移液器吸头、离心管等）
- 洁净的封口膜
- 铝箔纸等避光材料

操作步骤

1. 配制前至少 6 h，将套装中的 OriCell®成肌管诱导添加物放置于 4°C冰箱内完全融化。
2. 用 75%医用酒精仔细擦拭所有成分外包装。在超净台内打开包装。
3. 将添加物全部加入 OriCell®细胞基础培养基（以下简称基础培养基）中。
4. 取少量基础培养基，洗涤各瓶、管，尽可能将所有成分全部加入基础培养基中。
5. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。
6. 用封口膜密封瓶口，用铝箔纸包裹瓶身，并标注名称、配制日期等信息。

特别提醒

- 若短期内无法用完全部培养基，我们建议分批配制；请按照套装内各成分比例，配制所需量；但剩余的成分必须严格按照各自的保存条件妥善保存，并且不可多次冻融。
- OriCell®成肌管诱导分化试剂盒内的所有成分都严格控制无菌，一般情况下我们不建议再次除菌。若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。
- 配制完成的成肌诱导分化培养基，请分装为小份，避免整瓶培养基反复温浴和冷藏交替。

诱导分化操作规程

所需材料

- OriCell®成肌管诱导分化试剂盒
- OriCell®C2C12 小鼠成肌细胞系 (货号: M7-0101)
- OriCell®C2C12 细胞系完全培养基 (货号: CMM7-0101)
- OriCell®0.1%明胶溶液 (货号: GLT-11301)
- OriCell®Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001)

操作步骤

注意: 1) 本操作规程以六孔板为例, 请根据实际情况选用合适的培养容器;

2) 为减少诱导过程细胞漂起、不贴壁, 建议使用明胶包被培养容器;

3) 诱导培养基在使用前均需预热至 37°C。

4) 本实验以 C2C12 为例进行实验。

1. 加 1 mL 0.1%明胶到六孔板中, 摇匀, 使其能均匀覆盖各孔底面。
2. 将铺有 0.1%明胶的六孔板放置在超净台或 CO₂ 培养箱至少 30 min。
3. 30 min 后吸去明胶即可用于接种细胞, 或等待六孔板晾干再接种。
4. 将待诱导的 C2C12 小鼠成肌细胞按照 2×10^4 cells/cm² 的细胞密度接种于六孔板中, 每孔加入 2 mL 普通完全培养基。
5. 细胞置于 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中培养。
6. 当细胞融合度达到 90%时, 小心地将孔内完全培养基吸走, 向六孔板中加入 2 mL OriCell®成肌管诱导分化培养基。
7. 每隔 2-3 天换用新鲜的 OriCell®成肌管诱导分化培养基。
8. 诱导 3-7 天后, 视细胞的形态变化及生长情况, 用 Giemsa 染色液进行染色。

Giemsa 染色分析

所需材料

- OriCell®Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001)
- 4%多聚甲醛溶液或 10%福尔马林溶液
- OriCell®Giemsa 染色液

操作步骤

注意: 1) 为防止细胞脱落, 所有操作尽可能轻缓;

2) 如果染色效果较差, 可适当延长染色时间;

3) 请确认出现肌管后再进行染色。

1. 成肌管诱导分化结束后, 吸去六孔板中的成肌管诱导分化培养基, 用 1×PBS 轻柔洗涤 2~3 次。
2. 每孔加入 2 mL 4%多聚甲醛溶液 (或 10%福尔马林), 室温固定 30 min。
3. 吸去固定液, 用 1×PBS 轻柔洗涤 2~3 次, 确保将固定液清洗彻底。
4. Giemsa 母液: Buffer=1: 5~1: 10, 配制成工作液。
5. 每孔加入 2 mL Giemsa 工作液, 室温染色 30 min。
6. 吸去 Giemsa 染色液, 用 1×PBS 轻柔洗涤 2~3 次, 充分洗去多余染色液。
7. 每孔加入 2 mL 1×PBS, 将培养板置于显微镜下观察成肌管染色效果 (染色效果请参考下页图)。
8. 染色后的六孔板用封口膜封装后, 置于 4°C可保存 2 周。

成肌管染色案例

OriCell®C2C12细胞系 (货号M7-0101) 成肌管诱导后Giemsa染色效果

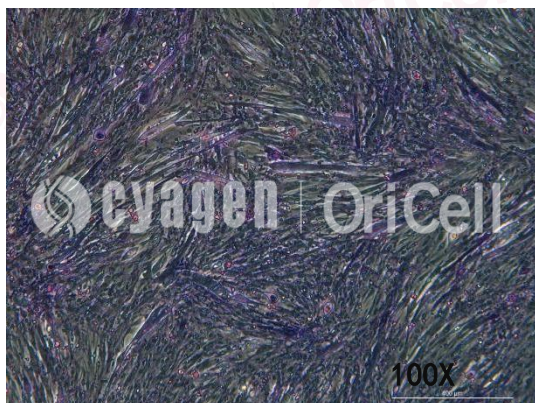


图 1. 接种量 1E5, 经诱导后的染色效果图

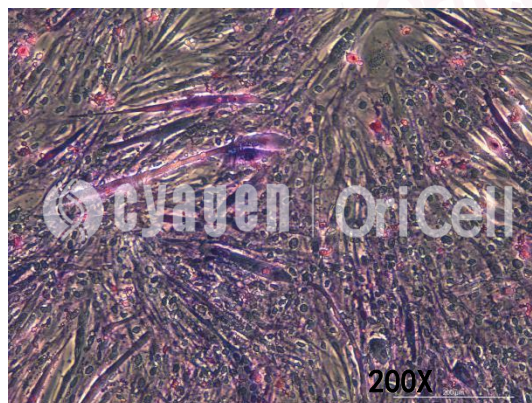


图 2. 接种量 2E5, 经诱导后的染色效果图

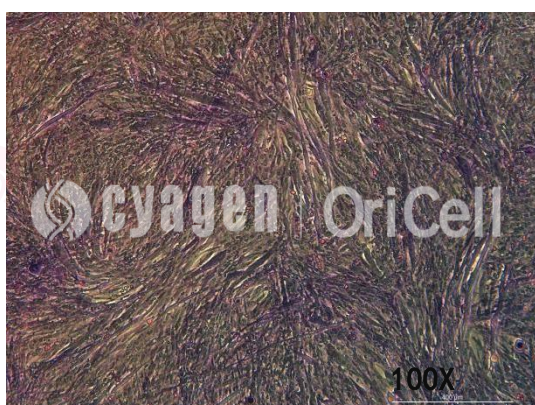
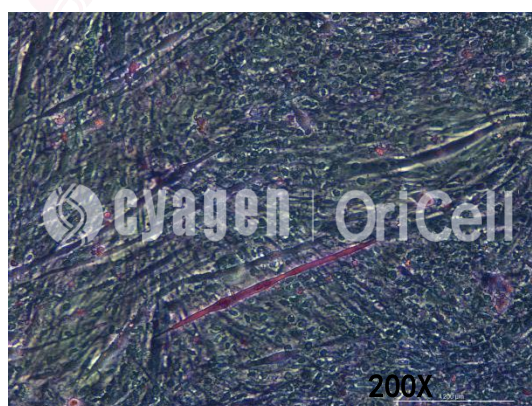
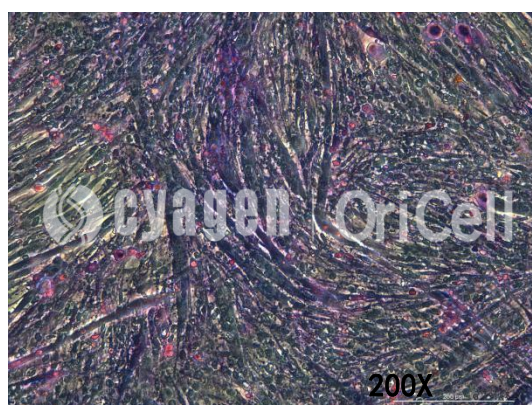
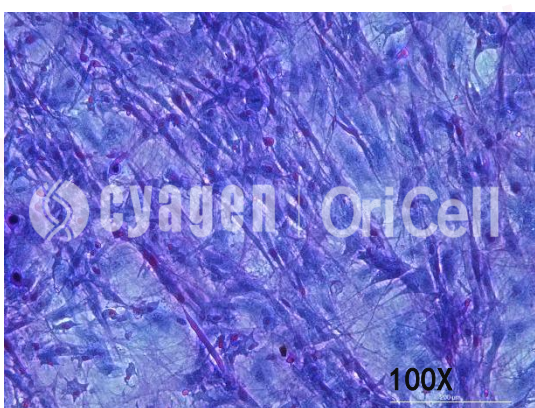
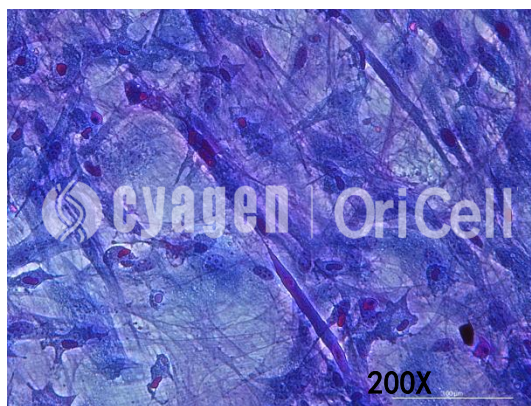
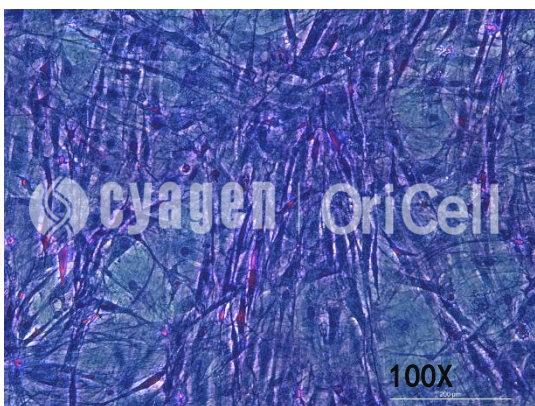


图 3. 接种量 3E5, 经诱导后的染色效果图



OriCell®C57BL/6小鼠骨骼肌细胞（货号MUBSM-02081）成肌管诱导后Giemsa染色效果



赛业（苏州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业（苏州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，
不得改编或转载用作其他商业用途。