

细胞产品手册

OriCell®骨髓间充质干细胞 成脂诱导分化试剂盒（多用型）

产品货号：GUXMX-90031



产品介绍

由 OriCell®研发团队精心研制的 OriCell®骨髓间充质干细胞成脂诱导分化试剂盒（多用途），包含适合骨髓间充质干细胞生长的基础培养基、OriCell®优级胎牛血清及诱导细胞分化所需的多种添加物。

本产品适用于兔、狗、猴等来源的骨髓间充质干细胞的成脂诱导分化。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脂细胞。

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。

试剂盒成分

骨髓间充质干细胞成脂诱导分化试剂盒 A 液成分	货号	体积
OriCell® Basal Medium For Cell Culture OriCell®细胞基础培养基	BLDM-03011	177 mL
OriCell® Fetal Bovine Serum (Superior-Quality) OriCell®优级胎牛血清	FBSSR-01021	20 mL
OriCell® Supplement For Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Adipogenic Differentiation A-I OriCell®骨髓间充质干细胞成脂诱导分化添加物 A-I	GUXMX-04031-a1	3 mL
OriCell® Supplement For Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Adipogenic Differentiation A-II OriCell®骨髓间充质干细胞成脂诱导分化添加物 A-II	GUXMX-04031-a2	200 µL

骨髓间充质干细胞成脂诱导分化试剂盒 B 液成分	货号	体积
OriCell® Basal Medium For Cell Culture OriCell®细胞基础培养基	BLDM-03011	90 mL
OriCell® Fetal Bovine Serum (Superior-Quality) OriCell®优级胎牛血清	FBSSR-01021	10 mL

OriCell® Supplement For Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Adipogenic Differentiation B OriCell®骨髓间充质干细胞成脂诱导分化添加物 B	GUXMX-04031-b	200 µL
---	---------------	--------

其他成分	货号	体积
Oil Red O Solution 油红 O (pH=2.1)	OILR-10001	5 mL
Gelatin 明胶	GLT-11301	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试剂盒，应按照试剂盒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. 试剂盒内所有成分均需避光保存。
2. 试剂盒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诱导分化效果。

完全培养基的配制

所需材料

- OriCell®骨髓间充质干细胞成脂诱导分化试剂盒（多用型）
- 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

骨髓间充质干细胞成脂诱导分化培养基 A 液的配制

1. 配制前至少 6 h，将试剂盒中的 OriCell®优级胎牛血清（以下简称血清）放置于 4℃冰箱内完全融化。

注意：融化后的血清中可能出现絮状物，其主要成分为析出的血纤蛋白，这不会影响产品使用效果。

若不是对细胞培养体系的纯净度要求极高，我们不建议过滤或离心去除絮状物。

2. 配制前至少 30 min，将试剂盒中 OriCell®骨髓间充质干细胞成脂诱导分化添加物 A-I（以下简称添加物 A-I）放置于 4℃冰箱内；OriCell®骨髓间充质干细胞成脂诱导分化添加物 A-II（以下简称添加物 A-II）放置于室温内，直至完全融化。

注意：融化后的添加物 A-II 出现颗粒状析出物，属于正常现象。可以在短暂 37℃水浴后反复吹打，重新溶解。

3. 上下颠倒或轻弹试剂管以混匀试剂。
4. 短暂离心添加物 A-II 试剂管，确保试剂集中在管底便于收集。
5. 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。
6. 将血清、添加物 A-I、添加物 A-II 全部加入 OriCell®细胞基础培养基（以下简称基础培养基）中。

注意：为了确保溶解效果良好，请将基础培养基预热至 37℃，否则添加物 A-II 极有可能会遇冷析出。

7. 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。

8. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。
9. 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。

骨髓间充质干细胞成脂诱导分化培养基 B 液的配制

1. 配制前至少 6 h，将套装中的 OriCell®优级胎牛血清（以下简称血清）放置于 4℃冰箱内完全融化。
2. 配制前至少 30 min，将套装中 OriCell®骨髓间充质干细胞成脂诱导分化添加物 B（以下简称添加物 B）放置于 4℃冰箱内直至完全融化。
3. 上下颠倒或轻弹试剂管以混匀试剂。
4. 短暂离心添加物 B 试剂管，确保试剂集中在管底便于收集。
5. 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。
6. 将血清、添加物 B 全部加入 OriCell®细胞基础培养基（以下简称基础培养基）中。
7. 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。
8. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。
9. 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®骨髓间充质干细胞成脂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。
- 配制完成的成脂诱导分化培养基，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®骨髓间充质干细胞成脂诱导分化试剂盒（多用型）
- 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。

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. 将待诱导的骨髓间充质干细胞按照 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. 当细胞汇合度达到 100%时，小心地将孔内完全培养基吸走，向六孔板中加入 2 mL OriCell®骨髓间充质干细胞成脂诱导分化培养基 A 液。
7. 诱导 3 天后，吸去六孔板中的 A 液，加入 2 mL OriCell®骨髓间充质干细胞成脂诱导分化培养基 B 液。
8. 维持 1 天后，吸去 B 液，换回 A 液进行诱导。
9. A 液和 B 液交替使用，期间需每天观察细胞状态。若在 A 液诱导过程中出现细胞收缩、死亡的情况，请及时更换为 B 液，直至细胞状态恢复。

注意：1) A 液刺激脂滴形成；B 液维持已形成的脂滴，并促进脂滴增大；

2) 通常情况下，按照“A 液 3 天，B 液 1 天”的使用方式即可顺利诱导细胞成脂；

3) 各类、各批次细胞在诱导过程中可能出现多种情况，请灵活调整 A、B 液的使用比例。

10. 重复诱导和维持过程，直到出现足量、大小适宜的脂滴，即可准备染色。

油红 O 染色分析

所需材料

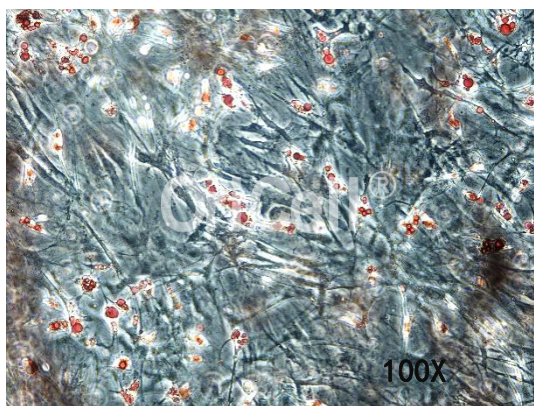
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001)
- 4%多聚甲醛溶液或 10%福尔马林溶液
- 油红 O 染色液

操作步骤

注意：为防止脂滴脱落，所有操作尽可能轻缓。

1. 成脂诱导分化结束后，吸去六孔板中的成脂诱导分化完全培养基，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. 按油红 O 贮存液：蒸馏水=3：2，配制为工作液。混匀后 250×g 离心 4 min，使用上清。
4. 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。
5. 每孔加入 2 mL 油红 O 染料工作液，室温染色 30 min。
6. 吸去油红 O 染色液，用 1×PBS 轻柔洗涤 2~3 次，充分洗去染色液。
7. 每孔加入 2 mL 1×PBS，将培养板置于显微镜下观察成脂染色效果。
8. 染色后的六孔板用封口膜封装后，置于 4℃保存，但不要超过 1 周。脂滴会相互融合，无法保持染色时的状态。

OriCell®骨髓间充质干细胞成脂诱导分化油红O染色效果



赛业（广州）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（广州）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。