

OriCell<sup>®</sup>

## 细胞产品手册

### OriCell<sup>®</sup>小鼠 3T3-L1 细胞 成脂诱导分化试剂盒

产品货号: MUXTL-90031



*We help you discover life*

## 产品介绍

由 OriCell® 研发团队精心研制的 OriCell® 小鼠 3T3-L1 细胞成脂诱导分化试剂盒，包含适合小鼠 3T3-L1 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。

本产品适用于小鼠 3T3-L1 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

小鼠 3T3-L1 细胞成脂诱导分化培养基 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 Mouse 3T3-L1 Cells Adipogenic Differentiation A-I OriCell® 小鼠 3T3-L1 细胞成脂诱导分化添加物 A-I	MUXTL-04031-a1	3 mL
OriCell® Supplement For Mouse 3T3-L1 Cells Adipogenic Differentiation A-II OriCell® 小鼠 3T3-L1 细胞成脂诱导分化添加物 A-II	MUXTL-04031-a2	200 µL

小鼠 3T3-L1 细胞成脂诱导分化培养基 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 Mouse 3T3-L1 Cells Adipogenic Differentiation B OriCell® 小鼠 3T3-L1 细胞成脂诱导分化添加物 B	MUXTL-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℃ 冰箱保存，保质期为 1 年；其他成分需置于 -20℃ 保存，保质期为 2 年。
3. 配制后的完全培养基，需放置 4℃ 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®小鼠 3T3-L1 细胞成脂诱导分化试剂盒
- 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

#### 小鼠 3T3-L1 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®小鼠 3T3-L1 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®小鼠 3T3-L1 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。

### 小鼠 3T3-L1 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®小鼠 3T3-L1 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®小鼠 3T3-L1 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®小鼠 3T3-L1 细胞成脂诱导分化试剂盒
- 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℃。

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 CO<sub>2</sub> 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. 将待诱导的小鼠 3T3-L1 细胞按照  $2 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> 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℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 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®小鼠 3T3-L1 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®小鼠 3T3-L1 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

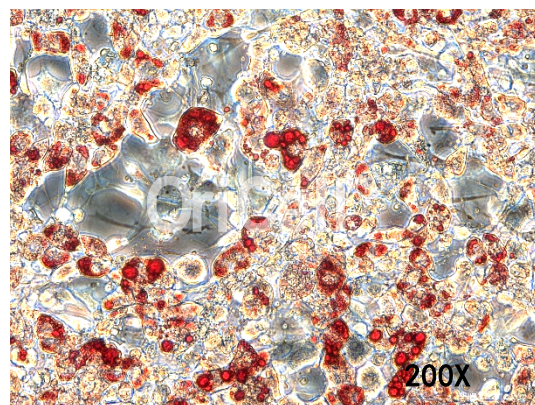
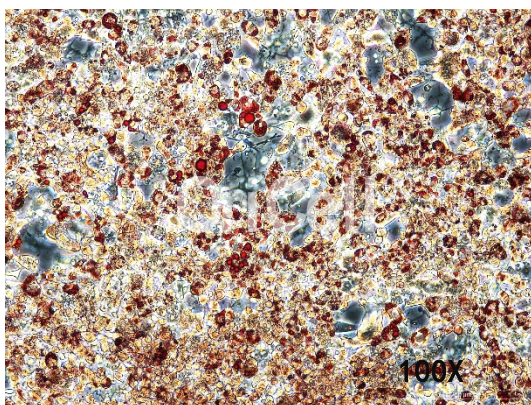
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001)
- 4%多聚甲醛溶液或 10%福尔马林溶液
- 油红 O 染色液

### 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®小鼠3T3-L1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。