

# ExCell Bio

## OptiVitro<sup>®</sup> MSC 成脂细胞分化培养基

### 使用说明书

产品货号：  
MD000-N011  
MD000-N011S



## 产品概述

OptiVtro® MSC 成脂细胞分化培养基，是一种专为纯化的人间充质干细胞（Human Mesenchymal Stem Cells, hMSCs），在体外诱导分化为成熟脂肪细胞而订制、优化的完全培养基。包含 OptiVtro® MSC 成脂细胞分化基础培养基和 OptiVtro® MSC 成脂细胞分化添加组分。该培养基同时适用于在无血清和含血清条件下培养的，多种组织来源的 hMSCs（如脂肪、骨髓和脐带组织来源）向脂肪细胞的诱导分化。

## 产品信息

产品名称	货号	规格	存储条件	有效期 <sup>a</sup>
OptiVtro® MSC 成脂细胞分化培养基	MD000-N011	1kit	-	-
包含：OptiVtro® MSC 成脂细胞分化基础培养基	MD000-N011(1 of 2)	100mL	2-8°C避光保存	6个月
OptiVtro® MSC 成脂细胞分化添加组分	MD000-N011(2 of 2)	7mL	-20°C避光保存	12个月
OptiVtro® MSC 成脂细胞分化培养基（试用装） <sup>b</sup>	MD000-N011S	30mL	-20°C避光保存	6个月

<sup>a</sup> 效期从制造日期开始计算

<sup>b</sup> 试用装已预混，可解冻后直接使用

## 产品应用与使用限制

- 本产品仅用于研发使用。
- OptiVtro® MSC 成脂细胞分化培养基同时适用于无血清和血清体系培养的人间充质干细胞的向脂肪细胞的分化。
- 人间充质干细胞分化水平与细胞的组织来源、细胞供体和细胞的培养条件有关，因此在实验中，分化效果可能出现一定差异。
- 产品组分应在指定的储存条件下存放。
- 请在产品有效期内使用。

## 产品信息：稳定性与存储

OptiVtro® MSC 成脂细胞分化基础培养基，2-8°C避光条件下储存，在产品有效期内可以保持产品性能稳定。

OptiVtro® MSC 成脂细胞分化添加组分，需存储于-20°C避光条件下（建议存储于非自动除霜冰箱，维持试剂处于冷冻状态，并且维持较小温度波动），在产品有效期内可以保持产品性能稳定。

- OptiVtro® MSC 成脂细胞分化添加组分，使用前，在 2-8°C 环境过夜解冻（解冻后的添加组分会略显浑浊）。解冻后请立即使用，或者进行分装，分装后的试剂可在 -20°C 环境储存 3 个月，或暂存于 2-8°C 环境，并在 1 个月内用完。请避免反复冻融，并且在产品有效期内使用。
- OptiVtro® MSC 成脂细胞分化培养基（由 OptiVtro® MSC 成脂细胞分化基础培养基和 OptiVtro® MSC 成脂细胞分化添加组分混合后形成），2-8°C 避光条件下储存，建议 2 周内使用完毕。
- OptiVtro® MSC 成脂细胞分化培养基（试用装）为完全培养基，可解冻后存储于 2-8°C 避光条件，可以直接使用，建议 2 周内用完。

 **试剂准备**

### OptiVtro® MSC 成脂细胞分化培养基的准备

以下操作，需在无菌环境下进行 OptiVtro® MSC 成脂细胞分化培养基的配制。如配制其他体积，应按比例作相应调整。

1. 室温解冻，或者 2-8°C 解冻 OptiVtro® MSC 成脂细胞分化添加组分，解冻后混合均匀。

**提示：**添加组分解冻后会略显浑浊，属正常现象。添加组分解冻后请立即使用；或者进行分装，分装后试剂可在 -20°C 环境储存 3 个月。请避免反复冻融，并在产品效期内使用。

2. 将 7 mL 的 OptiVtro® MSC 成脂细胞分化添加组分添加到 100 mL 的 OptiVtro® MSC 成脂细胞分化基础培养基中，**混合均匀**。配制好的培养基需储存于 2-8°C 避光环境。
3. 本品不含任何抗生素，可根据研究需要自行添加抗生素。

 **操作流程**

本品适合脐带、脂肪、骨髓等组织来源间充质干细胞的成脂细胞分化，以下操作案例以诱导人脂肪间充质干细胞（hASCs）向脂肪细胞分化为例，hASCs 在 OptiVtro® MSC 增生无血清培养基（ExCell Bio，货号：ME000-N023）条件下培养，培养方法参照 OptiVtro® MSC 增生无血清培养基使用说明书。

#### 一. 间充质干细胞的培养

1. 在室温下预温适量的 OptiVtro® MSC 增生无血清培养基，每个 T75 培养瓶需要 15-20 mL 的培养基；
2. 冻存细胞复苏收集，或通过传代培养消化收集间充质干细胞，根据细胞数量，按照 5000-8000/cm<sup>2</sup> 密度接种细胞（T75 培养瓶约需要 3.75~6×10<sup>6</sup> 细胞），加入 15-20 mL 预热的 MSC 增生无血清培养基重悬待接种细胞；

**提示：**复苏及传代培养的操作方法可参考产品说明书之详细介绍；如使用不同尺寸的组织培养器皿，推荐的接种密度约为 8000-10000/cm<sup>2</sup>。

3. 将细胞置于 37°C, 5 % CO<sub>2</sub>, 饱和湿度的环境中培养。每 2-3 天用 15-20 mL 新鲜预温的完全培养基进行细胞换液;

**提示:** 换液时将培养基添加至培养瓶底部以免损伤细胞。

4. 细胞扩增至铺满培养瓶底 80-90 %时, 收集细胞进行细胞分化实验 (勿让细胞覆盖度超过 90 %)。

## 二. 间充质干细胞成脂细胞分化

1. 在 OptiVibro® MSC 增生无血清培养基环境下培养的 hASCs, 传代培养时, 按 10000/cm<sup>2</sup> 接种至 6 孔细胞培养板。

**提示:** 其他商品化间充质干细胞无血清培养基或含血清培养基亦可使用。不同培养基培养条件下细胞形态状态, 细胞增殖及细胞分化潜能存在差异。

**提示:** 若使用含血清培养方式, 所用胎牛血清 (FBS) 应经过筛选, 确认适合间充质干细胞的生长 (推荐使用 ExCell Bio 胎牛血清)。

2. 每 2-3 天用进行换液, 待细胞生长至约 75-80 %丰度时, 更换为成脂细胞分化培养基: 弃去原有培养液, PBS 润洗后, 弃去 PBS, 添加用 3 mL 提前预温的 OptiVibro® MSC 成脂细胞分化培养基。

3. 37°C, 5 % CO<sub>2</sub>, 饱和湿度下培养。每 2-3 天用进行换液, 更换新鲜分化培养基。

4. 分化培养时间和细胞类型有关, 可参考下表给出的时间范围, 分化结束时, 在显微镜下可以明显地观察到细胞内脂肪滴的形成。

细胞类型	分化时间 (天)
脂肪间充质干细胞	7-14
骨髓间充质干细胞	10-14
脐带间充质干细胞	25-35

5. 分化培养结束后, 对细胞进行染色分析

## 三. 油红染色

成脂细胞分化分析可采用油红染色或细胞表面标志物荧光抗体染色等方法进行分析, 本方案以油红染色为例。

1. 按上述操作分化 14 天或更长时间后, 从 6 孔细胞培养板中吸去分化培养基, 加入 1 mL PBS, 轻轻润洗孔板底部;

2. 吸去 PBS, 在通风橱内, 加入 4 %甲醛溶液 1 mL 固定细胞, 轻轻晃动培养板, 使底面均匀浸润固定液, 室温静置 30 分钟;

3. 弃去固定液, 加入 1 mL PBS, 润洗细胞 2 次, 加入 500 uL 0.3 %的油红 O 染液 (Sigma, O1391), 室温条件下染色 15 分钟;

4. 吸去染液, 加入 PBS 润洗 3 次, 在倒置光学显微镜下观察、拍照或其他分析。