

ExCell Bio

OptiVitro[®] MSC 成脂细胞分化培养基

说明书

本品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗

User Manual

Catalog Number MD000-N011
MD000-N011S



产品概述

OptiVibro® 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定制、优化的完全培养基。包含 MSC 成脂细胞分化基础培养基和 MSC 成脂细胞分化添加组分 A 和 B。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。

产品规格及储存条件

产品名称	货号	规格	存储条件	有效期
MSC 成脂细胞分化培养基	MD000-N011	1kit	-	-
包含：MSC 成脂细胞分化基础培养基	BA0181	100mL	2-8℃避光保存	12 个月
MSC 成脂细胞分化添加组分 A	BA0191	6mL	-20℃避光保存	12 个月
MSC 成脂细胞分化添加组分 B	BA0201	0.5mL	-20℃避光保存	12 个月
MSC 成脂细胞分化培养基（试用装）^a	MD000-N011S	30mL	-20℃避光保存	12 个月

^a 试用装已预混，解冻后可直接使用

产品应用与使用限制

- 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。
- 产品需在有效期内使用。

稳定性与存储

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

MSC 成脂细胞分化添加组分 A 和 MSC 成脂细胞分化添加组分 B，需存储于-20℃避光条件下，在产品有效期内可以保持产品性能稳定。

- MSC 成脂细胞分化添加组分 A 和 B，使用前室温解冻。解冻后请立即使用，或者进行分装，分装后的试剂可在-20℃环境储存 3 个月，或暂存于 2-8℃环境，并在 1 个月内用完，避免反复冻融。

- MSC 成脂细胞分化培养基(由 MSC 成脂细胞分化基础培养基与 MSC 成脂细胞分化添加组分 A 和 B 混合后形成), 2-8°C 避光条件下储存, 建议 2 周内用完。
- MSC 成脂细胞分化培养基(试用装)为已混合的完全培养基, 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。

I 实验材料和试剂

以下操作, 需在无菌环境下进行。以下为 100 mL 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。

MSC 成脂细胞分化培养基的准备

1. 室温解冻 MSC 成脂细胞分化添加组分 A 与 MSC 成脂细胞分化添加组分 B, 解冻后分别混合均匀。
2. 将 6 mL 的 MSC 成脂细胞分化添加组分 A 与 0.5 mL 的 MSC 成脂细胞分化添加组分 B 依次添加到 100 mL 的 MSC 成脂细胞分化基础培养基中, 混合均匀, 即为 MSC 成脂细胞分化培养基。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。

I 操作方法

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 MSC 无血清扩增试剂盒 C011(ExCell Bio, 货号: ME000-C011)条件下培养, 培养方法参照 MSC 无血清扩增试剂盒 C011 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 MSC 无血清培养基, 每个 T75 培养瓶需要 15-20 mL 的培养基;
2. 冻存的细胞复苏收集, 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/cm² 密度接种细胞(T75 培养瓶约需要 6~7.5×10⁵ 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;

注意: 复苏及传代培养的操作方法可参考 MSC 无血清扩增试剂盒 C011 产品说明书进行; 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/cm²。

3. 将细胞置于 37°C, 5% CO₂, 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;

注意: 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(勿让细胞汇合度超过 90%)。

二、间充质干细胞成脂细胞分化

1. 在 MSC 无血清培养基环境下培养的 hASCs, 传代培养时, 按 20000/cm² 接种至 6 孔细胞培养板。

注意：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。

注意：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. 接种 24h 后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 3 mL 提前预温的 MSC 成脂细胞分化培养基。
3. 37°C，5% CO₂，饱和湿度下培养。每 2-3 天进行换液。
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，分化过程中，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，轻轻晃动培养板，使底面均匀浸润固定液，室温静置 30 分钟，固定细胞；
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，使用去离子水稀释至 0.3%），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。