



# MSCgo™ Adipogenic Differentiation Medium

间质干细胞成脂诱导分化培养基

## 产品描述

MSCgo™ Adipogenic Differentiation Medium 间质干细胞成脂诱导分化培养基, 无血清, 无异源成分, 即用型, 适用于不同来源的 hMSC, 如骨髓、脂肪组织和脐带组织 (hMSC-BM, hMSC-AT, hMSC-CT)。

## 成脂结果

成脂分化后的 hMSC 会成球状, 并且伴随有脂滴累积, 该现象可透过倒置显微镜观察。不同的细胞来源 (类型、年龄、代数) 所得到的分化细胞数会有差异。

## 培养基组成

### MSCgo™ 间质干细胞成脂诱导分化培养基

产品描述	储存	货号	规格
MSCgo™ Adipogenic Differentiation Basal Medium	2-8°C	05-330-1B	100ml
MSCgo™ AdipogenicSF, XF Supplement Mix I	-20°C	05-331-1-01	0.1ml
MSCgo™ AdipogenicSF, XF Supplement Mix II	-20°C	05-332-1-15	1.5ml

## 完全分化培养基配制

- 1 室温下解冻 2 个 Supplement Mix。
- 2 将 0.1ml Supplement Mix I 与 1.5ml Supplement Mix II 加入到 100ml Adipogenic Basal Medium 中, 于 2-8°C 储存。
- 3 完全培养基可在 2-8°C 储存一个月。

## 成脂实验所需材料

### 维持培养基

MSC NutriStem® XF Medium: BI; 05-200-1, 05-201-1

## 技术支持

电话: 4008203979 QQ : 2335494955 邮箱: tech@xpbiomed.com

BI 中国市场部: 上海道鹏生物科技有限公司

电话: 021-58785545 www.xpbiomed.com





MSC Attachment solution XF : BI; 05-752-1

注：若您有MSC血清或者其他培养试剂也可使用。

### 分化培养基

MSCgo™ Adipogenic Differentiation Medium: 05-330-1 , 05-331-1, 05-332-1

### 染色试剂 (可选)

Oil Red O, Sigma; O0625。建议选择 Vivacell 品牌, 间充质干细胞成脂分化染色试剂盒, 货号: C37A00150。

### 成脂诱导分化操作

#### 以维持培养基接种 hMSC

- 1 用 MSC Attachment solution (BI; P/N: 05-752-1, 1:100 DPBS 稀释) 预包被 24 孔盘, 每孔加入 0.5ml MSC NutriStem® XF, 接种  $6 \times 10^4$  细胞 ( $3 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>) 。
  - 此处仅为针对成脂诱导的细胞接种操作, MSC NutriStem® XF Medium 详细操作步骤请参考其说明书。
- 2 置于 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。

#### 以成脂分化培养基诱导分化

- 1 培养24h后确认细胞融合度达到80-90%, 将维持培养基吸除, 每孔(24孔盘)加入0.5ml 分化培养基。
  - 注：若细胞融合度<80%, 继续再培养一天。
- 2 置于37°C, 5% CO<sub>2</sub>细胞培养箱中培养14-21天, 期间培养基的换液请参照以下建议。

#### 不同 hMSC 类型的培养基换液方法

不同来源的 hMSC 具有不同的多向分化潜能。例如, hMSC-AT 所需的诱导期较短 (~6 天), 而 hMSC-BM 和 hMSC-CT 则需要约 10 天的诱导期。

- 在脂肪形成过程中, 干细胞受分化刺激会比较脆弱, 所以需要交替使用分化培养基和维持培养基 (不同来源干细胞有不同建议, 请参考下面说明) 。
- 由于脂肪细胞是脆弱的, 移液要非常小心, 避免将液体直接加到脂肪细胞上。
- 细胞诱导完成后, 使用维持培养基培养。

#### hMSC-AT (脂肪来源) :

一个分化周期/分化培养基 ->维持培养基

#### 技术支持

电话: 4008203979 QQ : 2335494955 邮箱: tech@xpbiomed.com

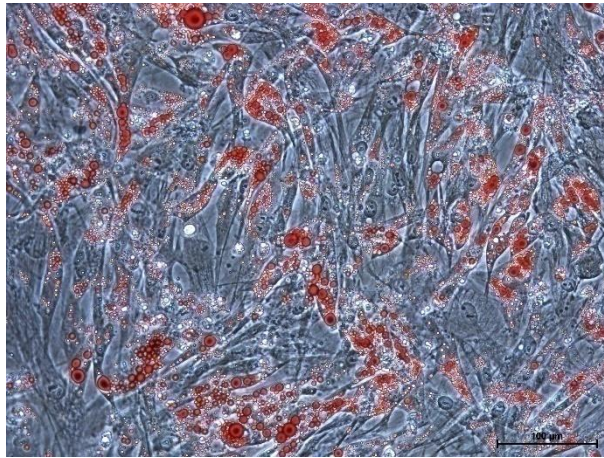
BI 中国市场部: 上海道鹏生物科技有限公司

电话: 021-58785545 www.xpbiomed.com





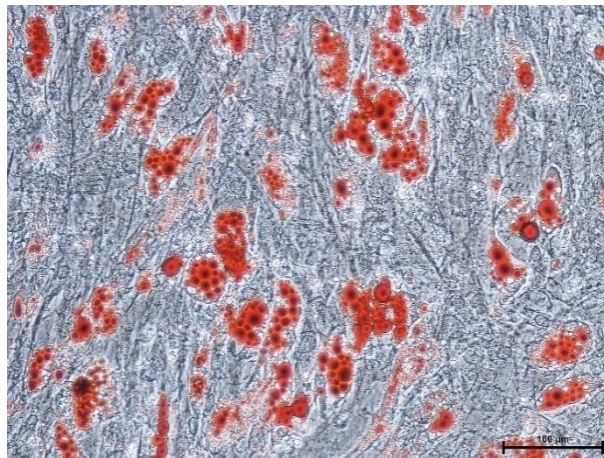
- 使用完全分化培养基培养 6-8 天，期间每 3-4 天换液。
- 分化完成后，换液成维持培养基。
- 观察到成熟脂肪细胞（即脂滴的形成），即可染色。



#### hMSC-BM（骨髓来源）：

一个分化周期/分化培养基 -> 维持培养基

- 使用完全分化培养基培养 6-8 天，期间每 3-4 天换液。
- 分化完成后，换液成维持培养基。
- 观察到成熟脂肪细胞（即脂滴的形成），即可染色。



#### hMSC-CT（脐带来源）：

至少两个分化周期/分化培养基 -> 维持培养基

- 使用完全分化培养基培养 6-8 天，期间每 3-4 天换液。
- 分化期间，若细胞开始变圆、不贴壁，换液成维持培养基，培养 3-6 天，每 2-4 天换液。

#### 技术支持

电话：4008203979    QQ：2335494955    邮箱：tech@xpbiomed.com

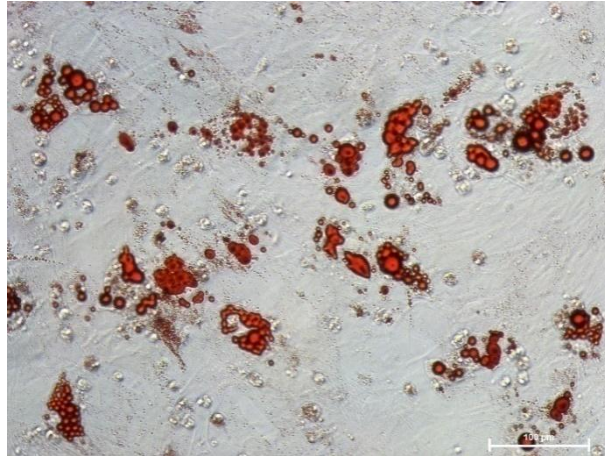
BI 中国市场部：上海道鹏生物科技有限公司

电话：021-58785545 www.xpbiomed.com





- 再重复诱导分化步骤，直到观察到成熟脂肪细胞（即脂滴的形成），即可染色。



### Oil red-O 染色分析（可选）

Oil red-O 用于染色脂滴。

### Oil red-O 染色储存液制备

- 将 0.35g Oil Red-O (Sigma; O0625) 溶解到 100ml 异丙醇 (>99.5%) 中。
- 用 0.2 或 0.45  $\mu\text{m}$  PTFE 滤膜 (如: Minisart SRP 17575) 过滤。
- 溶液置于 2-8°C 储存一年。

### Oil red-O 染色工作液制备

- 将 6ml Oil red-O 染色储存液与 4ml 蒸馏水混合。
- 混合均匀，室温下静置 10-20 分钟。
- 用 0.2 或 0.45  $\mu\text{m}$  PTFE 滤膜(如: Minisart SRP 17575)过滤。
- 2-3 小时内使用。

### Oil red-O 染色过程

- 吸除培养基，用 DPBS 洗一次 (1ml/well, 24 孔盘)
- 固定：吸除 DPBS，加入 10% 福尔马林 (4% 甲醛; 1ml/well, 24 孔盘)。室温固定 30-60 分钟。
- 吸除福尔马林，用 60%的异丙醇洗涤 2-3 分钟 (1ml/well, 24 孔盘)。
- 吸除异丙醇，加入 Oil red-O 染色工作液 (1ml/well, 24 孔盘)。
- 室温静置 10-30 分钟。

### 技术支持

电话：4008203979    QQ：2335494955    邮箱：tech@xpbiomed.com

BI 中国市场部：上海道鹏生物科技有限公司

电话：021-58785545 www.xpbiomed.com





- 用蒸馏水洗涤，去除多余的染料。
- 置于显微镜下观察成脂染色效果及图像采集。

### 半定量 Oil red-O 染色 (可选)

- 用异丙醇 (>99.5%) 洗涤染料 (0.5ml/well, 24 孔盘)。
- 室温下静置 1 小时。
- 确定所有 Oil red-O 溶解在溶液中。
- 500nm 测 OD 值 (>99.5% 异丙醇作为空白对照)。

1.2 版  
2018-1-24

### 技术支持

电话: 4008203979    QQ : 2335494955    邮箱: tech@xpbiomed.com

BI 中国市场部: 上海道鹏生物科技有限公司

电话: 021-58785545 www.xpbiomed.com

