

Just For Health

产品说明书

人脐带间充质干细胞成脂分化试剂盒

货号：KCM-200008

仅供科研使用

Version 1.0

人脐带间充质干细胞成脂分化试剂盒

仅供科研使用

产品信息

产品名称：人脐带间充质干细胞成脂分化试剂盒

货号：KCM-200008

批号：见包装

试剂清单：

序号	名称	数量	货号
A	人脐带间充质干细胞成脂分化基础培养基 A	1	KCM-200008-A
B	人脐带间充质干细胞成脂分化血清	2	KCM-200008-B
C	双抗	2	KCM-200008-C
D	胰岛素	2	KCM-200008-D
E	3-异丁基-1-甲基黄嘌呤	2	KCM-200008-E
F	罗格列酮	1	KCM-200008-F
G	地塞米松	1	KCM-200008-G
H	人脐带间充质干细胞成脂分化基础培养基 B	1	KCM-200008-H
I	油红 O 染色液（储液）	1	KCM-200008-I
J	明胶溶液	1	KCM-100001-J

存储与有效期：

A、D、H、I、J液于 2-8℃避光保存，其余溶液于-20℃避光保存。所有组分均需要避免反复冻融及复温，各组分在所需要的温度下有效期为 1 年，配制完成的完全培养基于 2-8℃保存，有效期为 1 个月。

产品介绍

人脐带间充质干细胞（hUMSC）具有多向分化的潜能，体外在一定条件下可以诱导分化为脐带细胞、成骨细胞、成软骨细胞。2006 年国际细胞治疗协会（ISCT）确定此三项检测指标是 MSC 鉴定的必检项目，目前以 MSC 为基础的研究报道均

会对该三个指标进行鉴定。

为方便科研用户鉴定 MSC 的分化能力，麒盟干细胞研究中心精心优化hUMSC成脂诱导分化试剂盒，其中包括成脂诱导培养体系和鉴定所需要的染色液，让用户可以稳定有效地鉴定 hUMSC 的分化潜能。该试剂盒提供的实验方法为常规鉴定方法，用于鉴定 hUMSC 是否具有成骨分化能力。除此以外，试剂盒的诱导培养基还可用于诱导分化过程中的其他检测，如 mRNA 检测、lncRNA 检测、microRNA 检测、蛋白表达检测、免疫组化检测等。但若用于免疫荧光检测需注意脐带颗粒导致的自发荧光或遮光问题。

本产品仅适用于科研。

操作方法

实验准备

试剂配制：

2-8℃冰箱中过夜溶解 B 液 2 支。

注意：解冻后的血清有时会出现沉淀，这些沉淀不影响血清的质量，不必做过滤等处理。

诱导液 A：室温融化 C、F、G 溶液各 1 支和 E 溶液 2 支，将融化的溶液全部加入 A 液中，然后将 B、D 液各 1 支加入 A 液中，晃动培养基使其充分混匀，配制成诱导液 A。

诱导液 B：将 B、D 液各 1 支加入 H 液中，晃动培养基使其充分混匀，配置成诱导液 B。

油红 O 染液（工作液）：取油红 O 储液，与蒸馏水以 3：2 的比例混合均匀，中性滤纸过滤，即配制成了油红 O 染液（工作液）。

注意：溶液溶解后旋涡混匀、1000g 短时离心以使溶液集中于管底。将管内溶液加入 A/H 液后，吸取 A/H 液洗涤溶液瓶两次，将洗涤液加入 A/H 液中。所有液体混合成诱导完全培养基后必须充分混匀，2-8℃保存。E 液较难溶解，需提前复温，反复摇动，在加入 A

液前须保证完全溶解。诱导液 B 可在需要时现配。整个过程需无菌操作，适当以 75%酒精擦拭表面。

◇ 培养皿处理：

加适量明胶溶液到培养器皿中，轻轻摇动使其覆盖整个培养器皿底面，室温静置 30-60 分钟。弃去明胶溶液，室温晾干。

注意：本试剂盒建议使用六孔板操作，每孔加明胶溶液 1 ml，使用其他培养器皿时需考虑实验结果的稳定性。整个过程需在超净工作台中操作，避免污染。

◇ 自备试剂：

- 消化液（0.25%Trypsin-0.04%EDTA）
- 磷酸盐缓冲液（DPBS）
- hUMSC 完全培养基
- 4%中性多聚甲醛溶液

注意：若 hUMSC 完全培养基不含血清，则需要准备胰酶抑制剂。hUMSC 消化极易过度，建议稀释消化液一倍，且严格控制消化时间。

操作步骤

- 1 准备所需诱导分化的 hUMSC，当细胞融合达 85%左右时，用消化液消化细胞，并用 hUMSC 完全培养基重悬。
- 2 按照 3×10^4 cells/cm² 的密度将细胞接种于已明胶处理的六孔板中，每孔 hUMSC 完全培养基 2 ml，37°C、5%CO₂ 培养箱中培养。

注意：细胞密度为该试剂盒的标准密度，若修改细胞接种密度则需要考虑实验结果的稳定性。

- 3 当细胞融合达 80%时，弃去原培养上清，添加诱导液 A 2 ml/well，37°C、5%CO₂ 培养箱中培养。

注意：成脂诱导后细胞易脱壁，换液时完全培养基必须经 37 °C 复温。添加培养基时动作

要轻柔，避免吹起细胞。

4 诱导培养 72 h 后弃去原培养上清，添加诱导液 B 2 ml/well，37°C、5%CO₂ 培养箱中培养。

5 诱导培养 24 h 后弃去原培养上清，添加诱导液 A 2 ml/well，37°C、5%CO₂ 培养箱中培养。

6 重复步骤 4、5 约 3-5 次，待细胞内出现明显脂滴时更换为诱导液 B 继续培养。

7 每 2 天更换新鲜诱导液 B，继续培养至脂滴足够大时培养结束。

注意：换液时诱导液必须经过复温，否则影响诱导效果和可能导致细胞脱壁。根据实验需要选择培养结束时间，若成脂面积过大或脂滴过大导致连成片则不利于结果的呈现，建议提前终止。

8. 诱导培养结束时，弃去培养上清，DPBS 洗细胞两次，4%中性多聚甲醛溶液 2 ml/well 室温固定细胞 20 分钟。

注意：培养结束时或中途可以选择其他检测方法，如基因表达检测等，若采用自己拟定的检测方法则后续方案需要自己拟定。

9. 弃去固定液，DPBS 洗 2 次，加入油红 O 染液 1 ml/well 染色 15 分钟。

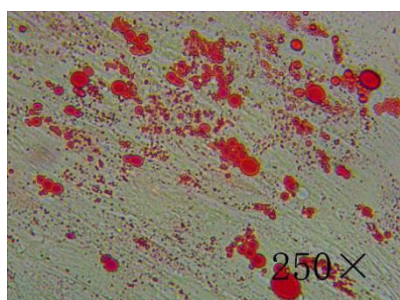
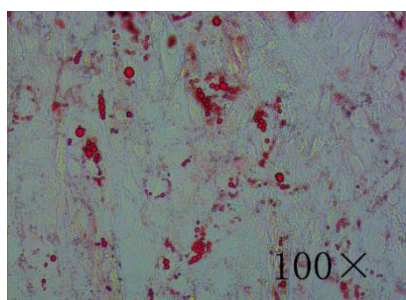
注意：该步骤适用于鉴定成脂能力，若出现脂滴（脐带细胞）则会呈现红色着色。若需要得到美观的图片，则染色时间需自己掌握。

10 弃去油红 O 染液，DPBS 洗 3 次。

11 显微镜下观察并拍照。

12 **结果判定：**按照程序操作完毕，低倍镜下观察可见大面积红色着色点，20 倍和 40 倍镜下可观察到红色球形在细胞内的情况，此红色着色球为脂滴，说明实验所用的 hUMSC 具有成脂能力。否则，所使用的 hUMSC 无成脂能力。

结果展示



相关产品

名称	货号
人脐带间充质干细胞成骨分化试剂盒	KCM-200007
人脐带间充质干细胞成软骨分化试剂盒	KCM-200009