

# Nuwacell™ hMSC 成脂分化试剂盒

## 一、产品简介

Nuwacell™ hMSC 成脂分化试剂盒是由安徽中盛溯源生物科技有限公司开发，该试剂盒具有高效成脂定向分化能力，可用于人类间充质干细胞向成脂诱导分化。

## 二、产品信息

表一：Nuwacell™ hMSC 成脂分化试剂盒产品说明

产品信息	货号	规格	储存条件
<b>Nuwacell™ hMSC成脂分化试剂盒包含：</b>	<b>RP01014-A</b>	<b>1 Kit</b>	<b>2℃~8℃*</b>
Nuwacell™ Adipogenic differentiation Basal Medium	RP01014-A-01	90 mL	2℃~8℃
Nuwacell™ Adipogenic differentiation Supplement	RP01014-A-02	10 mL	-20℃至-80℃

\*将基础液和添加物混匀配置成完全培养基，可在 2℃~8℃中存储，2 周内用完。

## 三、试剂材料

表二：推荐试剂&材料

试剂&材料	品牌 (e.g.)	货号 (e.g.)
Nuwacell™ ncMission hMSC Medium	中盛溯源	RP02010
油红 O (Oil Red O)	Sigma	O0625
1×DPBS w/o Ca <sup>2+</sup> /Mg <sup>2+</sup>	Thermo Sci.	14190250
6孔板	Thermo Sci.	140685
1 mL/5 mL/10 mL/25 mL移液管	Thermo Sci.	N/A
15 mL/50 mL离心管	Thermo Sci.	N/A
10 µl/200 µl/1000 µl吸头	Rainin .	N/A

## 四、试剂准备

### (一) Nuwacell™ hMSC 成脂分化完全培养基配制

- 在 4℃解冻 Adipogenic differentiation Supplement, 不要在 37℃条件下解冻。
- 在生物安全柜中，使用无菌移液管混匀下列成分配制成 100mL 分化完全培养基。

**Nuwacell™ Adipogenic differentiation Basal Medium: 90 mL**

**Nuwacell™ Adipogenic differentiation Supplement: 10 mL**

- 完全培养基可置于 4℃储存，2 周内使用。

**TIPS:** 可根据实际用量将 Supplement 分装后冷冻保存。冻融总次数不能超过 2 次。

## (二) 油红工作液的配制

- 1、**油红饱和储存液**：18 mg 油红粉末+50 ml 异丙醇，常温保存。
- 2、**油红工作液**：储存液：生理盐水=6:4 比例稀释，观察稀释液有无颗粒析出，如有颗粒可用 0.22  $\mu\text{m}$  的滤膜过滤去除。工作液根据需要，现配现用。

## 五、间充质干细胞成脂分化

### (一) 间充质干细胞培养

1. **hMSC 的培养和准备**：详见 **Nuwacell™ ncMission hMSC Medium** 使用说明书。
2. 用 **Nuwacell™ ncMission hMSC Medium** 培养间充质干细胞，将间充质干细胞按 5000-10000/cm<sup>2</sup> 的密度接种到六孔板中，水平十字摇匀三次，置于 37°C、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中，再次水平十字摇匀三次，培养。

### (二) 间充质干细胞成脂分化

1. hMSC 汇合度达到 85%左右时，开启分化：吸去上清，设置实验组和对照组。实验组加入 **hMSC 成脂分化完全培养基**；对照组加入 **ncMission hMSC Medium**。
2. 每 3-4 天换液一次，每次 2-3ml/孔，连续培养至第 21 天。
3. 第 21 天，吸弃上清液，加入**固定液（4%多聚甲醛）**固定 30 分钟。
4. 将分化组和对照组吸去上清，加入合适体积的**油红工作液**，室温避光孵育 20~60 分钟，然后吸去染液，用生理盐水或 DPBS 洗涤至未见背景色，每孔再加入生理盐水或 DPBS 浸润，显微镜下观察，拍照。

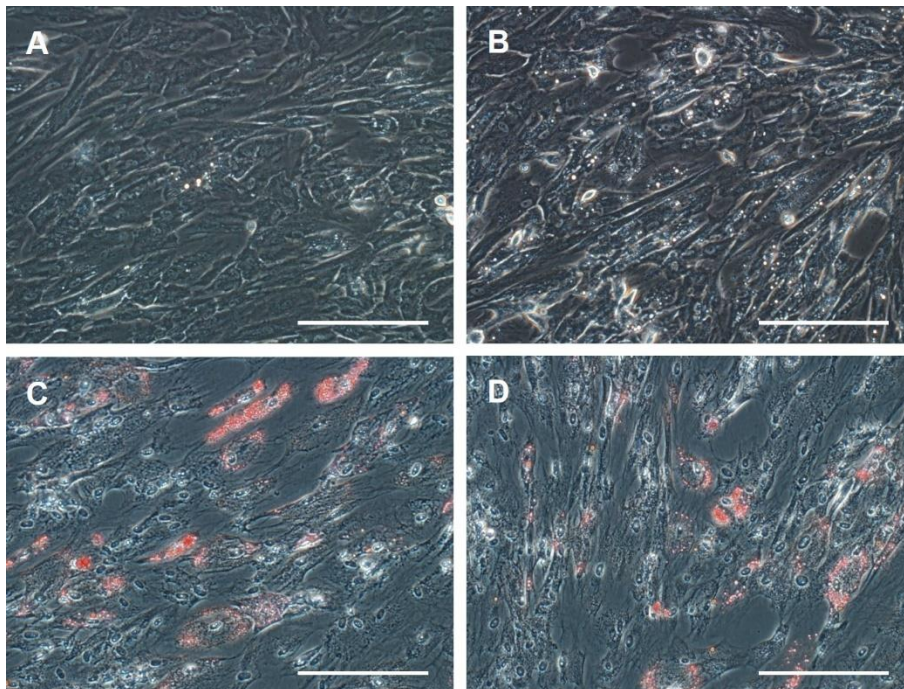


图 A、B 分别为 Nuwacell™hMSC 成脂分化试剂盒分化 DAY10 和 DAY21 细胞形态图示；  
 图 C、D 为 Nuwacell™hMSC 成脂分化试剂盒分化第 21 天，油红染液染色结果图示。标尺：200 $\mu\text{m}$ 。