

3T3-L1 (小鼠胚胎成纤维细胞) 成脂诱导分化培养基操作手册

产品规格：400mL

产品货号：PD-031

➤ 产品描述

3T3-L1 (小鼠胚胎成纤维细胞) 成脂诱导分化培养基专门为3T3-L1 (小鼠胚胎成纤维细胞) 成脂诱导分化而开发，针对3T3-L1 (小鼠胚胎成纤维细胞) 的特性优化分化试剂的配方，可增加3T3-L1 (小鼠胚胎成纤维细胞) 的成脂分化效果。

本产品含血清成分，仅用于科研用途，不可用于诊断、治疗、临床及其他用途。

➤ 培养基组成成分

● 成脂诱导分化培养基A液：

成分名称	添加体积
3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)成脂分化专用基础培养基A Basal Medium For 3T3-L1(Mouse embryonic fibroblasts) Adipogenic Differentiation A	177mL
3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)成脂分化专用胎牛血清 (FBS) Fetal Bovine Serum For 3T3-L1(Mouse embryonic fibroblasts) Adipogenic Differentiation	20mL
3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)成脂分化添加物A① Supplement For 3T3-L1(Mouse embryonic fibroblasts) Adipogenic Differentiation A①	2.8mL
3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)成脂分化添加物A② Supplement For 3T3-L1(Mouse embryonic fibroblasts) Adipogenic Differentiation A②	200μL



●成脂诱导分化培养基B液：

成分名称	添加体积
3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)成脂分化专用基础培养基B	
Basal Medium For 3T3-L1(Mouse embryonic fibroblasts) Adipogenic Differentiation B	177.2mL
3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)成脂分化专用胎牛血清 (FBS)	
Fetal Bovine Serum For 3T3-L1(Mouse embryonic fibroblasts) Adipogenic Differentiation	20mL
3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)成脂分化添加物B	
Supplement For 3T3-L1(Mouse embryonic fibroblasts) Adipogenic Differentiation B	2.8mL

注：各成分请根据试剂管上标签标示温度保存。

●辅助试剂：

成分名称	添加体积
油红O染色液	10mL
Oil Red O Solution	
明胶包被液	10mL
Gelatin Solution	

➤操作流程

一、3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)成脂诱导分化培养基的准备

1. 前言：本品为试剂盒型，使用前需将试剂盒内各成分试剂混匀。（请勿将A液与B液混淆）
2. 准备工作：将血清于4℃解冻至完全融化；将各添加物于室温解冻至完全融化，轻轻摇晃A①、B混匀；A②短暂离心，使试剂能全部收集至管底。
3. A液配置：按顺序将FBS（两支FBS无区别）、A①、A②先后加入到基础培养基A中；混匀做标识，即可使用。
4. B液配置：按顺序将FBS（两支FBS无区别）、B先后加入到基础培养基B中；混匀做标识，即可使用。

注：步骤3、4中无菌吸取试剂管中的试剂成分，将枪头伸至培养基液面下方快速注入，轻微吹打洗涤枪头。再吸取少量培养基洗涤试剂管，尽可能将所有组分完整地加到基础培养基中，可以更好得保证培养基的效果。



二、3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)成脂诱导分化操作指导

● 温馨提示:

1. 试剂准备: 此过程需要准备3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)完全培养基、0.25%胰酶、1×PBS以及3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)成脂诱导分化培养基(PD-031)。
2. 明胶包被: 明胶包被有助于减少细胞诱导过程中的细胞回缩、飘起、卷边、贴壁不牢等现象。操作步骤为“加适量明胶包被液, 覆盖孔板底部即可, 于超净台或细胞培养箱孵育30min, 吸除明胶包被液, 即可用于实验接种”。
3. 温度: 细胞培养基温度变化是引发细胞诱导过程中的飘起、卷边的主要影响因素。因此诱导培养基在换液前一定要预热至37°C, 在外观察细胞时间不可过长(建议10分钟以内)。
4. 换液: 同时操作孔数不可过多(建议6孔以内), 换液时建议沿孔板侧壁轻柔缓慢得注入。

● 本成脂诱导操作指导以六孔板为例:

1. 当您的3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)的融合度达到80~90%时, 即可用0.25%胰酶进行消化。
2. 将消化下来的3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)进行计数, 根据计数结果, 按 $2-3 \times 10^4$ cells/cm²的细胞密度接种在六孔板中, 每孔加入2 mL的3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)完全培养基。
3. 将均匀接种好的3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)置于37°C, 5% CO₂的培养箱中进行培养。
4. 当细胞融合度达到100%时(细胞过饱和和有利于激发干细胞的成脂潜能), 小心的将孔内完全培养基吸走, 向六孔板中加入2 mL 3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)成脂诱导分化培养基A液完全培养基。
5. A液诱导2-3天后, 吸走六孔板的诱导完全培养基, 每孔加入2 mL 3T3-L1(小鼠胚胎成纤维细胞)成脂诱导分化培养基B液完全培养基维持1天。

注: A液诱导时长2-3天均可, 诱导期间细胞出现形态变化为正常现象; “A 2天+B 1天”的方案对细胞的刺激更温和, 新手使用较为稳妥; “A 3天+B 1天”的方案对细胞的刺激更强, 在细胞状态优秀、操作者经验丰富的情况下可以加快实验进程。

6. A、B两种培养基交替诱导3-5次后, 当观察到干细胞内出现明显的、足够多的脂滴后, 可用B液继续培养3-6天(每2-3天换液一次), 至直脂滴变得足够大和饱满, 即可结束诱导, 根据实验需求对细胞进行染色和后续鉴定。

三、油红 O 染色液的使用

1. 当您的成脂诱导实验结束后, 可进行油红O染色确定诱导效果(本试剂盒提供饱和油红O染色液, 需配制成工作液后使用)。



2. 吸走孔板里的成脂诱导分化完全培养基，用1×PBS 冲洗1-2遍。
3. 加入4%中性甲醛溶液（覆盖细胞表面即可），对细胞固定30分钟。
4. 细胞固定期间，可配制油红O工作液(饱和油红O溶液：蒸馏水=3:2，混匀后用中性滤纸或尼龙材质滤膜过滤除去杂质)。
5. 吸走4%中性甲醛溶液，用1×PBS冲洗1-2遍。
6. 以六孔板为例，每孔加入1mL油红O工作液，室温染色30分钟。
7. 吸走油红O工作液，用1×PBS冲洗1-2次，把背景杂质洗干净，即可在显微镜下观察诱导和染色效果。

► 注意事项

1. 因为培养基的成分较多，请在配制过程中严格注意无菌操作。
2. A、B交替诱导是为了减轻A液中试剂对干细胞的影响，如果您的干细胞状态较好可在前7天先只使用A液进行刺激诱导（中途每2-3天更换新鲜A液），待脂滴快速出现后，再进行两种培养基交替诱导的操作。

