

## 3T3-L1 细胞成脂诱导分化与染色试剂盒

Cat No. :KF-H0033

### 产品内容：

#### 3T3-L1 细胞成脂诱导分化与染色试剂盒

成脂诱导液	DMEM 低糖基础培养基	175mL
	特级胎牛血清	20mL
	成脂诱导添加物	5mLIBMX 200 $\mu$ L
其他成分	油红 O 染色液	5mL
	0.1%明胶溶液	10mL

### 产品简介：

3T3-L1 细胞成脂诱导分化与染色试剂盒包括成脂诱导培养体系所有成分以及鉴定所用的油红 O 染色液。本产品可用于 3T3-L1 细胞成脂诱导分化与染色。

### 特点优势：

诱导分化程序简单便捷  
成脂诱导效率高

### 质量控制：

本产品已经过无菌检测、pH 测试、渗透压检测、内毒素检测。

声明：本产品供科学研究和生产使用，用于组织和细胞的体外培养；禁止临床使用。

### 诱导分化完全培养基的配制方法：

1. 配制前将特级胎牛血清及成脂诱导添加物放置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱内完全融化，LIBMX 放置室温中解冻。

**注意：**融化后的血清中可能出现絮状物，其主要成分为析出的血纤蛋白，这不会影响产品使用



效果；如絮状物较多，可离心去除（不建议过滤，过滤会造成部分营养物质丢失）。

2. 用 75% 医用酒精擦拭消毒试剂盒中各瓶/管表面。
3. 将血清、成脂诱导添加物和 IBMX 全部加入 DMEM 低糖培养基中（DMEM 需先 37°C 水浴预热，否则 IBMX 会预冷析出）。
4. 轻轻颠倒摇晃配制好的成脂诱导分化与染色试剂盒，使其混合均匀。

**特别建议：**如短时间内无法使用完全部的培养基，建议按照上述配方比例分批配制；剩余成分可以分装为合格规格，按各自保存条件储存，切勿反复冻融。

#### 明胶包被培养器皿表面：

1. 为了避免诱导过程中细胞漂浮，建议对成脂诱导使用的培养器皿表面进行明胶包被。
2. 取能覆盖整个培养皿/板底面量的 0.1% 明胶入到培养皿/板中，如 6 孔板中加 2mL/孔。
3. 摇匀液体使其覆盖整个培养皿/板的底面。
4. 将铺有 0.1% 明胶的培养皿/板室温放置（生物安全柜或超净工作台）至少 30min 以上。
5. 吸弃明胶，待培养皿/板晾干后，1×PBS 洗 2 次，即可用于接种细胞。

注意：包被明胶的培养皿/板在无菌和明胶不蒸干的条件下，可以在 4°C 保存两周。

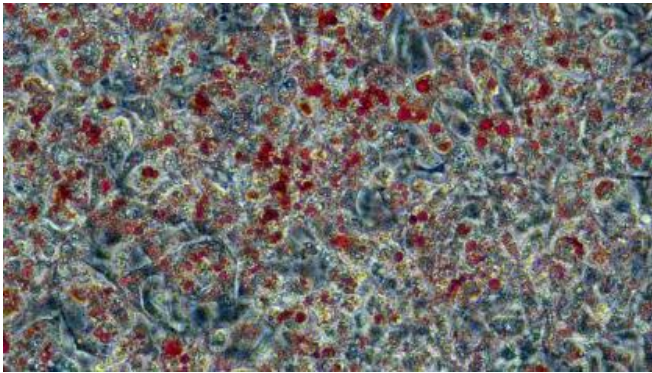
#### 成脂诱导分化操作规程（以 6 孔板为例）：

1. 当 3T3-L1 细胞融合度达到 80-90% 时，消化细胞并计数；
2. 将细胞按照  $1 \times 10^5$  cells/mL 的密度接种在包被 0.1% 明胶的六孔板中，每孔加入 2 mL 正常培养用完全培养基。
3. 将细胞置于 37°C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中进行培养。
4. 当细胞汇合度达到 100% 时，吸弃上清，PBS 洗 2 次，每孔加入 2 mL 3T3-L1 细胞成脂诱导分化与染色试剂盒液；
5. 诱导培养 2 天后，吸去六孔板中的诱导液，加入 2 mL 3T3-L1 细胞完全培养基培养；
6. 完全培养基培养 2 天后，观察是否脂肪滴出现，如脂肪滴较少，则继续换成诱导液继续诱导 2 天。
7. 重复以上诱导液和完全培养基交替程序 2~4 次后（8-16 天），继续用完全培养基维持培养 4-7 天直到脂滴变得足够大、圆。完全培养基维持培养期间，每隔 2-3 天需要换用新鲜的完全培养基。



**油红 O 染色 (以 6 孔板为例) :**

- 1、诱导成脂分化结束后，吸弃上清，PBS 清洗 1-2 遍，每孔加入 2 mL 4%多聚甲醛溶液，固定 30 min；
- 2、油红 O 染色工作液配制方法：饱和油红 O 染液：蒸馏水=3:2，混匀后用中性滤纸过滤即可（或者混匀后 1100rpm 离心 4min，使用上清）。
- 3、将 4%多聚甲醛吸净，PBS 清洗 2 遍。每孔中加入 1 mL 油红 O 染液，室温染色 30min；
- 4、吸净油红 O 染液，PBS 清洗 2-3 遍。5. 每孔加入 1mL PBS，倒置显微镜下观察成脂染色效果。



油红 O 染色效果

**保存条件：**

试剂名称	保存条件	有效期
DMEM 低糖基础培养基	2-8°C	1 年
特级胎牛血清	-20°C	6 年
成脂诱导添加物	-20°C	1 年
IBMX	-20°C	1 年
3T3-L1 细胞成脂诱导分化与染色试剂盒	2-8°C	1 个月
油红 O 染色液	2-8°C	1 年
0.1%明胶溶液	2-8°C	1 年



注意事项：

- 1、本产品所有组分均为无菌包装，在使用过程中请注意无菌操作，避免微生物污染；若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。
- 2、本产品发货时使用冰袋运输，若收到货后暂时不使用，请按照保存条件将各组分保存。
- 3、为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。

