成脂诱导培养基

货号: PCM-I-004

【产品简介】

上海中乔新舟生物科技有限公司研发的小鼠 3T3-L1 细胞成脂分化试剂盒，包含适合小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞成脂诱导分化的完全培养基，以及配套的明胶包被液和油红 O 染色液。本产品采用单一成脂诱导完全培养基，无需繁琐的 A/B 液交替，操作简便，可稳定、高效诱导 3T3-L1 细胞分化为成熟脂肪细胞。

【产品信息】

物理外观	液体
规格	100ml/200ml
pH 值	7.0 ~ 7.4
内毒素	≤3 EU/mL
微生物检测	细菌、真菌、支原体未检出
细胞生长实验	细胞生长良好，形态正常

组分	货号 (100ml 规格)	体积 (100ml 规格)	货号 (200ml 规格)	体积 (200ml 规格)	性状	储存条件
成脂诱导完全培养基	PCM-I-004-A1	100mL	PCM-I-004-A2	200mL	液体	-20℃保存 1 年；4℃避光保存半年
0.1%明胶溶液	PCM-I-004-B1	5mL	PCM-I-004-B2	10mL	液体	4℃保存 1 年
油红 O 溶液	PCM-I-004-C1	15mL	PCM-I-004-C2	30mL	液体	室温保存 1 年
油红 O 稀释液	PCM-I-004-D1	10mL	PCM-I-004-D2	20mL	液体	室温保存 1 年
染色洗涤液	PCM-I-004-E1	35mL	PCM-I-004-E2	70mL	液体	室温保存 1 年

【使用说明】

诱导分化操作规程

注意

1. 本操作规程以 24 孔板为例，请根据实际情况选用合适的培养容器。
2. 为减少诱导过程中细胞漂起、不贴壁，建议使用 0.1%明胶包被培养容器。
3. 成脂诱导完全培养基在使用前需预热至 37℃。

操作步骤

1. 加适量 0.1%明胶溶液到 24 孔板中，摇匀，使其均匀覆盖孔底。
2. 将铺有明胶的 24 孔板放置 37℃培养箱，孵育 1-2 小时，或者 4℃过夜。
3. 在加入培养基和细胞之前，在无菌环境中抽吸明胶溶液，并用 PBS 溶液涮洗一到两次。
4. 将小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞按照每孔 1×10^5 个细胞接种于 24 孔板中，每孔加入 0.5 mL 生长培养基。
5. 细胞置于 37℃、5% CO_2、饱和湿度的 CO_2培养箱中培养。
6. 当细胞汇合度达到 100%时，建议继续培养 1-2 天使其充分接触抑制，随后小心吸走孔内生长培养基，向每孔中加入 0.5 mL 成脂诱导完全培养基。
7. 换液方案：每 3 天全换液一次，吸去旧培养基，加入新鲜预热的成脂诱导完全培养基。

8. 每天观察细胞状态。若出现细胞收缩、死亡等异常情况，可适当缩短换液间隔或调整培养条件，待细胞状态恢复后继续诱导。
9. 持续诱导至出现足量、大小适宜的脂滴（通常需要 12 天），即可准备油红 O 染色。
   注意：诱导时间不宜太长，否则可能导致细胞死亡或脂滴破裂。

油红 O 染色分析

所需材料

- 1×PBS（货号：ZQ-1300）
- 4%多聚甲醛固定液或 10%甲醛溶液
- 本试剂盒提供的油红 O 溶液、油红 O 稀释液、染色洗涤液
- 选做：苏木素染色液（需自备）

注意：为防止脂滴脱落，所有操作尽可能轻缓。对于贴壁不太好的细胞，加入任何溶液时，不宜直接将溶液加到细胞上，而应沿着孔板壁缓慢加入，然后轻轻混匀。

操作步骤

(a) 洗涤与固定

1. 缓慢吸去细胞培养液，PBS 洗涤 1 次。
2. 加入 4%多聚甲醛固定液或 10%甲醛溶液固定 10 分钟，PBS 漂洗 2 次。

(b) 油红 O 工作液配制

按油红 O 溶液:稀释液=3:2 配制油红 O 工作液，混匀后室温放置 10 分钟，用 0.45 μm 滤器或滤纸过滤，两小时内使用。
注：过滤步骤很重要，否则沉淀物会产生背景。

(c) 染色

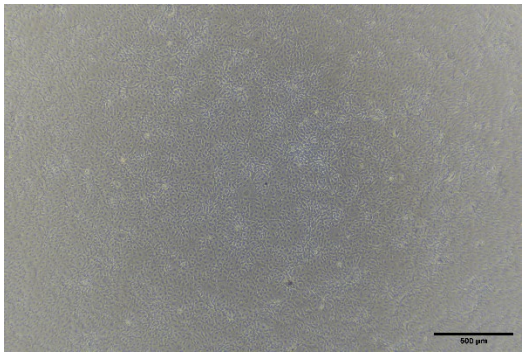
1. 加入适量染色洗涤液覆盖细胞 20 秒。
2. 吸除染色洗涤液，加入适量油红 O 染色工作液，染色 10-20 分钟。
   注 1：染液体积均匀覆盖细胞即可，以 48 孔板为例，可加入适量染色工作液（如 200-300 μL）。
   注 2：可适当延长染色时间，但不要超过 1 小时。
3. 去除油红 O 染色工作液，加入适量染色洗涤液，静置 30 秒，然后去除染色洗涤液，用 PBS 洗涤 20 秒。
4. 选做：可用苏木素染色液进行细胞核的复染。
5. 加入适量 PBS，均匀覆盖细胞即可，显微镜下观察和拍照。

【成脂诱导及染色结果示例】

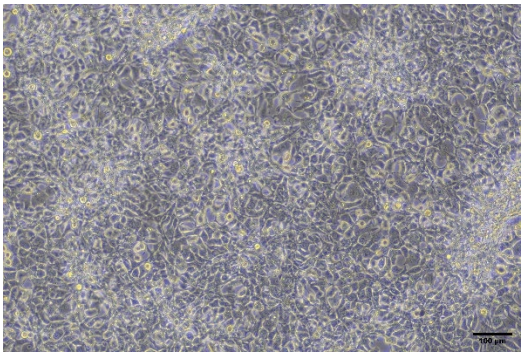
图 1 小鼠 3T3-L1 细胞成脂诱导过程形态变化

A.诱导前（Day 0）细胞呈梭形；B.诱导第 3 天（Day 3）细胞形态开始变圆；C.诱导第 6 天（Day 6）可见明显脂滴生成；D.诱导第 12 天（Day 12）绝大多数细胞已分化为充满大脂滴的成熟脂肪细胞。

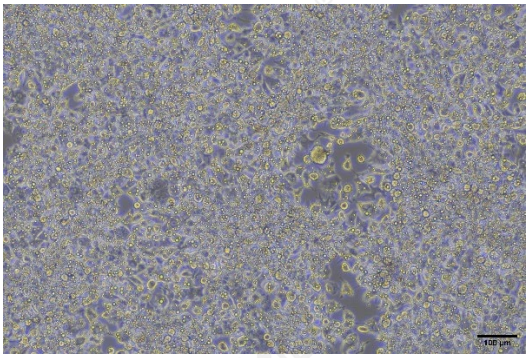
A. 诱导前（Day 0）



B. 诱导第 3 天（Day 3）



C. 诱导第 6 天（Day 6）



D. 诱导第 12 天（Day 12）

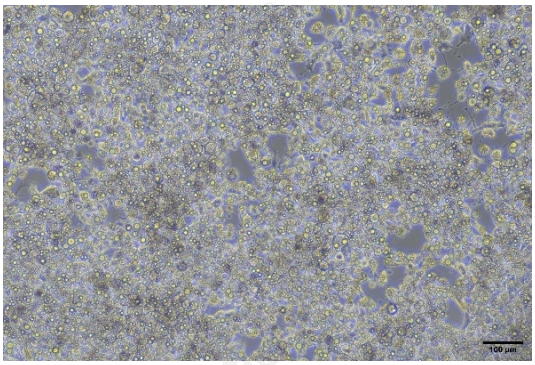
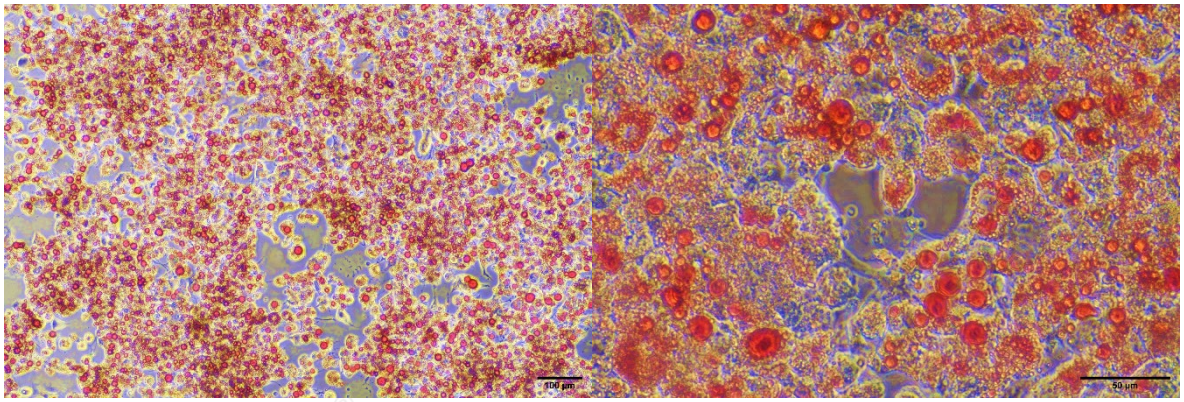


图 2 油红 O 染色结果

成脂诱导第 12 天后进行油红 O 染色，可见大量红色脂滴，随着放大倍数增加（10 倍、40 倍），可清晰观察到脂滴在细胞内的密集分布与典型形态。



专注于细胞®
ZQXZBIO®
中乔新舟®

【常见问题与解决方案】

问题	可能原因	解决方案
成脂诱导后未见脂滴	细胞密度过高或过低	参考说明书推荐密度， 3T3-L1 需在 100%汇合后再维持 1-2 天，使其退出生长周期，才能响应诱导。
成脂诱导后未见脂滴	诱导培养基失效	确保补充剂正确解冻且未超过有效期。
成脂诱导后未见脂滴	细胞代数过高或状态不佳	3T3-L1 细胞随传代次数增加，成脂潜能会显著下降。建议使用低代次且状态良好的细胞重新实验。
染色背景过高	洗涤不充分	增加洗涤次数，确保染液充分过滤。
诱导过程中细胞脱落	换液操作过于剧烈	换液时沿管壁缓慢加入/吸除培养基，避免直接冲击细胞层。

【注意事项】

1. 本本产品仅限研究用途（For Research Use Only），不得用于人类或动物的诊断或治疗用途。
2. 所有操作需在无菌条件下进行，建议使用生物安全柜。
3. 含 DMSO 的组分（成脂诱导添加剂）操作时请佩戴合适手套（丁腈手套），DMSO 可穿透乳胶和硅胶手套。
4. 所有添加剂解冻后不可再次冻存，请按需分装。
5. 培养基配制后如不及时使用，请按说明书要求储存，并在规定期限内使用完毕。
6. 3T3-L1 细胞的分化效率受细胞代数、传代次数、既往培养条件等多重因素影响，建议每次实验设置阳性对照，且尽量使用低代次细胞。
7. 本说明书所列培养周期为参考值，实际周期需根据细胞表现酌情调整。
8. 成脂诱导完全培养基使用前请预热至 37℃，避免冷热交替。
9. 换液时请沿孔壁缓慢加入，避免冲落细胞或脂滴。
10. 油红 O 工作液需现配现用，过滤后 2 小时内使用。
11. 若需定量分析，可在油红 O 染色后，用异丙醇洗脱，于 490-510 nm 测定吸光度。

【企业质量体系】

上海中乔新舟生物有限公司已取得 ISO 9001、GBT13485 医疗器械质量管理体系认证，全流程质量管控合规可靠。

【文献奖励】

科研论文引用中乔新舟产品并成功见刊，可享文献奖励。

- 发表[中文论文]请标注：成脂诱导培养基（PCM-I-004)由**上海中乔新舟生物科技有限公司**提供；
- 发表[英文论文]请标注：Adipogenic Differentiation Medium (PCM-I-004)were kindly provided by **Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co.,Ltd.”或“ZQXZbio”**

获取详情方式

- 关注【中乔新舟】公众号，在菜单栏点击**快速查询**，选择**文献奖励**，即可查看文献奖励详细规则;
- 咨询官方客服，获取文献奖励详细规则。

****活动最终解释权归中乔新舟生物所有****