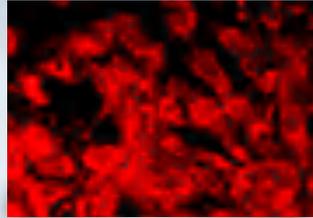


3T3-L1细胞成脂分化诱导试剂盒

上海瑾原生物技术有限公司的小鼠胚胎成纤维3T3-L1细胞成脂分化诱导试剂盒，主要适用于实验室诱导前脂肪细胞3T3-L1细胞从成纤维细胞分化为脂肪细胞，为研究脂肪生成和脂肪细胞的生物化学提供方便。

染色数据


货号：JY-H1022
规格：200mL/Kit

材料名称	剂量	保存温度
3T3-L1成脂诱导分化专用培养基	175 mL	4°C
特级胎牛血清	20 mL	4°C
成脂诱导添加物	5mL	4°C
IBMX	200μL	4°C
活细胞脂滴染色剂	10μL	4°C
固定细胞油红O染色储液	5mL	4°C
0.1%明胶溶液	10mL	4°C

成脂诱导分化完全培养基液的配制方法

1. 配制前将特级胎牛血清及成脂诱导添加物置于4°C冰箱内完全融化,IBMX置室温中解冻。
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3T3-L1成脂诱导分化专用培养基中（培养基需先在37°C水浴锅预热，否则IBMX会遇冷析出）。
4. 轻轻颠倒摇晃配制好的成脂诱导分化完全培养基，使其混合均匀。

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%明胶加入到培养皿/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。

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 1×10^5 cells/mL的密度接种在包被0.1%明胶的六孔板中，每孔加入2mL正常培养用完全培养基。
3. 将细胞置于37°C，5%CO₂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2mL 3T3-L1细胞成脂诱导分化完全培养基。
5. 诱导培养2天后，吸去六孔板中的诱导液，加入2mL 3T3-L1细胞完全培养基培养；期间可加入1μL活细胞脂滴染色剂，室温染2-3min后，镜检，可在530-560nm激发光和590nm发射光的倒置荧光显微镜下查看细胞内是否存在发出红色荧光的细密油滴。
6. 完全培养基培养2天后，观察是否出现脂肪滴，如脂肪滴较少，则换成成脂诱导分化培养基继续诱导2天。重复以上成脂诱导分化培养基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天直到脂肪滴变得足够大、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2mL 4%多聚甲醛溶液，固定30min；油红O染色工作液配制方法：固定细胞油红O染色储液：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）
2. 将4%多聚甲醛吸净，PBS清洗2遍。每孔中加入1mL油红O染色工作液，室温染1-2h；吸净油红O染液，PBS清洗2-3遍。
3. 每孔加入1mL PBS，倒置显微镜下观察成脂染色效果。

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。