

# 小鼠脂肪干细胞（白色脂肪）分离试剂盒

Cat NO: IMP-MK026

## 产品描述

脂肪干细胞（ADSCs）是一种具有多向分化潜能的干细胞，主要恢复组织细胞的修复功能，促进细胞的再生，有效改善亚健康、早衰等疾病。根据不同来源及分化阶段，干细胞可分为胚胎干细胞和成体干细胞。胚胎干细胞具有分化为多种不同组织的能力。成体干细胞因其来源广泛、增殖能力强等特点，现已成为组织工程学研究的首选种子细胞。其中，脂肪干细胞作为组织工程修复的种子细胞，因其具有来源丰富、取材容易、增殖能力强等优点，正受到越来越多的关注。脂肪干细胞形态类似成纤维细胞，具有较强的增殖能力。在一定的诱导条件下，可分化为脂肪细胞、成骨细胞、软骨细胞、心肌细胞、上皮细胞等，具有多向分化潜能。

## 适用范围

该试剂盒适用于 C57BL/6J、BALB/c 等不同品系的 0-4 周小鼠原代脂肪干细胞提取试剂盒。

## 规格

本试剂盒规格为 10 次（以 10ml 为 1 次计）

## 运输和存储条件

2-8 °C 保存与运输，保质期为参考下表。所有组分开封后，有效期为 6-8 周，建议尽快使用。

## 配套培养基信息

表 1. 分离培养试剂盒组成信息

产品货号	产品名称	产品规格	储存条件
IMP-MK026A	小鼠脂肪干细胞组织专用消化液	100 mL	2-8°C，避光保存，3 个月
IMP-MK026B	小鼠脂肪组织处理缓冲液	500 mL	2-8°C，避光保存，3 个月

IMP-MK026C	重组胰蛋白酶（含 EDTA，不含酚红）	100 mL	2-8°C，避光保存，3 个月
IMP-MK02601	小鼠脂肪干细胞专用完全培养基	500 mL	2-8°C，避光保存，3 个月

## 分离步骤

实验前准备：脂肪干细胞组织专用消化液、脂肪组织处理缓冲液、脂肪干细胞专用完全培养基；实验需自备 PBS、含 10%FBS 完全培养基、手术器械、6cm/10cm培养皿、离心管若干。

### 一、脂肪干细胞提取：下面以 C57BL/6J 小鼠为例

1. 取 3 天龄小鼠 2 只，麻醉处死，75%乙醇浸泡消毒 3-5min（3 天龄到 4 周龄均可，推荐周龄小）。
2. 无菌条件下剪开腹部皮肤双手捏住皮肤撕开，可见暴露的腹股沟处白色脂肪垫。
3. 无菌钝性剥离脂肪组织，取 3ml 脂肪组织处理缓冲液清洗脂肪组织 2-3 遍，仔细去除筋膜组织及小血管。
4. 随后将脂肪垫剪碎，剪小至米粒大小，转移至 15 mL 离心管中。
5. 加入 4 倍体积的脂肪干细胞组织专用消化液，37°C 水浴振荡约 20-30 min，直至细胞混合物成乳状浓稠液体。期间可吹打脂肪组织，辅助消化。
6. 250g，4°C，离心 5min。**注意离心机预冷至 4°C。**
7. 小心吸去上层油脂丢掉，注意不要破坏位于下方的沉淀。随后加入 5mL 完全培养基，重悬沉淀，过 40  $\mu$  M 细胞筛到新的离心管中，再次离心 5min。重复洗涤一次，吸去上清。
8. 加入 1mL 完全培养基重悬沉淀，计数，以  $2.5 \times 10^5$ /ml 细胞一个 6 孔密度种板，置于 37°C，5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养（6 孔一般 2ml，6cm 板 4ml）。
9. 待细胞贴壁生长 48h 后首次观察、换液。换液时弃去培养基，从而去除未贴壁的细胞。
10. 以后每两天更换一次培养基，细胞汇合达 80%-90%时，使用 0.25% 胰蛋白酶消化，按 1:2 或 1:3 比例首次传代。**注意细胞密度，太密会导致细胞提前分化，整片脱落。**

### 二、脂肪干细胞传代：

#### 贴壁细胞

1. 吸弃原培养液上清。
2. 加入 2-3 mL PBS 润洗细胞，吸弃 PBS.

3. 加入 1-2ml 0.25%胰蛋白酶消化液至培养瓶中，并轻轻晃动培养瓶至消化液浸润所有细胞，放入 37℃培养箱消化细胞2-3min。

4. 倒置显微镜下观察，待细胞明显变圆有间隙后（全程请不要拍打培养瓶），再加入 3-5ml 含 10% 血清的培养基终止消化（稀释法终止消化，则培养基用量不应低于 5ml）。

5. 用巴氏管轻轻吹打混匀、分散细胞，250g，离心 3-5min 以去除残留胰酶。

6. 去掉上清，首次传代表按 1 : 2-1 : 3 比例传代培养。

### 注意事项

1. 全程分离操作过程建议在冰上进行，分离脂肪干细胞时应避免过度消化、过度重悬等操作导致细胞损伤。

2. 原代分离部分建议全程使用4℃离心机。

3. 脂肪干细胞传代时使用重组胰蛋白酶（含 EDTA，不含酚红）消化液消化。

4. 脂肪干细胞专用消化液、培养基中含有微生物生长所需的营养成分，请在超净工作台内打开，按照所需要量分装，并且用封口膜封住瓶口，即取即用，以避免污染。