

hMSC 脂肪細胞分化キット

取扱説明書

一、製品概要

hMSC 脂肪細胞分化キットは、脂肪細胞への高効率な分化誘導能力を持ち、ヒト間葉系幹細胞の脂肪細胞への分化誘導に使用できます。

二、製品情報

表1：hMSC 脂肪細胞分化キット製品詳細

製品情報	品番	規格	保存条件
hMSC脂肪細胞分化キットの内容物：	RP02014-A	1 Kit	2℃～8℃*
Adipogenic differentiation Basal Medium	RP02014-A-01	80 mL	2℃～8℃
Adipogenic differentiation Supplement	RP02014-A-02	20 mL	-20℃または-80℃

*基礎液と添加物をよく混和して完全培地を調製します。調製後は2℃～8℃で保存し、2週間以内に使用可能です。

三、試薬と材料

表2：推奨試薬&材料

試薬&材料	ブランド (e.g.)	品番 (e.g.)
ncMissionhMSCMedium	Shownin	RP02010
オイルレッド O (Oil Red O)	Sigma	O0625
1×DPBS w/o Ca ²⁺ /Mg ²⁺	Thermo Sci.	14190250
6ウェルプレート	Thermo Sci.	140685
1 mL/5 mL/10 mL/25 mLピペット	Thermo Sci.	N/A
15 mL/50 mL遠心管	Thermo Sci.	N/A
10 µl/200 µl/1000 µlピペットチップ	Rainin .	N/A

四、試薬の準備

(一) hMSC 脂肪細胞分化キットの調製

- Chondrogenesis differentiation Supplementは4℃で解凍します。37℃で解凍しないでください。
- バイオセーフティキャビネット内で滅菌済みピペットを使用し、下記の成分を均一に混和して100mLの分化完全培地を調製します。

Adipogenic differentiation Basal Medium : 90 mL**Adipogenic differentiation Supplement : 10 mL**

3. 完全培地は4℃で保存し、2 週間以内に使用可能です。

TIPS : 実際の使用量に応じて、Supplementを分注して凍結保存することが可能です。凍結・解凍は合計で2回までとします。

(二) オイルレッド使用液の調製

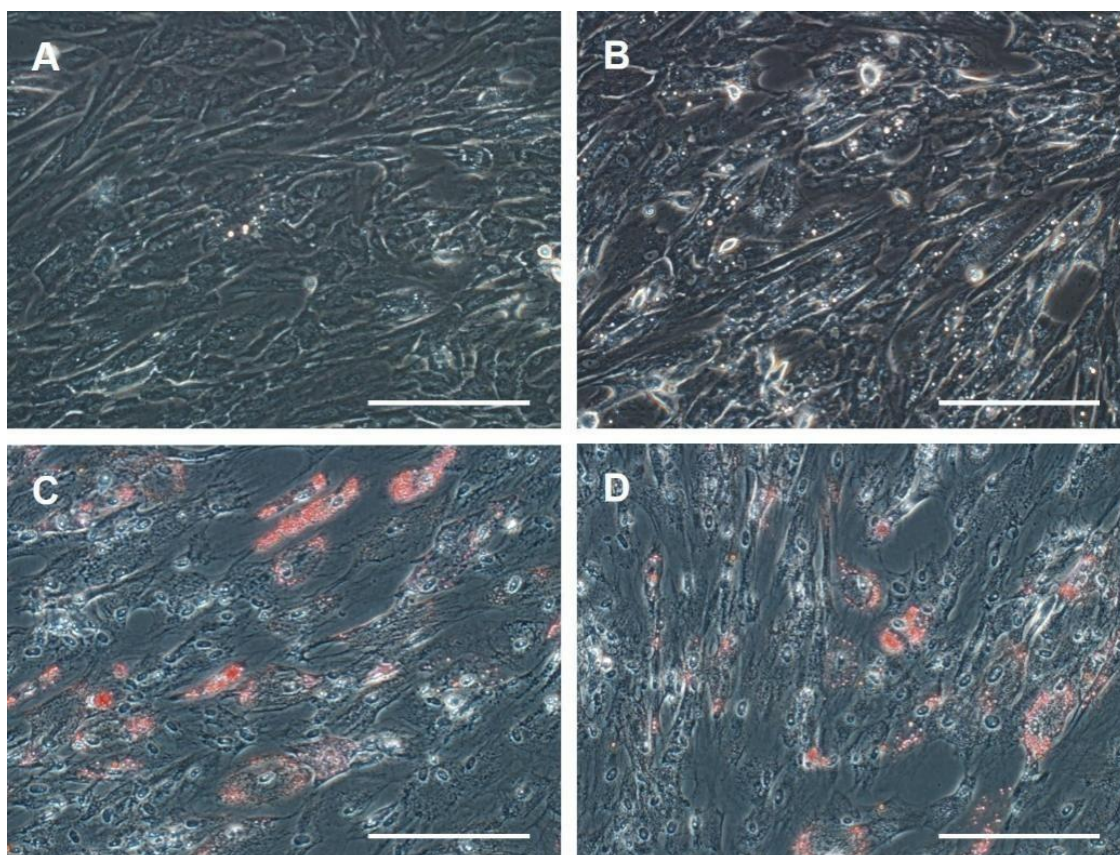
1. **オイルレッド飽和保存液** : オイルレッド粉末 18 mg + イソプロパノール 50 mLを混和し、常温で保存します。
2. **オイルレッド使用液** : 保存液と生理食塩水を 6:4 の比率で希釈し、顆粒の析出がないか観察します。析出がある場合は、0.22 μmフィルターでろ過除去します。使用液は必要に応じて、調製後すぐに使用すること。

五、間葉系幹細胞の脂肪細胞分化**(一) 間葉系幹細胞の培養**

1. **hMSCの培養と準備** : 詳細は「**ncMission hMSC Medium** 取扱説明書」を参照してください。
2. **ncMission hMSC Medium** を用いて間葉系幹細胞を培養し、間葉系幹細胞を 5000~10000 cells/cm² の密度で6ウェルプレートに播種し、水平方向に十字振りを3回実施後、37℃・5% CO₂・飽和湿度のインキュベーターに入れ、再度水平方向に十字振りを3回行い、培養します。

(二) 間葉系幹細胞の脂肪細胞分化

1. hMSCが約85%コンフルエンスに達した時点で分化を開始します。
上清を除去し、実験群と対照群を設定します。実験群に**hMSC脂肪細胞分化完全培地**を添加し、対照群に**ncMission hMSC Medium**を添加します。
2. 3-4日ごとに培地を交換し（各ウェルに2-3 mL/回）、21日目まで連続培養します。
3. 21日目に上清液を吸引除去し、**固定液（4%パラホルムアルデヒド）**を添加し、30分間固定します。
4. 分化群と対照群の上清を除去後、適量の**オイルレッド使用液**を添加し、室温・遮光条件下で20-60分間インキュベートします。その後、染色液を除去し、生理食塩水またはDPBSで背景色がなくなるまで洗浄し、各ウェルに生理食塩水またはDPBSを添加し、顕微鏡下で観察・撮影します。



图A・B：hMSC脂肪細胞分化キットを用いた分化10日目と21日目の細胞形態

图C・D：hMSC脂肪細胞分化キットを用いた分化21日目のオイルレッド染色結果 スケールバー：200 μ m