

# C2C12 成肌细胞成肌管诱导分化培养基试剂盒

Cat NO: IMC-017

产品信息	货号	规格	储存条件
C2C12 小鼠成肌细胞成肌管诱导分化培养基试剂盒	IMC-105	1 Kit	2°C~8°C, 6 个月
C2C12 小鼠成肌细胞专用培养基	IM-M020-1	100 mL	2°C~8°C, 6 个月
C2C12 小鼠成肌细胞分化培养基	IMC-105-1	100 mL	2°C~8°C, 6 个月
C2C12 小鼠成肌细胞分化添加物 A	IMC-105-SA	100uL	2°C~8°C, 6 个月
Giemsa 染色液 (Giemsa 染色液分为 A 液与 B 液)	IMC-105-G-1/2	12 mL +24 mL	RT, 12 个月

## 产品简介

C2C12 成肌细胞成肌管诱导分化培养基试剂盒是厦门逸漠生物科技有限公司研发技术团队开发的一种适用于 C2C12 成肌细胞分化成肌管的培养, 包含适合 C2C12 成肌细胞生长的专用培养基、分化培养基、诱导细胞分化所需的添加物及染色液。本产品适用于 C2C12 成肌细胞的成肌管诱导分化。大量细胞培养数据验证, 本产品可稳定、高效诱导上述细胞分化为成肌管细胞。

## 质量控制

通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。

通过渗透压、pH 检测。

通过产品性能检测

## 处理原则

- 1.严格的无菌环境。务必保证实验室整体和操作区域的清洁。
- 2.规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作, 严格控制变量, 做好对照实验。
- 3.各成分需按照保存条件妥善存放, 并尽快使用。
- 4.若短期内无法用完整套培养基, 应按套装内各成分体积比例现配现用。

## 储存条件

2°C~8°C干燥避光存储，有效期6个月。

## 使用说明

### 分化培养基的配制

- 1.用75%医用酒精仔细擦拭所有成分外包装，在超净台内打开包装。
- 2.分化培养基使用前将添加物按照比例1:1000加入C2C12成肌细胞分化培养基，分化培养基24h内使用，建议现配现用。
- 3.取少量基础培养基，洗涤各瓶、管，尽可能将所有成分全部加入基础培养基中。
- 4.拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。
- 5.用封口膜密封瓶口，用铝箔纸包裹瓶身，并标注名称、配制日期等信息。

### 诱导分化操作流程

#### 所需材料

1. C2C12 成肌细胞成肌管诱导分化培养基试剂盒
2. Phosphate-Buffered Saline (1×PBS)

#### 操作步骤

本操作规程以十二孔板为例，请根据实际情况选用合适的培养容器；为减少诱导过程细胞漂起、不贴壁，建议使用明胶包被培养容器；诱导培养基在使用前均需预热至37°C。

- 1.将待诱导的C2C12小鼠成肌细胞按照 $1 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>的细胞密度接种于12孔板中，每孔加入1 mL C2C12小鼠成肌管细胞专用培养基。
- 2.细胞置于37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的CO<sub>2</sub>培养箱中培养。
- 3.当细胞融合度达到70%-80%时，小心地将孔内完全培养基吸走，向12孔板中加入1.0 mL配制的C2C12成肌细胞成肌管诱导分化培养基。
- 4.每隔1天换用新鲜的C2C12小鼠成肌细胞成肌管诱导分化培养基。
- 5.诱导3~7天后，视细胞的形态变化及生长情况，用Giemsa进行染色。

### Giemsa 染色分析

#### 所需材料

1. Phosphate-Buffered Saline (1×PBS)

## 2. 甲醇溶液

## 3. Giemsa 染色液

### 操作步骤

为防止细胞脱落，所有操作尽可能轻缓；如果染色效果较差，可适当延长染色时间；请确认出现肌管后再进行染色。

1. 成肌诱导分化结束后，吸去 12 孔板中的成肌诱导分化完全培养基，用 1×PBS 轻柔洗涤 2~3 次。
2. 每孔加入 0.5 mL 1×PBS 之后并逐滴加入等体积的甲醇，室温固定 5 min。
3. 吸去固定液，加入新鲜甲醇溶液固定细胞 5 min，然后使用甲醇溶液漂洗细胞 1 次。
4. 吸取固定液，晾干培养板，使用 Giemsa 染色液进行染色。
5. 加入 100-200 μL 的 Giemsa A 液，浸泡 1-2 min；
6. 加入两倍体积的 Giemsa B 液，继续浸泡 5-7 min；
7. 去除染色液，加入 PBS 洗涤 1-2 次，将培养板置于显微镜下观察成肌管染色效果；
8. 染色后的 12 孔板用封口膜封装后，置于 4℃ 可保存 2 周

### 注意事项

1. 若短期内无法用完全培养基，我们建议分批配制；请按照套装内各成分比例，配制所需量；但剩余的成分必须严格按照各自的保存条件妥善保存，并且不可多次冻融。
2. C2C12 成肌细胞成肌管诱导分化培养基试剂盒内的所有成分都严格控制无菌，一般情况下我们不建议再次除菌。若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。
3. 配制完成的成肌诱导分化培养基，需在 24h 内使用。建议计算分化培养基用量，现用现配。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅作科研用途。