



## 细胞产品手册

### OriCell<sup>®</sup> C57BL/6 小鼠肋软骨细胞

产品货号：MUBRB-02071

## 产品介绍

软骨组织由软骨细胞、基质及纤维构成。软骨组织再生能力强，这些增生的幼稚细胞形似纤维母细胞，以后逐渐变为软骨母细胞，并形成软骨基质，细胞被埋在软骨陷窝内而变为静止的软骨细胞。软骨细胞位于软骨陷窝内。幼稚的软骨细胞位于软骨组织的表层，单个分布，体积较小，呈椭圆形，长轴与软骨表面平行，越向深层的软骨细胞体积之间增大呈圆形，细胞核圆形或卵圆形，染色浅，细胞质弱嗜碱性，常见数量不一的脂滴。

OriCell®C57BL/6 小鼠肋软骨细胞分离自肋软骨组织，采用胰蛋白酶-胶原酶联合消化的方法分离纯化获得，体外培养的软骨细胞对于研究其生理功能、药物作用以及各种致病因素作用下的病理生理改变具有重要意义。

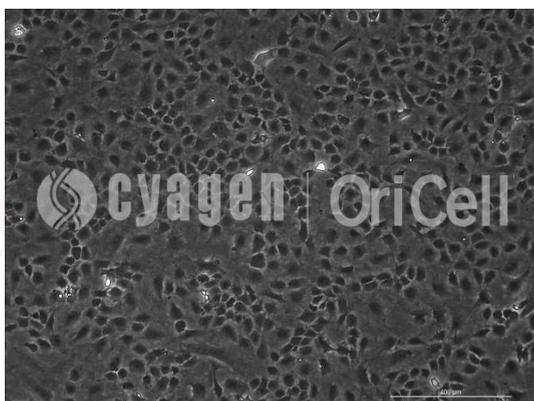
**注意：**本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

**使用本细胞发表的文献需注明：** (OriCell, Cat.No. MUBRB-02071) from Cyagen.

## 产品信息

产品名称	OriCell®C57BL/6 小鼠肋软骨细胞
货号	MUBRB-02071
细胞形态	贴壁生长，细胞呈圆形、多角形
细胞特性	体外增殖能力有限，建议用低代次细胞进行实验
鉴定指标	Collagen II
规格	1×10 <sup>6</sup> 个/管或 1×10 <sup>6</sup> 个/瓶
冻存代次	P1
保存条件	液氮 (-196°C)

OriCell®C57BL/6 小鼠肋软骨细胞在倒置相差显微镜下的形态



## 质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测，复苏存活率>80%。
- 细胞鉴定：免疫荧光检测 Collagen II为阳性 > 80%。

详情见《产品检测报告》。

## 处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
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. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合贴壁细胞生长的培养容器，且不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。
4. OriCell®C57BL/6 小鼠肋软骨细胞在体外增殖能力有限，我们始终建议尽可能使用较低代次细胞进行科研工作。
5. 通常 OriCell®C57BL/6 小鼠肋软骨细胞接种密度为 $(2.5\sim4)\times 10^4$  个活细胞/cm<sup>2</sup>。该细胞的生长与供体自身特性和后续培养体系有很大关系。我们建议根据各批次、各代次实际生长情况按比例传代培养。

**注意：**本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。

## 细胞的复苏和培养

### 所需材料

- OriCell®C57BL/6 小鼠肋软骨细胞
- OriCell®小鼠软骨细胞完全培养基（货号：MUXCH-90011，以下简称完全培养基）

**注意：**收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80℃冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80℃，让管中液氮挥发。

### 操作步骤

1. 水浴锅 37℃预热。
2. 完全培养基温浴到 37℃。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80℃冰箱中取出细胞，放入 37℃水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

**注意：**1) 融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；

2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染；

3) 管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。

5. 用 75%医用酒精擦拭冻存管外表面。
6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
8. 细胞悬液以 250×g 离心 4 min。

**注意：**请以公式  $RCF=1.118 \times 10^{-5} \times r \times RPM^2$  计算相应转速 [RCF:离心力，r:转子半径(cm)，RPM:转速]。

9. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
10. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基，1 个 T25 培养瓶中培养基总量不少于 5 mL。
11. 摇匀细胞，放入 37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中。

**注意：**接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会严重影响细胞贴壁，造成状态不佳、细胞聚团、贴壁不均匀等情况。

12. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基或传代。

**注意：**若发现大量漂浮细胞或其他异常情况，应及时排查原因，并与我们联系。

13. 之后，每 2 天更换一次完全培养基，直到细胞生长至 90%汇合，即需传代。

## 细胞的传代

### 所需材料

- OriCell® 0.25%Trypsin-0.04%EDTA (货号: TEDTA-10001, 以下简称胰酶)
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001, 以下简称 PBS)
- OriCell® 小鼠软骨细胞完全培养基 (货号: MUXCH-90011, 以下简称完全培养基)

### 操作步骤

1. 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37°C。
2. 吸去培养容器中的培养基。
3. 用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤细胞 2 次, 注意动作轻柔, 清洗全面。吸去 PBS。
4. 加入胰酶 (T25 培养瓶加入约 1.5 mL, T75 培养瓶加入约 3 mL), 迅速铺匀, 保证接触细胞表面。
5. 显微镜下观察消化情况, 约 70%~80%细胞收缩变圆后, 轻拍培养容器外壁, 使细胞脱离培养表面。
6. 立即加入完全培养基 (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL), 随即轻摇培养容器, 使培养基和胰酶迅速混匀, 终止消化。
7. 使用吸管或移液管吸取细胞悬液, 吹打培养容器底面数次, 尽可能将细胞都吹打下来。

**注意:** 吹打动作不可剧烈, 避免产生大量气泡, 否则可能损伤和损失细胞。

8. 将细胞悬液转移至离心管中。用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤容器 1 次, 收集残留细胞。
9. 收集的所有细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
10. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
11. 将细胞按  $(2.5\sim4) \times 10^4$  个活细胞/cm<sup>2</sup> 接种至适宜的培养容器内。

**注意:** 培养 C57BL/6 小鼠肋软骨细胞对于细胞密度有较高的要求, 我们建议有条件且计数效率较高的情况下, 进行手工计数, 以期获得精准的细胞浓度指导接种; 在没有精确计数条件的情况下, 按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell®C57BL/6 小鼠肋软骨细胞传代比例为 1:3, 72 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际生长情况调整传代比例。

12. 摇匀细胞, 放入 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中。
13. 传代次日, 观察细胞状态。若发现较多漂浮细胞, 应予以换液。
14. 待细胞汇合度至 90%以上, 即需传代或冻存。

**注意:** 正常情况下 OriCell®C57BL/6 小鼠肋软骨细胞每代生长时间不超过 72 h, 中途不需要换液。频繁换液会破坏构建起的细胞微环境。

## 细胞的冻存

### 所需材料

- OriCell® 通用无蛋白非程序冻存液 (货号: NCPF-10001)
- OriCell® 通用血清型非程序冻存液 (货号: NCRC-10001)

### 操作步骤

1. 待细胞生长至可传代的密度, 即可准备冻存。
2. 细胞消化请参考 OriCell® C57BL/6 小鼠肋软骨细胞的传代操作步骤 1~9。
3. 离心后去除上清, 用适量冻存液均匀重悬细胞。
4. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。

**注意:** 在没有成熟的计数条件下, 我们建议将细胞按比例分装冻存即可, 长时间在非培养条件下放置会严重影响细胞的状态。在计数时, 我们建议将细胞放置于 4°C 冰箱内, 以减弱细胞代谢, 较好地保持细胞状态。

5. 若选用 OriCell® 非程序冻存液, 可将冻存管直接分散放入 -80°C 冰箱中。

**注意:** 细胞冻存期间, 特别是开始冻存的 4 h 内, 不可打开冰箱门, 这将严重影响细胞冷冻存活率。

6. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。

**注意:** 细胞不可长期保存在 -80°C 冰箱中。我们建议在 -80°C 冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

赛业 (苏州) 生物科技有限公司保留 OriCell® 细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业 (苏州) 生物科技有限公司的书面许可, 本文件的任何部分,

不得改编或转载用作其他商业用途。