

细胞产品手册

OriCell[®]大鼠肋软骨细胞

产品货号：RASRB-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。

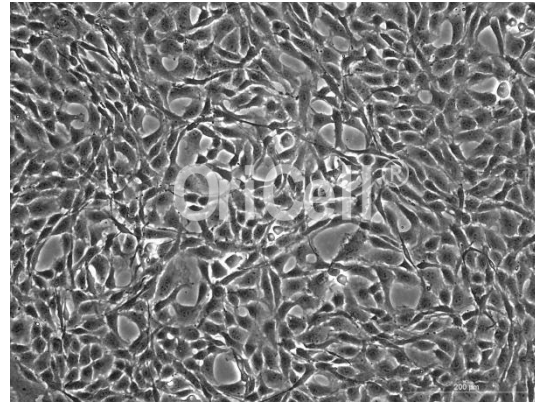
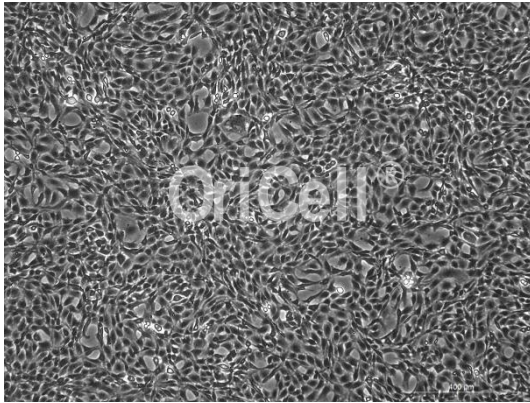
OriCell®大鼠肋软骨细胞分离自肋软骨组织，采用胰蛋白酶-胶原酶联合消化的方法分离纯化获得，体外培养的软骨细胞对于研究其生理功能、药物作用以及各种致病因素作用下的病理生理改变具有重要意义。

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。

产品信息

产品名称	OriCell®大鼠肋软骨细胞
货号	RASRB-02071
细胞形态	贴壁生长，细胞呈长梭形、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	1×10^6 个/管或 1×10^6 个/瓶
冻存代次	P1
保存条件	液氮（-196℃）

OriCell®大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® 大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. 通常细胞接种密度为 $(2.5\sim4)\times 10^4$ 个活细胞/cm²。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®大鼠肋软骨细胞
- OriCell®大鼠肋软骨细胞完全培养基（货号：RASRB-90011，以下简称完全培养基）

操作步骤

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。

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 $250 \times g$ 离心 4 min。

注意：请以公式 $a=\omega^2r$ (a :向心加速度； ω :旋转角速度， $\omega=\pi n/30$ ； r :转子半径) 计算相应转速。

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°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 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：若发现较多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® 大鼠肋软骨细胞完全培养基 (货号：RASRB-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，保证充分接触细胞表面。
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 $250 \times g$ 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 $(2.5 \sim 4) \times 10^4$ 个活细胞/ cm^2 接种至适宜的培养容器内。

注意：培养大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®大鼠肋软骨细胞传代比例为 1:3，48 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%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 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. 待细胞生长至 90%汇合，即需传代或冻存。

注意：正常情况下 OriCell®大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®大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℃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，请将冻存管直接分散放入-80℃冰箱中。

注意：细胞冻存期间，特别是冻存的前 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℃冰箱中。我们建议在-80℃冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

赛业（广州）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（广州）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。